

ارزیابی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Citrullus colocynthis* L. در رویشگاه‌های مختلف جنوب شرقی ایران

صدیقه اسمعیل زاده بهابادی^{۱*}، فروغ یوسف‌زائی^۲

^۱دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

^۲کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۸

چکیده

گیاه هندوانه ابوجهل *Citrullus colocynthis* L. متعلق به تیره کدوئیان است که برای درمان بیماری‌های متعددی نظیر التهاب، روماتیسم و دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این تحقیق بررسی مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل (برگ، پوست میوه، گوشت میوه و دانه) در سه رویشگاه زابل، ایرانشهر و کرمان بود. نمونه‌های گیاهی از سه رویشگاه طبیعی در تیرماه سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید. محتوای کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با استفاده از روش طیف سنجی بررسی گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش‌های FRAP, DPPH و پراکسید هیدروژن تعیین گردید. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین میزان فنل در برگ هندوانه ابوجهل کرمان و ایرانشهر به ترتیب به میزان ۵۲/۱۹ و ۴۴/۸۶ میلی‌گرم در هر گرم از وزن خشک مشاهده شد. بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در برگ هندوانه ابوجهل کرمان بود. همچنین برگ هندوانه ابوجهل رویشگاه کرمان دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (۸۶ درصد). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که برگ هندوانه ابوجهل رویشگاه کرمان پتانسیل استفاده در مصارف دارویی را دارد و ما امیدواریم این مطالعه مشوقی برای انجام تحقیقات بیشتر در مورد فیتوشیمی و فارماکولوژی آن باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، جنوب شرق ایران، هندوانه ابوجهل

*نویسنده مسئول: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

مقدمه

می‌شوند با این وجود اثرات سمی از خود نشان داده‌اند بنابراین جستجو برای جایگزینی فرآورده‌های طبیعی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی منجر به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های متعدد از منابع گیاهی مانند گیاهان دارویی، سبزیجات، میوه جات و دانه‌های روغنی شده است.

ترکیبات پلی‌فنولی از جمله متابولیت‌های ثانوی گیاهان هستند که از هسته‌های آروماتیک و یک یا چند گروه OH ساخته شده‌اند و به فنل‌های ساده، فنولیک اسیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌های متراکم (پروسیانیدین‌ها)، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم می‌شوند (Karaman et al., 2010).

فلاونوئیدها از ترکیبات پلی‌فنلی با وزن مولکولی کم و دارای اسکلت دی‌فنیل‌پروپان (C6C3C) گروه بزرگی از این متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند و معمولاً در ۶ زیر گروه اصلی فلاونولها، فلاونها، ایزوفلاونها، فلاونونها، فلاوانولها و آنتوسیانیدین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. تعداد و موقعیت گروه‌های OH- فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Karaman et al., 2010).

به نظر می‌رسد که رابطه نزدیکی میان خاصیت آنتی‌اکسیدانی با مقادیر ترکیبات فنلی وجود داشته باشد (Davarynejad, 2012). محققان گزارش کردند که عوامل بسیار زیادی از جمله آب و هوا، ارتفاع، روش‌های استخراج، روش‌های اندازه‌گیری‌های آنتی‌اکسیدانی و روشگاه در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنول و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (Gairola et al., 2010). علاوه بر این میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در اندام‌های مختلف تحت تأثیر تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف می‌باشد (Alirezalu et al., 2018). با توجه به این که مناطق مختلف دارای شرایط

