



## فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیونی و ضدتیروسینازی اسانس‌های خالص و تجاری شوید

مهدى داداش پور<sup>۱</sup>، ايرج رسولي<sup>۲\*</sup>، فاطمه سفيد كن<sup>۳</sup>، محمد باقر رضائي<sup>۴</sup>، شکيبا درويش عليپور آستانه<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه شاهد، تهران، ايران

۲- استاد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، اiran

۳- استاد گروه فيتوشيمى، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراعت، تهران، اiran

۴- دکتری شيمي، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراعت، تهران، اiran

۵- دانشجوی دکتری میکروبیولوژي، دانشگاه شاهد، تهران، اiran

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۳

### چکیده

**مقدمه:** علیرغم اینکه برخی از روغن‌های اسانسی دارای اندکی اثر سمی حاد هستند، استفاده از روغن‌های اسانسی در بسیاری از کشورها تحت کنترل نیست. شوید یکی از گیاهانی است که مصرف عمومی داشته و روغن اسانسی آن نیز در دسترس عموم قرار دارد. در این مطالعه فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیونی و ضدتیروسینازی اسانس شوید که از گیاهان بومی و ارزشمند ایران می‌باشد، مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** خواص بیولوژیک اسانس شوید در دو شکل خالص و تجاری آن بررسی شد. فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیون، بازدارندگی تیروسینازی و فلاونوئید کل اسانس خالص شوید تازه و شوید تجاری مورد آزمایش قرار گرفت.

**نتایج:** ۷/۸ میکروگرم EDTA، فعالیتی معادل فعالیت ۲ میکروگرم اسانس خالص را داشت. اسانس‌ها دارای قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید هستند. ۵۰ درصد غلظت کلاتینگ یون فروس، فعالیت ضدتیروسینازی و رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیونی اسانس خالص شوید به ترتیب ۱/۳، ۴، ۱ میکروگرم و همان عوامل در اسانس تجاری برابر ۱۷۱/۶، ۵۸۹ و ۱۳۲ میکروگرم بود. فعالیت ضدتیروسینازی ۶/۴ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل فعالیت ضدتیروسینازی ۱۰۰۰ میکروگرم اسانس تجاری شوید بود.

**نتیجه‌گیری:** شوید دارای خاصیت آنتیاکسیدانی بوده و ربايش رادیکال‌های آزاد است. این اسانس همچنین دارای فعالیت کلاتنه کردن آهن و خاصیت از بین بردن رادیکال سوپراکسید بوده و در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی واکنش‌گر مؤثر است. شوید قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنایع غذا و دارو دارد.

**واژه‌های کلیدی:** شوید، ضدتیروسیناز، ترکیبات فروس، شلاته کننده‌های آهن، سوپراکسیدها، ربايش رادیکال آزاد

\* (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۲۱۵۱۲۱۶۰۱، پست الکترونیکی: rasooli@shahed.ac.ir

## مقدمه

در میکروزوم‌های کبد انسان و موش بررسی کرده‌اند<sup>(۶)</sup>. نتایج تحقیق نشان می‌دهد که انکوباسیون هر کدام از انانتیومرهای کاروون با میکروزوم‌های کبد باعث انتقال زیستی "استروسلکتیو" مشاهده می‌شود: (4S)-(-)-کاروون در حضور NADPH به (4R,6S)-(-)-کاروئول تبدیل می‌شود؛ (4S,6S)-(+)-کاروئول از (4S)-(+)-کاروون تولید می‌شود.

