Archive of SID

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، شماره پیاپی ۱۷، سال پنجم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶

ارزیابی میزان فنل و فلاونویید کل، عملکرد آنتی‌اکسیدانی، اثرضد دردی و ضدالتهابی عصاره گیاه دارویی *Ocymum basillicum* var. *purpurescens* بر موش‌های صحرایی نر در مقایسه با داروهای اپیوئیدی (مرفین)

سولماز فخاری[۱]، اصغر رجب زاده[۲]، عیسی بیله جانی[۳]، آرش خاکی[۴*]، معصومه مازندرانی[۵]

[۱]متخصص بیهوشی و فلوشیپ پالیاتیو، بیمارستان امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

[۲]دکترای علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

[۳]متخصص بیهوشی و فلوشیپ بیهوشی قلب، بیمارستان قلب شهید مدنی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

[۴]گروه پاتولوژی، واحد تبریز،دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

[۵]گروه زیست‌شناسی ،واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۰

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی میزان فنل و فلاونویید کل، عملکرد آنتی‌اکسیدانی، اثر ضددردی و ضدالتهابی عصاره گیاه دارویی ریحان بنفش (*Ocymum. basillicum* var. *purpurescens*) بر موش‌های صحرایی نر در مقایسه با داروهای اپیوئیدی (مرفین) انجام گرفت. در این مطالعه از موش‌های صحرایی نرنژاد ویستاردرمحدوده وزنی۲۵۰±۱۰ گرم استفاده گردید. به‌صورت تصادفی موش‌ها به پنج گروه ده تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه کنترل درمان شده با اسید استیک (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه‌های درمان شده با عصاره اتانولی ریحان با دوزهای ۰/۷ و ۰/۹ و ۱ میلی‌گرم/ کیلوگرم، مورفین (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و تست ریتینگ استفاده شد. محتوای فنول و فلاونوئید کل در عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه به‌ترتیب با روش‌های معرف فولین-سیوکالتیو و رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH ارزیابی گردید. پروستاگلاندین PGE2 و سطح سرمی آنزیم SOD با کیت الایزا مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد عصاره اتانولی گیاه نسبت به عصاره آبی از بیشترین ترکیبات ثانویه فنلی (۲۸۸/۳±۵۱/۵ mg EGA/g) و فلاونوییدی (۱۵۴/۷±۱/۰۴ mg EQU/g) برخوردار بود و به واسطه کثرت سنتز متابولیت‌های ثانوی از بیشترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود (۷۹/۴±۴/۱). همبستگی مثبت معنی‌داری بین محتوای فنل و فلاونوئید کل گیاه با میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و درصد جاروب کنندگی رادیکال آزاد وجود داشت. (r<۰/۹، P<۰/۰۵). با افزایش دوز تجویزی از عصاره ریحان، دردهای مزمن ایجاد شده کاهش چشمگیری پیدا می‌کند (P≤۰/۰۰۱). همچنین سطح سرمی PGE2 در گروه‌های تیمار شده با عصاره ریحان و مرفین کاهش قابل توجهی را نسبت به گروه تیمار نشده نشان داد (P=۰/۰۳۶). سطح SOD نیز در گروه‌های درمان شده با عصاره نزدیک به گروه مورفین مشاهده شد (P<۰/۰۵). اثرات ضددردی و ضدالتهابی این عصاره از لحاظ آماری نزدیک به اثرات مرفین مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده در تایید استفاده‌های سنتی گیاه به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب قوی در درمان بیماری‌های التهابی و تسکین دردهای طولانی مدت مثل داروهای اپیوئیدی می‌باشد

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، درد، داروهای اپیوئیدی (مرفین)، فعالیت SOD، فنل و فلاونویید کل، ریحان

*نویسنده مسئول: khaki@iaut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بررسی‌های مختلف حاکی از آن است که گیاهان دارویی به واسطه پتانسیل سنتز متابولیت‌های ثانوی مختلف دارویی می‌توانند به‌عنوان یک منبع بالقوه از داروهای آنتی‌اکسیدان (پلی‌فنول‌های فلاونوئیدی، پلی‌فنل‌های غیر فلاونوئیدی، اسیدهای فنولی یا دی ترپن‌های فنولی مطرح شوند (Nouri et al., 2016). در حال حاضر از هزاران متابولیت ثانویه گیاهی به‌عنوان دارو (۳۵ درصد) در پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف در بسیاری از کشورها به‌عنوان داروهای طبیعی استفاده می‌شود (Kordi Tamandani et al., 2014). واکنش‌های اکسیداتیو به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد (Sadeghi et al., 2015) آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن نقش خنثی‌سازی فعالیت‌های اضافی رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارند. رادیکال‌های آزاد، به مولکول‌هایی اطلاق می‌شود که آخرین لایه الکترونی آن‌ها تکمیل نبوده و به همین دلیل به لحاظ شیمیایی فعال‌تر از سایر مولکول‌ها می‌باشند. در نتیجه، ساختمان و عمل سلول‌های بدنی توسط رادیکال‌های آزاد تخریب شده و منجر به بروز پیری زودرس و بیماری‌هایی نظیر سرطان، تصلب شرائین، آسیب‌های مغزی، دیابت و غیره می‌شوند (Ebrahimzadeh et al., 2008; Mohajerani, 2012). در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و یا غیرآنزیمی مانند BHT، TBHQ و BHA به‌دلیل ایجاد سمیت و احتمال بروز سرطان‌زایی کم شده‌است و بیشتر از منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مخصوصاً گیاهی که سرشار از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشند، استفاده می‌شود (Nguyen et al., 2010; Mohamed and Khan, 2014). این ترکیبات علاوه بر کاهش استرس‌های اکسیداتیو، دارای خصوصیات ضدجهش، ضدمیکروبی، ضد ویروس و ضدسرطان هستند (Tabart et al., 2008; Mathew and Abraham, 2006; Jamshidi et al., 2010). از این رو به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب قوی طبیعی نقش مهمی را در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، کاهش عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و حفظ سلامتی انسان ایفا کنند (Sadeghi et al., 2015).