هندوانه ابوجهل *Citrullus colocynthis* L. تیره کدوئیان گیاهی علفی است. این گیاه خزننده، دارای پیچک و به رنگ سبز متمایل به خاکستری معمولاً پایا و به ندرت یک یا دو ساله است. میوه هندوانه ابوجهل به رنگ زرد، دارای میان بر سفید رنگ، فاقد بو و دارای طعم بسیار تلخ است (Zahrani and Amer, 2006). ترکیبات مهم میوه این گیاه شامل کلوسیستین، کوکوریتاسین، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، مواد صمغی و املاح مختلف است. کلوسیستین و کوکوریتاسین قسمت عمده مواد موثره گیاه را تشکیل می‌دهند (Ogbonna, 2009). مصرف این گیاه از دیر باز به عنوان داروی سنتی در درمان بیماری‌های کبدی، دیابت و... استفاده می‌شود (Tannin-Spitz et al., 2007). رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش پذیری هستند که در طول فرایند اکسیداسیون در سیستم‌های زیستی تشکیل می‌شوند (Badmus et al., 2011). تولید بیش از حد طبیعی این رادیکال‌های فعال و تجمع آنها در بدن سبب بروز فرآیند استرس اکسیداتیو شده که با تخریب ماکرومولکول‌های حیاتی سلول‌ها باعث ایجاد آسیب در بافت‌های مختلف بدن می‌شود (Carocho et al., 2018). بدن انسان به‌طور مداوم در معرض تنش اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل میان سیستم‌های حفاظتی آنتی‌اکسیداتیو و تشکیل مواد اکسیدکننده قوی شامل رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Kancheva, 2009). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که مانع فعالیت رادیکال‌های آزاد شده و از حملات اکسیداتیو آنها جلوگیری می‌کنند و با غیرفعال کردن آنها سلول‌های بدن را از اثرات مخرب این ترکیبات مصون نگه می‌دارند (Lamina et al., 2013). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه عمده طبیعی و سنتزی طبقه‌بندی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مقادیر کم استفاده

آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقادیر ترکیبات فنلی در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید.

سنجش محتوای فلاونوئیدی کل: میزان کل فلاونوئیدها به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری خواهد شد. در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. به منظور رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد (Chang et al., 2002).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): غلظت مشخصی از عصاره پودر شده و ویتامین C در حلال متانول آماده گردید. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH با ۷۵۰ میکرولیتر از عصاره مخلوط شده و به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار می‌گیرند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده می‌شود (Shimada et al., 1992).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش FRAP: فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیا کنندگی آهن بر اساس روش Benzie و Strain (1999) انجام شد. طبق این روش به عصاره بدست آمده ۳ میلی‌لیتر معرف FRAP اضافه گردید. مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد خوانده شد. به منظور رسم منحنی استاندارد از $7H_2O.FeSO_4$

متفاوتی می‌باشد به نظر می‌رسد اثرات زیادی بر رشد گیاهان دارند و شرایط آب و هوایی می‌تواند میزان مواد موثره گیاهی را تحت تاثیر قرار دهد. لذا در این تحقیق میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل در سه منطقه زابل، ایرانشهر و کرمان بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره: این تحقیق در تابستان سال ۱۳۹۶ به منظور اندازه‌گیری میزان فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل (برگ، پوست میوه، گوشت میوه و دانه) از سه رویشگاه طبیعی این گیاه در بخش میانکنگی از توابع شهر زابل (ارتفاع از سطح دریا ۴۷۵ متر)، ایرانشهر (۵۹۱ متر) و سیستان استان کرمان (۱۷۴۱ متر) در ماه‌های خرداد تا مرداد صورت گرفت. قرار گرفت. پس از جمع‌آوری گیاه، اندام‌های مختلف آن در دمای اتاق خشک گردیده و جهت تهیه عصاره متانولی با آسیاب پودر شد. برای تهیه عصاره ۰/۲ گرم از پودر قسمت‌های مختلف گیاه آسیاب شده در ۱۰ میلی‌لیتر از حلال متانول ۷۰٪ قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت، بعد از ۲۴ ساعت عصاره به وسیله کاغذ واتمن صاف و تا زمان انجام آزمایش در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل: مقادیر ترکیبات فنلی در نمونه‌های عصاره گیاهی با اندکی تغییر توسط روش فولین سیکالتیو اندازه‌گیری گردید (McDonald et al., 2001). برطبق این روش، در لوله آزمایش به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۴۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط

معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

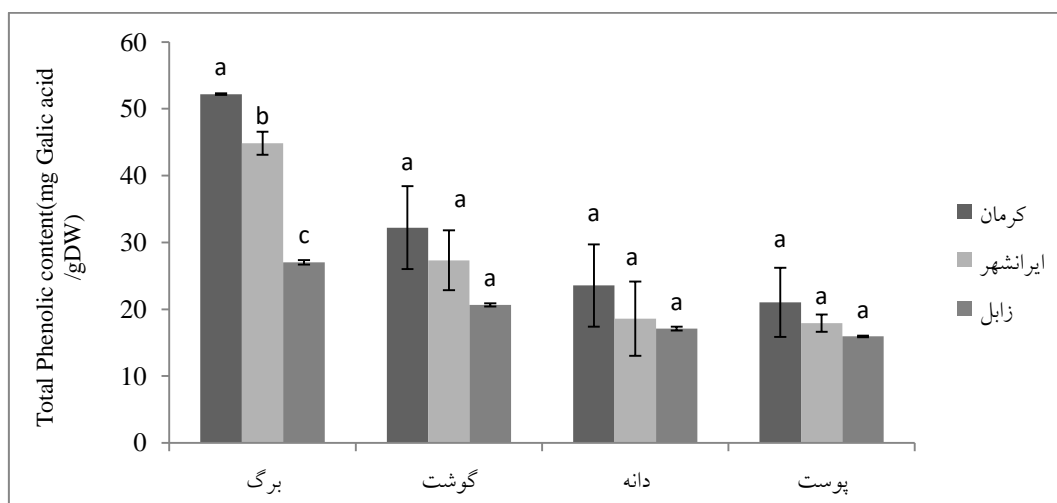
نتایج

سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل: شکل ۱ مقدار ترکیبات فنلی تام را بر حسب میلی گرم هم ارز گالیک اسید بر گرم نشان می‌دهد. مقدار ترکیبات فنلی در محدوده ۵۲/۱۹ - ۱۵/۹۳ میلی گرم گالیک اسید بر گرم است و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل مربوط به برگ‌های منطقه کرمان (۵۲/۱۹) میلی گرم اسید گالیک بر گرم) می‌باشد. میزان ترکیبات فنلی در عصاره اندام‌های گوشت، دانه و پوست میوه هندوانه ابوجهل سه شهر با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند.

استفاده شد. میزان جمع‌آوری رادیکال هیدروژن پراکسید: برای مشخص کردن قدرت جمع‌آوری رادیکال هیدروژن پراکسید ۰/۱ میلی لیتر عصاره با ۳/۴ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) و ۶۰۰ میکرولیتر از محلول ۴۳ میلی مولار هیدروژن پراکسید (تهیه شده در همان بافر) مخلوط شد. غلظت هیدروژن پراکسید توسط خواندن میزان جذب در ۲۳۰ نانومتر اندازه گیری شد (Ruch et al., 1989).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها با ۳ تکرار از حداقل ۳ نمونه مستقل انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ و آزمون توکی برای تعیین



شکل ۱: بررسی میزان فنل کل بخش‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از سه شهر کرمان، ایرانشهر و زابل (حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمالی ۵٪ اختلاف معنی داری با هم ندارند)

