Physiology and Pharmacology, 16 (3), 300-309
Autumn 2012 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Inhibitory effect of *Physalis alkekengi* extracts in different phenological stages on xanthine oxidase activity

Mahdieh Hoshani[1], Manijeh Mianabadi[1*], Mahnaze Aghdasi[1], Majid Azim-Mohseni[2]

1. Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran
2. Dept. of Statistics, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

Received: 14 May 2012 **Accepted: 30 Jul 2012**

Abstract

Introduction: *Physalis alkekengi* (Solanaceae) is a rich source of various antioxidants. There are some reports that show *P. alkekengi* has been used for treatment of a wide range of diseases including gout and inflammation. Xanthine oxidase plays a crucial role in gout. Many natural compounds such as various flavonoids have been reported to have inhibitory effect on xanthine oxidase.

Methods: Different parts of *P. alkekengi* including leave, calyx, green and orange fruits at different stages of plant growth were gathered from around the Tonekabon, Iran. Then, they were dried in the dark and powdered. Inhibitory effect of various plant extracts on xanthine oxidase activity was measured. Soluble sugar and ascorbic acid contents of plant samples, and their correlation with xanthine oxidase inhibitory effect were also determined.

Results: All extracts from different parts of *P. alkekengi* at the concentration of 0.3 mg/ml had inhibitory effect on xanthine oxidase activity with different degrees from 45% (leaves in the vegetative stage) up to 86.86% (leaves in the green fruit stage and calyxs). The leaves, fruits and calyx stage of maturity contained the highest amount of soluble sugar. Also, maximum amount of total ascorbic acid was displayed in an orange calyx, 12.65 $mg.fw^{-1}$.

Conclusion: These results suggest that extracts of *P. alkekengi* at different phonological stages have high inhibitory effects on xanthine oxidase activity and they are valuable sources of antioxidant compounds. The green fruit, green calyx and orange calyx had the highest inhibitory effects on the xanthine oxidase activity. Therefore, they are recommended as the most appropriate tissues for the next pharmacological studies.

Key words: *Physalis alkekengi*, xanthine oxidase inhibition, antioxidant, gout

[*] Corresponding author e-mail: m.mianabadi@gu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۶ (۳)، ۳۰۰ – ۳۰۹
پاییز ۱۳۹۱

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر مهاری عصاره گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) در طی مراحل مختلف رویش بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز

مهدیه هوشنی[۱]، منیژه میان آبادی[۱*]، مهناز اقدسی[۱]، مجید عظیم محسنی[۲]
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان
۲. گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

دریافت: ۲۵ اردیبهشت ۹۱ پذیرش: ۹ مرداد ۹۱

چکیده

مقدمه: گیاه عروسک‌پشت‌پرده (از تیره سولوناسه) منبع غنی‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های گوناگون است و گزارشات متعددی وجود دارد که آن را برای درمان بیماری‌های مختلفی نظیر نقرس و التهاب توصیه می‌کنند. آنزیم زانتین اکسیداز، نقش مهمی در ایجاد نقرس دارد. ترکیبات طبیعی زیادی از جمله ترکیبات مختلف فلاونوئیدی شناسایی شده‌اند که اثر مهاری بر آنزیم زانتین اکسیداز دارند.

روش‌ها: بخش‌های مختلف گیاه از جمله برگ، غلاف گل، میوه سبز و نارنجی در طی مراحل مختلف رشد گیاه از حوالی تنکابن جمع‌آوری، خشک و آسیاب گردید. اثر مهاری عصاره‌های بخش‌های مختلف گیاه بر فعالیت زانتین اکسیداز اندازه‌گیری شد. همچنین میزان اسیدآسکوربیک و قند محلول هر یک از عصاره‌ها، و همبستگی مقدار آنها با اثر مهاری بر آنزیم زانتین اکسیداز تعیین گردید.

