Original Article

# ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و فنل تام عصاره هیدروالکلی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله

**علی میرزائی[1*]، جمشید محمدی[2]، نوشین میرزائی[3]، مهسا میرزائی[4]**

۱- بخش بیوشیمی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ایران.
۲- بخش فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ایران.
۳- کالج فرگوسن، دانشگاه پونا، ماهاراشترا، هندوستان.
۴- کالج سیناگاد، دانشگاه پونا، ماهاراشترا، هندوستان.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۴/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۶/۱۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های زیادی در انسان می‌شوند. آنتی اکسیدان‌ها با خنثی سازی رادیکال‌های آزاد از یک طرف باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سکته می‌شوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان‌ها جلوگیری می‌کنند.

**مواد و روش‌ها:** پس از تهیه و جمع آوری خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله و خشک نمودن آن‌ها در سایه در مجاورت هوا پودر گردیدند و عصاره‌های هیدروالکلی (اتانول ۷۰٪) به روش ماسراسیون تهیه و نتایج تمام آزمایش‌ها بر حسب گرم عصاره گزارش گردید. در این مطالعه برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی از پنج آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس، فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیا شده، آزمون فسفومولیبدینم و قدرت احیاکنندگی استفاده شد. برای اندازه گیری ترکیبات آنتی اکسیدانی آزمون فنل تام به‌کار رفت.

**نتایج:** محتوای فنلی برای نمونه‌ها در محدوده بین ۱۵۴/۳-۷۴ میلی گرم در گرم عصاره بود. بیشترین و کم‌ترین مقدار فعالیت به دام اندازی رادیکالی آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل بین ۱۹/۶-۱۵/۵ میکرو مول ترولکس بود. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ۷۵۳ ترولکس و کم‌ترین ۱۲۴/۲ میکرو مول ترولکس بود. محدوده مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیا شده از ۲۳۴/۸ تا ۱۱۶۹ میکرو مول آهن فروس در میلی گرم عصاره بود. میزان فنل تام بارهنگ (۱۵۴/۳) و فعالیت ضد رادیکالی دی فنیل پیکریل هیدرازیل (۱۸۵۶) فعالیت ضد رادیکالی معادل ترولکس آن (۷۵۳) میکرو مول ترولکس بود که دارای بیشترین مقدار بود. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به دو روش فسفومولیبدینم ۸۷۰-۵۱۳/۳ میکرو مول ترولکس و احیاء آهن در محدوده ۳۱-۱/۲۶ بود. بارهنگ در این دو روش دارای ماکزیمم فعالیت بود.

**نتیجه گیری:** عصاره هیدروالکلی پنج گیاه نام برده در تمامی مدل‌های مورد مطالعه سطوح مختلفی از فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دادند. بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به گیاه بارهنگ بود.

**کلمات کلیدی: فعالیت آنتی اکسیدانی، گیاهان داروئی، فنل تام، بارهنگ**

## مقدمه

آنتی اکسیدان‌ها از یک طرف باعث کاهش خطر ابتدا به بیماری‌های قلبی عروقی و سکته می‌شوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان‌ها که موجب آسیب به DNA می‌شوند جلوگیری می‌کنند (۱).

علیرغم وجود آنتی اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می‌شود (۲).

شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی اکسیدان‌های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول[1] (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن[2] (BHT) و ترت بتا هیدروکسی کینون را تأیید می‌کند. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از معایب استفاده از آنتی اکسیدان‌های ساختگی است (۳-۴).

بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند (۵).

نظر به این که گیاهان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان‌ها می‌باشند، تحقیقات در این زمینه رو به افزایش می‌باشد. گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان بوده می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند (۶). آنتی اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیمارهای قلبی و سکته مغزی می‌شوند (۷).

متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند

* **نویسنده مسئول:** بخش بیوشیمی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان داروئی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ایران. تلفن: ۰۹۱۷ ۱۴۳ ۴۲۳۶
Email: mirzae3a2003@yahoo.com

1-Butyl Hydroxy anisole
2-Butyl Hydroxy Toluene

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۸). بنابراین با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن و فرسایشی منطقی است که برای تأمین آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن از گیاهان استفاده شود و به خصوص گیاهانی که فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته‌باشند.

با توجه به این که عوامل بسیار زیادی ازجمله آب و هوا، خاک و ارتفاع، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش اندازه گیری‌های آنتی اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنل تام و خواص آنتی اکسیدانی دخالت دارند، ضرورت انجام این تحقیق در منطقه یاسوج قابل توجیه است (۹).

