مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۳، شماره‌ی ۹۶، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴، صفحات ۱۰۰ تا ۱۰۸

بررسی خواص آنتی اکسیدانی، محتوی فنلی تام، آنتوسیانین‌ها وفلاونوییدهای عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله (*Salvia viridis* L.) جمع‌آوری شده از زنجان

دکتر علیرضایزدی نژاد[۱]، دکتر محمود ملک زاده[۲]

نویسنده‌ی مسوول: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده‌ی داروسازی، گروه فارماکوگنوزی yazdinezhad@zums.ac.ir

دریافت: ۹۳/۳/۱۳ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: *آنتی‌اکسیدان‌ها جهت جلوگیری از فرآیندهای تخریبی ناشی از اکسیداسیون، به‌صورت گسترده به‌عنوان یکی از افزودنی‌های غذایی استفاده می‌شوند. با توجه به عوارض جانبی نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، مطالعات در جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های موثر از منابع طبیعی و به‌ویژه از گیاهانی که به‌صورت گیاه دارویی یا سبزی خوراکی استفاده می‌شوند، در حال گسترش است. اگرچه مطالعات مختلف نشان می‌دهد که جنس سالویا یکی از منابع ارزشمند آنتی‌اکسیدان‌های موثر و طبیعی می‌باشد اما هنوز مطالعه‌ای بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی* ***Salvia viridis*** *انجام نشده است.*

روش بررسی: *عصاره‌ی متانولی گیاه* ***Salvia viridis*** *از نظر محتوی فنلی تام، آنتوسیانین‌ها و فلاونوییدها با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدان، از روش* ***DPPH*** *استفاده گردید.*

یافته‌ها: *نتایج نشان داد که عصاره‌ی متانولی* ***Salvia viridis*** *دارای ترکیبات فنلی (معادل ۲۷۲/۲ میلی‌گرم اسیدگالیک در یک گرم نمونه‌ی خشک)، فلاونویید (معادل ۱۸۷/۳ میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم نمونه‌ی خشک) و آنتوسیانین (معادل ۰/۹۴ میلی‌گرم سیانیدین- ۳- گلوکوزید در یک گرم نمونه خشک) می‌باشد. ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌ی متانولی گیاه (*IC_{50}*=۳۷/۵±۱/۴۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی* ***Butylated Hydroxy Toluene (BHT)*** *(*IC_{50}*=۱۸۷±۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به‌نتایج به‌دست آمده، گیاه مریم گلی یکساله می‌تواند به‌عنوان یک گیاه غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مطالعات بعدی جهت تعیین میزان سمیت و احتمال استفاده از آن به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت در فرآورده‌های غذایی مورد بررسی قرار گیرد.*

واژگان کلیدی: *آنتوسیانین، فلاونویید، مریم گلی، زنجان*

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور موثری از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و به‌صورت گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. مهار اکسیداسیون چربی‌ها درحین فرآوری و نگهداری غذا باعث حفظ طعم و کیفیت ماده‌ی غذایی می‌شود. علاوه بر این آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار فرایندهای اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد در سامانه‌های بیولوژیک، از بروز بیماری‌های مرتبط با فرآیندهای اکسیداتیو نظیر سرطان و بیماری‌های

۱- دکترای تخصصی فارماکوگنوزی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دانشجوی دکترای گیاهان دارویی و معطر، دانشگاه کوروینوس بوداپست، مجارستان

قلبی عروقی جلوگیری می‌کنند (۲و۱). اگرچه آنتی اکسیدان‌های سنتزی نظیر Butylated Hydroxy Anisole (BHA), BHT, Propyl Gallate (PG) و Tert-Butyl Hydro Quinone (TBHQ) به‌صورت گسترده در فرآوردهای غذایی صنعتی استفاده می‌گردد اما با توجه به احتمال سرطان‌زایی و سایر اثرات بد تغذیه‌ای این ترکیبات و نیز تمایل مصرف کنندگان به استفاده از ترکیب‌های طبیعی، جستجو جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (۳و۱). ترکیبات فنلی و پلی‌فنل‌ها از مهم‌ترین ترکیبات فیتوشیمیایی می‌باشند که به‌علت داشتن گروه هیدروکسیل در ساختمان شیمیایی خود، به‌عنوان یکی از منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی مطرح می‌باشند (۴).

