مطالعه دو گونه افوربیا غرب ایران از نقطه نظر توانمندی آنتی‌اکسیدانی

محمد صانعی*[۱]، عظیم قاسم نژاد[۲]، علیرضا صادقی ماهونک[۲]، سید محمد معصومی[۳]، خلیل قربانی[۲]

*[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد تولیدات گیاهان دارویی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

[۲] عضو هیئت علمی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

[۳] عضو هیئت علمی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

*نویسنده مسئول: mohammadsanei0@gmail.com

چکیده

اهمیت گیاهان دارویی و داروهای گیاهی بر کسی پوشیده نیست. امروزه با توجه به رژیم غذایی نامناسب و استفاده‌ی بیش از حد از ترکیبات سنتزی و شیمیایی در صنایع غذایی بیماری‌های قلبی_عروقی و سرطان‌ها به شدت در حال گسترش است، به همین منظور امروزه یافتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی طبیعی در جهت حفظ سلامت جامعه و همچنین روی آوردن افراد به منابع دارویی و در راس آن گیاهان دارویی شاخص از نقطه نظر توانمندی آنتی اکسیدانی رو به افزایش است. گیاه *Euphorbia helioscopia* و *Euphorbia myrsinites* از خانواده Euphorbiaceae از قدیم به عنوان منابع دارویی به صورت سنتی مورد استفاده قرار گرفته است. در این تحقیق به بررسی تاثیر پارمترهای محیطی (ارتفاع از سطح دریا، pH و EC خاک) و اختلافات بین گونه‌ای بر میزان تجمع ترکیبات فلاونوئیدی و توانمندی آنتی‌اکسیدانی به دو روش TAOC و FRAP پرداخته شد. نتایج نشان داد که گیاه *Euphorbia helioscopia* در رویشگاهی با ارتفاع کمتر، مقدار EC و pH کمتر و همچنین جنوبی بودن جهت شیب در این رویشگاه توانمندی آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی بالاتری نسبت به گیاه *Euphorbia myrsinites* داشت. به نظر می‌رسد پارامترهای محیطی و تفاوت کموتایپی و بین گونه‌ای نقش کلیدی و موثری در مقدار و نوع ترکیبات ثانویه و در راس آن‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولیک دارد.

کلمات کلیدی: افوربیا، Euphorbia، آنتی‌اکسیدان، FRAP، TAOC، پارامترمحیطی

مقدمه

گیاهان دارویی به گروهی از گیاهان گفته می‌شوند که اندام‌های آن‌ها دارای ترکیباتی با اثربخشی دارویی است و به‌واسطه‌ی اثرات درمانی برای انسان و دام در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Omidbaigi, 2005). اغلب گیاهان به ویژه گیاهان دارویی حتی اگر از نظر گیاهشناسی یکسان باشند، ممکن است که از نظر فیتوشیمیایی متفاوت بوده که در اصطلاح به آن‌ها کموتایپ یا "تیپ شیمیایی" اطلاق می‌شود. ویژگی‌های محل رویش و موقعیت جغرافیایی گیاه در طبیعت از مهترین عوامل موثر بر میزان اسانس و مواد موثره گیاهان می‌باشد. گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه و ترکیبات شیمیایی گیاهان وجود دارد که همبستگی بالایی بین منشاء جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره را نشان می‌دهد (Mohammadnejad Ganji *et al*., 2014). ساخت ترکیبات دارویی در گیاهان اساسا تحت تاثیر فرایند ژنتیکی است، اما شرایط محیطی تاثیر بسزایی در رشد گیاهان دارویی و نیز مقدار کیفیت مواد موثره آن‌ها از جمله گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، روغن‌های فرار و استروئیدها دارد (Maghsoudi *et al*., 2018). فلور منطقه حاصل واکنش‌های جامعه زیستی در مقابل شرایط محیطی کنونی و در ارتباط با تکامل گیاهان در زمان‌های گذشته و وضع جغرافیایی آن در دوران‌ها می‌باشد. هر گونه‌ی گیاهی از ویژگی زیستی خاصی برخوردار است که با توجه به سازگاری آن به شرایط محیطی مورد نیازش به وجود آمده است. تنوع در اشکال زیستی در جوامع مختلف گیاهی اساس ساختار آن‌ها را تشکیل می-دهد. ارتفاع از سطح دریا یکی از مهمترین عوامل محیطی مرتبط به رشد و تولید گیاهان در اکوسیستم‌ها و

