

## فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیونی و ضدتیروسینازی اسانس‌های خالص و تجاری شوید

مهدی داداش پور<sup>۱</sup>، ایرج رسولی<sup>۲\*</sup>، فاطمه سفید کن<sup>۳</sup>، محمد باقر رضایی<sup>۴</sup>، شکیبا درویش علیپور آستانه<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
- ۲- استاد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
- ۳- استاد گروه فیتوشیمی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران
- ۴- دکتری شیمی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران
- ۵- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۳

### چکیده

مقدمه: علیرغم اینکه برخی از روغن‌های اسانسی دارای اندکی اثر سمی حاد هستند، استفاده از روغن‌های اسانسی در بسیاری از کشورها تحت کنترل نیست. شوید یکی از گیاهانی است که مصرف عمومی داشته و روغن اسانسی آن نیز در دسترس عموم قرار دارد. در این مطالعه فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیونی و ضدتیروسینازی اسانس شوید که از گیاهان بومی و ارزشمند ایران می‌باشد، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: خواص بیولوژیک اسانس شوید در دو شکل خالص و تجاری آن بررسی شد. فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون، بازدارندگی تیروسینازی و فلاونوئید کل اسانس خالص شوید تازه و شوید تجاری مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج: ۷/۸ میکروگرم EDTA، فعالیت معادل فعالیت ۲ میکروگرم اسانس خالص را داشت. اسانس‌ها دارای قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید هستند. ۵۰ درصد غلظت کلاتینگ یون فروس، فعالیت ضدتیروسینازی و رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیونی اسانس خالص شوید به ترتیب ۱/۳، ۴، ۱ میکروگرم و همان عوامل در اسانس تجاری برابر ۱۷۱/۶، ۵۸۹ و ۱۳۲ میکروگرم بود. فعالیت ضدتیروسینازی ۶/۴ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل فعالیت ضدتیروسینازی ۱۰۰۰ میکروگرم اسانس تجاری شوید بود.

نتیجه‌گیری: شوید دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و ربایش رادیکال‌های آزاد است. این اسانس همچنین دارای فعالیت کلاته کردن آهن و خاصیت از بین بردن رادیکال سوپراکسید بوده و در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی واکنش‌گر مؤثر است. شوید قابلیت خوبی برای بررسی کاربرد آن در صنایع غذا و دارو دارد.

واژه‌های کلیدی: شوید، ضدتیروسیناز، ترکیبات فروس، شلاته‌کننده‌های آهن، سوپراکسیدها، ربایش رادیکال آزاد

\* (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۲۱۵۱۲۱۲۶۰۱، پست الکترونیکی: rasooli@shahed.ac.ir

## مقدمه

روغن‌های اسانسی، دسته‌ای از روغن‌های فرار تشکیل شده از کمپلکس هیدروکربن‌ها (معمولاً ترپن‌ها) و دیگر مواد شیمیایی استخراج شده از همه بافت‌ها یا دانه‌های گیاهان هستند. این مواد از نظر بیولوژیکی با توجه به توانایی‌شان در ایجاد رایحه و طعم مطبوع، فتوشیمیایی فعال شناخته می‌شوند (۱،۲). این ترکیبات در مواردی نظیر ماده معطر در مواد آرایشی، طعم دهنده در مواد غذایی و نوشابه‌ها، محصولات خانگی مانند پاک کننده‌ها، صابون، معطرکننده هوا، حشره کش‌ها و سنتر واسطه‌های شیمیایی معطر، به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. روغن‌های اسانسی برای اهداف پزشکی غیرحرفه‌ای به عنوان عوامل اشتهاآور ضدنفخ، زیاد کننده قاعدگی، ترشح شیر و همچنین سقط کننده جنین استفاده می‌شوند، ولی بیشترین استفاده از روغن‌های اسانسی برای رایحه درمانی است (۲). شوید (*Anethum graveolens*) یک گیاه مقاوم یکساله یا دوساله با ارتفاع ۹۰-۱۲۰ سانتی‌متر با شاخه‌های ظریف دارای برگ در انتها و گل آذین‌هایی با گل‌های زرد در (۹-۲ cm قطر) و ریشه‌های بلند دوکی شکل است. معمولاً برگ‌های شوید در تخم‌مرغ، گوشت، سالاد، غذاهای دریایی، سوپ و دانه‌های (میوه‌های کوچک معطر) آن در نان، گوشت، سوپ، سالاد، سیب‌زمینی، کلم رنده شده، ترشی و کیک برای مطبوع کردن استفاده می‌شوند. مطالعات قبلی نشان داده است که برگ‌های شوید خطر سرطان را کاهش می‌دهند (۳،۴). میزان روغن بذر شوید، ۲/۳-۳/۵ درصد است که ۶۰-۴۰ درصد آن کاروون است، در حالی که در برگ‌های شوید، ۰/۴-۰/۸ درصد روغن وجود دارد که متشکل از ۴۰ درصد کاروون، ۳۲ درصد لیمونن و ۲۰ درصد فلاندرین است (۴). کاربردهای کاروون به عنوان چاشنی، ماده خوشبوکننده، عامل جلوگیری کننده از سبز شدن سیب‌زمینی، عامل ضدباکتریایی و معرف محیطی بیوشیمیایی است و همچنین کاربرد این ماده در زمینه پزشکی، باعث علاقه‌مندی به این مونوترپن شده است. مقدار زیادی از انانتیومرهای کاروون، به عنوان افزودنی غذایی و در فرمولاسیون دندانپزشکی استفاده می‌شوند (۵). Jager و همکارانش مسیرهای متابولیکی کاروون را

