مقایسه میزان فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه چهار گیاه داروئی

Momordica charantia L., *Cucurbita pepo* L. cultivar pumpkin, *Ecballium elaterium* (L.)A. Rich, *Lagenaria siceraria* L. cultivar *Marankka*

زینب محکمی[۱]، عزیزاله خیری[۲*]، مهدی توکلی‌زاده اصفهانی[۳]، محسن ثانی‌خانی[٤]، عباس بهاری[٥]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه گیاهان داروئی ادویه‌ای و نوشابه‌ای، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۳]استادیار، گروه فارماکگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

[٤]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[٥]استادیار، گروه علوم بیوتکنولوژی، پژوهشکده زیست فناوری، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۳ تاریخ پذیرش : ۹۷/۱۰/۱۹

چکیده

این تحقیق با هدف ارزیابی و مقایسه محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه چهار گیاه دارویی کارلا[۱]، خیار آب‌پران[۲]، کدوی هالووین[۳] و کدوی مارانکا[٤] متعلق به تیره کدوئیان انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی بصورت کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. میوه‌های بالغ این گیاهان از مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان در بازه‌ی زمانی شهریور تا آذر ۱۳۹٦ برداشت گردید. شاخص‌های فیتوشیمیایی محتوای فنول کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH) ارزیابی شدند. بالاترین محتوای فنلی و فلاونوئیدی از عصاره متانولی میوه خیار آب‌پران و کارلا به‌ترتیب با مقادیر ۳/۵ ±۸۵/۵۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن خشک و ۰/۸۰±۱۲/۱۳میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک حاصل شد. نتایج تست آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره متانولی کارلا به خوبی رادیکال‌های آزاد را مهار نمود (۰/٦۹±۹۷/۰۹ درصد) و پس از آن خیار آب‌پران (۱/۵± ۸۷/۸ درصد) در مرتبه بعدی قرار داشت و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی میوه کدوی هالووین (۲/۷ ± ۵۸/۰۲ درصد) بود. افزون بر این همبستگی بسیار قوی بین محتوای فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (P =۰/۸۷۲) مشاهده گردید. همچنین همبستگی مثبتی بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (P=۰/٥٤٥) وجود داشت. به‌طورکلی آنالیز نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره کارلا و خیار آب‌پران غنی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده و بالاترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد را در مقایسه با سایر گونه‌ها داشته‌اند و می‌توان از آنها به عنوان غذا-دارو بهره برد.

واژه‌های کلیدی:آنتی‌اکسیدان، خیار آب‌پران، کارلا، کدوی هالووین، مارانکا.

1. *Momordica charantia* L.
2. *Ecballium elaterium* (L.) A.Rich
3. *Cucurbita pepo* L. *cultivar pumpkin*
4. *Lagenaria siceraria* L. *cultivar Marankka*

*نویسنده مسئول: kheiry@znu.ac.ir

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که فرآیند اکسیداسیون را مهار یا جلوگیری می‌کنند و به طور کلی عمر ماده اکسید شونده را طولانی‌تر می‌کنند. اکثر بیماری ها یا اختلالات به طور عمده با استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد ارتباط دارند. رادیکال های آزاد (اکسیدان) گونه‌هایی با نیمه عمر بسیار کوتاه، واکنش پذیری بالا و فعالیت‌های مضر نسبت به ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین، DNA و لیپید هستند (Chirag et al., 2013).

تولید کنترل نشده‌ی رادیکال‌های آزاد با پراکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها همراه است که منجر به آسیب ساختاری سلول، آسیب بافت یا جهش ژنی و در نهایت منجر به توسعه اختلالات مختلف سلامتی نظیر بیماری آلزایمر، سرطان، آترواسکلروز، دیابت نوع یک، فشار خون بالا و پیری می‌گردد (Ismail et al., 2010). آثار زیان‌بار رادیکال‌های آزاد می‌تواند توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدان بلوکه شود (Kris-Ethertonm et al., 2002). شواهد بسیار زیادی مبنی بر اثرات سوء آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همچون هیدروکسی‌انیسول بوتیله‌شده[1] (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن[2] (BHT) و بتا هیدروکسی کینون[3] وجود دارد که نشان می‌دهد این ترکیبات منجر به آسیب کبدی و سرطانزایی[4] می‌شوند (Suja and Arumughan, 2005). مطالعات اپیدمیولوژیک و آزمایشگاهی نشان می‌دهد که مواد غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی اثرات بالقوه محافظتی در برابر این بیماری‌ها دارند (Senevirthne et al., 2006; Denny and Buttriss, 2007). مواد غذایی مانند میوه‌ها، سبزی‌ها و غلات حاوی طیف گسترده‌ای از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنولی هستند که خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از دژنراسیون سلولی را از طریق تقلیل استرس اکسیداتیو[5] و مهار اکسیداسیون ماکرومولکول‌ها کاهش می‌دهند (Katalinic et al., 2004).

تیره کدوئیان (Cucurbitaceae) مشتمل بر ۱۳۰ جنس و ۸۲۵ گونه گیاهی می‌باشد.اگرچه بسیاری از آنها نظیر هندوانه، کدو، خربزه و خیار در سطح وسیع کشت شده و دارای ارزش اقتصادی بالایی هستند (Ritschel et al., 2004) اما در این تحقیق بر گیاهانی تمرکز شده که ارزش دارویی و تغذیه‌ای آنها کمتر معرفی شده است. خربزه تلخ (کارلا) با نام علمی *Momordica charantia* L. و نام لاتین Bitter melon، گیاهی علفی، یکساله و یکپایه است. میوه نارس آن شبیه کدوی صحرایی یا خیار کوچک پر از زگیل و دارای طعم تلخ است که در زمان رسیدن به رنگ زرد و طعم شیرین تغییر می‌یابد. مواد موثره این گیاه شامل ترکیبات آلکالوئیدی و گلیکوزیدی می‌باشد که مهمترین آنها عبارتند از چارانتین[6] (گلیکوزید استروئیدی)، موموردیسین[7] (آلکالوئید) و پ- (نوعی پلی‌پپتید). بخش دارویی این گیاه شامل میوه و برگ‌های آن می‌باشد که در درمان بیماری ایدز، کاهش قند خون (درمان بیماری دیابت) و تحریک کبد به تولید صفرا و مصرف کلسترول کاربرد دارند (Heidari and Mobaseri Moghadam, 2012).