یافته‌ها: تمامی عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده، در غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با درجات متفاوت از ۴۵٪ (توسط برگ مرحله رویشی) تا ۸۶/۸۶٪ (توسط برگ مرحله میوه سبز و غلاف‌ها) مهارکننده زانتین اکسیداز بودند. میزان قند محلول در برگ، میوه و غلاف مرحله بلوغ به طور قابل توجهی بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. همچنین بیشترین میزان اسیدآسکوربیک کل نیز در غلاف نارنجی، ۱۲/۶۵ میلی‌گرم بر گرم بافت تر گیاه بدست آمد.

نتیجه گیری: این نتایج پیشنهاد می‌کند که عصاره گیاه عروسک‌پشت‌پرده در طی مراحل مختلف رشد به طور موثری مهارکننده‌ی آنزیم زانتین اکسیداز و غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشد. میوه سبز، غلاف سبز و نارنجی بالاترین اثر مهاری را بر فعالیت آنزیم زانتین‌اکسیداز داشتند. بنابراین، آنها به عنوان بافت‌های مناسب گیاه برای بررسی‌های فارماکولوژی بعدی توصیه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: عروسک پشت پرده، مهار زانتین اکسیداز، آنتی‌اکسیدان، نقرس

مقدمه

گونه‌های فعال اکسیژن برای توصیف اشکالی از اکسیژن که از نظر شیمیایی فعال‌تر از مولکول اکسیژن می‌باشند، به کار می‌رود. تولید گونه‌های فعال اکسیژن، نتیجه واکنش‌های بیوشیمیایی مهم مانند تنفس، متابولیسم بازهای آلی و اسیدهای چرب و غیره است. گونه‌های فعال اکسیژن شامل پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل ($HO^{\cdot}$)، سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پرهیدروکسیل ($HO_2^{\cdot}$) و اکسیژن منفرد (O^{-}) می‌باشد که سبب آسیب به پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA می‌شوند [۳۰]. آسیب‌های ناشی از رادیکال آزاد به سلول‌ها منجر به بروز و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، نقرس، پیری، دیابت و بیماری‌های قلبی–عروقی می‌گردد [۱۷].

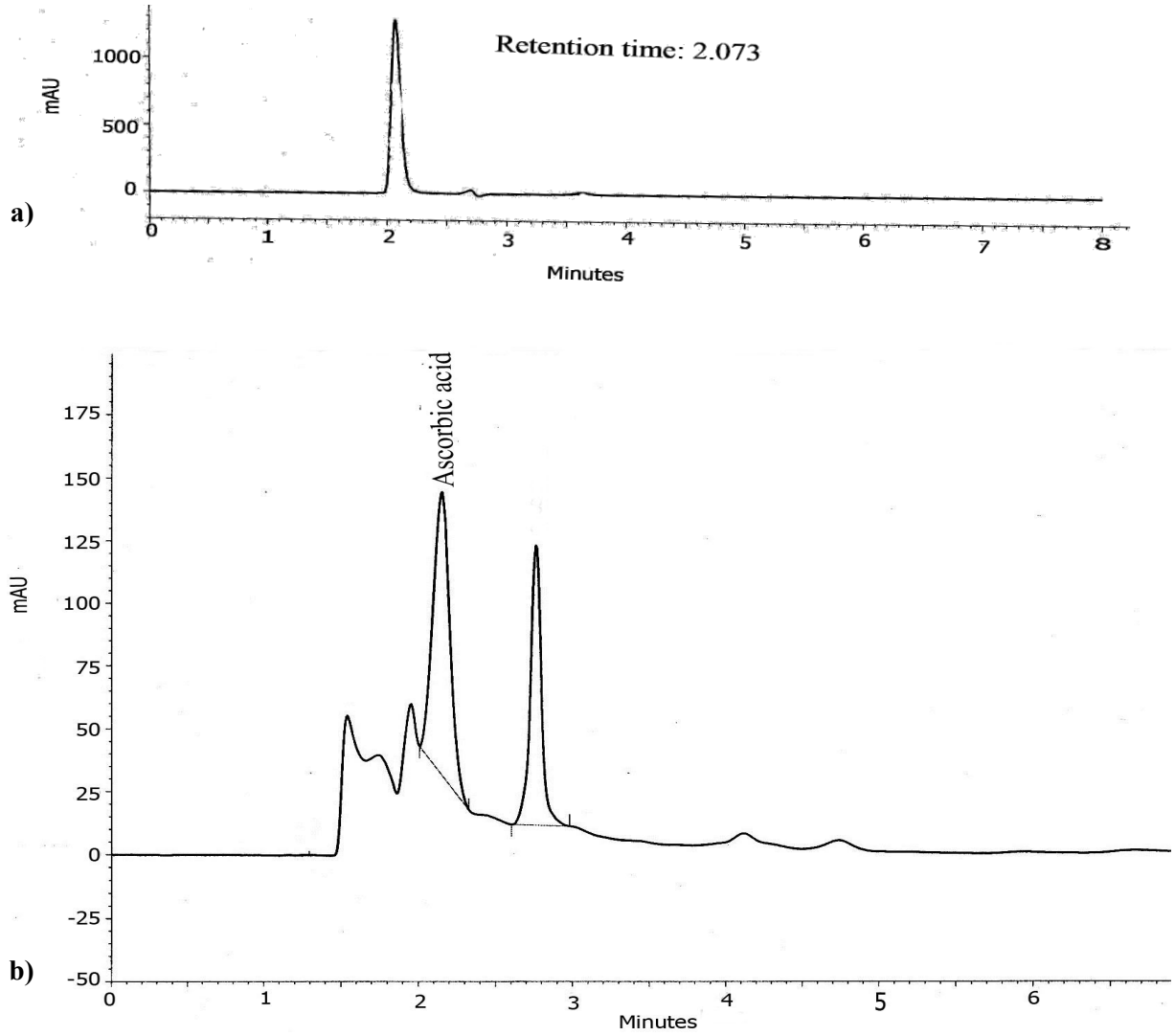
* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: m.mianabadi@gu.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

