فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۵، شماره۳، پیاپی ۷۳، پاییز ۱۴۰۱، ص ۱۲۶- ۱۱۰
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.35, No.3, Sering.72, Fall 2022, p. 110-126
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۸
وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

بررسی ترکیبات فنولی و خواص بیولوژیکی اندام‌های رویشی گیاه *Lepdium vesicarium* L.

سعید ملائی*[۱]، مهناز اسلامی[۲]، مصطفی عبادی[۳]

چکیده

با وجود تاریخچه‌ای طولانی در استفاده‌ی دارویی گیاه Lepdium vesicarium، مطالعه ترکیبات فنولی و خواص بیولوژیکی اندام‌های مختلف آن صورت نگرفته است. بدین منظور، بعد از به دست آوردن عصاره تام متانولی اندام‌های مختلف (ریشه، برگ، ساقه، شاخه و بذر) گیاه، محتوای کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با روش اسپکتروفتومتری و خاصیت‌های آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌سلولی به ترتیب با روش‌های DPPH و MTT مورد بررسی قرار گرفتند و در ادامه، فنولیک اسیدهای آزاد و استری آنها با دستگاه HPLC اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج، عصاره‌های متانولی ساقه و برگ گیاه دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی بودند و بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به عصاره‌ی ساقه و بذر گیاه بود. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت-سلول بر علیه سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان داد که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی بذر گیاه بود و عصاره‌های ساقه و بذر بیشترین خاصیت سمیت‌سلولی را داشتند. نتایج حاصل از آنالیز فنولیک‌اسیدها نیز نشان داد که کافئیک اسید به ترتیب با مقادیر ۰/۱۶ ± ۱/۴۴ و ۰/۰۹ ± ۱/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه، عمده‌ترین فنولیک‌اسید آزاد موجود در عصاره‌های برگ و شاخه است. همچنین، سالیسیلیک و m-کوماریک‌اسید فنولیک‌اسیدهای استری عمده موجود در عصاره‌های ریشه و شاخه گیاه به ترتیب با مقادیر ۰/۰۷ ± ۰/۹۸ و ۰/۰۷ ± ۰/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بودند. بنابراین، بر اساس نتایج به دست آمده، بذر گیاه دارای بیشترین ترکیبات فنولی از جمله کافئیک‌اسید، فرولیک اسید و گالیک‌اسید است و با توجه به پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌سلولی می‌تواند در صنعت داروسازی و غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، سمیت‌سلولی، کافئیک‌اسید، گالیک‌اسید، L. vesicarium

---

۱ . استادیار ، گروه شیمی ، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز (*نویسنده مسئول : s.mollaei@azaruniv.ac.ir)
۲ . دانشجوی کارشناسی ارشد ، گروه شیمی ، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز
۳ . استادیار، گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز

مقدمه

از دیرباز استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف به چند دلیل عمده از جمله عملکرد مناسب، قابلیت دسترسی و مسائل زیست‌محیطی بسیار معمول و رایج بوده است (Bolatito, 2010). در این خصوص سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) طرحی اتخاذ نموده که طبق آن مقرر گردیده از سال ۲۰۱۴ تا سال ۲۰۲۳ مطالعات علمی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی منجر به بهبود کیفی طب سنتی گردد (Mondiale de la Santé, 2013). در حال حاضر جداسازی و شناسایی ترکیبات طبیعی گیاهی یکی از موضوعات مهم و جالب در اغلب مطالعات علمی است. لازم به ذکر است ترکیبات شیمیایی با منشا گیاهی که تحت عنوان متابولیت‌های ثانویه از آنها یاد می‌شود مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدسرطان، ضدالتهاب و غیره هستند (Kakate, 1997). برخی ترکیبات آروماتیکی استخراج شده از گیاهان معطر به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند و با توجه به اهمیت اقتصادی و زیست‌محیطی آنها، این ترکیبات می‌توانند جایگزین مناسبی برای مواد سنتزی و سمی باشند.

آنتی‌اکسیدان به ترکیبی اتلاق می‌شود که سلول را در برابر رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند. اگر بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها تعادل وجود نداشته باشد، تنش اکسیداتیو حاصل می‌شود که منجر به آسیب سلول‌ها می‌شود و در نهایت باعث ایجاد بیماری‌هایی چون سرطان، سکته، پارکینسون و آلزایمر و غیره خواهد شد. فنول‌ها و سایر ویتامین‌ها از بروز چنین بیماری‌های پیشگیری می‌کنند. ترکیبات فنولی گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند که در اکثرا موجودات زنده از جمله گیاهان یافت می‌شوند و دارای خواص ضدسرطانی می‌باشند. این ترکیبات از طریق توقف چرخه سلولی، مهار کانال‌های سیگنال انکوژنیک کنترل کننده تکثیر سلولی، تقویت پروتئین‌های سرکوب‌کننده تومور، آنژیوژنز و آپوپتوز، مدلوسیون سطوح ROS و افزایش تمایز و تغییر شکل در سلول‌های طبیعی خواص ضدسرطانی از خود نشان داده‌اند (Fresco *et al*., 2010). همچنین، به دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه آروماتیک در ترکیبات فنولی، این ترکیبات دارای نقش آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌توانند رادیکال‌های آزاد را پاکسازی کرده و مانع تبدیل هیدروکسیدها به رادیکال آزاد که عامل اساسی ایجاد سرطان در انسان است، شوند (Lin *et al*., 2016).

سرده ترتیزک (*Lepidum* L.) با دارا بودن بیش از ۲۵۰ گونه یکی از بزرگترین سرده‌های تیره شب‌بو (Brassicaceae) است. گونه‌های این سرده دارای پراکنش جهانی به ویژه نواحی معتدل و جنب حاره‌ای می‌باشند (Al-Shehbaz, 2012). از دیرباز گونه‌های مختلف سرده ترتیزک کاربردهای داروئی فراوانی داشته و در این ارتباط، مطالعات زیادی در راستای خواص دارویی آنها نظیر افزایش عملکرد جنسی، افزایش باروری در زنان، کاهش علائم قاعدگی، افزایش عملکرد حافظه، خاصیت ضدسرطانی و خاصیت ضدافسردگی گزارش شده است (Bramara *et al*., 2017; Asnaashari *et al*., 2018; Wang & Zhu, 2019). مطالعات نشان می‌دهد متابولیت‌های ثانویه مختلفی به ویژه ترکیبات فنولی مسئول ایجاد چنین خاصیت‌هایی هستند.

