

ارزیابی توام ظرفیت آنتی اکسیدانی و میزان فلاونوئیدهای عصاره الکلی

برخی از گیاهان رایج طب سنتی

فاطمه کریم‌نژاد^۱، فهیمه فیروزبخت^۱، صدیقه میرلطیفی^۱، شهرزاد قدیمی^۱، فاطمه فرجامند^{۲*}

چکیده

در سال‌های اخیر یافتن ترکیبات جدید با منشأ گیاهی در درمان، تخفیف و پیشگیری از بیماری‌ها مورد توجه محققان قرار گرفته است. گاوزبان، چای سبز، بابونه، برگ درخت توت و رزماری به کرار در طب سنتی و توسط عام استفاده می‌گردد. مطالعه علوم پایه‌ای (Experimental) با هدف ارزیابی همزمان توان آنتی-اکسیدان و میزان فلاونوئیدهای عصاره الکلی این پنج گیاه و تعیین میزان توان آنتی اکسیدانی گیاهان با ارزیابی احیا یون آهن (FRAP assay) و میزان فلاونوئیدهای آنها با آزمون توانایی در واکنش با آلومینیوم صورت پذیرفت. در این آزمون، گیاه رزماری دارای بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی و از لحاظ میزان فلاونوئیدها گیاه بابونه بیشترین اثر را نشان داد ($P < 0.05$). گیاه چای سبز دارای اثرات توام آنتی اکسیدانی و فلاونوئیدی بود. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از روش‌های غربالگری همانند روش‌های فوق‌الذکر فرصتی برای یافتن ترکیبات فعال دارای چند اثر متفاوت را فراهم خواهد کرد.

واژگان کلیدی: گیاهان طب سنتی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان فلاونوئیدها

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۱۷

مقدمه

شواهد تجربی نشان داده است که استرس اکسیداتیو در ایجاد و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها همانند ارترواسکلروزیس، پیری، سرطان و ناهنجاری‌های ایمنی از جمله آسم نقش دارند (۳). استرس اکسیداتیو در اثر تولید رادیکال‌های آزاد حادث می‌گردد. مهمترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی اکسیدان‌ها هستند. نقش فیزیولوژیکی آنتی اکسیدان‌ها در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های بیولوژی همانند اسیدهای چرب، لیپو پروتئین، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه وارد کرده و منجر به موتاسیون در ژن‌ها خواهند شد.

دانشمندان و متخصصین تغذیه همواره درصدد یافتن ترکیباتی با خواص آنتی اکسیدانی جهت کاهش اثرات تحمیلی رادیکال‌های آزاد بر بدن و استرس اکسیداتیو می‌باشند (۹). گیاهان دارای ترکیبات با ارزشی هستند که علاوه بر افزایش کیفیت و ارزش تغذیه‌ای غذا به صورت‌های دیگر از جمله نوشیدنی، رنگ، مواد آرایشی، دارویی و درمانی استفاده می‌گردند. برخی از آنها دارای آنتی اکسیدان طبیعی به میزان قابل توجه‌ای هستند. به دنبال مصرف آنها مشاهده شده که ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما به طور معنی‌داری افزایش یافته است (۸). بعلاوه گیاهان دارای فلاونوئیدها هستند. ترکیبات فوق‌الذکر دارای خواص بیولوژیکی فراوانی می‌باشند. آنها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی با اثرات درمانی هستند (۱۱ و ۷). آلومینیوم یک ترکیب نوروٹوکسیک است که منجر به ناهنجاری‌هایی از جمله آلزایمر و پارکینسون می‌شود. فلاونوئیدهای گیاهان این توانایی را دارند که میزان این ترکیب را در بدن کاهش دهند (۱۳). به علاوه فلاونوئیدها مسئول کاهش فشار خون، خاصیت ضد التهابی و ضد ویروسی نیز هستند (۱۲). همچنین القاء آپتوزیس توسط فلاونوئیدها در سلول‌های سرطانی مشاهده شده است (۷). آزمایش‌هایی جهت ارزیابی و خواص درمانی ترکیبات طبیعی در حیوانات آزمایشگاهی تعریف شده است و لیکن انجام پذیرفتن این آزمون‌ها هزینه بر و زمان بر می‌باشد و بعضاً غیر قابل دسترس می‌باشد. لذا تعبیه روش‌های ساده، سریع و قابل اجرا در کلیه آزمایشگاه‌ها جهت یافتن ترکیبات مفید بهترین نتیجه را به دنبال خواهد داشت.