برگ‌های شوید، بذر و روغن انسانی آن می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را فراهم کنند<sup>(۷)</sup>. آنتی‌اکسیدان‌ها به روز روزافزون برای پیشگیری از آسیب‌های جدی به سیستم اعصاب مرکزی، بیماری‌های قلبی عروقی و آسم مورد توجه قرار گرفته‌اند<sup>(۸-۱۰)</sup>. علاوه بر این، کاربرد آنها به عنوان نگهدارنده در صنعت غذا و مواد محافظت کننده پوست در ترکیبات آرایشی و بهداشتی مورد توجه هستند<sup>(۱۱,۱۲)</sup>. مطالعاتی که بر روی گیاه شوید انجام گرفته است، بیانگر آن است که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و همچنین قدرت شلاته کردن فلزات می‌باشد<sup>(۱۳)</sup>. در مطالعه‌ای بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی انسان شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی نشان داده شد، این انسان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی از خود نشان می‌دهد<sup>(۱۴)</sup>. شوید می‌تواند به عنوان مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدان با اتصال به آهن کاتالیتیک تولید شده در طول تخریب سلول و کاهش آسیب بافتی ناشی از رادیکال هیدروکسیل همراه با تولید اکسیدان نوترووفیلی در طی التهاب و با اتصال به لیپوپلی‌ساکارید و کاهش فعالیت بیولوژیکی و بهبود توكسیته ناشی از لیپوپلی‌ساکارید، عمل کند. با این دید و با توجه به روند رو به گسترش مصرف داروهای گیاهی، در این مطالعه به بررسی فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال زدایی سوپراکسایدآنیونی و ضدتیروسوینازی انسان‌های خالص و تجاری شوید در سطح اینویترو پرداخته شد.

## روشن بررسی

انسان خالص شوید در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع انسان‌گیری و انسان تجاری شوید از منابع تولیدی داخل کشور

روغن‌های انسانی، دسته‌ای از روغن‌های فرار تشکیل شده از کمپلکس هیدروکربن‌ها (معمولأً ترپن‌ها) و دیگر مواد شیمیایی استخراج شده از همه بافت‌ها یا دانه‌های گیاهان هستند. این مواد از نظر بیولوژیکی با توجه به توانایی شان در ایجاد رایحه و طعم مطبوع، فتوشیمیایی فعال شناخته می‌شوند<sup>(۱,۲)</sup>. این ترکیبات در مواردی نظیر ماده معطر در مواد آرایشی، طعم دهنده در مواد غذایی و نوشابه‌ها، محصولات خانگی مانند پاک کننده‌ها، صابون، معطرکننده هوا، حشره کش‌ها و سنتز واسطه‌های شیمیایی معطر، به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. روغن‌های انسانی برای اهداف پزشکی غیرحرفه‌ایی به عنوان عوامل اشتها آور ضدنفح، زیاد کننده قاعدگی، ترشح شیر و همچنین سقط کننده جنین استفاده می‌شوند، ولی بیشترین استفاده از روغن‌های انسانی برای رایحه درمانی است<sup>(۲)</sup>. شوید (Anethum graveolens) یک گیاه مقاوم یکساله یا دوساله با ارتفاع ۹۰-۱۲۰ سانتی‌متر با شاخه‌های ظریف دارای برگ در انتهای و گل آذین‌هایی با گل‌های زرد در (۲-۹ cm) و ریشه‌های بلند دوکی شکل است. معمولاً برگ‌های شوید در تخم مرغ، گوشت، سالاد، غذاهای دریابی، سوب و دانه‌های (میوه‌های کوچک معطر) آن در نان، گوشت، سوب، سالاد، سیب‌زمینی، کلم رنده شده، ترشی و کیک برای مطبوع کردن استفاده می‌شوند. مطالعات قبلی نشان داده است که برگ‌های شوید خطر سلطان را کاهش می‌دهند<sup>(۳,۴)</sup>. میزان روغن بذر شوید، ۲/۳-۳/۵ درصد است که در حد آن کاروون است، در حالی که در برگ‌های شوید، ۰/۴-۰/۸ درصد روغن وجود دارد که متشکل از ۴۰ درصد کاروون، ۳۲ درصد لیمونن و ۲۰ درصد فلاورین است<sup>(۴)</sup>. کاربردهای کاروون به عنوان چاشنی، ماده خوشبوکننده، عامل جلوگیری کننده از سبز شدن سیب‌زمینی، عامل ضدبакتریایی و معرف محیطی بیوشیمیایی است و همچنین کاربرد این ماده در زمینه پزشکی، باعث علاقه‌مندی به این مونوترين شده است. مقدار زیادی از انانتیومرهای کاروون، به عنوان افروندنی غذایی و در فرمولاسیون دندانپزشکی استفاده می‌شوند<sup>(۵)</sup>. Jager و همکارانش مسیرهای متابولیکی کاروون را

