مقاله اصیل پژوهشی

اثرات آنتی‌اکسیدانی فنل و فلاونوئید تام پوست درختان افرا (*Acer velutinum*) و توسکا (*Alnus subcordata*)

صالحه نظری[1]، نورالدّین نظرنژاد[2]، محمدعلی ابراهیم‌زاده[3]

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان، منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی که از شیوع بیماری‌های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می‌کنند، از پوست درختان افرا (*Acer velutinum*) و توسکا (*Alnus subcordata*) نیز قابل استخراج هستند. هدف از انجام این مطالعه، استفاده از پوست درختان افرا و توسکا به عنوان منبع تأمین فنل مورد نیاز صنایع دارویی بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، عصاره‌های اتانولی پوست خشک‌شده درختان افرا (*Acer velutinum*) و توسکا (*Alnus subcordata*)، به روش سوکسوله استخراج شدند. ابتدا میزان فنل و فلاونوئید تام عصاره‌ها اندازه‌گیری شد و سپس برای ارزیابی خواصّ آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده، از سه روش دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (diphenyl-picrylhydrazyl)، قدرت احیاکنندگی و نیتریک‌اکساید استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید به‌ترتیب: در پوست درخت توسکا و سپس افرا بیشتر بوده است. بررسی DPPH نشان داد که غلظت مهار ۵۰٪ در عصاره اتانولی پوست درخت افرا و توسکا به‌ترتیب: دارای مقادیر ۱۷۸/۱۱ و ۷/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود؛ همچنین عصاره توسکا، قدرت احیاکنندگی بهتری نسبت به بلوط داشت. در آزمون به دام‌اندازی نیتریک‌اکساید، غلظت مهار ۵۰٪، در عصاره اتانولی افرا ۲/۱۱ و در عصاره توسکا ۳/۲۷ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: عصاره اتانولی درختان افرا و توسکا، در سه آزمون مورد مطالعه، فعّالیت آنتی‌اکسیدانی قابل قبولی را نشان دادند؛ بنابراین می‌توانند منابع مفیدی برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باشند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان؛ فنل؛ فلاونوئید؛ افرا؛ توسکا

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۳؛ ۲۱ (۱): ۷۷-۸۵.

دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۰۶

[1] نویسنده مسؤول؛ دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع خمیر و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.
آدرس: ساری- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری- دانشکده منابع طبیعی
تلفن: ۰۹۱۱۹۴۴۲۶۰۶ پست الکترونیکی: salehenazari@yahoo.com

[2] استادیار، گروه صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

[3] دانشیار، گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مازندران، ایران.