خاکشی با نام علمی Descurainia Sophia از خانواده Brassicaceae می‌باشد که خاصیت ضد تب، مدر، ضد انگل، خون ساز و در درمان بیماری‌های گلو بکار می‌رود (۱۰).

بارهنگ با نام علمی Plantago major از خانواده plantaginaceae بوده و در درمان زکام، التهاب دهان، عفونت‌های مختلف و سرطان کاربرد دارد (۱۱ و ۱۰).

زنیان با نام علمی Trachyspermum copticum L متعلق به خانواده چتریان که دارای خواص آنتی اکسیدانی و باعث لذیذ شدن غذاها می‌شود که در درمان ناراحتی‌های معده به خصوص در درمان باکتری هلیکوباکترپیلوری بکار می‌رود (۱۳ و ۱۲).

گشنیز با نام علمی sativum Coriandrum از خانواده چتریان که دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد دیابت و کلسترول خون می‌باشد در کاهش اشتها و بیماری‌های سوء هاضمه، کاربرد دارد (۱۴ و ۱۰).

شنبلیله با نام علمی Trigonella foenum-graecum متعلق به خانواده a-aceae بوده که در درمان دیابت، التهاب و کاهش چربی خون از آن استفاده می‌شود (۱۰).

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق، پنج گیاه داروئی مورد استفاده در طب سنتی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله مورد آزمایش قرار گرفت. برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی از پنج آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس، فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیا شده، آزمون فسفومولیبدینم و قدرت احیاکنندگی که مکانیسم همگی بر اساس اهدای الکترون استوار است، استفاده شد. برای اندازه گیری ترکیبات آنتی اکسیدانی از آزمون فنل تام استفاده شد.

### تهیه عصاره هیدروالکلی

تمام گیاهان به جز شنبلیله از عطاری‌های شهر یاسوج در سال ۱۳۸۷ خریداری شد. شنبلیله در شهرستان نورآباد ممسنی در روستای سروان در اسفند ماه همان سال جمع آوری و توسط متخصص گیاه شناس دکتر محمد حسین حکیمی، شناسائی و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشکده پزشکی تحت شماره هرباریوم HMRC 4-7[1] در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان داروئی نگهداری شدند. عصاره‌های هیدرو الکلی (اتانول ۷۰٪) به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق در دو نوبت تهیه شد و سپس با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان هیدلف آلمان مدل ۴۰۰۰ در دمای پایین پودر عصاره ایجاد شد.

### ۱- اندازه گیری فنل تام

مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره گیاهی با اندکی تغییر توسط روش فولین سیکالتو اندازه گیری گردید (۱۵). بر طبق این روش، در لوله آزمایش به ۰/۱ میلی لیتر عصاره اتانولی (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول اتانولی استاندارد اسید گالیک (غلظت ۲۵-۳۰۰ میکروگرم) ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ـ سیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۰/۴ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر فارماسیا مدل ال کا بی نووآ اسپکت II ساخت انگلستان در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید.

### ۲- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان به وسیله توان آنتی اکسیدانی معادل ترولکس[2] (TEAC)

فعالیت آنتی اکسیدان عصاره گیاهی توسط روش ری و همکارانش ارزیابی شد (۱۶). به ۰/۰۲ میلی لیتر عصاره اتانولی (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول اتانولی استاندارد ترولکس، ۲ میلی لیتر محلول اتانولی $TEAC^{+}$ اضافه و مخلوط شد.

همچنین محلول $TEAC^{+}$ به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. بعد از ۶ دقیقه قرار دادن نمونه‌ها در دمای محیط، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۳۴ نانومتر توسط اتانول خالص صفر گردید و سپس جذب نمونه‌ها قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرو مول استفاده شد. درصد مهار یا درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی عصاره[3] (RSA) محاسبه شد.

$$\%RSA = \frac{(A_{Control} - A_{Sample})}{A_{Control}} \times 100$$

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو مول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره (µmol/g) بیان گردید.

### ۳- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل[4] (DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی تام نمونه‌های عصاره توسط روش ون گادو و همکارانش ارزیابی شد (۱۷). برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرو مول استفاده شد. ابتدا درصد مهار (IP) یا درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی عصاره (RSA) برای هر نمونه بدست آمد و سپس فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو مول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره (µmol/g) محاسبه شد.

1- Herbal medicine research Center
2- Trolex Equivalent Antioxidant Capacity
3-Radical Scavenging activity
4- Di Phenyl Picryl Hydrazyl.