ارزش IC<sub>50</sub> تعیین می‌گردد.

Inhibition(%)=[(Acontrol-Asample)/ Acontrol] ×100  
فعالیت ممانعت تیروسینازی انسانس‌ها (Tyrosinase inhibition) با اسپکتروفوتومتری (۱۶) و با روش dopachrome با استفاده از L-DOPA به عنوان سوبسترا سنجیده شد. مقدار ۵ میلی‌گرم انسانس در ۲ میلی‌لیتر DMSO ۰.۵٪ حل شده مقدار ۱۰ µl از نمونه به ۱۰ µl ۸۰ بافر فسفات (pH 6.8) ۰.۱ M اضافه و ۱۰ µl از L-DOPA (2.5 mM) tyrosinase یک چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی ریخته شد. نمونه‌ها در دمای ۳۷ °C به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. هر نمونه توأم با یک بلانکی بود که همه ترکیبات فوق به جز L-DOPA را داشت. جذب در طول موج ۴۷۵ nm با استفاده از طول موج ۷۰۰ nm به عنوان رفرانس، اندازه‌گیری گردید. نتایج با یک کنترل و بلانک محتوی ۰.۵٪ DMSO (به جای نمونه) مقایسه شدند. بلانک محتوی quercetin به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد ممانعت تیروسیناز با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Tyrosinase inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

(Determination of total flavonoid کل محتویات فلاونوئید با روش Zhishen (flavonoids) و همکارانش سنجیده شد (۱۷). ۰/۲۵ میلی‌لیتر از رقت هر نمونه به لوله محتوی یک میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه گردید. ۰/۷۵ میلی‌لیتر از محلول NaNO<sub>2</sub> ۰/۵٪ و ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر AlCl<sub>3</sub> ۱۰٪ و ۰/۵ میلی‌لیتر ۱ M NaOH ۱ در زمان‌های صفر، ۵ و ۶ دقیقه اضافه شد. حجم نهایی محلول را با آب دو بار تقطیر به ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده و جذب در طول موج ۵۱۰ nm اندازه‌گیری شد. Catechin محتوی کل فلاونوئید به صورت معادل میلی‌گرمی در هر گرم نمونه محاسبه گردید.

### نتایج

قدرت رقت‌های مختلف انسانس‌ها در کلاتینیگ یون فروس تعیین گردید و مقدار ۲ میکروگرم انسانس خالص شوید تقریباً معادل ۲۵۰ میکروگرم انسانس تجاری شوید قدرت کلاته کردن یون فروس را داشت. قدرت انسانس خالص از EDTA نیز بیشتر

(شرکت زردبند) که در داروخانه‌ها به فروش می‌رسد، تهیه گردید. FeSO<sub>4</sub> و Ferrozine از شرکت سیگما خریداری و تهیه شد. (Dimethyi Sulfoxide :DMSO) Na<sub>2</sub>EDTA, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Nitroblue azo dye (Merck) NaOH از شرکت Merck خریداری شد. Tetrazolium (NBT) Hypoxanthine, Catechin Tyrosinase, L-DOPA و Quercetin, Fluka از شرکت Fluka خریداری و تهیه گردید.

