ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین محتوای تام فنولی و فلاونوییدی عصارهٔ گیاه Adonis aestivalis L. جمع آوری شده از استان لرستان

مرضیه حسینی[۱]، محبوبه طاهرخانی[۲*]، مجید قربانی نهوجی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه آموزشی فیتوشیمی و شیمی فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. استادیار، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران

۳. استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۰۲)

چکیده

گیاه چشم خروس (*Adonis aestivalis* L.) متعلق به قبیلهٔ Ranunculeae و از تیرهٔ آلاله (Ranunculaceae) می‌باشد. وجود ترکیبات تترا ترپنوییدی، فنولی و گلیکوزیدهای قلبی در جنس *Adonis* گزارش شده است. مهم ترین مزیت این گیاه، کاربرد آن در درمان بیماری‌های ناشی از ضعف عضلات قلبی می‌باشد. همچنین در گذشته از این گیاه جهت درمان ناراحتی‌های جنسی استفاده می‌شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی، محتوای تام فنلی و فلاونوییدی عصارهٔ متانولی ۸۰٪ و عصاره اتیل استاتی این گیاه و مقایسهٔ این دو عصاره با یکدیگر می‌باشد. محتوای تام فنولی عصاره‌های این گیاه نیز با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و گالیک اسید به عنوان استاندارد انجام شد. همچنین محتوای تام فلاونوییدی عصاره‌ها به روش اسپکتروفوتومتری و توسط کاتچین به عنوان استاندارد انجام شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از روش آنتی اکسیدانی- احیا کنندگی فریک(FRAP) به دست آمد. محتوای تام فنولی (۲/۳۵ ± ۶۰۷/۲۶ میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه) و فلاونوئیدی (۰/۰۰۷ ± ۹۷/۸۱ میلی‌گرم کاتچین در گرم نمونه) عصارهٔ متانولی ۸۰٪ بیشتر از عصارهٔ اتیل استاتی به دست آمد. همچنین عصارهٔ متانولی ۸۰٪ دارای خاصیت آنتی اکسیدانی- احیاء کنندگی فریک (۰/۰۰۱ ± ۳/۹۸۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم نمونه) بیشتری نسبت به عصارهٔ اتیل استاتی (۰/۰۰۰۴ ± ۳/۴۹۴ mg GAE/g) می‌باشد. نتایج نشان داد که عصارهٔ متانولی ۸۰٪ گیاه آدونیس از اثرات آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالایی برخوردار بوده و به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی مستلزم تحقیقات بیشتر و جامع‌تری می‌باشد.

کلیدواژگان

اثرات آنتی اکسیدانی، خانواده آلاله، محتوای فنول و فلاونویید، *Adonis aestivalis* L.