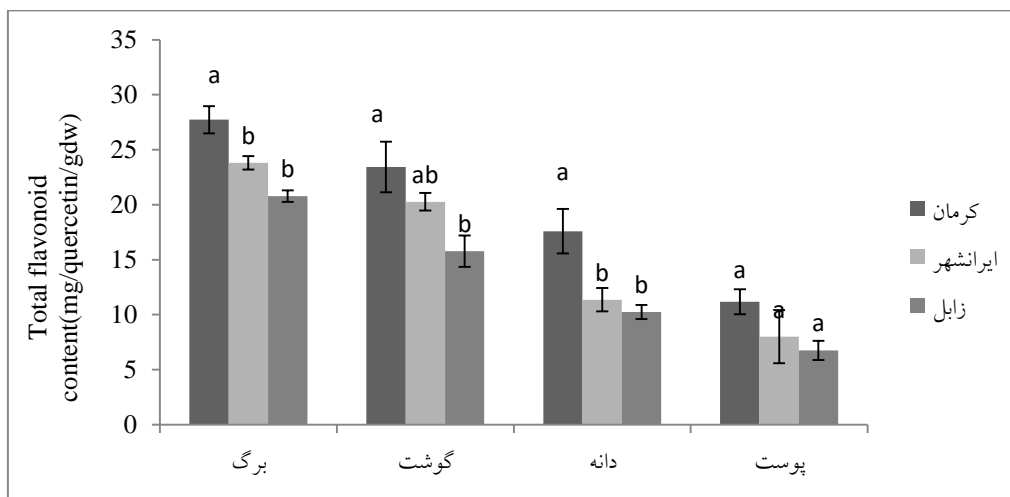
منطقه کرمان می‌باشد. به طور کلی کمترین میزان فلاونوئید استخراج شده در پوست میوه هندوانه ابوجهل مشاهده شد.

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH: نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هندوانه‌های ابوجهل جمع‌آوری شده از ۳ شهر

محتوای فلاونوئید کل: در شکل ۲ محتوای ترکیبات فلاونوئیدی استخراج شده از بخش‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از ۳ شهر مختلف ایران نشان داده شده است. مقدار ترکیبات فلاونوئیدی در محدوده ۲۷/۷۳-۶۷/۴ میلی گرم کوئرستین بر گرم است و بیشترین ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به برگ

ایران‌شهر است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره اندام‌های دانه و پوست میوه هندوانه ابوجهل با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته‌اند (جدول ۱).

کرمان، ایران‌شهر و زابل بررسی شده با استفاده از روش پتانسیل مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH. حاکی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشم‌گیر برگ کرمان و



شکل ۲: بررسی میزان فلاونوئید کل بخش‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از سه شهر کرمان، ایران‌شهر و زابل (حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمالی ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند).

جدول ۱: نتایج بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی اندام‌های مختلف هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از سه شهر کرمان، ایران‌شهر و زابل به روش DPPH

درصد مهار رادیکال DPPH	کرمان	ایران‌شهر	زابل
برگ	86.68 ± 2.47a	82.31 ± 4.95a	63.33 ± 4.34b
گوشت	80.25 ± 5.25a	76.02 ± 7.05a	58.54 ± 3.61b
دانه	59.50 ± 13.88a	49.05 ± 9.86a	49.41 ± 3.69a
پوست	51.38 ± 6.05a	49.28 ± 10.09a	45.55 ± 4.19a

تفاوت میان اعداد با حروف غیر مشابه در سطح $P \leq 0.05$ معنی‌دار است.

جدول ۲: نتایج بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی اندام‌های مختلف هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از سه شهر کرمان، ایران‌شهر و زابل به روش FRAP

فعالیت آنتی‌اکسیدانی FRAP (میلی مول Fe^{2+} /گرم گیاه خشک)	کرمان	ایران‌شهر	زابل
برگ	5.61 ± 0.19 a	3.24 ± 0.49 b	3.19 ± 1.14 b
گوشت	4.08 ± 0.53 a	3.80 ± 0.53 a	2.31 ± 0.14 b
دانه	2.37 ± 0.05 a	2.29 ± 0.28 c	1.99 ± 0.03 b
پوست	2.25 ± 0.31 a	2.10 ± 0.31 a	1.17 ± 0.03 b

تفاوت میان اعداد با حروف غیر مشابه در سطح $P \leq 0.05$ معنی‌دار است.