نقرس بیماری متابولیکی مزمنی است که علائم آن افزایش اسید اوریک و التهاب بافت است. بنابراین، کریستال‌های اورات سدیم در مفاصل و کلیه‌ها رسوب می‌کنند. مفاصل متورم و دردناک می‌شوند و به کلیه‌ها نیز صدماتی وارد می‌گردد [۱۰]. آنزیم زانتین اکسیداز با تولید اسید اوریک نقش مهمی در بروز آسیب‌های ناشی از نقرس دارد. این آنزیم، هیپوزانتین و زانتین را به اسید اوریک تبدیل می‌کند [۴]. آنزیم زانتین اکسیداز همزمان با تبدیل بازهای پورین به اسید اوریک، با مصرف اکسیژن، مقادیر زیادی رادیکال آزاد و سوپراکسید نیز تولید می‌کند. بنابراین، این آنزیم مهم‌ترین منبع تولید یون سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد در بدن است [۱]. داروی آلوپورینول در حال حاضر یکی از مهم‌ترین داروهای ضد نقرس است که از طریق مهار آنزیم زانتین اکسیداز عمل می‌کند. استفاده از این دارو عوارضی همچون تهوع و استفراغ، سرکوب مغز و استخوان، آسیب‌های کبدی و کلیوی را به همراه دارد [۱۸]. گیاهان دارویی از جمله منابع طبیعی در دسترس هستند که جهت درمان نقرس مفید و موثر می‌باشند. گیاه عروسک پشت پرده با نام علمی *Physalis alkekengi* متعلق به خانواده سیب‌زمینی، دارای ۸۰ گونه در دنیا و دو گونه در ایران است. گیاهی علفی، یک ساله یا چند ساله به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، که به صورت خودرو در استان‌های مازندران، گیلان و گلستان می‌روید. از این گیاه برای درمان بیمارهایی نظیر سنگ کلیه، مجاری ادراری، نقرس و هپاتیت استفاده می‌شود [۳]. با این حال مطالعه مدون و علمی در خصوص ارزیابی واقعی اثر این گیاه و نحوه اثر آن در درمان نقرس در ایران صورت نگرفته است. از این رو، اثر مهاری عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت پرده در طی مراحل رشد بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز بررسی گردید، آنزیمی که مهم‌ترین عامل دخیل در بروز نقرس است.