جنس سالویا با دارا بودن حدود ۹۰۰ گونه مختلف، بزرگترین جنس متعلق به تیره نعناع (زیر تیره *Nepetoideae*) بوده و شامل گیاهان علفی و بوته‌ای است که به‌طور وسیعی به‌ویژه در مناطق معتدل و گرم کره زمین توزیع شده‌اند. این جنس در ایران ۵۸ گونه گیاه علفی یکساله یا چند ساله دارد که در سرتاسر ایران پراکنده‌اند و بعضی از آن‌ها نیز علف هرز مزارع هستند. ۱۷ گونه از این جنس بومی ایران هستند (۶و۵). مطالعات مختلف نشان می‌دهد گونه‌های مختلف سالویا با داشتن مقادیر بالای ترکیبات فنلی، همواره به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه و مطالعه بوده‌اند (۸و۷). (*Salvia viridis*) گیاهی است علفی، یکساله، با ساقه ۴۰-۱۰ سانتی‌متر، معمولا- راست و غیر منشعب، دارای کرک‌های غده‌ای و پوشیده از برگ است، برگ‌ها ساده، متقابل، تخم مرغی- لوزی به ابعاد ۴×۲/۵ سانتی‌متر، حاشیه کنگره‌دار، براکته‌ها تخم مرغی وسیع گل آذین ساده تنک یا به‌ندرت منشعب، جام گل لوله‌ای، نامنظم و به‌رنگ آبی متمایل به بنفش رنگ و به ندرت سفید و میوه‌ها فندقی به بزرگی ۳×۱/۵ میلی‌متر و به‌رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد (۹و۶) این گیاه یکی از گیاهان دارویی بومی استان زنجان بوده و به‌عنوان یک فرآورده‌ی ضدالتهاب و ضد باکتری در طب محلی و سنتی ایران کاربرد دارد. برخی ترکیبات دی ترپنه نظیر Salviviridinol, Viridinol و Viridone جدا شده از ریشه‌ی این گیاه نیز دارای اثرات ضد باکتری بر روی برخی گونه‌های باکتریایی می‌باشد (۱۲-۱۰).

در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی، آنتوسیانینی و فلاونوییدی عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله *Salvia viridis* جمع‌آوری شده از زنجان مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

جمع‌آوری گیاه: سر شاخه‌های هوایی گیاه *Salvia viridis* در زمان گلدهی در خرداد ۱۳۹۲ در ارتفاعات ۹۵۰ متری ناحیه هزار رود استان زنجان جمع‌آوری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده، در سایه و در دمای اتاق خشک و توسط آسیاب پودر گردید. پودر گیاه جهت مطالعات بعدی در ظرف‌های شیشه‌ای تیره و در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه هرباریومی گیاه پس از شناسایی و تایید توسط بخش گیاهان دارویی دانشکده‌ی داروسازی زنجان به‌شماره ۱۳۸۰- ZUMS در هرباریوم دانشکده‌ی داروسازی زنجان نگهداری می‌گردد.

استخراج عصاره‌ی: جهت استخراج به ۰/۵ گرم نمونه‌ی گیاه خشک، ۵۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (حاوی ۱ درصد کلریدریک اسید) اضافه نموده و مخلوط به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط تاریکی با هم‌زدن مداوم مورد عصاره‌گیری قرار گرفت. پس از صاف کردن عصاره با کاغذ صافی واتمن شماره ۲، عصاره‌ی استخراج شده توسط دستگاه حذف حلال تحت خلاء (Rotary Evaporator) خشک و برای انجام مراحل بعدی آزمایش در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، در ظرف شیشه‌ای تیره نگهداری شد (۱۳).

اندازه‌گیری محتوای فنلی: جهت اندازه‌گیری مقدار ترکیبات

فنلی، از معرف Folin-Ciocalteu و اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (۱۴). ۱ میلی‌لیتر محلول عصاره (غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در متانول) با ۵ میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu با هم مخلوط و کاملاً تکان داده شد. پس از ۳ دقیقه ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۲ درصد کربنات سدیم اضافه شد و مخلوط حاصل در طی ۱۵ دقیقه به‌طور متناوب تکان داده شد و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد. جذب نمونه‌ها نیز در اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همین روش برای کلیه‌ی محلول‌های استاندارد اسید گالیک در آب مقطر (در دامنه ۲۰۰-۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و تهیه منحنی استاندارد به کار برده شد. مقدار ترکیبات فنلی به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک برگرم عصاره‌ی‌متانولی خشک تعیین گردید.