(Ferrous ion کلاته کلاتینیگ یون فروس (FIC) assay) Ferrozine و FeSO<sub>4</sub> (2mM) در صورت امکان به خط بالای بروز تهیه و ۲۰ برابر (5mM) رقیق شد. یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌های انسانس با یک میلی‌لیتر FeSO<sub>4</sub> رقیق شده مخلوط و سپس یک میلی‌لیتر Ferrozine رقیق اضافه گردید. لوله‌ها کاملاً مخلوط شده و ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. جذب هر کدام در ۵۶۲ nm سنجیده شد.

قدرت کلاته کردن یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه شد:

$$\text{Chelating effect(\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} / A_{\text{control}})] \times 100$$

قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیون انسانس‌ها (Superoxide anion radical scavenging) همکاران انجام شد (۱۵). به مقدار ۱۰۰ µl از رقت‌های هر انسانس محلول زیر افزوده شد:

۱۰۰ µl (30 mmol/l) Na<sub>2</sub>EDTA, ۱۰۰ µl (3 mmol/l) hypoxanthine in 50 mmol/l NaOH, ۲۰۰ µl (1.42 mmol/l) NBT in NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH (50 mmol/l, pH 7.4). پس از ۳ دقیقه مقدار ۱۰۰ µl ۰.۵ U/ml xanthine oxidase در بافر NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH اضافه شده و ۲/۴ ml بافر NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH اضافه شد. محلول حاصل در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شده و جذب در ۵۶۰ nm اندازه گیری گردید. همچنین جذب در ۲۳۹ nm اندازه‌گیری شد تا چنانچه انسانس مانع تولید اسید اوریک شده باشد، مشخص شود. وقتی که از عدم تشکیل اسید اوریک اطمینان حاصل شد درصد ممانعت در ۵۶۰ nm با فرمول زیر محاسبه می‌شود و نیز

میلی‌گرم Catechin در هر گرم نمونه) اسانس خالص دو برابر اسانس تجاری بود (جدول ۴) و پنجاه درصد غلظت بازدارندگی کلاتینگ، فعالیت تیروسوینازی و سوپراکسایدآنیونی اسانس خالص شوید تقریباً معادل ۱ میکروگرم اسانس تجارتی شوید اسانس تجارتی برابر ۱۷۱/۶، ۵۸۹ و ۱۳۲ میکروگرم و همان عوامل در فعالیت اسانس خالص به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از اسانس تجارتی بود (جدول ۴).

بود (جدول ۱). توانایی رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیون رقت‌های مختلف اسانس‌ها نشان داد که ۱/۶ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل ۵۰۰ میکروگرم اسانس تجارتی شوید قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیونی دارد (جدول ۲). فعالیت ضدتیروسوینازی ۶/۴ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل فعالیت ضدتیروسوینازی ۱۰۰۰ میکروگرم اسانس تجارتی شوید بود. فعالیت اسانس‌ها بر اساس معادل کوجیک اسید تعیین گردید (جدول ۳). محتوای کل فلاونوئید (معادل

جدول ۱: تعیین قدرت اسانس‌ها در کلاته کردن یون فروس

اسانس شوید	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	درصد کلاته کردن یون فروس	اسانس شوید تجارتی	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	درصد کلاته کردن یون فروس	EDTA	مقدار ( $\mu\text{g}$ ) EDTA	درصد کلاته کردن یون فروس
۲	۱	۰/۵	۰/۲۵	۲۷/۵۲±۲/۵۷	۲۲/۳۱±۰/۹۶	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۹/۴±۱/۳
۷۰/۲۲±۲	۴۲/۴۵±۵					۲۵۰	۱۲۵	
۶۴/۸۶±۵/۸	۴۲/۵۴±۱/۴					۶۴/۸۶±۵/۸	۴۲/۵۴±۱/۴	
۸۰/۷±۱/۲	۸۰/۲±۱/۲					۸۰/۷±۱/۲	۸۰/۲±۱/۲	