گونه *Lepidium vesicarium* L.، گیاهی علفی، یکساله یا دوساله بوده و پراکنش اصلی این گونه آسیای مرکزی و آناتولی است. این گیاه در ایران به فراوانی در مراتع، کنار جاده‌ها و حاشیه مزارع گندم، جو، نخود و عدس یافت می‌شود (Shimi & Termeh, 2004). از ویژگی‌های بارز این گیاه می توان به بادکردگی یا تورم ساقه در محل انشعابات اشاره کرد. بر اساس مطالعات کتابخانه‌ای، تحقیقات کمی بر روی متابولیت‌ها و خواص بیولوژیکی این گیاه انجام گرفته است. کشاورز و همکاران (۱۳۹۶) ترکیبات فیتوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی *L. vesicarium* را مورد بررسی قرار دادند و موفق به جداسازی و شناسایی چهار ترکیب فنولی، یک ترکیب قندی و ۱۹ ترکیب فرار گردیدند. همچنین، فراکسیون های ۴۰ ٪، ۶۰ ٪ و عصاره متانولی قویترین خاصیت جاروبگری رادیکال های آزاد و همچنین بیشترین محتوای فنول و فلاونوئید را داشتند. Asnaashari و همکاران (۲۰۱۸) ترکیبات فرار اندام هوایی گیاه *L. vesicarium* را با GC و GC-MS مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بنزیل‌سیانید، ایزوتیو سیانیک اسید و بنزیل‌ایزوتیو سیانات عمده‌ترین ترکیبات آن است. همچنین، این عصاره فرار فاقد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی بود. همچنین، بر اساس مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۹)، عصاره دی‌کلرومتانی این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی متعادل بر علیه باکتری‌های *Staphylococus aureus*، *Listeria monocytogenes* و *Candida albicans* بوده و عصاره هگزانی و متانولی نیز خاصیت ضدباکتریایی ضعیفی از خود نشان داد.

با توجه به اینکه گیاهان منبع بالقوه‌ای برای استخراج ترکیبات مختلف با اهداف دارویی، غذایی و بهداشتی هستند لذا بررسی فیتوشیمیایی گیاهان مختلف در راستای دستیابی به منابع و ترکیبات جدید بسیار حائز اهمیت است. سهولت دسترسی آسان و ارزان به گیاه *L. vesicarium*، از طریق رویشگاه‌های طبیعی و همچنین عدم وجود مطالعه جامع در ارتباط با ترکیبات فنولی این گیاه و خاصیت‌های بیولوژیکی آنها، موجب انجام این پژوهش گردید. بنابراین در این تحقیق، فنول و فلاونوئید کل و بررسی خاصیت‌های آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌سلولی عصاره تام متانولی اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* و در ادامه اندازه‌گیری کیفی و کمی فنولیک‌اسیدهای آزاد و استری موجود در آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع آوری گیاه

گیاه *L. vesicarium* در فصل بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ از اطراف آذرشهر، واقع در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد و توسط دکتر مصطفی عبادی (عضو هیات علمی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان) مورد شناسایی قرار گرفت و نمونه‌ای از آن در هرباریوم دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به شماره ASMU40101 نگهداری شد. اندام‌های مختلف گیاه از هم جدا شده و در اتاق به دور از آفتاب خشک شدند. پس از آن به صورت یکنواخت، به ذرات ریز خرد شدند.

مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده برای فرآیند عصاره‌گیری و انجام تست‌های بیولوژیکی از شرکت مرک خریداری شدند. همچنین، تمام حلال های مورد استفاده در HPLC، HPLC grade بودند.

عصاره تام متانولی

حدود ۶۰ میلی‌لیتر از حلال متانول به ۴ گرم از اندام‌های مختلف گیاه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک قرار گرفت. عصاره‌های به دست آمده با استفاده از سانتریفیوژ (۶۰۰۰ rpm و ۵ دقیقه) جدا گردیدند و به وسیله‌ی دستگاه تبخیرکننده‌ی مدور تغلیظ شدند. عصاره‌های تغلیظ شده جهت بررسی فنول و فلاونوئید کل، خاصیت‌های آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی در دمای ۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش فولین-سیکالتیو استفاده شد (Singleton & Rossi, 1965). در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تام متانولی با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با ۵۰۰ میکرولیتر از معرف فولین-سیکالتیو (۱۰٪ حجمی/حجمی) مخلوط گردید و پس از گذشت ۵ دقیقه، محلول سدیم‌کربنات (۷٪) به آن‌ها اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در فضای تاریک تکان داده شدند. نهایتا، جذب هر کدام از نمونه‌ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی استاندارد گالیک‌اسید محاسبه شد و بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک بیان شدند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی

مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی موجود در عصاره‌ها توسط روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Hazrati *et al.*, 2019). در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تام متانولی (با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۵۰ میکرولیتر از محلول آلومینیم‌کلرید (۲٪ متانولی) و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استات‌آمونیوم (۱ مولار) مخلوط شد. پس از آن، به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی هم زده شد و سپس جذب هر کدام از نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۴۲۶ نانومتر خوانده شد و مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه گردید و بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بیان گردید.

استخراج فنولیک اسیدهای آزاد

به عصاره تام متانولی به دست آمده از مرحله قبلی، اسید کلریدریک ۶ مولار اضافه گردید و به کمک دستگاه pH متر، pH محلول در ۲ تنظیم شد. پس از آن محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۶۰۰۰ rpm و ۵ دقیقه) گردید. در ادامه، فاز محلول و فاز جامد تفکیک شدند (فاز جامد برای استخراج فنولیک اسیدهای استری در مرحله بعد مورد استفاده قرار گرفت). فاز محلول به همراه n-هگزان با نسبت ۱:۱ (حجمی-حجمی) و با کمک قیف جداکننده هم زده شد. سپس، به فاز آبی تفکیک شده، دی‌اتیل‌اتر و اتیل‌استات با نسبت ۱:۱ (حجمی-حجمی) اضافه گردید و با کمک قیف جداکننده هم زده شد. در آخر، فاز آلی توسط دستگاه تبخیر کننده‌ی مدور، حلال پرانی شده و عصاره‌ی حاصل که حاوی فنولیک اسیدهای آزاد بودند در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد.