گیاه دارویی ریحان بنفش (*Ocymum basilicum*) متعلق به تیره نعنا گیاهی یکساله و علفی و معطر با بیش از ۱۵۰ گونه که در اغلب رویشگاه‌های معتدله و مدیترانه‌ای رویش دارند (Sajjadi, 2006; Carvalho-Filho et al., 2006) که در طب سنتی اغلب کشورها به‌عنوان سبزی خوراکی معطر به‌عنوان ضد نفخ، درمان دل پیچه و اسهال مسکن، ضدالتهاب، ضد اسپاسم در درمان دیابت، آرام‌بخش اعصاب در رفع سردردهای عصبی و دردهای کلیوی استفاده می‌شود (Sajjadi, 2006). در بررسی‌های مختلف نیز به اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن گزارش شده است (Lee et al., 2005; Politeo et al., 2007; Usman et al., 2013)

در بررسی‌های مشابه گزارش شده که اکثر گونه‌های تیره نعنا و مخصوصا ریحان دارای اثر آنتی‌اکسیدانی هستند (Guich et al., 2015) و مقادیر آن‌ها به عوامل بسیاری از جمله نوع رویشگاه، تنوع گونه،کمیت و کیفیت مواد موثره و روش‌های مختلف استخراج بستگی دارد (Sadeghi et al., 2015). در پژوهشی دیگر که توسط چانگ وهمکاران (chang et al., 2002) انجام گرفت، مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بابونه شیرازی به ترکیبات فنولیک موجود در آن وابسته است.

درد یک تجربه حسی است که به دو صورت حاد و مزمن خود را نشان می‌دهد (Goldman and Bennett. 2000). درد حاد که ناشی از یک صدمه

www.SID.ir

Archive of SID

سریع و ناگهانی است، کوتاه مدت بوده وبا ازبین رفتن محرک از بین می‌رود. در حالی که درد مزمن به‌علت طولانی مدت بودن و آسیب جدی بر بافت‌های حساس باقی مانده و عوارض عصبی ناخوشایندی را موجب می‌شود. اگرچه برای مقابله با دردهای مزمن از داروهای مخدر استفاده می‌شود ولی کاربرد مداوم از این ترکیبات شیمیایی اثرات اجتماعی و بیولوژیکی نامساعدی دارد (Weiner, 2001). معمولاً برای کنترل درد از داروهای ضدالتهابی و اوپیوئیدی مانند مرفین استفاده می‌شود ولی شواهد زیادی وجود دارد که استفاده مداوم از این داروها موجب کاهش تدریجی اثرات آنها شده، به‌طوری‌که برای رسیدن به اثرات ضددردی آنها باید از دوزهای بالاتری استفاده شود (Ekhtiari et al., 2002). نشان داده شده است که در نتیجه استفاده مکرر از مرفین، سطح نیتریک اکساید افزایش پیدا کرده و مسیر NO/cGMP/PKG فعال می‌شود (Blednov et al., 2003). طبق مطالعات بیشماری ثابت شده است که پروستاگلاندین‌ها (نوع E) در پروسه التهاب بافتی نقش بسزایی دارند (Ricciotti and Fitzgerald, 2011). تزریق زیر پوستی پروستاگلاندین نوع E سبب اریتمی، هیپرآلجیسیا (hyperalgesia) و افزایش نفوذپذیری عروق و درد می‌شود. بنابراین افزایش سطح این مارکرهای التهابی، نشانه‌ای از وجود شرایط ناسازگار بافتی و پیشرفت دردهای مزمن است. در طی یک تحقیق توسط انجمن درد آمریکا سالانه پنجاه میلیون نفردرگروه‌های سنی مختلف مبتلا به درهای مزمن هستند که برای درمان چندین میلیون دلار هزینه می‌شود (Wall and Melozoc, 1991).

مرفین داروی اوپیوئیدی ضددرد است که به‌طور گسترده جهت تسکین دردهای مزمن استفاده می‌شود. برای اجتناب از وابستگی به اپیوئیدها، گیاهان دارویی مانند ریحان نیز باید به‌عنوان تسکین‌دهنده توجه داشت لذا با توجه به استفاده‌های فراوان گیاه ریحان به‌عنوان مسکن و ضد التهاب قوی در طب سنتی. دراین مطالعه به بررسی اثر ضددردی و ضدالتهابی عصاره گیاه ریحان در برابر مرفین پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و میکروارگانیسم‌ها: تمامی موادشیمیایی مورد استفاده با خلوص بالا و از شرکت‌های معتبر تهیه شدند. ۲،۲- دی فنیل-۲-پیکریل- هیدرازیل (DPPH)، کوئرستین و بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت سیکما-آلدریچ، استات سدیم، آسکوربیک اسید، گالیک اسید، سدیم بیکربنات، معرف فولین، سولفات آهن، (TPTZ) 2,4,6-tripyridyl-s-triazine، اتانول، از شرکت مرک تهیه شدند. برای تمامی محلول سازی‌ها و شستشو از آب دوبار یون زدایی شده استفاده شد. نمونه‌های تاره گیاه ریحان جمع‌آوری شد. پس از حذف خاک و گل و لای از آن‌ها، با دقت توسط آب مقطر شستشو داده شدند و در دمای اتاق در محل تاریک به‌مدت یک هفته کاملاً خشک شده و توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شدند.

