ORIGINAL ARTICLE

Comparing the Effect of Different Extraction Methods and the Role of Solvent Polarity on Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activities of Ferula persica

Elham Majidaee[1],
Seyyedeh Raheleh Hosseyni Talei[2],
Sepideh Gholamnezhad[3],
Mohammad Ali Ebrahimzadeh[4]

[1] Pharmacy Student, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2]MSc in Biochemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] MSc in Organic Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 17, 2020 ; Accepted August 2, 2020)

Abstract

Background and purpose: *Ferula persica* is traditionally used in treatment of diabetes and rheumatism. There is no report on antioxidant activity of this plant. This investigation was designed to study the impact of extraction methods and solvent polarity on phenolic contents and antioxidant activities of *F. persica* root and aerial parts.

Materials and methods: In this experimental research, the plant was extracted by three methods. Also, it was extracted successively with solvents of different polarities. Antioxidative capacities of the extracts were assessed by three methods. Total phenolic and flavonoid contents were also determined.

Results: The highest yield of extraction was achieved by soxhlet assisted extraction. In DPPH radical scavenging activity, the soxhlet extract of aerial parts showed a higher activity which was significantly different from other extracts (IC_{50}= 279.3 ± 9.0 µg ml^{-1}, P<0.0001). Methanol extract of aerial parts exhibited the highest antioxidant capacity (P<0.0012). In reducing power assay, compared to other extracts, root ultrasonic and soxhlet assisted extractions showed the highest antioxidative activities (P<0.0044). Methanolic aerial parts showed the highest activity. The extracts did not show high activities in nitric oxide radical scavenging activity. IC_{50} for aerial parts ultrasonic extract was 159.7 µg/ml and the IC_{50} for ethyl acetate extract of aerial parts was 441.2 µg/ml which showed significantly higher activity compared to other extracts (P<0.0001).

Conclusion: In this study, the extraction methods significantly influenced antioxidant capacities and total phenolic content. Ethyl acetate and n-butanol were found to be more suitable for extraction of phenolics. Maceration is believed to be a more efficient method for extraction of phenolics.

Keywords: *Ferula persica*, extraction methods, antioxidant, total phenolics, total flavonoids

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (188): 26-39 (Persian).

* **Corresponding Author: Mohammad Ali Ebrahimzadeh -** Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: zadeh20@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 188 شهریور سال 1399 (39-26)

مقایسه اهمیت روش های مختلف استخراج و نقش افزایش قطبیت حلال در محتوای تام فنل و فلاونوئیدی و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه کما *Ferula persica*

الهام مجیدایی[1]
سیده راحله حسینی طالعی[2]
سپیده غلام نژاد[3]
محمد علی ابراهیم زاده[4]

چکیده

سابقه و هدف: گیاه فرولا پرسیکا(Ferula persica) به‌طور سنتی در درمان دیابت و روماتیسم به‌کار می‌رود. گزارشی از فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه در دست نیست. این مطالعه به‌منظور بررسی تاثیر روش استخراج و قطبیت حلالیت بر محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه و اندام هوایی این گیاه طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به شکل تجربی انجام شد. گیاه به سه روش، عصاره‌گیری شد. همچنین بطور متوالی با 4 حلال با قطبیت‌های متفاوت استخراج شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با سه روش مورد ارزیابی قرار گرفت. محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی نیز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بالاترین راندمان عصاره گیری مربوط به سوکسله بود. در بدام اندازی رادیکال DPPH عصاره سوکسله اندام هوایی (IC_{50}=279.3±9.0 µg/ml) اختلاف معنی‌داری با سایر عصاره‌ها داشت (P <0/0001). عصاره متانولی اندام هوایی در این تست بالاترین اثر را داشت (P <0/0012). در تست قدرت احیاکنندگی، عصاره التراسونیک و سوکسله ریشه بالاترین فعالیت را نسبت به سایر عصاره ها نشان دادند (P <0/0044). عصاره متانولی اندام هوایی بالاترین فعالیت را در این تست داشت. عصاره‌ها فعالیت بالایی در تست بدام اندازی نیتریک اکساید نشان ندادند. IC_{50} برای عصاره اولتراسونیک اندام هوایی 159/7 µg/ml بود (P <0/0001). IC_{50} برای عصاره اتیل استات اندام هوایی 441/2 µg/ml بود که از تمامی عصاره‌ها فعالیت بالاتری داشت (P <0/0001).

استنتاج: نتایج به‌وضوح نشان داد که استفاده روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی دارد. اتیل استات و n- بوتانول برای استخراج ترکیبات فنلی مناسب‌تر هستند. ماسیراسیون بعنوان موثرترین روش برای استخراج ترکیبات فنلی برگزیده شد.

واژه های کلیدی: کما، فرولا پرسیکا، روش استخراج، آنتی اکسیدان، فنل، فلاونوئید

مقدمه

اکسیداتیو استرس ناشی از عدم تعادل بین سیستم دفاعی و تشکیل ذرات فعال اکسیژن می‌تواند موجب صدمه به چربی‌ها، پروتئین‌ها، DNA و کربوهیدرات‌ها شود. این آسیب می‌تواند منجر به جراحت و اختلالات

مولف مسئول: محمدعلی ابراهیم زاده: ساری، کیلومتر 18 جاده دریا، دانشکده داروسازی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران Email: zadeh20@yahoo.com
1. دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجوئی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات علوم داروئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. کارشناس ارشد شیمی آلی، مرکز تحقیقات علوم داروئی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استاد، مرکز تحقیقات علوم داروئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران.
تاریخ دریافت : 1398/6/26 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/7/3 تاریخ تصویب : 1399/5/12

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

دژنراتیو از قبیل بیماری‌های قلبی عروقی، پیری دیابت، الزایمر و سرطان گردد(1). موجودات زنده سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای برای خنثی نمودن ذرات فعال اکسیژن برای کاهش خسارات دارند. این سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، ماکرومولکول‌هایی مانند آلبومین، سرولوپلاسمین و فریتین و گروهی از مولکول‌های کوچک مانند ویتامین ث، آلفا توکوفرول، کاروتنوئیدها، پلی‌فنل‌ها، گلوتاتیون، اسید اوریک و بیلی‌روبین هستند(2). در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی بر روی ترکیبات طبیعی و اجزای غذایی شده که می‌توانند بدن را در مقابل استرس اکسداتیو محافظت کنند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محدوده وسیعی از عملکرد بیوشیمیایی دارند که شامل مهار تولید ذرات فعال اکسیژن، بدام‌اندازی مستقیم یا غیرمستقیم رادیکال‌های آزاد و تغییر در پتانسیل اکسیداسیون احیا داخل سلولی می‌شود(3). افزایش توان آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح پراکسیداسیون چربی‌ها در بدن می‌تواند از بروز بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند سرطان، نارسایی قلبی و سمیت کبدی جلوگیری کند(4). نظر به این‌که گیاهان منبع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد تحقیقات در این زمینه رو به افزایش است(5).