استخراج فنولیک اسیدهای استری

به فاز جامد حاصل از مرحله قبل، ۲۰ میلی‌لیتر سدیم‌هیدروکسید ۴ مولار اضافه شد. پس از ۴ ساعت، pH محلول به وسیله‌ی اسیدکلریدریک ۳۷ درصد در ۲ تنظیم گردید. محلول آبی حاصل، توسط روش حلال-حلال با کمک حلال n-هگزان تا حدی خالص گردید و در ادامه فاز آبی با حلال دی‌اتیل‌اتر و اتیل‌استات مورد استخراج قرار گرفت. فاز آلی به وسیله‌ی دستگاه تبخیرکننده‌ی مدور حلال پرانی شد و عصاره‌ی حاصل که حاوی فنولیک‌اسیدهای استری بودند در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد.

جداسازی و شناسایی فنولیک اسیدها

برای جداسازی و شناسایی فنولیک‌اسیدهای عصاره‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (ساخت شرکت Knauer، برلین، آلمان) استفاده شد. شویش گرادیانی با حلال‌های متانول اسیدی و آب HPLC گرید با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه صورت گرفت و ستون کروماتوگرافی C18 از نوع تجزیه‌ای و فازمعکوس با طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و خلل و فرج ۵ میکرومتر بود. از حجم تزریق ۵۰ میکرولیتر و آشکارساز UV در ۲۷۵ نانومتر بهره گرفته شد؛ ابتدا نمونه‌ها در متانول حل گردیده و سپس به دستگاه HPLC تزریق شدند.

اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تام متانولی اندام‌های مختلف گیاه از طریق اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت (Blois, 1958). مقدار ۱ میلی‌گرم از عصاره‌ها وزن گردید و در ۱ میلی‌لیتر متانول حل شد. پس از آن، غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شدند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از محلول‌های تهیه شده با ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۰۲ میلی‌مولار مخلوط شدند و به مدت نیم ساعت در تاریکی هم زده شدند. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، بجز نمونه) بعد از نیم ساعت و در طول موج ۵۱۷ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت شرکت Biotek آمریکا) خوانده شد. درصد مهار کنندگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد} = 100 \times \frac{(A_{blank} - A_{sample})}{A_{blank}}$$

در این فرمول A_{blank} و A_{sample} به ترتیب بیانگر میزان جذب کنترل و نمونه است. مقدار IC_{50} (غلظتی که موجب کاهش ۵۰٪ ظرفیت رادیکالی DPPH) به وسیله‌ی آنالیز همبستگی خطی به دست آمده از مقادیر درصد مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های نمونه تعیین شد. نتایج به دست آمده با بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) به عنوان کنترل مثبت مورد مقایسه قرار گرفت.

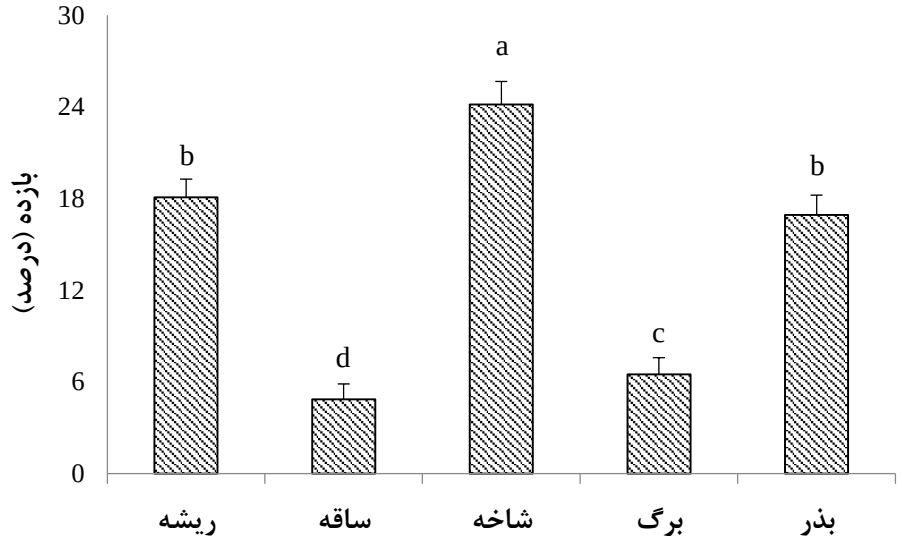
آزمون سمیت سلولی

برای اندازه‌گیری اثر سمیت سلولی عصاره تام متانولی اندام‌های مختلف گیاه در رده سلولی سرطانی سینه (MCF-7) از آزمون رنگ‌سنجی MTT استفاده شد (Asnaashari *et al*., 2019). سلول‌های MCF-7 از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در محیط کشت RPMI 1640 و سرم جنین گاوی ۱۰٪ به همراه آنتی بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنیسیلین کشت و پاساژ داده شدند تا از لحاظ تعداد و مورفولوژی به حد مطلوب برسند. سلول‌های چسبنده، توسط تریپسین-EDTA (Gibco BRL, Scotland) از سطح فلاسک جدا شدند و بعد از شمارش سلولی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون (دارای ۱×۱۰^{۴} سلول) به چاهک‌های پلیت ۹۶ تایی انتقال داده و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵٪ CO_2 و رطوبت ۱۰۰٪ به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تیمار شدند و بعد از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت، به هر یک از چاهک‌ها ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه گردید و به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. در ادامه، جذب نمونه‌ها در طیف جذب ۵۷۰ نانومتر خوانده شدند و بر حسب فرمول مربوطه میزان زنده مانی محاسبه شد.

نتایج

مطالعات فیتوشیمیایی

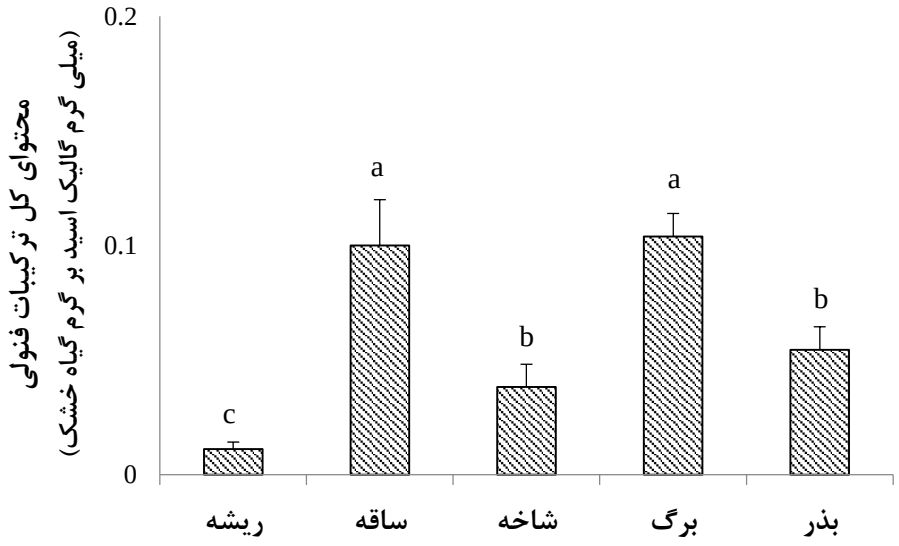
نتایج میانگین بازده استخراج عصاره اندام‌های مختلف گیاه در شکل ۱ نشان داده شده است. بیشترین بازده استخراج مربوط به عصاره برگ (۲۴/۱۶ درصد) بود و عصاره‌های ریشه و ساقه نیز دارای کمترین بازده بودند.