اکسیداسیون گروه‌های تیول (SH-) غیرفعال کنند همچنین می‌تواند به سرعت از غشاء سلول عبور کند وارد سلول شود. پراکسید هیدروژن احتمالاً با یون‌های به شکل رادیکال هیدروکسیل واکنش می‌دهد که ممکن است منشاء بسیاری از اثرات سمی آن باشد (Miller et al., 1993). با اندازه‌گیری درصد جمع‌آوری رادیکال هیدروژن پراکسید مشخص شد که میزان این فاکتور اندام‌های برگ، گوشت، دانه و پوست با هم تفاوت معنی‌داری ندارند (جدول ۳). برگ کرمان بالاترین درصد جمع‌آوری را به خود اختصاص داد در حالیکه کمترین درصد مربوط به پوست زابل بود. مطالعه حاضر نشان داد که برگ‌ها نسبت به سایر اندام‌ها بیشتر می‌توانند رادیکال پراکسید هیدروژن را جمع‌آوری کنند.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش FRAP. روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیا کنندگیه نمی‌سنجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد (Deepa et al., 2007). نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف با روش FRAP در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که عصاره برگ کرمان نسبت به عصاره‌های دیگر فعال‌تر بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داد. عصاره‌های گوشت نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی نسبت به عصاره‌های پوست و دانه داشت.

جمع‌آوری رادیکال هیدروژن پراکسید: پراکسید هیدروژن یک اکسنده ضعیفی است که می‌تواند برخی آنزیم‌ها را به‌طور مستقیم از طریق

جدول ۳: بررسی خاصیت جمع‌آوری رادیکال هیدروژن پراکسید عصاره متانولی اندام‌های مختلف هندوانه ابوجهل جمع‌آوری شده از سه شهر کرمان، ایرانشهر و زابل

درصد جمع‌آوری رادیکال	کرمان	ایرانشهر	زابل
H_2O_2			
برگ	۷۵/۸۷ ± ۴/۲ a	۷۳/۲۴ ± ۵/۱۷ a	۶۸/۵۸ ± ۲/۶۷ a
گوشت	۶۲/۷۶ ± ۶/۶۵ a	۵۵/۸۹ ± ۱/۸۲ a	۵۵/۱۷ ± ۳/۳۴ a
دانه	۵۰/۹۲ ± ۱۰/۲۵ a	۴۰/۵۰ ± ۳/۰۳ a	۳۶/۳۰ ± ۱/۵۲ a
پوست	۳۶/۷۸ ± ۱۱/۱۹ a	۳۴/۳۱ ± ۱/۸۲ a	۳۳/۳۷ ± ۱/۱۴ a

تفاوت میان اعداد با حروف غیر مشابه در سطح $P \leq 0/05$ معنی دار است.

عصاره برگ و میوه گیاه هندوانه ابوجهل دارای میزان بالای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشد (Kumar et al., 2008; Mohadjerani and Saljoghi, 2014). در تحقیق حاضر مشابه با تحقیقات دیگر، رابطه مثبت میان میزان ترکیبات فنولی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. حسین و همکاران (Hussain et al., 2013) گزارش کردند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه هندوانه ابوجهل در پاکستان با مقدار ترکیبات فنلی و

بحث
بررسی منابع داخل کشور نشان می‌دهد مطالعات محدودی در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه هندوانه ابوجهل در ایران انجام شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره متانولی برگ هندوانه ابوجهل نسبت به پوست میوه، گوشت میوه و دانه از بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل برخوردار است و همچنین عملکرد آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد. در تأیید یافته‌های این تحقیق، گزارش شده است که