تعیین مقدار ترکیبات آنتو سیانینی: اصول روش کار تعیین مقدار ترکیبات آنتو سیانین بر اساس تغییر مقدار جذب UV مولکول آنتوسیانین با تغییر pH محیط انحلال می‌باشد (۱۵). بدین‌ترتیب که ابتدا ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌ی استخراج شده گیاهی (غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متانول) با محلول بافر pH=۱ (مخلوط ۱۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم کلرید ۰/۲ مولار و ۳۷۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۰/۲ مولار) به حجم نهایی ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس ۲ میلی‌لیتر دیگر از این عصاره‌ی استخراج شده گیاهی نیز با محلول بافر pH= ۴/۵ (شامل مخلوط ۲۰۰ میلی‌لیتر سدیم استات ۱ مولار و ۱۲۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۱ مولار و۱۶۰ میلی‌تر آب مقطر) به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. غلظت آنتوسیانین‌ها توسط معادله زیر محاسبه می‌گردد:

$$C\ (mg/l) = (Abs\ pH\ 1 - Abs\ pH\ 4.5) \times 484.82 \times 1000/24825 \times DF$$

در این معادله، C غلظت (میلی‌گرم بر لیتر) ترکیبات آنتوسیانینی عصاره‌ی گیاه بر اساس مولکول سیانیدین -۳- گلوکوزید، Abs pH 1 میزان جذب نمونه در pH=۱ و Abs pH 4.5 میزان جذب نمونه در pH=۴/۵ می‌باشد. عددهای ۴۸۴/۸۲ و ۲۴۸۲۵ به‌ترتیب وزن مولکولی و ضریب جذب مولی مولکول سیانیدین- ۳- گلوکوزید درطول موج ۵۱۰ نانومتر در محلول بافری می‌باشد. DF نیز عامل رقت محسوب می‌شود.

تعیین مقدار ترکیبات فلاونوییید: مقدار ترکیبات فلاونوییدی با استفاده از روش نور سنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد (۱۶). به یک میلی‌لیتر عصاره‌ی گیاهی (غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در متانول)، ۴ میلی‌لیتر آب مقطر بدون یون و ۰/۳ میلی‌لیتر $NaNO_2$ ۵ درصد اضافه گردید و به‌مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ۱۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر محلول سود ۱ مولار اضافه گردید.حجم نهایی با آب مقطر بدون یون به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون محلول‌های کوئرستین در دامنه ۵۰ - صفر میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول تهیه و نتایج به‌صورت میلی‌گرم هم ارز کوئرستین بر گرم عصاره‌ی متانولی خشک گیاه گزارش شد.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی روش به دام اندازی رادیکال DPPH: این روش براساس احیای محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات فنلی عصاره‌های گیاهی استوار است. این ترکیبات دارای گروه‌های الکترون دهنده بوده و باعث تشکیل فرم‌های غیر رادیکالی DPPH می‌شوند. در این حالت محلول حاوی رادیکال‌های DPPH از آبی- بنفش تیره به‌رنگ زرد کدر تغییر رنگ داده و میزان جذب آن در ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد (۱۶).

۵۰ میکرولیتر از ۵ رقت مختلف عصاره‌ی مورد استفاده (۰/۱۰-۰/۱) در متانول به ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH اضافه می‌شود. بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده می‌شود. بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{درصد I} = (A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank} \times 100$$

در اینجا A_{blank}، جذب واکنش کنترل (دارای تمام معرف‌ها به جز غلظت مشخص از عصاره‌ی مورد نظر) می‌باشد. به‌منظور بررسی بهتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی از شاخص IC_{50} استفاده شد. IC_{50} بیانگر غلظتی از نمونه است که می‌تواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH اولیه موجود در محیط را احیاء نماید. کاهش IC_{50} در مقدار نشان دهنده‌ی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌باشد.

مواد و دستگاه‌ها: مواد شیمیایی استفاده شده در آزمایش مزبور از شرکت Sigma Aldrich و حلال‌ها از شرکت Merck تهیه شد. اندازه‌گیری‌ها نیز با استفاده از دستگاه UV-Vis اسپکتروفتومتر، ساخت شرکت Thermo، مدل Genesys 10s انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: با توجه به‌بررسی توصیفی نتایج آزمایشات، داده‌ها به‌صورت میانگین± ۹۵ درصد محدوده اطمینان با سه بار تکرار در آزمایش، بیان شده‌اند.