مقدمه

پوست، پوشش بیرونی یا استوانه بیرونی ساقه‌ها و شاخه‌هاست که از چوب، متمایز و به‌راحتی جدا می‌شود. پوست، بسته به نوع گونه و شرایط رشد، در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد ساقه درختان را تشکیل می‌دهد که این نسبت برای شاخه‌ها و قسمت‌های بالایی درخت بیشتر و حدود ۲۰ تا ۳۵ درصد است. طی عمل‌آوری چوب در صنایع مختلف از جمله: برای تولید خمیرکاغذ و کاغذ، تخته لایه و تخته فیبر با دانسیته متوسط[1]، پوست از چوب جدا می‌شود که مقادیر زیادی از آن به عنوان ضایعات باقی می‌ماند و قسمت عمده آن برای تولید انرژی سوزانده می‌شود. پوست، از لحاظ ترکیب شیمیایی، به‌دلیل وجود پلی‌فنل‌ها و سوبرین‌ها، درصد کمتر پلی‌ساکاریدها و درصد بیشتر مواد معدنی و مواد استخراجی، با چوب متفاوت است (۱). پوست، دارای مقادیر زیادی موادّ انحلال‌پذیر از قبیل ترکیبات فنلی است که به دو دسته چربی‌دوست و آب‌دوست تقسیم می‌شود. جزء آب‌دوست، با آب یا حلّال‌های آلی قطبی، قابل استخراج است و دارای مقدار زیادی ترکیبات فنلی است. موادّ استخراجی، اجزای غیر ساختمانی و برون‌سلولی چوب به شمار می‌آیند. چوب درون و پوست، دارای مقادیر زیادی از انواع مواد استخراجی آروماتیکی می‌باشد که بیشتر آنها ترکیبات فنلی است. مهمترین ترکیبات فنلی شامل: فلاونوئیدها و تانن‌های متراکم است. فلاونوئیدها، اسکلت کربنی سه‌حلقه‌ای دارند و تانن‌های هیدرولیزشدنی بر اثر هیدرولیز، به اسیدگالیک و اسید الاژیک تبدیل می‌شوند. (۲). فنیل‌پروپانوئیدها یا ترکیبات فنلی، دسته‌ای از ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند که اثرات درمانی و حفاظتی بسیاری به آنها نسبت داده شده است و از جمله آنتی‌اکسیدان‌های شناخته‌شده می‌باشند (۳). امروزه موضوع رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و اثرات آن بر سیستم‌های بیولوژیک، یکی از مباحث مهم و مطرح دانش پزشکی می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها که موادّی فعال و برای سلامتی انسان مضر می‌باشند، از عوامل اصلی خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد هستند که از آسیب اکسیداتیو به مولکول هدف جلوگیری می‌کنند و یا آن را به تأخیر می‌اندازند؛ بنابراین تأمین ذخایر آنتی‌اکسیدانی از منابع طبیعی، به‌منظور کاهش آثار آسیب اکسیداتیو، امری مهم تلقی می‌شود (۴). هیدروکسیل‌های پلی‌فنل‌ها، بسیار فعال هستند؛ به‌طوری‌که در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، با دادن یک اتم هیدروژن یا الکترون و با شلات‌کردن برخی فلزات، اثرات آنتی‌اکسیدانتی خود را اعمال می‌کنند (۵). ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی، عمدتاً ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش‌کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. آنتی‌اکسیدان‌ها، به دو دسته عمده سنتزی و طبیعی تقسیم می‌شوند. امروزه در صنعت، از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند: بوتیلات‌هیدروکسی‌تولوئن[2]، بوتیلات‌هیدروکسی‌آنیزول[3] و ترت‌بوتیل‌هیدروکینون[4]، برای به‌تأخیرانداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود (۶)، اما اثرات سمّی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از یک‌طرف و مقبولیّت موادّ افزودنی طبیعی از جانب دیگر، تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بیشتر نموده است. این آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات پلی‌فنلی هستند که در تمام گیاهان و تمام قسمت‌های آنها از قبیل: پوست، برگ، ساقه، میوه، ریشه، بذر و غیره یافت می‌شوند (۷)؛ از این‌رو، امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه، برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، این مواد را از گیاهان و پوست درختان استخراج می‌کنند که عوارض کمتر و اثربخشی بیشتری دارند (۸).

پوست درخت توسکا، به‌علّت داشتن تانن، اثر قابض دارد و به‌صورت غرغره، برای رفع درد گلو استفاده می‌شود و اثر مقوّی و تب‌بر دارد (۹). از خواص درمانی گونه افرا می‌توان به

[1] *MDF (Medium Density Fibreboard)*

[2] *BHT(Butylated hydroxytoluene)*

[3] *BHA(Butylated hydroxylanisole)*

[4] *TBHQ(Tert-butylhyhydroquinone)*

رفع دردهای ضرب‌خوردگی، پیچیدگی و دررفتگی دست و پا، برطرف‌کردن اختلالات مجاری ادرار، رفع سرفه و ناراحتی‌های عصبی اشاره کرد (۱۰).

Munir و همکاران (۲۰۱۲)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانول- آب استخراج‌شده از برگ‌ها، میوه و پوست ساقه سنجد تلخ[1] را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که عصاره تهیه‌شده از پوست ساقه، فعّالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارد (۱۱). Maimoona و همکاران (۲۰۱۱)، مقادیر فنل و فلاونوئید تام را در بخش‌های مختلف عصاره‌های پوست و سوزن کاج‌های روکسبورچی[2] و کاج‌های والیچیانا[3] برآورد کردند و به این نتیجه دست یافتند که هر دو گونه کاج، سرشار از فنل و فلاونوئید هستند (۱۲). Fazli و همکاران (۲۰۱۲)، درصد کلّی مواد استخراجی پوست درختان راش، ممرز، صنوبر و بلوط را با حلال استن به‌ترتیب: ۱۶/۵، ۱۷/۲، ۱۵/۹ و ۲۵/۷ درصد برآورد نموده‌اند و نتیجه گرفتند که بیشترین میزان محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی به‌ترتیب: مربوط به گونه‌های ممرز (۲۲۴/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره) و بلوط (۱۱/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره) بود. بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را برای گونه صنوبر (۰/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره) به‌دست آوردند (۱۳).

