Research Paper

Evaluation of Phenolic Compounds and Assessment of Antioxidant Capacity and Anti-Inflammatory of Alcoholic Extraction of Melilotus Officinalis and Fraxinus Excelsior

Fariba Zarei[1], *Susan Khosroyar[2]

1. MSc. Student, Department of Chemical and Petroleum Engineering, Quchan Branch, Islamic Azad university, Quchan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Chemical and Petroleum Engineering, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation: Zarei F, Khosroyar S. [Evaluation of Phenolic Compounds and Assessment of Antioxidant Capacity and Anti-Inflammatory of Alcoholic Extraction of Melilotus Officinalis and Fraxinus Excelsior (Persian)]. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2016; 23(5):818-825. http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305818

doi: http://dx.doi.org/10.21859/sums-2305818

Received: 26 Jul. 2016

Accepted: 28 Oct. 2016

ABSTRACT

Backgrounds In recent years, researchers tried to find new compounds with herbal origins to treat and prevent diseases. The current study aimed at investigating the antioxidant and anti-inflammatory effects of *Melilotus officinalis* and *Fraxinus excelsior* alcoholic extracts, commonly used in traditional medicines.
Methods & Materials After preparing the ethanolic extracts of M. officinalis and F. excelsior by the maceration method, the antioxidant properties were investigated by the cupric ion reducing assay (cupric assay) and the anti-inflammatory effects were also investigated through the prevention test of bovine serum albumin (BSA) and its transformation potential.
Results The obtained results showed that both mentioned plants had antioxidant and anti-inflammatory effects. The antioxidant properties changed based on the concentration of extracts, and antioxidant and anti-inflammatory properties increased along with the concentration increase. The highest amount of phenolic compound in F. excelsior was 0.04 mg/g of dry extract; this plant also showed the highest antioxidant effect (0.714±0.045). The highest amount of flavonoid compounds in M. officinalis was 9.23 mg; this plant showed the highest anti-inflammatory effects (0.21±0.033).
Conclusion The employed screening methods were useful to find biological components with different properties.

Keywords:
Antioxidant, Anti-inflammatory, Melilotus officinalis, Fraxinus excelsior

* ***Corresponding Author:***
Susan Khosroyar, PhD
Address: Department of Chemical and Petroleum Engineering, Islamic Azad university, Quchan Branch, Quchan, Iran.
Tel: +98 (939) 4142663
E-mail: susankhosroyar@yahoo.com

بررسی ترکیبات فنلی و ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره الکلی دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک

فریبا زارعی[۱]، *سوسن خسرویار[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران.
۲- استادیار، گروه مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران.

تاریخ دریافت: ۰۵ مرداد ۱۳۹۵
تاریخ پذیرش: ۰۷ آبان ۱۳۹۵

چکیده

اهداف در سال‌های اخیر، یافتن ترکیبات جدید با منشأ گیاهی در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها، مدنظر محققان قرار گرفته است. هدف مطالعه حاضر بررسی توان آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی گیاهان ناخنک و زبان گنجشک است که در طب سنتی استفاده می‌شود.

مواد و روش‌ها در این پژوهش، پس از تهیه عصاره اتانولی گیاهان ناخنک و زبان گنجشک به روش خیساندن، میزان توان آنتی‌اکسیدانی گیاهان با روش ارزیابی احیای یون مس و قدرت ضدالتهابی آن‌ها با آزمون ممانعت از تغییر شکل پروتئین آلبومین گاوی، اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها نتایج نشان داد هر دو گیاه اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی به غلظت عصاره‌ها وابسته است و با افزایش غلظت عصاره‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن‌ها افزایش می‌یابد. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در هر گرم عصاره خشک گیاه زبان گنجشک ۰/۰۴۷ میلی‌گرم است. این گیاه بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی (۰/۰۴۵±۰/۷۱۴) را دارد. بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ناخنک ۹/۲۳ میلی‌گرم است. این گیاه بیشترین اثر ضدالتهابی (۰/۰۳۳±۰/۲۱۷) را دارد.

نتیجه‌گیری استفاده از روش‌های غربالگری همانند روش‌های ذکرشده، فرصتی برای یافتن ترکیبات فعال با چند اثر متفاوت را فراهم خواهد کرد.