مواد و روش ها

بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت پرده از جمله برگ، غلاف گل، میوه سبز و نارنجی در طی دوران رشد از حوالی تنکابن جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب گردیدند. مقدار ۱ گرم از هر نمونه در ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف و سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ °C توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با درجه حرارت ۴ °C نگهداری شد [۳۳]. محتوای اسید آسکوربیک عصاره‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه‌گیری شد [۱۳]. از دستگاه HPLC مدل Merk Hitachi با آشکار ساز UV/VIS و ستون C_{18} فاز معکوس برای تعیین مقدار اسید آسکوربیک استفاده گردید. فاز متحرک شامل استونیتریل، آب و اسید فسفریک (۳۴۰µl : ۸۰ml : ۲۰ml) سرعت جریان برابر ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، دمای ۲۲°C و مدت زمان کروماتوگرافی ۸ دقیقه بود. طیف‌ها در طول موج ۲۵۴ نانومتر ثبت شدند. ابتدا محلول پایه‌ای از اسید اسیدآسکوربیک با غلظت ۵ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک‌اسید ۵٪ تهیه شد. سپس مقادیر ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول به اپندورف اضافه شد و با متافسفریک‌اسید ۵٪ به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس به محلول‌ها مقدار ۳۰۰ میکرولیتر دی‌تیوتریتول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان موردنظر غلظت‌های مختلف به دستگاه HPLC تزریق گردید. مساحت سطح زیر هر پیک محاسبه و منحنی استاندارد اسید آسکوربیک رسم گردید (شکل ۱-الف). به منظور سنجش محتوای اسیدآسکوربیک نمونه‌ها، ابتدا عصاره گیاهی استخراج شد. عمل استخراج بر اساس روش دپینتو و همکاران ۱۹۹۹ [۹]، انجام گرفت. مقدار ۱ گرم از بافت تر گیاه با ۵ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵٪ در یک هاون چینی سرد و در حمام یخ هموژن شد. هموژنات حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در ۷۰۰۰ g سانتریفوژ شد. سپس فاز رویی برای اندازه‌گیری اسیدآسکوربیک مورد استفاده قرار گرفت. برای تزریق به HPLC، فاز رویی نمونه‌ها با فیلتر ۰/۲ میکرون صاف شدند. با مقایسه زمان تأخیر و سطح زیر منحنی نمونه‌ها با نمونه استاندارد، میزان اسیدآسکوربیک آنها تعیین و در نهایت براساس میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر گیاه بیان گردید. نمونه‌ای از کروماتوگرام نمونه گیاهی در (شکل۱-ب) نشان داده شده است.

اندازه‌گیری قندهای محلول با استفاده از روش فنل-



شکل ۱- کروماتوگرام‌های HPLC حاصل از تزریق a) اسید آسکوربیک و b) نمونه گیاهی.

اسیدسولفوریک صورت گرفت [۱۹]. برای این منظور مقدار ۰/۰۵ گرم از پودر خشک گیاه را در لوله آزمایش ریخته، به آن ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. بعد از یک هفته، عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ در دمای اتاق سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت برای سنجش قند محلول مورد استفاده قرار گرفت. ۰/۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت در لوله‌های آزمایش ریخته و با آب مقطر به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به هریک از لوله-ها به ترتیب ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه گردید. مخلوط حاصل به خوبی هم زده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. مقدار جذب این محلول‌ها نسبت به شاهد در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از گلوکز به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت. محتوای قند محلول عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد. سنجش اثر مهاری عصاره گیاهی بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز توسط نورو و همکاران ۱۹۸۳ [۲۹]، با کمی تغییرات صورت گرفت. ۴۰۵ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۷/۵، ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی مراحل مختلف رشد و ۱۵۰ میکرولیتر آنزیم زانتین اکسیداز ۰/۲۵ واحد و ۲۰ میکرولیتر از بافر در دو لوله آزمایش مخلوط و به مدت ۱۵دقیقه در دمای ۲۵°C انکوبه شد. بعد از طی این زمان به هر نمونه ۳۰۰ میکرولیتر محلول زانتین ۳۰۰ میلی‌مولار به عنوان سوبسترای آنزیم اضافه شد. مجدداً نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵°C انکوبه شدند. بعد از انکوباسیون، ۷۵۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک ۱ نرمال به عنوان متوقف کننده واکنش آنزیمی اضافه گردید. سپس، جذب

