

مطالعه برخی فعالیت های بیولوژیک کاسکوتا چاینسیس و دو میزبان آن

سمانه اسدی^۱، شیرین مرادخانی^{۱*}

مقاله پژوهشی

مقدمه: کاسکوتا با نام فارسی سس یک گیاه انگلی با اثرات و کاربردهای بیولوژیک متفاوت است. ترکیبات و اثرات سس بستگی به میزبانی دارد که روی آن رشد می نماید. عمده ترکیبات آن فنل ها و فلاونوئیدها می باشند. با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی این ترکیبات، هدف از این پژوهش بررسی فعالیت های آنتی اکسیدانی و محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی گیاه سس رویش یافته بر بادرنجبویه و خارشتر و دو میزبان آن می باشد.

روش بررسی: عصاره های آبی، هیدروالکلی سس رویش یافته بر هر دو پایه به طور جداگانه تهیه شد. هم چنین عصاره هیدروالکلی گیاهان میزبان هم تهیه شد. محتوای فنل و فلاونوئید تام به ترتیب با استفاده از سنجش های رنگ سنجی با معرف فولین - سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، توانایی عصاره ها در مهار رادیکال آزاد DPPH (-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) و ظرفیت آن ها در کاهندگی یون آهن Fe^{2+} به روش FRAP سنجیده شد.

نتایج: نتایج نشان دادند که همه عصاره های مورد بررسی دارای محتوای فنلی و فلاونوئیدی قابل توجهی هستند. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره های هیدروالکلی مشاهده شد که این نتیجه متناسب با میزان محتوای فنلی و فلاونوئیدی عصاره ها بود. ضمناً عصاره گیاهان میزبان غنی تر از عصاره انگل بودند. عصاره بادرنجبویه نیز از عصاره خارشتر از نظر هر چهار فاکتور مورد بررسی اثرات بهتری از خود نشان داد.

نتیجه گیری: با توجه به یافته های مطالعه حاضر، عصاره های هیدروالکلی گیاه سس غنی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است که ممکن است عامل فعالیت آنتی اکسیدانی نیز باشد. البته ترکیبات و اثرات گیاه به میزبان وابسته است. در مطالعات آتی می توان گیاه را در میزبان های متفاوتی رشد داد.

واژه های کلیدی: کاسکوتا، فعالیت آنتی اکسیدانی، فلاونوئید، FRAP، DPPH

ارجاع: اسدی سمانه، مرادخانی شیرین. مطالعه برخی فعالیت های بیولوژیک کاسکوتا چاینسیس و دو میزبان آن. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۲؛ ۳۱ (۱۰): ۷۸-۷۱۶۹.

۱- گروه فارماکوتوزی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و فرآورده های طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۲۳۴۱۳۴۱۱، پست الکترونیکی: sh.moradkhani@umsha.ac.ir، صندوق پستی: ۶۵۱۷۸۳۸۶۷۸

مقدمه

Cuscuta chinensis با نام فارسی سس، به‌طور گسترده‌ای در مناطق گرم و معتدل جهان مثل آفریقا، استرالیا و آسیا به‌ویژه آسیای جنوب شرقی وجود دارد (۱،۲). گیاه سس یک انگل سالپانه است که توسط دانه تولیدمثل می‌کند. سس هیچ‌گونه ریشه، برگ یا کلروفیل ندارد که از طریق آن‌ها بتواند غذای خود را تولید کند بلکه توسط زوائد خاصی به گیاه میزبان متصل شده و مواد مورد نیاز خود را از میزبان استخراج می‌کند (۳). این جنس بیشتر حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی مانند کامپفول، کوئرستین، هایپروزید و آستراگالین است. از ترکیبات دیگر گیاه می‌توان به پلی‌ساکاریدها، گلیکوزیدها، روغن‌های فرار و لیگنان‌ها اشاره کرد که نقش مهمی در فعالیت فارماکولوژیکی گیاه دارند (۴،۵). علی‌رغم ماهیت انگلی گیاه سس که می‌تواند برای گیاهانی که پایه رشد آن هستند مخرب و آسیب‌زا باشد، به‌عنوان یک گیاه دارویی مهم در پزشکی باستان مطرح است. مصرف خوراکی دانه‌های آن در طب سنتی چینی گزارش شده است. گیاه سس برای درمان بیماری‌های خودایمنی، بهبود تمایز و تکثیر سلول‌های استئوبلاست، پیش‌گیری و درمان بیماری‌های قلبی و عروقی کاربرد داشته است (۱). گیاه سس کاهش قابل توجهی را در سلول‌های سرطانی گردن رحم نشان داده است. دانه گیاه از طریق کاهش در سایتوکاین‌های التهابی و استرس اکسیداتیو، اثر ضد درد و ضدالتهابی در مدل حیوانی نشان دادند (۶). فنول‌ها از بزرگ‌ترین گروه‌های متابولیت ثانویه گیاهان به شمار می‌آیند که در اکثر ترکیبات طبیعی یافت می‌شوند. همچنین در صنایع غذایی از آن‌ها به‌عنوان عطر دهنده، طعم‌دهنده و رنگ دهنده می‌توان بهره گرفت. فنول‌ها شامل چند دسته مهم مانند ترکیبات فنولی ساده، تانن، کومارین، آنتراکینون، نفتوکینون، فلاون و فلاونوئید، آنتوسیانین، لیگنان و لیگنین هستند (۷). فلاونوئیدها هم به صورت آزاد و هم به فرم گلیکوزید، بزرگ‌ترین گروه فنول‌ها هستند (۸). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فلاونوئیدهای جدا شده از بذر گیاه سس عملکرد غدد درون ریز تخمدان در موش‌ها را بهبود بخشیدند (۹). فلاونوئیدها فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را از خود نشان