کلیدواژه‌ها:

آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ناخنک، زبان گنجشک

مقدمه

سابقه درمان بیماری‌ها با گیاهان دارویی به قدمت زندگی انسان روی کره زمین است. انسان به حکم تجربه، علم و بنا بر مقتضیات زمان، به کمک گیاهان دارویی بسیاری از بیماری‌های خود را مداوا می‌کند. گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به‌طورکلی فراورده‌های طبیعی به‌ویژه در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده است. مهم‌ترین علل آن، اثبات اثرات مخرب و جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی‌های زیست‌محیطی است که کره زمین را تهدید می‌کند [۱]. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی حدود ۸۰ درصد از مردم جهان، در کشورهای در حال توسعه و فقیر زندگی می‌کنند که به‌دلیل گران‌بودن داروهای سنتزی و عدم دسترسی و وجود عوارض جانبی این داروها، عمده‌ترین نیازهای درمانی خود را از گیاهان دارویی تأمین می‌کنند.

این عوامل باعث شده است در سال‌های اخیر تحقیقات بسیار گسترده‌ای روی گونه‌های ویژه‌ای از این گیاهان صورت گیرد که اثرات مناسبی روی بیماری‌ها دارند. در حال حاضر ۲۵ درصد از داروهای موجود در بازار دارویی جهان، منشأ گیاهی دارند [۲، ۳]. یکی از شناخته‌شده‌ترین علل بسیاری از بیماری‌ها (آرتروسکلروز، پیری، سرطان، آلزایمر و پارکینسون) استرس اکسیداتیو است که با رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود. مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع روند لیپید پراکسیداسیون است که منجر به تخریب غشای سلول‌ها می‌شود [۴]. این ترکیبات به دیگر مولکول‌های بیولوژیک مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه وارد می‌کند و منجر به موتاسیون در ژن‌ها می‌شود. مهم‌ترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند.

عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به حمله رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های بیولوژیک می‌شود. نقش فیزیولوژیکی آنتی‌اکسیدان‌ها، جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد به‌ویژه آنیون‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را جمع‌آوری می‌کند [۵، ۶]. گیاهان ترکیبات باارزشی دارند که علاوه بر افزایش کیفیت و ارزش تغذیه‌ای غذا به صورت‌های دیگر ازجمله نوشیدنی، رنگ، مواد آرایشی، دارویی

* نویسنده مسئول:
دکتر سوسن خسرویار
نشانی: قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه مهندسی شیمی و نفت.
تلفن: ۴۱۴۲۶۶۳ (۹۳۹) ۹۸+
پست الکترونیکی: susankhosroyar@yahoo.com

و درمانی استفاده می‌شوند. برخی از گیاهان میزان قابل توجهی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دارند. با مصرف این گیاهان، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما به طور معناداری افزایش می‌یابد [۷].

آنتی‌اکسیدان‌ها به دو فرم سنتزی و طبیعی هستند. دانشمندان و متخصصان تغذیه همواره درصدد یافتن ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش اثرات تحمیلی رادیکال‌های آزاد بر بدن هستند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اثرات جانبی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی را ندارند. برخی از گیاهان نیز ترکیبات ضدالتهابی دارند که می‌توان از آن‌ها برای درمان انواع التهاب‌های مزمن، عفونت‌های پوستی، دردهای روماتوئیدی، تب و عفونت‌ها استفاده کرد [۸، ۹]. بیماری‌های التهابی به طور معمول شامل استئوآرتریت، لوپوس اریتماتوز، آسم و ناهنجاری‌های روماتوئیدی، آرتریت‌ها و تب‌های روماتوئیدی می‌شود. استفاده طولانی‌مدت از داروهایی که به منظور سرکوب واکنش‌های التهابی استفاده می‌شوند منجر به عوارضی ازجمله زخم‌های معده و روده و آنمی خواهد شد [۱۰].