جدول ۲: قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیون اسانس‌ها

اسانس شوید	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	درصد رادیکال زدایی	اسانس شوید تجارتی	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	درصد رادیکال زدایی
۱/۶	۰/۸	۰/۴	۰/۲	۳۵/۳۹±۰/۷۶	۲۱/۷۵±۱
۶۰/۶۵±۰/۵۹	۴۵/۵۰±۰/۸۲				
۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۴۹/۷۶±۰/۷۱	۴۳/۹۵±۲/۰/۷
۶۷/۶۶±۰/۲۷	۶۰/۲±۰/۱۹				

جدول ۳: فعالیت ضدتیروسوینازی اسانس‌ها

اسانس شوید	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	فعالیت ضدتیروسوینازی (%)	اسانس شوید تجارتی	مقدار اسانس ( $\mu\text{g}$ )	فعالیت ضدتیروسوینازی (%)	معادل کوجیک اسید ( $\mu\text{g}$ )
۶/۴	۳/۲	۱/۶	۰/۸	۳۷/۱۸±۰/۷۶	۳۵/۶۱±۱/۵	۴۶/۷۱±۰/۵۱
۵۶/۸۳±۲/۵						۱۴۰±۲/۴
۳۴۰±۴						۵۰۰
۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۴۳/۲±۲/۴	۳۸/۵۲±۱/۱۴	۴۶/۷۱±۰/۵۱
۵۸/۲۶±۲/۵						۱۹۵±۲/۷
۳۶۷±۴/۱						۷۱±۵/۸

جدول ۴: محتوای فلاونوئیدی و فعالیت‌های رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون، ضدتیروسینازی و کلاته کردن یون فروس

اسانس	کلاته کردن یون فروس	فعالیت ضدتیروسینازی	رادیکال‌زدایی سوپر اکساید آنیون	محتوای کل فلاونوئید (میلی‌گرم در هر گرم نمونه)	IC50 (µg)	IC50 (µg)	IC50 (µg)
شوید	$13.69 \pm 1.07$	۱	۴	۱/۳			
شوید تجاری	$7.26 \pm 1.79$	۱۲۲	۵۸۹	۱۷۱/۶			
نسبت فعالیت اسانس خالص شوید به اسانس تجاری	۱/۸۹	۱۲۲	۱۴۷/۲۵	۱۳۲			

## بحث

مسئول توانایی آنتی‌اکسیدانی هستند. اسید کلوروژنیک، میریستین و ۳,۳',۴',۵,۷-پنتاہیدروکسی فلاوان(۴-۸) - ۳,۳',۴',۵,۷-پنتاہیدروکسی فلاوان اسید به ترتیب اصلی‌ترین اسید فنویلیک، فلاونوئید و پروآنتوسیانیدین‌ها در عصاره گل شوید هستند(۲۲) بسیاری از فلاونوئیدها به عنوان بازدارنده‌های بالقوه زنایین اکسیداز شناخته شده‌اند(۲۶). آهن در پراکسیداسیون لیپید در بدن نقش اساسی ایفا می‌کند، بنابراین تأثیر مواد فتوشیمی در سیستم‌های بیولوژیکی می‌تواند بر قدرت رادیکال‌زدایی، کلاته کردن فلزات، فعال‌سازی آنزیم‌های اکسیدانت و بازدارنده‌گی اکسیدازها دلالت کند(۲۷). نتایج این مطالعه خاصیت رادیکال‌زدایی شوید اعم از خالص و تجاری را نشان داد. بنابراین شوید می‌تواند به عنوان مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدان با اتصال به آهن کاتالیتیک تولید شده در طول تخریب سلول و کاهش آسیب بافتی ناشی از رادیکال هیدروکسیل همراه با تولید اکسیدان نوتروفیلی در طی التهاب و با اتصال به لیپوپلی‌ساقارید و کاهش فعالیت بیولوژیکی و بهبود توکسیته ناشی از لیپوپلی‌ساقارید، عمل کند.