جنس *Frula* (Apiaceae) از خانواده چتریان دارای بیش از 150 گونه بوده که 52 گونه آن به شکل خودرو در ایران می‌روید. از گونه‌های بومی ایران می‌توان به آنغوزه *Ferula asafetida*، باریجه (قاسنی) *Ferula gummosa Boiss* و *Ferula persica* اشاره نمود(6،7). کما یا سکبینه *F. persica* به‌خصوص در منطقه شهمیرزاد سمنان به‌صورت گسترده رویش داشته و به نام محلی متکا معروف بوده و کاربرد غذایی و طب سنتی فراوانی دارد(8). فرولا پرسیکا یک گونه شناخته شده بوده که به‌طور سنتی به‌عنوان ملین، ضدنفخ، ضدهیجان و در درمان دیابت، روماتیسم و کمر درد استفاده می‌شود(9). ترکیبات شیمیایی فرولا پرسیکا شامل ترکیبات فرار(9)، کومارین‌های سزکوئی‌ترپن(10)، ترکیبات حاوی گوگرد(12-10)، کومارین‌های گلیکوزیده سزکوئی‌ترپن(13) هستند. فرولا پرسیکا در طب سنتی به عنوان پایین آورنده فشارخون استفاده می‌شود(14). اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی از گونه‌های مختلف فرولا به چاپ رسیده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی *F. Foetida* و *F.gummosa* و *F.assafoetida* گزارش شده است(18-15). بررسی‌های مختلف روی گونه‌های فرولا اثرات ضد دردی، ضد التهابی، ضد تب، ضد تشنج و شل‌کننده عضلات صاف را نشان داده است(19). اثر ضد پسودوموناس از عصاره صمغ فرولا پرسیکا به چاپ رسیده است(20). از عصاره و بخش‌های تازه گیاه *F.persica* اثر ضد لشمانیا و مهارکنندگی لیپواکسیژناز گزارش شده است(19). ترکیب سزکوئی‌ترپن کومارین گلیکوزید نیز اخیرا از این گیاه جداسازی شده است(19). جنس فرولا غنی از کومارین‌ها و به‌خصوص کومارین‌های سزکوئی‌ترپن است. ترکیبات بیواکتیو شامل auraptene (اثر ضد فشار خون و ضد التهاب و ضد سرطان) و Galbanic acid (دارای اثرات ضدتومور و ضدانژیوژنز) نیز از گونه‌های مختلف Ferula گزارش شده است(19). این ترکیبات بیش‌تر در ریشه گیاه ذخیره می‌شوند بنابراین ریشه‌های گیاه نسبت به اندام‌های هوایی منبع بهتری برای جداسازی این ترکیبات هستند. ترکیبات حاوی سولفور در گیاه نقش اصلی را در ایجاد بو و طعم گیاه دارند(6). در سال 2010 فعالیت‌های سایتوتوکسیک و ضد تشنج از عصاره متانولی گونه‌های مختلف فرولا مورد ارزیابی قرار گرفته است(21). در سال 2005 فعالیت‌های ضد میکروبی عصاره‌های آبی و کلروفرم ریشه گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت(22). Umbelliprenin یکی از جالب‌ترین اجزا جدا شده از جنس فرولا می‌باشد. از خواص این ترکیب می‌توان به اثر ضد التهابی آن اشاره نمود(19).

امروزه تحقیقات وسیعی بر روی عصاره‌های گیاهی صورت می‌گیرد تا این‌که به نمونه‌هایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا دست یابند. از آن‌جایی که چندین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

روش برای تهیه عصاره گیاهی وجود دارد و این‌که هر روش در مقایسه با دیگر روش‌ها از محدودیت‌ها و مزایای منحصر به فرد برخوردار می‌باشند. در سال‌های اخیر به ارائه متدهای جدید استخراج، توجه فراوانی شده است به گونه‌ای که بیش‌ترین اجزای اصلی در کوتاه‌ترین زمان ممکن با کم‌ترین قیمت به‌دست آید(23).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، دلیل بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیک مختلف مشاهده شده از گیاهان است. اثراتی چون ضد دردی، ضد التهابی، ضد افسردگی، ایسکمی، تثبیت‌کننده غشاء سلولی، شلاته کنندگی آهن و حتی بیماری‌هایی چون الزایمر با اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها در ارتباط هستند. امروزه اکسیدان و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بسیاری از بیماری‌ها در ارتباط است. علی‌رغم اثرات بیولوژیک متعددی که از فرولا پرسیکا گزارش شده، هیچ مقاله‌ای در خصوص بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه یافت نشده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی و ریشه گیاه فرولا پرسیکا و سپس بررسی تاثیر روش استخراج بر قدرت آنتی‌اکسیدانی این گیاه می‌باشد. از سویی تاثیر افزایش قطبیت حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنل و فلاونوئید تمامی عصاره‌ها بررسی شد.

مواد و روش ها

این مطالعه به شکل تجربی انجام شد.

نمونه گیاهی

اندام هوایی و غده فرولا پرسیکا توسط دکترای سیستماتیک گیاهی (دکتر بهمن اسلامی) از فیرزوکوه جمع آوری و تایید شد. نمونه هرباریومی در دانشکده بیولوژی دانشگاه آزاد قائم شهر (به شماره هرباریومی 1475) نگهداری می‌شود. اندام هوایی و غده ها در سایه خشک شده، به قطعات ریز تبدیل شد.

تهیه عصاره به روش خیساندن

در این روش 30 گرم از پودر اندام هوایی گیاه با حدود 70 میلی‌لیتر متانول مخلوط شد. مجموعه به مدت 24 ساعت رها گردید. روز بعد فاز آلی جدا و مجددا متانول جدید اضافه شد. این عمل برای سه بار تکرار شد. در روز سوم، مجموعه حلال‌ها توسط دستگاه روتاری (تبخیرکننده چرخان) حذف گردید. کل این روند با پودر ریشه گیاه نیز تکرار شد.

تهیه عصاره به روش اولتراسونیک

در این روش از امواج غیر مستقیم اولترا سونیک با فرکانس 60 کیلو هرتز در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استفاده شد. 25 گرم پودر اندام هوایی گیاه به همراه حدود 70 میلی‌لیتر حلال متانول در بشر قرار داده شد. مجموعه به مدت یک ساعت در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. سپس محلول صاف گردید و متانول به‌دست آمده توسط دستگاه روتاری (تبخیر کننده چرخان) حذف شد. کل این روند با پودر ریشه گیاه نیز تکرار شد(5).