فرایند عصاره‌گیری: عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) انجام گرفت (Barchan et al., 2014). بدین منظور، مقدار ۱۵ گرم از گیاه پودر شده توسط ترازوی دیجیتالی وزن شد و در ۱۵۰ میلی‌لیتر حلال مختلف شامل (آب دوبار یون زدایی شده، اتانول و متانول) به‌مدت ۲۴ ساعت در حال هم‌زدن روی همزن برقی قرار داده شد. پس از آن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عمل فیلتراسیون و صاف کردن انجام گرفت. پس از صاف کردن محلول‌های صاف شده حاصله به‌طور جداگانه در پلیت‌های جداگانه قرار داده و اجازه داده شد تا حلال آن‌ها پرانده شود و بدین‌ترتیب ۳

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره آبی، متانولی، اتانولی از پنج گیاه مورد نظر به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌باکتریایی بدست آمد. عصاره‌های بدست آمده جهت آنالیزهای بعدی در یخچال آزمایشگاهی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH): فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی[1] به کمک ۲-۲ دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، مورد ارزیابی قرار گرفت. مولکول DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به‌دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن به راحتی به‌صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش DPPH در متانول مورد سنجش قرار می گیرد. غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها به همراه ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تهیه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر باDPPH در مقابل کنترل قرائت شد (Kamkar et al., 2009). درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیرمحاسبه گردید و از بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و آسکوربیک اسید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد:

$$\%IP = (A_{Control} - A_{sample} / A_{Control}) \times 100$$

%IP: درصد مهار رادیکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد)

$A_{Control}$: جذب کنترل (که حاوی ۱ میلی‌لیتر از متانول در ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPHمی‌باشد)

A_{Sample}: جذب نمونه (که حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی (آنتی اکسیدان، متانول و محلول DPPH می‌باشد.

Determination of Antioxidant Activity

اندازه‌گیری مقدار فنول کل: محتوای فنول کل بااستفاده از معرف فولین – سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (Sadeghi et al., 2015). به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ها، ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد سدیم کربنات به آن اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در یک مکان تاریک و در دمای اطاق قرار داده شد. پس از آن جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر فرابنفش-مرئی در مقابل بلانک قرائت شد. گالیک اسید به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنول کل براساس میزان معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل: جهت سنجش میزان فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (Chang et al., 2002). هر کدام از عصاره‌های گیاهی (۰/۵ml از $1:10 g\ ml^{-1}$) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (با غلظت ۱ مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر فرابنفش-مرئی اندازه‌گیری شد. از کوئرستین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و در انتها میزان فلاونوئید کل براساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره‌ها گزارش شد.

1. Radical Scavenging Capacity
2. Ferric ion Reducing Antioxidant Power
3. Benzie
4. Strain

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی اثرات ضددردی و ضدالتهابی در مدل حیوانی: این مطالعه بر روی پنجاه سرموش نر ۲ ماهه نژاد ویستار با وزن ۱۰±۲۵۰ گرم به‌مدت ۶ هفته متوالی انجام گرفت. موش‌ها در قفسه‌ای پلاستیکی تحت ۲۰ درجه سانتی‌گراد با شرایط آزمایشگاهی در دمای نرمال و تابش نور کنترل شده در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی تبریز نگهداری می‌شدند.

موش‌های مورد مطالعه به پنج گروه تقسیم شدند:

گروه اول: کنترل که به هر موش صحرایی ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید استیک به‌صورت داخل صفاقی تزریق می‌شد.

گروه دوم: عصاره اتانولی گیاه ریحان روزانه به میزان ۰/۷ گرم / کیلوگرم به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند.

گروه سوم: عصاره اتانولی گیاه ریحان روزانه به میزان ۰/۹ گرم / کیلوگرم به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند.

گروه چهارم: عصاره اتانولی گیاه ریحان روزانه به میزان ۱ گرم / کیلوگرم به‌صورت گاواژ دریافت می‌کردند.

گروه پنجم: مرفین را به میزان ۰/۱ میلی‌گرم/ کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

تست ریتینگ: برای عادت دادن حیوانات به محیط آزمایش، ۳۰ دقیقه قبل از شروع هر حیوان در جعبه استاندارد قرارداده شد. عصاره اتانولی گیاه ریحان با دوز 0.7, 0.9, 1 mg/kg/body درسرم فیزیولوژیک حل و به‌صورت گاواژ تجویز گردید. پس از ۱۰ دقیقه تزریق اسیداستیک (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت درون صفاقی، تعداد انقباضات شکمی به مدت ۳۰ دقیقه برای هر حیوان به گونه ای که هردو پای موش کاملا کشیده گردد،شمارش شد. درگروه کنترل نیزبعدازتزریق درون صفاقی اسید استیک، تست ریتینگ انجام شد (Collier et al., 1968).

اندازه‌گیری پروستاگلاندین‌ها: برای اندازه‌گیری غلظت پروستاگلاندین PGE2، بعد از بیهوش کردن هر موش صحرایی با پنتوباربیتورال، از بطن چپ قلب عمل خونگیری انجام می‌شد. ۱۰ میلی‌لیتر خون جمع‌آوری شده به داخل تیوب حاوی EDTA (1mg/ml blood) و indomethacin (0.5mg/ml blood) ریخته شده، سپس نمونه خونی در 2000r.p.m به‌مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیفوژ می‌شد. پلاسمای خون به تیوب جدیدی منتقل شده و در دمای ۴۰- درجه نگهداری می‌شود. در نهایت برای بررسی میزان PGE2 با استفاده از کیت رادیوایمنواسی شرکتی (Diagnostic Product Corporation, USA; Amersham, UK) اندازه‌گیری شد.

ارزیابی فعالیت سوپراکساید دسموتاز (SOD): فعالیت این آنزیم با متد سان و همکاران (Sun et al.,1988) با تغییرات کمی از دوراک و همکاران (Durak et al., 1993) صورت گرفت. فعالیت ویژه آنزیم به‌صورت Unit/ml اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی post-hoc انجام گرفت. تجزیه و تحلیل از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

نتایج (جدول ۱) نشان داد که عصاره اتانولی گیاه نسبت به عصاره آبی از بیشترین ترکیبات ثانویه فنلی (۲۸۸/۳±۵۱/۵EGA/g mg) و فلاونویدی (۱۵۴/۷±۱/۰۴ mg EQU/g) برخوردار بود و به واسطه کثرت سنتز متابولیت‌های ثانوی از بیشترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود (۷۹/۴±۴/۱ درصد). همبستگی مثبت معنی‌داری (P<۰/۰۵) بین محتوای فنول و فلاونوئید کل گیاه نعناع و پونه، همچنین بین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و درصد جاروب کنندگی رادیکال آزاد DPPH وجود داشت (P<۰/۰۵). بین میزان متابولیت‌های ثانوی در عصاره‌های مختلف آبی و اتانولی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) وجود داشت.

