بررسی فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی استرول‌ها و اسیدهای چرب دو گونه دارویی *Eryngium caucasicum* Trautv. و *Caucalis platycarpos* L. در استان گیلان

سحر محمدی‌پور[1]، عبداله حاتمزاده[2]، داود بخشی[3]، اردلان پاسداران[4*]

[1]دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[2]استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[3]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[4]استادیار، مرکز تحقیقات فراوری گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان فارس، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۵

چکیده

جنس *Eryngium* یکی از بزرگترین جنس‌های تیره چتریان (Apiaceae) است با بیش از ۲۵۰ گونه بعضا به عنوان محصولات زراعی، دارویی و خوراکی در ایران کشت می‌شود. در این تحقیق به منظور بررسی فیتوشیمیایی ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره هگزانی سرشاخه‌های گلدار دو گونه دارویی زولنگ و ساقه خز (*E. caucasicum* و *C. platycarpos*) به‌ترتیب از ارتفاعات ۱۴۰۰ و ۱۲۰۰ متر و منطقه فومنات و جنگل سراوان در محدوده توتکابن در فاصله ماه‌های خرداد تا تیرماه سال ۹۳ برداشت گردید. عصاره‌گیری از نمونه‌ها با استفاده از روش خیساندن[1] و فراکسیونه کردن عصاره‌های هگزانی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع به کمک خلاء[2] انجام گردید. آنالیز مواد مؤثره نیز با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی[3] مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از شش روش مختلف استفاده گردید. جهت ارزیابی فعالیت ضد التهابی فراکسیون‌های اسیدهای چرب و فیتواسترولی از روش پایدار شوندگی غشا گلبولهای قرمز انسانی (HRBC) [4] بهره گرفته شد. نتایج بررسی‌های فیتوشیمیایی نشان داد، مقدار کلی ترکیبات موجود در عصاره تام غیرقطبی حاصل از حلال هگزان در گونه *E. caucasicum* (۱۸/۲۱درصد) نسبت به گونه *C. platycarpos* (۷/۳۹ درصد) به طور قابل توجهی بیشتر بود. در بین ترکیبات شناسایی شده استیگمااستانول (۲۱/۳۵ درصد) و بتا-سیتواسترول (۱۲/۱۹ درصد) به‌ترتیب از بیشترین ترکیبات فیتواسترولی شناسایی شده در گیاهان *E. caucasicum* و *C. platycarpos* بوده‌اند و ترکیب ۱- پالمیتول گلیسرول در هر دو گونه بیشترین مقدار اسید چرب را به خود اختصاص داد. بهترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی مربوط به فراکسیون شماره ۲ و ۳ در گونه *E. caucasicum* می‌باشد که به‌ترتیب حاوی ترکیبات اسیدهای چرب و استرولی با IC_{50} برابر ۰/۰۰± ۷۵ و ۰/۳۵±۹۲ میکروگرم بر میلی لیتر بودند. بیشترین فعالیت ضد التهابی متعلق به فراکسیون حاوی اسیدهای چرب بود به‌طوری‌که گونه *E. caucasicum* (۶۶/۷۸درصد) فعالیت ضدالتهابی بیشتری نسبت به گونه *C. platycarpos* (۴۵/۰۱ درصد) از خود نشان داد. در نتیجه مشخص گردید که یک رابطه مثبت و معنی‌دار میان میزان استرول‌ها و اسیدهای چرب موجود در گیاهان مورد بررسی و فعالیت ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی آنها وجود دارد که علاوه بر تایید مصارف محلی، امکان استفاده دارویی- غذایی آنها را نیز اثبات می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: استرول، اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدان، ساقه خز (*Caucalis platycarpos* L.)، ضدالتهابی، زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trautv.)، فیتواسترول، گیلان

[1] Maceration
[2] Vacuum Liquid Chromatography(VLC)
[3] Gas chromatography - mass spectrometry
[4] Human red blood cell membrane stabilization method

*نویسنده مسئول: pasdaran@sums.ac.ir

مقدمه

خانواده چتریان یکی از بزرگترین خانواده‌های دارویی به شمار می‌آید اما علی رغم استفاده‌های گسترده بسیاری از جنس‌های مربوط به این گونه در طب سنتی و به‌عنوان گیاهان خوراکی هنوز ترکیبات مؤثره این گیان ناشناخته است به‌طور مثال جنس ارنژیوم دارای ۲۵۰ گونه است که تا به حال فقط به بررسی فیتوشیمیایی ۲۳ گونه از ان پرداخته شده است که در این میان ترکیبات ثانویه موجود در منابع با ارزش گیاهان خوراکی و محلی نقش بسزایی در توسعه مکمل‌های طبیعی و ملکول‌های با ارزش درمانی ایفا می‌کنند (Wang et al.,Geyer et al., 2011 ;2012). از سوی دیگر استفاده از داروهای گیاهی و شناسایی ترکیبات جدید درمانی از منابع طبیعی از عوامل مهمی هستند که جهت تامین منابع درمانی و سلامت جامعه بسیار مورد توجه واقع شده‌اند و تیره چتریان با بیش از ۳٤ جنس و ۱۲۳ گونه دارویی و خوراکی در سطح جهان یکی از گسترده‌ترین تیره‌های دارویی به شمار می‌رود به‌طوری که گونه‌های مختلف این تیره در درمان بیماری‌های کبدی، تنفسی، پوستی، کلیوی و همچنین در بهبود عملکرد دستگاه ادراری، قلبی و سیستم گردش خون بکار می‌رود و در گزارشات بسیاری به اثرات ضدتوموری، ضددیابتی، ضدعفونتی آن اشاره شده است؛ علاوه بر این اسانس و عصاره حاصل از اندام‌های گیاهی بسیاری از جنس‌های این تیره در درمان زخم، التهاب و آلرژی استفاده می‌شوند (Ul-ikram et al., 2015). اثرات درمانی گونه‌های این تیره را می‌توان مربوط به اسانس و مواد موجود در عصاره حاصل از گیاه دانست. اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی اسانس در بسیاری از گونه‌های این تیره دیده شده است. از این رو امروزه تحقیقات گسترده‌ای بر روی شناسایی ترکیبات و خواص درمانی گونه‌های متعلق به این تیره در ایران و کشورهای مختلف انجام شده است و اغلب جنس‌های ابن تیره به‌عنوان داروهای کم خطر و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بسیار مورد توجه واقع شده‌اند (Chiang et al., 2003; Cherng et al., 2008). دو گونه خوراکی زولنگ (*E. caucasicum*) و ساقه خز (*C. platycarpos*) از تیره چتریان (Apiaceae)، در مناطق شمالی ایران به‌عنوان ادویه، سبزی و طعم‌دهنده در محصولات لبنی استفاده می‌شوند و همچنین به‌عنوان گیاهان خوراکی و درمانی به خوبی در این مناطق شناخته شده هستند به‌طوری که افراد محلی از گونه‌های نامبرده در درمان بیماری‌های گوناگون از جمله بیماری‌های التهابی و در درمان سوختگی، تب، یبوست، آسم و دردهای معده استفاده می‌کنند (Khoshbakht et al., 2007; Paul et al., 2011). جنس *Eryngium* دارای حدود ۲۵۰ گونه است که در بیشتر منابع از گونه‌های مختلف آن به عنوان گیاهان خوراکی و دارویی یاد شده است. از اندام‌های مختلف زولنگ (*E. caucasicum*) جهت درمان بیماری‌های گوناگون استفاده می‌شود به‌طور مثال ریشه گونه‌های مختلف این جنس در درمان ادما، سینوزیت، عفونت‌های ادراری و بیماری‌های التهابی بکار می‌رودو در مطالعات گسترده فیتوشیمیایی انجام شده بر روی گونه‌های مختلف جنس *Eryngium*، سنتز ترکیبات پلی استیلنی، استرولی، فلاونوئیدی، ساپونینی، کومارینی و گلیکوزیدهای مونوترپنی، عامل مؤثر در ایجاد اثرات درمانی، ضدالتهابی وآنتی اکسیدانی قوی در این گیاهان شناخته شده است (De La Luz Cádiz-Gurrea et al., 2013). امروزه گونه *C. platycarpos* نیز تا حد زیادی مورد توجه قرار گرفته است؛ زیرا علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی مشاهده شده در اسانس این گیاه، عصاره آبی حاصل از اندام‌های هوایی آن دارایاثر آنتی توموری قابل ملاحظه‌ای است به‌طوری‌که در مدیترانه