به واسطه اثرات جانبی این داروها، تمایل به شناسایی ترکیبات گیاهی با خواص ضدالتهابی افزایش یافته است. استفاده از گیاه ناخنک[1] و زبان گنجشک[2] به دلایل مختلف در طب سنتی ایران رایج است. هدف این مطالعه، ارزیابی مقایسه‌ای و غربالگری توان آنتی‌اکسیدانی و قدرت ضدالتهابی عصاره الکلی این دو گیاه است.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام پژوهش، گیاهان ناخنک و زبان گنجشک از فروشگاه‌های محلی تهیه شد. پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه فردوسی این گیاهان را شناسایی کرد. کد هرباریوم برای گیاه ناخنک به شماره ۱۳۱۳۳ و برای گیاه زبان گنجشک به شماره ۱۳۲۳۲ دریافت شد. سپس ناخالصی‌های احتمالی موجود جدا و گیاهان خشک و به طور کامل آسیاب شدند و به صورت پودر درآمدند. سپس به ۵۰ گرم از گیاهان پودرشده، حلّال اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۱ به ۵ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه شیکر قرار گرفت. پس از گذشت این زمان عصاره‌های حاصل با دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ شدند. عصاره‌های خشک‌شده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۳-۱۱].

به منظور اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش ارزیابی احیای یون مس[3] استفاده شد [۱۴]. برای این منظور محلول 1×10^{-2} مولار کلرید مس، محلول ۱ مولار استات آمونیوم با pH=۷ و محلول $7/5\times10^{-3}$ مولار نئوکوپروئین (۲ و ۹ دی متیل، ۱و۱۰ فنانترولین) تهیه شد. در هر لوله آزمایش نسبت‌های مساوی از محلول‌های تهیه‌شده با عصاره گیاهی مخلوط و لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش بدون عصاره به عنوان شاهد استفاده شد [۱۵]. آزمایش‌ها در سه نوبت انجام و میانگین گزارش شد.

برای ارزیابی فعالیت ضدالتهابی از روش ممانعت از تغییر شکل پروتئین استفاده شد [۱۶]. بر اساس این روش، محلول یک درصد آلبومین گاوی تهیه شد و مقادیر مساوی از عصاره گیاه و آلبومین گاوی در لوله آزمایش ریخته و pH محلول با اسید کلریدریک ۱N کنترل شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور گذاشته شد. سپس نمونه‌ها برای ایجاد شوک حرارتی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار داده شد. جذب محلول‌ها در ۶۶۰ نانومتر نسبت به محلول شاهد اندازه‌گیری شد. محلول شاهد آلبومین گاوی بود [۱۶].

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی از روش فولین‌سیوکالتو استفاده شد [۱۷]. طبق این روش ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۵۰۰ میکرولیتر از معرف فولین اضافه شد و پس از گذشت ۱ دقیقه، ۱/۵ میلی‌لیتر از سدیم بی‌کربنات ۲۰ درصد به هر لوله افزوده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با محلول‌های ۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از گالیک اسید در اتانول تهیه شد. (تصویر شماره ۱) محتوای فنل کل به صورت معادل اکی والان گالیک اسید بیان شد (میلی‌گرم گالیک اسید/ گرم وزن عصاره) که این ترکیب مرجعی برای تعیین محتوای فنل است [۱۷].

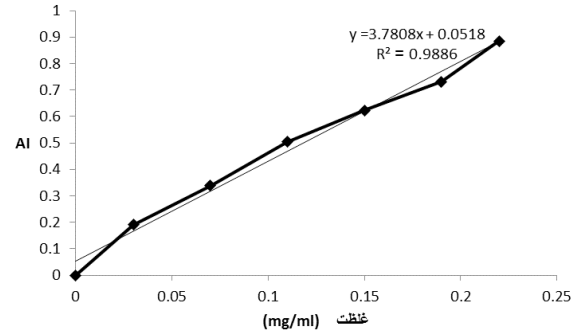
برای سنجش میزان آنتوسیانین، مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاه با ۴ میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک ۱ درصد حاوی اتانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول به‌دست‌آمده به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳ هزار دور سانتریفیوژ شد. فاز رویی برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر خوانده شد. از محلول شاهد اسیدکلریدریک ۱ درصد اتانول به عنوان شاهد استفاده شد [۱۸]. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۱۸].

معادله (۱)

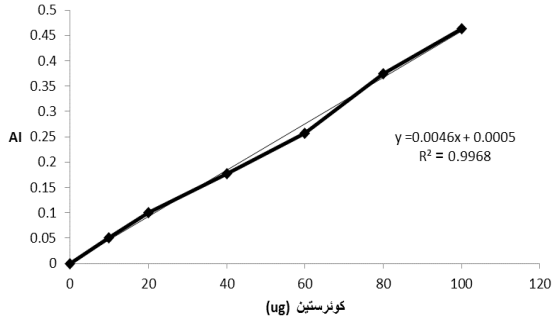
$$A=A_{035}-(0.52\times A_{657})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آن ها اندازه‌گیری شده است).