در میکروزوم‌های کبد انسان و موش بررسی کرده‌اند (۶). نتایج تحقیق نشان می‌دهد که انکوباسیون هر کدام از انانتیومرهای کاروون با میکروزوم‌های کبد باعث انتقال زیستی "استروسلکتیو" مشاهده می‌شود: (4S) (-)- کاروون در حضور NADPH به (4R,6S) (-) کاروئول تبدیل می‌شود؛ (4S,6S) (-) (+) کاروئول از (4S) (+) کاروون تولید می‌شود.

برگ‌های شوید، بذر و روغن اسانسی آن می‌توانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را فراهم کنند (۷). آنتی‌اکسیدان‌ها به روزافزون برای پیشگیری از آسیب‌های جدی به سیستم اعصاب مرکزی، بیماری‌های قلبی عروقی و آسم مورد توجه قرار گرفته‌اند (۸-۱۰). علاوه بر این، کاربرد آنها به عنوان نگهدارنده در صنعت غذا و مواد محافظت کننده پوست در ترکیبات آرایشی و بهداشتی مورد توجه هستند (۱۱،۱۲). مطالعاتی که بر روی گیاه شوید انجام گرفته است، بیانگر آن است که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و همچنین قدرت شلاته کردن فلزات می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ای بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی نشان داده شد، این اسانس دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی از خود نشان می‌دهد (۱۴). شوید می‌تواند به عنوان مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدان با اتصال به آهن کاتالیتیک تولید شده در طول تخریب سلول و کاهش آسیب بافتی ناشی از رادیکال هیدروکسیل همراه با تولید اکسیدان نوتروفیلی در طی التهاب و با اتصال به لیپوپولی‌ساکارید و کاهش فعالیت بیولوژیکی و بهبود توکسیته ناشی از لیپوپولی‌ساکارید، عمل کند. با این دید و با توجه به روند رو به گسترش مصرف داروهای گیاهی، در این مطالعه به بررسی فعالیت‌های کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی سوپراکسیدآنیونی و ضدتیروسینازی اسانس‌های خالص و تجاری شوید در سطح اینوترو پرداخته شد.

## روش بررسی

اسانس خالص شوید در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع اسانس‌گیری و اسانس تجاری شوید از منابع تولیدی داخل کشور

ارزش IC50 تعیین می گردد.

$$\text{Inhibition(\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

فعالیت ممانعت تیروسینازی اسانسها (Tyrosinase inhibition) با اسپکتروفتومتری (۱۶) و با روش dopachrome با استفاده از L-DOPA به عنوان سوبسترا سنجیده شد. مقدار ۵ میلی گرم اسانس در ۲ میلی لیتر DMSO ۵۰٪ حل شده مقدار ۴۰ μl از نمونه به ۸۰ μl بافر فسفات (pH 6.8) 0.1 M اضافه و ۴۰ μl از 0.02 mg/ml tyrosinase و ۴۰ μl از L-DOPA (2.5 mM) در یک چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی ریخته شد. نمونه‌ها در دمای ۳۷ °C به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. هر نمونه توأم با یک بلانکی بود که همه ترکیبات فوق به جز L-DOPA را داشت. جذب در طول موج ۴۷۵ nm با استفاده از طول موج ۷۰۰ nm به عنوان رفرانس، اندازه‌گیری گردید. نتایج با یک کنترل و بلانک محتوی DMSO ۵۰٪ (به جای نمونه) مقایسه شدند. quercetin به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد ممانعت تیروسیناز با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{Tyrosinase inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