* نویسنده مسئول، رایانامه: Mahtaherkhani@yahoo.com

مقدمه

جنس *Adonis* متعلق به زیر تیرهٔ Ranunculoidae و قبیلهٔ Ranunculeae از تیرهٔ آلاله (Ranunculaceae) و از گیاهان شاخص نیمکره شمالی (دنیای قدیم) می‌باشد که بر اساس خصوصیات رویشی گیاه، شکل میوه، شکل گل و همچنین منطقهٔ پراکنش گونه‌های مختلف این جنس در دو بخش (Section) طبقه بندی شده است [۱]. بخش اول Sect. *Consiligo* که متشکل از گیاهان چند سالهٔ این جنس بوده و با دارا بودن بیش از ۳۰ گونه در مناطق مختلف جهان قدیم دارای پراکندگی گسترده می‌باشد. بخش دوم Sect. *Adonis* متشکل از گیاهان یکساله این جنس می‌باشد و با دارا بودن بیش از ۱۰ گونه در جهان شناخته شده است. گیاهان این بخش تماماً در نواحی حاشیه دریای مدیترانه و منطقه خاورمیانه پراکندگی دارند [۱]. از زمان‌های بسیار قدیم از این گیاه جهت درمان ناراحتی‌های جنسی استفاده شده است و اخیراً کاربرد آن در رابطه با ناراحتی‌های قلبی بیشتر شده است [۲و۳]. این گیاه منبع مهمی برای گلیکوزیدهای کاردیاک (قلبی) به اسم کاردنولیدها می‌باشد که اثر تقویتی قابل ملاحظه‌ای بر عضلات قلب دارد. از این میان گیاه *Adonis aestivalis* با نام‌های فارسی گل آتشین، چشم خروس تابستانه و نام‌های محلی گل دکمه و گل چشم دردو در درمان روماتیسم و بیماری‌های قلبی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴]. میزان این نوع مواد مؤثره در گیاهان چندسالهٔ این جنس به مقدار قابل توجهی بیشتر از سایر گونه‌های یکساله بوده و در بین گونه‌های یکساله، گونه *A. aestivalis* مقدار بیشتری از این مواد مؤثره را دارا می‌باشد. مواد مؤثره در تمامی قسمت‌های این گیاه یافت می‌شود و دوزهای بالای این مواد با ایجاد اثرات مسمومیت شدید در انسان و دام همراه می‌باشد. اما از جهت دیگر تأثیر این کاردنولیدها از کاردنولیدهای مشابه در گیاهان دیگری چون گل انگشتانه (*Digitalis*) بیشتر و سریع‌تر می‌باشد و مواد آن در بدن نیز تجمع پیدا نمی‌کند [۲و۳]. لذا منبع مناسبتری برای محققان علم داروسازی، پزشکی و شیمی گیاهی جهت استخراج و استفاده از این مواد مؤثره می‌باشد.

آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند باعث پیشگیری بیماری هایی مانند سرطان و پیری (با ایجاد پایداری ژنتیکی) شده و آسیب‌های قلبی و حوادث قلبی مربوط به میوکارد و ترومبوز شریان کرونر را کاهش داده و اثر حفاظتی بر علیه HIV داشته باشند [۵و۶]. در بین بافت‌های بدن، مغز بیشتر در معرض آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد چون مغز دارای میزان بالایی از متابولیسم‌های اکسیداتیو بوده و همچنین غلظت بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع و سطح نسبتاً پایینی از آنتی اکسیدان‌ها را دارد. به منظور جلوگیری از تخریب مواد غذایی که به دلیل اکسایش چربی های غیر اشباع و سایر عوامل روی می‌دهد، آنتی اکسیدان‌ها را به فرآورده‌های غذایی می‌افزایند [۷]. از آنجایی که اعتقاد بر این است که آنتی اکسیدان‌های طبیعی سمیت و عوارض آنتی اکسیدان‌های شیمیایی را ندارد، لذا شناسایی گیاهانی با خاصیت آنتی اکسیدانی ضروری به نظر می‌رسد. از این رو هدف از این تحقیق ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین محتوای تام فنولی و فلاونوییدی عصارهٔ گیاه *A. aestivalis* L. جمع آوری شده از استان لرستان می‌باشد. پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که تاکنون هیچ گونه تحقیقی بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه *A. aestivalis* L. صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه

گونهٔ گیاهی *Adonis aestivalis* L. از غرب کشور

ایران، استان لرستان، شهرستان کوهدشت (موقعیت جغرافیایی ´´41.45 ´26 °33 :N, ´´29.14 ´37 °47 :E) در اردیبهشت ماه ۱۳۹۵ جمع آوری شد. پس از جمع آوری گیاه، تعدادی از نمونه‌های گیاهی خشک و پرس شده و سپس به آزمایشگاه گیاه شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی منتقل گردید. پس از آماده سازی نمونه‌های هرباریومی، گیاهان جمع آوری شده توسط منابع معتبر گیاه شناسی مورد شناسایی دقیق قرار گرفته و در نهایت به صورت معتبر و مؤثر در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با اختصاص کد و شماره IMPH-4542 ثبت و مستند سازی گردید. بخش عمده‌ای از گیاهان جمع‌آوری شده نیز جهت استفاده در مرحله عصاره‌گیری به فضایی دور از نور و رطوبت منتقل شده و در دمای محیط خشک و سپس آسیاب شدند.

مواد شیمیایی و معرف ها

تمامی مواد شیمیایی، معرف‌ها و استانداردهای استفاده شده از شرکت‌های Merck، Sigma-Aldrichو Fluka خریداری شدند.

