



ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی عصاره الکلی بابونه، توت، ختمی، گل‌گاوزبان و رزماری

پریسا صدیق آرا^۱ (Ph.D.)، عباس برین^۲ (Ph.D.)، غلامرضا جاهد^۱ (Ph.D.)، فاطمه فرجادمند^{۳*} (Ph.D.)

۱- دانشگاه علوم پزشکی تهران - دانشکده بهداشت - دپارتمان بهداشت محیط - بخش مواد غذایی. ۲- دانشگاه تهران - دانشکده دامپزشکی - دپارتمان کلینیکال پاتولوژی. ۳- وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی - سازمان غذا و دارو.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۱۹، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۱

چکیده

مقدمه: یافتن ترکیبات جدید با منشأ گیاهی در درمان، تخفیف و پیشگیری از بیماری‌ها، در سال‌های اخیر مورد توجه محققان است. هدف مطالعه حاضر بررسی توان آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدالتهابی گیاه‌های گل‌گاوزبان، گل‌ختمی، بابونه، برگ درخت توت و رزماری می‌باشد که به‌کار در طب سنتی استفاده می‌شوند.

مواد و روش‌ها: در این بررسی میزان توان آنتی‌اکسیدانی گیاهان با ارزیابی احیا یون مس (Cupric Assay)، قدرت ضدالتهابی آنها با آزمون ممانعت از دنچوره‌شدن پروتئین سرم، صورت پذیرفت.

نتایج: عصاره برگ درخت توت، بابونه و گل‌گاوزبان دارای بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی، عصاره رزماری، بابونه و گل‌ختمی دارای بیشترین اثرات ضدالتهابی می‌باشند و دو گیاه بابونه و رزماری دارای اثرات توأم آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی هستند.

نتیجه‌گیری: استفاده از روش‌های غربالگری همانند روش‌های فوق‌الذکر فرصتی برای یافتن ترکیبات فعال دارای چند اثر متفاوت را فراهم خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی: توان آنتی‌اکسیدانی، اثر ضدالتهابی، گیاهان دارویی.

Original Article

Knowledge & Health 2013; 8(1):31-34

Assessment of Antioxidant Capacity and Anti-Inflammatory of Alcoholic Extraction of Chamomile, Morus, Marshmallow, Borage and Rosemary

Parisa Sadighara¹, Abbas Barin², Gholmreza Jahed¹, Fateme Farjadmand^{3*}

1. Dept. of Environmental Health, Food Safety Division, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. 2. Dept. of Clinical Pathology, Veterinary Faculty, University of Tehran, Tehran, Iran. 3. Food and Medicine Organization, Ministry of Health, Tehran, Iran.

Abstract:

Introduction: In recent years, there has been a growing interest in finding new compound with herbal origins for treatment and prevention of disease. This study aims at investigating the antioxidant and anti-inflammatory activity of Borage officinalis, althaea officinalis, chamaemelum nobile, morus alba and rosmarinus officinals which are commonly used in traditional medicine.

Methods: In this study the antioxidant activity was investigated by applying cupric ion reducing assay (cupric assay) and anti-inflammatory activity investigated through inhibition albumin serum denaturation.

Results: Morus alba, chamaemelum nobile and borage officinals were found to have the highest antioxidant capacity. Chamaemelum nobile, rosmarinus officinals and althaea officinalis had considerable anti-inflammatory activity and the alcoholic extraction of nobile and rosmarinus officinals had marked anti-inflammatory and antioxidant effects.

Conclusion: Use of screening tests such as the above-mentioned methods are useful for finding biological components with different effects.

Keywords: Antioxidant capacity, Anti-inflammatory effects, Medicine plants.

