تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای فلاونوئید و پلی فنل عصاره استخراج شده در سه گیاه *Humulus lupulus* , *Cynara Scolymus* و *Kelussia odoratissima Mozaffarian*

نرگس جعفری‌دینانی[۱]*
غلامعلی نادری[۲]
نجمه سلطان محمدی[۳]

تاریخ دریافت : ۹۱/٤/٤
تاریخ تصویب:۹۲/۳/۵

چکیده

رادیکالهای آزاد با ایجاد تنش‌های اکسیداتیو در بیماریهای مزمن مثل سرطان، آترواسکلروز، دیابت و همچنین در فرایند پیری درگیر می‌شوند. آنتی اکسیدانها بهترین راه مقابله با رادیکالهای آزاد و گیاهان منابعی سرشار از آنتی اکسیدانهای طبیعی هستند .

[۱] نویسنده مسئول : دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری . دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. مرکز تحقیقات پرفشاری اصفهان، پژوهشکده قلب و عروق اصفهان .njdinani@gmail.com
[۲] دانشیار ، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق، پژوهشکده قلب و عروق اصفهان. بیوشیمی بالینی.
[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم زیستی، دانشگاه کلن آلمان

این مطالعه به منظور تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره تهیه شده از برگ‌های ۳ گیاه کنگر، کرفس و رازک که به دو روش سوکسله و خیساندن آماده شده اند انجام شد.

پس از تهیه عصاره، میزان فلاونوئید و پلی فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی تعیین شدند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس متد کمی فسفومولبیدینیوم و بصورت معادل با اسید اسکوربیک و کوئرستین بیان شد.

بر اساس نتایج بدست آمده ترتیب این ۳ گیاه بر اساس میزان ترکیبات فلاونوئید و پلی فنل عبارت است از رازک – کنگر- کرفس و میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی عبارت است از رازک- کرفس- کنگر. مقایسه نتایج روش خیساندن و سوکسله نشان می دهد که در دو گیاه کنگر و کرفس خیساندن موثرتر از سوکسله و در رازک روش سوکسله موثرتر از خیساندن است.

نتایج پیشنهاد می کنند که میزان ترکیبات فلاونوئید و پلی فنلیک تنها عامل تاثیرگذار بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیستند. همچنین برای استخراج مناسبتر ترکیبات آنتی اکسیدان، تعیین نوع روش عصاره گیری وابسته به گیاه می باشد

واژه های کلیدی: رادیکالهای آزاد، ظرفیت آنتی اکسیدانی، کرفس، کنگر و رازک

مقدمه

واکنشهای اکسیداسیون از جمله واکنشهای بسیار ضروری برای تولید انرژی در تمام ارگانیسم‌های زنده می‌باشند .Halliwell, B (and Gutteridge, 2007). واکنش‌های اکسیداسیون و تولید واکنشگرهای فعال بوسیله حضور آنزیم‌های آندوژنی مثل سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز و کاتالاز و وجود آنتی اکسیدان‌های مثل ویتامین‌های A، E و C کاملا تحت کنترل هستند. بنابراین در شرایط طبیعی در سیستم‌های زنده و پویا بین حالت اکسیدانت و آنتی‌اکسیدانت یک حالت تعادل وجود دارد(Reiter et al,1999). نقص در مکانیسم‌های دفاعی یا تولید بیش از حد واکنشگرهای شرایط ردوکس تعادل بین

حالت اکسیدانت و آنتی اکسیدانت را به هم می‌زند و با ایجاد شرایط پاتولوژیک سبب تسریع فرایند پیری و همچنین زمینه‌ساز ایجاد بیماری‌های نورودژنراتیو، التهابی، سرطان‌ها، آترواسکلروز و دیابت می‌شود (Brenneisen et al.,2005).

کشف جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها به وسیله ترکیبات فنولی در سالهای ۱۹٤۰ منجر به ساخت و استفاده از انتی‌اکسیدانهای سنتتیک در صنایع غذایی شد . خصوصیات فیزیکی آنتی‌اکسیدانهای سنتتیک اعم از فرار بودن، عدم پایداری در دمای بالا و همچنین تجمع در بدن و ایجاد صدمات کبدی و سرطانی توجهات را به سمت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای سنتتیک برد(Whysner et al., 1994) .