محتوای فلاونوئید کل (Determination of total flavonoids) با روش Zhishen و همکارانش سنجیده شد (۱۷). ۰/۲۵ میلی لیتر از رقت هر نمونه به لوله محتوی یک میلی لیتر آب دو بار تقطیر اضافه گردید. ۰/۷۵ میلی لیتر از محلول NaNO<sub>2</sub> ۵٪ و ۰/۰۷۵ میلی لیتر AlCl<sub>3</sub> ۱۰٪ و ۰/۵ میلی لیتر NaOH 1 M در زمان‌های صفر، ۵ و ۶ دقیقه اضافه شد. حجم نهایی محلول را با آب دو بار تقطیر به ۲/۵ میلی لیتر رسانده و جذب در طول موج ۵۱۰ nm اندازه‌گیری شد. محتوای کل فلاونوئید به صورت معادل میلی گرمی Catechin در هر گرم نمونه محاسبه گردید.

### نتایج

قدرت رقت‌های مختلف اسانسها در کلاتینگ یون فروس تعیین گردید و مقدار ۲ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل ۲۵۰ میکروگرم اسانس تجاری شوید قدرت کلاته کردن یون فروس را داشت. قدرت اسانس خالص از EDTA نیز بیشتر

(شرکت زردبند) که در داروخانه‌ها به فروش می‌رسد، تهیه گردید. FeSO<sub>4</sub> و Ferrozine از شرکت سیگما خریداری و تهیه شد. Na<sub>2</sub>EDTA, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Dimethyl Sulfaxide :DMSO) Nitroblue و NaOH از شرکت Merck خریداری شد. Tetrazolium (NBT) Hypoxanthine, Catechin Tyrosinase, Quercetin و L-DOPA از شرکت Fluka خریداری و تهیه گردید.

جهت سنجش کلاتینگ یون فروس (Ferrous ion chelating (FIC) assay) FeSO<sub>4</sub> (2mM) و Ferrozine (5mM) در صورت امکان به خط بالای برود تهیه و ۲۰ برابر رقیق شد. یک میلی لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌های اسانس با یک میلی لیتر FeSO<sub>4</sub> رقیق شده مخلوط و سپس یک میلی لیتر Ferrozine رقیق اضافه گردید. لوله‌ها کاملاً مخلوط شده و ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. جذب هر کدام در ۵۶۲ nm سنجیده شد.

قدرت کلاته کردن یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه شد:

$$\text{Chelating effect(\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} / A_{\text{control}})] \times 100$$

قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون اسانسها (Superoxide anion radical scavenging) با روش Lee و همکاران انجام شد (۱۵). به مقدار ۱۰۰ μl از رقت‌های هر اسانس محلول زیر افزوده شد:

100 μl (30 mmol/l) Na<sub>2</sub>EDTA, 100 μl (3 mmol/l) hypoxanthine in 50 mmol/l NaOH, 200 μl (1.42 mmol/l) NBT in NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH (50 mmol/l, pH 7.4).

پس از ۳ دقیقه مقدار ۱۰۰ μl (0.5 U/ml) xanthine oxidase در بافر NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH اضافه شده و ۲/۴ ml بافر NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH اضافه شد. محلول حاصل در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شده و جذب در ۵۶۰ nm اندازه‌گیری گردید. همچنین جذب در ۲۳۹ nm اندازه‌گیری شد تا چنانچه اسانس مانع تولید اسید اوریک شده باشد، مشخص شود. وقتی که از عدم تشکیل اسید اوریک اطمینان حاصل شد درصد ممانعت در ۵۶۰ nm با فرمول زیر محاسبه می‌شود و نیز

میلی‌گرم Catechin در هر گرم نمونه) اسانس خالص دو برابر اسانس تجاری بود (جدول ۴) و پنجاه درصد غلظت بازدارندگی کلاتینگ، فعالیت تیروسینازی و سوپراکسایدآنیونی اسانس خالص شوید به ترتیب ۱/۳، ۴، ۱ میکروگرم و همان عوامل در اسانس تجاری برابر ۱۷۱/۶، ۵۸۹ و ۱۳۲ میکروگرم بود. نسبت فعالیت اسانس خالص به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از اسانس تجاری بود (جدول ۴).