با توجه به اینکه ضایعات پوستی درختان، اصولاً دورریز می‌شوند و یا برای تولید انرژی سوزانده می‌شوند، هدف از انجام این مطالعه، استخراج ترکیبات فنلی از ضایعات پوست درختان افرا و توسکا و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی آنها بود تا امکان استفاده از پوست این درختان برای تولید دارو فراهم شود.

روش تحقیق

نمونه‌های پوست درختان افرا (*Acer velutinum*) و توسکا (*Alnus subcordata*)، از کارخانه‌های صنایع چوب گیلان تهیه شد. نمونه‌ها، پس از انتقال به آزمایشگاه، در هوای آزاد خشک شدند؛ سپس بدون جداکردن پوست درونی و بیرونی، با آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل شدند. عصاره‌گیری با استفاده از اتانول و با روش سوکسوله انجام شد. حلّال آنها در خلاء، تبخیر و با فریزدرایر خشک شد.

اندازه‌گیری محتوای تام فنل و فلاونوئیدها

مقادیر فنل تام، از طریق روش فولین‌سیو-کالتیو اندازه‌گیری شد (۱۴)؛ سپس مقادیر فنل تام عصاره، با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره محاسبه گردید.

محتوای فلاونوئید هر عصاره، از طریق روش‌های رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۱۵)؛ سپس فلاونوئید تام، با استفاده از منحنی استاندارد، بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی

به‌منظور ارزیابی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، سه روش به دام‌اندازی رادیکال دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل، قدرت احیاکنندگی و به دام‌اندازی نیتریک‌اکساید استفاده شد. دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل و کوئرستین از شرکت فلوکا، معرّف فولین‌سیوکالتیو، ویتامین ث، فریک‌کلراید و کربنات سدیم از شرکت مرک و پتاسیم‌فری‌سیانید، تری‌کلرواستیک‌اسید و اسیدگالیک از شرکت سیگما تهیه شد.

۱- اندازه‌گیری توانایی به دام‌اندازی رادیکال دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل:

رادیکال پایدار DPPH، برای تعیین فعّالیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد به‌کار رفت (۱۶). بوتیلات‌هیدروکسی‌آنیزول، به‌عنوان استاندارد استفاده شد. در این آزمایش، غلظت‌های مختلف بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر برای عصاره‌های اتانولی تهیه شد.

۲- تعیین اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی:

میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها، از طریق روش ین و

[1] *Melia azedarach*
[2] *Pinus roxburghii*
[3] *Pinus wallichiana*

چن (۱۹۹۵) ارزیابی شد که در آن، آهن ۳ظرفیتی به ۲ظرفیتی تبدیل می‌شود (۱۷). در این آزمایش، آسکوربیک‌اسید با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد.

۳- اندازه‌گیری به دام‌اندازی نیتریک‌اکساید:

سدیم‌نیتروپروساید (۱۰ میلی‌مولار)، در بافر سالین‌فسفات با غلظت‌های مختلف حل‌شده در آب مجاور شد. مجموعه، به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد؛ سپس ۰/۵ میلی‌لیتر واکنشگر گریس (شامل: سولفات‌آمید ۱٪، نفتیل‌اتیلن دی‌آمین دی‌هیدروکلرید ۰/۱٪) در اسیدفسفریک ۲٪ اضافه شد. جذب مخلوط در ۵۴۸ نانومتر در مقابل بلانک (متانول) قرائت شد. کوئرستین، به‌عنوان استاندارد برای مقایسه به‌کار گرفته شد.

آنالیز آماری

کلّیه اندازه‌گیری‌ها، سه بار تکرار شدند و و میانگین آنها به‌همراه انحراف‌معیارشان گزارش شد. داده‌ها، با استفاده از آزمون استیودنت تی‌تست تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵، معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقادیر غلظت مهاری ۵۰٪ از آنالیز رگرسیون خطی محاسبه شد. نمودارها در نرم‌افزار Excel رسم شد و معادله خط آنها به‌دست آمد.