و اروپا جهت درمان تومورهای خاصی استفاده می‌شود (Plazonic et al., 2009). ترکیبات استرولی، بزرگترین بخش از ترکیبات لیپیدی غیرصابونی شونده[1] (مانندواکس‌ها[2]، چربی‌ها[3] و روغن‌ها[4] که قابلیت صابونی شدن ندارند) را در گیاهان تشکیل می‌دهند و گزارشات بسیاری مبنی بر حضور این ترکیبات در جنس‌های مختلف متعلق به تیره چتریان منتشر شده و همانطور که گفته شد بسیاری از دانشمندان اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی این گیاهان را منصوب به این ترکیبات می‌دانند (Careri et al., 2001). نتایج حاصل از تحقیقات انجام گرفتهروی عصاره هگزانی *E. foetidum* که در طب سنتی به عنوان یک گیاه دارویی مؤثر شناخته شده است؛ نشان داد که که این عصاره غنی از ترکیبات استرولی و تریترپنی است که خود می‌تواند دلیلی برای اثبات خاصیت ضدالتهابی قوی این ترکیبات باشد. در میان مکانیزم‌های مختلف ضد التهابی از بین بردن رایکال‌های آزاد یکی از مکانیسم‌های اصلی است که در بعضی از داروهای ضد التهاب نیزدیده می‌شود. بسیاری از ترکیبات استرولی (استروئیدهای الکلی) جزو موثرترین ترکیبات بکارگرفته شده در درمان بیماری‌های التهاب شناخته شده‌اند (Yadava et al., 2018)، بنابراین بررسی و شناسایی این دسته از ترکیبات با در نظر گرفتن پتانسیل بالای درمانی آنها در درمان و پیشگیری بیماری‌های التهابی بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

از این رو با شناخت درست و اصولی ترکیبات شیمیایی گیاهان می‌توان اثرات درمانی آنها را به درستی بررسی کرد و با افزایش ترکیبات ثانویه،اثرات درمانی آن‌ها را افزایش داد. اگر چه تاکنون اطلاعاتی درباره ساختار فیتواسترول‌ها و اسیدهای چرب متعلق به منابع گیاهان خوراکی موجود است اما اطلاعات موجود با توجه به تنوع گسترده گیاهان سنتی و خوراکی منطقه ناچیز می‌باشد، لذا بررسی پروفایل ترکیبات و نیز فعالیت‌های بیولوژیک این منابع در کشور ضروری می‌باشد. بدین‌ترتیب این مطالعه به منظور شناسایی ترکیبات موجود در عصاره الکلی حاصل از اندام‌های هوایی دو گونه *E. caucasicum* و *C. platycarpos* و بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در شمال ایران (رشت و حومه) انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی: اندام‌های هوایی *E. caucasicum* و *C. platycarpos* از محدوده جنگل سراوان به سمت رودبار در محدوده بین توتکابن و سراوان در استان گیلان به‌ترتیب در ارتفاعات ۱۴۰۰ و ۱۲۰۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری شدند. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده در دمای اتاق خشک و توسط آسیاب صنعتی به ذرات پودری بسیار ریز و یکنواخت تبدیل شدند. اطلاعات اتنوبوتانیکال مربوط به موارد مصارف خوراکی و دارویی این گیاهان از افراد مسن و بومی منطقه جمع‌آوری، کسب شد. نمونه‌های هرباریومی مذکور پس از شناسایی توسط مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، با شماره ۲۵۸۷ و ۲۵۸۸ مورد نگهداری قرار گرفتند.

عصاره‌گیری: استخراج اولیه اندام هوایی پودر شده گونه‌های *E. caucasicum* و *C. platycarpos* هر کدام به میزان ۳ کیلوگرم، توسط حلال متانول انجام شد. سپس نمونه‌ها به کمک دستگاه روتاری خشک گردید و در مرحله دوم عصاره‌گیری از حلال n-هگزان جهت استخراج ترکیبات غیرقطبی استفاده

1. Unsaponified
2. Waxes
3. Fats
4. Oils

شد. در هر دو مرحله فوق، عصاره‌گیری برای هر دو نمونه گیاهی ۳ مرتبه و در هر مرتبه به‌مدت ۲٤ ساعت با روش خیساندن[1] انجامگردید. عصاره‌های حاصل از سه مرتبه تکرار هر گونه جداگانه جمع‌آوری و سپس با یکدیگر ترکیب، و توسط روتاری در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گشت. عصارهای نهایی هر دو گونه گیاهی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در تاریکی کامل برای مراحل بعدی نگهداری شدند. عصاره‌های تغلیظ شده جهت فراکسیونه کردن بر روی ستون سیلیکاژل و تهیه فراکسیون‌های غنی از استرول‌ها و اسیدهای چرب مورد استفاده قرار گرفتند (Raeisi et al., 2017).