[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

### ۴- اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن[1] (FRAP)

برای اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن از روش بنزی و استرین با اندکی تغییر استفاده شد (۱۸). در لوله آزمایش به ۰/۰۲ میلی لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلظت ۰/۳۷-۰/۱۸۵ میکرو مول)، ۱ میلی لیتر از محلول کاری اضافه و مخلوط شد. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط محلول کاری صفر گردید و سپس جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد. فعالیت احیاکنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو مول آهن در میلی گرم وزن خشک عصاره (µmol/mg) محاسبه شد.

### ۵- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدان به طریق فسفومولیبدنم[2] (PMB)

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به طریق کمپلکس فسفومولیبدنم از روش پریتو، پنیدا و اگولار استفاده شد (۱۹). به ۰/۱ میلی لیتر از عصاره مورد مطالعه (غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد ترولکس (غلظت ۰/۴-۱/۶ میکرو مول)، ۱ میلی لیتر از محلول معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مول، فسفات سدیم ۲۸ میلی مول و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مول) اضافه و مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد قرائت شد.

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو مول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره (µmol/g) محاسبه شد.

### ۶- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدان به روش توان احیاکنندگی[3] (RP)

پتانسیل احیاکنندگی نمونه‌ها و استاندارد بر طبق روش سینگ و راجینی اندازه گیری شد (۲۰). به ۰/۱ میلی لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد بوتیل هیدروکسی آنیزول، یک میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با PH=۶۶ و ۱ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید ۰/۱٪ اضافه و مخلوط نموده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس ۱ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به مخلوط اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۱ میلی لیتر از محلول بالایی حاصل از سانتریفوژ یخچال دار یونیورسال هیتاچی کا دو اس دی ۷۲۰۰ آلمان را با ۰/۲ میلی لیتر محلول ۰/۱٪ کلرو فریک و یک میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و جذب نوری آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. بوتیل هیدروکسی آنیزول به عنوان کنترل مثبت بکار رفت.

### آنالیز آماری

داده‌ها پس از جمع آوری با استفاده از نرم افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA جهت مقایسه کلی و پس آزمون توکی جهت مقایسه زیر گروه‌ها استفاده شد. برای ارتباط بین آزمایشات آنتی اکسیدانی و فنل تام از آزمون پیرسون استفاده شد.

تمامی اندازه گیری‌ها برای هر نمونه گیاهی سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

## نتایج

در این تحقیق از عصاره پنج گیاه داروئی استفاده شد. غلظت عصاره‌های مورد استفاده برای کلیه آزمایشات ۱ mg/ml بود. فنل تام با روش فولین ـ

جدول ۱: میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در عصاره هیدروالکلی گیاهان داروئی خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله

| آزمایشات | خاکشی | بارهنگ | زنیان | گشنیز | شنبلیله |
|---|---|---|---|---|---|
| فنل تام * | ۹۴ ± ۱۲/۱ | ۱۵۴/۳۳ ± ۲ | ۹۷/۶ ± ۲/۵ | ۴۷/۳ ± ۳/۲۱ | ۷۴ ± ۱۰/۸۱ |
| دی فنیل پیکریل هیدرازیل *** | ۱۶۸۶ ± ۱۶/۳ | ۱۸۵۶ ± ۳۷/۸ | ۱۶۸۰ ± ۲۶/۴ | ۱۵۱۰ ± ۷۰ | ۱۵۶۳/۶ ± ۶ |
| فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس *** | ۳۰۲ ± ۶/۶ | ۷۵۰ ± ۸/۵ | ۳۳۰ ± ۸ | ۱۲۴ ± ۴/۶ | ۲۲۵/۶ ± ۴ |
| فعالیت آنتی اکسیدانی احیا آهن ♠ | ۶۲۴/۳۶ ± ۷/۵۷ | ۱۱۶۹ ± ۱۶/۸ | ۷۴۶/۶ ± ۳/۰۵ | ۲۳۲ ± ۹ | ۳۰۰/۶ ± ۷/۶ |
| فسفومولیبدات ♠♠ | ۳۴۸/۳ ± ۱۷/۶ | ۸۴۸/۷ ± ۱۶/۶ | ۵۴۰/۳ ± ۹/۵ | ۵۲۱/۶ ± ۱۸ | ۵۶۳/۷ ± ۲۲ |
| توان احیاکنندگی | ۰/۴۴ ± ۰/۰۵ | ۱/۲۶ ± ۰/۲ | ۰/۴۸ ± ۰/۰۲ | ۰/۳۱ ± ۰/۰۵ | ۰/۴۵ ± ۰/۰۵ |