تهیه عصاره به روش سوکسله

در این روش 10 گرم پودر اندام هوایی گیاه در کاغذ صافی قرار داده شد و سپس در دستگاه قرار گرفت. عمل استخراج با حلال متانول به مدت 6 ساعت ادامه پیدا کرد، سپس متانول حاوی مواد استخراج شده توسط دستگاه روتاری (تبخیرکننده چرخان) حذف گردید. کل این روند با پودر ریشه گیاه نیز تکرار شد(24).

تعیین محتوای کلی فنولی و فلاونوئید

محتوای ترکیبات فنولی از طریق متد فولین سیو کالتیو انجام شد. غلظت 1 mg/ml از هر عصاره تهیه شد. 0/5 میلی‌لیتر از هر عصاره با 2/5 میلی لیتر واکنشگر 0/2 نرمال فولین سیو کالتیو مخلوط شد و سپس 2 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم با غلظت 75گرم در لیتر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از 2 ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراءبنفش در 760 نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به‌صورت مقادیر هم ارز با استاندارد اسید گالیک بیان شد. آزمایشات برای هر عصاره و استاندارد 2 بار تکرار شد(26،25). میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش‌های رنگ سنجی ارزیابی شد. غلظت 1 mg/ml از هر عصاره تهیه شد. 0/5 میلی‌لیتر از نمونه در 1/5 میلی‌لیتر متانول حل شد. سپس 0/1 میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید 10 درصد به آن اضافه شد، سپس 0/1 میلی‌لیتر از محلول پتاسیم استات 1 مولار و در نهایت 2/8 میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج 415 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی - ماوراءبنفش اندازه‌گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید به‌صورت میلی گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید. آزمایشات 2 بار تکرار شد و میانگین آن‌ها گزارش شد(26،25).

ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی رادیکال DPPH

برای انجام این آزمایش از رادیکال‌های پایدار DPPH استفاده شد. به 1 میلی‌لیتر از عصاره 1 میلی‌لیتر محلول 0/1 میلی مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت 15 دقیقه در اتاق تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در 517 نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. ویتامین ث و BHA به عنوان استاندارد استفاده شدند و میزان IC_{50} برای عصاره‌ها تعیین شد. در نهایت درصد بدام اندازی رادیکال DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\left(\frac{A_B - A_S}{A_B}\right)\times 100$$

A_B=جذب بلانک، A_S=جذب نمونه یا استاندارد(26،25).

تعیین قدرت احیاء کنندگی

غلظت‌های مختلف از هر عصاره تهیه شد و با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفاته 0/2 مولار با pH 6/5 و 2/5 میلی‌لیتر محلول 1 درصد پتاسیم فری سیانید [$K_3Fe(CN_6)$] مخلوط شد. در دمای 50 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه نگهداری شد، سپس 2/5 میلی‌لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید به نمونه‌ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت 10 دقیقه در دستگاه سانتریفوژ 3000 دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله 2/5 میلی‌لیتر از قسمت بالای محلول با 2/5 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و 0/5 میلی‌لیتر محلول 0/1 درصد فریک کلراید به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج 700 نانومتر قرائت شد. دراین آزمایش آسکوربیک اسید با غلظت‌های 25، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه و استاندارد سه بار تکرار شد(26،25).

ارزیابی میزان بدام اندازی نیتریک اکساید

این روش بر این مبنا استوار بوده که سدیم نیترو پروساید (Sodium nitroprusside) در محلول‌های آبی در pH فیزیولوژیک به آهستگی نیتریک اکساید تولید نموده که با اکسیژن محیط وارد عمل شده و یون نیتریت تولید می‌نماید. یون نیتریت تولید شده در حضور واکنشگر گریس مورد سنجش قرار می‌گیرد. بدام اندازی نیتریک اکساید در رقابت با اکسیژن موجب کاهش تولید یون نیتریت خواهد شد. به این منظورسدیم نیترو پروساید (10میلی‌مولار) در بافر سالین فسفات با غلظت‌های مختلفی از عصاره مجاور شد. مجموعه به مدت 150 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. همان مخلوط واکنش بدون عصاره (اما مقادیر هم حجم آب مقطر) به عنوان بلانک به‌کار گرفته شد. بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون، 0/5 میلی‌لیتر واکنشگر گریس(شامل: سولفانیل آمید 1درصد، نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

0/1 درصد در اسید فسفریک 2درصد) اضافه شد. جذب مخلوط در 546 نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. آزمایشات 3 بار تکرار شده و میانگین آن‌ها گزارش شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای مقایسه بکار گرفته شد. میانگین درصد بدام اندازی هم طبق فرمول زیر محاسبه و بر اساس آن IC_{50} برای تمامی عصاره‌ها بیان شد.

$$\left(\frac{A_B - A_S}{A_B}\right)\times 100$$

A_B=جذب بلانک، A_S =جذب نمونه یا استاندارد(26،25).

تهیه عصاره به روش ماسیراسیون (خیساندن) با حلال ها به شکل متوالی

در این روش 100 گرم از پودر اندام هوایی گیاه با 150 میلی لیتر n-هگزان مخلوط شد. مجموعه به مدت 24 ساعت رها گردید. روز بعد فاز آلی جدا و مجددا n-هگزان جدید اضافه شد. این عمل برای سه بار تکرار شد. هر بار n- هگزان خارج شده و به همراه حلال‌های قبلی حذف شدند. به باقیمانده استخراج از این مرحله، 150 میلی لیتر اتیل استات اضافه شد. مراحل کار با این حلال نیز تکرار شد. پس از خارج کردن اتیل استات به باقیمانده، 150 میلی لیتر n-بوتانول افزوده شد. مراحل کار با این حلال نیز تکرار شد. پس از خارج کردن n-بوتانول، 150 میلی‌لیتر متانول افزوده شد. مراحل کار با این حلال نیز تکرار شد. کل این روند با پودر ریشه گیاه نیز تکرار شد(28،27).

آنالیز آماری

تمامی اندازه‌گیری‌ها 2 تا 3 بار تکرار شده و کلیه اطلاعات به‌صورت Mean ± SD گزارش شد. آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) و متعاقب آن post test توکی برای مقایسه میانگین‌ها به‌کار رفت. نتایج با احتمال P <0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

بازده عصاره ها

پس از انجام فرآیند عصاره‌گیری وزن عصاره‌ها محاسبه شد. در مجموع با افزایش قطبیت حلال، راندمان عصاره‌گیری افزایش یافت. راندمان عصاره‌گیری با کمک سوکسله به‌طور معنی‌داری از سایر روش‌ها بالاتر بود.