فرآیند استحصال استرول‌ها و مشتق سازی آنها: ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره هگزانی دو گونه مذکور با کمک سه حلال که شامل: (۱) ۱۰ میلی‌لیتر *n*-هگزان: دی‌اتیل اتر (F1، v/v، ۲۰۰:۱) (۲) ۱۰ میلی‌لیتر *n*-هگزان: دی‌اتیل اتر (F2، v/v، ۹٦:٤) و (۳) ۱۰ میلی‌لیتر *n*-هگزان: دی‌اتیل اتر (F2، v/v،۰/۲:۱۰۰) بود؛ فراکسیونه شدند (Hamedi et al., 2015). در این مرحله فراکسیون‌های عاری از حلال جهت پروسه صابونی کردن مورد استفاده قرار گرفتند. فراکسیون‌ها با استفاده از اسکروکپ به ویال‌های محتوی ۱ میلی‌لیتر سود سوزآور (۳۳٪) و ٤ میلی‌لیتر اتانول (۹٦٪) افزوده شدند. ویال‌ها با تحرک ثابت برای ۲٤ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مخلوط‌های نامبرده توسط ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر شسته شده و سپس ترکیبات غیرصابونی شونده[2] موجود در این مخلوط‌ها توسط ۳ میلی‌لیتر *n*-هگزان استخراج گردید. عصاره حاصل تحت جریان نیتروژن خشک گشته و جهت ایجاد مشتقسیلانیزه در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت در ۲۰۰ میکرولیتر از O،N- بیس(تری متیل سلیل) تریفلورواستامید (TMS) و مخلوط پریدین قرار گرفتند. پس از ۱ ساعت، با استفاده از جریان نیتروژن و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حلال موجود در عصاره خشک گردید. مشتقات تریمتیل سلیل (TMS) استرول‌ها، سپس با ۰/۳ میلی‌لیتر هگزان عصاره‌گیری شد. مایع بالایی این محلول پس از ۲ دقیقه سانترفیوژ شدن جمع‌آوری شده و برای تزریق و بررسی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی اسیدهای چرب: جهت بررسی اسیدهای چرب موجود در نمونه‌های گیاهی مشتق متیل استری اسیدهای چرب (FAME) از روش حامدی و همکاراناستفاده گردید (Hamedi et al., 2017). حدود ۰/۲ میلی‌لیتر از هریک از عصاره‌های هگزانی در ۱ میلی‌لیتر تولوئن و ۲ میلی‌لیتر سولفوریک اسید متانولی جهت انجام فرآیند متانولیز/متیلاسیون حل گردید (Zhang et al., 2015). لوله‌های حاوی نمونه‌ها دردمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت نگهداری شده و سپس به این نمونه‌ها محلول ۵٪ سدیم کلراید افزوده گردید، FAME حاصل با افزودن حلال هگزان طی دو مرتبه جدا سازی شد (۲×۵ میلی‌لیتر). FAME حاصل بوسیله محلول سدیم بیکربنات ۲ درصد شسته شد و با استفاده از سدیم سولفات بدون آب خشک گردید. بعد از مدت ۱ دقیقه محلول حاصله در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شده و فاز مایع قسمت فوقانی محلول جمع‌آوری گردید.حلال موجود در محلول با استفاده از گاز نیتروژن حذف گردید و اولئیک اسید، میریستیک اسید، لوریک اسید و لینولئیک اسید و همین‌طور مشتقات متیل استر آنها برای ارزیابی و شناسایی مقدار اسیدهای چرب موجود در

1. Maceration
2. Unsaponified

E. caucasicum و *C. platycarpos* مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز GC-MS وکروماتوگرافی: یک میکرولیتر از هریک از استرول‌های FAME و TMS به دستگاه کروماتوگراف Hewlett-Packard 6890 مجهز به ستون HP-5MS capillary (i.d. = 0.25 mm, Film thickness= 0.15µm, Length = 25 M, phenylmethylsiloxane) تحت شرایط زیر تزریق شد؛ دمای ستون برای تزریق استرول‌های FAME، ۲۳۰-۱۶۰ درجه سانتی‌گراد در ۸ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود و به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. گاز حامل هلیوم و فشار داخلی ٤٠ کیلو پاسکال تنظیم، و دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای منبع یونی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. جهت تزریق استرول‌های TMS دمای ستون در ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک دقیقه، ۲۷۰-۲۳۰ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه و در دمای ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه در تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم، فشار داخلی ٤٠ کیلو پاسکال، دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای منبع یونی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. برای جمع‌آوری اطلاعات طیف جرمی بازه ٦٠٠amu -٤٠ در نظر گرفته شد. انرژی یونیزاسیون ۷۰eV تنظیم گردید. آنالیزهای کیفی اسیدهای چرب و استرول‌ها بر اساس مقایسه طیف جرمی حاصل از تزریق این ترکیبات و طیف جرمی و زمان‌ماندگاری استانداردهای بتا- سیتواسترول؛ استیگمااسترول، کامپسترول و اسیدهای چرب استاندارد و همچنین با استفاده از طیف‌های جرمی موجود در سایت‌های معتبر انجام شد (Hamedi et al., 2015; Yang et al., 2003).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های غیر قطبی با استفاده از روش DPPH : تمامی فراکسیون‌ها در حلال کلروفرم حل شده تا ٤ غلظت ٤٠، ٢٠، ١٠ و ٥ میکرومول حاصل شود. معرف ۲،۲- دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازید به میزان ۲۰۰ میکرومول بر ۲ میلی‌لیتر به ۱ میلی‌لیتر از هر فراکسیون افزوده شد. تمامی محلول‌های حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه جهت انجام هرگونه واکنش احتمالی بر روی دستگاه شیکر قرار گرفتند. جذب میانگین هر یک از غلظت‌های مذکور در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید و برای هر فراکسیون سه تکرار در نظر گرفته شد. تمامی مراحل مذکور متعاقبا برای ترولکس (به‌عنوان کنترل مثبت) نیز انجام شد. نتایج حاصل بر مبنای پنجاه درصد غلظت مهاری رادیکال‌های آزاد DPPH توسط هریک از نمونه‌ها (IC50) ارائه گردید (Nogala-Kalucka et al., 2010).

روش تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با تشکیل کمپلکس Phosphomolybdenum: فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمامی فراکسیون‌ها بر اساس روش ژنجین و همکاران (Zengin et al., 2015) با کمی تغییر ارزیابی شد. تمامی نمونه‌ها در حلال کلروفرم حل شدند.سپس۰/۳ میلی‌لیتر از این محلول با ۳ میلی‌لیتر محلول حاوی معرف (شامل ٤ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات، ۰/٦ مولار سولفوریک اسید و ۲۸ میلی‌مولار سدیم فسفات) حل گردید. نمونه‌ها به‌مدت۹۰ دقیقه و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد وسپس میزان جذب نمونه‌ها در ٦٩٥ نانومتر قرائت گردید. پتانسیل کل آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به صورت معادل میلی‌مول ترولوکسبرای تمامی فراکسیون‌ها بیان شد (Zengin et al., 2015).

ارزیابی کاهش توان اکسیدانی رادیکال ABTS: فعالیت خنثی سازی رادیکالی نمونه‌ها در مقابل کاتیون ۲،۲-آزینو- بیس- (۳-اتیل‌بنزوتیازولین)-٦-سولفونیک اسید رادیکال (ABTS) بر اساس متد

ژنجین و همکاران (Zengin et al., 2015) با کمی اصلاحات مورد ارزیابی قرار گرفت (Zengin et al., 2015). ABTS رادیکال کاتیون با برهمکنش بین ۷ میلی‌مول ABTS و ۲/٤٥ میلی‌مول پتاسیم پرسولفات تولید گشت. این مخلوط به‌مدت ۱۲-۱٦ ساعت در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شد. در ابتدا، مخلوط رادیکال کاتیون ABTS توسط متانول رقیق شد تا جذب ۰/۷±۰/۰۲ در ۷۳٤ نانومتر حاصل گردد. ۱ میلی‌لیتر ازمخلوط هریک از فراکسیون‌ها به ۲ میلی‌لیتر مخلوط ABTS افزوده شد و سپس بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق جذب آنها در ۷۳٤ نانومتر قرائت شد. نتایج حاصل به‌صورت معادل میلی‌مول ترولوکس برای تمامی فراکسیون‌ها بیان شد.