شکل ۱: میانگین بازده عصاره‌های به دست آمده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* . آزمایش در سه تکرار انجام گرفت و ستون-های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure1: The average yield of extracts obtained from different organs of *L. vesicarium*. The experiment was performed in three repetitions and the columns with the same letters have no significant difference at the 5% probability level.

برای محاسبه محتوای کل ترکیبات فنولی موجود در اندام‌های مختلف گیاه از منحنی استاندارد گالیک اسید و معادله به دست آمده از آن، $Y=0.0029X + 0.38$; $R^2=0.99$، استفاده گردید. شکل ۲ محتوای کل ترکیبات فنولی موجود در یک گرم از اندام‌های مختلف گیاه خشک را نشان می دهد. بر اساس نتایج، بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به عصاره‌های برگ، ساقه و بذر (به ترتیب برابر با ۰/۱۱ و ۰/۱۰ و ۰/۰۵ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک) بودند و عصاره ریشه گیاه نیز با مقادیر ۰/۰۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک نیز دارای کمترین میزان ترکیبات فنولی بود.



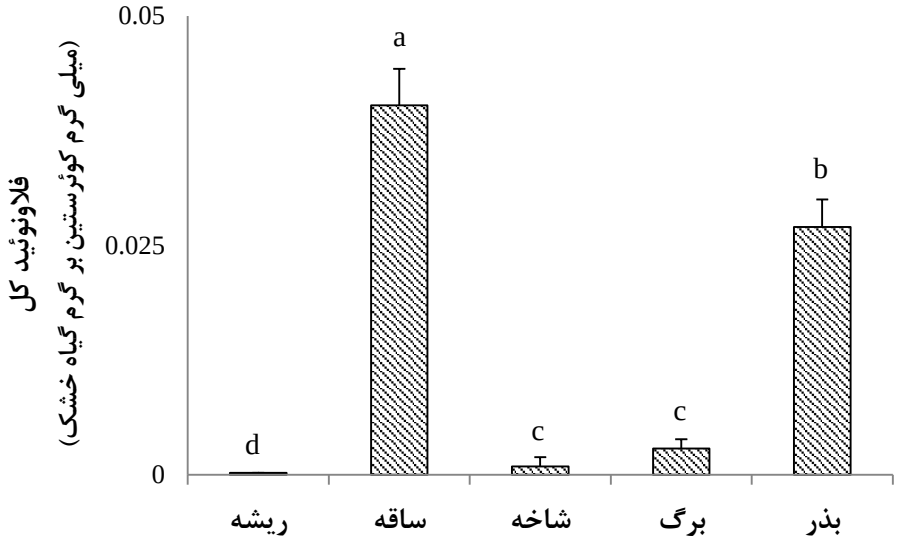
شکل ۲: میانگین محتوای کل ترکیبات فنولی عصاره‌های به دست آمده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium*. آزمایش در سه تکرار انجام گرفت و ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure 2: The average total phenolic contents of extracts obtained from different organs of *L. vesicarium*. The experiment was performed in three repetitions and the columns with the same letters have no significant difference at the 5% probability level.

شکل ۳ نتایج حاصل از فلاونوئید کل موجود در یک گرم از اندام‌های مختلف گیاه خشک را نشان می‌دهد. از منحنی استاندار کوئرستین و معادله به دست آمده از آن یعنی $Y=0.0037X - 0.03$; $R^2=0.99$ برای تعیین میزان فلاونوئید کل استفاده شد. طبق نتایج به دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی مربوط به عصاره‌ی ساقه گیاه (۰/۰۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و کمترین آن مربوط به ریشه گیاه با مقادیر ۰/۰۰۰۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک است.

فنولیک اسیدهای آزاد و استری

فنولیک اسیدهای آزاد و استری موجود در عصاره‌های شاخه، ساقه، برگ، ریشه و بذر گیاه استخراج گردید و با کمک دستگاه HPLC جداسازی شدند و به کمک استاندارد، مورد شناسایی قرار گرفتند. شکل ۴ کروماتوگرام HPLC مربوط به استاندارد فنولیک‌اسیدها و عصاره‌ی حاوی فنولیک اسیدهای آزاد استخراج شده از بذر گیاه را نشان می‌دهد. مقادیر کمی فنولیک اسیدهای استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاه به کمک سطح زیر پیک آنها و معادله کالیبراسیون به دست آمده از استاندارد آنها محاسبه گردید و نتایج در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.



شکل ۳: میانگین میزان فلاونوئید کل عصاره‌های به دست آمده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium*. آزمایش در سه تکرار انجام گرفت و ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure 3: The average total flavonoid contents of extracts obtained from different organs of *L. vesicarium*. The experiment was performed in three repetitions and the columns with the same letters have no significant difference at the 5% probability level.

بر اساس نتایج به دست آمده (جدول ۱)، بیشترین میزان فنولیک اسیدهای آزاد مورد مطالعه مربوط به عصاره‌های بذر و شاخه با مقادیر به ترتیب ۴/۷۴ و ۴/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. ترکیبات گالیک‌اسید، m-هیدروکسی‌بنزوئیک‌اسید و m-کوماریک‌اسید در تمام اندام‌های مورد مطالعه، شناسایی و تعیین مقدار شده‌اند. بر اساس نتایج، بیشترین ترکیب فنولیک‌اسید آزاد، کافئیک‌اسید است که مقادیر آن در عصاره بذر و شاخه به ترتیب ۰/۱۶ ± ۱/۴۴ و ۰/۰۹ ± ۱/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک است. همچنین، ساقه گیاه دارای مقادیر قابل توجه از گالیک‌اسید (۰/۰۳ ± ۰/۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بود. ترکیب سالیسیلیک‌اسید تنها در عصاره فنولیک اسیدهای آزاد ریشه شناسایی گردید.