یافته‌ها

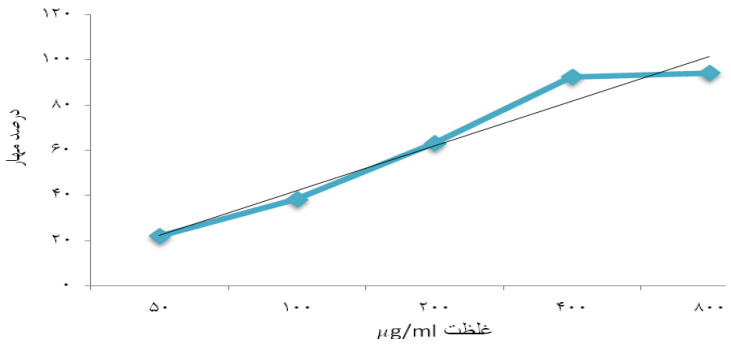
با توجه به روش فولین‌سیو-کالتیو، معادله خط منحنی استاندارد اسیدگالیک به‌صورت Y=۰/۴۸۵X-۰/۵۵۸ با ضریب تعیین ۰/۸۷۰ به‌دست آمد. معادله خط استاندارد کوئرسیتین به‌صورت Y=۰/۳۵۸X-۰/۴۶۴ با ضریب تعیین ۰/۸۶۸ به‌دست آمد. جدول یک، محتوای تام فنلی براساس میکروگرم اسیدگالیک و محتوای تام فلانوئیدی بر اساس میکروگرم کوئرسیتین در هر گرم عصاره به‌دست‌آمده از گونه‌های افرا و توسکا را نشان می‌دهد.

فعالیت به دام‌اندازی رادیکال دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل:

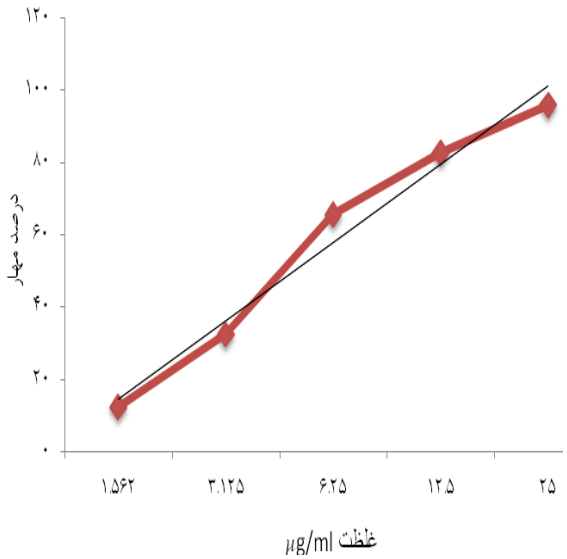
غلظت مهار ۵۰٪ در عصاره اتانولی افرا و توسکا به‌ترتیب: ۱۷۸/۱۱ و ۷/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بین دو مقدار وجود داشت (P<۰/۰۰۱). نتایج نشان می‌دهد که فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH در عصاره درخت توسکا بیشتر از عصاره درخت افرا است (نمودار ۱ و ۲).

جدول ۱- میزان فنل و فلاونوئید تام در عصاره اتانولی پوست افرا و توسکا

آزمایشات	افرا	توسکا
فنل تام (میکروگرم در گرم عصاره)	۳/۴±۰/۲۹	۸/۵±۰/۷۵***
فلاونوئید تام (میکروگرم در گرم عصاره)	۱/۹±۰/۱۴	۱/۸±۰/۱۲



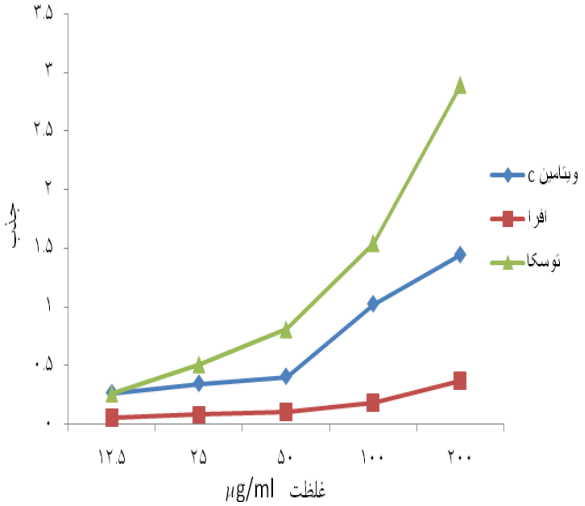
نمودار ۱- میزان به دام‌اندازی رادیکال DPPH توسط عصاره اتانولی درخت افرا در غلظت‌های متفاوت