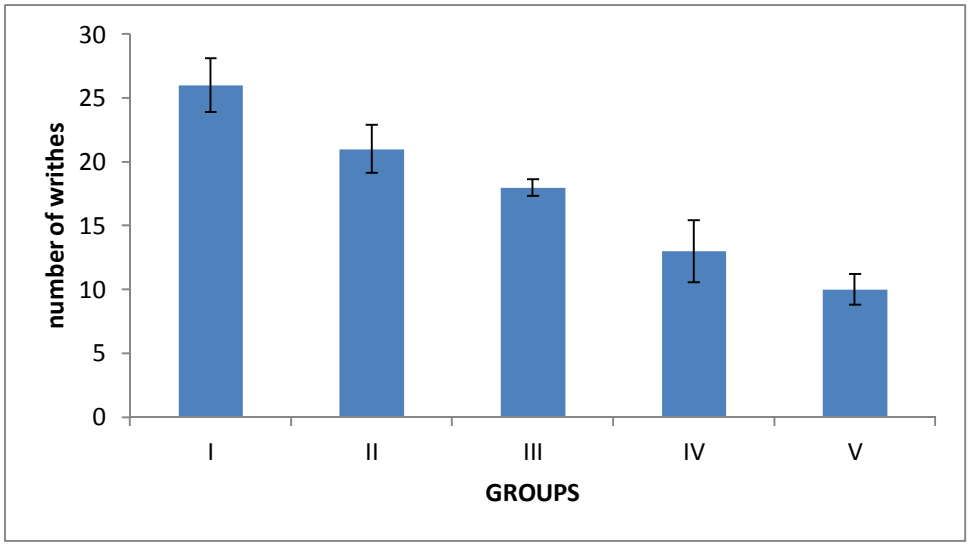
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: بررسی و مقایسه میزان مواد موثره فنلی و فلاونوییدی و ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف گیاه ریحان

عصاره گیاه	فنل و فلاونوئید کل (mgEQU/g)	فنل کل (mgEGA/g)	DPPH % inhibition
عصاره آبی	29.8 ± 0.18	106.2±11.31	13.00±0.8%
عصاره اتانول	154.7±1.04	288.3±51.5	79.4±4.1%

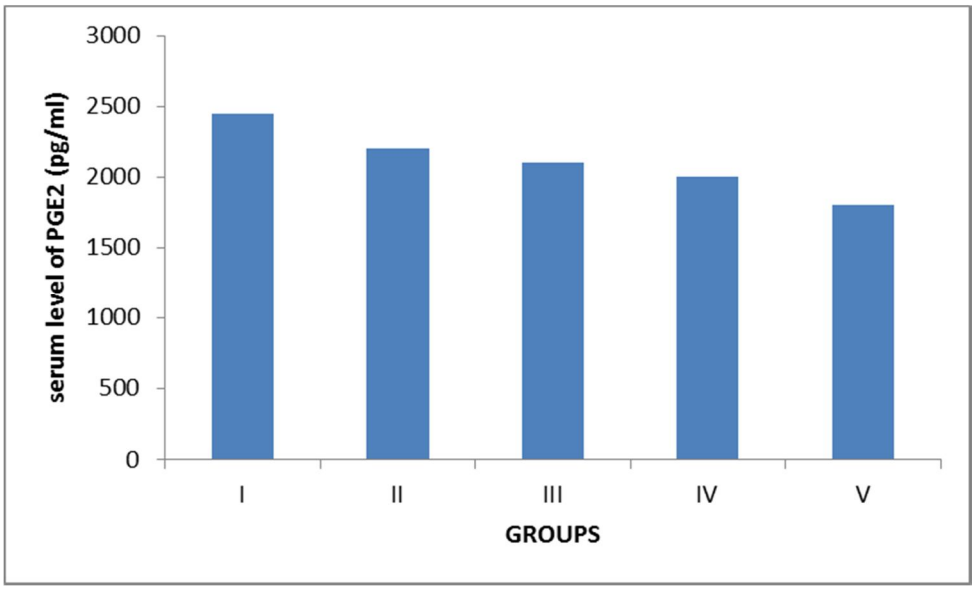
در ادامه یافته‌ها نشان میدهدکه تزریق دوز ۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه ریحان در کاهش تعداد ریتینگ نسبت به گروه کنترل وجود دارد. در دوزهای بالا از این عصاره، تعداد ریتینگ‌ها کاهش چشمگیری را نشان می‌داد. چنانچه در گروهی که مرفین را به‌عنوان گروه مثبت دریافت می‌کردند، نیز کاهش تعداد ریتینگ‌ها مشاهده گردید. همین‌طور ترکیب مرفین و عصاره ریحان اثرات ضددردی کاملاً بارزی را ازخود بروز می‌دهند (P≤۰/۰۰۱)(شکل ۱). نتایج به‌دست آمده از غلظت پروستاگلاندین PGE2 ما بین گروه‌ها نشان می‌دهد که سطح آن با افزایش دوز عصاره ریحان کاهش چشمگیری را به همراه دارد. این کاهش معنادار در گروه‌های آزمایشی با عصاره ریحان نسبت به گروه شش که فقط با اسید استیک تزریق شده بودند، نشان دهنده اثرات ضد التهابی و ضد درد عصاره ریحان است (شکل ۲). همینطور این کاهش معنادار در غلظت PGE2، در گروه مرفین نیز به چشم میخورد (P=۰/۰۳۶). فعالیت آنزیم SOD نیز در گروه‌های درمان شده با عصاره ریحان افزایش معناداری را نسبت به گروه اسید استیک نشان داد. ولی گروه مورفین با گروه‌های درمان شده با عصاره تفاوت چندانی نداشتند (P<۰/۰۵) (شکل ۳). لذا چنین استنباط می‌شود که ترکیب عصاره ریحان با دوزهای اثرگذار میتواند نیاز به داروهای تسکین دهنده درد را کاهش دهد.