۱- دانش‌آموخته دکتری عمومی رشته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- دستیار داروسازی سنتی، دانشکده طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

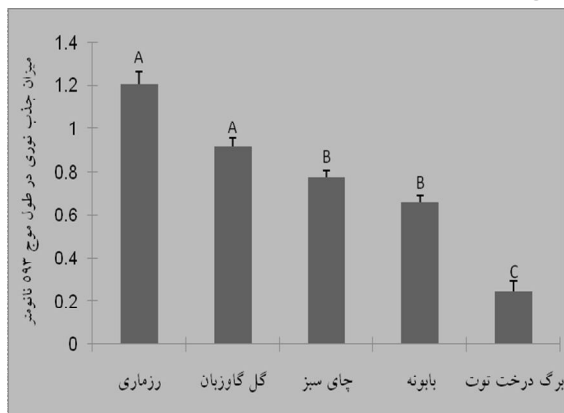
farjadmand@yahoo.com

د - آنالیز آماری

میانگین و انحراف معیار طی دو بار آزمون که در دو زمان متفاوت صورت پذیرفت، با استفاده از نرم افزار SPSS محاسبه گردید. تعداد پنج نمونه در هر گروه آزمایشی در هر آزمون در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه تحلیل شد. $P < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار گزارش می‌شود.

نتایج

نتایج آزمایشات در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۱: ارزیابی توان آنتی‌اکسیدانی برخی از گیاهان رایج طب سنتی، حروف ABC نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد.

توانایی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مورد بررسی در نمودار ۱ بیان شده است. در این آزمون توانایی احیا یون آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. این روش کاربردی، سریع، انتخابی و مناسب برای بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها بدون توجه به ترکیب شیمیایی آنها است. هرچقدر میزان جذب بیشتر باشد حاکی از افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاهان است. در بین گیاهان بررسی شده رزماری بیشترین میزان توان آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) از این گیاه با سایر گیاهان (به جزء گیاه گل‌گاوزبان) مشاهده شد.

امروزه مراکز علمی بدن‌بال آزمون‌هایی اثبات شده، ارزان و قابل اطمینان به صورت غربالگری می‌باشند که در مراحل اولیه قادر به جداسازی ترکیبات فعال از سایر ترکیبات باشند. استفاده از روش‌های غربالگری همزمان با هم فرصتی برای یافتن ترکیباتی با چند اثر متفاوت را فراهم خواهد کرد. تعبیه این روش‌های ساده و سریع و قابل اجرا در کلیه آزمایشگاه‌ها وجود دارد. در مطالعه حاضر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فلاونوئید پنج گیاه رایج طب سنتی به صورت *in vitro* بررسی شده است.

مواد و روش کار

الف - تهیه مواد گیاهی

نیم گرم از گیاهان مورد آزمایش در ۲۵ سی سی اتانل ۷۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در یخچال نگهداری شد. محتویات صاف و سانتریفوژ گردید. محلول بالای محتویات جهت آزمایش در ۴ - درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمون‌ها نگهداری شد. آزمون‌ها دو بار تکرار شد.

ب- ارزیابی توان آنتی‌اکسیدانی

به منظور ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدان گیاهان، از روش FRAP استفاده شد. این آزمون بر اساس توانایی احیا یون آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به یون آهن دو ظرفیتی صورت گرفت. آهن دو ظرفیتی حاصل در pH اسیدی و در حضور معرف TPTZ، تشکیل Fe-TPTZ داده که رنگ آبی داشته و شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر و با اسپکتوفتومتر قابل اندازه‌گیری است (۶).