خیار آب‌پران با نام علمی *Ecballium elaterium* به‌طور گسترده در مناطق مدیترانه‌ای پراکنش یافته است (Greige-gergest et al., 2007). گیاهی چندساله با ظاهری خشن، کرکدار و گوشتی که ارتفاع بوته آن ۳۰-۱۰۰ سانتی‌متر بوده و رنگ گل‌های آن سبز مایل به زرد است (Salhab, 2013). این گیاه

1. Butylated hydroxyl anisole
2. Butylated hydroxytoluene
3. β-Hydroxy quinone
4. Carcinogenesis
5. Oxidative stress
6. Charantin
7. Momordicin

دارای میوه‌های آبدار تخم مرغی شکل و کشیده است که با فرآیند انفجاری خود را از بوته جدا نموده و بذورش را به اطراف پراکنده می‌سازد. خیار آب‌پران در تونس به عنوان گیاه دارویی شناخته می‌شود و به طور گسترده در درمان عفونت‌ها، تب، یبوست، رماتیسم، زردی، سینوزیت و آنفولانزا کاربرد دارد (Toker et al., 2003; Attard et al., 2005; Bohlooli et al., 2012; Bizid et al., 2014; Jaradat et al., 2012; Sargin et al., 2013; Salhab, 2013). گزارش‌های پیشین حاکی از آن است که عصاره‌ی این میوه غنی از لیپیدها، پروتئین‌ها، قندها و مواد معدنی بوده و حاوی ترکیبات زیستی فعال نظیر تری‌ترپنوئیدها (کوکوربیتاسین)، کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، صمغ و پپتیدها (Attard and Attard, 2008) می‌باشد. مهمترین ترکیب فعال زیستی در عصاره میوه خیار آب‌پران کوکوربیتاسین- ب[1] است که گزارش‌هایی مبنی بر خواص ضدالتهابی، ترمیم زخم و آنتی‌اکسیدانی آن وجود دارد (Felhi et al., 2016).

کدوی هالووین با نام علمی *Cucurbitapepo* "pumpkin" cultivar بومی شمال ایالت مکزیکو و جنوب غرب و شرق ایالات متحده آمریکاست. گیاهی رونده و علفی با ساقه های بلند و برگ های پهن می باشد. پوست خارجی کدوی هالووین نارنجی، ضخیم و با شیارهای عمودی است. گوشت شیرین و نارنجی رنگ به همراه دانه‌های خوراکی دارد. مطالعات اتنوفارماکولوژیکی نشان داده که این گیاه خواص درمانی بی‌شماری از قبیل: ضدالتهاب، ضدویروس، ضددرد در اختلالات ادراری، ضدزخم، ضددیابت، مهار رشد تومور، جلوگیری از تشکیل سنگ کلیه، کاهش دیاستاز پروستات و بهبود عفونت‌های پوستی، اثرات هیپوگلیسمی، افزایش ایمنی و آنتی‌اکسیدان دارد. بذرهای این میوه نیز دارای ارزش تغذیه‌ای-دارویی است. بذر و روغن مستخرج از بذر کدوی هالووین منبع غنی از ترکیبات فیتواسترول، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین‌ها، کارتنوئیدها، توکوفرول و عناصر معدنی متنوع می‌باشد (Phillips et al., 2005; Sabudak, 2007; Stevenson et al., 2007).

کدوی ماراکا[2] با نام علمی *Lagenaria siceraria* L. cultivar Marankka که با نام عمومی مارانکا[3] شناخته می‌شود. این گیاه بومی مناطق گرمسیری شمال امریکاست. گیاهی رونده دارای میوه گلابی شکل به رنگ سبز تیره و گاها دارای زگیل‌های پوستی می‌باشد. پوست این میوه به شدت سخت است و از آن در تهیه انواع وسایل تزئینی استفاده شده است. زمانیکه میوه هنوز نابالغ و جوان است توسط پالپ سفید رنگی پر شده که بذرها درون آن پراکنده‌اند. زمانیکه میوه بالغ می‌شود بخش گوشتی درون آن خشک شده و تنها بذور باقی می‌مانند. پالپ میوه ممکن است تلخ یا شیرین باشد. انواع دارای پالپ شیرین آن در تهیه غذا استفاده می‌شود. آب این میوه برای شیرین کردن انواع شربت‌ها و همچنین در پخت انواع شیرینی‌جات و مخصوصا حلوا و مربا کاربرد دارد (Hugh et al.,1961).

با توجه به مطالعات اندک پیرامون ارزش دارویی این گیاهان و اثرات سودمند آنها در تأمین احتیاجات غذایی و سلامت بشر، در این پژوهش مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان مورد توجه قرار گرفت. ارزیابی محتوای فنل تام، فلاونوئید تام و خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان شاید رهنمود تازه‌ای در راستای دست‌یابی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جهت استفاده در صنایع غذایی – دارویی پیش روی محققان قرار دهد.

1. Cucurbitacin B

2. Marakka
3. Maranka

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی: میوه‌ی خیار آب‌پران، کارلا و کدوی مارانکا از مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان (N: 36° 40′ 52″– E: 48° 24′ 19″– H: 1593) و کدوی هالووین از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی زنجان (″54 ′41 °36 :N– ″55 ′30 °48 :E- H:1756) در شهریور تا آذر ۱۳۹۶ برداشت گردید (شکل ۱). این میوه‌ها در هرباریوم بخش فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی زنجان توسط دکتر مهدی توکلی اصفهانی‌زاده شناسایی و پس از قطعه قطعه شدن در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک گردید.

شکل ۱: به‌ترتیب گیاهان: (a) کدوی مارانکا *Lagenaria siceraria* L. *cultivar Marankka*، (b) کارلا *Momordica charantia*، (c) خیار آب‌پران *Ecballium elaterium*، (d) کدوی هالووین *Cucurbita pepo* cultivar pumpkin.