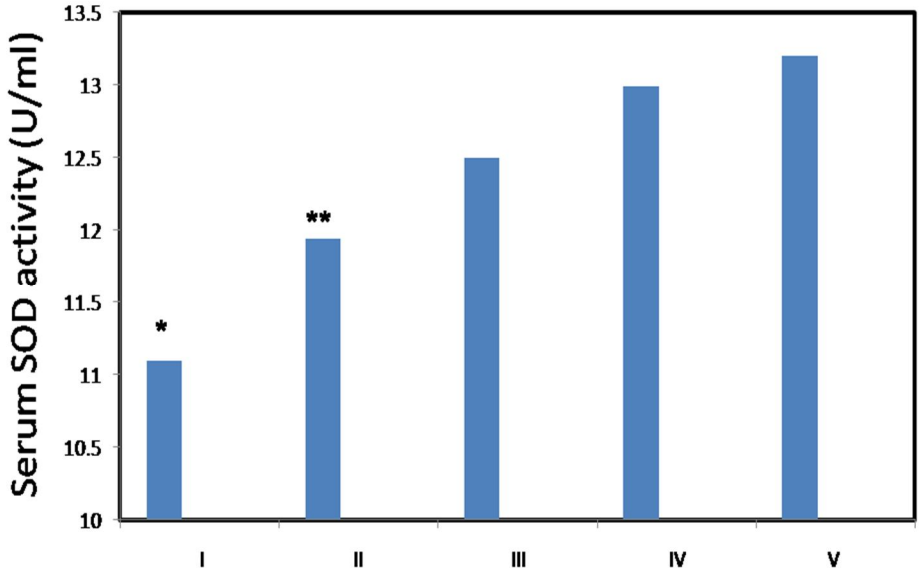
شکل ۱: میانگین تعداد ریتینگ موش صحرایی نر با غلظت‌های مختلف عصاره ی اتانولی گیاه ریحان در آزمون اسید استیک و مقایسه آن با گروه‌های مورفین و اسید استیک. I: گروه اسید استیک (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، II: گروه دریافت کننده 0.7mg/kg عصاره ریحان، III: گروه دریافت کننده ۰/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریحان، IV: گروه دریافت کننده ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریحان، V: گروه مورفین (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: اثرات دوزهای مختلف از عصاره اتانولی ریحان بر سطح سرمی پروستاگلاندین PGE2 بعد از تست ریتینگ.. I: گروه اسید استیک (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، II: گروه دریافت کننده ۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریحان، III: گروه دریافت کننده ۰/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریحان، IV: گروه دریافت کننده ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریحان، V: گروه مورفین (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم).



شکل ۳: سطح سرمی آنزیم فعالیت SOD در گروه‌های مورد مطالعه :I : گروه اسید استیک (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، II: گروه دریافت کننده ۰/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی ریحان، III: گروه دریافت کننده ۰/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی ریحان، IV: گروه دریافت کننده ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی ریحان، V: گروه مورفین (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

همسو با یافته‌های این تحقیق در جدول ۱ مشخص گردید که عصاره اتانولی گیاه نسبت به عصاره آبی از بیشترین ترکیبات ثانویه فنلی (mg EGA/g ۵۱/۵ ±۲۸۸/۳) و فلاونوییدی (mg EQU/g ۱۵۴/۷±۱/۰۴) برخوردار بود و به واسطه کثرت سنتز متابولیت‌های ثانوی از بیشترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود (۷۹/۴±۴/۱)/ همبستگی مثبت معنی‌داری (P<۰/۰۵) بین محتوای فنول و فلاونوئید کل گیاه نعناع و پونه، همچنین بین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و درصد جاروب کنندگی رادیکال آزاد DPPH وجود داشت (P<۰/۰۵). بین میزان متابولیت‌های ثانوی در عصاره‌های مختلف آبی و اتانولی تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) وجود داشت و از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها، رابطه مستقیمی باپتانسیللازم جهت پاکسازی رادیکال‌های آزاد و یا بعبارتی قدرت آنتی‌اکسیدانی آن‌هادارند (Azizian Shermeh et al., 2016). در این مطالعه، مقادیر فنول و فلاونوئید کل عصاره‌های مختلف گیاه ریحان به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد و مشخص گردید که روش استخراج با حلال‌های مختلف در کمیت و کیفیت استخراج ترکیبات ثانویه فنلی و فلاونوییدی نقش بسزایی دارد و این موضوع با یافته‌های (Moure et al., 2001). مطابقت دارد به‌طوری‌که در بررسی‌های مشابه نیز نشان دادند که حلال‌های متانول و اتانول نسبت به حلال آبی با قدرت نفوذ بیشتر بر داخل سلول‌های گیاه، ترکیبات طبیعی ثانویه شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهای بیشتری را استخراج می‌کند (Khorasani Esmaeili et al., 2015). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که حلال اتانول نسبت به آب، نقش مهمی در استخراج ترکیبات ثانویه فنولی و فلاونوئیدی داشته است و این ترکیبات منجر به بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر آن شده است. مطالعات متعددی بر روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی گونه مورد مطالعه و سایر گونه‌های تیره نعنا صورت گرفته است و نتایج آن مطالعات نشان می‌دهد گونه‌هایی از تیره نعنا که به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و همچنین آسکوربیک اسید دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بالایی است (Da-Costa-Rocha et al., 2014; Zhang et al., 2011; Norhaizan et al., 2010; Al-Hashimi, 2012) و اینکه قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد کاملاً وابسته به غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوییدی بوده و با افزایش آن افزایش یافته است (Sirang et al., 2014; Guiche et al., 2015).