سنجش محتوای تام فنل و فلاونوئیدی

جدول شماره 1، محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی موجود در عصاره‌های اندام هوایی و ریشه فرولا پرسیکا را که با روش ماسیراسیون با حلال‌های مختلف (بر اساس افزایش قطبیت) به شکل متوالی استخراج شده‌اند، نشان می‌دهد.

جدول شماره 1: محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی موجود در عصاره های اندام هوایی و ریشه فرولا پرسیکا در روش ماسیراسیون با حلال ها به شکل متوالی

نوع حلال	ریشه		اندام هوایی	
	محتوای فنلی a	محتوای فلاونوئیدیb	محتوای فنلی a	محتوای فلاونوئیدیb
n-هگزان	123/5	42/5	128/3	200/0****
اتیل استات	225/3****	51/7****	194/8****	260/8****
n بوتانول	145/8****	50/8****	410/5****	324/6****
متانول	139/0****	40/6	152/5****	140/4

a : میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره، b : میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره **** P <0/0001 و ns: not significant

حلال‌های اتیل استات و n- بوتانول حلال های خوبی برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از این گیاه بودند. در مجموع از ریشه و اندام هوایی گیاه، 633/6 و877/1 میلی‌گرم ترکیبات فنلی معادل گالیک اسید در گرم عصاره جدا شد. ترکیبات فلاونوئیدی در ریشه و اندام هوایی185/6 و925/8 میلی‌گرم معادل کوئرستین درگرم عصاره به‌دست آمد. در مجموع محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی در اندام هوایی به مراتب بیش‌تر از ریشه گیاه بود. جدول شماره 2 محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی موجود در عصاره‌های اندام هوایی و ریشه فرولا را که با کمک روش‌های مختلف استخراج با حلال متانول خالص استخراج شده‌اند، نشان می‌دهد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

جدول شماره 2: محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی موجود در عصاره های اندام هوایی و ریشه فرولا در روش های مختلف استخراج با حلال متانول

روش استخراج	ریشه		اندام هوایی	
	محتوای فنلی a	محتوای فلاونوئیدی b	محتوای فنلی a	محتوای فلاونوئیدی b
روش سوکسله	50/0	51/4	231/5****	53/5
روش اولتراسونیک	49/5	53/5	212/5 ns	88/9****
روش ماسیراسیون	59/0****	33/0****	210/5	87/5****

a: میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره، b: میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره **** P <0/0001 و ns:not significant

روش خیساندن روش مناسب‌تر برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از ریشه گیاه بود. اما در خصوص اندام هوایی برای استخراج ترکیبات فنلی روش سوکسله و برای استخراج فلاونوئیدها روش التراسونیک مناسب‌تر هستند.

ارزیابی توانایی بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH

جدول شماره 3، تاثیر روش استخراج را بر درصد بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا را در غلظت‌های مختلف با حلال متانول را نشان می‌دهد.

در جدول شماره 4 تاثیر نوع حلال (بر اساس افزایش قطبیت) بر درصد بدام اندازی رادیکال DPPH توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا آورده شده است.

در سنجش فعالیت بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH، از ماده BHA بعنوان کنترل مثبت استفاده شد. با توجه به نتایج، IC_{50} برای BHA 53/9 میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

ارزیابی قدرت احیا کنندگی

جدول شماره 5، تاثیر روش استخراج را بر قدرت احیاکنندگی توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا در غلظت‌های مختلف با حلال متانول را نشان می‌دهد.

در جدول شماره 6، تاثیر نوع حلال (براساس افزایش قطبیت) بر میزان قدرت احیاکنندگی توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا آورده شده است.

در مجموع عصاره‌ها قدرت احیاکنندگی خوبی از خود نشان ندادند. عصاره متانولی اندام هوایی فرولا بهترین فعالیت را از خود نشان داد.

ارزیابی توانایی بدام اندازی رادیکال آزاد نیتریک اکساید

نمودار شماره 1 تاثیر روش استخراج را بر قدرت بدام اندازی نیتریک اکساید توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا در غلظت‌های مختلف با حلال متانول را نشان می‌دهد. عصاره ها فعالیت بالایی از خود نشان ندادند. میزان IC_{50} در تست بدام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید برای عصاره‌گیری به روش اولتراسونیک اندام هوایی 159/7 و برای عصاره به روش سوکسله برای اندام هوایی 388/9 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد(P <0/0001).

در جدول شماره 7 تاثیر نوع حلال (براساس افزایش قطبیت) بر میزان بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید توسط عصاره‌های مختلف فرولا پرسیکا آورده شده است.

جدول شماره 3: تاثیر روش استخراج بر میزان بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره های فرولا (حلال متانول)

روش استخراج	بخش گیاه	غلظت(µg/ml)					IC_{50} (µg/ml)
		50	100	200	400	800	
روش سوکسله	ریشه	15/2	22/4	40/3	57/6	69/3	439/6 ± 13 *
	اندام هوایی	15/5	33/9	57/8	74/7	78/3	279/3 ± 9/0 ****
روش اولتراسونیک	ریشه	2/0	16/9	28/9	73/1	77/9	424/6 ± 17***
	اندام هوایی	9/4	14/8	25/9	49/8	74/4	411/2 ± 16****
روش ماسیراسیون	ریشه	16/2	21/4	36/9	72/4	77/5	366/9 ± 8/0****
	اندام هوایی	5/8	14/4	23/5	60/3	73/6	466/0 ± 21

تمامی نتایج به شکل درصد مهار بیان شده اند. P <0/0001 ****، P =0/0009 *** و P =0/026 *

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

جدول شماره 4: تاثیر نوع حلال بر درصد بدام اندازی رادیکال DPPH توسط عصاره های فرولا پرسیکا

نوع حلال	بخش گیاه	غلظت(µg/ml)				
		50	100	200	400	800
n-هگزان	ریشه	13/8	15/8	16/4	21/6	25/7
	اندام هوایی	6/1	18/2	38/7	47/9	54/0
اتیل استات	ریشه[a]	17/7	30/7	38/2	62/0	73/9
	اندام هوایی	30/1	33/8	40/3	46/9	50/2
n-بوتانول	ریشه	19/4	25/5	39/7	46/4	58/8
	اندام هوایی	16/2	18/8	28/0	33/9	60/5
متانول	ریشه	14/9	16/2	40/6	41/9	59/8
	اندام هوایی[b**]	24/0	37/9	40/5	53/6	86/9

تمامی نتایج به شکل درصد مهار بیان شده اند.