1. Melilotus officinalis
2. Fraxinus excelcior
3. Cuprac assay



تصویر ۱. منحنی استاندارد گالیک اسید به روش فولین‌سیوکالچو.



تصویر ۲. منحنی استاندارد کوئرستین به روش کلریمتری آلومینیوم کلرید.

مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش نورسنجی آلومینیوم کلراید انجام شد [۱۹]. طبق این روش ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول و ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر از آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب آن در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی از غلظت‌های مختلف کوئرستین ۱۲/۵-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در اتانول استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئید به صورت اکی والان‌های کوئرستین/ گرم وزن عصاره خشک بیان شد. (تصویر شماره ۲)

برای انجام آزمون‌های آماری از نرم‌افزارهای SPSS (نسخه ۲۲) و اکسل (نسخه ۲۰۰۷) استفاده شد. تمامی داده‌ها در بررسی حاضر به صورت میانگین ± انحراف‌معیار استاندارد (Mean±Sem) بیان شد. P<۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آزمایش‌های سنجش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، وجود مقادیر زیاد این ترکیبات را در عصاره اتانولی گیاهان ناخنک و زبان گنجشک (جدول شماره ۱) تأیید کرد. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در گیاه زبان گنجشک برابر با ۰/۰۴۷ میلی‌گرم بر گرم و بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ناخنک برابر با ۹/۲۳۹ میلی‌گرم بر گرم تعیین شد. میزان ترکیبات آنتوسیانینی بر اساس معادله ۱ برای عصاره اتانولی ناخنک ۷/۸ میلی‌گرم بر گرم و برای عصاره اتانولی زبان گنجشک ۲۱/۰۵ میلی‌گرم بر گرم تعیین شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان ناخنک و زبان گنجشک در جدول شماره ۲ ارائه شده است. در این آزمون توانایی احیای یون مس دوظرفیتی به یون مس یک‌ظرفیتی در حضور معرف مس سنجیده شد. این روش برای بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها بدون

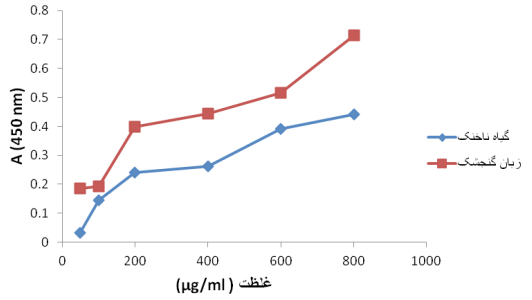
جدول ۱. میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در عصاره اتانولی ناخنک و زبان گنجشک.

عصاره	ترکیب‌های فنلی (mg/gr)	ترکیب‌های فلاونوئیدی (mg/gr)
اتانولی ناخنک	۰/۰۲۹	۹/۲۳۹
اتانولی زبان گنجشک	۰/۰۴۷	۰/۹۷

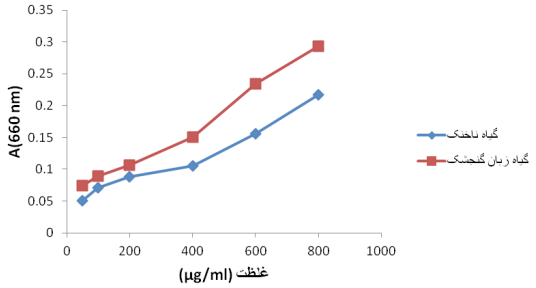
جدول ۲. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه ناخنک و زبان گنجشک.

شماره لوله	محلول عصاره µg/ml	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ناخنک nm میانگین±SEM	فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه زبان گنجشک میانگین±SEM
۱	۵۰	۰/۰۳۲±۰/۰۱۶	۰/۱۸۵±۰/۰۳۰
۲	۱۰۰	۰/۱۴۶±۰/۰۱۳	۰/۱۹۲±۰/۰۰۹
۳	۲۰۰	۰/۲۴۱±۰/۰۲۱	۰/۳۹۸±۰/۰۲۴
۴	۴۰۰	۰/۲۶۳±۰/۰۲۷	۰/۴۴۵±۰/۰۱۷
۵	۶۰۰	۰/۳۹۲±۰/۰۳۹	۰/۵۱۶±۰/۰۲۲
۶	۸۰۰	۰/۴۴۲±۰/۰۲۵	۰/۷۱۴±۰/۰۴۵*

* P<۰/۰۵



تصویر ۳. منحنی جذب بر اساس غلظت برای اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه ناخنک و زبان گنجشک.