داده‌اند (۱۰). همچنین از فلاونوئیدها، اثرات درمانی دیگری از جمله جلوگیری از سقط جنین (۱۱)، اثر ضد پوکی استخوان (۱۲) و اثر بر سلول‌های سرطانی و تومور دیده شده است (۱۲،۱۳). فلاونوئیدها از اجزای اصلی گیاه سس می‌باشند. بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی سس رویش یافته بر گیاهان مختلف مانند رازیانه، گلرنگ، داتوره و ... نشان می‌دهد که میزان این ترکیبات باتوجه به میزبان متفاوت می‌باشد (۲،۴). از طرفی فلاونوئیدها ترکیباتی با پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. از آنجایی که آنتی‌اکسیدان‌ها در پیشگیری از بسیاری از بیماری‌ها نظیر دیابت، پیری، التهاب، سرطان، آترواسکلروز، صدمات کبدی، آلزایمر، پارکینسون و بیماری‌های عروق کرونر قلب مؤثر می‌باشند (۱۴). یافتن گیاهانی با اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی می‌تواند در کاهش سیر بسیار بیماری‌ها می‌توانند مؤثر باشد. گیاه *بادرنجبویه* با نام علمی *Melissa officinalis* متعلق به خانواده نعناعیان و گیاه خارشتر با نام علمی *Alhagi murarum* از خانواده کاسنی است. با توجه به ماهیت گیاه انگلی سس، کاشت و پرورش آن بر روی بعضی پایه‌ها مشکل می‌باشد. با توجه به اینکه بر روی سس رویش یافته بر روی پایه‌های *بادرنجبویه* و خارشتر مطالعاتی در این خصوص صورت نگرفته، در این مطالعه ابتدا محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی گیاه سس و دو گیاه میزبان و سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها به دو روش Ferric Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP) و 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

مواد شیمیایی و معرف‌ها: پودر DPPH، معرف آلومینیوم کلراید، سدیم استات، پودر TPTZ، سولفات آهن هفت آب، متانول، اتانول، روتین، پودر آسکوربیک اسید فریک کلراید ۶ آب، معرف فولین - سیوکالتو تولید شرکت مرک آلمان خریداری شد. سدیم بی‌کربنات، استیک آنیدرید، اسید سولفوریک، استیک اسید گلاسیال از شرکت پارس شیمی ایران تهیه شدند. اسید کلریدیک نیز از شرکت کیان کاوه ایران خریداری شد.

روی بن‌ماری قرار داده شد تا حلال آن کاملاً خارج گردد، سپس عصاره خشک شده تا زمان مصرف در یخچال آزمایشگاه نگهداری شد (۱۵).

تهیه عصاره آبی: عصاره‌گیری آبی از ۱۰ گرم پودر گیاه سس بادرنجبویه و ۱۰ گرم پودر گیاه سس خارشتر انجام شد. با توجه به روش‌های عصاره‌گیری سنتی و هم‌چنین تسریع‌رشد عصاره‌گیری و جلوگیری از کپک زدن، عصاره آبی به روش دم‌کردن تهیه شد. سپس بر روی شیکر قرار داده شد، عصاره حاصل ۳ مرتبه از کاغذ صافی عبور داده شد و در آخر در دستگاه فریز درایر در خلا و به‌وسیله سرما خشک شد و در شیشه محافظ نور و کاملاً بسته تا زمان استفاده در دمای یخچال ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی محتوای تام فنولی گیاه (Total Phenol):

غلظت‌های سریالی از روتین (استاندارد) و عصاره گیاه تهیه گردید. معرف فولین - سیوکالتنو به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد. سپس ۱۵۰ μL از هر رقت عصاره به (از ۶۲/۵ تا ۸۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به ۷۵۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتنو در میکروتیوب‌های جداگانه اضافه شد. بعد از ۱۰ دقیقه ۶۰۰ میکرولیتر از سدیم کربنات ۲ درصد به هر میکروتیوب اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد و نتایج برحسب انحراف معیار ± میانگین گزارش گردید. در نهایت محتوای تام فنولی گیاه بر حسب مقدار معادل میکروگرم روتین / گرم گیاه خشک اندازه‌گیری شد (۱۵).