ج - تخمین میزان کل فلاونوئیدها

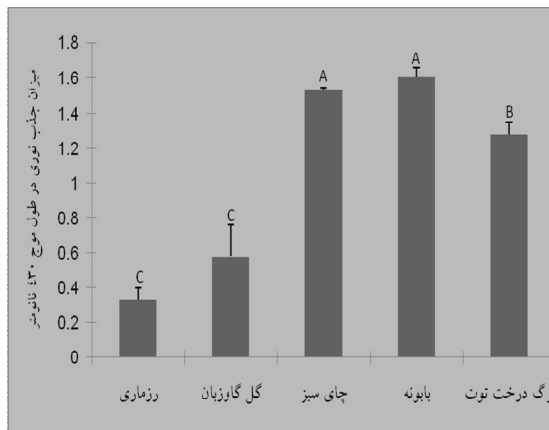
میزان کل فلاونوئیدها با روش‌های تعیین شده قبلی صورت گرفت. عصاره گیاهان با معرف $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ که به میزان دو درصد در متانول تهیه شده است، میکس شده و پس از گذشت ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری (۳۷ درجه سانتی‌گراد)، میزان جذب نوری در ۴۳۰ nm با اسپکتوفتومتر (F-7000 fluorescence spectrophotometer) بررسی گردید. فلاونوئیدها با یون سه ظرفیتی آلومینیوم باند می‌شوند (۱۳).

گیاه جهت افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی و جلوگیری از فرایند اکسیداسیون ترکیبات غذا استفاده می‌گردد.

گل گاو زبان پس از چای، معمول ترین نوشیدنی دم کردنی با ارزش تغذیه‌ای فراوان است. در مطالعه حاضر پس از رزماری گل گاو زبان بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی را در مقایسه با سایر گیاهان داشت.

بابونه با داشتن بیشترین میزان فلاونوئیدی در بین گیاهان حاضر، بیشترین تاثیر را در کاهش میزان یون آلومینیوم داشت. با روش FRAP نیز خاصیت آنتی اکسیدانی آن در حد متوسط نسبت به سایر گیاهان بود. این گیاه به علت دارا بودن خاصیت ضد التهابی در درمان ناهنجاری‌های پوستی و همچنین در انواع محصولات آرایشی و بهداشتی کاربرد فراوان دارد(۴). در کشور آلمان بیش از ۱۵۰ محصول از جمله پمادها، صابون های درمانی، داروهای مخصوص سرفه و سرماخوردگی، اسپری‌های محافظ پوست، لوسیون‌های آکنه، ملین کننده‌ها، قطره‌های چشم دارای مشتقات گیاه بابونه می‌باشد(۱). سازمان غذا و داروی آمریکا اعلام می‌دارد این گیاه اثرات جانبی بر بارداری، شیردهی و یا بر روی کودکان ندارد(۵).

چای سبز از زمان باستان در کشورهای آسیایی به منظور حفظ و بهبود سلامتی استفاده شده است. امروزه چای سبز برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها در نظر گرفته شده است. خاصیت آنتی اکسیدانی چای سبز نیز به اثبات رسیده است(۲). در مطالعه حاضر چای سبز خواص آنتی اکسیدانی نسبتا بالا و میزان فلاونوئیدی بالایی داشت. چای سبز در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و برخی از اشکال سرطان‌ها، بهبود سلامت دهان و دندان و سایر عملکردهای فیزیولوژیکی بدن تاثیر مثبتی دارد. چای سبز یک منبع مهمی از ترکیبات پلی فنولی به ویژه فلاونوئیدهاست. مهمترین فلاونوئید موجود در چای سبز کاتشین‌ها است که خاصیت بالای آنتی اکسیدانی آن را نیز به همین کاتشین‌ها نسبت می‌دهند. چای سبز با دارا بودن میزان بالای فلاونوئیدها در جلوگیری از ابتلا به



نمودار ۲: تخمین میزان کل فلاونوئیدهای برخی از گیاهان رایج طب سنتی. حروف ABC نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه های مورد مطالعه می‌باشد.

میزان فلاونوئیدهای گیاهان در جدول ۲ نشان داده شده است. هرچه میزان جذب نوری بالاتر باشد میزان فلاونوئید بالاتر است. از گیاهان مطالعه شده، بابونه، چای سبز و برگ درخت توت به ترتیب بیشترین میزان فلاونوئید را دارا بودند. به ویژه اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) از بابونه و چای سبز با سایر گیاهان مشاهده شد.