جدول ۲ نیز مقادیر فنولیک اسیدهای استری موجود در اندام‌های مختلف گیاه را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، بیشترین میزان فنولیک اسیدهای استری مربوط به عصاره‌های شاخه، بذر و ریشه بود و مقادیر آنها به ترتیب ۱/۶۰ و ۱/۵۹ و ۱/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک می‌باشد. m-هیدروکسی بنزوئیک‌اسید تنها فنولیک اسیدی بود که در تمام اندام‌های مورد مطالعه شناسایی و تعیین مقدار شد. بر اساس نتایج، بیشترین ترکیب فنولیک‌اسید استری، سالیسیلیک‌اسید، m-کوماریک‌اسید و گالیک-اسید بود و مقادیر آنها به ترتیب ۰/۰۷ ± ۰/۹۸، ۰/۰۷ ± ۰/۹۵و ۰/۰۸ ± ۰/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. همچنین، شاخه گیاه دارای مقادیر قابل توجهی از گالیک‌اسید (۰/۰۵ ± ۰/۶۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بود.

جدول ۱- مقادیر کمی فنولیک اسیدهای آزاد استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ± انحراف معیار)

Table 1- Quantitative amounts of free phenolic acids extracted from different organs of *L. vesicarium* (mg/g dry weight ± standard deviation)

ردیف	ترکیبات	زمان جداسازی (دقیقه)	بذر	برگ	شاخه	ساقه	ریشه
۱	گالیک اسید	۸/۲۰	۰/۸۷ ± ۰/۰۵	۰/۰۷ ± ۰/۰۱	۰/۸۷ ± ۰/۰۴	۰/۳۴ ± ۰/۰۲	۰/۱۹ ± ۰/۰۲
۲	m-هیدروکسی بنزوئیک اسید	۱۵/۴۰	۰/۴۲ ± ۰/۰۳	۰/۰۷ ± ۰/۰۱	۰/۲۳ ± ۰/۰۳	۰/۱۴ ± ۰/۰۲	۰/۰۸ ± ۰/۰۱
۳	کافئیک اسید	۲۳/۳۰	۱/۴۴ ± ۰/۱۶	۰	۱/۱۱ ± ۰/۰۹	۰/۶۵ ± ۰/۰۳	۰/۵۳ ± ۰/۰۳
۴	رزمارینیک اسید	۲۴/۴۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	p-کوماریک اسید	۲۵/۱۰	۰	۰	۰/۶۰ ± ۰/۰۴	۰	۰
۶	فرولیک اسید	۲۷/۰۰	۱/۳۷ ± ۰/۲۱	۰	۰/۵۰ ± ۰/۰۴	۰	۰
۷	سالیسیلیک اسید	۲۸/۲۰	۰	۰	۰	۰	۰/۹۸ ± ۰/۰۹
۸	m-کوماریک اسید	۲۹/۳۰	۰/۶۴ ± ۰/۰۴	۰/۲۱ ± ۰/۰۲	۰/۹۴ ± ۰/۰۸	۰/۱۶ ± ۰/۰۱	۰/۵۹ ± ۰/۰۲
۹	سینامیک اسید	۳۸/۴۰	۰	۰	۰	۰	۰
	مجموع		۴/۷۴	۰/۳۵	۴/۲۳	۱/۲۸	۲/۳۷

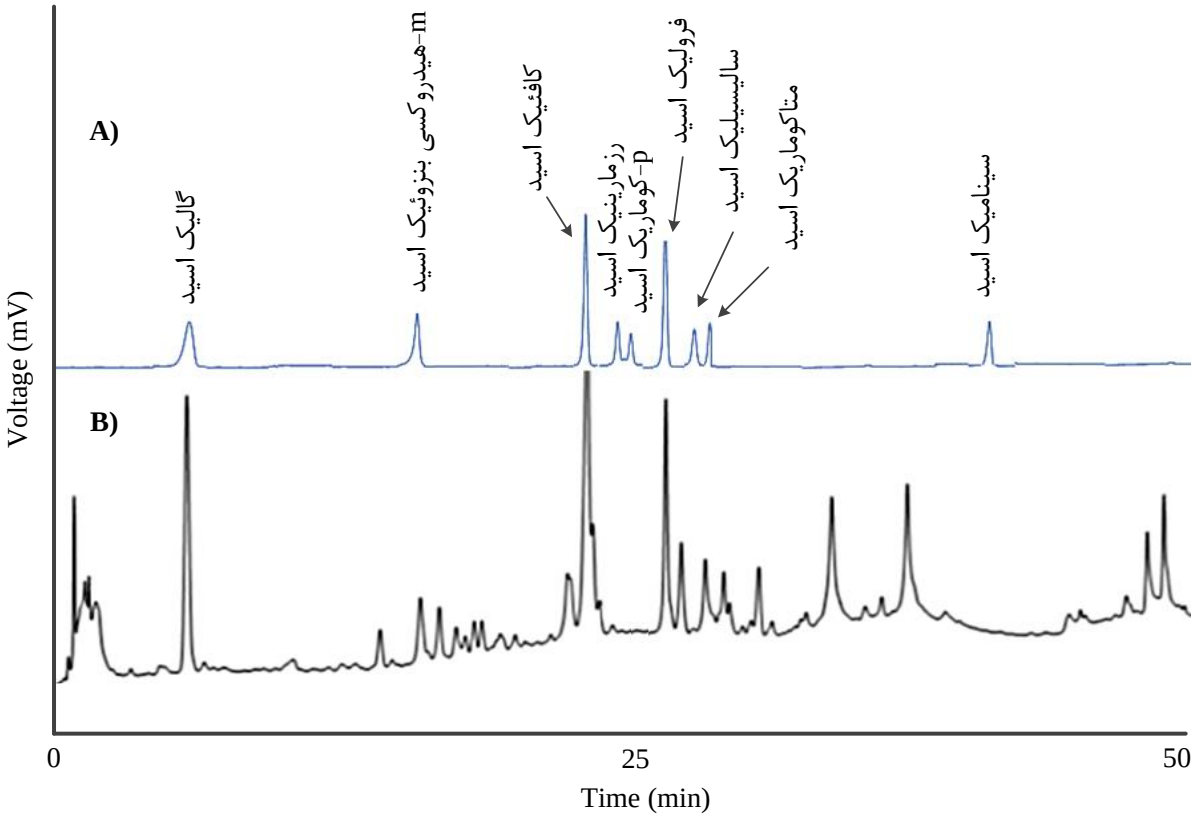
جدول ۲- مقادیر کمی فنولیک اسیدهای استری استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ± انحراف معیار)