تصویر ۴. منحنی جذب بر اساس غلظت برای اثر ضدالتهابی گیاه ناخنک و زبان گنجشک.

توجه به ترکیب شیمیایی آن‌ها کاربردی، سریع، انتخابی و مناسب است. با این روش آنتی‌اکسیدان‌های گروه تیول همانند گلوتاتیون و تیول‌های غیرپروتئینی قابل اندازه‌گیری است [۲۰]. این روش برای تمام آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست و آب‌دوست کاربرد دارد و برای تمام نمونه‌های بیولوژیک قابل استفاده است [۲۱].

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان در غلظت‌های ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم سنجیده شد. در این مطالعه بر اساس نتایج جدول شماره ۲ مشخص شد که هر دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک اثر آنتی‌اکسیدان دارند (تصویر شماره ۳). همچنین در مقایسه انجام‌شده تعیین گردید که بیشترین اثر آنتی‌اکسیدان مربوط به گیاه زبان گنجشک در غلظت ۸۰۰ میکروگرم و برابر با ۰/۷۱۴±۰/۰۴۵ نانومتر است و اثر آنتی‌اکسیدان گیاه زبان گنجشک بیشتر از ناخنک است. همچنین بین افزایش غلظت و افزایش اثر آنتی‌اکسیدان رابطه مستقیمی وجود داشت [۲۲]. بین عصاره گیاه ناخنک و گیاه زبان گنجشک نیز اختلاف معناداری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

میزان فعالیت ضدالتهابی عصاره گیاهان در غلظت‌های ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم سنجیده شد. در این پژوهش توان گیاهان در ممانعت از تغییر شکل پروتئین سنجیده شد. در این بررسی بر اساس نتایج جدول شماره ۳ مشخص شد که هر دو گیاه اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارند (تصویر شماره ۴) و با افزایش غلظت میزان جذب افزایش می‌یابد. در غلظت ۸۰۰ میکروگرم میزان جذب برای گیاه ناخنک ۰/۲۱۷±۰/۰۳۳ نانومتر و برای گیاه زبان گنجشک ۰/۲۹۳±۰/۰۲۵ نانومتر بود. در این روش هرچه میزان جذب کمتر باشد، نشان‌دهنده کاهش کدورت و افزایش توان گیاه در ممانعت از تغییر شکل پروتئین و افزایش توان ضدالتهابی است. بنابراین، گیاه ناخنک در غلظت ۸۰۰ میکروگرم اثر ضدالتهابی بیشتری نسبت به گیاه زبان گنجشک دارد [۲۳].

بحث

در این مطالعه توان آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره الکلی دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک ارزیابی شده است که به طور معمول در طب سنتی استفاده می‌شوند. بر اساس نتایج جدول شماره ۲ مشخص شد که هر دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک اثر آنتی‌اکسیدانی دارند. بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی مربوط به گیاه زبان گنجشک در غلظت ۸۰۰ میکروگرم و برابر با ۰/۷۱۴±۰/۰۴۵ و اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه زبان گنجشک بیشتر از گیاه ناخنک است. بین عصاره گیاه ناخنک و گیاه زبان گنجشک اختلاف معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین بین افزایش غلظت و افزایش اثر

جدول ۳. میزان فعالیت ضدالتهابی عصاره اتانولی گیاه ناخنک و زبان گنجشک.

شماره لوله	محلول عصاره µg/ml	فعالیت ضدالتهابی گیاه ناخنک nm میانگین±SEM	فعالیت ضدالتهابی گیاه زبان گنجشک nm میانگین±SEM
۱	۵۰	۰/۰۵۱±۰/۰۱۰	۰/۰۷۴±۰/۰۰۶
۲	۱۰۰	۰/۰۷۱±۰/۰۰۸	۰/۰۸۹±۰/۰۱۰
۳	۲۰۰	۰/۰۸۸±۰/۰۰۱	۰/۱۰۶±۰/۰۱۱
۴	۴۰۰	۰/۱۰۵±۰/۰۱۲	۰/۱۵۰±۰/۰۲۰
۵	۶۰۰	۰/۱۵۶±۰/۰۲۳	۰/۲۳۴±۰/۰۱۰
۶	۸۰۰	۰/۲۱۷±۰/۰۳۳	۰/۲۹۳±۰/۰۲۵

آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیمی وجود داشت [۲۲].