میلی گرم گالیک اسید بر گرم) و فلاونوئید کل (۲۷/۳ میلی گرم کوئرستین بر گرم) در برگ هندوانه ابوجهل منطقه کرمان مشاهده شد که در مقایسه با میزان گزارش شده در تحقیقات دیگران بیشتر بود (Hussain et al., 2014). علت این تفاوت به دلیل عوامل مختلف از جمله شرایط اقلیمی محل رویش، وضعیت فنولوژیکی و زمان برداشت گیاه است که بر کمیت و کیفیت مواد موثره گیاه تاثیر می‌گذارد. گزارش‌های مختلفی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان گردیده است و همبستگی بالایی بین منشا جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره نشان داده شده است (Hemati et al., 2003). از عوامل تاثیرگذار بر متابولیت‌های ثانویه می‌توان به ارتفاع محل رویشگاه گیاه اشاره کرد. نتایج این بررسی نشان داد با افزایش ارتفاع، متابولیت‌های ثانویه نیز در گیاه افزایش پیدا می‌کند، به طوری که میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های گیاه هندوانه ابوجهل در رویشگاه کرمان (ارتفاع از سطح دریا ۱۷۴۱ متر) بیشتر از رویشگاه زابل (ارتفاع از سطح دریا ۴۷۵ متر) و ایرانشهر (ارتفاع از سطح دریا ۵۹۱ متر) بود. در همین راستا تحقیقات محققین دیگر درخصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف نشان داده است که افزایش ارتفاع باعث افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (Stankovic et al., 2011; Alirezalu et al., 2018; Khalasi et al., 2016).

به طور کلی محققین تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف را به تفاوت رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف مربوط می‌دانند که هر یک از آن‌ها می‌تواند تاثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشد. مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد موثره تاثیرگذار باشد

فلاونوئیدی کل رابطه مستقیم نشان داد، به طوری که بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره متانولی برگ مشاهده شد. حضور تانن‌ها، اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و کوئینون‌ها در عصاره‌های آبی و آلی هندوانه ابوجهل تایید شده است (Chekroun et al., 2015). اسیدهای فنولی از جمله گالیک اسید، کلروژنیک اسید، هیدروکسی بنزوئیک اسید، وانیلیک اسید، کافئیک اسید، کوماریک اسید و فرولیک اسید و فلاونوئیدهای کاتچین، میریستین، کوئرستین و کامپفرول در عصاره متانولی برگ و میوه هندوانه ابوجهل در پاکستان گزارش شده است (Hussain et al., 2013). به نظر می‌رسد خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای برگ هندوانه ابوجهل به دلیل حضور فلاونوئیدهای کاتچین، میریستین، کوئرستین و اسیدهای فنولی از جمله فرولیک اسید باشد (Ebrahimi and MohamadiSani, 2015; Hussain et al., 2013). میزان بالای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی گیاه هندوانه ابوجهل در مصر نیز گزارش شده است (Taghreed et al., 2010). اسیدهای فنولی شناسایی شده در آن شامل کلروژنیک اسید، گالیک اسید، کافئیک اسید و دیگر اسیدهای فنولی بود که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات گزارش شده است. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای هندوانه ابوجهل به دلیل حضور اسیدهای فنولی می‌باشد. گوپتا و همکاران (Gupta et al., 2018) ۷۰ ترکیب متنوع در قسمت‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل در منطقه راجاستان هندوستان شناسایی کردند که کلوسیتین عمده‌ترین ترکیب بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گوشت میوه هندوانه ابوجهل مشاهده شد که به دلیل میزان بالای کلوسیتین در گوشت میوه بود. در تحقیق حاضر، بیشترین میزان فنول (۵۲/۱۹)

فلاونوئید کل در عصاره متانولی برگ کرمان و ایرانشهر مشاهده شد. همچنین عصاره متانولی برگ کرمان بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد که جهت انجام مطالعات بیشتر به منظور مصارف دارویی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است (شماره گرنت: UOZ3GR39517318).

References

1. Amarowiz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A., 2004. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Journal of Food Chemistry*, 84: 551-562.
2. Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami Maleki H. and Ayyar, M. 2018. Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus* spp.) from different regions of Iran. *International Journal of Food Properties*, 1532-2386.
3. Badmus, J.A., Adedosu, T.O., Fatoki, J.O., Adegbite, V.A., Adaramoye, O.A. and Odunola, O.A. 2011. Lipid peroxidation inhibition and antiradical activities of some leaf fraction of *Mangifera indica*. *Journal of Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 68(1): 23-29.
4. Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299:15-27.
5. Carocho, M., Ferreira, I., Morales, P. and Soković, M. 2018. Antioxidants and prooxidants: Effects on health and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2: 25-32.