P =0/0012 ** و IC_{50} =385/9 ± 14 [a] و IC_{50} = 352/5 ± 7/5 [b**]

جدول شماره 5: تاثیر روش استخراج برمیزان قدرت احیا کنندگی عصاره های ریشه و اندام هوایی فرولا

روش استخراج	بخش گیاه	غلظت(µg/ml)				
		50	100	200	400	800
روش سوکسله	ریشه	0/304	0/232	0/481	0/796*	1/002**
	اندام هوایی	0/169	0/284	0/397	0/657ns	0/884*
روش اولتراسونیک	ریشه	0/345	0/365	0/475	0/746ns	1/083**
	اندام هوایی	0/184	0/230	0/311	0/483	0,603
روش ماسیراسیون	ریشه	0/264	0/352	0/432	0/580ns	0,727ns
	اندام هوایی	0/172	0/288	0/350	0/488ns	0/723ns

تمامی نتایج به شکل میزان جذب بیان شده اند.

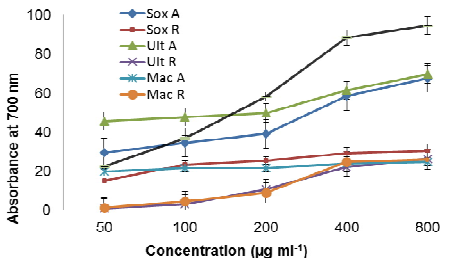
P =0/0044 ** و P <0/0490 * و ns: not significant

جدول شماره 6: میزان قدرت احیا کنندگی عصاره های ریشه و اندام هوایی فرولا پرسیکا در روش ماسیراسیون با حلال های مختلف به شکل متوالی

نوع حلال	بخش گیاه	غلظت(µg/ml)				
		50	100	200	400	800
n-هگزان	ریشه	0/42	0/043	0/077	0/172ns	0/383ns
	اندام هوایی	0/250	0/269	0,300	0/393ns	0/447*
اتیل استات	ریشه	0044	0/058	0/081	0/122	0/147
	اندام هوایی	0/286	0/390	0/454	0/466*	0/553**
n-بوتانول	ریشه	0/044	0/073	0/159	0/325ns	0/587**
	اندام هوایی	0/247	0/261	0/346	0/445*	0/563**
متانول	ریشه	0,064	0/073	0/114	0/164ns	0/225ns
	اندام هوایی	0/395	0/427	0/456	0/660***	0/698****

تمامی نتایج به شکل میزان جذب بیان شده اند.

P <0/0001 **** و P =0/001 ** و P <0/05 * و ns: not significant



نمودار شماره 1: تاثیر روش استخراج برمیزان بدام اندازی نیتریک اکساید (درصد) عصاره های ریشه و اندام هوایی فرولا پرسیکا

جدول شماره 7: میزان بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید (درصد) توسط عصاره های ریشه و اندام هوایی فرولا پرسیکا در روش استخراج با حلال ها به شکل متوالی

نوع حلال	بخش گیاه	غلظت(µg/ml)				
		50	100	200	400	800
n-هگزان	ریشه	19/8	25/3	30/5	34/3	42/9***
	اندام هوایی	0	0	2	30/0	35/9ns
اتیل استات	ریشه	0	17/6	25/3	31/4	41/4****
	اندام هوایی	23/8	26/2	30/1	0	69/5****
n-بوتانول	ریشه	0	14/9	26/5	39/4	42/0****
	اندام هوایی	14/1	18/7	21/8	24/0	32/9
متانول	ریشه	2/0	19/4	23/5	23/4	23/5 ns
	اندام هوایی	23/5	24/1	42/8	44/4	53/9****

عصاره ها فعالیت بالایی از خود نشان ندادند. میزان IC_{50} در تست بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید برای عصاره اتیل استات اندام هوایی 441/2 میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که به‌طور معنی‌داری از تمامی عصاره‌ها قوی‌تر بود (P <0/0001). در سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال نیتریک اکساید، از کوئرستین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. میزان IC_{50} برای استاندارد کوئرستین 194 میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

بحث

بالاترین راندمان عصاره‌گیری در روش ماسیراسیون با حلال‌ها به شکل متوالی به متانول تعلق داشت. این نشان می‌دهد که بخش قابل توجهی از ترکیبات موجود در این گیاه قطبی می‌باشند. استخراج با روش‌های مختلف نیز راندمان‌های متفاوتی بدست داد. عصاره سوکسله اندام هوایی با 34/5درصد و عصاره التراسونیک ریشه با 4/1درصد به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین راندمان استخراج را به خود اختصاص دادند. نظر به تکرار مجدد عمل استخراج (هر بار با حلال تازه) در روش سوکسله، بدست آمدن راندمان بالاتر استخراج منطقی به‌نظر می‌رسد. در مقایسه روش‌های مختلف استخراج، در بخش ریشه، استخراج به روش خیساندن با 59 و با کمک التراسونیک با 49/5 میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقدار ترکیبات پلی فنولی را دارا بودند. در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

اندام هوایی روش سوکسله با 231/5 و روش خیساندن با 210/5 میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقدار ترکیبات پلی فنولی را دارا بودند. در استخراج به روش ماسیراسیون با حلال‌ها به شکل متوالی در ریشه اتیل استات و n-بوتانول و در اندام هوایی n-بوتانول و اتیل استات بالاترین میزان ترکیبات پلی‌فنولی را داشتند. محتوای فلاونوئیدی در ریشه و اندام هوایی نیز به همان ترتیب بالا بود. در مجموع محتوای فنلی در روش متوالی در ریشه633/6 میلی‌گرم و در اندام هوایی 877/1 معادل گالیک اسید در گرم عصاره به‌دست آمد. در مجموع اتیل استات و n- بوتانول حلال‌های مناسبی برای جداسازی ترکیبات پلی‌فنولی هستند. در مقایسه روش‌های مختلف استخراج در ریشه، عصاره حاصل از روش خیساندن با 66 و روش سوکسله با 51/4 میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقدار فلاونوئید تام را دارا بودند. در اندام هوایی روش التراسونیک با 88/9 و روش سوکسله با 53/5 میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم عصاره به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین مقدار فلاونوئید تام را دارا بودند. در واقع استخراج با کمک سوکسله کم‌ترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی را از گیاه استخراج نمود.