براگا و همکاران گیاه ناخنک را با روش مهار فعالیت رادیکال، نورتابی شیمیایی بر شکافتن نوتروفیل انسانی و لیپوپراکسیداز بررسی کردند. آن‌ها بیان کردند که این گیاه اثر آنتی‌اکسیدانی دارد و در ازبین‌بردن استرس اکسیداتیو مؤثر است [۲۴]. همچنین آن‌ها در بررسی فیتوشیمیایی این گیاه با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک دوبعدی، وجود ترکیبات فنلی را در این گیاه تأیید کردند [۲۵]. میدلتون و همکاران اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه زبان گنجشک را با گیاهان شقایق سیاه و توسکای سیاه مقایسه کردند. نتایج حاکی از آن بود که اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه زبان گنجشک بیشتر از دو گیاه دیگر است [۲۶]. بایی و همکاران در بررسی فیتوشیمیایی این گیاه، وجود یک ترکیب فنلی و ۹ ترکیب گلیکوزیدی را در این گیاه تأیید کردند [۲۷]. این نتایج می‌تواند تأییدی بر نتیجه پژوهش حاضر باشد.

با توجه به بیشتربودن میزان ترکیبات فنلی در گیاه زبان گنجشک (۰/۰۴۷) که در جدول شماره ۱ ذکر شده است، احتمالاً ترکیبات فنلی می‌توانند مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده از دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک باشند. به نظر می‌رسد اختلاف در قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک گیاهان مختلف به اختلاف در ساختمان شیمیایی آن‌ها برمی‌گردد [۲۸]. این نتیجه با نتایج تحقیقات دیگر مطابقت دارد. بین فعالیت زیاد آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی عصاره گیاه رزماری رابطه مستقیمی گزارش شده است [۲۹].

در این پژوهش اثر ضدالتهابی گیاه ناخنک و زبان گنجشک با استفاده از آزمون ممانعت از تغییر شکل پروتئین آلبومین بررسی شد و میزان توان ضدالتهابی گیاه برای جلوگیری از تغییر شکل ساختمان دوم و سوم پروتئین اندازه‌گیری شد. هر چقدر میزان جذب کمتر باشد، نشان‌دهنده کاهش کدورت و افزایش توان ضدالتهاب گیاه است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از جدول شماره ۳، مشخص شد که هر دو گیاه اثرات ضدالتهابی دارند و بیشترین اثر ضدالتهابی مربوط به گیاه ناخنک در غلظت ۸۰۰ میکروگرم و برابر با ۰/۰۳۳±۰/۲۱۷ است. همچنین بین افزایش غلظت و اثر ضدالتهابی رابطه مستقیم وجود دارد.

در مطالعه مانکا و همکاران اثر ضدالتهاب گیاه ناخنک تأیید شد [۲۳]. بونی در بررسی فیتوشیمیایی گیاه ناخنک اعلام کرد که این گیاه زمانی که خشک می‌شود طعم تلخ و بوی یونجه‌مانندی دارد که ناشی از وجود کومارین است. اجزای تشکیل‌دهنده آن ملیلوتین و گلیکوزیدهای کومارین و اسانس و رنگدانه‌های فلاونوئیدی است [۳۰]. در مطالعه دیگری اثر ضدالتهابی گیاه زبان گنجشک در ترکیب با دو گیاه صنوبر و کاسنی بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که این دارو اثرات ضدالتهابی دارد [۳۱]. در بررسی فیتوشیمیایی گیاه زبان گنجشک نیز طبقات مختلفی از ترکیبات ازجمله بنزوکینون، کومارین، فلاونوئید، فنیل اتانوئید، گلیکوزیدهای سکورویید، مشتقات ایندول و برخی ترکیبات ساده فنلی گزارش شده است [۳۲]. نتایج ذکرشده می‌تواند تأییدی بر نتایج مطالعه پیش‌رو باشد.