تهیه عصاره هیدروالکلی: ۵ گرم از پودر میوه با ۵۰ میلی‌لیتر متانول با نسبت ۱:۱۰ (w/v) مخلوط گردید. و به مدت ۷۲ ساعت در دمای معمولی اتاق بر روی شیکر (با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه) قرار داده شد. سپس به کمک کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد و عصاره‌ی حاصل تا زمان استفاده در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (فیروزکوهی و همکاران، ۱۳۹٦).

سنجش میزان فنل کل: مقادیر ترکیب‌های فنلی در عصاره متانولی گیاهی با اندکی تغییر توسط روش نیل و پارک (۲۰۱۳) اندازه‌گیری گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بیان شد. بر طبق

این روش مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، در لوله‌های آزمایش ریخته شد. ٤۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ٤۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط فوق اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦٥ نانومتر قرائت شد. در نهایت با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد گالیک اسید، مقدار فنل کل موجود در عصاره محاسبه شد. داده ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره (mg GAE/g) بیان شد (Nile and Park, 2013). همه سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد.

معادله (۱) $Y = 0.014 + 0.002X$

Y: عدد جذب ثبت شده در دستگاه اسپکتوفتومتر

X: میزان فنل کل

سنجش فلاونوئید کل: محتوای فلاونوئیدی این عصاره‌ها به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ٤۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس جذب مخلوط در ٤۱٥ نانومتر اندازه‌گیری شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اکی والان کوئرستین (mg QE/g) در هر گرم عصاره بیان شد (Chang et al., 2002). تمامی سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد.

معادله (۲) $Y = 0.018 + 0.005X$

Y: عدد جذب ثبت شده در دستگاه اسپکتوفتومتر

X: میزان فلاونوئید کل

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان: سنجش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH[1] به روش باروس و همکاران (Barros et al., 2007) صورت گرفت. این روش بر اساس تغییر رنگ محلول متانولی بنفش رنگ ۲ و ۲-دی فنیل-۱- پیکریل- هیدرازیل به محلول زرد رنگ دی فنیل- پیکریل هیدرازین می‌باشد. ۲٥۰ میکرولیتر از عصاره با ۷٥۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۲ میلی‌گرم DPPH در ۵۰ میلی‌لیتر متانول حل شد) مخلوط گردید. این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق انکوبه شد و سپس میزان جذب آن در طول موج ٥۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد با فرمول ذیل محاسبه گردید:

معادله (۳)

درصد مهار رادیکال آزاد = $(Ac-As)/Ac \times 100$

Ac: میزان جذب برای نمونه شاهد

As: میزان جذب نمونه گیاهی

آنالیز آماری

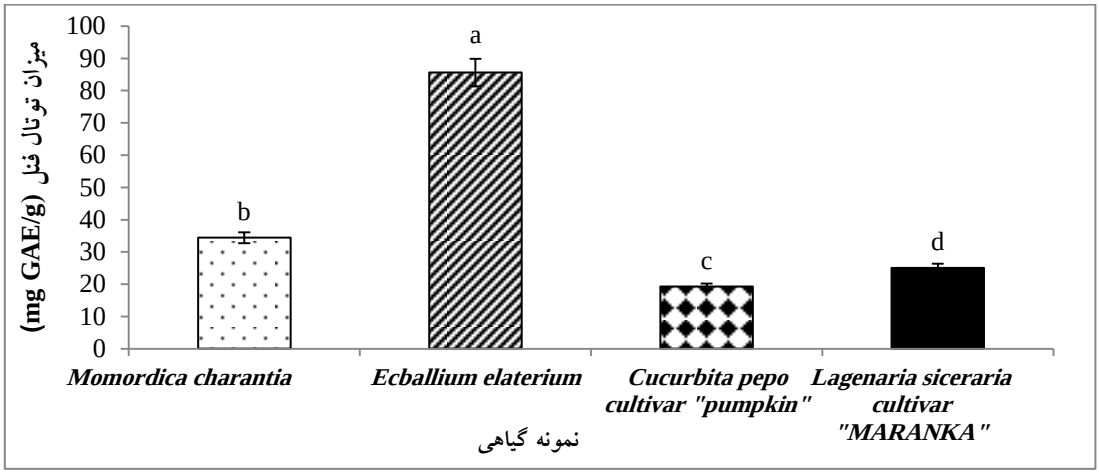
نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. آنالیز آماری داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SPSS version 16.0 صورت گرفت. داده‌ها به کمک ANOVA یک طرفه مورد بررسی قرار گرفتند و تست توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. همچنین برای بررسی همبستگی بین پارامترها از ضریب پیرسون استفاده گردید. ترسیم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

سنجش محتوای فنل کل: تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از وجود اختلاف معنادار آماری بین عصاره‌های

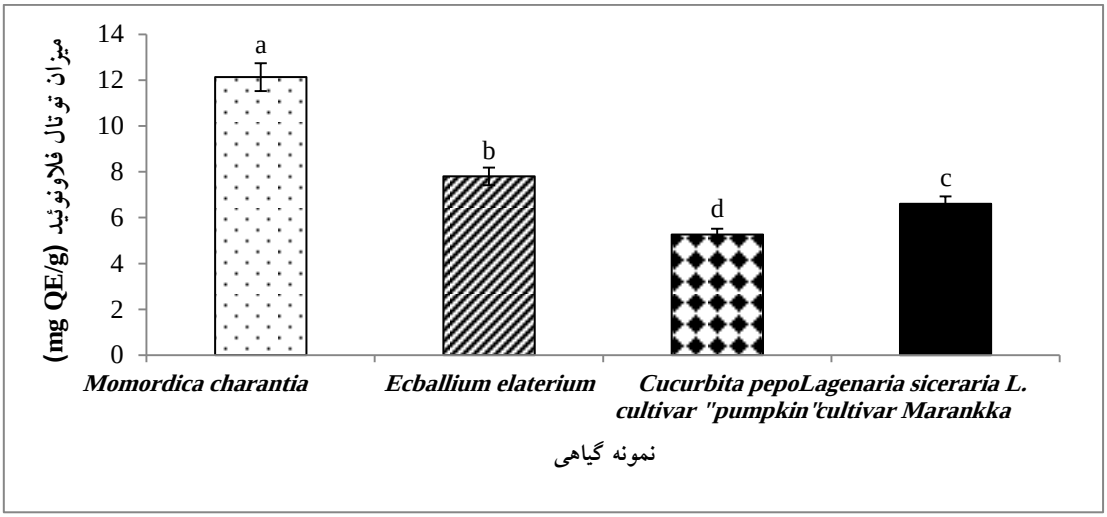
1. 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl

متانولی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا از نظر محتوای فنل کل بود (P≤۰/۰۵). بیشترین محتوای فنلی مربوط به عصاره‌ی متانولی میوه‌ی گیاه خیار آب‌پران و معادل ۳/۵±۸۵/۵۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن خشک و کمترین محتوای فنلی مربوط به عصاره‌ی متانولی میوه‌ی کدوی هالووین و معادل ۳/۵±۱۹/۲۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن خشک بود (شکل ۲). محتوای فنل کل در نمونه‌ها به صورت نزولی چنین بود: خیار آب‌پران › کارلا › مارانکا › هالووین. مطالعات متعددی نشان داده است که محتوای فنلی گیاهان با فعالیت آنتی‌اکسیدان آنها همبستگی دارد؛ شاید این امر به خاطر خصوصت کاهشی آنهاست که به ترکیبات فنلی اجازه می‌دهد به عنوان عامل کاهش‌دهنده، دهنده هیدروژن و جداکننده‌ی اکسیژن عمل نمایند (Chang et al., 2001).



شکل ۲: مقایسه محتوای فنلی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا. حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنادار بین نمونه‌های گیاهی است.

سنجش محتوای فلاونوئید کل: تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از وجود اختلاف معنادار آماری بین عصاره‌های متانولی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا از نظر میزان فلاونوئید کل بود (P≤۰/۰۵). بیشترین محتوای فلاونوئیدی مربوط به عصاره متانولی میوه گیاه کارلا و معادل ۰/۸۰ ± ۱۲/۸۳میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک و کمترین محتوای فنلی مربوط به عصاره‌ی متانولی میوه‌ی کدوی هالووین و معادل ۰/۸۰۸±۵/۲۶ میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک بود (شکل ۳). محتوای فلانوئید کل به صورت نزولی چنین بود: کارلا› خیار آب‌پران› مارانکا › هالووین. فلاونوئیدها رایج‌ترین و گسترده‌ترین گروه ترکیبات فنولی گیاهی هستند که معمولا در ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی سیار موثر می‌باشند (Yanishlieva-Maslarova, 2001).



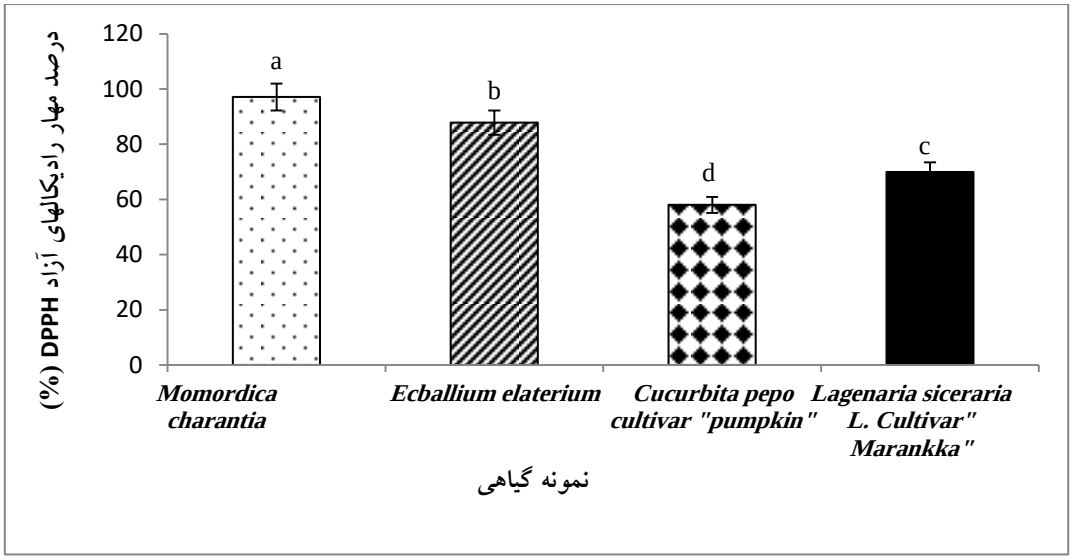
شکل ۳: مقایسه محتوای فلاونوئیدی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا. حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنادار بین نمونه‌های گیاهی متفاوت است.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در این پژوهش به روش DPPH بود که در آن ترکیبات فنولیک به عنوان دهنده هیدروژن و ترکیب آنتی‌اکسیدان عمل می‌نماید. تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از وجود اختلاف معنادار آماری بین عصاره‌های متانولی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا از نظر میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بود ($P\leq$۰/۰۵). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی میوه گیاه کارلا و معادل ۰/٦۹ ± ۹۷/۰۹ درصد و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی میوه کدوی هالووین و معادل ۲/۷ ± ۵۸/۰۲ درصد بود (شکل ٤). قدرت مهار رادیکال‌های آزاد به ترتیب نزولی چنین بود: کارلا › خیار آب‌پران › مارانکا › هالوین. در این بررسی، مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره‌ی متانولی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی مارانکا و کدوی هالووین روند افزایشی نسبت به محتوای فنل تام ($R^2 = 0.9867$) و محتوای فلاونوئید ($R^2 = 0.8957$) تام نشان داد؛ این نشان می‌دهد که قدرت مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره متانولی این گیاهان همبستگی مثبتی با مقدار ترکیبات فنلی به خصوص فلاونوئیدهای موجود در عصاره دارد که با سایر مطالعات مطابقت داشت (Nile et al., 2017). بررسی ضریب همبستگی پیرسون بین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و محتوای فنل تام ($P=0.545$) و همچنین بین قدرت مهار رادیکال-های آزاد DPPH و محتوای فلاونوئید تام ($P=0.872$) نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت بین این دو شاخصه بود ($0 < P < 1$) (جدول ۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت این گیاهان دارویی ممکن است تحت تأثیر مراحل مختلف نموی میوه‌ها و همچنین شرایط محیطی (دما و ارتفاع از سطح دریا) رشد گیاهان باشد (Egea et al., 2010; Dou et al., 2013).