بازدارنده‌های تیروسیناز موادی هستند که توانایی احیای واکنش‌های آنزیمی مانند تیره شدن رنگ مواد غذایی و ملانیزاسیون پوست انسان را دارند. بنابراین، این مواد دارای پتانسیل تجاری قابل ملاحظه‌ای در صنایع غذایی و آرایشی بهداشتی هستند. جدول ۳ فعالیت ضدتیروسینازی اسانس‌های مورد مطالعه و برابری ارزش کوچیک اسیدی آنها را نشان می‌دهد. تاکنون گزارشی از تعیین فعالیت ضدتیروسینازی اسانس شوید گزارش نشده، لذا این اولین گزارش در همین مورد است. بنابراین می‌توان فعالیت اسانس‌های شوید را با

بسیاری از گزارشات نشان داده است که گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه‌ای دارند(۱۸-۲۱). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانلی گل، برگ‌ها و بذر شوید به وسیله تست DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس، قدرت احیاکنندگی، قدرت کلاتینک (Chelating) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتون ارزیابی شده است. در همه روش‌ها عصاره گل بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به عصاره برگ و بذر، نشان داده است(۲۲). در مطالعه حاضر هر دو اسانس قدرت کلاتینک قابل ملاحظه‌ای نسبت به EDTA داشتند و اسانس شوید خالص قدرت بیشتری نسبت به EDTA از خود نشان داد، به طوری که ۷/۸ میکرو‌گرم EDTA فعالیتی معادل فعالیت ۲ میکرو‌گرم اسانس خالص را داشت.

نتایج مطالعه نشان داد که اسانس‌ها دارای قدرت رادیکال‌زدایی سوپر اکساید هستند. رادیکال سوپر اکساید در بدن به وسیله انواع آنزیم‌های اکسیداتیو به شکل احیا یک اکترون اکسیژن ملکولی انجام می‌شود. زنایین اکسیداز یکی از آنزیم‌های اصلی اکسیداتیو تولیدکننده رادیکال سوپر اکساید در نتیجه آسیب بافتی است(۲۳). رادیکال سوپر اکساید اینویترو به وسیله زنایین اکسیداز در طی واکنش تولید می‌شود، NBT اکسیده شده و به فرمازان آبی محلول در آب تبدیل می‌شود(۲۴). کاهش رنگ آبی در پی افزودن فراکسیون‌های حلal در مخلوط واکنش با زدوده شدن رادیکال سوپر اکساید سنجیده می‌شود. در این مطالعه بیشترین حد زدوده شدن رادیکال سوپر اکساید در اسانس شوید خالص دیده شد. وجود فتل کل و فلاونوئید زیاد در اسانس می‌تواند عامل این افرايش فعالیت باشد(۲۵). فتل‌ها شامل فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین‌ها،

سمی واکنش‌گر بوده و می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کند. مطالعه خواص بیولوژیک اسانس شوید نشان می‌دهد که شوید دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد. این اسانس همچنین فعالیت مناسب کلاته کردن فلزات و خاصیت از بین بردن رادیکال سوپراکسید را دارا می‌باشد. شوید قابلیت قابل توجه‌ای جهت بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد که البته نیازمند به اعمال نتایج این تحقیق در پژوهش‌های جانوری و سپس بالینی است.

### سپاسگزاری

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که با تأمین هزینه‌های این طرح امکان عملی شدن آن را فراهم آوردند، اعلام می‌داریم.