که این موضوع باید در تولید داروهای گیاهی مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس مطالعه اخیر گیاه هندوانه ابوجهل به واسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی است که میزان آن ترکیبات و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن، در سه رویشگاه و اندام‌های مختلف گیاه متفاوت بود. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان فنل و

6. 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.
7. Chekroun, E., Benariba, N., Adida, H., Bechiri, A., Azzi, R. and Djaziri, R. 2015. Antioxidant activity and phytochemical screening of two Cucurbitaceae: *Citrullus colocynthis* fruits and *Bryonia dioica* roots. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8): 632-637.
8. Davarynejad, G. 2012. Investigation of antioxidant capacity and some bioactive compounds of iranian pistachio (*Pistachio vera* L.) cultivars. *Notulae Scientia Biologicae*, 4(4): 62-66
9. Deepa, N., Kaura, C.h., Georgea, B., Singhb, B. and Kapoor, H.C. 2007. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes during maturity. *LWT Food Science and Technology*, 40: 121-129.
10. Ebrahimi, A. and MohamadiSani, A.M. 2015. Application of *Gundelia tournefortii* L. in yoghurt. *Journal of Applied Environmental and Biological Science*, 4(12): 266-272.
11. Gairola, S., Shariff, N., Bhate, A. and Prakash Kola, C. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants. *Journal of Medicinal Plant Research*, 1825-1829.

12. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, M., Nabavi, F., Ebrahimzadeh, A. and Pourmand, F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. *Medicinal plant*, 1138-1133.
13. Gupta, S.C., Tripathi, T., Paswan, S.K., Agarwal, A.G., Rao, C.V. and Sidhu O.P. 2018. Phytochemical investigation, antioxidant and wound healing activities of *Citrullus colocynthis* (bitter apple). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(8): 418-424.
14. Hemati, K.H., Omidbeigi, R. and Bashiri Sadr, Z. 2003. Effect of climate and harvest time on the qualitative and quantitative characteristics of flavonoids of citrus varieties. Ph.D thesis, Submitted to Modares University.
15. Hernández, Zarate1, M.S., Abraham Juárez1, M.D.R., Cerón García1, A., Ozuna López1, C. and Gutiérrez, A.G.F. 2018. Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of *Propolis* from various areas of Guanajuato, Mexico. *Food Sci. Technol., Campinas*, 38(2): 210-215.
16. Hussain, A.I., Ashfaq, A., Edward, J.J., Fiazud din, A., Hassaan, A.R., Munavvar, Z.A.S. and Shahzad, A.S.Ch. 2013. Phenolic profile and antioxidant activity of various extracts from *Citrullus colocynthis* L. from the Pakistani flora. *Industrial Crops and Products*, 42: 416-422.
17. Hussain, A.I., Hassaan A.R., Munavvar Z.A.S., Shahzad A.S.C., Satyajit D.S. and Anwar H.G. 2014. *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (bitter apple fruit): A review of its phytochemistry, pharmacology, traditional uses and nutritional potential. 155: 54-66.
18. Taghreed A.I., Hala, M.E. and Atef, A. 2010. Antioxidant potential and phenolic acid content of certain cucurbitaceous plants cultivated in Egypt. *Natural Product Research*, 24 (16): 1537-1545.
19. Jaakola, L. and Hohtola, A. 2010. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant cell and environmental*. 1239-1241.
20. Jamshidi, M., Ahmadi ashtiani, H.R., Rezazadeh, SH., Fathiazad, F., Mazandarani, M. and Khaki, A. 2010. Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some plant species native to the Mazandaran. *Journal of Botany*, 2(34): 1-3
21. Kancheva, V.D. 2009. Phenolic antioxidants- radical- scavenging and chain- breaking activity A comparative study. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111: 1072-1089.
22. Karaman, Ş., Tütem, E., Başkan, K.S. and Apak, R. 2010. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. *Food Chemistry*, 120(4): 1201-1209.
23. Kamali, M., Khosroyar, and Jalilvand, M.R. 2014. Evaluation of phenolic, flavonoids, anthocyanin Contents and antioxidant Capacities of different extracts of aerial parts of *Dracocephalum kotschyi*. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 6(3): 635.
24. Khalasi Ahwazi, L., Heshmati, Gh., Zofan, P. and Akbarlou, M. 2016. Total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of *Gundelia tournefortii* L. in different phenological stage and habitats of North East of Khozestan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal plant*, 4(1): 33-46.
25. Kumar, S., Kumar, D., Jusha, M., Saroha, K., Singh, N. and Vashishta, B. 2008. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. methanolic fruit extract. *Acta Pharmaceutica*, 58(2): 215-220.
26. Lamina, S., Ezema, C.I., Theresa, A.I. and Anthonia, E.U. 2013. Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxidant and Antioxidants Medical Science*, 2: 83-91.
27. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.
28. Miller, M.J., Sadowska-Krowicka, H., Chotinaruemol, S., Kakkis, J.L. and Clark, D.A. 1993. Amelioration of chronic ileitis by nitric oxide synthase inhibition. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 264(1):11-16.
29. Mohadjerani, M. and Saljoghi, S. 2014.