بود (جدول ۱). توانایی رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیون رقت‌های مختلف اسانس‌ها نشان داد که ۱/۶ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل ۵۰۰ میکروگرم اسانس تجاری شوید قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکسایدآنیونی دارد (جدول ۲). فعالیت ضدتیروسینازی ۶/۴ میکروگرم اسانس خالص شوید تقریباً معادل فعالیت ضدتیروسینازی ۱۰۰۰ میکروگرم اسانس تجاری شوید بود. فعالیت اسانس‌ها بر اساس معادل کوچیک اسید تعیین گردید (جدول ۳). محتوای کل فلاونوئید (معادل

جدول ۱: تعیین قدرت اسانس‌ها در کلاته کردن یون فروس

اسانس شوید	مقدار اسانس (μg)	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
درصد کلاته کردن یون فروس		۲۲/۳۱±۰/۹۶	۲۷/۵۲±۲/۵۷	۴۲/۴۵±۵	۷۰/۲۲±۲
اسانس شوید تجاری	مقدار اسانس (μg)	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
درصد کلاته کردن یون فروس		۹/۴±۱/۳	۲۷/۳۷±۳/۶	۴۲/۵۴±۱/۴	۶۴/۸۶±۵/۸
EDTA	مقدار EDTA (μg)	۷/۸	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵
درصد کلاته کردن یون فروس		۷۴/۶±۱	۷۹±۱/۲	۸۰/۲±۱/۲	۸۰/۷±۱/۲

جدول ۲: قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون اسانس‌ها

اسانس شوید	مقدار اسانس (μg)	۰/۲	۰/۴	۰/۸	۱/۶
درصد رادیکال‌زدایی		۲۱/۷۵±۱	۳۵/۳۹±۰/۷۶	۴۵/۵±۰/۸۲	۶۰/۶۵±۰/۵۹
اسانس شوید تجاری	مقدار اسانس (μg)	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
درصد رادیکال‌زدایی		۴۳/۹±۲/۰۷	۴۹/۷۶±۰/۷۱	۶۰/۲±۰/۱۹	۶۷/۶۶±۰/۲۷

جدول ۳: فعالیت ضد تیروسینازی اسانس‌ها

اسانس شوید	مقدار اسانس (μg)	۰/۸	۱/۶	۳/۲	۶/۴
فعالیت ضدتیروسینازی (%)		۳۵/۶۱±۱/۵	۳۷/۱۸±۰/۷۶	۴۶/۷۱±۰/۵۱	۵۶/۸۳±۲/۵
معادل کوچیک اسید (μg)		۲۱±۱	۶۲±۱/۳	۱۴۰±۲/۴	۳۴۰±۴
اسانس شوید تجاری	مقدار اسانس (μg)	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
فعالیت ضدتیروسینازی (%)		۳۸/۵±۱/۲	۴۳/۲±۲/۴	۴۹/۵۲±۱/۱۴	۵۸/۲۶±۲/۵
معادل کوچیک اسید (μg)		۲۵±۰/۷	۷۱±۵/۸	۱۹۵±۲/۷	۳۶۷±۴/۱

جدول ۴: محتوای فلاونوئیدی و فعالیت‌های رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون، ضدتیروسینازی و کلاته کردن یون فروس

اسانس	کلاته کردن یون فروس IC50 (µg)	فعالیت ضدتیروسینازی IC50 (µg)	رادیکال‌زدایی سوپراکساید آنیون IC50 (µg)	محتوای کل فلاونوئید (میلی‌گرم catechin در هر گرم نمونه)
شوید	۱/۳	۴	۱	۱۳/۶۹±۱/۰۷
شوید تجاری	۱۷۱/۶	۵۸۹	۱۳۲	۷/۲۶±۱/۷۹
نسبت فعالیت اسانس خالص شوید به اسانس تجاری	۱۳۲	۱۴۷/۲۵	۱۳۲	۱/۸۹

### بحث

بسیاری از گزارشات نشان داده است که گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه‌ای دارند (۲۱-۱۸). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانلی گل، برگ‌ها و بذر شوید به وسیله تست DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس، قدرت احیاکنندگی، قدرت کلاتینگ (Chelating) و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن ارزیابی شده است. در همه روش‌ها عصاره گل بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به عصاره برگ و بذر، نشان داده است (۲۲). در مطالعه حاضر هر دو اسانس قدرت کلاتینگ قابل ملاحظه‌ای نسبت به EDTA داشتند و اسانس شوید خالص قدرت بیشتری نسبت به EDTA از خود نشان داد، به طوری که ۷/۸ میکروگرم EDTA فعالیتی معادل فعالیت ۲ میکروگرم اسانس خالص را داشت.