فعالیت ضدتیروسینازی سایر اسانس‌ها مقایسه کرد. فعالیت بازدارندگی تیروسینازی گیاهان *M. gigantea*, *M. pruinosa*, *M. tanarius* و *M. triloba* به ترتیب  $53/9$ ,  $52/8$ ,  $61/2$  و  $58$  درصد گزارش شده که در مقایسه با نتایج این مطالعه می‌توان به اهمیت اسانس شوید در بازدارندگی تیروسیناز پی برد(۲۸). اگر غلظت‌های نسبی ترکیبات اسانس‌ها در سطوحی تنظیم شوند که به طور مداوم قدرت و طیف فعالیت مورد نیاز را فراهم کنند، ممکن است روغن‌های اسانسی تأثیر قابل اطمینانی داشته باشند. این امر توسط تقطیر روغن خام (به منظور تولید محصولاتی که ترکیب ثابت و تجدیدپذیر دارند و یا توسط مخلوط کردن بخش‌های منفرد) برای بدست آوردن سطح فعالیت مورد نظر، انجام شدنی است. نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی این گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصولات

### References:

- 1- Deans SG, Ritchie G. *Antibacterial properties of plant essential oils*. Int J Food Microbiol 1987; 5(2): 165-80.
- 2- Woolf A. *Essential oil poisoning*. J Toxicol Clin Toxicol 1999; 37(6): 721-7.
- 3- Yang Y, Huang CY, Peng SS, Li J. *Carotenoid analysis of several dark-green leafy vegetables associated with a lower risk of cancers*. Biomed Environ Sci 1996; 9(4): 386-92.
- 4- Hartmans KJ, Diepenhorst P, Bakker W, Gorris LGM. *The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases*. Industrial Crops Products 1995; 4(1): 3-13.
- 5- de Carvalho CCCR, da Fonseca MMR. *Carvone: why and how should one bother to produce this terpene*. Food Chemistry 2006; 95(3): 413-22.
- 6- Jager W, Mayer M, Platzer P, Reznicek G, Dietrich H, Buchbauer G. *Stereoselective metabolism of the monoterpenes carvone by rat and human liver microsomes*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2000; 52(2): 191-7.
- 7- Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. *Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils*. Int J Food Microbiol 2002; 74(1-2): 101-9.
- 8- Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. *Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state*. Pharmacological Rev 2002; 54(2): 271-84.

- 9-** Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. *Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury.* Pharmacol Rev 2001; 53(1): 135-59.
- 10-** Kirkham P, Rahman I. *Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy.* Pharmacol Ther 2006; 111(2): 476-94.
- 11-** Winkler C, Frick B, Schroecksnadel K, Schennach H, Fuchs D. *Food preservatives sodium sulfite and sorbic acid suppress mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells.* Food Chemical Toxicol 2006; 44(12): 2003-7.
- 12-** Lupo MP. *Antioxidants and vitamins in cosmetics.* Clin Dermatol 2001; 19(4): 467.
- 13-** Bahramikia S, Yazdanparast R. *Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of anethum graveolens leaves using in vitro models.* Pharmacol Online 2008; 2: 219-33.
- 14-** Khanahmadi M, Rezazadeh Sh. *Review on iranian medicinal plants with antioxidant properties.* J Med Plants 2010; 9(35):19-32.
- 15-** Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang YS. *Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of Opuntia ficus-indica var. saboten.* J Agric Food Chem 2002; 50(22): 6490-6.
- 16-** Chan EWC, Lim YY, Wong LF, Lianto FS, Wong SK, Lim KK, et al. *Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species.* Food Chem 2008; 109(3): 477-83.
- 17-** Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.* Food Chem 1999; 64(4): 555-9.
- 18-** Elzaawely AA, Xuan TD, Koyama H, Tawata S. *Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm.* Food Chem 2007; 104(4): 1648-53.
- 19-** Ho SC, Hwang LS, Shen YJ, Lin CC. *Suppressive effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan (Dimocarpus longan Lour.) flowers on nitric oxide production in LPS-stimulated macrophage cells.* J Agric Food Chem 2007; 55(26): 10664-70.
- 20-** Kaur G, Alam MS, Jabbar Z, Javed K, Athar M. *Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers.* J Ethnopharmacol 2006; 108(3): 340-8.
- 21-** Susanti D, Sirat HM, Ahmad F, Ali RM, Aimi N, Kitajima M. *Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of Melastoma malabathricum L.* Food Chem 2007; 103(3): 710-6.
- 22-** Shyu YS, Lin JT, Chang YT, Chiang CJ, Yang DJ. *Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (Anethum graveolens L.) flower.* Food Chem 2009; 115(2): 515-21.
- 23-** Haraguchi H, Ishikawa H, Mizutani K, Tamura Y, Kinoshita T. *Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in Glycyrrhiza inflata.* Bioorg Med Chem 1998; 6(3): 339-47.
- 24-** Oktay M. *Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (Salvia sclarea L.).* Turk J Agric For 2004; 28: 25-33.