در تحقیقی مشابه سیرانگ و همکاران (Sirang et al., 2014) میزان فلاونویید و فنل کل در عصاره‌های مختلف ریحان به‌ترتیب از µg 27.41 - 9.09 GAE/mg تا µg RE/mg 22.88 - 5.38 متفاوت گزارش شده است و به همان میزان به واسطه تنوع کمی و کیفی مواد موثره فنلی و فلاونوییدی عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌ها نیز مخصوصا در روشهای مختلف متفاوت گزارش شده است. در محدوده رنج ۹۲/۳۷–۵۸/۴۳ درصد در روش DPPH، در حالی که در روش RP مقادیر ۰/۱۶۰–۰/۱۳۷ گزارش گردید و این مقادیر حاکی از تغییرات کمی و کیفی مواد موثره ثانوی گیاه در روش‌های مختلف و سپس تفاوت شگرف در عملگرد دارویی و آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌تواند باشد.

در بررسی‌های مختلف قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی از جمله گونه‌های تیره نعنا بسیار بستگی به وجود فنول‌ها، ترپنوییدها و فلاونوییدهای آنها شامل رزمارینیک اسید و فلاونوئیدها از جمله

www.SID.ir

Archive of SID

فلاونها، فلاونونها و اشکال گلیکوزیدی آنها نسبت داده شده است (Alessandra et al., 2016).

عصاره‌های گونه‌های مختلف ریحان مقدار فلاونوئید کافی و مقدار فنول کل را داشتند که تغییرات در بازده عصاره‌های گوناگون مربوط به قطبیت ترکیبات مختلف موجود درگیاه است و این تفاوت‌ها در مقالات گزارش شده است (Sirag et al., 2014). در پژوهشی که توسط برچان و همکاران (Barchan et al., 2014) روی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی پونه رشد یافته در دو منطقه مختلف الجزایر انجام دادند، گزارش کردند که محتوای فلاونوئید کل *M.pulegium* رشد یافته در منطقه Tizi-ouzou در عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بود که با نتایج پژوهش حاضرمطابقت دارد البته مقادیر به‌دست آمده توسط آنها برحسب mg QU/g DW، بیشتر از مقادیر به‌دست آمده در پژوهش حاضر بود که می‌توان به‌علت تفاوت در رویشگاه‌های مختلف، عرض جغرافیایی، رطوبت، ارتفاع از سطح دریا و...، روش‌های مختلف استخراج و تنوع گونه‌های مختلف یک جنس نسبت داد. همبستگی مثبت معنی‌دار مورد مشاهده بین میزان فنول و فلاونوئید کل در عملکرد آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف نعنا و پونه می‌تواند در تایید یافته‌های این تحقیق و تایید اثرات ضد دردری و ضد التهابی آن قابل بحث باشد (Ombra et al., 2015).

تحقیقات مختلف نشان داده که گیاهان دارویی مخصوصا گیاهان تیره نعنا و مخصوصاً گونه‌های مختلف ریحان به عنوان منابع غنی از متابولیت‌های ثانوی آنتی‌اکسیدانی (ترپنوییدها، فلاونویید، فنل و آنتوسیانین‌ها) هستند و بررسی‌های مختلف in vitro, in vivo نشان داده که این ترکیبات دارای خواص ضدالتهابی، ضدالتهابی در درمان بیماری‌های خونی و قلبی عروقی، تایید خواص آنتی‌اکسیدانی آن علیه سلولهای سرطانی کولون (Caco-2, SW48)، سرطان سینه (MCF7, MDA-MB-231) و خواص ضد باکتریایی علیه نمونه‌های *اشرشیا کلی*، *باسیلوس سرئوس* و *پزودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد (Kordi et al., 2014; Sadeghi et al., 2015; Azizian et al., 2016).

درد عامل هشداردهنده‌ای است که در مقابل صدمات وارده به بافت‌های بدن ایجاد می‌شود و برای آگاهی از خطرات محیطی به‌عنوان سیستم دفاعی محسوب می‌شود (Goldman and Bennett, 2000). از زمان‌های بسیار دور برای تسکین دردهای طولانی مدت از مرفین استفاده می‌کردند. داروهای اپیوئیدی مانند مرفین با اتصال شدن به رسپتورهای اپیوئیدی در بیشتر مناطق مغزی (ساقه مغزی و نخاع و تالاموس) که در انتقال درد فعالند، عمل می‌کنند (Goudet et al., 2009; Hossaini et al., 2010). اعتقاد بر این است که مرفین با مهار کردن آنزیم آدنیلات سیکلاز اثرات ضد دردی خود را القاء می‌کند (Gioiosa et al., 2008). در مطالعه ما نیز چنین خاصیتی را از آن در موش‌های صحرایی نر مشاهده کردیم. مکانیسم مهار نیتریک اکساید توسط مرفین، با کاهش آزاد سازی گلوتامات در نورون‌های درجه اول نخاعی و فعال کردن فسفولیپازآنزیم آدنیلات سیکلاز صورت می‌گیرد که سبب باز شدن کانال‌های پتاسیمی و بسته شدن کانال‌های کلسیمی ولتاژ بالا می‌شود. نتیجه این فعالیت هیپرپلاریزه شدن غشاء و مهار تولید نیتریک اکساید است. در این مورد می‌توان احتمال داد که عصاره ریحان هم از طریق بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی اثرات خود را اعمال می‌کند و می‌تواند به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحمل و رفع درد را در موش‌های صحرایی همانند مرفین باعث شود، اگرچه با افزایش دوز دریافتی از عصاره تفاوت بیشتر احساس می‌شود. بنابراین عصاره ریحان با مهار سیگنال‌های انتقال‌دهنده

www.SID.ir

Archive of SID

درد به مراکز بالاتر در سیستم عصبی مرکزی و یا تقویت مسیرهای نزولی مهارکننده درد، توان تسکین دردهای مزمن را دارد. بعضی ازگیاهان با دارابودن اسیدهای آمینه و سطح بالای ملاتونین و سروتونین اثرات ضد دردی خود را نشان می‌دهند.