بررسی محتوای تام فلاونوئیدی گیاه (Total

Flavonoid): به‌طور خلاصه، غلظت‌های سریالی از کوئرستین (استاندارد) و عصاره گیاه تهیه گردید، هر غلظت سه مرتبه تکرار شد. نیم میلی‌لیتر از سدیم استات یک مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیم کلراید ۱۰ درصد و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به نیم میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و استاندارد اضافه گردید. جذب مخلوط حاصل پس از ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. در

دستگاه‌ها: دستگاه‌های مورد استفاده به این شرح می‌باشند: دستگاه الیزا مارک synergy HDX (ساخت آلمان)، دستگاه روتاری مارک Laborta 4003 control-Heidolph (ساخت شرکت Heidolph آلمان)، ترازوی دیجیتالی مارک Sartorius CPA2245 (ساخت شرکت Sartorius آلمان)، بن ماری (ساخت شرکت Schutzart آلمان)، دستگاه فریز درایر (Korea Operon)، دستگاه سونیکاتور مارک Bandelin (ساخت شرکت فراز طب تجهیزات ایران).

تهیه و جمع‌آوری گیاه: گیاهان انگلی سس رویش یافته روی بادرنجبویه و خارشتر (به ترتیب: سس بادرنجبویه و سس خارشتر) به‌همراه دو پایه‌ای که روی آن رشد می‌کند (گیاه بادرنجبویه و خارشتر) در مجموعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی همدان کاشت و برداشت شد. همه گیاهان در دمای اتاق خشک گردیدند و تا زمان عصاره‌گیری در دمای اتاق نگهداری شدند. وزن کل نمونه‌های گیاهان سس بادرنجبویه، سس خارشتر، بادرنجبویه و خارشتر به ترتیب ۲۰، ۸۰، ۸۵ و ۸۰ گرم تعیین شد. کاشت و پرورش سس بر روی پایه خارشتر پیش از این هم در مقالات کار شده است ولی کاشت بر روی پایه بادرنجبویه مشکل بوده و هم‌چنین در بررسی مقالات قبلی گزارشی از آن یافت نشد.

عصاره‌گیری

تهیه عصاره هیدروالکلی: برای عصاره‌گیری از گیاه سس و دو پایه‌ای که روی آن رشد می‌کند، ابتدا گیاه انگلی و پایه آن را پاک کرده و از هم جدا می‌کنیم؛ گیاه و پایه را به وسیله آسیاب پودر می‌کنیم. سپس به ترتیب ۲۰، ۸۰، ۸۵ و ۸۰ گرم از گیاهان سس بادرنجبویه، سس خارشتر، بادرنجبویه و خارشتر پودر شده را به وسیله ترازو توزین کرده و در ارنل می‌ریزیم. محلول ۲۰:۸۰ از آب: اتانول تهیه شد و سپس ۵۰۰ سی سی از محلول تهیه شده به گیاهان موجود در ارنل‌ها اضافه شد. ارنل حاوی محلول، با فویل آلومینیومی و پارافیلیم پوشانده شد. پس از ۳ روز، محلول روئی ابتدا توسط کاغذ صافی صاف گردید و سپس به‌وسیله دستگاه روتاری تغلیظ شد، این عمل ۳ بار تکرار شد. در نهایت عصاره تغلیظ شده در کریستالیزور ریخته و بر

برای محاسبه درصد مهار DPPH موجود در هر یک از چاهک‌ها از فرمولی که در پایین ذکر شده استفاده گردید:

$$\text{درصد مهار رادیکال DPPH} = \frac{OD_c - (OD_s - OD_B)}{OD_c} \times 100$$

- OD_C: میزان جذب کنترل (Control)

- OD_B: میزان جذب بلانک (Blank)

- OD_S: میزان جذب نمونه (Sample)

پس از به‌دست آوردن درصد مهار رادیکالی DPPH، مقدار IC₅₀ عصاره و آسکوربیک اسید نیز تعیین شد. IC₅₀ بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود و مقدار آن از طریق رسم مقادیر مختلف درصد مهار رادیکال DPPH بر حسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون به دست می‌آید. نهایتاً نتایج IC₅₀ به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید (۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری

برای هر دو تست انجام شده، آزمایش ۳ بار تکرار شد. نتایج به‌دست آمده میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار بودند. منحنی کالیبراسیون ترکیبات استاندارد با برنامه Microsoft Excel رسم گردید و محاسبات IC₅₀ با استفاده از نرم افزار GraphPad. Prism8 انجام شد (۱۶).

نتایج

نتایج بازده عصاره‌گیری، محتوای تام فنولی و محتوای تام فلاونوئیدی گیاه در جدول ۱ آورده شده است.