دستگاه ها

به منظور تهیهٔ عصاره خشک از دستگاه روتاری مدل EL 131ساخت کشور آلمان مجهز به حمام آب گرم مدل BUCHI 461 استفاده شد و برای اندازه‌گیری خاصیت آنتی اکسیدانی و مقدار محتوای تام فنلی و فلاونوییدی از دستگاه اسپکتروفوتومتر فرابنفش مدل PC X-ma 2000 ساخت شرکت Human corporation استفاده شد. جهت سونیکاسیون عصاره‌ها از دستگاه فراصوت مدل LC BOH ساخت شرکت Elmaاستفاده شد. همچنین به منظور همزدن محلول‌ها از دستگاه Shaker، مدل DS 623 استفاده شد. برای توزین مواد از ترازوی مدل AND HR-200 ساخت ژاپن با دقت ۴ رقم اعشار (۰/۰۰۰۱) استفاده گردید.

عصاره گیری و تغلیظ

به منظور عصاره گیری از گیاه از روش ازکان و همکاران استفاده شد [۸]. به این صورت که مقدار ۲۰ گرم از پودر گیاه با ۲۰۰ میلی لیتر از حلال (یکبار متانول ۸۰٪ و یکبار اتیل استات) به مدت ۲ ساعت توسط دستگاه اولتراسونیک عصاره گیری شد. پس از صاف شدن با قیف بوخنر و کاغذ صافی توسط روتاری (دستگاه تقطیر در خلأ) در دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. عصارهٔ تغلیظ شده و بازده عصاره گیری به دست آمد و پس از آن عصاره به مدت ۲ روز در دمای محیط قرار داده شد تا خشک شود.

بررسی محتوای تام فنــولی گیــاه (Total phenolic content)

جهت بررسی محتوای تام فنولی از روش Kahkonen و همکاران استفاده شد و همچنین از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد [۹]. ابتدا ۳۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها (رقیق شده توسط DMSO) (با غلظت ۰/۰۰۵ گرم بر میلی لیتر) در داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر معرف فولین (Folin-Ciocalteus) و ۱/۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ به محلول بالا اضافه و خوب هم زده شد. در ادامه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شد و سپس جذب آنها در ۷۶۰ نانومتر توسط طیف سنج ماوراء بنفش خوانده شد. روش مشابهی برای تمامی محلول‌های گالیک اسید استاندارد انجام گردید و منحنی استاندارد گالیک اسید رسم شد. با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید رسم شده، می‌توان مقدار کل ترکیب‌های فنلی عصاره ها را توسط فرمول زیر بدست آورد.

=مقدار کل ترکیب‌های فنلی عصاره

((۰/۰۰۱ / (۰/۰۳۳ - میزان جذب نوری اسانس))

بررسی محتوای تام فلاونوییدی گیاه (Total flavonoid content)

محتوای تام فلاونوییدی موجود در عصارهٔ گیاه بر اساس روش Zhishen و همکارانش انجام شد [۱۰]. ابتدا ۰/۲۵ میلی‌لیتر از نمونه رقیق‌شده با غلظت (۰/۰۰۵گرم بر میلی لیتر) به یک لوله حاوی ۱میلی لیتر آب دوبار تقطیرشده اضافه گردید. سپس ۰/۷۵ میلی لیتر از ۵٪ $NaNO_2$ و ۰/۰۷۵ میلی لیتر از ۱۰٪ $AlCl_3$ و ۰/۵میلی لیتر از1M NaOHدر زمان صفر و پنج و شش دقیقه پشت‌سرهم اضافه شدند. نهایتاً حجم محلول واکنش به‌همراه آب دوبار تقطیرشده به‌میزان ۲/۵ میلی لیتر تنظیم گردید. جذب محلول به‌وسیله اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فلاونوئیدی موجود در هر عصارهٔ گیاه بر اساس میلی‌گرم catechin هم‌ارز (CE) بر گرم عصاره گیاه بیان شد.