مطالعات حاکی از آن است که عصاره‌های گیاهی با توجه به کثرت ترکیبات ثانوی ترپنوییدی، فلاونوییدی و فنلی در تسکین دردهای کوتاه و طولانی مدت نقش بسزایی دارند (Tzulker et al., 2007). آنتوسیانین‌ها و پلی‌فنلها به‌دلیل داشتن خواص ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضددیابتی، ضدحساسیت و ضددردی از لحاظ فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ارزشمندند (Zafra-Stone et al., 2007). اثرات ضد دردی این ترکیبات را می‌توان به مهار سیکلواکسیژنازها و لیپواکسیژنازها مرتبط دانست. اثرات ضدالتهابی در عصاره گیاهان با افزایش پروتاگلاندین‌ها ارتباط مستقیم دارد، و این عمل را از طریق مهار سیتوکین‌های التهابی مترشحه از ماکروفاژها، مهارکاتکول متیل ترانسفرازو حفظ کاتکول آمین‌ها تکمیل می‌کنند (Rang et al., 1999). احتمالات دیگری نیز در این رابطه می‌توان در نظر گرفت، مانند جلوگیری از آزاد شدن گابا، فعال کردن سیستم نوروآدرنرژیک و سیستم سروتوژنیک (Fields et al., 2004).

با توجه به اینکه تست انجام شده در این مطالعه (ریتینگ) با افزایش پروستاگلاندین E2 و پروستاگلاندین F2α در ارتباط است، نتایج حاصل از PGE2 نشان‌دهنده خواص ضدالتهابی عصاره ریحان است. فلاونوئیدها، فنیل پروپانوئیدها و اسید رزماریک درعصاره ریحان به وفور یافت می‌شوند که نشان از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی آن است (Khaki et al., 2011). بنابراین دور از انتظار نیست که این گیاه با خواص ضددردی و ضدالتهابی در برابر داروهای اپیوئیدی برای تسکین دردهای عصبی موثر واقع شود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این پژوهش نشان داد که حلال نقش مهمی در کمیت و کیفیت استخراج ترکیبات موثره موجود در گیاه دارد و بالتبع آن موجب بروز خاصیت‌های مهم آنتی‌اکسیدانی و سایر خواص دارویی آن‌ها می‌شود عصاره گیاه ریحان بنفش به دلیل کثرت متابولیت‌های ثانوی فنلی و فلاونوییدی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشد. بین میزان فنول و فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهار DPPH همبستگی مثبت معنی‌داری ($P<0.05$, $r<0.9$) وجود داشت، عصاره اتانولی گیاه دارای ماکزیمم ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده است. نتایج حاصل از PGE2 و فعالیت SOD نیز نشان‌دهنده خواص ضدالتهابی عصاره ریحان بود. بنابراین با توجه به اثبات وجود این ترکیبات و خواص مورد بحث، کاربرد هرچه بیشتر گونه مورد نظر در زمینه‌های مختلف برای پیشگیری و درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو، ضدالتهاب، ضددرد، ضدعفونی کننده در درمان بیماری‌های التهابی و دیابتی پیشنهاد می‌شود و در جهت مصارف پزشکی و داروسازی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از شرکت بین‌المللی پارت طب ارس (www.pmcaras.com) به خاطر همکاری‌های علمی و پژوهشی نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Alessandra, C.P., Fernanda M., Daniel G. and Neiva, D.R. 2016. Extraction of bioactive compounds and free radical scavenging activity of purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaf extracts as affected by temperature and time. (Annals of the Brazilian Academy of Sciences). Printed version ISSN: 0001-3765 / Online version ISSN: 1678-2690.
2. Al-Hashimi, A.G. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts. African Journal of Food Science, 6(21): 506-511.
3. Azizian Shermeh, O., Valizadeh, J., Noroozifar, M. and Qasemi, A. 2016. Investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles biosynthesized by aqueous extract of *Sambucus ebulus* L. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 25(4): 92-108. (In Persian).
4. Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Pagán, R. and Laglaoui, A. 2014. The effects of sol-vents polaritiy on the phenolic contents and antioxidant activity of three *Mentha* species extracts. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(11): 399-412.
5. Blednov, Y.A., Stoffel, M., Alva, H. and Harris, R.A. 2003. A pervasive mechanism for analgesia: Activation of GIRK2 channels. Molecular Pain, 1: 277–82.
6. Collier, H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A. and Schneider, C. 1968. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. British Journal Pharmacol., 32: 295–310.
7. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
8. Carvalho-Filho, J.L.S., Blank, A.F., Alves, P.B., Ehlert, P.b.a., Melo, A.S., Cavalcanti, S.C.H., Arrigoni-Blank ,M.F. and Silva-Mann, R. 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. Revista Brasileira de Farmacognosia 16: 24-30.
9. Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L.– A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry. 165: 424–443.
10. Dinanath, D Patil., Dnyandeo, K. Mhaske., Gurumeet C. Wadhawa. 2011. Antibacterial and antioxidant study of *Ocimum basilicum* Labiatae (sweetbasil). Journal of Advanced Pharmacy Education and Research 2: 104-112.
11. Durak, I., Yurtarslanl, Z., Canbolat, O. and Akyol, O. 1993. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. Clinica Chimica Acta, 214: 103-4.
12. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish Journal of Biology, 32: 43-49.
13. Ekhtiari, H., Behzadi, A., Sadeqi, M., Mirbaha, H., Nowroozi, L. and Alavi, A. 2002. Recognition and treatment of addiction. 1st ed. Tehran: Arjomand Publishing Co. 14-31.
14. Fields, H. 2004.State-dependent opioid control of pain. Nature Reviews Neuroscience, 5: 565-75.
15. Gioiosa, L., Chen, X., Watkins, R., Elizabeth, A., Umeda, A. and Arnold, P. 2008. Sex chromosome complement affects nociception and analgesia in Newborn mice. Journal Pain, 10: 962-9.
16. Goldman, L. and Bennett, J.C. 2000. Cecil textbook of medicine. 21th ed. WB Saunders Co, P. 103.
17. Goudet, C., Magnaghi, V., Landry, M., Nagy, F. and Gereau, R.W. 2009. Metabotropic receptors for glutamate and GABA in pain. Brain Res. Rev., 60: 43-56.
18. Guiche, R.E.L., Tahrouch, S., Amri, O., Mehrach, K.E.L. and Hatimie, A. 2015.

www.SID.ir

Archive of SID

Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic, plants located in the south of morocco, International Journal of New Technology and Research, 1(3): 7-11.