Table 2- Quantitative amounts of bound phenolic acids extracted from different organs of *L. vesicarium* (mg/g dry weight ± standard deviation)

ردیف	ترکیبات	زمان جداسازی (دقیقه)	بذر	برگ	شاخه	ساقه	ریشه
۱	گالیک اسید	۸/۲۰	۰/۸۷ ± ۰/۰۸	۰	۰	۰	۰
۲	m-هیدروکسی بنزوئیک اسید	۱۵/۴۰	۰/۰۹ ± ۰/۰۰	۰/۰۱ ± ۰/۰۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۳ ± ۰/۰۰
۳	کافئیک اسید	۲۳/۳۰	۰/۵۷ ± ۰/۰۷	۰/۲۳ ± ۰/۰۲	۰/۶۱ ± ۰/۰۵	۰/۲۲ ± ۰/۰۲	۰
۴	رزمارینیک اسید	۲۴/۴۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	p-کوماریک اسید	۲۵/۱۰	۰/۰۱ ± ۰/۰۰	۰	۰	۰	۰
۶	فرولیک اسید	۲۷/۰۰	۰/۵۴ ± ۰/۰۸	۰	۰	۰	۰
۷	سیالسیلیک اسید	۲۸/۲۰	۰	۰	۰	۰/۳۹ ± ۰/۰۴	۰/۹۸ ± ۰/۰۷
۸	m-کوماریک اسید	۲۹/۳۰	۰	۰/۲۲ ± ۰/۰۲	۰/۹۵ ± ۰/۰۷	۰/۱۶ ± ۰/۰۲	۰
۹	سینامیک اسید	۳۸/۴۰	۰	۰	۰	۰	۰
	مجموع		۱/۵۹	۰/۴۷	۱/۶۰	۰/۷۹	۱/۰۲

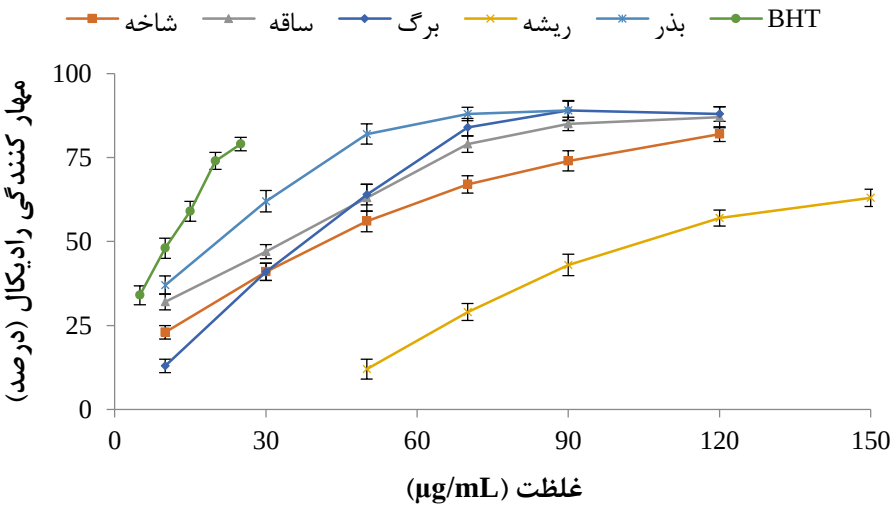
بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تام متانولی اندام‌های مختلف گیاه از روش DPPH استفاده گردید. در این مقاله در آزمایش‌ها، آنتی‌اکسیدان بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT) به عنوان رفرنس استفاده گردید و نتایج به صورت IC_{50} (میکروگرم بر میلی لیتر) بیان گردید. بر اساس نتایج مشاهده شده (شکل ۵)، درصد مهارکنندگی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش می‌یابد و بیشترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به اندام‌های بذر و ریشه با مقدار IC_{50} برابر با ۲۵/۴ و ۹۹/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر است.



شکل ۴: کروماتوگرام HPLC مربوط به A) استاندارد فنولیک‌اسیدها، B) عصاره‌ی حاوی فنولیک اسیدهای آزاد استخراج شده از بذر گیاه *L. vesicarium*

Figure 4: HPLC chromatogram of A) phenolic acids standard, B) The free phenolic acids extract extracted from the seeds of *L. vesicarium*

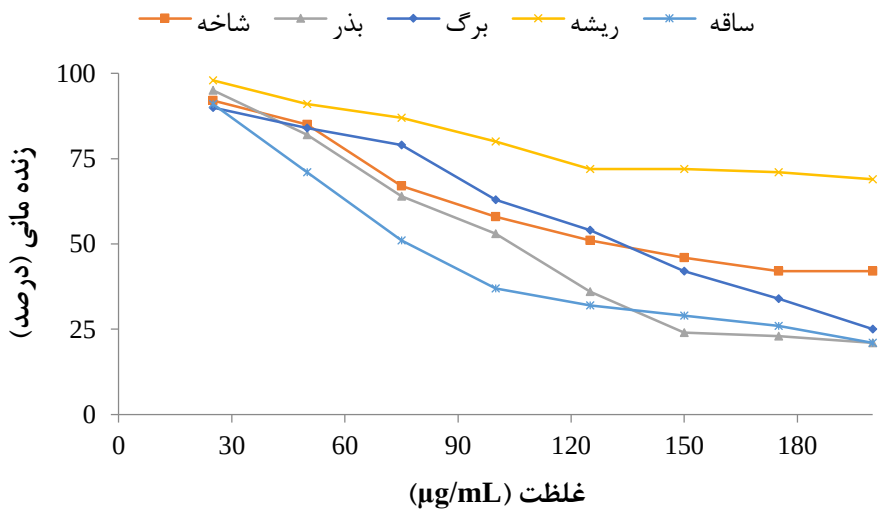


شکل ۵ - درصد مهارکنندگی رادیکالی عصاره‌های به دست آمده از اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* . آزمایش در سه تکرار انجام گرفت و میله‌های روی ستون‌ها نشان‌دهنده انحراف از میانگین می‌باشد.

Figure 5: Radical inhibitory percentage of extracts obtained from different organs of *L. vesicarium* plnt. The experiment was performed in three repetitions and the bars on the columns indicate the deviation from the average.