*فنل تام (میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره)
**دی فنیل پیکریل هیدرازیل (میکرو مول ترولکس در گرم عصاره)
*** توان آنتی اکسیدانی معادل ترولکس (میکرو مول ترولکس در گرم عصاره)
♠ فعالیت آنتی اکسیدانی احیاء آهن (میکرو مول آهن در گرم عصاره)
♠♠ فسفومولیبدات (میکرو مول ترولکس در گرم عصاره)

1-Ferric Reducing Power
2-Phosphomolybdate
3-Reducing Power

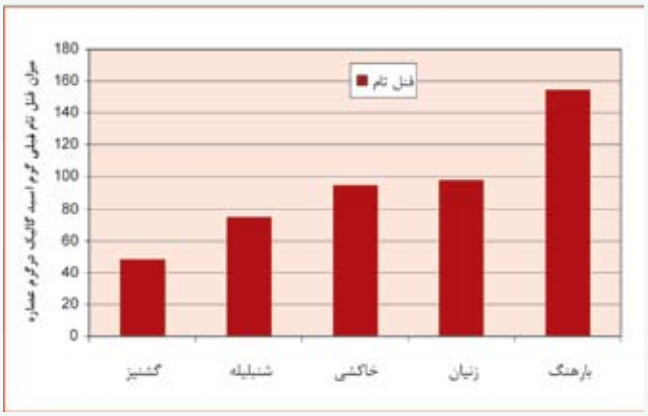


[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

سیوکالتو بر حسب میلی گرم اسید گالیک محاسبه شد.

محتوای فنلی برای نمونه‌ها در محدوده بین ۱۵۴/۳-۷۴ میلی گرم در گرم عصاره بود. مقدار فنل تام نمونه‌ها به ترتیب بیشترین به کم‌ترین مقدار بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود جدول (۱) و نمودار (۱).

نمودار ۱: میزان فنل تام عصاره هیدروالکلی بر حسب اسید گالیک در گیاهان دارویی در شهر یاسوج در سال ۸۹




اختلاف معنی داری بین خاکشی و زنیان وجود ندارد ولی اختلاف معنی داری بین بارهنگ و سایر نمونه‌ها دیده شد (p<۰/۰۰۱).

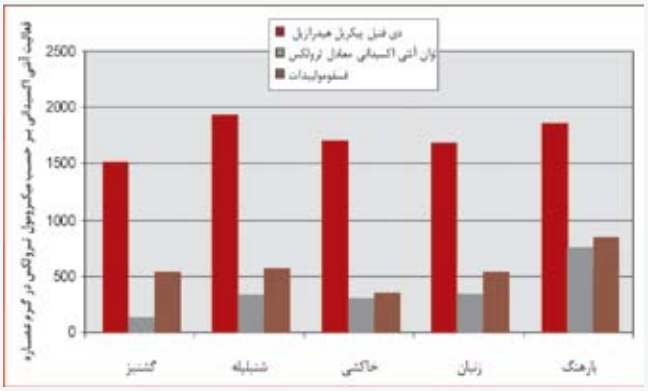
فعالیت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل عصاره‌های مختلف در جدول (۱) و نمودار (۲) بر حسب میکرو مول تروکس در گرم عصاره نشان داده شد. فعالیت به دام اندازی رادیکالی در عصاره‌های مختلف به ترتیب از بیشترین به کم‌ترین عبارتند از: مقدار بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود. بیشترین و کم‌ترین مقدار بین ۱۹/۶- ۱۵/۵ میکرو مول تروکس بود. تفاوت معنی داری بین بارهنگ و سایر نمونه‌ها دیده شد (p<۰/۰۰۱).

تروکس ساختمانی شبیه به ویتامین توکوفرول دارد و به عنوان استاندارد به طور وسیعی در تحقیقات از آن استفاده می‌شود.

فعالیت آنتی اکسیدانی معادل تروکس مانند آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل محاسبه شد.

در این روش فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها به ترتیب از بیشترین به کم‌ترین بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود.

نمودار ۲: مقایسه فعالیت عصاره هیدروالکلی سه آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی اکسیدانی معادل تروکس و فسفومولیدینم بر حسب میکرو مول تروکس در گرم عصاره در شهر یاسوج در سال ۸۹




بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی ۷۵۳ و کم‌ترین ۱۲۴/۲ میکرو مول تروکس بود (جدول ۱) و نمودار (۲).