افزایش علاقه به استفاده از انتی‌اکسیدان‌های طبیعی و کارآیی بالای ترکیبات گیاهی در ایجاد خصوصیات انتی اکسیداتیو به علت حضور ترکیبات فنولی بویژه اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها (Chlopcikova et al., 2004 و Fecka et al., 2007) ما را بر آن داشت تا خصوصیات آنتی‌اکسیدانی کرفس کوهی، رازک و کنگر را در سیستم‌های اکسیداتیو مختلف بررسی نماییم که شرح مختصری از مشخصات و ویژگیهای این گیاهان آورده شده است.

Kelussia یکی از جدیدترین جنس های خانواده چتریان و شامل فقط یک گونه *K. odoratissima* است که فقط در ایران رشد می کند. این گونه دارویی خودرو اندمیک نواحی غربی ایران است و کرفس کوهی خوانده می شود. بخش های هوایی گیاه به عنوان چاشنی استفاده می شود و ارام بخش است (Ahmadi et al., 2007).

رازک با نام علمی *Humulus lupulus* L. از زمانهای قدیم در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی رشد می کرده است. ازریشه های جوان آن بعنوان سبزی و ازگل های خشک به خاطر اثرات ناکروتیک خفیف و اعمال تسکینی در معالجه دندان درد، گوش درد و دردهای عصبی استفاده می شده است. امروزه از رازک بعنوان مسکن و گیاهی با ویژگیهای هیپوتونیک، انتی تومور استفاده می شود(Haas, 1995)

کنگر با نام علمی *Cynara Scolymus* L. یکی از قدیمی ترین گیاهان دارویی است. این گیاه برای مصریهای قدیم شناخته شده بوده و یونانیها و رومانیها بعنوان اهداف گوارشی از آن استفاده می کردند. در کلینیک ترایال از آن بعنوان ضد هاضمه و پایین آورنده چربی استفاده می شود (Zapolska-Downar, 2002). اسیدهای فنولی این گیاه اثرات ضد افزایش چربی خون و الکلهای فنولیک مثل سینارین سبب تحریک تولید صفرا می شوند.

همچنین فلاونوئیدهای مثل کافئیک اسید در این گیاه دیده می شوند که فعالیت حفاظتی بر روی کبد دارند(Feyza, 2009).

مواد و روشها

تهیه گیاه و عصاره گیری: پس ازجمع‌آوری گیاهان مورد نظر از مناطق کوهستانی زاگرس در چهارمحال بختیاری(شهرکرد)، بخشهای قابل استفاده از هر گیاه توسط دستگاه خرد کننده به صورت پودر در آورده شد. هم اکنون این گیاهان با کدهای هرباریومی ۲۰۲۲ (کرفس کوهی)، ۱۵۹۸(رازک) و ۱٤٦٧(کنگر) در هرباریوم گروه فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری می‌شود. برای تهیه عصاره از روش خیساندن و سوکسله استفاده شد در روش خیساندن ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه در اتانول ۷۰ به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر و در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا عمل خیساندن کامل و ترکیبات گیاه از آن خارج گردد. در روش سوکسله ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه در اتانول ۷۰ به مدت ٥ ساعت سوکسله گردید. محلول حاصل از صاف نمودن عصاره توسط کاغذ صافی در دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ و سپس خشک گردید. این عصاره در شیشه های تیره رنگ و در دمای ۲۰- برای مراحل بعدی آزمایش نگهداری گردید.

سنجش کل فنل

محتوای پلی فنل ها با متد رنگ سنجی فولین – سیوکالتو اندازه گیری می شود. ۱۰۰ µl از هر عصاره با ۲۰۰ µl معرف فولین سیوکالتو ۵۰٪ و ۳/۱٦ µl آب به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه وسپس کردن µl ٦۰۰ محلول کربنات سدیم ۲۰٪ به آنها اضاقه شد. بعد از ۲ ساعت انکوباسیون در دمای اتاق جذب در ۷٦٥ nm اندازه گیری شد و در مقایسه با منحنی استاندارد gallic acid مقدار پلی فنل بصورت معادل گرمی گالیک اسید در گرم پودر خشک در مرحله انتهایی عصاره گیری بیان شد. منحنی استاندارد بر اساس غلظت های m ٥۰g/ml، ۱۰۰، ۲۰۰ ، ۳۰۰ و ٤۰۰ گالیک اسید رسم شد(Kiselova, 2006).