نمودار ۲- میزان به دام‌اندازی رادیکال DPPH توسط عصاره اتانولی درخت توسکا در غلظت‌های متفاوت

قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها

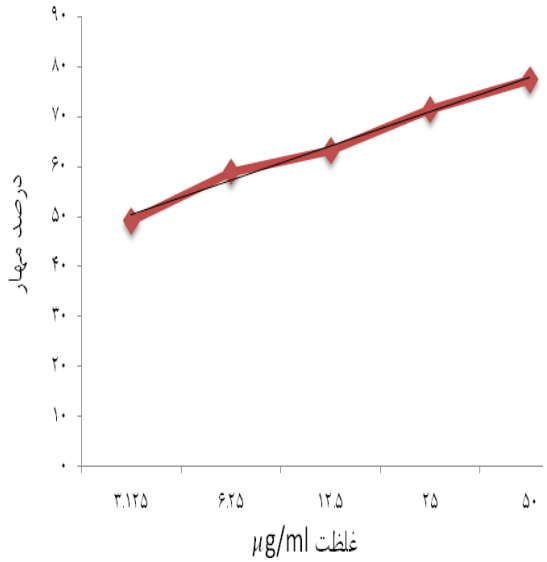
در روش قدرت احیاکنندگی، ارتباط مستقیمی بین جذب نور و قدرت احیاکنندگی وجود دارد. در این روش، ترکیبات آنتی‌اکسیدان با پتاسیم فری‌سیانید، تری‌کلرو استیک‌اسید و فریک‌کلراید، ترکیب شده و کمپلکس آبی‌رنگی ایجاد می‌نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر، قابل اندازه‌گیری است. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش، بیانگر قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد (۱۸). نمودار ۳، منحنی غلظت و میزان جذب را در عصاره اتانولی دو گونه نشان می‌دهد. این شکل حاکی از آن است که قدرت احیاکنندگی تمام عصاره‌ها با افزایش غلظت زیاد می‌شود. از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بین جذب عصاره توسکا و ویتامین ث وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$) که نشان‌دهنده این است که عصاره توسکا در مقادیر یکسان، دارای قدرت احیاکنندگی بیشتری نسبت به ویتامین ث می‌باشد، اما قدرت احیاکنندگی عصاره افرا به مراتب کمتر از ویتامین ث بوده و از نظر آماری با آن قابل مقایسه نبود. ویتامین ث در مقادیر یکسان، قدرت احیاکنندگی قوی‌تری از خود نشان داد ($P<۰/۰۰۱$).



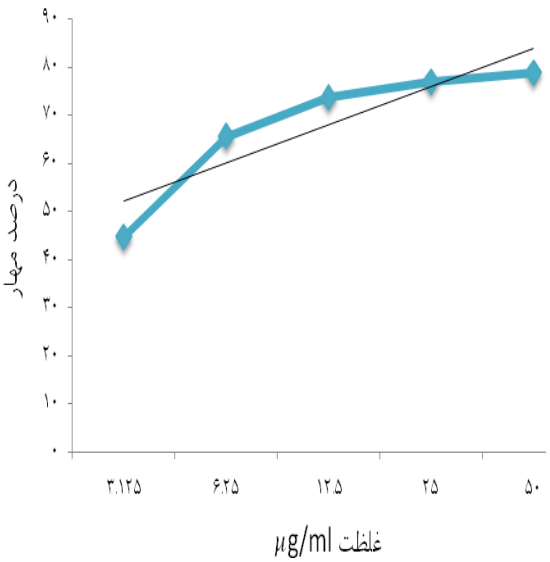
نمودار ۳- مقایسه میزان جذب یا قدرت احیاکنندگی عصاره‌های اتانولی افرا و توسکا با استاندارد ویتامین C

ارزیابی به دام‌اندازی رادیکال نیتریک‌اکساید

غلظت مهار ۵۰٪ در عصاره اتانولی افرا ۲/۱۱ و توسکا ۳/۲۷ میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بین این دو مقدار وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$). با توجه به نتایج، فعالیت به دام‌اندازی رادیکال نیتریک‌اکساید در عصاره افرا بیشتر از توسکا است (نمودار ۴ و ۵).