- Evaluation of antioxidant activity of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. extracts and their effect on urease activity. Journal of Ethno-Pharmaceutical products, 1(1):53.
30. Ogbonna, P.E. 2009. Yield Responses of Egusi Melon (*Colocynthis citrullus* L.) to rate of NPK 15:15:15 fertilizer. American-Eurasian. Journal of Sustainable Agriculture, 3(4): 764-770.
31. Ruch, R.J., Cheng, S.J. and Klainig, J.E. 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogen, 10: 1003-1008.
32. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on auto oxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agricultural and Food Chemistry, 40: 945-948.
33. Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. and Solujic, S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum*l. var. *montanum*, *F. supinum* (L.) Reichenb. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 25: 2222-2227.
34. Tannin-Spitz, T., Grossman, S., Dovrat, S., Gotlieb, H.E. and Bergman, M. 2007. Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolate from *Citrullus colocynthis* on human reast cancer cells. Biochemical Pharmacology, 73(1): 56-67.
35. Yang, F. and Miao, L.F. 2010. Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. Silva Fennica, 44(1): 23-27.
36. Zahrani, H.S. and Amer, K.H. 2006. A comparative study on *Citrullus colocynthis* plants grown in different altitudinal location in Saudi Arabia. American-Eurasian. Journal of Scientific Research, 1(1): 1-7.

Phytochemical and antioxidant analysis of different parts of *Citrullus colocynthis* L. in different regions from Southeast of Iran

Esmailzadeh Bahabadi, S.^{1*}, Yosefzaei, F.²

¹Associate Professor, Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran

²M.Sc., Dept. of Biology, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 2018-7-19 ; Accepted: 2019-1-8

Abstract

Citrullus colocynthis L. belonging to the cucurbitaceae family, is used to treat many diseases such as inflammation, rheumatism, and diabetes. The aim of this study was to evaluate the total phenol and flavonoids content of different parts (leaf, seed, fruit pulp and peel) of *C. colocynthis* in Kerman, Iranshahr and Zabol habitats. All plant samples were collected from these habitats during June in 2017. The total phenolic and flavonoid contents were determined by using spectrophotometry method. Antioxidant activity of extracts was determined by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP), and hydrogen peroxide (H₂O₂) radical scavenging assay. Based on the results, the most phenol content was observed in leaf extract of *C. colocynthis* in Kerman (52.19 mg/g DW) and Iranshahr (44.86 mg/g DW), respectively. Most of flavonoid content were in leaf of *C. colocynthis* in Kerman, in addition, it had the highest antioxidant activity (86percentage). The present study shows the potential of *C. colocynthis* leaf as a pharmaceutical agent and we hope this study encourage further studies to investigate its phytochemistry and pharmacology.

Keywords: Antioxidant, *Citrullus colocynthis* L., Flavonoid, Phenolic compounds, Southeast of Iran.

*Corresponding author; esmaeilzadeh@uoz.ac.ir