گیاهان در درمان و پیشگیری اختلالات گوناگون بکار م یروند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را می‌توان عمدتا به حضور ترکیبات فنولی در آن نسبت داد. این ترکیبات تقریبا در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی و رسیدن میوه نقش دارند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی به آن‌ها امکان بدام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد(29). روند استخراج ترکیبات فنولی یک فاکتور مهم در تعیین خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره است. دما، حلال، زمان عصاره‌گیری، قدرت استخراج و روش استخراج تاثیر بارزی در محتویات عصاره خواهد گذاشت. استخراج ترکیبات از گیاه، بوسیله روش‌های استخراج قدیمی مانند ماسیراسیون در واقع هدر دادن حلال و زمان است. تکنیک های پیشرفته استخراج مانند عصاره گیری به کمک اولتراسوند از طریق افزایش کارایی و انتخابیت، موجب غلبه بر دشواری‌های روش قدیمی شده است(27). استخراج به کمک اولتراسوند یک روش ساده بوده و جایگزین مناسبی برای روش‌های سنتی استخراج است. فواید اصلی استفاده از اولتراسوند در استخراج شامل افزایش بازده استخراج و سرعت استخراج است. اولتراسوند امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد(30).

در یک مطالعه، به منظور عصاره‌گیری از گیاه *Mesembryanthemum edule*، از روش استخراج اولتراسونیک استفاده شد. نتایج نشان داد که نوع حلال نسبت به زمان عصاره گیری تاثیر بارزتری روی محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. عصاره متانولی حاوی مقدار بیش‌تری ترکیبات پلی‌فنولی نسبت به عصاره اتانولی بود اما عصاره اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره متانولی داشت(29). نتایج یک مقاله پژوهشی نشان داد که عصاره گل آذین گیاه زولنگ دارای محتوی تام فنولی 58/8، 60/1 و 105/5 میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره به ترتیب برای سه روش استخراجی التراسونیک، خیساندن و سوکسله بود. مواد فنولی در عصاره حاصل از روش سوکسله نسبت به دو روش دیگر بیش‌تر بود(31).

فلاونوئید ها بطور گسترده در گیاهان وجود دارند. این ترکیبات مسئول ایجاد رنگ در گل‌ها و میوه‌ها هستند و به‌عنوان محصولات متابولیسم ثانویه، به‌علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در صنایع داروئی و غذایی مورد توجه هستند(27). مکانسیم عمل فلاونوئیدها بدام اندازی رادیکال آزاد و شلاته‌کردن یون‌ها می‌باشد(27). فلاونوییدها و ترکیبات فنولی به‌عنوان پیشگیری‌کننده در پیشرفت سرطان و بیماری‌های قلبی شناخته شدند.

عرضه روش‌های جدید استخراج ترکیبات فعال بیولوژیکی از گیاهان، بخصوص در صنایع دارویی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

افزایش یافته است. دلیل این موضوع نیاز به روش ایده‌ال استخراج بوده که بتواند بیش‌ترین مقدار ترکیبات فعال بیولوژیک را در کوتاه‌ترین زمان ممکن با پایین‌ترین قیمت به‌دست آورد(30). گزارشات متعددی از بکارگیری روش استخراج با کمک التراسونیک در استخراج مواد مختلف از قبیل هسپریدین از پوست مرکبات، ایزوفلاون‌ها از ریشه *Radix puerariae*، پلی‌ساکاریدها از پوست میوه longan و ترکیبات فنولی از غلات در دست است(32). روش التراسونیک به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش کارایی استخراج، کاهش زمان و کاهش حجم حلال مصرفی شده است. در مطالعه‌ای اثرات روش‌های مختلف عصاره‌گیری روی محتوای تام فنولی و فلاونوییدی گیاه *Lythrum salicaria* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌های گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی نشان دادند. محتوای تام فنولی در عصاره اولتراسونیک بیش‌تر ازعصاره ماسیراسیون بود اما محتوای تام فلاونوئیدی در عصاره ماسیراسیون بیش‌تر از عصاره اولتراسونیک بوده است. عصاره اولتراسونیک در تست‌های بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH، نیتریک اکساید و H_2O_2 بهتر از عصاره ماسیراسیون بود(24).

در مطالعه‌ای دیگر، اثرات دو روش عصاره‌گیری بر روی محتوای تام فنولی و فلاونوییدی گیاه *Crataegus pentagyna* مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فراکسیون پلی‌فنولی و اولتراسونیک با چهار تست آنتی اکسیدانی مختلف به‌صورت برون‌تنی ارزیابی شدند. عصاره حاصل از روش اولتراسونیک در تست‌های DPPH، بدام اندازی هیدروژن پراکسید و شلات کردن Fe^{2+} بهتر از عصاره‌ی پلی‌فنل بود(5). مطالعه‌ای دیگر با هدف بررسی تاثیر روش‌های مختلف استخراج در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بر روی اندام‌های هوایی گیاه *Crocus caspius* انجام شد. روش‌های استخراج شامل اولتراسونیک، پرکولاسیون و فراکسیون پلی‌فنولی بود. عصاره اولتراسونیک دارای بیش‌ترین میزان فنول و فلاونوییید بود، در تست DPPH و بدام اندازی H_2O_2 هم قوی‌ترین عصاره گزارش شده است. عصاره خیساندن در تست قدرت احیاکنندگی قوی‌ترین عصاره بود(33).

در مطالعه دیگر از سه روش سوکسله، ماسیراسیون و اولتراسونیک برای عصاره‌گیری از گیاه *Laurus nobilis* استفاده شد. عصاره حاصل از سوکسله با بیش‌ترین محتوای فنولی و فلاونوییدی، فعالیت بدام اندازی DPPH و نیتریک اکساید بهتری نسبت به عصاره‌های دیگر نشان داد. عصاره تهیه شده به روش ماسراسیون فعالیت بدام اندازی H_2O_2 بهتری نشان داد. تفاوت قابل توجهی بین روش‌های مختلف استخراج در تست قدرت احیاکنندگی این گیاه وجود نداشت. نتایج اندازه‌گیری محتوای تام فنولی نشان داد که عصاره ناشی از سوکسله بالاتر از اولتراسونیک و ماسراسیون می‌باشد(34). در مطالعه‌ای جهت عصاره‌گیری از برگ گیاه *Cucumis melo* از روش‌های سوکسله، اولتراسونیک و ماسراسیون استفاده شد. عصاره سوکسله، ترکیبات فنولی بیش‌تری نسبت به عصاره‌های دیگر (به‌ترتیب التراسونیک و ماسیراسیون) داشت(35).در بدام اندازی رادیکال آزاد DPPH، عصاره ماسیراسیون، در بدام اندازی رادیکال آزاد نیتریک اکساید عصاره التراسونیک و در شلاته‌کنندگی آهن عصاره ناشی از سوکسله بهترین فعالیت را دارا بودند. این مقاله نشان داد که هر سه روش در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان موثر بودند اما تفاوتی بین آن‌ها وجود نداشت(35).