نتایج مطالعه نشان داد که اسانس‌ها دارای قدرت رادیکال‌زدایی سوپراکساید هستند. رادیکال سوپراکساید در بدن به وسیله انواع آنزیم‌های اکسیداتیو به شکل احیا یک الکترون اکسیژن ملکولی انجام می‌شود. زانتین اکسیداز یکی از آنزیم‌های اصلی اکسیداتیو تولیدکننده رادیکال سوپراکساید در نتیجه آسیب بافتی است (۲۳). رادیکال سوپراکساید اینوپترو به وسیله زنتاین اکسیداز در طی واکنش تولید می‌شود، NBT اکسیده شده و به فرمازان آبی محلول در آب تبدیل می‌شود (۲۴). کاهش رنگ آبی در پی افزودن فراکسیون‌های حلال در مخلوط واکنش با زدوده شدن رادیکال سوپراکساید سنجیده می‌شود. در این مطالعه بیشترین حد زدوده شدن رادیکال سوپراکساید در اسانس شوید خالص دیده شد. وجود فنل کل و فلاونوئید زیاد در اسانس می‌تواند عامل این افزایش فعالیت باشد (۲۵). فنل‌ها شامل فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین‌ها،

مسئول توانایی آنتی‌اکسیدانی هستند. اسید کلوروژنیک، میریستین و 3,3',4',5,7-پنتاهیدوکسی فلاوان (۴-۸) - 3,3',4',5,7-پنتاهیدوکسی فلاوان اسید به ترتیب اصلی‌ترین اسید فنولیک، فلاونوئید و پروآنتوسیانیدین‌ها در عصاره گل شوید هستند (۲۲). بسیاری از فلاونوئیدها به عنوان بازدارنده‌های بالقوه زنتاین اکسیداز شناخته شده‌اند (۲۶). آهن در پراکسیداسیون لیپید در بدن نقش اساسی ایفا می‌کند، بنابراین تأثیر مواد فتوشیمی در سیستم‌های بیولوژیکی می‌تواند بر قدرت رادیکال‌زدایی، کلاته کردن فلزات، فعال‌سازی آنزیم‌های اکسیدانت و بازدارندگی اکسیدازها دلالت کند (۲۷). نتایج این مطالعه خاصیت رادیکال‌زدایی شوید اعم از خالص و تجاری را نشان داد. بنابراین شوید می‌تواند به عنوان مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدان با اتصال به آهن کاتالیتیک تولید شده در طول تخریب سلول و کاهش آسیب بافتی ناشی از رادیکال هیدروکسیل همراه با تولید اکسیدان نوتروفیلی در طی التهاب و با اتصال به لیپوپولی‌ساکارید و کاهش فعالیت بیولوژیکی و بهبود توکسیته ناشی از لیپوپولی‌ساکارید، عمل کند.

بازدارنده‌های تیروسیناز موادی هستند که توانایی احیای واکنش‌های آنزیمی مانند تیره شدن مواد غذایی و ملانیزاسیون پوست انسان را دارند. بنابراین، این مواد دارای پتانسیل تجاری قابل ملاحظه‌ای در صنایع غذایی و آرایشی بهداشتی هستند. جدول ۳ فعالیت ضدتیروسینازی اسانس‌های مورد مطالعه و برابری ارزش کوچیک اسیدی آنها را نشان می‌دهد. تاکنون گزارشی از تعیین فعالیت ضدتیروسینازی اسانس شوید گزارش نشده، لذا این اولین گزارش در همین مورد است. بنابراین می‌توان فعالیت اسانس‌های شوید را با

سمی واکنش‌گر بوده و می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کند. مطالعه خواص بیولوژیک اسانس شوید نشان می‌دهد که شوید دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد. این اسانس همچنین فعالیت مناسب کلاته کردن فلزات و خاصیت از بین بردن رادیکال سوپراکسید را دارا می‌باشند. شوید قابلیت قابل توجه‌ای جهت بررسی کاربرد آن در صنعت غذا و دارو دارد که البته نیازمند به اعمال نتایج این تحقیق در پژوهش‌های جانوری و سپس بالینی است.