بحث

در این مطالعه به طور همزمان توان آنتی اکسیدانی و میزان فلاونوئیدهای عصاره الکلی پنج گیاه که به طور معمول در طب سنتی استفاده می‌گردد، مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین اثرات آنتی اکسیدانی در رزماری مشاهده شد. رزماری دارای توان بسیار بالایی در احیای یون آهن است. روش FRAP یک واکنش معتبر است و هر مولکولی که در شرایط آزمایش قابلیت احیای یون فریک را داشته باشد، در واکنش شرکت می‌نماید. با توجه به نتایج آزمایش فوق رزماری و سپس گل گاو زبان بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داشتند. رزماری یکی از قوی ترین آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد که به خوبی خواص آنتی اکسیدانی آن بررسی شده است(۸). از این

7. Intekhab, J. and Aslam, M. (2009): Isolation of a flavonoid from the roots of citrus sinesis. *Malaysian J. Pharm. Sci.* 7:1-8.
8. Kahkonen, M., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujla, T.S., Heinonen, M. (1999): Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47:3954-3962.
9. Koksal, E. and Gulcin I. (2008): Antioxidant activity of cauliflower. *Turk. J. Agric.* 32:65-78.
10. Pan, T.H., Jankovic, J., Le, W.D. (2003): Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs Aging.* 20: 711-721.
11. Pietta, P.G. (2000): Flavonoids as Antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63: 1035-1042.
12. Sathishkumar, T., Baskar, R., Shanmugam, S., Rajasekaran, P., Manikandan, V. (2008): Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana heyneana* wall using L16 orthogonal design. *Nature and Science.* 6:10-21.
13. Tian, Q.L., Liao, S.H., Lu ping Liu, L.J. (2006): Spectroscopic study on the interaction of Al³⁺ with flavonoids and BSA. *Chinese J. Chem.* 24:1388-1390.
14. Weinreb, O., Mandel, S., Amit, T., Youdim, M.B. (2004): Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J. Nutr. Biochem.* 15:506-516.

بیماری‌های پارکینسون، آلزایمر و سایر بیماری‌های تحلیل برنده اعصاب نقش دارد (۱۴ و ۱۰).

برگ توت به منظور کنترل دیابت مصرف فراوان دارند. در افراد دیابتیک صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو به واسطه کاهش آنتی اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد. لذا مصرف این گیاه علاوه بر کنترل بیماری، منجر به دریافت قابل ملاحظه‌ای از فلاونوئیدها و کاهش صدمات اکسیداتیو خواهد شد. برگ درخت توت میزان بالایی از فلاونوئید داشت. در این مطالعه چای سبز تا حدودی هر دو خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان بالای فلاونوئیدها را دارا بود. لذا یک ترکیب مناسب در درمان بیماری‌هایی خواهد بود که پاتوژن‌ها آنها عمدتاً از طریق دو اثر التهابی و استرس اکسیداتیو صورت می‌پذیرد. به طور مثال استرس اکسیداتیو در بیماری آسم که یک بیماری التهابی مزمن است، نقش محوری دارد (۳). بنابراین استفاده از ترکیبی که بتواند این دو مسیر، استرس اکسیداتیو و التهاب را سرکوب نماید قطعاً از پیشرفت بیماری جلوگیری خواهد نمود.

REFERENCES

1. Aberer, W. (2008): Contact allergy and medicinal herbs. *Dtsch Dermatol. Ges.* 6: 15-24.
2. Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. (2006): Beneficial Effects of Green Tea-A Review. *J. Am. Coll. Nutr.* 25(2): 79-99.
3. Cho, Y. S., Moon H.B. (2010): The role of oxidative stress in the pathogenesis of asthma. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2(3): 183-187.
4. Graf, M.D. (2005): Herbal anti-inflammatory agents for skin disease. *Skin Therapy Lett.* 5: 3-5.
5. Hara, M., Kiefer, D., Farrell, K., Kemper, K. (1998): A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Arch Fam Med.* 7:523-536.
6. Hu, M.L., Dillard, C.J. (1994): Ferric reducing antioxidant assay. *Meth Enzymol.* 292: 15-27.