در یک مطالعه گل آذین گیاه زولنگ با سه روش عصاره شده و سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با یکدیگر مقایسه شده است(32). در عمده تست‌ها عصاره حاصل از روش سوکسله قوی‌ترین فعالیت را از خود نشان داد. گرچه اختلاف زیادی بین این عصاره و عصاره حاصل از روش التراسونیک وجود نداشت. این تحقیق نشان داد که روش‌های سوکسله و اولتراسوند در استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئید موثرتر از روش کلاسیک خیساندن عمل می‌کنند و بنابراین روش ارجح در استخراج این ترکیبات فعال بیولوژیک در این گیاه می‌باشند(30).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

مدل بدام‌اندازی رادیکال DPPH به‌طور گسترده برای ارزیابی توانایی بدام‌اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر، تغییر روش استخراج تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر قدرت بدام اندازی رادیکال DPPH داشت. مقدار IC_{50} در روش سوکسله 0/3± 11/3 میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد که از نظر آماری با مقادیر دو روش دیگر متفاوت بود (P <0/05). در برخی مطالعات قبلی ارتباط خطی خوبی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول تام در بسیاری از گیاهان گزارش شده است(37،36). در مطالعه ما نیز عصاره با میزان بیش‌تر فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از خود نشان دادند. هر سه عصاره قوی‌تر از BHA بودند (P <0/001) اما ویتامین ث از هر سه عصاره قوی‌تر بود (P <0/001).

قدرت احیاکنندگی به عنوان شاخصی در تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان داروئی به‌کار می‌رود(27). سنجش احیا کنندگی نمونه، ناشی از احیا آهن III به آهن II با اهداء الکترون می‌باشد. روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های گیاه مورد داشت. عصاره حاصل از خیساندن بالاترین فعالیت را از خود نشان داد(28،27). عصاره‌های حاصل از سوکسله، ماسیراسیون و اولتراسوند در خصوص زولنگ، در غلظت 25 تا 800 میکروگرم در میلی‌لیتر قدرت احیاکنندگی ضعیفی از خود نشان دادند. در این تست عصاره‌های حاوی مقادیر بالاتر از ترکیبات فنولی دارای فعالیت احیا کنندگی بالاتری بودند. گرچه این اختلاف از نظر آماری قابل ملاحظه نبود (P >0/05)(31). در مطالعه ما، در مجموع عصاره‌ها قدرت احیا کنندگی خوبی از خود نشان ندادند. عصاره‌های التراسونیک و سوکسله بخش ریشه به‌طور معنی‌داری قوی‌تر از سایر عصاره‌ها بودند. در بخش عصاره‌گیری با حلال‌های مختلف، بالاترین فعالیت مربوط به عصاره متانولی اندام هوایی بود که به مراتب قوی‌تر از سایر عصاره‌ها بود (P <0/0001).

نیتریک اکساید در بسیاری از اعمال فیزیولوژیک از جمله تنظیم فشارخون، گشاد شدن عضلات صاف عروق و سیستم ایمنی نقش دارد. تولید بیش از حد این ذره می‌تواند ایجاد استرس اکسیداتیو کند که منجر به تخریب DNA، تغییر عملکرد پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید حاصل از عصاره‌های گیاه مورد داشت(28،27). عصاره حاصل از خیساندن بالاترین فعالیت را از خود نشان داد. در روش ماسیراسیون با حلال‌ها به شکل متوالی نیز عصاره های حاصل از حلال‌ها با قطبی نسبتا بالا، شامل متانول و n-بوتانول بالاترین فعالیت را در این تست از خود نشان دادند. میزان IC_{50} حاصل از سه روش سوکسله، ماسیراسیون و اولتراسوند برای بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید در گیاه زولنگ نشان داد که عصاره حاصل از روش ماسیراسیون دارای قدرت مهارکنندگی بیش‌تری نسبت به دو روش دیگر بود(32). در مطالعه ما، قدرت بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌ها ضعیف اما وابسته به دوز بود. میزان IC_{50} برای عصاره‌گیری به روش اولتراسونیک اندام هوایی 159,7 و برای عصاره به روش سوکسله برای اندام هوایی 388/9 میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد که از سایر عصاره‌ها قوی‌تر بودند(p <0/0001) در بخش استخراج با حلال، عصاره اتیل استات اندام هوایی به‌طور معنی‌داری از تمامی عصاره‌ها قوی‌تر بود (P <0/0001).

تاکنون ارتباط بین فعالیت انتی اکسیدانی و محتوای تام فنل و فلانوئیدی(37)، توانایی شلاته‌کنندگی آهن(38)، فعالیت آنتی همولیز(39)، قدرت بدام اندازی رادیکال نیتریک اکساید(40) و فاکتور محافظت از نور آفتاب (41) گزارش شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنولی دارد. حلال‌های اتیل استات و n-بوتانول حلال‌های مناسب‌تر برای استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از این گیاه بودند. در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

مجموع محتوای تام‌فنولی و فلاونوئیدی در اندام هوایی به مراتب بیش‌تر از ریشه گیاه بود. روش خیساندن روش مناسب‌تر برای استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از ریشه گیاه بود. اما در خصوص اندام هوایی برای استخراج ترکیبات فنولی روش سوکسله و برای استخراج فلاونوئیدها روش التراسونیک مناسب‌تر هستند.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامه دوره دکترای حرفه‌ای خانم الهام مجیدایی در دانشکده داروسازی ساری می‌باشد. بدین‌وسیله از حمایت مالی حوزه معاونت محترم تحقیقات و فنآوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر می گردد (کد طرح: 1172) (کد اخلاق: IR.MAZUMS..REC.1397.1172)..