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه: نتایج بررسی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و همچنین سنجش توانایی آنتی‌اکسیدانی از طریق احیاکنندگی یون آهن عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان پایه (بادرنجبویه- خارشتر) و سس رویش یافته بر روی این دو پایه به شرح جدول ۲ می‌باشد.

پایان، محتوای تام فلاونوئیدی گیاه بر حسب مقدار معادل میکروگرم کوئرستین/گرم گیاه خشک محاسبه شد و بر حسب میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید (۱۵).

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در روش FRAP: برای انجام این تست از معرف FRAP استفاده شد. این معرف از طریق مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (با pH=3.6) با ۲/۵ میلی‌لیتر TPTZ ده میلی‌مولار در هیدروکلریک اسید ۴۰ میلی‌مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر آهن کلراید ۶ آبه بیست میلی‌مولار تهیه شد. به عنوان محلول استاندارد از سولفات آهن ۷ آبه (FeSO₄ .7H₂O) استفاده شد. ساخت معرف و رقت‌سازی در روز انجام آزمایش انجام شد. پنجاه میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره و همچنین استاندارد به‌صورت جداگانه به ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف FRAP اضافه شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. در نهایت جذب پلیت در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. مراحل کار برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد و نتایج بر حسب میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید (۱۶).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در روش DPPH:

جهت سنجش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ۷۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و ترکیب استاندارد (ویتامین ث) به‌صورت جداگانه به ۳۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۳ میلی‌مولار رادیکال‌های آزاد DPPH اضافه شد. مخلوط ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. مراحل کار برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد و نتایج به‌صورت م ± میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

جدول ۱: بازده عصاره‌گیری، محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی

| عصاره | بازده عصاره‌گیری درصد وزنی-وزنی | محتوای فنولی میکرو گرم روتین /گرم گیاه خشک | محتوای فلاونوئیدی میکرو گرم کوئرستین /گرم گیاه خشک |
|--------------------------|------------------------------------|--|--|
| هیدروالکلی بادرنجبویه | ۱۹/۰۸٪ | ۵۷۳/۳۳±۸۰/۱۴ | ۴۴/۵۰±۱/۶۷ |
| هیدروالکلی خارشتر | ۲۲/۳٪ | ۱۸۵/۴۲±۱۵/۲۶ | ۳۵/۴۲±۲/۲۳ |
| هیدروالکلی سس بادرنجبویه | ۲۸٪ | ۱۰۹/۷۵±۸/۶۹ | ۱۸/۱۳±۱/۵۹ |
| هیدروالکلی سس خارشتر | ۳۶/۳٪ | ۱۳۵/۸۱±۱۵/۵۰ | ۲۷/۹۳±۱/۹۹ |
| آبی سس بادرنجبویه | ۱۱/۲٪ | ۷۸/۶۰±۱۶/۱ | ۱۴/۰۲۳±۱/۳۲ |
| آبی سس خارشتر | ۱۳/۹۵٪ | ۹۱/۵۶±۱۴/۸۰۳ | ۱۷/۳۷±۳/۲۷ |

*مقادیر بر اساس Mean±SEM بیان شده است. هر غلظت سه مرتبه تکرار شد.

جدول ۲: میزان توانایی احیاکنندگی یون آهن و مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره هیدروالکلی گیاهان بادرنجبویه، خارشتر، سس رویش یافته بر روی پایه بادرنجبویه و سس رویش یافته بر روی پایه خارشتر

| شماره هرباریومی | عصاره هیدروالکلی | محتوای FRAP (میکرومول آهن در هر گرم عصاره) | میزان IC ₅₀ در تست DPPH (میکروگرم/میلی لیتر) |
|-----------------|------------------|---|--|
| ۳۴۶ | بادرنجبویه | ۶/۸۳±۰/۵۹ | ۷۷/۱۴± ۴/۳۸ |
| ۴۱۲ | خارشتر | ۴/۷۱±۰/۰۳۵ | ۲۹۳/۱۵± ۸۸/۸۸ |
| سس-۳۴۶ | سس بادرنجبویه | ۳/۲±۰/۱۴ | ۵۵۵/۲۵± ۱۶/۳۵ |
| سس-۴۱۲ | سس خارشتر | ۴/۰۱۴±۰/۵۰۸ | ۴۷۴± ۲۴/۰۴ |
| - | ویتامین ث | - | ۳۴/۹۴± ۰/۴۸ |

*مقادیر به صورت Mean±SEM بیان شده است. هر غلظت سه مرتبه تکرار شد.