#### سیاسگزاری

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که با تأمین هزینه‌های این طرح امکان عملی‌شدن آن را فراهم آوردند، اعلام می‌داریم.

فعالیت ضد تیروسینازی سایر اسانس‌ها مقایسه کرد. فعالیت بازدارندگی تیروسینازی گیاهان *M. gigantea*, *M. pruinosa*, *M. triloba* و *M. tanarius* به ترتیب ۵۳/۹، ۶۱/۲، ۵۲/۸ و ۵۸ درصد گزارش شده که در مقایسه با نتایج این مطالعه می‌توان به اهمیت اسانس شوید در بازدارندگی تیروسیناز پی برد (۲۸). اگر غلظت‌های نسبی ترکیبات اسانس‌ها در سطوحی تنظیم شوند که به طور مداوم قدرت و طیف فعالیت مورد نیاز را فراهم کنند، ممکن است روغن‌های اسانسی تأثیر قابل اطمینانی داشته باشند. این امر توسط تقطیر روغن خام (به منظور تولید محصولاتی که ترکیب ثابت و تجدیدپذیر دارند و یا توسط مخلوط کردن بخش‌های منفرد) برای بدست آوردن سطح فعالیت مورد نظر، انجام شدنی است. نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی این گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصولات

#### References:

- 1- Deans SG, Ritchie G. *Antibacterial properties of plant essential oils*. Int J Food Microbiol 1987; 5(2): 165-80.
- 2- Woolf A. *Essential oil poisoning*. J Toxicol Clin Toxicol 1999; 37(6): 721-7.
- 3- Yang Y, Huang CY, Peng SS, Li J. *Carotenoid analysis of several dark-green leafy vegetables associated with a lower risk of cancers*. Biomed Environ Sci 1996; 9(4): 386-92.
- 4- Hartmans KJ, Diepenhorst P, Bakker W, Gorris LGM. *The use of carvone in agriculture: sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases*. Industrial Crops Products 1995; 4(1): 3-13.
- 5- de Carvalho CCCR, da Fonseca MMR. *Carvone: why and how should one bother to produce this terpene*. Food Chemistry 2006; 95(3): 413-22.
- 6- Jager W, Mayer M, Platzer P, Reznicek G, Dietrich H, Buchbauer G. *Stereoselective metabolism of the monoterpene carvone by rat and human liver microsomes*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2000; 52(2): 191-7.
- 7- Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. *Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils*. Int J Food Microbiol 2002; 74(1-2): 101-9.
- 8- Gilgun-Sherki Y, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D. *Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state*. Pharmacological Rev 2002; 54(2): 271-84.

- 9- Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. *Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury*. Pharmacol Rev 2001; 53(1): 135-59.
- 10- Kirkham P, Rahman I. *Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy*. Pharmacol Ther 2006; 111(2): 476-94.
- 11- Winkler C, Frick B, Schroecksnadel K, Schennach H, Fuchs D. *Food preservatives sodium sulfite and sorbic acid suppress mitogen-stimulated peripheral blood mononuclear cells*. Food Chemical Toxicol 2006; 44(12): 2003-7.
- 12- Lupo MP. *Antioxidants and vitamins in cosmetics*. Clin Dermatol 2001; 19(4): 467.
- 13- Bahramikia S, Yazdanparast R. *Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of anethum graveolens leaves using in vitro models*. Pharmacol Online 2008; 2: 219-33.
- 14- Khanahmadi M, Rezazadeh Sh. *Review on iranian medicinal plants with antioxidant properties*. J Med Plants 2010; 9(35):19-32.
- 15- Lee JC, Kim HR, Kim J, Jang YS. *Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of Opuntia ficus-indica var. saboten*. J Agric Food Chem 2002; 50(22): 6490-6.
- 16- Chan EWC, Lim YY, Wong LF, Lianto FS, Wong SK, Lim KK, et al. *Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species*. Food Chem 2008; 109(3): 477-83.
- 17- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. Food Chem 1999; 64(4): 555-9.
- 18- Elzaawely AA, Xuan TD, Koyama H, Tawata S. *Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of Alpinia zerumbet (Pers.) B.L. Burt. & R.M. Sm*. Food Chem 2007; 104(4): 1648-53.
- 19- Ho SC, Hwang LS, Shen YJ, Lin CC. *Suppressive effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan (Dimocarpus longan Lour.) flowers on nitric oxide production in LPS-stimulated macrophage cells*. J Agric Food Chem 2007; 55(26): 10664-70.
- 20- Kaur G, Alam MS, Jabbar Z, Javed K, Athar M. *Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers*. J Ethnopharmacol 2006; 108(3): 340-8.
- 21- Susanti D, Sirat HM, Ahmad F, Ali RM, Aimi N, Kitajima M. *Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of Melastoma malabathricum L*. Food Chem 2007; 103(3): 710-6.
- 22- Shyu YS, Lin JT, Chang YT, Chiang CJ, Yang DJ. *Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (Anethum graveolens L.) flower*. Food Chem 2009; 115(2): 515-21.
- 23- Haraguchi H, Ishikawa H, Mizutani K, Tamura Y, Kinoshita T. *Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in Glycyrrhiza inflata*. Bioorg Med Chem 1998; 6(3): 339-47.
- 24- Oktay M. *Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (Salvia sclarea L.)*. Turk J Agric For 2004; 28: 25-33.