بررسی قدرت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه به روش احیاکنندگی فریک (FRAP)

جهت بررسی قدرت آنتی اکسیدانی– احیا کنندگی فریک از روش Oyaizu و همکاران استفاده شد [۱۱]. ابتدا یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با غلظت(۰/۰۰۵گرم بر میلی لیتر) تهیه و به ۲/۵ میلی-لیتر از بافر فسفات پتاسیم با ۶/۶PH اضافه شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر فری سیانید پتاسیم ۱٪ به محلول مرحله قبل افزوده و محلول قبلی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد. به محلول قبلی ۲/۵ میلی لیتر اسید تری کلرو استیک ۱۰٪ اضافه شد. محلول حاصل به حجم‌های مساوی ۲/۵ میلی لیتر تقسیم شد و به هر کدام از این محلول‌ها ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس به هر کدام ازاین محلول‌ها ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن ($FeCl_3$-$6H_2O$) اضافه و سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد. نهایتاً جذب هر کدام از این لوله‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

از گالیک اسید به عنوان استاندارد جهت این تست استفاده گردید. قدرت احیا کنندگی آهن بر اساس معادل گالیک اسید به صورت میلی‌گرم در گرم نمونه مورد استفاده ذکر شد. با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید رسم شده، قدرت احیا کنندگی آهن عصاره‌ها بدست آمد [۱۱].

تجزیه و تحلیل آماری

برای هریک از آزمون های مورد بررسی آزمایش در ۳ تکرار انجام شد و نتایج به دست آمده میانگین سه تکرار± انحراف معیار بودند. داده ها با کمک نرم افزار Excelآنالیز شدند.

نتایج

بازده عصاره گیری

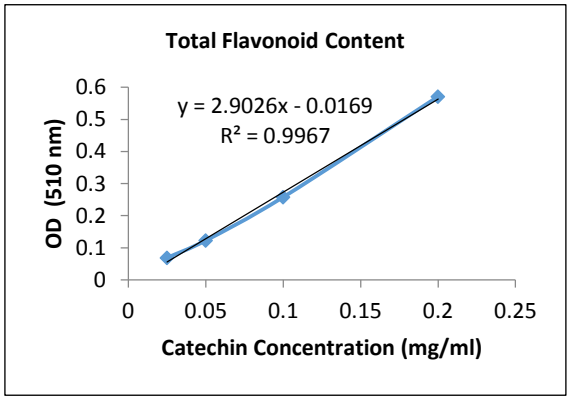
بازده عصاره گیری برای عصارهٔ متانولی ۸۰٪ معادل ۵/۹۲ و برای عصارهٔ اتیل استاتی معادل ۵/۱۸ درصد وزنی - وزنی بدست آمد.

محتوای تام فلاونوییدی گیاه

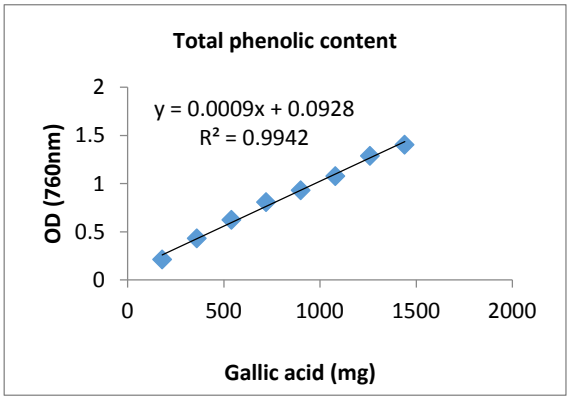
محتوای تام فلاونوییدی عصاره‌های گیاه برحسب میلی گرم کاتچین بر گرم نمونه و به صورت جدول ۱ به دست آمد. از کاتچین به عنوان یک فلاونوئید استاندارد استفاده شد (شکل ۱).