نمودار ٤- میزان جذب نیتریک‌اکساید توسط عصاره اتانولی افرا در غلظت‌های متفاوت



نمودار ۵- میزان جذب نیتریک‌اکساید توسط عصاره اتانولی توسکا در غلظت‌های متفاوت

بحث

ترکیبات فنلیک، گروه مهمی از ترکیبات گیاهی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که در پاسخ به استرس‌های محیطی ایجاد می‌شوند. این ترکیبات، به‌دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را داشته و می‌توانند به‌عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن عمل نمایند (۱۹). با افزایش ترکیبات فنل تام، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد، توانایی زیادی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارند و این توانایی، بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابه‌جاشونده هیدروکسیل دارد (۲۰).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، عصاره اتانولی توسکا، دارای مقادیر بالاتری از فنل تام بود. بین میزان فنل تام توسکا و افرا از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۰۱). اگرچه عصاره اتانولی افرا، دارای مقادیر بیشتری از فلاونوئید تام بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این درختان، مربوط به ترکیبات فنلی موجود در آنها می‌باشد.

آزمون DPPH، بر مبنای اندازه‌گیری توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در بدام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH می‌باشد. رادیکال DPPH، یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاشدن و تولید مولکول پایدار DPPH-H، از ارغوانی به زرد، تغییر رنگ می‌دهد. با توجه به درصد مهار به‌دست‌آمده، مشخص شد که عصاره اتانولی توسکا، فعالیت بیشتری از عصاره پوست افرا از خود نشان می‌دهد. نتایج آزمون DPPH نشان داد که توانایی عصاره‌های گونه‌های افرا و توسکا در مهار رادیکال‌های آزاد، وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، فعالیت ضدّ رادیکالی آنها افزایش می‌یابد؛ به عبارت دیگر، در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن، قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. Gao و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پوست درخت سدر دریافتند که در آزمون DPPH، غلظت مهار ۵۰٪ برای درون‌چوب، برون‌چوب، پوست درونی و بیرونی به‌ترتیب برابر: ۶۴/۷۷، ۲۹/۰۳، ۱۰/۳۱ و ۱۹/۸۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد و همچنین نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، متناسب با مقدار ترکیبات فنلیک می‌باشد (۲۱).

در روش قدرت احیاکنندگی، جذب نوری نمونه‌ها، رابطه مستقیمی با قدرت احیاکنندگی دارد؛ یعنی، جذب نوری بیشتر، بیانگر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. همان‌طورکه در بخش نتایج آورده شده است، میزان جذب نمونه توسکا در غلظت‌های بالای ۱۲/۵میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیشتر از نمونه استاندارد و گونه افرا بود و دو گونه مورد مطالعه، مانند نمونه استاندارد، در مقادیر غلظت بالا بیشترین میزان جذب را داشته‌اند. میرزایی و همکاران (۱۳۸۹)، برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان بومادران، درمنه و بابونه، از روش قدرت احیاکنندگی استفاده کردند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که

قدرت احیاکنندگی، از بیشترین به کمترین مقدار، مربوط به درمنه، بابونه و بومادران بود. محدوده فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها از ۵۰۷ تا ۹۱۵ میکرومول آهن‌فروس در میلی‌گرم عصاره بود که این فعالیت با افزایش غلظت عصاره، رابطه مستقیم داشت (۲۲).