Conflict of Interest: No

Received: 10 December 2011

Accepted: 30 January 2013

*Corresponding author: F. Farjadmand, Email: ffarjadmand@yahoo.com

مقدمه

یکی از شناخته‌ترین علل بسیاری از بیماری‌ها (آرترواسکلروز، پیری، سرطان، آلزایمر و پارکینسون) استرس اکسیداتیو است که به‌وسیله رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود. مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع روند لیپید پراکسیداسیون است که منجر به تخریب غشای سلول‌ها می‌شود (۱). همچنین این ترکیبات به سایر مولکول‌های بیولوژی همانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه وارد کرده، منجر به موتاسیون در ژن‌ها خواهند شد. مهم‌ترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به حمله رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های بیولوژی خواهد شد. نقش فیزیولوژیکی آنتی‌اکسیدان‌ها در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد است. این ترکیبات، رادیکال‌های آزاد را به‌ویژه آنیون‌های سوپراکسید و هیدروکسیل جمع‌آوری می‌کنند (۲).

گیاهان دارای ترکیبات باارزشی هستند که علاوه بر افزایش کیفیت و ارزش تغذیه‌ای غذا به‌صورت‌های دیگر از جمله نوشیدنی، رنگ، مواد آرایشی، دارویی و درمانی استفاده می‌گردند. برخی از گیاهان دارای آنتی‌اکسیدان طبیعی به میزان قابل توجهی هستند. به‌دنبال مصرف آنها ملاحظه گردیده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدان پلاسما به‌طور معناداری افزایش می‌یابد (۳). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو فرم سنتتیک و طبیعی هستند. دانشمندان و متخصصان تغذیه همواره درصدد یافتن ترکیباتی طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی جهت کاهش اثرات تحمیلی رادیکال‌های آزاد بر بدن می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی اثرات جانبی آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک را ندارند.

از طرفی برخی از گیاهان نیز دارای ترکیبات ضدالتهابی هستند که می‌توان از آنها در درمان انواع التهاب‌های مزمن، عفونت‌های پوستی دردهای روماتوئیدی، تب و عفونت‌ها استفاده نمود (۴). بیماری‌های التهابی عموماً شامل استئوآرتریت، لوپوس اریتماتوز، آسم و ناهنجاری‌های روماتوئیدی؛ همانند آرتریت‌ها و تب‌های روماتوئیدی می‌باشند. استفاده طولانی‌مدت از داروهایی که به‌منظور سرکوب واکنش‌های التهابی استفاده می‌گردند، منجر به عوارضی از جمله زخم‌های معده و روده و متعاقباً آنمی خواهد شد (۵). از این‌رو به‌واسطه اثرات جانبی این دارو، تمایل به شناسایی ترکیبات گیاهی با خواص ضدالتهابی افزایش یافته است.

استفاده از گیاهان گل‌گاوزبان، گل ختمی، بابونه، برگ درخت توت و رزماری به دلایل مختلف در طب سنتی ایران رایج است. هدف این مطالعه، ارزیابی مقایسه‌ای و غربالگری توان آنتی‌اکسیدان و قدرت ضدالتهابی عصاره الکلی این پنج گیاه است که عموم به‌طور معمول استفاده می‌کنند.

مواد و روش‌ها

گیاهان از مراکز فروش گیاهان دارویی تهیه شدند و خانم دکتر اتوسا ضیایی در دانشکده طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی آنها را شناسایی و تأیید کردند.

تهیه عصاره گیاه: نیم گرم از گیاه را در ۲۵ سی‌سی اتانل ۷۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت در یخچال نگهداری نموده، سپس محتویات صاف و سانتریفوژ گردید. محلول بالایی محتویات، جهت آزمایش در ۴- درجه سانتیگراد تا انجام آزمون‌ها نگهداری شد.

ارزیابی احیا یون مس: این آزمون براساس روشی که قبلاً تأیید گردیده است، صورت پذیرفت (۶). به‌طور خلاصه: محلول ۲-۱۰ مولار کلرومس، ۳-۷/۵×۱۰ مولار معرف مس و یک مولار استات آمونیوم تهیه گردید. معرف مس باید در pH=۷ تهیه گردد. نسبت‌های مساوی از محلول‌های تهیه‌شده با عصاره گیاهی را مخلوط نموده و میزان جذب نوری در ۴۵۰nm با اسپکتوفتومتر بررسی گردید. عوامل آنتی‌اکسیدان از دسته ترکیبات احیاکننده می‌باشند، لذا یون مس دو ظرفیتی را تبدیل به یون مس تک ظرفیتی می‌نمایند که ترکیب اخیر با معرف مس واکنش داده و در طول موج ذکر شده، قابل قرائت است.