جدول ۱- تعیین محتوای تام فلاونوییدی عصاره برحسب میلی گرم کاتچین بر گرم نمونه

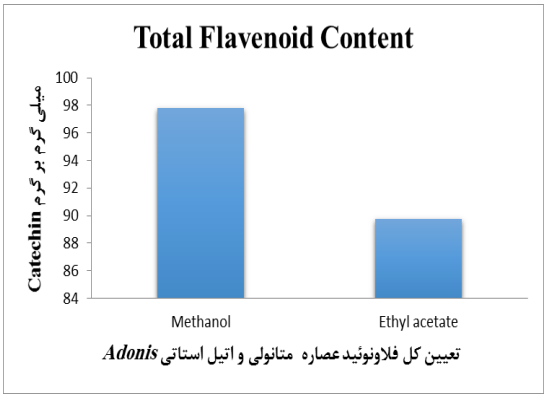
نوع عصاره	میلی‌گرم در گرم نمونه
متانولی ۸۰٪	۹۷/۸۱ ± ۰/۰۰۷
اتیل استاتی	۸۹/۷۳ ± ۰/۰۰۳



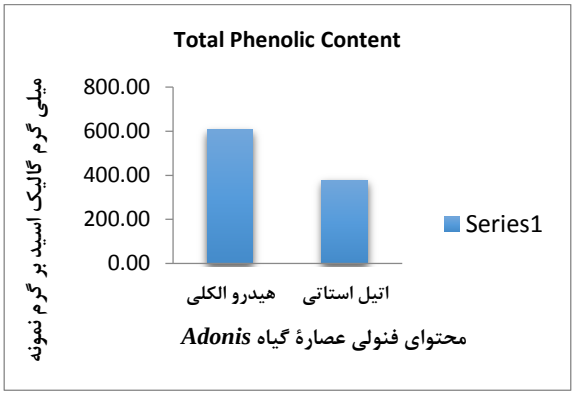
شکل ۱- منحنی استاندارد کاتچین



شکل ۳- منحنی استاندارد گالیک اسید



شکل ۲- تعیین کل فلاونویید عصاره ها بر حسب میلی گرم کاتچین بر گرم نمونه



شکل ٤- تعیین محتوای تام فنولی عصاره ها برحسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه

محتوای تام فلاونوئیدی عصارهٔ متانولی ۸۰٪ (۰/۰۰۷ ± ۹۷/۸۱ میلی گرم کاتچین بر گرم نمونه) بیشتر از عصارهٔ اتیل استاتی (۰/۰۰۳ ± ۸۹/۷۳) به دست آمد (شکل ۲).

محتوای تام فنولی گیاه

محتوای تام فنولی گیاه با استفاده از روش فولین-سیوکالتو و با استاندارد گالیک اسید به عنوان استاندارد (شکل ۳) اندازه گیری شد و نتایج به صورت جدول ۲ به دست آمد (شکل ۴).

جدول۲- تعیین محتوای تام فنولی عصاره ها برحسب میلی گرم گالیک اسید برگرم نمونه

تعیین محتوای تام فنولی عصاره	
نوع عصاره	میلی‌گرم در گرم نمونه
متانولی ۸۰٪	۶۰۷/۲۶ ± ۲/۳۵
اتیل استاتی	۳۷۸/۳۷ ± ۸/۶۴

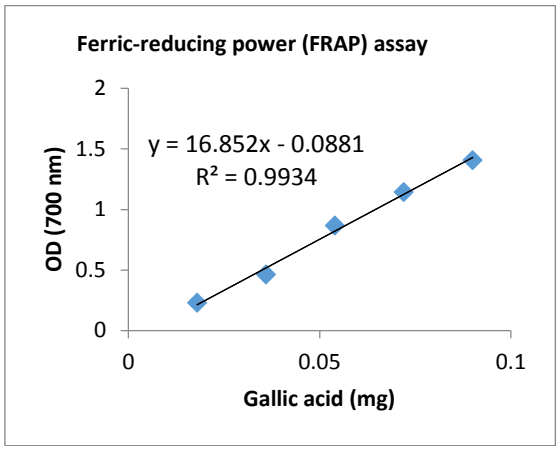
مطابق با نتایج به دست آمده، محتوای تام فنولی عصارهٔ متانولی ۸۰٪ (۲/۳۵ ± ۶۰۷/۲۶ میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه) بیشتر از عصارهٔ اتیل استاتی (۸/۶۴ ± ۳۷۸/۳۷) به دست آمد.