IrHC2019

رویشگاه‌های طبیعی به شمار آمده و نقش مهمی در کمیت و کیفیت گیاهان دارویی دارد (Omidbeigi., 2005). ویژگی‌های اکسیدکنندگی اکسیژن نقش حیاتی در اعمال بیولوژیکی متفاوت مثل استفاده از غذا، انتقال الکترون برای تولید ATP دارد، در حالی که اکسیژن برای حیات ضروری است، و همچنین می‌تواند باعث اکسیداسیون درون سلولی شود و لایه‌های سلولی را تخریب کند. اکسیژن می‌تواند به اشکال بسیار فعال مثل رادیکال‌های هیدروکسیل (OH)، رادیکال‌های سوپراکسید (O-2) و پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) تبدیل شود و به این صورت می‌تواند به DNA آسیب برساند، یا اینکه آنزیم‌های ضروری و پروتئین‌های ساختاری را تخریب کند (Ajith *et al.*, 2007). پلی فنل‌ها انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که نقش به‌سزایی در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان دارند، این ترکیبات از تنوع بالایی برخوردار هستند و اثرات متفاوتی دارند. ترکیبات فنلی ویژگی‌های ضد رادیکالی و ضد سرطانی را بر عهده دارند (Hagheir Sadatat, 2010). گیاهان تیره‌ی Euphorbiaceae حاوی تعدادی از دیترپن‌های سمی مانند: ژاتروفون، کانسوئینین، لاتیلول، انژنول، فروکتوز، ژتروفن و کورفولین A است که برخی از آنها دارای فعالیت ضد تومور یا پیشرفت سرطان در تشکیل سرطان‌ها هستند (Yamamura *et al.*, 1989). از دو گونه *Euphorbia helioscopia* و *Euphorbia myrsinites* به صورت سنتی در غرب کشور استفاده‌ی دارویی و درمانی شده است. در سال‌های اخیر مطالعات گسترده ای در زمینه یافتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی در گیاهان انجام شده است که می‌توان به تحقیقات Kaghzlou و همکاران (2017) و khalasiahwazi و همکاران (2016)، شاره کرد. این تحقیق با توجه به اهمیت پی بردن به عوامل ژنتیکی و پارامترهای محیطی موثر در ساخت ترکیبات ثانویه و یافتن گیاهانی با توانمندی آنتی‌اکسیدانی بالا انجام شد.

مواد و روش‌ها:

جمع اوی گیاه

نمونه‌های گیاهی از منطقه پاوه و اورمانات استان کرمانشاه جمع‌آوری شده و در دانشگاه رازی کرمانشاه شناسایی شد. نمونه‌های برداشت شده در سایه و به دور از نور آفتاب خشک شد. جدول (۱) مشخصات مکانی و محیطی گیاهان مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

جدول «۱» مشخصات ارتفاع، مختصات جغرافیایی و جهت شیب دو رویشگاه

گیاه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا	جهت شیب	EC	pH
Euphorbia helioscopia	۶۲۲۱۱۵	۳۸۷۹۵۱۰	۱۳۱۳	جنوبی	۸۹۴	۶/۴
Euphorbia myrsinites	۶۲۳۵۸۵	۳۸۷۵۷۱۰	۱۳۷۹	شمالی	۱۰۳۱	۶/۹۲

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیساندن در متانول با نسبت یک به ۱۰ و به مدت ۲۴ ساعت انجام شد.