به تعیین محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه سس و عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه و خارشتر پرداخته شد. مقادیر فنول با استفاده از معرف فولین-سیوکالتنو و مقادیر فلاونوئید با معرف آلومینوم کلراید مشخص شد. همانگونه که از نتایج این مطالعه پیداست، عصاره‌های هیدروالکلی دارای محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالاتری نسبت به عصاره‌های آبی هستند. با توجه به ماهیت عصاره‌های هیدروالکلی توانایی استخراج طیف وسیع‌تری از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را دارا هستند. دلیل استفاده وسیع‌تر عصاره‌های هیدروالکلی نسبت به سایر عصاره‌ها هم همین مطلب می‌باشد. با توجه به این که به‌صورت سنتی از عصاره‌های آبی گیاهان استفاده می‌شود، در این مطالعه هم عصاره آبی گیاه سس بررسی شد. نتایج این بررسی موید محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالاتر عصاره‌های هیدروالکلی می‌باشد. از طرفی عصاره

بحث

در این مطالعه گیاهان بادرنجبویه، خارشتر به عنوان گیاهان پایه و گیاه انگلی سس که جداگانه بر روی هر یک از دو پایه رشد داده شده بود، از نظر محتوای فنلی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP و مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بررسی شدند. فنل‌ها، فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها و تانن‌ها ترکیباتی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. از طرفی این آنتی‌اکسیدان‌ها با اثرات بیولوژیکی مانند اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اسکلروزیس در ارتباط می‌باشند (۱۵). به همین دلیل بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه سس در این مطالعه انجام شده است. از طرفی، با توجه به ماهیت انگلی گیاه سس و وابستگی ترکیبات آن به گیاه میزبانی که بر روی آن رشد می‌نماید، مطالعات بر روی گیاهان پایه هم صورت گرفته است. در این مطالعه ابتدا

عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در آزمایشگاه، متدها و روش‌های مختلفی طراحی شده است زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها با مکانیسم‌های مختلفی عمل می‌کنند از این رو انتخاب یک روش به عنوان مناسب‌ترین روش کار دشواری است و تنها یک متد نمی‌تواند جنبه‌های گوناگون عملکرد یک آنتی‌اکسیدان را نشان دهد (۲۲). با توجه به نتایج مطالعات قبلی و گزارش شده در اسکوپوس، تست‌های DPPH و FRAP دو متد پذیرفته شده پرکاربرد برای بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. در این تحقیق نیز علاوه بر اندازه‌گیری محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی گیاه به روش رنگ‌سنجی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه به‌وسیله متدهای FRAP و DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه جهت ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها متد FRAP مورد استفاده قرار گرفت. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد عصاره گیاهان میزبان نسبت به انگل سس دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری می‌باشند. هم‌چنین عصاره هیدروالکلی گیاه بادرنجبویه در مقایسه با تمامی عصاره‌ها در تست FRAP هم دارای بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در این روش ترکیب استاندارد ویتامین ث دارای بالاترین اثر مهاری رادیکال‌های آزاد می‌باشد و عصاره گیاهان میزبان نسبت به انگل سس دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی بهتری می‌باشند. هم‌چنین گیاه میزبان بادرنجبویه بهترین اثر آنتی‌اکسیدانی را داراست (۲۴، ۲۳). نکته حائز اهمیت دیگر این است که گرچه عصاره گیاه بادرنجبویه نسبت به خارشتر از نظر هر چهار متغیر مورد مطالعه یعنی محتوای تام فنولی، فلاونوئیدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد وضعیت بهتری دارد، اما در مورد گیاه انگلی سس وضعیت برعکس می‌باشد. عصاره گیاه سس رویش یافته بر روی گیاه خارشتر از نظر هر چهار متغیر نسبت به عصاره سس رویش یافته بر بادرنجبویه بهتر است. این مطلب علاوه بر این که تفاوت میزبان‌ها را در تفاوت پروفایل متابولیک انگل سس نشان می‌دهد، هم‌چنین نشان می‌دهد که انگل بسته به میزبان می‌تواند دارای فرایند خودتنظیمی باشد. این یافته در مطالعه انجام شده توسط کومار و همکاران نیز گزارش شده

هیدروالکلی گیاهان پایه یا میزبان نسبت به عصاره انگل سس که روی آن‌ها رشد یافته است، دارای محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی بالاتری می‌باشد. هم‌چنین گیاه بادرنجبویه نسبت به گیاه خارشتر محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالاتری را داراست. بادرنجبویه از گیاهان خانواده نعنا و خارشتر متعلق به خانواده کاسنی می‌باشد. در مطالعات مختلف مشخص شده است که نعنایان غنی از ترکیبات فنولی می‌باشند (۱۶، ۱۵). مطالعات انجام شده در این خصوص اندک می‌باشد و در ادامه به تعدادی از آن‌ها اشاره شده است. علیچانی‌ها و همکاران در سال ۲۰۱۸، عصاره آبی گیاه سس را بررسی نمودند. در این مطالعه عصاره آبی به طریق دم کردن با آب جوش تهیه شد. محتوای فنولی و فلاونوئیدی در این مطالعه به ترتیب $9/02 \pm 55/61$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و $1/2 \pm 25/27$ میلی‌گرم کاتشین بر گرم می‌باشد (۱۷). جعفریان و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴، عصاره هیدروالکلی و کلروفومی گیاه سس را بررسی نمودند. محتوای تام فنولی گزارش شده برای عصاره هیدروالکلی و کلروفومی به ترتیب $4/11 \pm 56/08$ و $0/38 \pm 4/81$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک می‌باشد (۱۸). در مطالعه‌ای در کشور تایوان، مینگ کوئن و همکاران در سال ۲۰۱۸، عصاره متانولی گیاه سس را با استفاده از سونیکاتور تهیه نموده و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن را به ترتیب $1/58 \pm 76$ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و $0/22 \pm 20/07$ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش نمودند (۱۹). آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم سلول‌ها را در برابر عوارض جانبی زنبیوتیک‌ها، داروها، مواد کارسینوژن و واکنش‌های رادیکالی محافظت می‌کنند (۲۰). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنولی هستند. محتوای فنولی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته می‌باشند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان فراوانی در گیاهان موجود می‌باشند و شناسایی تک تک آن‌ها کاری دشوار می‌باشد بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با سنجش‌های متعددی ارزیابی می‌شود (۲۱). جهت مطالعه و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد

سس را بر روی رده سلولی لوسمی لنفوبلاستیک با IC₅₀ معادل ۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش نمودند (۱۳).

نتیجه گیری

در مطالعه‌ای که انجام شد، مشخص گردید عصاره‌های مورد مطالعه حاوی محتوی فنولی بیشتری در مقایسه با محتوی فلاونوئیدی می‌باشند. هم‌چنین عصاره هیدروالکلی در مقایسه با عصاره آبی غنی تر از ترکیبات فنلی می‌باشد. عصاره گیاهان میزبان (بادرنجبویه - خارشتر) نسبت به گیاه انگلی سس دارای محتوای فنلی و فلاونوئیدی بیشتری می‌باشند. از نقاط قوت این مطالعه بررسی همزمان اثرات گیاه به همراه گیاهان میزبان می‌باشد. در نتیجه از این گیاهان می‌توان به عنوان منابع ترکیبات فلاونوئیدی، منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده نمود مثلاً در صنایع غذایی به خصوص روغن‌ها به عنوان ماده محافظ و در صنایع دارویی، آرایشی - بهداشتی به عنوان آنتی‌اکسیدان بهره جست.

سپاس‌گزاری

مقاله حاضر حاصل پایان نامه دانشجوی سمانه اسدی می‌باشد. نویسندگان از حمایت‌های مالی معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان مراتب قدردانی و تشکر را اعلام می‌دارد. (شماره قرارداد طرح تحقیقاتی: ۹۵۱۱۲۶۷۱۸۲) حامی مالی: معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تعارض در منافع: وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی همدان تایید شده است (شماره: ۱۶/۳۵/۱/۷۰۹۴/پ).

مشارکت نویسندگان

شیرین مرادخانی در ارائه ایده، طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل داده‌ها و سمانه اسدی در جمع‌آوری داده‌ها مشارکت داشته و همه نویسندگان در تدوین، ویرایش اولیه و نهایی مقاله و پاسخگویی به سوالات مرتبط با مقاله سهیم هستند.

است (۲۵). گرچه مطالعات متعدد دیگری در این خصوص انجام شده و همه موید این مطلب است که ترکیبات گیاه سس بسته به میزبان متفاوت می‌باشد (۴). مینگ کوئن و همکاران نیز در خصوص اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه سس به روش DPPH، $11/18 \pm 0/46$ میکروگرم بر میلی‌لیتر را گزارش نموده‌اند (۱۹). امین و همکاران هم در بررسی گیاه سس IC₅₀ ۲۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر را گزارش نمودند (۲۶). از محدودیت‌های مطالعه حاضر در مرحله انجام، مشکل بودن پرورش گیاه بر روی گیاهان پایه به ویژه گیاه بادرنجبویه می‌باشد. این مطلب واضحاً از میزان گیاهان ذکر شده در روش انجام کار در این مطالعه پیداست. به نظر می‌رسد از طرفی مطالعات مختلف وابستگی ترکیبات و اثرات گیاه سس را به گیاه میزبان قویاً تایید می‌نمایند (۲، ۱۷). بنابراین هر مطالعه‌ای بر روی این گیاه باید با ذکر پایه رویش آن باشد تا مقایسه نتایج و یافته‌های مطالعات با هم امکان‌پذیر باشد. در هیچ یک از مطالعات ذکر شده در فوق، به پایه رویش گیاه اشاره‌ای نشده است. هم‌چنین استانداردهای مورد استفاده مطالعات فوق با مطالعه حاضر متفاوت می‌باشد که خود دلیل دیگری بر محدود نمودن امکان مقایسه نتایج با یکدیگر می‌باشد. محدودیت دیگر، تعداد اندک مطالعات انجام شده در این خصوص می‌باشد. در مطالعه حاضر، اثرات آنتی‌اکسیدانی و محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی گیاه سس و گیاهان میزبان گزارش شده است. در تمامی موارد گیاه سس نسبت به پایه ضعیف‌تر بوده است. این یافته متناقض با طیف وسیع اثرات گیاه انگلی سس نمی‌باشد. در تایید این مطلب، می‌توان به مطالعه کریمی درمانی و همکاران اشاره نمود. در این مطالعه که در سال ۲۰۲۱ انجام شد، عصاره هیدروالکلی گیاه سس واجد اثرات سمیت سلولی بر روی رده‌های سلول‌های سرطانی MCF7 (سرطان پستان) و PC3 (سرطان پروستات) می‌باشد که مکانیسم آن از طریق القای آپوپتوز و فعالیت لاکتات دهیدروژناز می‌باشد (۲۷). هم‌چنین در مطالعه دیگری زراعتی و همکاران اثر عصاره تام گیاه