با توجه به بیشتربودن میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ناخنک که در جدول شماره ۱ ذکر شده است، شاید بتوان اثر ضدالتهابی هر دو گیاه ناخنک و زبان گنجشک را به وجود ترکیبات فلاونوئیدی نسبت داد. با توجه به این مطالعه مشخص شد که هر دو گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارند و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در هر دو گیاه موجود است، اما با توجه به اینکه میزان ترکیبات فنلی در گیاه زبان گنجشک که خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد بیشتر است و همچنین با توجه به بیشتربودن میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه ناخنک که خاصیت ضدالتهابی بیشتری دارد، شاید بتوان وجود خاصیت ضدالتهابی بیشتر در گیاه ناخنک را به وجود ترکیبات فلاونوئیدی بیشتر در این گیاه نسبت داد. همچنین شاید بتوان وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در گیاه زبان گنجشک را به وجود میزان بیشتر ترکیبات فنلی در این گیاه نسبت داد. با این وجود، برای رسیدن به نتیجه قطعی به مطالعات بیشتری نیاز است.

در این مطالعه، اثر توأم خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در گیاه ناخنک و زبان گنجشک مشاهده شد. با توجه به استفاده طولانی‌مدت از این گیاهان در طب سنتی، می‌توان از آن‌ها در درمان بیماری‌هایی استفاده کرد که پاتوژن آن‌ها بر پایه التهاب و رادیکال‌های آزاد است. ترکیبات ضدالتهابی توانایی زیادی در درمان بیماری‌های مختلف ازجمله سرطان‌ها، ناهنجاری‌های عصبی و کندشدن روند پیری دارند [۳۳]. درمجموع، استفاده از روش‌های غربالگری مانند آزمون ارزیابی احیای یون مس و ممانعت از تغییر شکل پروتئین آلبومین گاوی، فرصتی برای یافتن گیاهان با ترکیبات فعال جدید و انتخاب آن‌ها برای آزمون‌های تکمیلی و پیشرفته‌تر خواهد بود. با توجه به وجود اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتر در گیاه زبان گنجشک و همچنین وجود خاصیت ضدالتهابی بیشتر در گیاه ناخنک و اثربخشی خاصیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در روند بیماری‌های التهابی، مطالعه خاصیت ترکیبی این دو گیاه به عنوان موضوعی باارزش برای پژوهش‌های بیشتر توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از بخش تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه خانم فریبا زارعی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد با گرایش بیوتکنولوژی از دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه آزاد قوچان است.

References

[1] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 1999; 12(4):564-82. PMCID: PMC88925

[2] Magaji MG, Anuka JA, Abdu-Aguye I. Behavioural effects of the methanolic root bark extract of Securinega virosa in rodents. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. 2008; 5(2):147-53. PMID: 20161930

[3] Huang ZR, Lin YK, Fang JY. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. Molecules. 2009; 14(1):540–54. doi: 10.3390/molecules14010540

[4] Asghari S, Naderi GH, Bashardoost N, Etminan Z. The study of antioxidant potential of chamaemelum nobile extract on liver cell of rats. Journal of Herbal Drugs. 2011; 1:69-76.

[5] Koksal E, Gulcin I. Antioxidant activity of cauliflower. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 2008; 32(1):65-78.

[6] Zihreh F, Nasri S, Karishchi P. [The effect of quercetin on pituitary–gonadal axis, sperm parameters and testis tissue in male rats(Persian)]. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2015; 22 (3) :377-386.

[7] Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1999; 47(10):3954–62. doi: 10.1021/jf9901461

[8] Anilkumar M. Ethnomedicinal plants as anti-inflammatory and analgesic agents. In: Chattopadhyay D. Ethnomedicine: A Source of Complementary Therapeutics. New York: Barnes & Noble; 2010.

[9] Homayoni Tabrizi M, Asoodeh A, Shabestarian H. [Isolation and identification of a new antioxidant peptide from casein camel milk using pepsin and pancreatin (Persian)]. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2015; 22(1):45-56.

[10] Palasuwan A, Soogarun S, Lertlum T, Pradniwat P, Wiwanitkit V.Inhibition of heinz body induction in an in vitro model and total antioxidant activity of medicinal Thai plants. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2006; 6(1):458-463.