توانمندی آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP:

توانمندی آنتی‌اکسیدانی به وسیله‌ی قدرت کاهندگی آهن از روش Benzie و همکاران (1996) انجام شد. برای تهیه معرف FRAP از استات سدیم سه آبه (CH3COONA.3H2O)، استیک اسید گلاسیال، ۴،۲ و۶- تری‌پریدیل-اس-تریازین ۱۰ میلی‌مولار (TPTZ)، اسیدکلریدریک ۳۷ درصد و کلرید آهن ($FeCL_3$) استفاده گردید. به ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی به دست آمده ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP اضافه شد. پس از ۴ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق عدد جذب نمونه‌ها نسبت به شاهد (همه ترکیبات بجز عصاره) در طول موج ۵۹۴ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی -UV

IrHC2019

Vis قرائت شد. جهت تعیین منحنی استاندارد از آمونیوم فروس سولفات $(NH_4)_2\ Fe(SO_4)_2).6H_2O$)یک میلی‌مولار استفاده شد.

توانمندی آنتی‌اکسیدانی به روش TAOC:

مقدار توانمندی آنتی‌اکسیدان کل به روش Sun و همکاران (2011) مورد ارزیابی قرار گرفت. به یک میلی‌لیتر از عصاره‌ی متانولی مقدار یک میلی‌لیتر معرف TAOC اضافه شده و بعد از ورتکس و قرار دادن در دمای ۹۰ درجه به مدت ۹۰ دقیقه عدد جذب آنها نسبت به شاهد (همه ترکیبات بجز عصاره) در طول موج ۶۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی UV-Vis قرائت شد. جهت رسم منحنی استاندارد در این روش از اسید اسکوربیک $(C_6H_8O_6)$ استفاده شد.

میزان تجمع ترکیبات فلاونوئیدی:

اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل به روش Kim و همکاران (2002) انجام شد. برای تعیین منحنی استاندارد در این روش از کوئرسیتین استفاده شد.

تعیین پارامترهای خاکی دخیل در مقدار ترکیبات موثره

قابلیت هدایت الکتریکی و pH عصاره‌ی اشباع خاک به ترتیب توسط دستگاه EC متر و pH متر اندازه‌گیری شد (Page *et al.*, 1992).

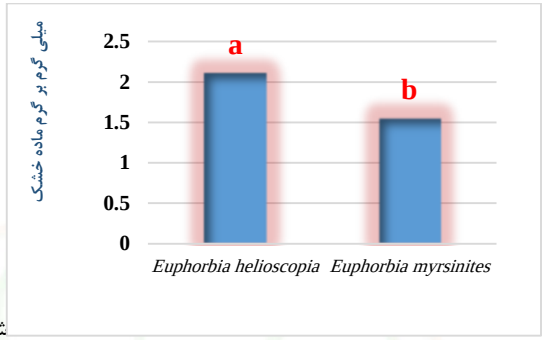
نتایج و بحث:

تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین دو گونه‌ی Euphorbia تحت تاثیر کموتایپ و پارامترهای محیطی نشان داد (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گیاهان تحت تاثیر گونه گیاهی دارای ترکیبات ثانویه‌ی متفاوتی بودند. بطوری که توانمندی آنتی‌اکسیدانی بررسی شده به روش FRAP، TAOC و نیز مقدار تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه *Euphorbia helioscopia* نسبت به گیاه *Euphorbia myrsinites* از مقدار بیشتری برخوردار بوده (شکل ۱، ۲ و ۳) که می تواند متاثر از مقدار EC و pH کمتر و همچنین جنوبی بودن جهت شیب در این رویشگاه باشد. لازم به ذکر است که علاوه بر پارمترهای محیطی، عوامل ژنتیکی و اختلافات بین گونه‌ای از جمله عوامل موثر در میزان تجمع ترکیبات ثانویه می‌باشد (Omidbeigi., 2005). مقدار تجمع ترکیبات فلاونوئیدی رابطه‌ی مستقیمی با میزان تابش نور به گیاه دارد. فلاونوئیدها از مهمترین گروه ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان هستند که به عنوان سپر حفاظتی در مقابل نور ماوراء بنفش نقش کلیدی دارند. با توجه به جهت شیب و بالا بودن شدت نور دریافتی توسط گیاه *Euphorbia helioscopia* تولید ترکیبات فلاونوئیدی برای مدیریت گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از تنش‌های محیطی به وِیژه تشعشات مضر خورشید توجیه پذیر است. در تحقیقات Kaghzlou و همکاران (2017) بیشترین میزان توانمندی آنتی‌اکسیدانی به DPPH در گیاه آقطی در ارتفاعات بالاتر جنگل توسکستان، استان گلستان به دست آمد. این درحالی است که در شرایط جنگل مینودشت روند معکوسی مشاهده شد. همچنین ایشان بیان نمودند که تفاوت مشاهده شده بیش از اینکه به محیط مرتبط باشد می‌تواند ناشی از تفاوت‌های کموتایپی که خود حاصل از شرایط محیطی و اقلیم حاکم بر رویشگاه‌های مورد مطالعه باشد. در تحقیقی دیگر khalasiahwazi و همکاران (2016)، گزارش کردند که با افزایش ارتفاع فعالیت مهار رادیکال DPPH در گیاه کنگر علوفه‌ای (*Gundelia tournefortii* L.) کاهش یافت. به نظر می‌رسد پارامترهای محیلی و تفاوت کموتایپی و بین گونه‌ای نقش کلیدی و موثری در مقدار و نوع ترکیبات ثانویه و در راس آن‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنلیک دارد.

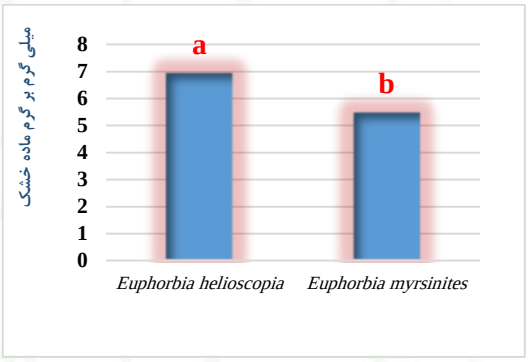
IrHC2019

جدول «۲» تجزیه واریانس گیاهان مورد مطالعه

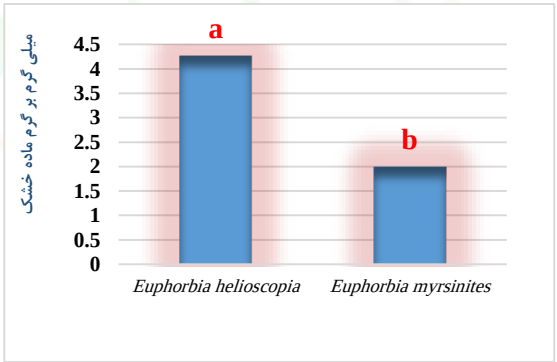
	فلاونوئید	روش TAOC	روش FRAP
تیمار	۷/۶۸۴**	۳/۲۶۵**	۰/۴۶۱**
خطا	۳۹/۹	۱۲/۹	۱۷/۱
انحراف معیار	۱/۲۵۱	۰/۸۱۱	۰/۳۱۵



شکل «۱» توانمندی آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP



شکل «۲» توانمندی آنتی‌اکسیدانی به روش TAOC



شکل «۳» میزان ترکیبات فلاونوئیدی

منابع

Ajith, T, A. and Janardhanan, K, K. 2007. Indian medicinal mushroom as a source of antioxidant and antitumor agents. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 40(3): 157-62.