19. Hossaini, M., Duraku, L.S., Saraē, E. and Jongen, J.L.M. 2010. Differential distribution of activated spinal neurons containing glycine and/ or GABA and expressing c-fos in acute and chronic pain models. Pain, 151: 356-65
20. Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S., Fathi, F. and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal Plant, 9(34): 177-183.
21. Kamkar, A., Asadi, F., Jenneli-javan, A. and Jamshidi, R. 2009. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha* spicat. Journal of Veterinary Medicin and Labarotory, 1(1): 69-77.
22. Khaki, A., Fatemeh F.A., Mohamad, N. and Amir Afshin, Kh. 2011. Effects of basil, *Ocimum basilicum* on spermatogenesis in rats. Journal of Medicinal Plants Research, 5(18): 4601-4604.
23. Khorasani Esmaeili, A., Taha, R.M., Mohajer, S. and Banisalam, B. 2016. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L. (Red Clover). BioMed Research International, 1-11.
24. Kim, S.J., Kim, J.M., Shim, S.H. and Chang, H.I. 2014. Anthocyanins accelerate the healing of naproxen-induced gastric ulcer in rats by activating antioxidant enzymes via modulation of Nrf2. Journal Funct. Foods 7: 569-579.
25. Kordi tamandani, E., Valizadeh, J. and Valizadeh, M. 2014. In vitro production of secondary metabolites in *Cicerspiroceras* using elicitors. Global Journal of Research on Medicinal Plants and Indigenous Medicine, 3(2):48-56.
26. Lee, S.J., Umano ,K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum baslicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chem., 91: 131-137.
27. Mathew, S. and Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44: 198-206.
28. Mohamed, S.A., and Khan, J.A. 2014. antioxidant capacity of chewing stick miswak (*Salvadora persica*), BMC. Complementary and Alternative Medicine, 13(40): 1-6.
29. Mohajerani, M. 2012. Antioxidant activity and total phenolic content of *Nerium oleander* L. grown in North of Iran, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(4): 1121-1126.
30. Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J. and Parajo, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry. 72(2):145-171.
31. Norhaizan, M.E., Tong, S.H., Amin, I. and Chew, L.Y. 2010. Antioxidant activity in different parts of the Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. Food Chemistry, 122: 1055-1060.
32. Nouri, S., Kiasat, A.R., Kolahi. M., Mirzajani, R. and Seyednejad, S.M. 2016. Phytochemical studies, antioxidants and various optimization methods in order to determine the best method of extracting *curcumin* extract ethanol from the plant *Curcuma longa* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 11(3): 1-11. (In Persian).
33. Nguyen, P.M., Kwee, E.M. and Niemeyer, E.D. 2010. Potassium rate alters the antioxidante capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Food Chem. 123: 1235-1241.
34. Ombra, M.N., Fratianni, F., Granese, T., Cardinale, F., Cozzolino, A. and Nazzaro, F. 2015. In vitro antioxidant, antimicrobial

www.SID.ir

Archive of SID

and anti-proliferative activities of purple potato extracts (*Solanum tuberosum* cv. *Vitelotte noire*) following simulated gastrointestinal digestion. Natural Product Research. 29: 1087-1091.

35. Politeo, O., Jukic, M. and Milos, M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. Food Chemistry, 101: 379-385.
36. Rang, H.P., Dale, M.M. and Ritter, J.M. 1999. Text book of pharmacology. New York: Churchill Livingston, 3:148-633.
37. Ricciotti E. and Fitzgerald, G.A. 2011. Prostaglandins and inflammation. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 31(5): 986-1000.
38. Sadeghi, Z., Valizadeh, J. and Azizian Shermeh, O. 2015 (a). Antioxidant activity and total phenolic content of some date varieties from Saravan Region, Baluchistan, Iran. Journal of a Medicinal Plants Research, 9(4): 78-83.
39. Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian Shermeh, O. and Akaberi, M. 2015 (c). Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchistan, Iran. Avicenna Journal of Phytomededicine, 5(1): 1-9.
40. Sajjadi, S.E. 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(3):128-130.
41. Sirag, N., Elhadi, M.M., Algaili, M., Algaili, M., Hozeifa, M.H. and Ohaj, M. 2014. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx ethanolic extract. Standard Research Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1(2): 34-39.
42. Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, Clinical Chemistry., 34: 497-500.
43. Szy manowska, U., Złotek, U., Karaś, M. and Baraniak, B. 2015. Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. Food Chem. 172: 71-77.
44. Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Ddefraigne, J.O. and Dommes, J. 2008. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Journal of Food Chemistry, 113: 1226-1233.
45. Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M. and Amir, R. 2007. Antioxidant activeity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. Journal Agricultural Food Chemistry, 55: 9559-7.
46. Usman, L.A., Ismaeel, R.O., Zubair, M.F., Saliu, B.K., Olawore, N.O. and Elelu, N. 2013. Comparative studies of constituents and antibacterial activities of leaf and fruit essential oils of *Ocimium basilicum* grown in north central Nigeria. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences. 3: 47-52.
47. Wall, P.D. and Melozoc R. 1991. Text boock of pain. Second edit Churchill Livingstone, P. 1.
48. Weiner, R.S. 2001. Pain management. 6th ed. American Academy of pain management, P: 3-9.
49. Zhang, M., Hettiarachchy, N.S., Horax, R., Kannan, A., Praisoody, M.D.A, Muhundan, A. and Mallangi, C.R. 2011. Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa*, *Centella asiatica*, *Moringaoleifera* and *Murraya koenigii* leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 5(30): 6672-6680.
50. Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Baqchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J.A. and Baqchi D. 2007. Berry anthocyanin's as novel antioxidants in humen health and diseases prevention Molecular Nutrition and Food Research., 51(6): 675-83.

www.SID.ir