[11] Ramman N. Phytochemical techniques. New Delhi: India Publishing Agency; 2006

[12] Adedapo AA, Jimoh FO, Koduru S, Afolayan AJ, Masika PJ. Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of Calpurnia aurea. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2008; 8:53. doi: 10.1186/1472-6882-8-53

[13] Taylor RSL, Edel F, Manandhar NP, Towers GHN. Antimicrobial activities of southern Nepalese medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 1996; 50(2):97–102. doi: 10.1016/0378-8741(95)01335-0

[14] Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Çelik SE. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. Microchimica Acta. 2007; 160(4):413–9. doi: 10.1007/s00604-007-0777-0

[15] Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Çelik SE. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. Microchimica Acta. 2007; 160(4):413–9. doi: 10.1007/s00604-007-0777-0

[16] Sakat S, Juvekar AR, Gambhire MN. In vitro antioxidant and antiinflammatory activity of methanol extract of oxalis corniculata Linn. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 2010; 2(1):146-155.

[17] Hayouni E, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chemistry. 2007; 105(3):1126–34. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.02.010

[18] Mita S, Murano N, Akaike M, Nakamura K. Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. Plant Journal. 1997; 11(4):841–51. doi: 10.1046/j.1365-313x.1997.11040841.x

[19] Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 2002; 10(3):178-182.

[20] Koksal E, Gulcin I. Antioxidant activity of cauliflower. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 2008; 32:65-78.

[21] Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Bektas¸oğlu B, Bener M. Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for food antioxidants: vitamins, polyphenolics, and flavonoids in food extracts. Advanced Protocols in Oxidative Stress I. 2008; 163–93. doi: 10.1007/978-1-60327-517-0_14

[22] Johnsy G, Kaviyarasan V. Antimicrobial and antioxidant properties of trametes gibbosa. Journal of Pharmacy Research. 2011; 4(11): 3939-3942.

[23] Pleşca-Manea L, Pârvu AE, Pârvu M, Taa˘maş M, Buia R, Puia M. Effects ofMelilotus officinalison acute inflammation. Phytotherapy Research. 2002; 16(4):316–9. doi: 10.1002/ptr.875

[24] Braga P, Sasso M, Lattuada N, Marabini L, Calo R, Antonacci R, et al. Antioxhdant activity of Melilotus officinalis extract investigated by mean of the radical Scavenging activity ,the chemilu minescence of human neutrophil bursts and lipoperoxidation assay. Journal of Medicinal Plants Research. 2013; 7(7):358-365

[25] Krzakowa M, Grzywacz E. Phenolic compounds pattern in sweet clover (Melilotus officinalis) vs white clover (M. alba) revealed by 2D TLC (two-dimentional thin-layer chromatography) and its taxonomic significance. Herba Polonica. 2010; 56(3): 53-62.

[26] Middletona P, Stewart F, Al-Qahtani S, Egan P, Rourke C, Abdulrahman A. Antioxidant, antibacterial activities and general toxicity of alnus glutinosa, fraxinus excelsior and Papaver Rhoeas. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2005; 2:81-86.

[27] Bai N, He K, Ibarra A, Bily A, Roller M, Chen X, et al. Iridoids fromfraxinus excelsiorwith adipocyte differentiation-inhibitory and pparα activation activity. Journal of Natural Products. 2010; 73(1):2–6. doi: 10.1021/np9003118

[28] Waterman PG, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1994.

[29] Elmastaş M, Dermirtas I, Isildak O, Aboul-Enein HY. Antioxidant activity of s-carvone isolated from spearmint (Mentha Spicata L. Fam Lamiaceae). Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2006; 29(10):1465–75. doi: 10.1080/10826070600674893

[30] Bunney, S. The illustrated encyclopedia of herb. Their medicinal and culinary uses. Carpenter, RC., Sothesswaran: Chanceller Press London; 1992.

[31] Bonaterra G, Kinscherf R, Kelber O, Weiser D, Metz J. Anti-inflammatory effects of Populus tremula, Fraxinus excelsior, Solidago virgaurea extracts and their combination Phytodolor® in human monocytes. Planta Medica. 2007; 73(9). doi: 10.1055/s-2007-986843

[32] Buckingham J. Dictionary of natural products. Florida: Chapman & Hall; 2001.

[33] Lealaprakash G, Mohandass S. In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of enicostemma axllare. International of Drug Development and Research. 2010; 3(1):189-196.