ارزیابی کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی یون مس: روش کاهش فعالیت یون مس[1] یکی دیگر از روش‌های بکار گرفته شده جهت شناسایی پتانسیل ضداکسیدانی ترکیبات استرولی و اسیدهای چرب در گونه‌های *E. caucasicum* و *C. platycaros* بوده است. ۳ میلی‌لیتر از مخلوط حاوی معرف (شامل ۱ میلی‌لیتر کلرید مس II ۱۰ میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر محلول بافر استات آمونیوم یک مولار با اسیدیته ۰/۷ و یک میلی‌لیتر نئوکوپروئین ۷/۵ میلی‌مولار) به ۰/۵ میلی‌لیتر از هریک از فراکسیون‌ها افزوده شد. با روش مشابه، نمونه بلانک آماده سپس با معرف مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق مقدار جذب در ٤٥۰ نانومتر برای فراکسیون‌ها و بلانک قرائت شد. کاهش فعالیت یون مس به‌صورت معادل میلی‌مول ترولوکس برای تمامی فراکسیون‌ها بیان شد (Zengin et al., 2015).

ارزیابی کاهش ظرفیت توان اکسیدانی یون آهن FRAP assay: روش کاهش قدرت اکسیدانی یون فریک (FRAP) یکی دیگر از روش‌های مورد استفاده در این تحقیق جهت بررسی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های استرول و اسید چرب دو گونه *E. caucasicum* و *C. platycarpos* بوده است. ۲ میلی‌لیتر معرف FRAP (شامل ۰/۳ مولار بافر استات با اسیدیته ۲/٦، ۱۰ میلی‌مولار ۲،٤،٦ – تریس (۲-پریدیل)-اس- تریازین (TPTZ) در ٤۰ میلی‌مولار اسید کلریدریک و ۲۰ میلی‌مولار فریک کلرید به نسبت (v/v/v)۱:۱:۱۰ به ۰/۱ میلی‌لیتر از تمامی فراکسیون‌ها افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، مقدار جذب نمونه‌ها در ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید. مقدار گزارش شده به صورت معادل میلی‌مول ترولوکس برای تمامی فراکسیون‌ها بیان شد (Aktumsek et al., 2013).

ارزیابی توان شلات کنندگی در حضور یون آهن: جهت اجرای این تست از روش آکتومسک و همکاران (Aktumsek et al., 2013). جهت بررسی فعالیت شلات کنندگی ترکیبات برروی یون‌های آهن استفاده شد. ۲ میلی‌لیتر از فراکسیون‌ها با ۰/۰۵ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن دو ($FeCL_2$) ۲ میلی‌مولار حل گردید. برای تحریک برهمکنش ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین[2]، ۵ میلی‌مولار به محلول قبل اضافه شد. همین پروسه جهت آماده سازینمونه بلانک نیز استفاده گردید. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب فراکسیون‌ها و بلانک در ٥٦۲ نانومتر قرائت شد. فعالیت شلات کنندگی ترکیبات به صورت میلی‌گرم اکیوالان دی‌سدیم سداتیت (EDTA) بیان شد.

ارزیابی عملکرد ضدالتهابی عصاره‌ها غیرقطبی با استفاده از روش همولیز گلبول‌های قرمز: ارزیابی فعالیت ضد التهابی فراکسیونهای استرولی و اسیدهای چرب بر اساس روش گاندهیداسان و همکاران

1. CUPRAC

2. Ferrozine

صورت گرفت (Gandhidasan et al., 1991). در این روش، گلبول‌های قرمز خون ($HRBC_S$) از افراد سالم داوطلب با حجم برابر محلول استریل شده آلسورز (Alsever's solution) مخلوط شد و با دور RPM ۳۰۰۰ سانترفیوژ شد. این فرآیند تا زمان جدا شدن کامل توده گلبولهای قرمز خون ادامه یافت. مخلوط ایزوسالین (NaCl، w/n، ۸۵٪) جهت شستن تجمع سلول‌های قرمز خون استفاده شد. غلظت‌های مختلف فراکسیون‌ها (۵۰، ۱۰۰،۲۰۰ و ٤۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌منظور تخمین میزان فعالیت ضدالتهابی استفاده شد. تمامی فراکسیون‌ها و استاندارد (۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر (Indomethacin) به‌طور جداگانه با یک میلی‌لیتر بافر فسفات، ۲ میلی‌لیتر هیپوسالین (Nacl (W/V) ۰/۲۵٪) و ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون HRBC (محلول کنترل) ترکیب شد. بیش از ٤/۵ میلی‌لیتر از مخلوط نهایی آماده گردید. تمامی نمونه‌ها در کابینت‌های سرولوژیک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند تا هرگونه واکنش احتمالی انجام گیرد. پس از این مرحله، تمامی نمونه‌ها با دور RPM ۳۰۰۰ سانترفیوژ شد. بخش فوقانی نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ جمع‌آوری شده و میزان هموگلوبین آزاد در ٥٦۰ نانومتر ارزیابی گردید. درصد همولیز با مقایسه با محلول کنترل و نمونه هایتست ارزیابی شد (Shinde et al., 1999).

نتایج

نتایج حاصل از بررسی عصاره هگزانی این گیاهان نشان داد که مقدارکل ترکیبات چربی دوست شناسایی شده در گونه‌ها *E. caucasicum* (۱۸/۲۱ درصد) نسبت به گونه *C. platycarpos* (۷/۳۹ درصد) بیشتر بود. نتایج حاصل از شناسایی ترکیبات موجود در فراکسیون‌ها نشان داد که آلکان‌ها، واکس استرها در فراکسیون شماره ۱، اسیدهای چرب استری در فراکسیون شماره ۲ و استرول‌ها در فراکسیون شماره ۳ بیشترین مقدار ترکیبات را به خود اختصاص دادند.