Benzie, I, F. and Strain, J, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1): 70-76.

Hagheir Sadatat, B, B, F. Bernard, F. Kalantar, S, M. Shikha, M, H. Hakamullahi, F. Azim Zadeh, M. and Hori, M. 2010. Effect of effective compounds and antioxidant properties of essential oil of black

IrHC2019

cumin in Yazd province. Journal of Yazd Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 18(4): 284-291.

Kaghzlou, Z. Hemati, Kh. and Khorasaninejad, S. 2017. Effect of height on some secondary metabolites of different organs of the plant (*Sambucus ebulus* L.) in three cities of Golestan province. Journal of Plant Environmental Physiology, 12(7): 1-13.

Khalasiahwazi, L. Heshmaty, Gh, A. Zofan, p. and AkbarlU, M. 2016. Effect of environmental factors on the antioxidant activity of *Gundelia tournefortii* in different vegetative stages. Scientific Journal of Rangeland, 10(2): 237-246.

Kim, D, O. Lee, K, W. Lee, H, J. and Lee, C, Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(13): 3713-3717.

Maghsoudi, A. Abbaspur, h. Ghasemipirbalouti, A. and Saeedisar, S. 2018. An overview of the environmental impact on secondary compounds and the regulation of the expression of terpenic synthases in medicinal plants. International Conference on New Agricultural Findings, (4).

Mohammad Nejad Ganji, S, M. Moradi, h. Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M. 2014. Investigating the effect of height on quantity and quality of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. cultivated in two regions of Mazandaran province. Quarterly journal of Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 2(5): 36-42.

Omidbaigi, R. 2005. 8- Production and Processing of medicinal plants. Tehran University, 283.

Page, A, L. Miller, R, H. Keeney, D, R. 1992. Method of soil Analysis. Part II: Chemical and Mineralogical Properties (Second Edition ed.). Madison, Wisconsin: SSSA.

Sun, L. Zhang, J. Lu, X. Zhang, L. and Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon leaves. Food and Chemical Toxicology, 49: 2689-2696

Yamamura, S. Shizuri, Y. Kosemura, S. Ohtsuka, J. Tayama, T. Ohba, S. and Terada, Y. 1989. Diterpenes from *Euphorbia helioscopia*. Phytochemistry, 28(12): 3421-3436.

Study the antioxidant potency of two *Euphorbia* species of west of Iran

Mohammad Sanei[*1], Azim Ghasemnezhad[2], Alireza Sadeghi Mahounak[2], Mohammad Masoumi[3], Khalil Ghorbani[2]

[*1] MSc student of Medicinal plant products, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

[2] Academic members, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan

[3] Academic members, Razi University, Kermanshah

**Corresponding Author: mohammadsanei0@gmail.com*

Abstract

The importance of medicinal plants and herbal medicines is not overlooked. Today, due to the inappropriate diet and the excessive use of synthetic and chemical compounds in the food industry, cardiovascular diseases and cancers are increasing rapidly. So, finding the antioxidant and anti-microbial compounds in order to protect the health of the community as well as on bringing people to the drug sources and specially the indicative medicinal plants as an indicator from the point of view of an antioxidant capacity is increasing. *Euphorbia helioscopia* and *Euphorbia myrsinites* from the Euphorbiaceae family have traditionally been used as traditional sources of medicine. In this research, the effects of environmental parameters (altitude, pH and EC soil) and inter-species differences on the accumulation of flavonoids and antioxidant potency were investigated using TAOC and FRAP methods. The results showed that *Euphorbia helioscopia* had a higher antioxidant and flavonoid potency than *Euphorbia myrsinites* in a lower altitude, EC, pH, and also a southern slope orientation. It seems that the environmental parameters and the difference between the chemotypes and inter-species have a key role in the amount and type of secondary metabolites, and at the top of them antioxidant and phenolic compounds.

Keywords: Euphorbia, Antioxidant, FRAP, TAOC, Environmental factors

IrHC2019