اثرات آنتی اکسیدانی عصاره گیاه

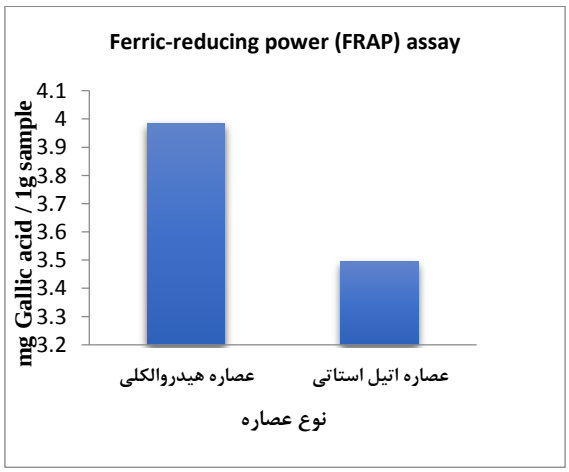
ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه به روش قدرت آنتی اکسیدانی – احیاکنندگی فریک FRAPمورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی در تست FRAP به صورت میلی‌گرم در گرم عصاره گزارش شد (جدول ۳). از گالیک اسید به عنوان استاندارد آنتی اکسیدان استفاده و نمودار جذب آن رسم گردید (شکل ۵).

جدول ۳- قدرت احیاء فریک FRAP عصاره‌ها برحسب معادل گالیک اسید (میلی‌گرم در گرم نمونه)

قدرت احیای فریک FRAP معادل گالیک اسید (میلی گرم در گرم نمونه)	
نوع عصاره	میلی‌گرم در گرم نمونه
متانولی ۸۰٪	۳/۹۸۵ ± ۰/۰۰۱
اتیل استاتی	۳/۴۹۴ ± ۰/۰۰۰۴



شکل ۵- نمودار منحنی گالیک اسید به عنوان استاندارد جهت تعیین قدرت احیاء کنندگی



شکل ۶- تعیین قدرت احیا فریک FRAP عصاره ها برحسب معادل گالیک اسید (میلی گرم در گرم نمونه)

همانطور که در شکل ۶ دیده می‌شود عصارهٔ متانولی ۸۰٪ دارای خاصیت آنتی اکسیدانی- احیاء کنندگی فریک (۰/۰۰۱ ± ۳/۹۸۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم نمونه) بیشتری نسبت به عصارهٔ اتیل استاتی (۰/۰۰۰۴ ± ۳/۴۹۴ میلی گرم گالیک اسید در گرم نمونه) برخوردار است.

بحث

آنتی اکسیدان های طبیعی بیشتر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنلی هستند. محتوای فنلی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته می‌باشند. ترکیبات آنتی اکسیدانی فراوانی در گیاهان موجود می باشند و شناسایی تک تک آنها کاری دشوار می‌باشد. بنابراین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با سنجش‌های مختلفی ارزیابی می‌گردند. در جنس *Adonis* وجود ترکیبات فنولی و تتراترپنوییدی به اثبات رسیده است [۱۲]. در این پروژه ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی از روش قدرت آنتی اکسیدانی- احیا کنندگی فریک صورت گرفت و همچنین محتوای تام فنولی و فلاونوییدی بررسی و مقایسه گردید. لذا بررسی‌هایی که دراین پروژه صورت گرفت نشان دهندهٔ محتوای تام فنولی بالای عصاره متانولی این گیاه بود که با خاصیت آنتی اکسیدانی آن در ارتباط است. بر اساس تحقیقات قبلی صورت گرفته رابطهٔ مستقیمی میان محتوای فنولی یک عصاره و خاصیت آنتی اکسیدانی آن وجود دارد [۱۳]. به طوری‌که اثرات آنتی اکسیدانی عصارهٔ یک گیاه به دلیل وجود ترکیبات فنولی، بیشتر به علت ممانعت از اکسیداسیون می‌باشد [۱۳و۱۴]. به طوری‌که فعالیت آنتی اکسیدانی عصارهٔ یک گیاه را به کثرت ترکیبات فنولی آن نسبت می‌دهند [۱۵]. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که حلال متانول ۸۰٪ نسبت به اتیل استاتی دارای قدرت بالاتری در استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از گیاه و به موازات آن بروز خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. به طوری‌که فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاهان مربوط به فنل‌ها و فلاونوئیدهای آن‌ها بوده که به خاطر داشتن ظرفیت