اندازه گیری میزان فلاونوئید

میزان فلانوئید با روش رنگ سنجی آلومنیوم کلراید سنجش شد. ٥۰۰µl عصاره همراه با ۱٥۰ µl NaNo2 ٥ به مدت ٥ دقیقه انکوبه و سپس به آن ۱٥۰µl آلومنیوم کلراید ۱۰ درصد و ٦ دقیقه cانکوبه گردید. سپس به آن سود ۱ مولار اضافه و بعد از مخلوط نمودن کامل، جذب در مقابل بلانک در طول موج ٥۱۰nm خوانده شد . میزان کل فلاونوئید در عصاره به صورت میلی گرم معادل کوئرسیتین بیان شد. منحنی استاندارد بر

اساس غلظت های ۵۰g/ml m، ۱۰۰، ۲۰۰ ، ۳۰۰ و ۴۰۰ کوئرسیتین رسم شد(Liu et al., 2009).

اندازگیری ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره

محلول شامل آمونیوم مولبیدات۴mM، فسفات سدیم ۲۸mM و اسید سولفوریک ۶۰۰mM با نمونه عصاره به مدت ۹۰ دقیقه در۹۰ °c انکوبه شد. بعد از خنک شدن، جذب در ۶۹۵nm خوانده شد. محلول اسید اسکوربیک و کوئرسیتین به عنوان استاندارد به کار رفت و ظرفیت کاهش به عنوان درصد بازدارندگی معادل اسید اسکوربیک و کوئرسیتین بیان شد(Lusarczyk, 2009).

آنالیز آماری

برای مقایسه نتایج در سه گیاه از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و پس آزمون دانکن و آزمون independent sample t-test برای مقایسه نتایج حاصل از دو روش عصاره گیری در هر گیاه به تفکیک استفاده شد. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS15 انجام شد.

نتایج

جدول ۱ میزان عصاره استخراج شده و محتوی پلی فنل و فلاو نوئید را در هر سه گیاه نشان می دهد. میزان عصاره، ترکیبات پلی فنل و فلاونوئید حاصل از ۱۰۰ گرم هر سه گیاه در هر دو روش عصاره گیری اختلاف معنی دار دارند (P≤۰/۰۵). میزان عصاره در گیاه کرفس بیشتر از دو گیاه دیگر است. میزان فلاونوئید و پلی فنل در

جدول۱- میزان عصاره تام، ترکیبات پلی فنل و فلاونوئید استخراج شده به روش خیساندن و سوکسله حاصل از سه گیاه کرفس، کنگر و رازک

گیاه	روش عصاره گیری	میزان عصاره (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه)	میزان ترکیبات پلی فنل (بر حسب میلی گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه)	میزان ترکیبات فلاونوئید (میلی گرم معادل کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه)
کرفس	خیساندن	۱۵/۸۳±۰/۵۶*[a]	۶۰/۸۷±۴/۵۶[a]	۴۶/۴۸±۴/۴۹ [a]
	سوکسله	۱۱/۲۲±۰/ ۴۷ [a]	۷۰/۸۴±۶/۸ [a]	۳۸/۵۰±۹/۵ [a]
کنگر	خیساندن	۷/۰۷±۰/۲۵ [b]	۸۶/۰۵±۲/۴۶[b]	۷۱/۳۱±۸/۲۹ [a]
	سوکسله	۸/۲۴±۰/۹۶[b]	۱۰۴/۰۲±۳/ ۲*[a]	۸۳/۵۲±۲/۱۴[b]
رازک	خیساندن	۶/۱۵±۰/۲۴ [b]	۱۳۲/۵۴±۰/۰۹ [b]	۸۱/۲۱±۱۱/۰۳ [a]
	سوکسله	۴/۷۲±۰/۴۸ [c]	۱۶۶/۸۶±۲۳/۳۹ [b]	۷۷/۱۶±۹/۳ [b]

*:نشاندهنده تفاوت معنی دار در میزان فاکتور بین دو روش سوکسله و خیساندن

a,b, c :میزان هر فاکتوردر هر سه گیاه به تفکیک روش عصاره گیری مقایسه و حروف متفاوت نشاندهنده اختلاف معنی دار با یکدیگر است.

گیاه رازک بیشتر از دو گیاه دیگر می باشد. با تغییر روش عصاره گیری از خیساندن به سوکسله فقط میزان پلی فنل در گیاه کنگر به طور معنی دار افزایش یافته بود(P≤۰/۰۵).