جدول ۱: بررسی ضریب همبستگی پیرسون بین متغیرهای مختلف توتال فنل، توتال فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

متغیر	توتال فنل	توتال فلاونوئید	مهار رادیکال آزاد DPPH
توتال فنل	۱,۰۰۰	-	-
توتال فلاونوئید	**۰,۱۵۲	۱,۰۰۰	-
مهار رادیکال آزاد DPPH	*۰,۵۴۵	*۰,۸۷۲	۱,۰۰۰

*معناداری در سطح احتمال P< ۰/۰۵ **معناداری در سطح احتمال P< ۰/۰۱



شکل ٤: مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی هالووین و کدوی مارانکا. حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنادار بین نمونه های گیاهی متفاوت است.

بحث

ترکیبات فنولی قادرند رادیکال‌های آزاد و انواع اکسیژن فعال را از طریق دادن اتم هیدروژن یا یک الکترون از یون فلزی کلات شونده مهار نمایند که در مطالعات پیشین اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Katalinic et al., 2006; The´riault et al., 2007; Nileand and Park, 2015). امروزه سنجش ترکیبات پلی‌فنلی به دلیل عملکردهای فیزیولوژیکشان شامل آنتی‌اکسیدان، آنتی‌موتاژن و ضدتومور به شدت مورد توجه قرار گرفته است (Othman et al., 2007). همچنین ترکیبات فلاونوئیدی دارای فعالیت‌های بیولوژیکی خاص هستند و چنانچه از طریق گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات در وعده‌های غذایی روزانه تأمین شوند قادرند از جهش‌های سلولی در بدن انسان جلوگیری کنند (Husein et al., 2014). مطالعات پیشین به ارزش دارویی این گیاهان و کاربرد آنها در طب سنتی اشاره داشته است (جدول ۳) لیکن مقایسه بین این گونه‌ها از نظر ارزش آنتی‌اکسیدانی برای اولین بار مورد توجه واقع شده است. مقایسه ضریب همبستگی پیرسون بین پارامترهای مورد سنجش در مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش میزان ترکیبات فنلی و به خصوص فلاونوئیدها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی چهار گیاه دارویی کارلا، خیار آب‌پران، کدوی مارانکا و کدوی هالووین نیز بیشتر شده است (جدول ۲) که با سایر مطالعات مطابقت دارد (Ismail et al., 2010; Felhi et al., 2016; Baljeet et al., 2015). بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی کارلا

مشاهده گردید (شکل ۳) که نسبت به سایر نمونه‌های موجود در این آزمایش از محتوای فلاونوئیدی بیشتری برخوردار است (شکل ٤). سایر محققان نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه در کارلا را به‌دلیل حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نسبت داده‌اند (Ghous et al., 2015; Fongmoon et al., 2013; Hamissou et al., 2013). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی پایین مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و فلاونول‌ها در کارلا شناسایی شده‌اند (Grover and Yadav, 2004).

گروهی از محققان در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره مستخرج از اندام‌های مختلف کارلای جمع‌آوری شده از اندونزی خاطر نشان کردند که حضور ترکیب‌های فنلی در تمام اندام‌های گیاه کارلا عامل اصلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن است. آنان اظهار داشتند که از تمام اندام‌های گیاه کارلا می‌توان به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی استفاده نمود (Fridriany et al., 2015). محققان حضور هفت ترکیب فنلی پی-کوماریک اسید، تانیک اسید، بنزوئیک اسید، فرولیک اسید، گالیک اسید، کافئیک اسید و کاتچین را در اندام‌های برگ، ساقه، میوه‌ی سبز و میوه‌ی رسیده‌ی کارلا تأیید نمودند. آنها اظهار داشتند که گالیک اسید، ترکیب فنلی غالب در میوه‌ی کارلاست (Kubola and Siriamornpun, 2008). هوراکس و همکاران نیز گزارش نمودند که مهمترین اسیدهای فنلی گیاه کارلا گالیک اسید، جنتیسیک اسید، کاتچین، کلروژنیک اسید و اپی‌کاتچین است (Horax et al., 2010). سایر تحقیقات نشان داده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا ممکن است به دلیل حضور گروه‌های هیدورکسیل موجود در ترکیبات فنلی آن باشد (Patel et al., 2011). پس از کارلا، عصاره‌ی میوه‌ی خیار آب‌پران دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی بود (شکل ٤) که محتوای توتال فنل بالایی داشت (شکل ۲) که این نتایج با نتایج مطالعات دیگر محققان (Felhi et al., 2016) همسو بود. محققان معتقدند خیار آب‌پران غنی از ترکیبات فنلی است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی این گیاه را به حضور ترکیبات فعال زیستی نظیر تری‌ترپنوئیدها (کوکوربیتاسین‌ها)، کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، صمغ، پپتیدها و لوکوآنتوسیانین‌ها نسبت داده‌اند که قادرند فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند (Attard and Attard, 2008; Bernard and Olayinka, 2010). عصاره گیاه دارویی خیار آب‌پران غنی از ترکیباتی نظیر کربوهیدارت‌ها، کارتنوئیدها، گلیکوژن، آمینواسیدها، نشاسته، کالوتروپین، کالوتروپوجنین، فسفات‌ها، لیپیدها و کالوس است که این ترکیبات همگی حاوی باندهای هیدروکسیل بوده و بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش می‌دهد (Diaz et al., 2012). به طور کلی محققان قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات پلی‌فنلی را به افزایش فرآیند احیای قندها و تشکیل محصولات واکنش میلارد نسبت دادند؛ که این محصولات فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند (Madrau et al., 2009; Herch et al., 2014; İncedayi et al., 2016).