نیتریک‌اکساید، رادیکال فعّالی است که به‌دام‌اندازنده‌های نیتریک‌اکساید با اکسیژن رقابت کرده؛ تولید نیتریت را کاهش می‌دهند. به‌دام‌اندازی نیتریک‌اکساید، می‌تواند به عنوان مکانیسمی برای بروز اثرات ضدّ التهابی یا ضدّ تشنجی در نظر گرفته شود (۲۳). گیاهانی که توانایی جلوگیری از تشکیل نیتریک‌اکساید را دارند، به نوبه خود می‌توانند برای جلوگیری از بیماری‌هایی که در آنها نیتریک‌اکساید، بیش از حالات معمولی تولید می‌شود، مورد توجه واقع شوند. تولید مقادیر بالای نیتریک‌اکساید، به‌طور موضعی در آسیب بافتی در بیماری‌های روماتیک (مفاصل، کلیه، رگ‌های خونی و سیستم اعصاب مرکزی) شرکت می‌کند (۲۴)؛ بنابراین گیاه یا گیاهانی که بتوانند با تشکیل نیتریک‌اکساید مقابله کنند، به‌عنوان یک جایگاه در مهار بیماری‌ها، می‌توانند مورد توجه قرار گیرند. بر پایه درصد مهار به‌دست‌آمده، مشخص شد که عصاره اتانولی پوست افرا، فعالیت بیشتری از عصاره پوست توسکا از خود نشان می‌دهد. نتایج آزمون نیتریک‌اکساید نشان داد که توانایی عصاره‌های گونه‌های افرا و توسکا در مهار رادیکال‌های آزاد، وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، فعالیت آنها افزایش می‌یابد. Kiranmai و همکاران (۲۰۱۱)، در مطالعه‌ای به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (به‌دام‌اندازی نیتریک‌اکساید) عصاره اتانولی پوست ریشه درخت افرا نتیجه گرفتند که غلظت مهار ۵۰٪ عصاره ریشه، معادل با ۲۷/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر است؛ در حالی‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی استاندارد کوئرستین، معادل ۰/۵۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (۲۵).

نتیجه‌گیری

عصاره‌های اتانولی افرا و توسکا، دارای ترکیبات فنلی متفاوتی می‌باشند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در سه آزمون انجام‌گرفته، تأیید شد.

منابع:

1- Sjöström E. Wood chemistry: Fundamentals and Applications. Translated by: Mirshokraei SA. 2nd ed. Tehran: Iran University Press; 2007. pp: 81-5.

2- Lila MA. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. J Biomed Biotechnol. 2004; 2004(5): 306-13.

3- Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rosen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard(Beta vulgaris subspecies cycla) extracts. Food Chem. 2004; 85(1): 19-26.

4- Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M. Study of Antioxidant Functional of the Water, Methanol, and Ethanol Extracts of Endemic Cuminum cyminum L. and Cardaria draba L. in the In-vitro Systems. Gonabad University of Medical Sciences. 2010; 16(2): 37-44. [Persian]

5- Pedrielli P, Pedulli GF, Skibsted LH. Antioxidant mechanism of flavonoids. Solvent effect on rate constant for chain-breaking reaction of quercetin and epicatechin in autoxidation of methyl linoleate. J Agric Food Chem. 2001; 49(6): 3034-40.

6- Ghaderi Ghahfarokhi M, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M, Azizi MH. Determmination of Antiradical Activity, Reducing Power and Total Antioxidant Activity of Phenolic Extracts of Acorn Fruit (Q.branti ver persica). Journal of Food Research (Agricultural Scienc). 2011; 21(1): 93-104. [Persian]

7- Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of ginger extract (Zingiber Officinale). Food Chem. 2007; 102(3): 764-70.

764-70.

8- Rice-Evans C. Flavonoida and isoflavones: absorption, metabolism and bioactivity. Free Redic Biol Med. 2004; 36(7): 827-8.

9- Torkaman J, Seyam S. Measurement of tannin in treebarks of oak, beech, alder, horn beam and black walnut. Journal of Medicinal Plants. 2009; 8(29): 58-63. [Persian]

10- Kianmehr H. Recognition of Medical Herbs. 2nd ed. Tehran: Aeeizh press; 2008. P: 6.

11- Munir A, Sultana B, Babar T, Bashir A, Amjad M, ul Hassan Q. Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Fruit and Stem Bark of Dhraik (Melia azedarach). European Journal of Applied Sciences (EJAS). 2012; 4(2): 47-51.

12- Maimoona A, Naeem I, Saddiqe Z, Ali N, Ahmed G, Shah I. Analysis of total flavonoids and phenolics in different fractions of bark and needle extracts of Pinus roxburghii and Pinus wallichiana. J Med Plants Res. 2011; 5(13): 2724-8.

13- Fazli R, Nazarnezhad N, Ebrahimzadeh MA, Zabihzadeh MS. Extraction and determination of total phenols and flavonoids from the bark of beech, hornbeam, poplar and oak and quantification of phenolic compounds with HPLC [dissertation]. [Sari]: Sari Agricultural Science and Natural Resources University; 2012. 125p.