References:

- 1-Wang J, Tan D, Wei G, Guo Y, Chen C, Zhu H, et al. *Studies on the Chemical Constituents of Cuscuta Chinensis*. Chem Nat Compd 2016; 52(6): 1133-6.
- 2-Naseri M, Shekarchi M, Kondri BM, Mehdipour HH, Abdi L, pour Farzib M, et al. *Finger Printing and Quantitative Analysis of Cuscuta Chinensis Flavonoid Contents from Different Hosts by RP-HPLC*. Food Sci Nutr 2014; 5(10): 914-21.
- 3-Guo C, Qin L, Ma Y. et al. *Integrated metabolomic and transcriptomic analyses of the parasitic plant Cuscuta japonica Choisy on host and non-host plants*. BMC Plant Biol 2022; 22: 393.
- 4-Donnapée S, Li J, Yang X, Ge AH, Donkor PO, Gao XM, et al. *Cuscuta Chinensis Lam.: A Systematic Review on Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of an Important Traditional Herbal Medicine*. J Ethnopharmacol 2014; 157: 292-308.
- 5-Canivenc-Lavier M-C, Bennetau-Pelissero C. *Phytoestrogens and Health Effects*. Nutrients 2023; 15(2): 317.
- 6-Mobli M, Qaraaty M, Amin G, Haririan I, Hajimahmoodi M, Rahimi R. *Scientific Evaluation of Medicinal Plants Used for the Treatment of Abnormal Uterine Bleeding by Avicenna*. Arch Gynecol Obstet 2015; 292(1): 21-35.
- 7-Cosme P, Rodríguez AB, Espino J, Garrido M. *Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications*. Antioxidants 2020; 9(12):1263.
- 8-Banjarnahor SD, Artanti N. *Antioxidant Properties of Flavonoids*. Med J Indones 2014; 23(4): 239-44.
- 9-Shu J, Li L, Yu H, Zhang D. *Fertility-Enhancing Potential of Ethanol Extract of Cuscuta Chinensis Seeds in a Rat Model of Unilateral Cryptorchidism*. Trop J Pharm Res 2021; 20(5): 995-1002.
- 10-Brunetti C, Di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. *Flavonoids as Antioxidants and Developmental Regulators: Relative Significance in Plants and Humans*. Int J Mol Sci 2013; 14(2): 3540-55.
- 11-Barreca MM, Alessandro R, Corrado C. *Effects of Flavonoids on Cancer, Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases: Role of NF-Kb Signaling Pathway*. Int J Mol Sci 2022; 24(11); 9236.
- 12-Yang L, Chen Q, Wang F, Zhang G. *Antiosteoporotic Compounds from Seeds of Cuscuta Chinensis*. J ethnopharmacol 2011; 135(2): 553-60.
- 13-Zeraati F, Zamani AR, Goudarzi M, Malakouti HS, Razaghi K. *In Vitro Cytotoxic Effects of Cuscuta Chinensis Whole Extract on Human Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Line*. IJMS 2015; 35(4): 310-4.
- 14-Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. *Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases*. Molecules 2018; 24(8): 1583.
- 15-Bahramloo M, Moradkhani S, Sedaghat Hamedani M. *Phytochemical Evaluation and Antioxidant Effects of the Essential Oil and Distillates of Nepeta Crispa Willd*. JMP 2023; 22(86): 27-43.
- 16-Motaghd M, Nili-Ahmadabadi A, Moradkhani S. *Assessment of the Antioxidative Potential of Nepeta Crispa Willd. (Lamiaceae) and its Effects on Oxidative Stability of Virgin Sunflower Oil Under Accelerated Storage Conditions*. JMP 2022; 21(82): 13-27.