در میان گیاهان دارویی مورد بررسی در این مطالعه که به خصوصیات اتنوفارماکولوژیکی آنها پیشتر اشاره شده است (جدول ۳)؛ دو گیاه کارلا و خیار آب‌پران از محتوای فنلی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر گونه‌ها برخوردارند. کارلا بومی ایران نیست و بذر آن از هند و پاکستان وارد شده و برای اولین‌بار در استان سیستان و بلوچستان کشت شده است اما هم‌اکنون در اکثر نقاط ایران مانند سایر گیاهان تیره کدوئیان مورد کشت و کار قرار می‌گیرد و در نواحی شمالی این گیاه را با نام جگر زلیخا می‌شناسند. از میوه‌ی سبز آن به صورت رنده شده با ماست برای کاهش قند خون استفاده می‌شود. همچنین چیپس کارلا به صورت

دم‌نوش جهت درمان دیابت استعمال دارد. ضماد برگ و میوه کارلا به صورت خارجی در درمان زخم‌ها کاربرد دارد و استعمال خوراکی میوه و برگ آن اثرات کرم‌کشی و انگل‌کشی در سیستم گوارشی دارد. این گیاه ضدویروس بوده و در درمان هپاتیت و سرخک مفید است. در طب سنتی ترکی از میوه‌ی بالغ و رسیده ی کارلا به صورت خارجی جهت التیام سریع زخم‌ها استفاده می‌شود و به صورت داخلی سبب التیام زخم‌ها و مشکلات سیستم گوارش می‌گردد (Grover and Yadav, 2004). در کشورهای آسیایی از برگ، میوه و ریشه‌ی این گیاه به منظور کاهش تب استفاده می‌شود. همچنین در درمان قاعدگی دردناک، تسهیل زایمان و یا به عنوان کنترل زادآوری استفاده شده است (Beloin et al., 2005). در درمان آبله مرغان و سرخک در کودکان موثر بوده؛ گاهی برای بهبود بیماری‌های پوستی شاخساره گیاه درون آب خویسانده می‌شود (۱۰۰ گرم/ لیتر) و با آن استحمام می‌گردد و یا محل زخم جلدی به کمک اسفنج با این خویسانده مرطوب می‌شود. از بذر کارلا کمتر استفاده می‌شود چون در زنان ایجاد تهوع، دیسمنوره و سقط جنین می‌نماید (Beloin et al., 2005).

خیار آب‌پران که در ایران با نام‌های خر خیار، خیار دشتی، خیار وحشی، خیار شنگ، سیم آهنگ، کربز، خیارزه، کموزسگی و کموز کول معروف است بیشتر در استان‌های آذربایجان و گیلان می‌روید. برگ، گل، میوه و ریشه این گیاه در طب سنتی استفاده می‌شود. عصاره میوه‌ی خیار آب‌پران با نام الاتریوم در پزشکی کاربرد دارد. الاتریوم خاصیت بی‌حس‌کنندگی دارد و در مورد مالاریا و هاری به کار می‌رود. طبیعت آن گرم و خشک است و در طب سنتی پاک‌کننده‌ی دماغ، مسهل صفرا، بلغم خام و زرد آب است و برای فلج، کزاز، سردرد، دردهای مفاصل، نقرس، سیاتیک، سرفه سرد، تنگی نفس، بادها، بواسیر، خرد کردن سنگ کلیه و مثانه، قاعده‌آور و ادرارآور مفید است. خوردن دم‌کرده آن برای درمان جذام کاربرد دارد (Moayyed Amini, et al., 2016). در طب سنتی هند و چین از برگ و میوه‌ی خیار آب‌پران به عنوان تهوع‌آور و در درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌شود. این گیاه دارای خاصیت کاهندگی درد (مسکن)، کاهنده‌ی تب همراه با اسهال، کاهش التهاب و ضدعفونی‌کننده است. عصاره‌ی میوه خیار آب‌پران تخلیه کننده‌ی بسیار قوی کلون است و مصرف بیش از حد آن ایجاد مسمومیت و سردرد می‌کند (Moayyed Amini, et al., 2016). ترکیب کوکوربیتاسین B که از ترکیبات غالب میوه خیار آب پران است اثرات ضدتوموری قوی در سرطان سینه دارد (Wakimoto et al., 2008). در طب سنتی آناتولی، ریشه‌های خیار آب‌پران برای کاهش درد، درمان هموروئید، سینوزیت، یرقان، شب ادراری، کمر درد و گوش درد استفاده شده است (Toker et al., 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

نقش گیاه دارویی کارلا در درمان بیماری دیابت از طریق کاهش قند خون و تأخیر در بروز عوارض جانبی بیماری دیابت نظیر نفروپاتی، نوروپاتی، آب مروارید، آترواسکلروز و التیام زخم‌های عفونی بسیار قابل توجه است. علاوه بر این هنوز هیچ داروی سنتزی ارائه نشده است که بتواند به صورت جامع تمام عوارض جانبی ناشی از بیماری دیابت را کنترل کند حالیکه گیاه دارویی کارلا به خوبی با شرایط آب و هوایی کشور ما مخصوصا مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر سازگار بوده و در اکثر مناطق قابل کشت است فلذا می‌توان این داروی گیاهی را بسیار راحت و ارزان در اختیار بیماران قرار داد. همچنین با توجه به نتایج تحقیق حاضر، کارلا و خیار آب‌پران دارای

مقادیر قابل توجهی ترکیبات پلی‌فنلی بوده و می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی از خود نشان دهند؛ لذا استفاده از این گیاهان به عنوان غذا-دارو جهت بهره‌مندی از ترکیبات فعال زیستی و طبیعی آنها توصیه می‌گردد. پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیشتری جهت شناسایی مراکز پراکنش خیار آب‌پران در کشور و معرفی اکوتایپ‌های این گونه صورت گیرد.