- 25- Arumugam P, Murugan R, Subathra M, Ramesh A. *Superoxide radical scavenging and antibacterial activities of different fractions of ethanol extract of *Mentha spicata* (L.).* Med Chem Res 2010; 19: 664-73.
- 26- Choi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY, et al. *Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison.* Plant Sci 2002; 163(6): 1161-8.
- 27- Kulkarni AP, Aradhya SM, Divakar S. *Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant-punicalagin from pith and carpillary membrane of pomegranate fruit.* Food Chem 2004; 87(4): 551-7.
- 28- Lim TY, Lim YY, Yule CM. *Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four *Macaranga* species.* Food Chem 2009; 114(2): 594-9.

## **Ferrous Ion Chelating, Superoxide Anion Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibitory Properties of Pure and Commercial Essential Oils of *Anethrum Graveolens***

**Dadashpour M(MSc)<sup>1</sup>, Rasooli I(PhD)<sup>\*2</sup>, Sefidkon F(PhD)<sup>3</sup>, Bagher Rezaei M(PhD)<sup>4</sup>, Darvish Alipour Astaneh Sh(PhD Student)<sup>5</sup>**

<sup>1,2,5</sup>Department of Microbiology, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>3,4</sup>Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

**Received:** 3 Jan 2012

**Accepted:** 24 Jan 2013

### **Abstract**

**Introduction:** Despite slight toxicities of essential oils, they are not under strict control in many countries. Anethum graveolens is widely consumed and its essential oils are at public reach. This study was designed to study essential oils of Anethum graveolens.

**Methods:** The biological properties of pure and commercial essential oils of Anethum graveolens were investigated. In fact, Ferrous ion chelating activity, superoxide anion radical scavenging property, tyrosinase inhibition and total flavonoids of the oils were determined.

**Results:** Chelating activity of 7.8 µg of EDTA was equivalent to 2 µg of the pure oil. The oils had superoxide anion radical scavenging activities which may be related to their total phenol and flavonoid contents. IC<sub>50</sub> of ferrous ion chelating, antityrosiase and superoxide anion radical scavenging activities of pure and commercial oils were 1.3, 1.4, 1 and (171.6, 589, 132) µg respectively. Antityrosiase activity of 6.4 µg pure oil was equal to 1000 µg of the commercial oil.

**Conclusion:** Anethum possesses antioxidative and free radical scavenging properties. This oil chelates ferrous ions and superoxide radicals. It is effective in formation of reactive toxic products. Anethum has good potentials regarding its applications in food and drug industries.

**Keywords:** Anethum graveolens; Antioxidants; Anti tyosinase; Essential oils; Ferrous compounds; Free radical scavengers; Iron chelating agents; Superoxides

**This paper should be cited as:**

Dadashpour M, Rasooli I, Sefidkon F, Bagher Rezaei M, Darvish Alipour Astaneh Sh. **Ferrous ion chelating, superoxide anion radical scavenging and tyrosinase inhibitory properties of pure and commercial essential oils of anethrum graveolens.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(1): 1-9.

\*Corresponding author: Tel:+ 98 2151212601, Email: rasooli@shahed.ac.ir