یافته‌ها

نتایج حاصل مطابق جدول ۱ نشان داد که میزان ترکیب‌های فنلی در نمونه عصاره‌ی خشک گیاه ۲۷۲/۲±۱۵ میلی‌گرم بر گرم می‌باشد.

جدول ۱: نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی وترکیبات فنلی، فلاونوییدی وآنتوسیانین های گیاه Salvia viridis

نمونه	روش مورد استفاده			
	آزمون ترکیبات فنلی[a]	آزمون آنتوسیانین[b]	آزمون فلاونویید[c]	روش به دام اندازی رادیکال DPPH[d]
عصاره‌ی متانولی	۲۷۲/۲±۱۵	۰/۹۴±۰/۱۱	۱۸۷/۳±۰/۳۴	۳۵/۷±۱/۴۵
BHT	-	-	-	۱۸/۷±۰/۲۳

a: مقادیر میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره‌ی متانولی خشک گیاه

b: مقادیر سیانیدین- ۳- گلوکوزید بر حسب میلی‌گرم بر گرم عصاره‌ی متانولی خشک گیاه

c: مقادیر کوئرستین بر حسب میلی‌گرم برگرم عصاره‌ی متانولی خشک گیاه

d: مقادیر IC_{50} بر حسب (µg/ml)

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به روش به دام اندازی رادیکال DPPH انجام گردید. مطابق نتایج حاصل، غلظتی از عصاره‌ی متانولی که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی فعالیت‌های اکسیداتیو رادیکال‌های DPPH می‌شود (IC_{50}) ۳۵/۷±۱/۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای BHT ۱۸/۷±۰/۲۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. مطابق جدول ۱، میزان ترکیبات آنتوسیانینی تام این گیاه بر حسب مولکول سیانیدین- ۳- گلوکوزید ۰/۹۴ ±۰/۱۱ میلی‌گرم در گرم عصاره‌ی خشک گیاه می‌باشد. بررسی میزان ترکیبات فلاونوییدی تعیین شده به روش نور سنجی کلرید آلومینیوم نشان داد که در هرگرم نمونه‌ی عصاره‌ی خشک

گیاه معادل ۱۸۷/۳±۰/۳۴ میلی‌گرم کوئرستین وجود دارد.