اطلاعات مربوط به مقایسه ترکیبات شناسایی شده در فراکسیون‌ها نشان داد که ترکیبات فیتواسترولی و اسیدهای چرب در مقایسه با ترکیبات آلکانی به‌طور قابل توجهی در گونه‌های نامبرده بیشتر است. از سوی دیگر بیشترین مقدار ترکیبات نامبرده در هر دوگونه، در فراکسیون‌های شماره ۲ و ۳ مشاهده گردید. اصلی‌ترین فیتواسترول مشاهده شده در گونه *E. caucasicum* به‌ترتیب استیگمااستانول (۲۱/۳۵ درصد)، اسپیناسترول (۱۵/٦۹ درصد) و براسیکااسترول (۹/۳ درصد) بود در حالی که بتاسیتواسترول (۱۲/۱۹ درصد) در گونه *C. platycarpos* بیشترین مقدار فیتواسترول را به خود اختصاص داد (جدول ۲). در بین ترکیبات اسید چرب مشاهده شده در فراکسیون حاوی ترکیبات اسید چرب در گونه *E. caucasicum*، اولئیل پالمیتولئات (۱۳/۰۹ درصد)، ۱۸-نونادکانوئیک اسید (۱۳/۲ درصد) و هگزادکانوئیک اسید (۱۵/۵۲درصد) جزء اصلی‌ترین ترکیبات اسید چرب شناسایی شده بودند در حالی که ۱-اولئیل-گلیسرول (۱۵,۸۵٪)، ۱۱،۸،۵-ایکوزاتریونیک اسید، متیل استر (۱۳,۹۳٪) و ۲-O-۹ اکتادسینیل گلیسرول (۱۰,۵۸٪) در گونه *C. platycarpos* بیشترین مقدار اسیدهای چرب را به خود اختصاص دادند (جدول‌های ۱ و ۳).

نتایج ارزیابی و مقایسه عملکرد فعالیت آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های دو گونه نامبرده نشان داد که فراکسیون شماره ۲ و فراکسیون شماره ۳ در گونه *E. caucasicum* و همچنین فراکسیون شماره ۲ در گونه *C. platycarpos* بیشترین عملکرد را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به دیگر روش‌های بکارگرفته شده نشان دادند (جدول‌های ۱ و ٤، شکل ۱).

نتایج بررسی اثر ضدالتهابی در بین فراکسیون‌های دو گونه زولنگ (*E. caucasicum*) و ساقه سبز (*C. platycarpos*) نشان داد که فراکسیون شماره ۳ در گونه *E. caucasicum* Trautv دارای بیشترین اثر ضد التهابی در مقایسه با دیگر فراکسیون‌ها می‌باشد (جدول ۵).

جدول ۱: محتوای اسید چرب (فراکسیون F2) *C. platycarpos* and *E. caucasicum*

Chemical compounds	RAP [a]	
	C. platycarpos	*E. caucasicum*
Docosanoic acid, 2,3-hydroxy propyl ester	7.5	-
Tetracosanoic acid	6.46	
Pentadecanoic acid	1.33	-
Hexacosanoic acid	0.23	-
Hexadecanoic acid	-	15.52
9-Hexadecenoic acid, 9-octadecenyl ester	-	13.09
9,12-Octadecadienoic acid, octyl ester	-	7.62
Hexadecanoic acid, methyl ester	-	10.54
Hexadecanoic acid, 2,3-dihydroxy, propyl ester	17.87	20.88
2-*O*-9 octadecenylglycerol	10.58	0.5
5,8,11-Eicosatriynoic acid, methyl ester	13.93	-
2-Hydroxysebacic acid	9.4	-
5,8,11-Eicosatriynoic acid	4.29	-
9-Octadecenoic acid, 2-[hydroxy]-1-[[hydroxy]methyl]ethyl ester	2	-
9-Octadecenoic acid	2.98	-
9-Octadecenoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester	15.85	-
Stearic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester	2.63	-
9,12-Octadecadienoic acid	-	1.20
Eicosanoic acid, 2,3-hydroxy propyl ester	0.2	-
Eicosanoic acid	-	1.93
Octadeca-5,9,12-trienoic acid	1.87	-
18-Nonadecanoic acid	-	13.2
Nonadecanoic acid, methyl ester	1.15	-
Docos-13-enoic acid	2.88	-
Tricosanoic acid	0.57	-

[a] Relative area percentage (peak area relative to total peak area %)

جدول ۲: محتوای استرولی (F3) *C. platycarpos* and *E. caucasicum*

Chemical compounds	RAP [a]	
	C. platycarpos	*E. caucasicum*
β-Sitosterol	12.19	4.7
Lanost-7-en-3-one	2.82	-
α-Spinasterol	-	15.69
Stigmastanol	-	21.35
Campestanol	-	5.2
Stigmasterol	-	5.65
Clionasterol	-	1.82
Desmosterol	-	7.44
Brassicasterol	-	9.3

[a] Relative area percentage (peak area relative to total peak area %).

جدول ۳: محتوای ترکیبات آلکانی و سایر ترکیبات مشابهه (F1) *C. platycarpos* and *E. caucasicum*

Chemical compounds	RAP [a]	
	C. platycarpos	*E. caucasicum*
Pentacosane	-	6.08
Heptacosane	-	13.21

Nonadecane	-	3.03
Tridecane	-	7.89
Dotriacontane	-	34.46
1-Hexacosanol	-	27.32
Triacontane	6.38	3.64
Nonacosane	7.38	-
Octacosane	7.83	-
Hentriacontane	5.36	-
Dotriacontane	3.66	-

[a] Relative area percentage (peak area relative to total peak area %).

جدول ٤: مقادیر غلظت پنجاه درصد مهاری در تست آنتی‌اکسیدانی (F1-F3) *C. platycarpos* and *E. caucasicum* DPPH

	C. platycarpos IC_{50} (μg/ml) [a]	*E. caucasicum* IC_{50} (μg/ml) [a]
Fraction 1	904±0.28	829±0.18
Fraction 2	130±0.06	75±0.00
Fraction 3	721±0.00	92±0.35
Control [b]	2.6	2.6

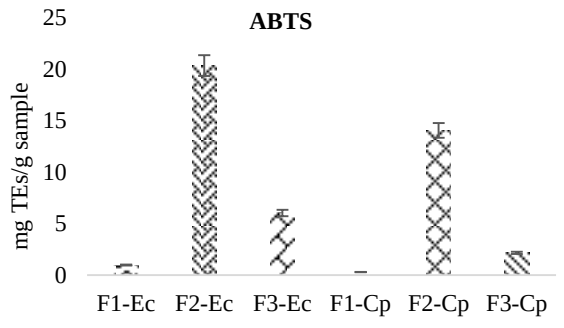
[a] ± S.E.M (n = 3)
[b] Trolox were used as positive control.

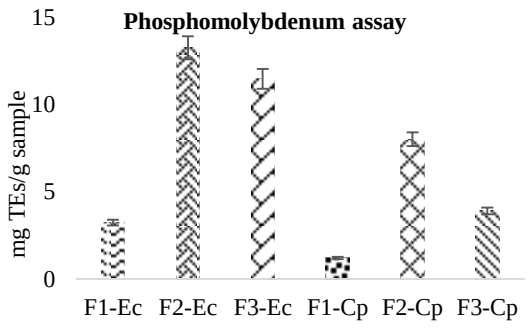
بر روی همولیز ناشی از شوک حرارتی و نمکی بر روی غشای سلول‌های اریتروسیت. *E. caucasicum* and *C.*