14- Ordonez AAL, Gomez JD, Vattuone MA. Antioxidant activities of sechium edule swartz extracts. Food Chem. 2006; 97(3): 452-8.

15- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. Vitamin C equivalent anti oxidant capacity(VCEAC) of phenolic phytochemicals. J Agric food chem. 2002; 50(13): 3713-7.

16- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J Agric Food Chem. 1992; 40(6): 945-8.

17- Yen GC, Chen HY. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J Agri Food Chem. 1995; 43(1): 27-32.

18- Jayaprakash GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed extracts on per oxidation models invitro. J Agric Food Chem. 2001; 55: 1018-22.

19- Fukumoto LR, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. J Agric Food Chem. 2000; 48(8): 3597-604.

20- Lagouri V, Boskou D. Nutrient antioxidants in origano. Int J Food Sci Nutr. 1996; 47(6): 493-7.

21- Gao H, Shupe TF,. Eberhardt TL, Hse CY. Antioxidant activity of extracts from the wood and bark of Port Orford Cedar. J Wood Sci. 2007; 53(2): 147-52.

22- Mirzaei A, Akbartabar M, Sadeghi H, Sharifi B. The Antioxidant Activities and Total Phenolic of Artemisia Martima, Achillea Millefolium and Matricaria Recutica. J Armaghane-danesh. 2010; 15(3): 243-52. [Persian]

23- Hosseinzadeh H, Karimi GR, Rakhshanizadeh M. Anticonvulsant effect of Hypericum perforatum: role of nitric oxide. J Ethnopharmacol. 2005; 98(1-2): 207-8.

24- Manna I, Liguori M, Valentino P, Condino F, La Russa A, Clodomiro A, et al. Preliminary evidences of a NOS2A protective effect from relapsing- remitting multiple sclerosis. J Neurol Sci. 2008; 264(1-2): 112-7.

25- Kiranmai C, Mahender K, Ibrahim MD. Free radical scavenging activity of Neem tree root bark extract. Academic Sci. 2011; 4(4): 173-180.

Abstract *Original Article*

Total phenolic and flavonoid effects of Acer velutinum and Alnus subcordata barks; and evaluation of these chemicals' antioxidant qualities

Salehe Nazari[1], Nooredin Nazarnezhad[2], Mohamadali Ebrahimzadeh[3]

Background and Aim: Plants are rich sources of phenolic compounds, as natural antioxidants. Antioxidant compounds that prevent the prevalence of chronic diseases and contamination of many food stuffs are extractable from the barks of Acer velutinum and Alnus subcordata trees. The present study aimed at applying the barks of the trees, as a source of phenol, in pharmaceutical industry.

Materials and Methods: First of all, ethanol extracts of the dried barks of Acer velutinum and Alnus subcordata trees were derived using soxhle method. Then, the amount of total phenol and flavonoids extract was measured. Finally, to evaluate antioxidant properties of the extracts the three methods diphenyl picryl hydrazyl, regenerative power produced, and nitric oxide were applied.

Results: It was found that phenol and flavonoid content was more in the barks of Acer and Alnus, respectively. DPPH review showed that 50% inhibitory concentration of ethanol extract of the barks of Acer and Alnus was178.11 and 7.23 micrograms per milliliter, respectively. The reducing power of Alnus extract was stronger than that of Acer. According to Nitric oxide trap test, ethanol extract 50% inhibitory concentration .was calculated 2.11 and 3.27 micrograms per milliliter in Acer extract and in Alnus, respectively.

Conclusion: Ethanol extract of Acer and Alnus, according to the three tests, revealed a decisive antioxidant activity. Thus, they can act as useful .sources of natural antioxidants.

Key Words: Antioxidant; Phenol; Flavonoid; Acer velutinum; Alnus subcordata

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 21 (1): 77-85.

Received: May 11, 2013 Accepted: September 28, 2013

[1] Corresponding author, postgraduate student of Industrial wood and paper, Faculty of Natural Resource, University of Agriculthral Sciences and Natural Resource, Sari, Iran salehenazari@yahoo.com
[2]Asistant Professor in Industrial wood and paper, Faculty of Natural Resource, University of Agriculthral Sciences and Natural Resource, Sari, Iran;
[3] Associate Professor in Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmrcy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.