تداخل با عملکرد میتوکندری و دفع رادیکال‌های پروکسی و کاهش یا کلاته کردن آهن در آنزیم لیپواکسیژناز، از شروع فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی و تولید رادیکال‌های آسیب رساننده به ماده ژنتیکی جلوگیری کرده و به عنوان عوامل اصلی ضد جهش‌زایی به کار می‌روند [۱۶]. نتایج این تحقیق در تأیید تحقیقات صورت گرفتهٔ دیگر است که نشان می‌دهد عمدهٔ ترکیبات موجود در *A. aestivalis* L. مربوط به ترکیبات فنولی می‌باشد [۱۲]. در یک تحقیق قبلی صورت گرفته، ترکیبات شیمیایی سازنده اسانس، اسیدهای چرب و عصارهٔ گیاه *Adonis wolgensis* L. و خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتری آن مورد بررسی قرار گرفت. ترکیبات اصلی سازنده اسانس اندام هوایی این گیاه، پالمیتیک اسید (۳۲/۹۷٪)، متیل لینولنات (۱۱/۸۹٪) و فیتول (۱۰/۳۲٪) بودند. در این تحقیق، عصارهٔ متانولی اندام هوایی گیاه *A. wolgensis* L برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی با روش های مهار رادیکال DPPH و قدرت کاهندگی مورد بررسی قرار گرفت که در آن عصارهٔ متانولی با دارا بودن مقادیر بالایی از فنول کل (۰/۰۱ ± ۹/۲۰ میلی گرم گالیک اسید بر وزن خشک گیاه)، فعالیت آنتی اکسیدانی مؤثری را از خود نشان داد، درصورتی که اسانس اندام هوایی این گیاه هیچ گونه فعالیت ضدباکتری قابل ملاحظه ای را از خود نشان نداد. از طرفی نتایج به دست آمده از روش MIC نشان داد که عصاره متانولی گیاه *A. wolgensis* L در مقابل رشد اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریتیدیس مؤثر بوده ولی در مقابل رشد باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس هیچ تاثیری ندارد[۱۷]. کاروتنوئیدها و سایر استرهای فتی اسیدها در گلبرگ گیاه *A. aestivalis* وجود دارد [۱۸]. محتوای کاروتنوئیدی کل در گلبرگ های گیاه مذکور برابر با مقدار ۱۹۷۹/۸۸ میکروگرم بر گرم به گزارش شده است [۱۹]. سه نوع از پنج کاردتولیداستخراج شده از بذر گیاه *A. aestivalis* L. از خود خاصیت ضد سرطانی در مقابل رده سلول های بدخیم سرطانی نشان داده است [۲۰]. بر اساس تحقیقات Neamtu و همکارانش بیشتر از ۸۰٪ از پیگمنت های *A. aestivalis* L. مربوط به astaxanthin در فرم استری می باشد [۲۱].

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصارهٔ گیاه *Adonis aestivalis* L. دارای اثرات آنتی اکسیدانی بوده و همچنین حلال متانول ۸۰٪ نسبت به حلال اتیل استاتی دارای قدرت بالاتری در استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و به موازات آن بروز خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. همچنین بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و مقایسه آن با محتوای تام فنولی و فلاونوییدی عصاره‌ها ارتباط بین محتوای تام فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی را نیز تایید می‌نماید. از سوی دیگر با بررسی محتوای تام فنولی و فلاونوییدی گیاه مشخص شد که گیاه حاوی ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به ترکیبات فلاونویید می‌باشد. بنابراین در پروژه‌های آتی شناسایی، استخراج و مقایسه مهم ترین ترکیبات فنولی عصاره گیاه و همچنین بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف گیاه مستخرج از حلال‌ها و روش‌های مختلف عصاره‌گیری و نیز روش‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی در مدل‌های آزمایشگاهی و بالینی پیشنهاد می‌گردد.