References

1. Attard, E. and Attard, H. 2008. Antitryosin activity of extracts from *Ecballium elaterium* seeds. Fitoterapia, 79(3): 226-228.
2. Attard, E., Brincat, M.P. and Cuschieri, A. 2005. Immunomodulatory activity of cucurbitacin E isolated from *Ecballium elaterium*. Fitoterapia, 76(5): 439-441.
3. Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C. and Pinkas, M. 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel -Forschung, 46(11): 1086-1089.
4. Barros, L., Baptista, P. and Ferreira, I.C.F.R. 2007. Effect of fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Lactarius piperatus*. Food and Chemical Toxicology, 45(9): 1731-1737.
5. Beloina, N., Gbeassorb, M., Akpaganab, K., Hudsonc, J., Soussab, K., Koumaglob, K. and Arnasona, J.T. 2005. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. Journal of Ethnopharmacology, 96: 49-55.
6. Bernard, S.A., and Olayinka, O.A. 2010. Search for a novel antioxidant, anti-inflammatory/analgesic or anti-proliferative drug: Cucurbitacins hold the ace. Journal of Medicinal Plants Research, 4(25): 2821-2826.
7. Bizid, S., Sabbah, M., Msakni, I., Ben Slimene, B., Mohamed, G., Bouali, R., Ben Abdallah, H. and Abdelli, N. 2014. Cholestatic hepatitis due to *Ecballium elaterium.* Ingestion Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology, 39(5): 61-63.
8. Bohlooli, S., Jafari, N. and Jahed, S. 2012. Cytotoxic effect of freeze-dried extract of *Ecballium elaterium* fruit on gastric adenocarcinoma (AGS) and esophageal squamous cell carcinoma (KYSE30) cell lines. Journal of Gastrointestinal Cancer, 43(4): 579-583.
9. Carvalho, L.M.J., Smiderle, L., Carvalho J.L.V., Cardoso F.S.N. and Koblitz M.G.B. 2014. Assessment of carotenoids in pumpkins after different home cooking conditions. Food Science and Technology, 34: 76-77.
10. Chang, S.T., Wu, J.H., Wang, S.Y., Kang, P.L., Yang, N.S and Shyur, L.F. 2001. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 49(7): 3420-3424.
11. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3): 178-182.
12. Chirag, P., Tyagi, S.,Halligudi, N., Yadav, J., Pathak, S., Singh, S., Pandey, A., Singh, D. and Shankar K. 2013. Antioxidant activity of herbal plants: a recent review. Journal of Drug Discovery and Therapeutics, 1(8): 1-8.
13. Grover, J.K. and Yadav, S.P.- 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. Journal of Ethnopharmacology, 93: 123-132.
14. Diaz, P., Jeong, S.C., Lee, S., Khoo, C. and Koyyalamudi, S.R. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants and fungi containing phenolic and flavonoid compounds. Chinese Medicine, 7(1): 1-9.
15. Dou, D., Leng, P., Li, Y., Zeng, Y. and Sun, Y. 2013. Comparative study of antioxidant compounds and antiradical

properties of the fruit extracts from three varieties of *Crataegus pinnatifida*. Journal of Food Science and Technology, 52(1): 430-436.

16. Egea, I., Sanchez-Bel, P., Romojaro, F. and Pretel, M. T. 2010. Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. Plant Foods for Human Nutrition, 65(2): 121-129.
17. El Naggar, M.B., Chalupova, M., Prazanova, G., Parak, T., Švajdlenka, E., Žemlicka, M. and Suchy, P. 2015. Hepatoprotective and proapoptotic effect of *Ecballium elaterium* on CCl-induced hepatotoxicity in rats. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 8(7): 526-531.
18. Felhi, S., Hajlaoui, H., Ncir, M., Bakari, S., Ktari, N., Saoudi, M., Gharsallah, N. and Kadri, A. 2016. Nutritional, phytochemical and antioxidant evaluation and FT-IR analysis of freeze dried extracts of *Ecballium elaterium* fruit juice from three localities. Food Science and Technology, 36(4): 646-655.
19. Firouzkoohi, F., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Mohkami, Z. and Yosefzaei, F. 2018. The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of *Momordica charantia* L. cultured in Sistan region. Journal of medicinal plants ecophytochemistry, 5(4): 74-85.
20. Fongmoon, D., Lalitwongsa, S., Keyoonwong, W., Nakong, M. and Iamsaard, S. 2013. Antioxidant activity and cytotoxicity of bitter melon (*Momordica charantia* L.) Extract cultured in lampang Thailand. International Journal of Science, 10(2): 18-25.
21. Frankel E.N. 1999 .Recent advances in lipid oxidation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 54: 495-511.
22. Fidrianny, I., Ramadhani, S. and Komar, R. 2015. In vitro Antioxidant capacities of three organs of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) form west Java-Indonesia using DPPH and FRAP assays. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7(5): 1034-1041.
23. Ghorbani Ghozhdi, H. 2013. Introduction to the foundations of medicinal herbs, spices and aromatic plants. Shahroud University Publication, Shahroud, 587 p.
24. Ghous, T., Aziz, N., Mehmood, Z. and Andleeb, S. 2015. Comparative study of antioxidant, metal chelating and antiglycation activities of *Momordica charantia* flesh and pulp fractions. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 28(4): 1217-1223.
25. Greige-Gerges, H., Khalil, R.A., Mansour, E.A., Magdalou, J., Chahine, R. and Ouaini, N. 2007. Cucurbitacins from *Ecballium elaterium* juice increase the binding of Bilirubin and Ibuprofen to albumin in human plasma. Chemico-Biological Interactions, 169(1): 53-62.
26. Hamissou, M., Smith, A.C., Carter, R.E. and Triplett, J.K. 2013. Antioxidative properties of Bitter gourd (*Momordica charantia*) and Zucchini (*Cucurbita pepo*). Emirates Journal of Food and Agriculture, 25(9): 641.
27. Heidari, M. and Mobaseri Moghadam, M. 2012. Effect of rate and time of nitrogen application on fruit yield and accumulation of nutrient elements in *Momordica charantia*. Journal of the Saudi Society of Agriculture Sciences, 11(2): 129-133.
28. Herch, W., Kallel, H. and Boukhchina, S. 2014. Physicochemical properties and antioxidant activity of Tunisian Date Palm oil as affected by different extraction methods. Food Science and Technology, 34(3): 464-470.
29. Horax, R., Hettiarachchy, N. and Chen, P. 2010. Extraction, quantification, and antioxidant activities of phenolics from pericarp and seeds of bitter melons (*Momordica charantia*) harvested at three maturity stages (immature, mature, and ripe). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7): 4428-4433.
30. Hugh C.C. and Whitaker, T. W. 1961. History and Distribution of the Cultivated Cucurbits in the Americas. American Antiquity, 26(4): 469-485.
31. Husein, A.I., Ali-Shtayeh, M.S., Jondi, W.J., Zatar, N.A., Abu-Reidah, I.M. and Jamous, R.M. 2014. In vitro antioxidant

and antitumor activities of six selected plants used in the Traditional Arabic Palestinian herbal medicine. Pharm Biol, 52: 1249-1255.