ممانعت از دنجوره شدن پروتئین سرم: دنجوره شدن پروتئین‌ها یکی از علل التهاب شناسایی شده است. این آزمون براساس روش Sakat و همکارانش در سال ۲۰۱۰ صورت پذیرفت (۷). به‌طور خلاصه محلول یک درصد استاندارد سرم گاو تهیه گردید و مقادیر مساوی از گیاهان برای مدت ۲۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد آنکوباته شدند. سپس نمونه‌ها برای ایجاد شوک حرارتی به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۱ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. درجه حرارت منجر به دنجوره شدن پروتئین و تشکیل کدورت می‌گردد. میزان کدورت در ۶۶۰ nm با اسپکتوفتومتر پس از خنک شدن نمونه‌ها بررسی گردید. دنجوره شدن پروتئین‌ها فرایندی است که به‌دنبال آن پروتئین ساختمان سوم و دوم خود را بر اثر عوامل مختلف از جمله درجه حرارت از دست می‌دهد. پروتئین‌های دنجوره شده در طول موج در ۶۶۰ nm قابل قرائت هستند.

میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدالتهابی گیاهان مختلف طی دو بار آزمون که در دو زمان متفاوت صورت پذیرفته است، با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه گردید. $P < 0/05$ به‌عنوان اختلاف معنادار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدالتهابی عصاره گیاهان مختلف در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است.

صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو به واسطه کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد، لذا مصرف این گیاه علاوه بر کنترل بیماری، منجر به دریافت قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش صدمات اکسیداتیو خواهد شد.

گیاه بابونه علاوه بر اینکه خواص آنتی‌اکسیدانی بارزی نشان داد، بیشترین اثرات ضدالتهابی را نیز در بین این پنج گیاه دارا است (جدول ۱ و ۲). این گیاه دارای ترکیبات فعالی از جمله ترپونوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد. ارتباط ترپونوئیدهای موجود در گیاهان با اثرات ضدالتهابی قوی به اثبات رسیده است (۹). بابونه به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قدرت بالایی در احیا کردن یون آهن دارد (۱۰). همچنین در مطالعه‌ای که عسگری و همکاران انجام دادند، مشاهده شد که میزان فعالیت مارکرهاي آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی مواجهه یافته به ترکیب اکسیدان به دنبال مصرف عصاره بابونه، به طور معناداری افزایش یافته است (۱). این گیاه به علت دارا بودن خاصیت ضدالتهابی، در درمان ناهنجاری‌های پوستی و همچنین در انواع محصولات آرایشی و بهداشتی کاربرد فراوان دارد (۱۱). در کشور آلمان بیش از ۱۵۰ محصول از جمله پمادها، صابون‌های درمانی، داروهای مخصوص سرفه و سرماخوردگی، اسپری‌های محافظ پوست، لوسیون‌های آکنه، ملین‌کننده‌ها و قطره‌های چشم، دارای گیاه بابونه می‌باشند (۱۲). سازمان غذا و دارو در آمریکا اعلام می‌دارد که این گیاه اثرات جانبی بر بارداری، شیردهی و یا بر روی کودکان ندارد (۱۳).

در این مطالعه خاصیت ضدالتهابی از گیاه ختمی مشاهده شد. گل و ریشه ختمی به عنوان مدر، شستشودهنده، ضد عفونی کننده و التیام بخش زخم‌ها در طب سنتی کاربرد فراوان دارد.

گیاه رزماری نیز علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی، خواص ضدالتهابی بارزی نشان داد. در بررسی‌هایی که در گذشته صورت گرفته، عصاره کلروفومی و هگزانی آن دارای خاصیت ضدالتهابی در حد ایندومتاسین بود و ترکیبات ضدالتهابی از جمله تربیتین، اسید اولئیک و اسید میکرومتریک از آن جدا شده است (۱۴).