- 17-Alijaniha F, Emadi F, Naseri M, Bahaedin Z. *Preliminary Phytochemical and Physicochemical Study of Cuscuta Chinensis L. Aqueous Extract Compared with Previous Studies*. Complement Med J 2023; 13(1): 3-9.
- 18-Jafarian AB, Ghannadi A, Mohebi B. *Cytotoxic Effects of Chloroform and Hydroalcoholic Extracts of Aerial Parts of Cuscuta Chinensis and Cuscuta Epithymum on Hela, HT29 and MDA-MB-468 Tumor Cells*. Res Pharm Sci 2014; 9(2): 115-22.
- 19-Lin MK, Lee MS, Huang HC, Cheng TJ, Cheng YD, Wu CR. *Cuscuta Chinensis and C. Campestris Attenuate Scopolamine-Induced Memory Deficit and Oxidative Damage in Mice*. Molecules 2018; 23(12): 3060.
- 20-Ranjbaran P, Moradkhani S. *Iron Chelating Activity of Nepeta Crispa Willd., an Endemic Plant in the West of Iran*. Avicenna J Med Biochem 2022; 10(1): 65-70.
- 21-Yazici SO, Ozmen I, Celikoglu U, Ozcelik H, Genc H. *In Vitro Antioxidant Activities of Extracts from Some Nepeta Species*. Int J Health Nutr 2012; 3(1): 8-12.
- 22-Soleimani Shadvar M, Moradkhani S. *Chemical Composition of the Essential Oils and Antioxidant Capacity Evaluation of Echinophora Platyloba DC. And Falcaria Vulgaris Bernh. Growing in Hamadan Province of Iran*. JMP 2022; 21(83): 19-34.
- 23-Ražná K, Sawinska Z, Ivanišová E, Vukovic N, Terentjeva M, Stričik M, et al. *Properties of Ginkgo Biloba L.: Antioxidant Characterization, Antimicrobial Activities, and Genomic MicroRNA Based Marker Fingerprints*. Int J Mol Sci 2020; 21(9): 3087.
- 24-Tewari LM, Upreti BM, Tewari G, Singh MK, Nailwal T. *Comparative in Vitro Antioxidant Activity of Extracts of Aerial Parts of Ginkgo Biloba L. From Kumaun Himalaya*. World J Pharm Res 2017; 6(13): 654-66.
- 25-Kumar K, Amir R. *The Effect of a Host on the Primary Metabolic Profiling of Cuscuta Campestris' Main Organs, Haustoria, Stem and Flower*. Plants 2021; 10(10): 2098.
- 26-Amin G, Kondori BM, Vazirian M, Abdi L, Arabshahi G. *Evaluation of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Total Extract of Cuscuta Chinensis Lam. Used In Traditional Medicine*. Planta Med 2010; 76(12): 147.
- 27-Dermani FK, Saidijam M, Najafi R, Moradkhani S, Mohammadzaheri Z, Beiranvand N, et al. *Cytotoxic Effects of Hydroalcoholic Extract of Cuscuta Chinensis on PC3 and MCF7 Cancer Cell Lines*. Avicenna J Phytomed 2021; 11(3): 258-68.

THE STUDY of SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES of *CUSCUTA CHINENSIS* and ITS TWO HOSTS

Samaneh Asadi¹, Shirin Moradkhani^{*2}

Original Article

Introduction: *Cuscuta*, (Ces as Persian name) is a parasitic plant with different biological effects and applications. The metabolic profile and effects of the Ces depend on the host on which it grows. Its main components are phenols and flavonoids. Considering the antioxidant effects of these compounds, the purpose of this research was to investigate the antioxidant activities and total phenolic and flavonoid contents of *Cuscuta* as well as *Mellissa officinalis* and *Alhaji murarum* as hosts.

Methods: Aqueous, hydroalcoholic extracts of the *Cuscuta* grown on two hosts were prepared separately. Hydroalcoholic extracts of host plants were also prepared. Total phenolic and flavonoid contents were evaluated using Folin- Ciocalteu reagent and aluminum chloride colorimetric assays, respectively. In order to investigate the antioxidant activity, the ability of extracts to scavenge DPPH free radical (DPPH 2,2-(diphenyl-1-picrylhydrazyl) and their capacity to reduce iron 3-ion were measured by FRAP method.

Results: The results showed that all the examined extracts have significant phenolic and flavonoid contents. The highest antioxidant activity was observed in hydroalcoholic extracts, which was proportional to the amount of phenolic and flavonoid contents in the extracts. In addition, the extracts of host plants were richer than the parasite extracts. The extract of *Mellissa officinalis* showed better effects than *Alhaji murarum* in all of four investigated factors.

Conclusion: According to the findings of the present study, the hydroalcoholic extracts of the *Cuscuta* plants are rich in phenolic and flavonoid compounds, which may be the cause of the antioxidant activity. Of course, the compounds and effects of *Cuscuta* depend on the host. In future studies, the plant can be grown in different hosts.

Keywords: *Cuscuta*, Antioxidant Activity, Flavonoid, FRAP, DPPH.

Citation: Asadi S, Moradkhani Sh. **The Study of Some Biological Activities of *Cuscuta Chinensis* and its Two Hosts.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2024; 31(10): 7169-78.

¹Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Medicinal Plants and Natural Products Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09123413411, email: sh.moradkhani@umsha.ac.ir