- 25- Arumugam P, Murugan R, Subathra M, Ramesh A. *Superoxide radical scavenging and antibacterial activities of different fractions of ethanol extract of Mentha spicata (L.)*. Med Chem Res 2010; 19: 664-73.
- 26- Choi CW, Kim SC, Hwang SS, Choi BK, Ahn HJ, Lee MY, et al. *Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison*. Plant Sci 2002; 163(6): 1161-8.
- 27- Kulkarni AP, Aradhya SM, Divakar S. *Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant-punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit*. Food Chem 2004; 87(4): 551-7.
- 28- Lim TY, Lim YY, Yule CM. *Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four Macaranga species*. Food Chem 2009; 114(2): 594-9.

## *Ferrous Ion Chelating, Superoxide Anion Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibitory Properties of Pure and Commercial Essential Oils of Anethrum Graveolens*

*Dadashpour M(MSc)<sup>1</sup>, Rasooli I(PhD)<sup>\*2</sup>, Sefidkon F(PhD)<sup>3</sup>, Bagher Rezaei M(PhD)<sup>4</sup>, Darvish Alipour Astaneh Sh(PhD Student)<sup>5</sup>*

<sup>1,2,5</sup>Department of Microbiology, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>3,4</sup>Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

**Received:** 3 Jan 2012

**Accepted:** 24 Jan 2013

### **Abstract**

**Introduction:** Despite slight toxicities of essential oils, they are not under strict control in many countries. Anethrum graveolens is widely consumed and its essential oils are at public reach. This study was designed to study essential oils of Anethrum graveolens.

**Methods:** The biological properties of pure and commercial essential oils of Anethrum graveolens were investigated. In fact, Ferrous ion chelating activity, superoxide anion radical scavenging property, tyrosinase inhibition and total flavonoids of the oils were determined.

**Results:** Chelating activity of 7.8 µg of EDTA was equivalent to 2 µg of the pure oil. The oils had superoxide anion radical scavenging activities which may be related to their total phenol and flavonoid contents. IC<sub>50</sub> of ferrous ion chelating, antityrosinase and superoxide anion radical scavenging activities of pure and commercial oils were 1.3, 1.4, 1 and (171.6, 589, 132) µg respectively. Antityrosinase activity of 6.4 µg pure oil was equal to 1000 µg of the commercial oil.

**Conclusion:** Anethrum possesses antioxidative and free radical scavenging properties. This oil chelates ferrous ions and superoxide radicals. It is effective in formation of reactive toxic products. Anethrum has good potentials regarding its applications in food and drug industries.

**Keywords:** Anethrum graveolens; Antioxidants; Anti tyrosinase; Essential oils; Ferrous compounds; Free radical scavengers; Iron chelating agents; Superoxides

#### **This paper should be cited as:**

Dadashpour M, Rasooli I, Sefidkon F, Bagher Rezaei M, Darvish Alipour Astaneh Sh. *Ferrous ion chelating, superoxide anion radical scavenging and tyrosinase inhibitory properties of pure and commercial essential oils of anethrum graveolens*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(1): 1-9.

**\*Corresponding author: Tel: + 98 2151212601, Email: rasooli@shahed.ac.ir**