تفاوت معنی داری بین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی معادل تروکس نمونه‌ها دیده شد (p<۰/۰۰۱).

فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیا شده بر اساس توانایی احیا یون فریک (III) به یون فروس (II) سنجیده می‌شود که نتایج بر حسب میکرو مول یون فروس در گرم عصاره گزارش شد. محدوده مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی از ۲۳۴/۸ تا ۱۱۶۹ میکرو مول آهن فروس در میلی گرم عصاره بود جدول (۱) و نمودار (۲). فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب بیشترین به کم‌ترین عبارتند از: بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود.

اختلاف زیادی که از لحاظ آماری معنی دار بود بین فعالیت نمونه‌ها در آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی آهن احیا شده دیده شد (p<۰/۰۰۱).

محدوده فعالیت آنتی اکسیدانی در روش فسفومولیبدینم ۸۷۰- ۵۱۳/۳ میکرو مول تروکس در گرم عصاره بود که بر حسب بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب: بارهنگ > زنیان> خاکشی > شنبلیله > گشنیز بود جدول (۱) و نمودار (۲).

اختلاف معنی داری بین فعالیت آنتی اکسیدانی تمام نمونه‌ها (به جز شنبلیله و زنیان) در آزمون فسفومولیبدینم نمونه‌ها دیده شد (p<۰/۰۵).

در روش توان احیاکنندگی جذب نوری نمونه‌ها رابطه مستقیمی با توان احیاکنندگی دارد یعنی جذب نوری بیشتر بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. بیشترین و کم‌ترین جذب نوری به ترتیب مربوط به بارهنگ و شنبلیله بود. الگوی فعالیت به ترتیب بیشترین به کم‌ترین عبارتند از: بارهنگ > زنیان> خاکشی > شنبلیله > گشنیز بود جدول (۱) و نمودار (۲).

اختلاف معنی داری بین بارهنگ و سایر نمونه‌ها دیده شد (p<۰/۰۰۱).

از بتا هیدروکسی آنیزول که یک آنتی اکسیدان سنتزی است به عنوان استاندارد استفاده شد. جذب نوری آن در غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر معادل ۱/۲ برابر جذب نوری (غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر) بارهنگ بود بنابراین، قدرت احیا کنندگی بتا هیدروکسی آنیزول ۱/۲ برابر بارهنگ بود.

## بحث

در این مطالعه گیاه بارهنگ و شنبلیله به ترتیب دارای بیشترین و کم‌ترین میزان فنل تام و خواص آنتی اکسیدانی به روش‌های مختلف بود. برای تأمین آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان با ترکیبات فنلی بالا توصیه می‌شود (۵).

در این تحقیق غالباً الگوی میزان فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی از بیشترین به کم‌ترین عبارتند از: بارهنگ > زنیان> خاکشی >شنبلیله > گشنیز بود که تقریباً مشابه تحقیق سوری و همکاران بود (۲۱).

خاصیت قوی آنتی اکسیدانی گیاه بارهنگ ممکن است مربوط به ترکیبات فنلی موجود در آن باشد. بارهنگ دارای خاصیت آنتی