گل گاوزبان معمول‌ترین نوشیدنی دم‌کردنی پس از چای، با ارزش تغذیه‌ای فراوان است. همان‌طور که نتایج مطالعه نشان می‌دهد، دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد. در مطالعه‌ای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن در میزان ۳۴۰ppm، معادل ۲۰۰ppm (Butylated BHA hydroxyanisole، آنتی‌اکسیدان سنتتیک معمول در صنعت غذا، به اثبات رسید (۱۵).

عمل فاگوسیتی نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و منوسیت‌هایی که در جریان التهاب فعال می‌گردد با انفجار تنفسی توأم می‌باشد که این امر منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌گردد، لذا رادیکال‌های آزاد نقش مدیاتوری اساسی در پیشرفت روند التهاب دارند، بنابراین

توانایی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به ترتیب در جدول ۱ به نمایش گذاشته شده است. در این آزمون توانایی احیا یون مس دو ظرفیتی به مس یک ظرفیتی در حضور معرف مس سنجیده می‌شود. این روش، کاربردی، سریع، انتخابی و مناسب برای بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها بدون توجه به ترکیب شیمیایی آنها است و با آن توان آنتی‌اکسیدان‌های گروه تیول همانند گلوکاتیون و تیول‌های غیرپروتئینی قابل اندازه‌گیری است (۲).

جدول ۱- توانایی احیا یون مس توسط عصاره گیاهان مختلف

نام گیاه	نام علمی گیاه	میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه
برگ درخت توت	Morus alba	۰/۱۵ ± ۱/۳۶
بابونه	Chamaemelum nobile	۰/۰۹ ± ۱/۰۶
گل گاوزبان	Borage officinalis	۰/۰۴ ± ۰/۸۷۸
رزماری	Rosmarinus officinalis	۰/۱۹ ± ۰/۷۰۱
گل ختمی	Althaea officinalis	۰/۰۶ ± ۰/۴۸۴

جدول ۲- ممانعت از دنجوره شدن پروتئین سرم (فعالیت ضدالتهابی)

نام گیاه	نام علمی گیاه	میانگین فعالیت ضدالتهابی گیاه
بابونه	Chamaemelum nobile	۰/۰۰۶ ± ۰/۰۱۶
رزماری	Rosmarinus officinalis	۰/۰۰۲ ± ۰/۰۱۸
گل ختمی	Althaea officinalis	۰/۰۱۱ ± ۰/۰۴۳
گل گاوزبان	Borage officinalis	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۴۸
برگ درخت توت	Morus alba	۰/۰۰۲ ± ۰/۱۴۷

در جدول ۲ قدرت ضدالتهابی گیاهان به ترتیب نشان داده شده است. هر قدر میزان جذب کمتر باشد نشان از کاهش کدورت و افزایش توان گیاهان در ممانعت از دنجوره شدن پروتئین‌هاست.

بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی در برگ درخت توت، بابونه و گل گاوزبان دیده شد. به ویژه اختلاف معناداری بین عصاره برگ درخت توت و سایر عصاره‌ها ($P < 0.05$) مشاهده شد. بیشترین اثرات ضدالتهابی در بابونه، رزماری و گل ختمی دیده شد. گیاه بابونه و رزماری هر دو اثر را به طور قابل ملاحظه‌ای داشتند.

بحث

در این مطالعه توان آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی عصاره الکلی پنج گیاه که به طور معمول در طب سنتی استفاده می‌گردند، ارزیابی شده است. بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی در برگ درخت توت مشاهده شد. در مطالعات گذشته ما نیز نتایج مشابه به دست آمد. در آزمونی عصاره الکلی برگ توت در غلظت‌های ۲۰ و ۲ mg/L به طور معناداری میزان لیپید پراکسیداسیون ناشی از سولفات مس را کاهش داد (۸). برگ توت به منظور کنترل دیابت مصرف فراوان دارد. در افراد دیابتیک