بحث

در پژوهش حاضر که یک مطالعه تجربی بر روی گیاه مریم گلی یکساله با نام علمی *Salvia viridis* بود مشخص گردید که عصاره‌ی متانولی *Salvia viridis* دارای ترکیبات فنلی (معادل ۲۷۲/۲ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم نمونه خشک)، فلاونویید (معادل ۱۸۷/۳ میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) و آنتوسیانین (معادل ۰/۹۴ میلی‌گرم سیانیدین - ۳- گلوکوزید در گرم نمونه‌ی خشک) می‌باشد. جنس salvia با دارا بودن حدود ۹۰۰ گونه‌ی مختلف در خانواده نعناع، از مهم‌ترین گیاهان دارویی معطر مورد استفاده در فرآورده‌های غذایی و طب سنتی نقاط مختلف دنیا می‌باشد و همینطور این مطالعه نشان داد در عین حال که کارایی عصاره‌ی متانولی در جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT کمتر است، عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده و قادر است میزان رادیکال‌های آزاد DPPH را کاهش دهد. با توجه به اثرات درمانی و خواص دارویی فلاوونوییدها وآنتوسیانین‌ها، شناسایی و بررسی میزان این ترکیبات موثره نیز امری ضروری محسوب می‌گردد. (۹و ۵) مطالعات مختلفی جهت بررسی ترکیبات فنلی، فلاونوییدها، آنتوسیانین‌ها و خواص آنتی‌اکسیدان این جنس انجام گردیده است. مطالعه‌ی حاضر در مقایسه با مطالعه‌ی اسدی و همکاران که بر روی ۶ گونه‌ی مختلف مریم گلی بومی ایران انجام گردید نشان داد مقدار ترکیبات فنلی مریم گلی یکساله بومی استان زنجان بعد از گونه *S. macilenta* بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را دارا می‌باشد اگرچه مریم گلی یکساله در مقایسه‌ی با *S. multicalis* و *S. lachnocalyx* مقادیر متوسطی از فلاونوییدها را دارا می‌باشد. با این حال مطالعات انجام شده بر روی سایر گونه‌ها در مناطق مختلف دنیا از جمله ایتالیا، اردن و تونس نیز نتایج متفاوت دیگری برای مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوییدی گونه‌های سالویا ارایه‌ی می‌دهد (۱۷و ۷۸) که این تفاوت می‌تواند به خاطر تفاوت گونه‌ها، زمان جمع‌آوری، اندام مورد مطالعه و تفاوت‌های زیست محیطی باشد. مطالعه رانگ سیماکان و روان بر روی یک گونه کشت شده از *Salvia viridis* در کشور انگلیس وجود ترکیبات ترپنه، فلاونوییدو و مشتقات کافئیک اسید را در این اکوتیپ مریم گلی یکساله تایید نمود (۱۸)آنتوسیانین‌ها نیز دسته‌ای از مهم‌ترین ترکیبات فیتوشیمیایی در جنس سالویا می‌باشند که با دارا بودن ساختارهای فنلی، به‌عنوان سیستم دفاعی گیاه در برابر عوامل باکتریایی، قارچ‌ها و حشرات عمل می‌کنند. علاوه بر این، آنتوسیانین‌ها با دارا بودن گروه‌های الکترون دهنده در ساختمان خود، گیاه را در برابر عوامل اکسیداتیو نظیر اشعه ماوراءبنفش، رادیکال‌های آزاد و تنش‌های حرارتی- محیطی حفاظت می‌کنند. وجود آنتوسیانین‌ها در رژیم غذایی به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی که دارا می‌باشند در پیشگیری از بیماری‌های اکسیداتیو نظیر سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی موثر می‌باشد (۲۰و ۱۹). مطالعه کومار و همکارانش نشان داد که مقادیر بالای آنتوسیانین در گونه‌های سالویا می‌تواند عامل کاهنده قندخون در نمونه موش‌های دیابتی شده تحت مطالعه باشد (۲۱). در بین نمونه‌های گیاهی، انواع تمشک‌ها که به‌عنوان منابع غنی از آنتوسیانین خوراکی شناخته شده‌اند، مقادیر آنتوسیانین به‌میزان ۲/۱۹۹-۰/۱۴۶ میلی‌گرم بر گرم عصاره‌ی ثبت شده است (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر وجود ترکیبات آنتوسیانین در گیاه مریم گلی یکساله، بومی زنجان، بر حسب سیانیدین- ۳- گلوکوزید، ۰/۹۴±۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم عصاره‌ی متانولی تایید گردید که نشان دهنده‌ی وجود مقادیر قابل توجه آنتوسیانین در مقایسه با میوه‌های خوراکی غنی از آنتوسیانین می‌باشد. در عین حال گیاه مریم گلی یکساله از جمله گونه‌هایی از مریم گلی می‌باشد که گل‌های

آن‌ها به‌رنگ آبی- بنفش می‌باشد و مطالعات گذشته نیز نشان می‌دهد آنتوسیانین‌هایی با ساختمان دلفینیدین و سیانیدین عامل ایجاد این رنگ‌ها در مریم گلی می‌باشد (۲۳). ترکیبات فنلی به‌دلیل دارا بودن ساختارهای احیاکننده و الکترون دهنده نظیر پیوندهای دوگانه و گروه‌های هیدروکسیل از جمله ترکیبات مهم آنتی‌اکسیدانی گیاهان محسوب می‌شوند که نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال‌های آزاد را دارند (۲۵و ۲۴). یکی از روش‌های ارزیابی آسان، سریع و دقیق اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان استفاده از رادیکال‌های آزاد DPPH است که با حذف این رادیکال توسط ترکیبات مورد مطالعه می‌توان، توانایی آنتی‌اکسیدانی را ارزیابی نمود (۲۷و ۲۶). در مطالعه‌ی حاضر نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله با روش به دام‌اندازی رادیکال DPPH بررسی گردید. مطابق جدول ۱ عصاره‌ی متانولی گیاه مریم گلی یکساله دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی بوده و قادر است را با غلظتی تقریبا دو برابر نمونه استاندارد BHT، ۵۰ درصد فعالیت‌های اکسیداتیو رادیکال‌های DPPH را مهار نماید. مطالعه‌ی اسدی و همکاران بر روی شش گونه‌ی دیگر سالویا که بومی ایران می‌باشد نشان داد اثرات آنتی‌اکسیدانی بالای گونه‌هایی از سالویا مانند *S. hydrangea* و *S. macilenta* به‌خاطر وجود ترکیبات فنلی وفلاونوییدها می‌باشد (۲۸).