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

اکسیدانی، ضد التهابی، محافظت کبدی می‌باشد و از آن در درمان سرطان و خون سازی استفاده می‌شود (۲۲،۲۱).
در مطالعه‌ای دیگر خاصیت آنتی اکسیدانی بارهنگ با استفاده از دی فنیل پیکریل هیدرازیل نشان داده شد که با این مطالعه هم‌خوانی دارد (۲۰).
میزان فنل تام دانه شنبلیله معادل ۱۹۴/۳۶ میلی گرم اسید گالیک درصد گرم وزن خشک نمونه بود که با تحقیق ما هم‌خوانی ندارد (۲۱). علت این اختلاف می‌تواند ناشی از بکار بردن روش‌های مختلف اندازه گیری، استخراج، استانداردهای مختلف برای بیان نتایج، نوع خاک و آب و هوا دانست (۲۴-۲۳).
خواص آنتی اکسیدانی و محافظت کبدی شنبلیله به دلیل وجود ترکیبات فنل تام، ساپونین های موجود در ساختار آن می‌باشد؛ بنابراین استفاده این گیاه در درمان ناراحتی‌های کبدی به خاطر نقش حفاظت کبدی و آنتی اکسیدانی آن است (۲۴).
ارتباط معنی داری بین میزان فنل تام، خواص آنتی اکسیدانی دی فنیل پیکریل هیدرازیل ($r=۰/۹۳۹$ $P<۰/۰۱$) و پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس ($r=۰/۹۶۵$ $P<۰/۰۱$) وجود دارد.
اصولاً با افزایش ترکیبات فنل تام خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر می‌شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانین ها) توانایی زیادی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جا به جا شونده هیدروکسیل دارد (۲۵). در این تحقیق گیاه بارهنگ به خاطر ترکیبات فنلی بیشتر در تمام روش‌های مورد آزمایش دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بود.
رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل یک رادیکال آزاد، پایدار، آلی و نیتروژن داری است که به طور وسیعی برای آزمایش پاک کردن رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۶).
بر اساس تحقیقات انجام شده مشخص شد که خاصیت آنتی اکسیدانی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل زنیان بیشتر از گشنیز بود که مشابه نتایج این مطالعه بود (۲۷).
خاصیت آنتی اکسیدانی شنبلیله با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر با استفاده از آزمون رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل معادل ۱۰ درصد گزارش شد که نسبت به گزارش تحقیق ما پایین‌تر بود (۲۸). علت اختلاف بیشتر به خاطر روش‌های مختلف عصاره گیری بود. متانول و اتانول با درجه ۷۰ در بین حلال‌های رایج جهت عصاره گیری مواد گیاهی، برای ترکیبات قطبی و غیر قطبی دارای بیشترین کارائی می‌باشند. بنابراین هر نوع اندازه گیری با عصاره متانولی می‌تواند باعث استخراج ترکیبات قطبی و غیر قطبی و در نتیجه خواص آنتی اکسیدانی بیشتر شود (۲۹).
در این مطالعه گشنیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بود که می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدی موجود در آن باشد. در مطالعه‌ای خاصیت ضد رادیکالی گشنیز ۸۰ درصد گزارش شد که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۳۰).
در این تحقیق همبستگی معنی داری بین نتایج حاصل از رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل با پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس وجود داشت [ضریب همبستگی برابر با ($r=۰/۹۲۶$ $P<۰/۰۱$)].
آزمون پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و دی فنیل پیکریل هیدرازیل هر دو رادیکال آزاد سنتزی می‌باشند که کاربرد آن‌ها مشابه بوده هر چند که پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس را می‌توان در اندازه گیری فعالیت‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات قطبی و غیر قطبی استفاده کرد (۳۱).
مطابق الگوی فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و دی فنیل پیکریل هیدرازیل گیاهان مورد مطالعه بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود. دلیل مشابه بودن الگوی فعالیت این دو آزمون به خاطر مکانیسم یکسان آن‌ها می‌باشد.
آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی احیاء آهن روشی است که به طور مستقیم آنتی اکسیدان‌ها و یا احیاکننده‌ها را در نمونه‌ها اندازه گیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت آنتی اکسیدانی آن‌ها دارد (۳۲).
در این روش گیاهانی که فعالیت آنتی اکسیدانی احیاء آهن بالایی دارند قادرند به راحتی رادیکال‌های آزاد موجود در بدن را خنثی کنند. الگوی فعالیت به ترتیب بیشترین خاصیت ضد رادیکالی عبارتند از: بارهنگ > زنیان> خاکشی > گشنیز > شنبلیله بود.
بالا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی بارهنگ در تمام آزمایشات انجام شده توجیه کننده استفاده از بارهنگ در طب سنتی می‌باشد.
روش فسفومولیبدنم یک روش اسپکتروفتومتری است که مکانیسم آن بر اساس احیاء مولیبدنم (VI) به مولیبدنم (V) استوار است که می‌تواند توسط نمونه‌های مورد آزمایش صورت می‌گیرد (۳۳). بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب: بارهنگ > زنیان> خاکشی > شنبلیله> گشنیز بود.
ارتباط معنی داری بین نتایج حاصله از آزمون فسفومولیبدنم با پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس ($r=۰/۷۷۱$) و توان احیاکنندگی ($r=۰/۸۴۶$) وجود داشت. علت ارتباط بین آزمون فسفومولیبدنم با توان احیاکنندگی به خاطر خاصیت احیاکنندگی مشترک هر دو آزمایش می‌باشد (۳۴).
در آزمایش توان احیاکنندگی، احیاء آهن فریک به فروس به عنوان یک نمایه، برای پتانسیل الکترون دهی بکار می‌رود.
در این روش سنجش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بر اساس جذب نوری صورت می‌گیرد. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیانگر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و بدون واحد اندازه گیری می‌باشد زیرا از جذب نوری برای شدت خاصیت احیاکنندگی استفاده می‌شود.
در این روش ترکیبات آنتی اکسیدان با فری سیانور پتاسیم، تری کلرور استیک و کلرور فریک ترکیب شده و کمپلکس سبز رنگی ایجاد می‌نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه گیری است. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیانگر قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد (۳۵).
توان احیاکنندگی نمونه‌ها به ترتیب بیشترین به کم‌ترین عبارتند از: بارهنگ > زنیان> گشنیز > خاکشی > شنبلیله > گشنیز بود. الگوی نتایج حاصل از توان احیاکنندگی با آزمون فسفومولیبدنم یکسان می‌باشد.
ترکیبات فنلی به عنوان دهنده الکترون عمل نموده و ممکن است واکنش‌های ناخواسته ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد در بدن را خنثی کنند (۳۴).