3. Kahkonen M, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujla TS, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999;47:3954-3962.
4. Anilkumar M. 10 ethnomedicinal plants as anti-inflammatory and analgesic agents. *Ethnomedicine* 2010;2:267-293.
5. Palasuwan A, Soogarun S, Lertlum T, Pradnawat P, Wiwanitkit V. Inhibition of heinz body induction in an in vitro model and total antioxidant activity of medicinal thai plants. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2006;6:458-463.
6. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, Celik SE. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC assay. *Microchimica Acta* 2008;160:413-419.
7. Sakat S, Juvekar AR, Gambhire MN. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of oxalis corniculata Linn. *I J Pharm Sci* 2010;2:146-155.
8. Sadighara P, Barin A. The study of antioxidant potential of morus alba L. leaves extract. *Journal of Herbal Drugs* 2010;3:43-46.
9. Govindappa M, Sadananda TS, Channabasava R, Raghavendra V. In vitro anti-inflammatory, lipoxygenase, xanthine oxidase and acetylcholinesterase inhibitory activity of Tecoma Stans. *International Journal of Pharma and Biosciences* 2011;2:275-283.
10. Cioanca O, Miron A, Aprotosoiaie AC, Hancianu M, Trifan A, Stanescu U. Contributions to the comparative study of the antioxidant potential of some extracts obtained from chamomile flowers. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2009;113:1274-9.
11. Graf MD. Herbal anti-inflammatory agents for skin disease. *Skin Therapy Letter* 2000;5:3-5.
12. Aberer W. Contact allergy and medicinal herbs. *J Dtsch Dermatol Ges* 2008;6:15-24.
13. Hara M, Kiefer D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Arch Fam Med* 1998;7:523-536.
14. Altinier G, Sosa S, Aquino RP, Mencherini T, Della Loggia R, Tubaro A. Characterization of topical antiinflammatory Compounds in rosmarinus officinalis L. *J Agric Food Chem* 2007; 55 (5):1718-1723.
15. Ciriano MG, García-Herreros C, Larequi E, Valencia I, Ansorena D, Astiasarán I. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in omega-3 PUFA. *Meat Sci* 2009;83:271-277.
16. Abdel-moein NM, Mohamed DA, Hanfy EA. Evaluation of the anti-inflammatory and anti-arthritis of some plant extracts. *International Journal of Fats and Oils* 2011;62: 365-374.
17. Leelaprakash G, MohanDass S. In vitro anti_inflammatory activity of methanol extract of *enicostemma axllare*. *International Journal of Drug Development & Research* 2010; 3:189-196.

خنثی نمودن آنها به وسیله آنتی اکسیدان ها در کاهش التهاب مؤثر خواهد بود.

تولید رادیکال های آزاد در بیماری های مزمن التهابی همانند آرتریت های طولانی مدت، مارکهای استرس اکسیداتیو همانند لیپید پراکسیداسیون به طور معناداری افزایش می یابد (۱۶). از این رو استفاده از ترکیبی که دو خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی را داشته باشد، در کاهش و سرکوب استرس اکسیداتیو و التهاب (که از عوامل پیشرفت و ادامه بیماری های مزمن می باشند) نقش اساسی خواهد داشت. در این مطالعه، اثرات توأم خواص آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی در بابونه و رزماری مشاهده شد که با توجه به استفاده طولانی مدت این گیاهان در طب سنتی می توان به طور مطمئن و ایمن از آنها در درمان بیماری هایی که پاتوژن آنها بر پایه التهاب و رادیکال های آزاد است، استفاده نمود. ترکیبات ضدالتهابی، توانایی بالایی در درمان بیماری های مختلف از جمله سرطان ها، ناهنجاری های عصبی و کندشدن روند پیری دارند (۱۷).

در مجموع استفاده از روش های غربالگری همانند آزمون ارزیابی احیا یون مس و ممانعت از دنجوره شدن پروتئین سرم، فرصتی برای یافتن گیاهان با ترکیبات فعال جدید و انتخاب آنها برای آزمون های تکمیلی و پیشرفته تر فراهم خواهد نمود. به واسطه اینکه التهاب، فرایند پیچیده ای است که علاوه بر دنجوره شدن پروتئین ها، با افزایش نفوذپذیری عروق و تغییرپذیری غشاها همراه است، لذا جهت ارزیابی کامل این گیاهان مطالعه تکمیلی نیز در محیط *in vivo* توصیه می گردد.

References

1. 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.
2. Koksai E, Gulcin I. Antioxidant activity of cauliflower. *Turk J Agric* 2008;32:65-78.