مطالعه‌ی تپ و همکاران بر روی شش گونه سالویا بومی ترکیه و مطالعه‌ی فرهت و همکاران در تونس نشان داد گونه‌های مختلف سالویا در محیط‌های مختلف جغرافیایی نیز مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنلی و اثرات آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند و این خود ضرورت مطالعه‌ی گونه‌های مختلف سالویا از نظر ترکیبات فیتوشیمیایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را تایید می‌نماید (۲۹و ۷).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که گیاه مریم گلی یکساله که به صورت خودرو در نواحی مختلف استان زنجان رویش دارد، دارای مقادیر بالایی از انواع ترکیبات طبیعی آنتی‌اکسیدان از جمله پلی‌فنل‌ها، فلاونویید و آنتوسیانین می‌باشد. اگرچه مطالعه‌ی حاضر نشان داد قدرت مهار رادیکال‌های آزاد توسط این گیاه قابل توجه می‌باشد اما جهت تعیین مکانیسم دقیق اثر آنتی‌اکسیدانی این گیاه مطالعات بیشتر با استفاده از روش‌های دیگر بررسی آنتی‌اکسیدانی توصیه می‌گردد. در عین حال مطالعات تکمیلی دیگری بر روی این گیاه، از جمله خالص سازی ترکیبات موثره و تعیین میزان سمیت عصاره‌ی گیاه، زمینه احتمالی استفاده از این گیاه دارویی را به‌عنوان یک افزودنی معطر غذایی می‌تواند بررسی نماید.

Referencs

1- Espin JC, Soler- Rivas C, Wichers HJ. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical. *J Agri Food Chem*. 2000; 48: 648-56.

2- Lamina S, Ezema CI, Theresa AI, Anthonia EU. Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2013; 2: 83-91.

3- Shylaja MR, Peter KV. The functional role of herbal spices. In: Peter KV, ed. Handbook of

herbs and spices.Vol 2. Cambridge: CRC Press; 2000: 11-21.

4- Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphone compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophysic*. 2009; 53: 75-100.

5- V Mozaffarian. A dictionary of iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser Publications; 2008.

6- Özdemır C, Baran P, Aktaş K. Anatomical studies in *Salvia viridis* L. (Lamiaceae). *Bang J Plant Taxon*. 2009; 16: 65-71.

7- Farhat MB, Landoulsi A, Chaouch-Hamada R, Sotomayor JA, Jordán MJ. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of Salvia species growing in different habitats. *Indust Crops Products*. 2013; 49: 904-14.

8- Al-Qudah MA, Al-Jaber HI, Abu Zarga MH, Abu Orabi ST. Flavonoid and phenolic compounds from *Salvia palaestina* L. growing wild in Jordan and their antioxidant activities. *Phytochemistry*. 2014; 99: 115-20.

9- A Ghahraman. Flora of Iran, Vol 15. Tehran: Research institute of forests and rangelands press; 1997.

10- Mousavi A. Medicinal plants of Zanjan province. *Iran J Med Aroma Plants Res*. 2004; 20: 345-68.

11- Ulubelen A, Öksüz S, Kolak U, Bozok-Johansson C, Çelik C, Voelter W. Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia viridis*. *Planta Med*. 2000; 66: 458-462.

12- Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharma Res*. 2005; 2: 63-79.

13- Levels of phenolic compounds and their effects on antioxidanf capacity of wild *Vaccinium arctostaphylos L* collected from different regions of Iran. *Turk J Biol*. 2010; 33: 66-74.

14- Roby M, Sarhan MA, Selim KA, Khalel KI. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Indust Crops Products*. 2013; 43: 827-31.

15- Camelo-Méndez GA, Ragazzo-Sánchez JA, Jiménez-Aparicio AR, Vanegas-Espinoza O, Paredes-López PE, Del Villar-Martínez AA. Comparative study of anthocyanin and volatile compounds content of four varieties of Mexican Roselle (*Hibiscu sabdariffa* L.) by multivariable analysis. *Plant Foods Hum Nutr*. 2013; 68: 229-34.