(اسید اسکوربیک و کوئرستین) به عنوان واحد و ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده و عدد عنوان شده در ستون ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبی در مقایسه با عدد واحد در

جدول ۲ : میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبی معادل با اسید اسکوربیک و کوئرستین

گیاه	روش عصاره گیری	ظرفیت آنتی اکسیدانی			ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبی
		میلی گرم معادل اسیداسکوربیک در ۱ گرم عصاره	میلی گرم معادل کوئرستین در ۱ گرم عصاره	در مقایسه با اسید اسکوربیک	در مقایسه با کوئرستین
کرفس	خیساندن	۱۸۸/۹۸±۲۷/۳۸ ab	۲۲۹/۶۹±۳۳/۲۹ ab	۰/۳۷±۰/۰۵ ab	۰/۴۵±۰/۰۶ ab
	سوکسله	۱۶۷/۶۲± ۱۰/۲۶ a	۲۰۳/۶۱±۱۲/۲۸ a	۰/۳۳±۰/۰۲ a	۰/۴۰±۰/۰۲ a
کنگر	خیساندن	۱۱۰/۱۸±۱/۸۷* b	۱۳۳/۹۱±۲/۲۰* b	۰/۲۲±۰/۰۳* b	۰/۲۶±۰/۰۴* b
	سوکسله	۷۶/۸۹±۹/۲ b	۹۳/۴۵±۱۱/۲۰ b	۰/۱۵±۰/۰۱ b	۰/۱۸±۰/۰۲ b
رازک	خیساندن	۲۴۴/۴۸±۲/۵۹ a	۲۹۷/۱۵±۳/۱۵ a	۰۴۸/±/۰۵ a	۰/۵۹±۰/۰۶ a
	سوکسله	۲۵۰/۱۸±۱۷/۰۹ c	۳۰۴/۰۷±۲۰/۷۷ c	۰/۵۰±۰/۰۳ c	۰/۶۰±۰/۰۴ c

*نشاندهنده تفاوت معنی دار بین میزان فاکتور در روش سوکسله و خیساندن

a,b, c :میزان هر فاکتوردر هر سه گیاه به تفکیک روش عصاره گیری مقایسه و حروف متفاوت نشاندهنده اختلاف معنی دار با یکدیگر است.

ظرفیت آنتی اکسیدانی محاسبه شده برای هر سه گیاه به صورت معادل با ظرفیت آنتی اکسیدانی اسید اسکوربیک و کوئرستین در سیستم فسفومولبیدینیوم در جدول ۲ بیان شدند. ابتدا منحنی استاندارد بر اساس غلظت های مختلف کوئرستین و اسید اسکوربیک رسم شدند.

در جدول ۲ ارزش مشاهده شده برای ظرفیت آنتی اکسیدانی در ارتباط با اسید اسکوربیک و کوئرستین به عنوان استاندارد بیان شدند. همچنین قدرت آنتی اکسیدانی این دو ماده نظر گرفته شده برای این دو ماده است. قدرت آنتی اکسیدانی درگیاه رازک به صورت معنی دار(P≤۰/۰۵) بیشتر از دو گیاه دیگر می باشد و در این گیاه این قدرت در روش سوکسله بیشتر از خیساندن است.

بحث

نتایج نشان می دهند که میزان پلی فنل و فلاونوئید موجود در عصاره رازک بیشتر از میزان این ترکیبات در دو گیاه کرفس و کنگر می باشد. همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی این

گیاه نیز بیشتر از دو گیاه دیگر است. مقایسه بین دو گیاه کرفس و کنگر نشان می دهد که ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه کرفس بیشتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کنگر می‌باشد در حالی که میزان فلاونوئید و پلی‌فنل در گیاه کنگر بیشتر از کرفس است.

ظرفیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در این مطالعه بر اساس متد کمی فسفومولبیدینیوم و بر اساس تعداد معادل اسید اسکوربیک و کوئرستین بیان می شود. این روش بر اساس کاهش گروه هیدروکسیل حلقه ٦-هیدروکسی کرومان پایه گذاری شده است. در این متد کاهش مولبیدات٦ به ٥ و تشکیل فسفو مولبیدات ٥ سبزرنگ توسط آنتی اکسیدانها انجام می شود(Martins, 2009).