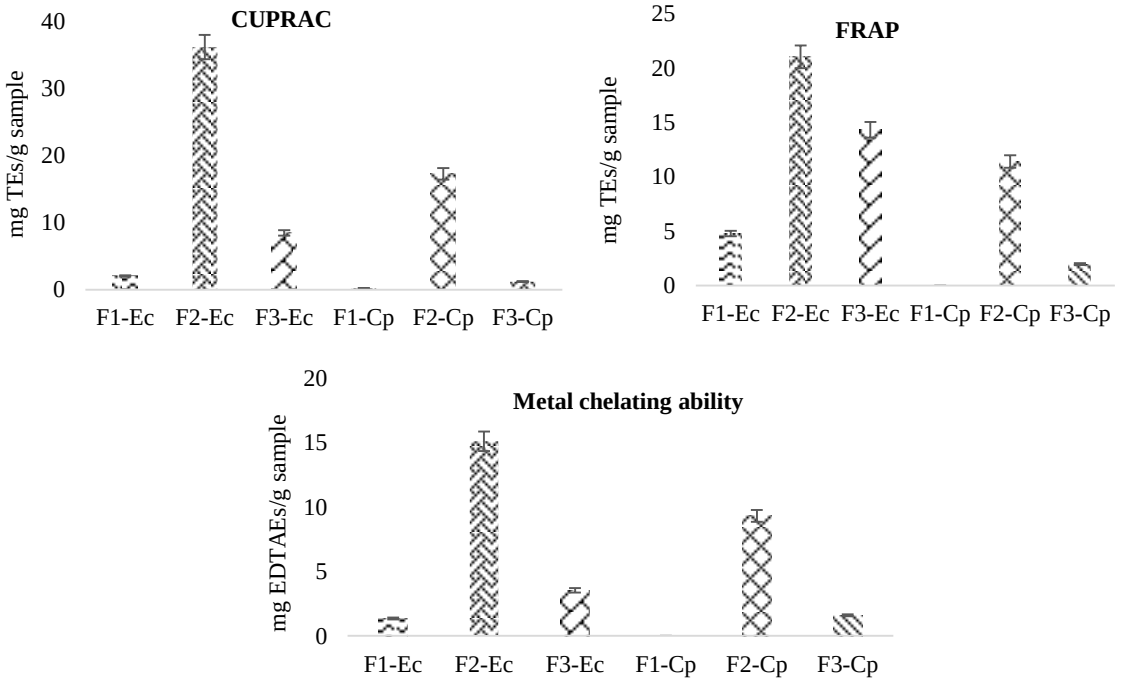
جدول ٥: تاثیر فراکسیون‌های (F1-F3) دو گیاه *platycarpos*

Treatment	Concentration (μg/ml)	Haemolysis inhibition (%)	Treatment	Concentration (μg/ml)	Haemolysis inhibition (%)
E. caucasicum			*C.platycarpos*		
Fraction 1	50	8.22±0.53	Fraction 1	50	0.00±0.53
	100	10.24±0.00		100	0.00±0.00
	200	10.60±0.03		200	6.12±0.35
	300	13.04±0.11		300	8.64±0.00
Fraction 2	50	0.00±0.00	Fraction 2	50	1.31±0.07
	100	3.04±0.00		100	8.79±0.00
	200	29.30±0.25		200	21.60±1.81
	300	66.78±0.00		300	45.01±1.38
Fraction 3	50	7.85±1.01	Fraction 3	50	1.03±0.00
	100	9.33±1.69		100	7.91±0.09
	200	19.50±0.05		200	10.41±0.91
	300	35.12±0.00		300	12.02±0.01
Control		-	Control		-

Values are mean ±S.D. n = 6; *P <0.05 vs. control







شکل ۱: پتانسیل‌های آنتی اکسیدانی فراکسیون‌های اسید چرب و استرولی گیاهان *C. platycarpos* و *E. caucasicum* . تست‌ها شامل ABTS, Phosphomolybdenum, CUPRAC, FRAP, Metal chelating ability می‌باشند که برای هر سه فراکسیونه گیاهان مورد بررسی اجرا شده‌اند.

($p < 0.05$)

(Values expressed are means ± S.D. of three parallel measurements).

بحث

از گذشته تا به امروز، روغن‌های گیاهی بخش قابل توجهی از ترکیبات خوراکی و درمانی را در سیستم‌های غذایی و درمانی به خوداختصاص داده و به‌طور سنتی در ملیت‌های گوناگون مورد استفاده قرار گرفته است. در دهه‌های اخیر، توجه شایانی به ترکیبات طبیعی چربی دوست نظیر فیتواسترول‌ها و اسیدهای چرب، جهت یافتن و توسعه ترکیبات مغذی و درمانی و کنترل بیماری‌های انسانی شده است (Micallef and Garg, ; Awad and Fink, 2000 2009). در مطالعاتی که بر روی استرول‌های گیاهی صورت گرفته است ترکیباتی نظیر بتاسیسترول[1]،کامپسترول[2] و استیگمااسترول[3] در روغن‌های خوراکی و رژیم غذایی انسان، از گسترده‌ترین و مؤثرترین استرول‌های گیاهی به شمار می‌آیند (Farquar,1996; Garcia et al., 1999) که خود استفاده گونه‌های زولنگ (*E .caucasicum*) و ساقه خز (*C. platycarpos*) را به‌عنوان گیاه خوراکی و دارویی تایید می‌کند.

نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که ترکیبات فیتواسترولی و اسیدهای چرب جزو اصلی‌ترین ترکیبات شناسایی شده در گیاهان زولنگ و ساقه خز بودند (جدول ۱ و ۲) به‌طوری‌که محتوای ترکیبات غیرقطبی در فراکسیون شماره ۲ زولنگ (*E.caucasicum*) به‌طور قابل توجهی بیشتر از ساقه سبز (*C. platycarpos*) بود. از طرف دیگر فعالیت

1. Betasisterol

2. Compestrol

3. Stigmasterol

ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی گونه *E. caucasicum* بیشتر از گونه *C. platycarpos* ارزیابی گردید (جدول ٤ و ٥). تا به امروز گزارشات زیادی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ترکیبات غیر فرار از گونه‌های مختلف جنس *Eryngium* L. را تایید کرده است؛ به‌طور مثال در تحقیقی که بر روی عصاره الکلی ۲۳ گونه مختلف از جنس *Eryngium* L. انجام شد، فعالیت ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی ترکیبات استرولی موجود در آنها به اثبات رسید (Wang et al., 2012).در یکی از تحقیقات انجام شده روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیل‌گلیسرول و استرول‌های موجود در گیاهان، نشان داده شد که این ترکیبات دارای فعالیت ضدالتهابی قابل توجهی هستند (Seeds et al., 1998) که این مهم خود می‌تواند عملکرد بالای فراکسیون شماره ۲ را در هر دو گونه تایید کند.نتایج حاصل از تحقیقی که با هدف بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ‌های گونه *E. caucasicum* انجام گرفت، نشان داد که میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در گونه زولنگ حتی از ویتامین سی نیز عملکرد بهتری دارد (Ebrahimzadeh et al., 2009).