محلول‌ها در طول موج ۲۹۵ نانومتر نسبت به کنترل اندازه‌گیری شد. کنترل حاوی تمام اجزای بالا به جز محلول آنزیمی است. سپس با استفاده از فرمول زیر درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز (I%)، توسط هر عصاره تعیین شد.

$$\%I = (1- B/A) \times 100$$

در این فرمول B تغییرات جذب در حضور عصاره گیاه و A تغییرات جذب بدون حضور عصاره گیاه است. کلیه اندازه‌گیری‌ها با ۳ بار تکرار و تمامی اطلاعات به صورت میانگین± انحراف استاندارد گزارش شد. آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) برای مقایسه میانگین‌ها بکار رفت، و در صورت معنی‌دار بودن، آزمون دانکن برای مقایسات زوجی استفاده شد. از آزمون دانت برای مقایسه مراحل مختلف نمونه‌برداری با گروه کنترل استفاده شد. همچنین از نرم افزار SPSS برای محاسبه ضریب همبستگی بین مشخصه‌ها استفاده شد. نتایج با احتمال $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

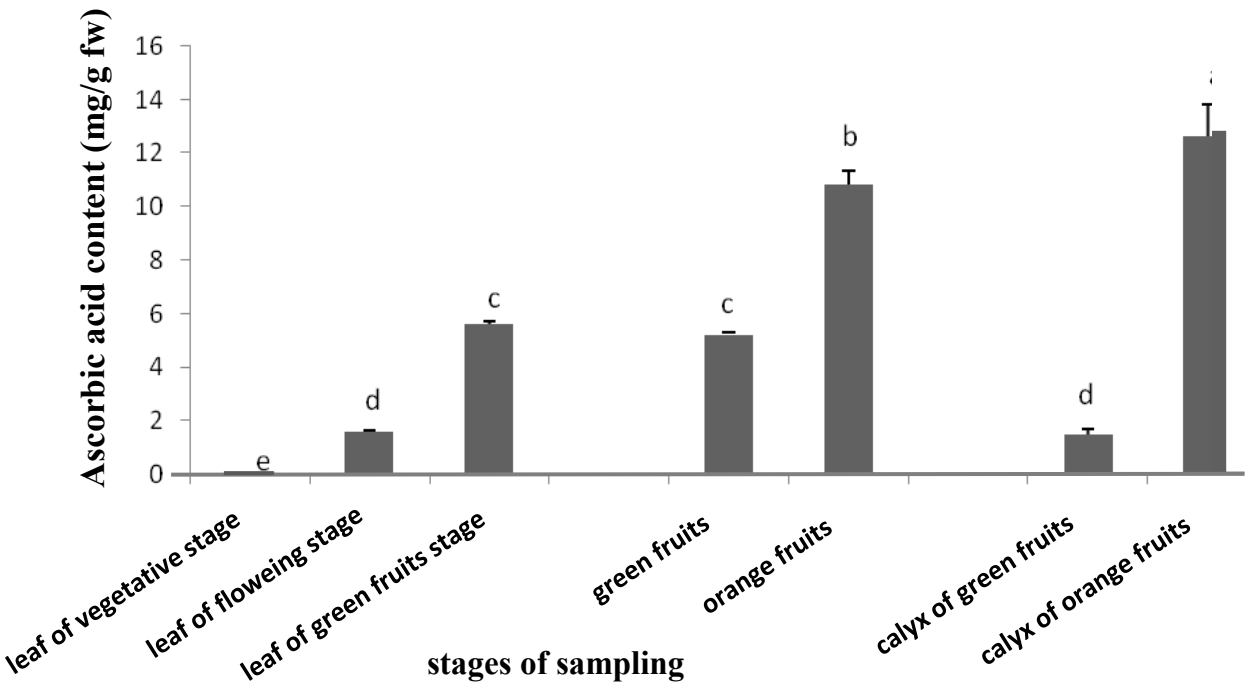
نتایج تجزیه واریانس مقایسه میانگین داده‌های مربوط به مقدار اسید آسکوربیک در نمونه‌های گیاهی با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که تأثیر مراحل مختلف رشد بر میزان اسید-آسکوربیک معنی‌دار است (جدول ۱).