## نتیجه‌گیری

عصاره هیدروالکلی پنج گیاه نام‌برده در تمامی مدل‌های مورد مطالعه سطوح مختلفی از فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دادند. بنابراین می‌توانند به عنوان منابع مورد استفاده جهت تأمین منابع طبیعی آنتی



[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

اکسیدانی باشند. بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از تمام آزمون‌های انجام شده مربوط به گیاه بارهنگ بود.

**محدودیت‌ها**

از جمله محدودیت‌های مهم این مطالعه تهیه عصاره با حلال‌های مختلف و عدم استفاده از یک نوع استاندارد در روش کار توسط محققین مختلف می‌باشد. هر چند که تنوع گیاهی و تغییرات آب و هوایی در نمونه‌های مورد مطالعه می‌تواند باعث اختلاف در مقادیر آزمایشات شود که برای برطرف کردن این مشکل می‌توان با به‌کارگیری استانداردهای واحد، عصاره گیری مشابه و پروتکل یکسان اقدام نمود.

## تشکر و قدردانی

از مسئولان محترم مرکز تحقیقات گیاهان داروئی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به دلیل حمایت مالی این تحقیق قدردانی می‌شود. این طرح در معاونت پژوهشی دانشگاه به ثبت رسیده است.

## References

1. Noguchi N, Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. Free Rad Biol Med. 2000;28(10):1538-1546.
2. Young IS, Woodside J. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol. 2001;54:176-186.
3. Gao JJ, Igalashi K, Nukina M. Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in Caryopteris incana. Biosci Biotechnol Biochem. 1999;63:983-988.
4. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxyltoluene as antioxidant food additives. Food Chem Toxicol. 1999;37:1027-1038.
5. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. J Sci Food Agric. 1999;54:495-511.
6. Kumaran A, Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chemistry. 2006;97:109-114.
7. Prior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications Hortic Sci. 2000;35:588-592.
8. Mathew S, Abraham TE. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. Food Chem Toxicol. 2006;44:198-206.
9. Cao G, Prior R L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry. 1998;44:1309–1315.
10. Zargari A. Medicinal Plants. 5th ed. Tehran University Press: 1990.P.28-42,130-132. [Article in Persian]
11. Kobeasy MI, Abdel-Fatah OM, Abd El-Salam SM, Mohamed ZEOM. Biochemical studies on Plantago major L. and Cyamopsis tetragonoloba L. International Journal of Biodiversity and Conservation. 2011;3(3):83-91.
12. Nickavar B, Al-sadat Abolhasani F. Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from Iran. Pak J Pharm Sci. 2009;22(1):30-35.
13. Sajid H, Jamil M, Ullah F, Arifullah Khan, Farman Ullah F, Arfan M, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the plant Heliotropium strigosum. African Journal of Biotechnology. 2010;9(45):7738-7743.
14. Sultana S, Ripa FA, Hamid K. Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2010;13:340-343.
15. McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry. 2001;73:73-84.
16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice- Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology. 1999;26:1231–1237.
17. Von Gadow A, Joubert E , Hansmann C F. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibosed tea (Aspalathon linearis), a-tocopherol, BHT, and BHA. J Agr and Food Chemistry. 1997;45:632–638.
18. Benzie I F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘‘antioxidant power’’: The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 1996;239:70–76.
19. Prieto P, Pineda M, Aguilar MM. Spectrophotometric quantization of antioxidant capacity through the formation of a phoshomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem. 1999;269:337–341.
20. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. JapJ Nutr. 1986;44:307-315.
21. Souri E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. DARU. 2008;16(2):83-87.
22. Pourmorad F, Hosseinimehr S J, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnolog. 2006;5(11):1142-1145.
23. Alexandru V, Balan M, Gaspar A, Craciunescu O, Moldovan I. Studies on the antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Romanian medicinal plants used for wound healing. Biotechnol Lett. 2007;12(6):3467-3472.
24. Yoo KM, Lee CH, Lee H, Moon B, Lee CY. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chemistry. 2008;106:929–936.
25. Lagouri V, Boskou D. Nutrient antioxidants in origano.