تشکرو قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی به خاطر مساعدت در استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی و از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی بابت همکاری صمیمانه در تهیه، شناسایی و معتبر سازی گیاه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع و مآخذ

1. Pushkurlat AP. The genus *Adonis* L. Pheasant's eye. Systematic, Distribution and Biology (in Russian). Russian Academy of sciences, institute of Environment and Development. Science Press, Moscovo. 2000.
2. Kopp B, Krenn L, Kubelka E, Kubelka W. Cardenolides from *Adonis aestivalis*. *Phytochemisrty*; 31(9): 3195-3198, 1992.
3. Pauli GF, Junior P, Berger S, Matthiesen U. Alepposides, Cardenolide Oligoglycosides from *Adonis aleppica*. *Journal of Natural product*; 56(1): 67-75, 1993.
4. Dolatkhahi M, Ghorbani Nohooji M, Mehrafarin A, Amini Nejad GR, Dolatkhahi A. Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in Kazeroon, Iran: Identification, Distribution and Traditional Usage, *Journal of medicinal plants*; 2(42): 163-178, 2012.
5. Singh RB. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected actue Myocardial infarction (the Indian Experiment of Infarct Survival-3). *The American Journal of Cardiology*; 77(4): 232-236, 1996.
6. Edeas M, Khalfoun Y, Lazizi Y, Vergnes L, Labidalle S, Postaire E, Lindenbaum A. Effect of the liposolubility of free radical scavengers on the production of antigen P24 from a HIV infected monocytic cell line, *C R Seances Soc Biol Fil*; 189(3): 367-373, 1995.
7. Jamieson D. The relation of free radical production to hyper oxia. *Annu Reviwe physiology*; 48: 703-719, 1986.
8. Ozkan G, Sagdic O, Ekici L, Ozturk Ozcan MM. Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. *J. Food Lipids*; 14(2): 157-169, 2007.
9. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 47(10): 3954-3962, 1999.
10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*; 64(4): 555-559, 1999.
11. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*; 44(6): 307-15. 1986.
12. Kamata T, Simpson KL. Study of astaxanthin diester extracted from *Adonis aestivalis* L., *Biochemistry Physiology*; 86(3): 587-91. 1987.
13. Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Ruberto G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils, *Flavour and Fragrance Journal*; 13(4): 235-44. 1998.
14. Emad S. Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sun flower. *LWT*; 39: 883-92. 2006.
15. Bamdad F, Kadivar M, Keramat J. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *Food Sci. Technol*; 41(S1): 20-7. 2006.
16. Harman D. Role of free radicals in aging and disease. *Annals of New York Academy of Sciences*; 673: 126-41. 1992.
17. رحمت اله توکلی، بررسی های فیتوشیمیایی شامل استخراج و شناسایی اسانس، اسیدهای چرب و عصاره از گیاه خاک شیر و چند گیاه بومی شمال ایران مانند چشم خروس، آلاله برفی و تعیین خواص آنتی اکسیدان و

ضد میکروبی آنها، پایان‌نامه دولتی وزارت علوم، تحقیقات، و فناوری، دانشگاه مازندران، دانشکده مهندسی شیمی، ۱۳۹۱، دکترای تخصصی.

18. Maoka T, Etoh T, Kishimoto S, Sakata S. Carotenoids and their fatty acid esters in the petals of *Adonis aestivalis*; *Journal of Oleo Science*, 60(2): 47-52. 2011.
19. Kamata T, Neamtu G, Tanaka Y, Sameshima M, Simpson KL. Utilization of *Adonis aestivalis* as a dietary pigment source for Rainbow Trout Salmo gairdneri. *Nippon Suisan Gakkaishi*; 56(5): 783-8. 1990.
20. Kubo S, Kuroda M, Matsuo Y, Masatani D, Sakagami H, Mimaki Y. New cardenolides from the seeds of *Adonis aestivalis*. *Chem Pharm*; 60(10), 1275-82. 2012.
21. Neamtu GG, Tamas V, Bodea C. Die Carotinoide aus einigen Adonis-Arten. *Rev Roum Biochem*; 3: 305-10. 1960.