آنتی اکسیدانهای طبیعی شامل ترکیبات فنولیک(تانن ها، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و توکوفرول ها)، ترکیبات نیتروژنه (آلکالوئیدها، مشتقات کلروفیل، آمینواسیدها و آمین ها) یا کاروتنوئیدها می باشند. تانن ها بعنوان فلاونوئیدهای بسیار پلیمریزه شامل گروه های هیدروکسیل زیادی هستند و بنابراین آنتی اکسیدانهای بسیار موثری به شمار می آیند(Hoya, 2010).

رازک شامل ۲-٤ درصد تانن و ۳ تا ۱۲ درصد آلفا و بتا اسیدها ، کالکون (Xanthohumol) ، فلاونوئید گلیکوزید(آستراگالین، کوئرستین، ایزوکوئرستین، روتین و کامپفرول و اسیدهای فنولی است .پلی فنل های مشتق از رازک بطور عام و فلاونوئیدهای prenylated بطور خاص فعالیت انتی اکسیدانی قوی دارند و قادر به پاکسازی رادیکالهای پرواکسیل و همچنین جلوگیری از تشکیل رادیکالهای هیدروکسیل می شوند. Xanthohumol ، prenyl flavonoid غالب در رازک فعالیت پاکسازی بالای هیدروکسیل را دارد که بوسیله خصوصیت شلات یونهای معدنی میانجیگری می شود (Jamuna, 2011).

فعالیت آنتی اکسیدانی در کنگر فرنگی در نتیجه ترکیباتی مثل کافئیک اسید، مونو و دی کافئیل اسیدها و فلاونوئیدها می باشد(Schutz, 2004 و Wittemer, 2005).

نتایج تحقیق Fritsche و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز حاکی از این است که مواد موثره کنگر فرنگی شامل کلروژنیک اسید ، سینارین، و لوتئولین هستند و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه مربوط به این ترکیبات می باشد(Fritsche, 2002). همچنین در مطالعه صورت گرفته برای تعیین اثرات حفاظتی آرتیشو، خصوصیت حفاظتی آرتیشو در مقابل تنش اکسیداتیو ایجاد شده بوسیله واکنشگرهای التهابی و اکسایش LDL در مونوسیتها و سلولهای آندوتلیال کشت شده اثبات شده است(Huige, 2004). در مطالعه

صورت گرفته بوسیله Llorach و همکارانش مشخص شد که عصاره آرتیشو در مقابل رادیکالهای DPPH و ABTS فعالیت پاکسازی دارد . این عصاره در متد فریک تیوسیانات مانع پراکسیداسیون لیپیدها می شود (Llorach,2002).

در مطالعه صورت گرفته بوسیله احمدی و همکارانش مشخص گردید که که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کرفس قابل مقایسه با آلفاتوکوفرول و BHT است(Ahmadi et al., 2007).

نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیقات دیگر انجام شده که تعدادی از آنها در بالا ذکر شد مشخص کننده وجود خاصیت آنتی اکسیدانی قوی در هر سه گیاه می باشد. تغییر روش عصاره گیری از خیساندن به سوکسله تفاوت معنی داری در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ایجاد نکرده ولی این میزان بصورت غیرمعنی دار در دو گیاه کرفس و کنگر کاهش و در گیاه رازک افزایش یافته است. این قضیه بیانگر این مطلب است تعیین نوع روش عصاره گیری برای جداسازی ترکیبات آنتی اکسیدان از گیاه وابسته به گیاه و بویژه وابسته به نوع ترکیبات موجود در هر گیاه می باشد.

اگر گیاهان را بر حسب میزان ترکیبات فلاونوئید و پلی فنل مرتب کنیم ترتیب رازک > کنگر> کرفس دیده می شود و بر حسب میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی این ترتیب عبارت است از رازک> کرفس> کنگر. این نتایج پیشنهاد می کنند که میزان ترکیبات فلاونوئید و پلی فنلیک تنها عامل تاثیرگذار بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیستند. در مطالعه صورت گرفته بوسیله Raghu و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نیز عنوان شده که تعیین مشخصات ساختاری فلاونوئیدهای که فعالیت آنتی اکسیدانی دارند بسیار مهم است و ذکر شده که به نظر می رسد اسید های فنولیک مثل کافئیک، کلروژنیک، فرولیک، سیناپیک و کوماریک اسیدها خاصیت آنتی اکسیدانی قویتری نسبت به مشتقات هیدروکسیل دار بنزوئیک اسید مانند هیدروکسی بنزوئیک ، وانیلیک و سیرانژیک اسید داشته باشند(Jamuna et al., 2010).