امروزه دانشمندان بر این باورند کهفیتواسترول‌ها و اسیدهای چرب در کنترل فرآیند اکسیداسیون والتهاب نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند (Kozłowska et al., 2016). نقش این دست از ترکیبات در مهار فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها و نیز مهار حد واسط‌های التهابی به روشنی شناخته شده است (Youssef et al., 2010; Ortega et al., 2006). علاوه بر ترکیبات فنولیک گیاهی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چربی دوستگیاهی مهم مانند توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها، نیز به‌عنوان ترکیباتی که پایداری سلول را در برابر مکانیزم اکسیداسیون افزایش می‌دهندبه خوبی شناخته شده‌اند (Wu et al., 2004). در بین ترکیبات چربیدوست، سبزیجات غنی از اسیدهای چرب و فیتواسترول‌ها، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند که در بسیاری از تحقیقات به این مهم اشاره شده است. بر اساس آخرین گزارشات ارائه شده فیتواسترول‌ها، مخصوصا در گروه اتیلیدن[1]، می‌توانند دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی باشند (Tian and White, 1994؛ Wang et al., 2002). علاوه بر این در بسیاری از تحقیقات انجام شده اثر مهارکنندگی اسیدهای چرب بر روی انواع ذرات اکسیدانیتایید است (Wood and Enser., 1997; Richard et al., 2008). بر مبنای نتایج تحقیقات انجام شده، اسیل‌گلیسرول‌ها قادر به مهار بسیاری از فاکتورهای التهابی می‌باشند به‌طوری‌که در اغلب موارد بررسی شده، همراستایی قابل توجه ما بین میزان فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی اسیل‌گلیسرول‌ها مشاهده می‌شود (Gunstone, 2004).

نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که اسیل‌گلیسرول‌ها سبب سرکوب تشکیل گونه‌هایاکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) و نیز تومور نکروز فاکتور آلفا (TNF-α) در مدل‌های حیوانی می‌شود (Panikashvili et al., 2001; Witkamp, 2016). نتایج حاصل از این مطالعه نیز مؤید این نکته می‌باشدکه فراکسیون شماره ۲ که حاوی ترکیبات استرولی و اسید چرب بود نسبت به دیگر فراکسیون‌ها عملکرد بهتری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد (شکل شماره ۱) که خود نشان دهنده نقش مهم ترکیبات فوق در تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی است. با توجه به تحقیقات انجام شده،ترکیبات فیتواسترولی، از طریق برهمکنش با آنزیم‌های گوناگون نظیر سیکلواکسیژناز (COX) و میلوپراکسیداز (MPO) قادر به مهار پروسهِ التهابمی‌باشند. دریکی از تحقیقات انجام شده روی عصاره هگزانی گیاه *E. foetidum* که در جهت بررسی میزان پتانسیل ضد التهابی ترکیبات

1. Ethylidene

فیتواسترولی صورت گرفته شده، مشخص شد که عصاره هگزانی این گیاه دارای فعالیت ضدالتهابی قابل توجهی در مدل‌های حیوانی (حاد و مزمن) است و همچنین این ترکیبات به مقدار قابل توجهی قادر به کاهش فعالیتآنزیممیلوپراکسیداز در مدل نامبرده هستند. نتایج منتشر شده از تحقیقات انجام شده برروی مقایسه استرول‌های دو گونه گیاهی *E. foetidum* و *E. caucasicum* نشان داد که هر دو گونه دارای استرول‌های مشابهی هستند. استیگمااسترول، براسیکااسترول و بتا-سیتواسترول اشاره از جمله ترکیبات استرولی مشاهده شده در هر دو گونه مورد بررسی در این تحقیق بود؛ که خود بیانگر این مهم است که این ترکیبات به طور قابل توجهی در جنس *E. caucasicum* وجود دارد. علیرغم تفاوت‌های موجود بین مقادیرترکیبات چربی دوست این گونه‌ها،میزان فعالیت ضدالتهابی مشاهده شد در آنها مشابهبوده و استفاده‌های سنتی این گیاهان احتمالا مربوط به ترکیبات فیتواسترولی در این جنس‌می‌باشد (Garcia et al., 1995).

نتیجه‌گیری نهایی

بر مبنای یافته‌های حاصل از این تحقیق، گیاه *E. caucasicum* **می‌تواند** منبع قابل توجهی از ترکیبات فیتواسترولی و اسیل گلیسرول باشد. با توجه بهسابقه استفاده خوراکی گیاه *E. caucasicum* و همچنین حضور ترکیبات مذکور که منجر به فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌شودمی‌تواند این گونه را به یک منبع با ارزش غذایی-درمانیتبدیل کند. به طور کلی گونه زولنگ (*E. caucasicum*) نسبت به گونه ساقه سبز (*C. platycarpos*) قابلیت بیشتری جهت استفاده در مصارف خوراکی دارد اما این مطلب اهمیت دارویی گونه کائوکالیس را کم نمی‌کند و از سوی دیگر اهمیت تحقیق و بررسی بیشتر بر روی جنس‌های دیگر تیره چتریان را تایید می‌کند.

References

1. Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S. and Duran, A. 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea* L. species. Food and Chemical Toxicology, 55: 290 - 296.
2. Awad, A.B. and Fink, C. S. 2000. Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action. The Journal of nutrition, 130(9): 2127 - 2130.
3. Careri, M., Elviri, L. and Mangia, A. 2001. Liquid chromatography–UV determination and liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric characterization of sitosterol and stigmasterol in soybean oil. Journal of Chromatography, 935(1-2): 249 - 257.
4. Cherng, J.M., Chiang, W. and Chiang, L.C. 2008. Immunomodulatory activities of common vegetables and species of Umbelliferae and its related coumarins and flavonoids. Food chemistry, 106(3): 944 - 950.
5. Chiang, L., Chiang, W., Liu, M. and Lin, C. 2003. In vitro antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids.Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52(2): 194 - 198.
6. De La Luz Cádiz-Gurrea, M., Fernández-Arroyo, S., Joven, J. and Segura-Carretero, A. 2013. Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities. Food Research International, 50(1): 197 - 204.
7. del Carmen Recio, M., Giner, R.M., Máñez, S. and Ríos, J.L. 1995. Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. Planta medica, 61(02): 182-185.

8. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. 2009. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv. at flowering stage.Pharmacognosy Research, 1(6):435.
9. Farquar, JW. 1996. Plant sterols: their biological effects in humans. Handbook of lipids in human Nutrition. 101 - 105.
10. Gandhidasan, R., Thamaraichelvan, A. and Baburaj, S. 1991. Anti-inflammatory action of *Lannea coromandelica* by HRBC membrane stabilization. Fitoterapia, 62(1): 81 - 83.
11. Garcia, M., Saenz, M., Gomez, M. and Fernandez, M. 1999. Topical antiinflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. Phytotherapy Research, 13(1): 78 - 80.
12. Geyer, H., Braun, H., Burke, L., Stear, S. and Castell, L. 2011. A–Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance—Part 22. British journal of sports medicine, 45(9): 752 - 754.
13. Gunstone, F.D. 2004. The chemistry of oils and fats. Sources, Composition, Properties and Uses. Great Britain, Blackwell Publishing Ltd. 345p.
14. Hamedi, A., Ghanbari, A., Razavipour, R., Saeidi, V., Zarshenas, M. M., Sohrabpour, M. and Azari, H. 2015a. *Alyssum homolocarpum* seeds: phytochemical analysis and effects of the seed oil on neural stem cell proliferation and differentiation. Journal of natural medicines, 69(3): 387 - 396.
15. Hamedi, A., Jamshidzadeh, A., Ahmadi, S., Sohrabpour, M. and Zarshenas, M. 2016. *Salvia macrosiphon* seeds and seed oil: pharmacognostic, anti-inflammatory and analgesic properties. Research Journal of Pharmacognosy (RJP), 3(4): 27 - 37.
16. Hamedi, A., Khoshnoud, M.J., Tanideh, N., Abbasi, F., Fereidoonnezhad, M. and Mehrabani, D. 2015b. Reproductive toxicity of *Cassia absus* seeds in female rats: possible progesteronic properties of chaksine and b-sitosterol. Pharmaceutical Chemistry Journal, 49(4): 268 - 274.
17. Hamedi, A., Sohrabpour, M., Zarshenas, M. and Pasdaran, A. 2017. Phytochemical Investigation and Quantitative Analysis of the Fatty Acids and Sterol Compounds of Seven Pharmaceutical valuable Seeds. Current Pharmaceutical Analysis, 13(5): 475 - 482.
18. Khoshbakht, K., Hammer, K. and Pistrick, K. 2007. *Eryngium caucasicum* Trautv. cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran). Genetic resources and crop evolution, 54(2): 445- 448.
19. Kozłowska, M., Gruczyńska, E., Ścibisz, I. and Rudzińska, M. 2016. Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. Food chemistry, 213(2016): 450-456.
20. Micallef, M. A. and Garg, M. L. 2009. Beyond blood lipids: phytosterols, statins and omega-3 polyunsaturated fatty acid therapy for hyperlipidemia. The Journal of nutritional biochemistry, 20(12): 927-939.
21. Nogala-Kalucka, M., Rudzinska, M., Zadernowski, R., Siger, A. and Krzyzostaniak, I. 2010. Phytochemical content and antioxidant properties of seeds of unconventional oil plants. Journal of the American Oil Chemists' Society, 87(12): 1481 - 1487.
22. Ortega, R.M., Palencia, A. and López-Sobaler, A.M. 2006. Improvement of cholesterol levels and reduction of cardiovascular risk via the consumption of phytosterols. British Journal of Nutrition, 96(1): 89 - 93.
23. Panikashvili, D., Simeonidou, C., Ben-Shabat, S., Hanuš, L., Breuer, A., Mechoulam, R. and Shohami, E. 2001. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. Nature, 413(6855): 527 - 531.
24. Paul, J.H., Seaforth, C.E. and Tikasingh, T. 2011. *Eryngium foetidum* L., a review. Fitoterapia, 82(3): 302 - 308.
25. Plazonić, A., Bucar, F., Maleš, Ž., Mornar, A., Nigović, B. and Kujundžić, N. 2009. Identification and

quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpos L.*), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. Molecules,14(7): 2466 - 2490.

26. Raeisi, S., Ojagh, S.M., Sharifi-Red, M., Sharifi-Red, J., Quek, S.Y. 2017. Evaluation of *Allium paradoxum* (MB) G. Don. and *Eryngium caucasicum* trauve. Extracts on the shelf-life and quality of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) fillets during refrigerated storage. Journal of Food Safety, 37(3): 123 - 130.
27. Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P. and Visioli, F. 2008. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. Pharmacological Research, 57(6): 451 - 455.
28. Seeds, M.C., Nixon, A.B., Wykle, R.L. and Bass, D.A. 1998. Differential activation of human neutrophil cytosolic phospholipase A 2 and secretory phospholipase A 2 during priming by 1, 2-diacyl-and 1-O-alkyl-2-acylglycerols. Biochimica et Biophysica Acta, 1394(2-3): 224 - 234.
29. Shinde, U., Phadke, A., Nair, A., Mungantiwar, A., Dikshit, V. and Saraf, M. 1999. Membrane stabilizing activity a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of Cedrus deodara wood oil. Fitoterapia, 70(3): 251 -257.
30. Tian, L. and White, P. 1994. Antioxidant activity of oat extract in soybean and cottonseed oils. Journal of the American Oil Chemists' Society, 71(10): 1079 -1086.
31. Ul-ikram, A., Batool Zahra, N., zabtak, Shinvari., Z.K. and Qaiser, M. 2015. Ethnomedicinal review of folklore medicinal plants belonging to family Apiaceae of pakistan. Pakistanjournal of Botany, 47(3): 1007 - 1014.
32. Vukic, M.D., Vokovic, N.L., Djelic, G.T., Abradovic, A., Kacaniova, M.M., Markovic, S., Popović, S. and Baskić, D. 2018. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. Industrial Crops and Products, 115: 88 - 97.
33. Wang, T., Hicks, K.B. and Moreau, R. 2002. Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol, and other phytosterol conjugates. Journal of the American Oil Chemists' Society, 79(12): 1201-1206.
34. Wang, P.; Su, Z.; Yuan, W.; Deng, G.; Li, S. 2012. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). pharmaceutical crops, 3: 99 - 120.
35. Witkamp, R. 2016. Fatty acids, endocannabinoids and inflammation. European journal of pharmacology, 785: 96 - 107.
36. Wood, J. and Enser, M., 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. British Journal of Nutrition, 78(01): 49-60.
37. Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E. and Prior, R.L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of agricultural and food chemistry, 52(12): 4026-4037.
38. Yadvara, M., Parle, M., Jindal, D.K., Dhingra, S. 2018. Protective effects of Stigmasterol against ketamine-induced psychotic symptoms: Possible behavioral, biochemical and histopathological changes in mice. Pharmacological Reports, 70(3): 591-599
39. Yang, B., Koponen, J., Tahvonen, R. and Kallio, H. 2003. Plant sterols in seeds of two species of *Vaccinium (V. myrtillus* and *V. vitis-idaea*) naturally distributed in Finland. European Food Research and Technology, 216(1): 34 - 38.
40. Yoshida, Y. and Etsuo, N. 2003. Antioxidant effects of phytosterol and its components. Journal of nutritional science and vitaminology, 49(4): 277 - 280.
41. Youssef, D., Ibrahim, A.K., Khalifa, S. I., Mesbah, M.K., Mayer, A. and Van Soest, R. 2010. New anti-inflammatory sterols from the Red Sea sponges

Scalarispongia aqabaensis and *Callyspongia siphonella*. Natural product communications, 5(1): 27 - 31.

42. Zengin, G., Uysal, S., Ceylan, R. and Aktumsek, A. 2015. Phenolic constituent, antioxidative and tyrosinase inhibitory activity of *Ornithogalum narbonense* L. from Turkey: a phytochemical study. Industrial Crops and Products, 70: 1 - 6.

43. Zhang, M., Yang, X., Zhao, H., Dong, A., Wang, J., Liu, G., Wang, P., Cheng, C. and Zhang, H. 2015. A quick method for routine analysis of C18 trans fatty acids in non-hydrogenated edible vegetable oils by gas chromatography–mass spectrometry. Food Control, 57: 293-301.