بررسی سمیت سلولی

از آزمون MTT جهت بررسی خاصیت سمیت‌سلولی عصاره تام متانولی اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium* در محیط *In vitro* استفاده گردید. شکل ۶ نتایج حاصل از تیمار سلول‌های MCF-7 با غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها در زمان‌های ۲۴ ساعت را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی وابسته به غلظت عصاره‌ها بوده و با افزایش غلظت درصد سلول‌های MCF-7 زنده، کاهش یافته و از قابلیت پرولیفراسیون سلول‌ها جلوگیری می‌شود. IC_{50} عصاره اندام های مختلف بر روی رده سلولی MCF-7 محاسبه گردید و مقادیر آن برای ساقه، بذر، شاخه ، برگ و ریشه به ترتیب برابر با ۷۱/۲۱، ۹۸/۶۲، ۱۳۲/۴۱، ۱۳۳/۹۴ و >۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و بر اساس نتایج، سمیت‌سلولی در بین نمونه‌های مورد مطالعه، با توالی ساقه> بذر> شاخه > برگ > ریشه کاهش نشان داد.



شکل ۶: درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7) در اثر تیمار با عصاره اندام‌های مختلف گیاه *L. vesicarium*

Figure 6: Viability percentage of breast cancer cells (MCF-7) as a result of treatment with extracts of different organs of *L. vesicarium*

مباحث

در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی، به دلیل اثرات مضرر داروهای سنتزی، تحقیق بر روی ترکیبات طبیعی افزایش یافته است تا از این طریق بتوانند جایگزینی برای داروهای سنتزی باشند (Wannes *et al*., 1970; Djeridane *et al*., 2006). طبق بررسی‌ها، ترکیبات فنولی، توکوفرول‌ها (ویتامین E) و آسکوربیک‌اسید (ویتامین E) جزء مهم‌ترین ترکیبات ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Velioglu *et al*., 1998). همچنین، از میان ترکیبات مذکور، ترکیبات فنولی دارای فعالیت‌های بیولوژیکی بالاتری نسبت به توکوفرولها و آسکوربیک‌اسید هستند (Karami *et al*., 2013). این ترکیبات جزء متابولیت ثانویه هستند که معمولا در گیاهان یافت می‌شوند و به گروه‌های مختلفی طبقه‌بندی می‌شوند که از بین گروه‌های مختلف، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی بدلیل دارا بودن طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و ضدآلرژی، دارای اهمیت فراوانی هستند (Montoro *et al*., 2005). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که گیاه *L. vesicarium* دارای محتوای بالای ترکیبات فنولی و از جمله فلاونوئیدها در ساقه و بذر می باشد (شکل ۲ و ۳). نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پژوهش حاضر نشان داد که عصاره ساقه و بذر گیاه مورد مطالعه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر اندام گیاه است. همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وابسته به غلظت بود و غلظت‌های بالاتر قدرت مهارکنندگی بیشتری در برابر رادیکال‌های آزاد نشان دادند. نتایج حاصل از برخی مطالعات انجام شده نشان دهنده همبستگی محتوای ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان است (Siddique *et al*., 2010). در نتیجه، طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، شاید بتوان حدس زد

که خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای عصاره بذر گیاه *L. vesicarium* مربوط به ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در آن است و میزان فنول و فلاونوئید کل در این تحقیق می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره بذر گیاه را توجیه نماید.

مطالعات مربوط به ارتباط بین عصاره‌های حاوی ترکیبات فنولی با خواص ضدسرطانی نشان می‌دهد که عصاره‌هایی با بیشترین میزان ترکیبات فنولی عملکرد ضد سرطانی بهتری در مقایسه با سایر عصاره‌ها دارند. این ترکیبات فنولی، اثر ضدسرطانی خود را از طریق جلوگیری از آنزیم‌های متابولیک دخیل در فعال‌سازی عوامل سرطان‌زا و یا توقف سیکل سلول سرطانی بروز می دهند (Abdelhady & Aly, 2012). نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت سمیت‌سلول بر علیه سلول‌های سرطانی MCF-7 در پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین سمیت‌سلولی مربوط به عصاره‌های ساقه و بذر گیاه مورد مطالعه بود. همچنین، نتایج آنالیز فنولیک اسیدها نشان داد که این عصاره‌ها دارای مقادیر بیشتری از کافئیک‌اسید و گالیک‌اسید نسبت به سایر عصاره‌ها است. بر اساس تحقیقات انجام گرفته، کافئیک و گالیک‌اسید نقش مهمی را در مهار سلول‌های سرطانی دارند. مطالعه Zarlaha و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که کافئیک‌اسید بر روی سلول‌های سرطانی تخمدان اثر گذاشته و بررسی‌های مولکولی نیز تایید کردند که این ماده دارای بیشترین خاصیت ضدسرطانی است. همچنین، کافئیک‌اسید دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و منجر به مهار تکثیر سلول‌های سرطانی سینه و کبد نیز می‌شود (El-Refaei & El-Naa, 2011). همچنین، مطالعه بر روی عصاره‌های حاوی گالیک‌اسید نشان داد که این عصاره‌ها باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطان کلون HT-29 در یک دوره‌ی ۲۴ ساعته می‌شوند. این ماده به عنوان القاکننده آپوپتوز است که با تولید گونه‌های اکسیژن فعال و توقف سلول‌ها در مرحله G2/M مانع تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود (Korekar *et al*., 2011; Verma *et al*., 2013; Cassiem & Kock, 2019). در نتیجه، طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، شاید بتوان حدس زد که سمیت سلولی بالای عصاره‌های ساقه و بذر گیاه *L. vesicarium* مربوط به ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در آن از جمله کافئیک‌اسید و گالیک‌اسید باشد.

بنابراین، بر اساس نتایج به دست آمده، بذر گیاه *L. vesicarium* دارای بیشترین ترکیبات فنولی از جمله کافئیک‌اسید، فرولیک اسید و گالیک‌اسید است و با توجه به اینکه عصاره متانولی این اندام از پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌سلولی برخوردار است لذا بذر این گیاه می‌تواند در صنایع داروئی و غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه شهید مدنی آذربایجان بدلیل حمایت مالی تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

کشاورز، س.د.، اثنا عشری، س.، دل آذر، ع.، اصغریان، پ. (۱۳۹۶). بررسی فیتوشیمیایی و خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه *Lepidium vesicarium*. پایان نامه دکترای عمومی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.