16- Atanassova M, Georgieva S, Ivancheva K. Total phenoliac and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medical herbs. *J Univers Chem Tech Metallu*. 2011; 46: 81-8.

17- Pizzale L, Bortolomeazzi R, Vichi S, Uberegger E, Conte LS. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound

content. *J Sci Food Agri*. 2002; 82:1645-51.
18- Rungsimakan S, Rowan MG. Terpenoids, flavonoids and caffeic acid derivatives from *Salvia viridis* L.cvar. Blue Jeans. *Phytochemistry*. 2014; 108: 177-188.
19- Pascual-Teresa S, Moreno DA, García-Viguera C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Inter J Mol Sci*. 2010; 11: 1679-1703.
20- Wallace TC. Anthocyanins in cardiovascular disease. *Advanc Nutri*. 2011; 2: 1-7.
21- Kumar PM, D Sasmal, Mazumder PM. The antihyperglycemic effect of aerial parts of *Salvia splendens* (scarlet sage) in streptozotocin-induced diabetic-rats. *Pharmacognosy Res*. 2010; 2: 190-94.
22- Bowen-Forbes CS, Zhang Y, Nair MG. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *J Food Compos Analysis*. 2010; 23: 554-60.
23- Lu Y, Foo YL. Polyphenolics of *Salvia*-a review. *Phytochem*. 2002; 59: 117-40.
24- Jimoh FO, Adedapo AA, Aliero AA, Afolayan J. Polyphenolic contents and biological activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharm Biol*. 2008; 46: 333-40.
25- M.S. Brewer. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Rev Food Sci Food Safety*. 2011; 10: 221-47.
26- Sarikurkcu C, Arisoy K, Tepe B, Cakir A, Abali G, Mete E. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. *Food Chem Toxico*. 2009; 47: 2479-83.
27- Damašius J, Venskutonis PR, Kaškonienė V, Maruška A. Fast screening of the main phenolic acids with antioxidant properties in common spices using on-line HPLC/UV/DPPH radical scavenging assay. *Analytical Methods*. 2014; 6: 2774-79.
28- Asadi S, Ahmadiani A, Esmaeili MA, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. *Food ChemToxico*. 2010; 48: 1341-49.
29- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*. 2006; 95: 200-204.

Evaluation of Antioxidant Effect, Total Phenols, Anthocyanins and Flavonoids Contents of Methanolic Extract of *Salvia Viridis* L. Collected from Zanjan

Yazdinezhad AR[1], Malekzadeh M[2]

[1]Dept. of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[2]Corvinus University of Budapest, Budapest, Hungary

Corresponding Author: Yazdinezhad AR, Dept of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan,Iran

E-mail: yazd1387@gmail.com

Received: 3 Jun 2014 **Accepted:** 5 Jan 2015

Background and Objective: Antioxidants have been widely used as food additives to provide protection against oxidative degradation of foods. Because of undesirable side effects of synthetic antioxidants, there is a growing interest in searching for powerful but non-toxic antioxidants from natural resources, especially edible or medicinal plants. Although, several studies have shown that Salvia genus is one of the valuable sources of potent antioxidants, but there is not any study about antioxidant potentials of *Salvia viridis.*

Materials and Methods*:* Methanolic extract of *Salvia viridis* was analyzed for its total phenols, anthocyanins and flavonoids contents using spectrophotometric methods. Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) assay was used to evaluate its antioxidant properties.

Results*:* The results demonstrated that the methanolic extract of *Salvia viridis* has high contents of total phenols (272.2 mg gallic acid equivalent/g dry weight), flavonoid (187.3 mg quercetin equivalent/g dry weight) and anthocyanin (0.94 mg cyaniding-3-glycosid equivalent/g dry weight). Free radical-scavenging capacity of the methanolic extract was less (IC_{50}: 35.7± 1.45 μg/ml) than synthetic antioxidant Butylated Hydroxy Toluene (BHT) (IC_{50}: 18.7± 0.23 μg/ml).

Conclusion: On the basis of the results obtained, *Salvia viridis* could be valuable as a rich source of natural antioxidants for culinary purposes after passing proper toxicity test.

Keywords: Anthocyanin, Flavonoid, Salvia viridis, Zanjan