32. İncedayi, B., Tamer, C.E., Sinir, G.O., Suna, S. and Çopur, O.U. 2016. Impact of different drying parameters on color, β-carotene, antioxidant activity and minerals of Apricot (*Prunus armeniaca* L.). Food Science and Technology, 36(1): 171-178.
33. Ismail, H.I., Chan, K.W., Mariod, A.A., and Ismail, M. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of Cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. Food Chemistry, 119: 643–647.
34. Jaradat, N., Jodehb, S., Rinnob, T., Kharoof, M., Zaida, A.N., and Hannon, M. 2012. Determination the presence of phytomelin in *Ecballium elaterium* to approve its folk uses. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(2): 233-237.
35. Katalinic, V., MIlos, M., Kulisic, T., Jukic, M. 2006. Screening of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry, 94: 550-577.
36. Kris-Ethertonm, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E. and Hilpert, K.F. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. American Journal of Medicine, 113: 71-88.
37. Kubola, J. and Siriamornpun, S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro. Food Chemistry, 110: 881-890.
38. Madrau, M.A., Pisicopo, A., Sanguinetti, A.M., Del Caro, A., Poiana, M., Romeo, F.V. and Piga, A. 2009. Effect of drying temperature on polyphenolic content and antioxidant activity of apricots. European Food Research and Technology, 228: 441-448.
39. Mathew, S. and Abraham T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food Chem Toxicol: 44:198-206.
40. Moayyed Amini, R., Ghanbari,A.R., Staji, A., Shokouhian, A.A. and Elhami, B. 2017. Assessment of phisico-chemical and genetic variation by ISSR markers in squirting cucumber (*Ecballium elaterium*) Ardebil province. M.Sc.thesis, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Horticultural Sciences, University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil.
41. Nile, S.H. and Park, S.W. 2013. Total phenolics, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of three colored onions (*Allium cepa* L.). Front Life Sci, 7: 224–228.
42. Nile, S.H. and Park, S.W. 2015. Chromatographic analysis, antioxidant, anti-inflammatory and xanthine oxidase inhibitory activities of ginger extracts and its reference compounds. Ind Crop Prod, 70: 238–244.
43. Nile, S.H., Nile, A.S. and Keum,Y.S. 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. Biotech, 7: 76-86.
44. Othman, A., Ismail, A., Ghani, N. A. and Adenan, I. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of Cocoa beans. Food Chemistry, 100, 1523-1530.
45. Phillips, K.M., Ruggio, D.M. and Ashraf-Khorassani, M. 2005. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 9436-9445.
46. Patel, S., Patel, T., Parmar, K., Patel, B. and Patel, P. 2011. Evaluation of antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of *Momordica charantia* Linn fruit. Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals, 1: 120-129.
47. Rabrenovic, C.C., Dimic, E.B., Novakovic, M.M., Tesevic, V.V. and Basic, Z.N. 2014. The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pipo* L.) seeds. Food Sci Technol, 55: 521-527.
48. Sabudak, T. 2007. Fatty acid composition of seed and leaf oils of pumpkin. Walnut,

almond, maize, sunflower and melon. Chem Nat Compounds, 43: 465-467.
49. Salhab, A.S. 2013. Human exposure to fruit juice: fatal toxicity and possible remedy *Ecballium elaterium*. Pharmacology and Pharmacy, 4(05): 447-450.
50. Sargin, S.A., Akcicek, E. and Selvi, S. 2013. An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 150(3): 860-874.
51. Shahidi, F. and Naczk, M. 2004. Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press. United States, 576 p.
52. Shan, B., Xie, J.H., Zhu, J.H. and Peng Y. 2012. Ethanol modified supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from *Momordica charantia* L. and its antioxidant activity. Food and Bioproducts Processing, 90: 579-587.
53. Smith, B.D. 1997. The initial domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10,000 years ago. Science, 276: 932-934.
54. Stevenson, D.G., Eller, F.J., Wang, L., Jane, J.L. and Wang, T. 2007. Oil and tocopherole content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 4005-4013.
55. Tachakittirungrod, S., Okonogi, S. and Chow wanapoonpohn, S. 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of Guava leaf extract. Food Chemistry, 103(2): 381-388.
56. The´riault, V., Bernatchez, L. and Dodson, J.J. 2007. Mating system and individual reproductive success of sympatric anadromous and resident brook charr, *Salvelinus fontinalis*, under natural conditions. Behavioral Ecology and Sociobiology, 62: 51-65.
57. Toker, G., Memisoglu, M., Toker, M.C. and Yesilada, E. 2003. Callus formation and cucurbitacin B accumulation in *Ecballium elaterium* callus cultures. Fitoterapia, 74(7-8): 618-623.
58. WHO. [No authors listed]. 1993. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser, 837: 1-53.
59. Wakimoto, N., Yin, D., O'Kelly, J., Haritunians, T., Karlan, B., Said J., Xing, H. and Koeffler, H.P. 2008. Cucurbitacin B has a potent antiproliferative effect on breast cancer cells in vitro and in vivo. Cancer Sci, 99(9):1793-1797.
60. Yanishlieva-Maslarova, N.V. 2001. Inhibiting oxidation. In J. Pokorny, N., Yanishlieva, & M.H. Gordon (Eds.), Antioxidants in food: Practical applications (pp. 22-70). England, 400 p.