Abdelhady, M.I., and Aly, H.A.H. (2012). Antioxidant antimicrobial activities of *Callistemon comboynensis* essential oil. Free Radicals and Antioxidants, 2(1): 37-41.

Al-Shehbaz, I.A. (2012). A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). Taxon 61: 931-954.

Asnaashari, S., Delazar, A., Safarzadeh, E., Tabibi, H., Mollaei, S., Rajabi, A. and Asgharian, P. (2019). Phytochemical analysis and various biological activities of the aerial parts of *Scrophularia atropatana* growing in Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 18(3): 1543-1555.

Asnaashari, S., Keshavarz, S., Delazar, A., Sarvari, Y., and Asgharian, P. (2018). GC-MS analysis, antioxidant and antimicrobial screening of volatile oil of *Lepidium vesicarium*: *Pharmaceutical Sciences, 24(3): 246-249.*

Blois, M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199–1200.

Bolatito, A.F.C. (2010). Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. Journal of Natural Products, 3: 27-34.

Bramara, B.V.B., Vasavi, H.S., Sudeep, H.V., and Prasad, S. (2017). Hydroalcoholic extract from *Lepidium meyenii* (Black Maca) root exerts wound healing activity in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Wound Medicine, 19,* 75-81.

Cassiem, W., and Kock, M. (2019). The anti-proliferative effect of apricot and peach kernel extracts on human colon cancer cells in vitro. BMC Complementary and Alternative Medicine, 19(1): 32.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97(4): 654–660.

El-Refaei, M.F., El-Naa, M.M. (2011). Antioxidant and Apoptotic Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester Induced Marked Inhibition on Human Breast Cancer Cell Line. Asian Journal of Biochemistry, 6: 82-89.

Fresco, P., Borges, F., Marques, M.P., and Diniz, C. (2010). The anticancer properties of dietary polyphenols and its relation with apoptosis. Current Pharmaceutical Design, 16(1): 114-34.

Hazrati, S., Ebadi, M.T., Mollaei, S. and Khurizadeh, S. (2019). Evaluation of volatile and phenolic compounds, and antioxidant activity of different parts of *Ferulago angulata* (schlecht.) Boiss. Industrial Crops and Products, 140: 111589.

Kakate, K. (1997). Practical Pharmacognosy, Vallabh Prakashan, Delhi, India, 4th edition.

Karami, Z., Mirzaei, H., Emamdjomeh, Z., Sadeghimahoonak, A.R., and Khomeiri, M. (2013). Effect of harvest time on antioxidant activity of Glycyrrhiza glabra root extract and evaluation of its antibacterial activity. International Food Research Journal, 20: 2951-7.

Karimi, S., Farzaneh, F., Asnaashari, S., Parina, P., Sarvari, Y., and Hazrati, S. (2019). Phytochemical analysis and anti-microbial activity of some important medicinal plants from North-west of Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 18(4): 1871.

Korekar, G., Stobdan, T., Arora, R., and Yadav, A. (2011). Antioxidant capacity and phenolics content of apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel as a function of genotype. Plant Foods for Human Nutrition. 66(4): 376–83.

Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H. and Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. Molecules, 21(10): 1374.

Mondiale de la Santé, O. (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014–2023, Organisation mondiale de la Santé, Geneva, Switzerland.

Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., and De Tommasi, N. (2005). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. Food Chemistry 92(2): 349–355.

Shimi P. and Termeh F. (2004). Weeds of Iran. Ministry of Agriculture, Tehran.

Siddique, N.A., Mujeeb, M., Najmi, A.K., and Akram, K. (2010). Evaluation of antioxidant activity quantitative estimation of phenols and flavonoids in different parts of *Aegle marelos*. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 4: 1-5.

Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16 (3), 144–158.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(10): 4113–4117.

Verma, S., Singh, A., and Mishra, A. (2013). Gallic acid: Molecular rival of cancer. Environmental Toxicology and Pharmacology, 35(3): 473-85.

Wang, S., and Zhu, F. (2019). Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food chemistry*, *288*, 422-443.

Wannes, W.A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M.B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M., and Wood, J.L. (1970). Biochemistry of mercapturic acid formation. In: Fishman, W.H. (Ed.), Metabolic Conjugation and Metabolic Hydrolysis. Academic Press, London and New York, pp. 261–299.

Zarlaha, A., Koupkoumelis, N., and Stanojkovik, T. (2014). Cytotoxic activity of essential oil and extract of *Ocimum basilicum* against human carcinoma cells. Molecular docking study of isoeugenol as a potent cox and lox inhibitor. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 10: 907-917.

Investigation of phenolic compounds and biological properties of vegetative organs of *Lepdium vesicarium* L.

S. Mollaei[1*], Mahnaz Eslami[2], Mostafa Ebadi[3]

Received:2020.11.19
Accepted:2021.7.19

Abstract

Despite a long history of medicinal use of *Lepdium vesicarium*, the phenolic compounds and biological activity studies have not been performed on different organs of the plant. So, after obtaining methanolic extract of the different organs (root, leave, stem, branch, and seed), the total phenolic and flavonoid contents were assayed by spectrophotometric methods, and antioxidant and cytotoxic properties were evaluated by DPPH and MTT methods, respectively, and then free and esterified phenolic acids were analyzed by HPLC. According to the results, the methanolic extracts of seed and leaf had the highest total phenolic content, and the maximum flavonoid content was related to the stem and seed extracts. The investigation of antioxidant and cytotoxic activity against MCF-7 cells showed that the highest antioxidant activity was related to the methanolic extract of seed, and extracts of stem and seed had the highest cytotoxic activity. The results of phenolic acids analysis indicated that caffeic acid with the amounts of 1.44±0.16 and 1.11±0.09 mg/g dry weight was the main free phenolic acids in the leaf and branch extracts, respectively. Also, salycilic acid and m-coumaric acid with the amounts of 0.98±0.07 and 0.95±0.07 mg/g dry weight were the predominant esterified phenolic acid in the root and branch extracts, respectively. Therefore, based on the results, seeds have the highest phenolic compounds, including caffeic, ferulic and gallic acids and due to its high antioxidant potential and cytotoxicity, it can be used in the pharmaceutical and food industries.

Keywords: ***Antioxidant, Caffeic acid, Cytotoxic activity, Gallic acid, L. vesicarium***

---

1 Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, (*Corresponding Author's: s.mollaei@azaruniv.ac.ir)
2 Master's student, Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz
3 Tabriz, Azarbaijan Shahid Madani University, Department of Biology