REFRENCES

- Ahmadi, F. Kadivar, M. Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. Food Chemistry. 105: 57–64.
- Brenneisen, P. Steinbrenner, H. Sies, H. (2005). Selenium, oxidative stress, and health aspects. Molecular Aspects-of-Medicine. 26: 256–267.
- Chlopcikova, S. Psotova, J. Miketova, P. Sousek, J. Lichnovsky, V. Simanek, V. (2004). Chemoprotective effect of plant phenolics against anthracycline – induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part II. caffeic, chlorogenic and rosmarinic acids. Phytotherapy Research. 18: 408–413.
- Fecka, I. Raj, D. Krauze-Baranowska, M. (2007). Quantitative determination of four water-soluble compounds in herbal drug from Lamiaceae using different chromatographic techniques. Chromatographia. 66: 87–93.
- Feyza, O. Belma, A. Sahlan, O. Senol, A. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. Food Chemistry. 112: 874–879.
- Fritsche, J. Beindorff, C. Dachtler, M. Zhang, H. Lammers, J. (2002). Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds. European food research and technology. 215: 149-157.
- Haas, L. F. (1995). Neurological Stamp. *Humulus lupulus* (hop). Journal of Neurology Neurosurg Psychiatry. 58: 152-158.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. (2007). Free radicals in biology and medicine. 415pp. Oxford University.
- Hoya, L. Biendl, M. Heyerick, A. (2010) Radical Scavenging Capacity of hop-derived product. Brewing Science. 63: 1-5.
- Huige, L. Ning, X. Isolde, B. Ying, Y. Ulrich, F. (2004). Flavonoids from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Up-Regulate Endothelial-Type Nitric-Oxide Synthase Gene Expression in human endothelial cells. Journal of Pharmacologyand Experimental Therapeutics. 310: 926–932.
- Jamuna, K. Ramesh, C. Sriivasa, T. Raghuk, K. (2011). In vitro antioxidant studies in some common fruits. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science 3: 60-63.
- Kiselova, Y. Ivanova, D. Chervenkov, T. Gerova, D. Galunska, B. Yankova, T. (2006). Correlation between the *In Vitro* Antioxidant Activity and Polyphenol Content of Aqueous Extracts from Bulgarian Herbs. Phytotherapy Research. 20: 961–965.
- Liu, W. Yu-Jie, F. Yuan-Gang, Z. Mei-Hong, T. Nan, u. Xiao-Lei, L. Zhang, S. (2009). Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw and its antioxidant activity. Food Chemistry. 114: 334–339.
- Llorach, R. Carlos, J. Francisco, A. Tomás-Barberán, F. Ferreres, F. (2002). Antioxidant Phenolics. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Byproducts as a Potential Source of Health-Promoting. The Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50 (12): 3458–3464.
- Lusarczyk, S. Michał, H. Niak, K. Matkowski, A. (2009). Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. Food Chemistry. 113: 134–138.

- Martins, A. Zocoler, D. Cristina, A. Sanches, C. Albrecht, I. Carlos, J. (2009). Antioxidant capacity of extracts and isolated compounds from *Stryphnodendron obovatum* Benth. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 45: 3-10.
- Reiter, R. J, Tan. D. X. Cabrera, J. DArpa, D. Sainz, RM. May, JC. Ramos, S.(1999). The oxidant/antioxidant network: role of melatonin. Biol. Sign.Recept 8: 56–63.
- Schutz, K. Kammerer, D. Carle, R. Schieber, A. (2004). Identification and quantification of coffeoyquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara Scolymus* L.) Heads, Juice, and pomace by HPLC-DADESL/MS. Agricultural and Food Chemistry. 52: 4090-4096.
- Whysner, L. Wang, C. X. Zang, E. Iatropoulos, M. J. Williams, G. M. (1994). Dose response of promotion by butylated hydroxyanisole in chemically initiated tumours of the rat forestomach. Food and Chemical Toxicology. 32: 215–222.
- Wittemer, M. Ploch, T. Windeck, S. C. Müller, B. Drewelow, H. Derendorf, M. (2005). Bioavilability and pharmacokinetics of caffeoylquinic acids and flavonoids after oral administration of artichoke leaf extracts in humans. Phytomedicine. 12: 28-38.
- Zapolska-Downar, D. Zapolski, D. A. Naruszewicz, M. Siennicka, A. Krasnodebska, B. Kolodziej, B. (2002). Protective properties of artichoke (*Cynara scolymus*) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes. Life Sciences. 71: 2897-2908, 2002.