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

Int J Food Sci Nutr. 1996;47:493-497.
26. Shimoji Y, Tamura Y, Nakamura Y, Nanda K, Nishidai S, Nishikawa Y, et al. Isolation and identification of DPPH. J Agric Food Chem. 2002;50(22):6501-6503.
27. Nickavar B, Abolhasani F. Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from Iran. Pak J Pharm Sci. 2009;22(1):30-35.
28. Nooman A, khala F, Aashok k, shaky A, Atif AO, zaha el-agbar HF. Antioxidant activity of some common plants. Turk J Biol. 2008;32:51-55.
29. Harborne J B. Phytochemical methods. 3th ed. New York: Chapman & Hall; 1998.P.5-7.
30. Sultana S, Ripa FA, Hamid K. Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. Pak J Biol Sci. 2010;13(7):340-343.
31. Arnao MB. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends Food Sci Technol. 2000;1:419.
32. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J Agric Food Chem. 2005;53(8):3101–3113.
33. Kanner J, Frankel E, Granit R, German B, Kinsella JE. Natural antioxidants in grapes and wines. JAgric Food Chem. 1994;42:64-69.
34. Rajesh M, Nagarajan A, Perumal S, Sellamuthu M. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, Ficus bengalensis and Ficus racemosa. Food Chemistry. 2008;107:1000–1007.
35. Jayaprakash GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed extracts on per oxidation models in-vitro. JAgric Food Chem. 2001;55:1018-1022.

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]

Original Article

# The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran

**Mirzaei A[1*], Mohammadi J[2], Mirzaei N[3], Mirzaei M[4]**

1- Department of Biochemistry, Herbal Medicinal research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
2- Department of Physiology, Herbal Medicinal research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
3- Ferguson College, University of Pune, Pune, Maharashtra, India.
4- Sinhagad College, University of Pune, Pune, Maharashtra, India.

## Abstract

***Background & Objective:*** Free radicals are highly reactive molecules may cause great damage to cell membranes and DNA and Result in inducing oxidation DNA mutations leading to cancer, degenerative, and other diseases. Plant antioxidant derived may be preventive of free radical damages.

***Materials & Methods:*** The Stems and flower sample of plants air-dried, finely ground and were extracted by ethanol: water (70:30) for 48 h. Extracts were filtered and dried under vacuum.
The antioxidant activity of five ethanolic extract of medicinal plants *(Descurainia Sophia, Plantago major, Trachyspermum copticum L, Coriandrum sativum and Trigonella foenum-graecum)* from Iran were analysed by five different methods [1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, 2,2,azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical cation, Ferric-reducing antioxidant power assay (FRAP), phosphomolybdenum (PMB) and reducing power (RP)]. In addition, for determination of antioxidant components total phenolic content was also analyzed.

***Results:*** The total phenolic content of medicinal plant ranges from 74 to 154.3 mg Gallic acid/g extract as measured by the Folin–Ciocalteau method. Values of DPPH varied from 15.5 to 19.6 µmol trolex/g. FRAP ranged from 124.2 to 753 µmol of Fe(II)/g extract. Antioxidant activity of the *Plantago major* was always higher compared to the other plants extracts values of total phenols content and antioxidant capacity by DPPH, ABTS, FRAP, (154.33 mg GAE/g, 1856 µmol trolox, 750 µmol trolox and 1169 µmol of Fe(II)/g, extract respectively). The range of total antioxidant activity by phosphomolybdenum method was 513.3 to 870 µmol trolox/g. The reducing ability of the tested extracts was between 0.31-1.26. *Plantago major- was* also highest activity in both tests.

***Conclusion:*** This study clearly demonstrated that Plantago major crude extract exhibit significant antioxidant activity.

***Keywords:*** Antioxidant activity, Medicinal herbs, *Plantago major*, Total phenol.

*** Corresponding author: Mirzaei Ali,** Department of Biochemistry, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.
Tel: +989171434236
Email: mirzaee3a2003@yahoo.com

[ Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-05-14 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2011.1.3.8.9 ]