References

1. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. Biomed Pharmacother 2005; 59(7): 365-373 (Persian).
2. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev 1994; 74(1): 139-162.
3. Abdollahi M, Larijani B, Rahimi R, Salari P. Role of oxidative stress in osteoporosis. Therapy 2005; 2(5): 787-796 (Persian).
4. Hockenhery DM, Oltavai ZN, Yin XM, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. Cell 1993; 75(2): 241-251.
5. Rabiei KH, Bekhradnia S, Nabavi SM, Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of Crataegus pentagyna subsp. elburensis. Nat Prod Res 2012; 26(24): 2353-2357 (Persian).
6. Javidnia K, Miri R, Kamalinejad M, Edraki N. Chemical composition of Ferula persica Wild. Essential oil from Iran. Flavour Fragrance J 2005; 20(6): 605-606.
7. Iranshahi M, Mojarab M, Sadeghian H, Hanafi Bojd MY, Schneider B. Polar secondary metabolites of Ferula persica roots. Phytochemistry 2008; 69: 473-478.
8. Jadidi M, Vafaei AA, Miladi Gorgi H, Babaei Saeed Abady A. The effect of Ferula persica L extracts, (sakbinag) on symptoms of morphine withdrawal and sleeping time in mice. Pajouhesh Dar Pezeshki 2010; 34(4): 225-230 (Persian).
9. Sahebkar A, Iranshahi M. Biological activities of essential oils from the genus Ferula (Apiaceae). Asian Biomed 2010; 4(6): 835-847 (Persian).
10. Iranshahi M. A review of volatile sulfurcontaining compounds from terrestrial plants: Biosynthesis, distribution and analytical methods. J Essent Oil Res 2012; 24(4): 393-434 (Persian).
11. Iranshahi M, Noroozi S, Behravan J, Karimi G, Schneider B. Persicasulphide C, a new sulphurcontaining derivative from Ferula persica. Nat Prod Res 2009; 23: 1584-1588 (Persian).
12. Iranshahi M, Yazdi MC, Hassanzadeh Khayyat M, Sahebkar A. Sulfur containing compounds in the volatile oil of Ferula latisecta Rech. f. & Aell. Leaves. J Essent Oil-Bearing Pl 2009; 12(1): 64-68.
13. Iranshahi M, Mojarab M, Sadeghian H, Hanafi Bojd MY, Schneider B. Polar Secondary metabolites of Ferula persica roots. Phytochemistry 2007; 69(2): 473-478.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

14. Ghanbari M, Zahedi Khorasani M, Vakili A, Aali Taherian A, Sameni H. Acute and chronic effects of aqueous Ferula persica extract on blood pressure of normotensive rats. Koomesh 2012; 14(1): 104-108 (Persian).
15. Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Eslami B, Dehpour AA. Antioxidant and antihaemolytic activities of Ferula foetida regel (Umbelliferae). Eur Rev Med Pharmacol Sci 2011; 15(2): 157-164.
16. Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Eslami B. Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of Ferula gummosa Boiss. Grasas y Aceites 2010; 61(3): 244-250 (Persian).
17. Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM. Antioxidant activity of methanol extract of Ferula assafoetida and its Essential oil composition. Grasas y Aceites 2009; 60(4): 405-412 (Persian).
18. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Dehpour AA. Antioxidant activity of hydroalcholic extract of Ferula gummosa Boiss roots. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2011; 15(6): 658-664 (Persian).
19. Sattar Z, Iranshahi M. Phytochemistry and pharmacology of Ferula persica Boiss.: A review. Iran J Basic Med Sci 2017; 20(1): 1-8 (Persian).
20. Nasrollahi Nejad B, Bamzadeh Z, Hejazi SH. Antimicrobial Effects of Ferula persica Gum Extract and Gold Nanoparticles on Pseudomonas aeruginosa. Avicenna J Clin Microb Infec 2017; 4(1): e36646 (Persian).
21. Bagheri SM, Sahebkar A, Gohari AR, Saeidnia S, Malmir M, Iranshahi M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal Ferula species. Pharm Biol 2010; 48(3): 242-246 (Persian).
22. Shahverdi AR, Iranshahi M, Mirjani R, Jamalifar H, Amin G, Shafiee A. Bioassay-guided isolation and identification of an antibacterial compound from Ferula persica var. persica roots. DARU J Pharm Sci 2005; 13: 17-19 (Persian).
23. Ma YQ, Ye XQ, Hao YB, Xu GN, Xu GH, Liu DH. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (Citrus reticulata) peel. Ultrason Sonochem 2008; 15(3): 227-232.
24. Jamshidi M, Shabani E, Hashemi Z, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from leaf and aerial parts of Lythrum salicaria L. Int Food Res J 2014; 21(2): 783-788 (Persian).
25. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Nabavi SF, Eslami B, Ehsanifar S. Antioxidant activity of Hyoscyamus squarrosus fruits. Pharmacologyonline 2009; 2: 644-650 (Persian).
26. 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 (Persian).
27. Mozdastan Sh, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (Myrtus communis L). J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 10-24 (Persian)
28. Mozdastan Sh, Ebrahimzadeh MA, Eslami Sh. Effect of increasing the polarity of solvent on total phenol and flavonoid contents and antioxidant activity of Myrtle (Myrtus communis L.) J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(126): 68-81 (Persian).
29. Falleh H, Ksouri R, Lucchessi ME, Abdelly C, Magne C. Ultrasound-assisted extraction: effect of exraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]

activity of Mesembryanthemum edule L. Aizoaceae shoots, Tro J Pharm Res 2012; 11(2): 243-249.

30. Wang L, Weller CL. Recent advance in extraction of nutaceuticals from Plants. Trends Food Sci Technol 2006; 17: 300-312.
31. Motallebi Riekandeh S, Mazandarani M, Ebrahimzadeh MA, Zargari M. Antioxidant activities of Eryngium caucasicum inflorescence. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2016; 20(5): 946-949 (Persian).
32. He Ch, Ji X, Pan Y, Wang H, Wang K, Liang M, Yang L. Antioxidant activity of alcoholic extract of Agrimonia pilosa Ledeb. Med Chem Res 2010; 19: 448-461.
33. Khalil M, Fathi H, Ebrahimzadeh M. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of Crocus caspius, Impact of extraction methods. Pak J Pharm Sci 2015; 29(3): 773-777.
34. Ebrahimzadeh MA, Hashemi Z, Jamshidi M. Evaluation of antioxidant activities of Laurus nobilis L.(Lauraceae) fruits, Impact of extraction methods.world of sciences Journal 2013; 5(2): 79-87.
35. Ebrahimzadeh MA, Askari M, Forouzani M.Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from Cucumis melo L. fruit and leaves. Int J Forest Soil Erosion 2013; 3(3): 95-99.
36. Cai YZ, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci 2004; 74(17): 2157-2184.
37. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus specis peels and tissues. Pak J Pharm Sci 2009; 22(3): 277-281 (Persian).
38. Ebrahimzadeh MA, Pourmorad F, Bekhradnia AR. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. African J Biotech 2008; 7(18): 3188-3192.
39. Khalili M, Ebrahimzadeh MA, Safdari Y. Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. Arh Hig Rada Toksikol 2014; 65(4): 399-406.
40. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Pourmorad F. Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. Afr J Biotech. 2010; 9(32): 5212-5217.
41. Ebrahimzadeh MA, Enayatifard R, Khalili M, Ghaffarloo M, Saeedi M, Charati JY. Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. Iranian J Pharm Res 2014; 13(3): 1041-1047.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-09]