مقایسه میانگین‌ها (شکل۲)، نشان داد که میزان اسید-آسکوربیک در برگ مرحله رویشی کم بود و سپس در برگ مرحله گل‌دهی، برگ مرحله میوه سبز و مرحله میوه‌دهی افزایش یافت به طوری که بالاترین مقدار آن در غلاف نارنجی مشاهده شد. همچنین نتایج تجزیه واریانس (جدول۱)، نشان می‌دهد که بخش‌های نمونه‌برداری در طی مراحل فنولوژیکی،

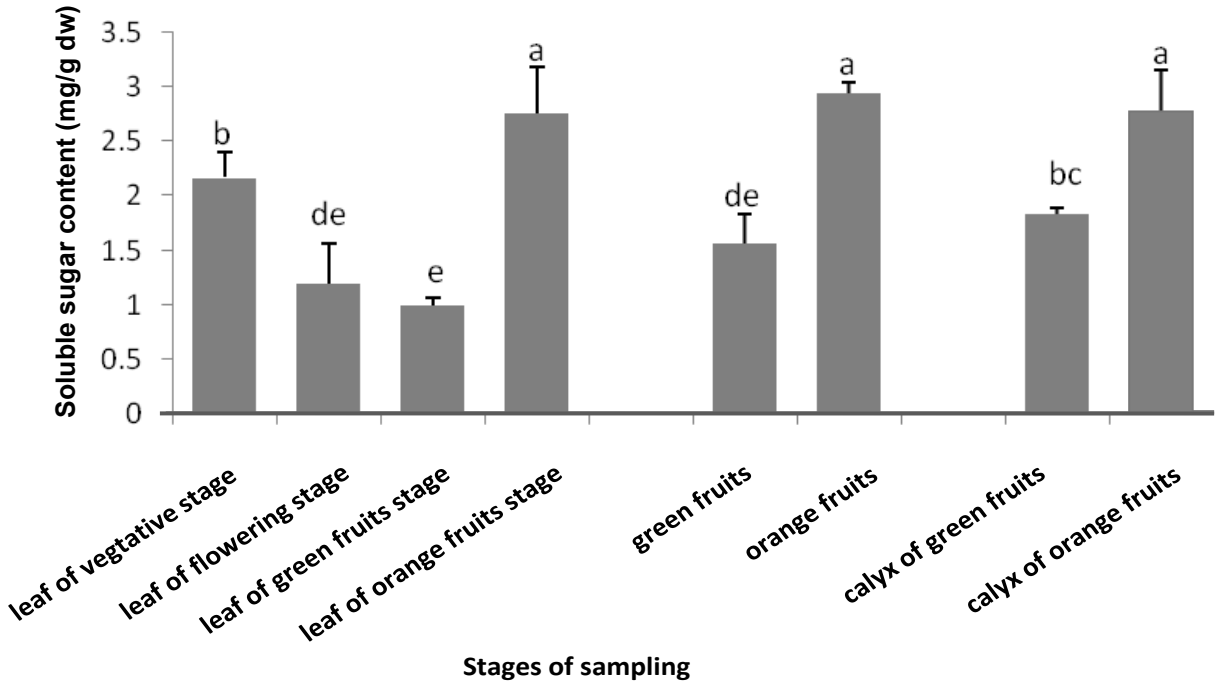
جدول ۱- تجزیه واریانس محتوای برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف نمونه برداری.

Changing the source	Degrees of Freedom	Soluble sugar content	Ascorbic acid content
Stages of sampling	7	1.694**	99.88**
Error	16	0.097	0.313

** در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است.



شکل ۲- مقایسه تأثیر مراحل مختلف نمونه برداری بر محتوای اسید آسکوربیک گیاه عروسک پشت پرده. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با هم تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ۳- مقایسه تأثیر مراحل مختلف نمونه برداری بر محتوای قند محلول گیاه عروسک پشت پرده. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با هم تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۲- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز در حضور عصاره گیاه .

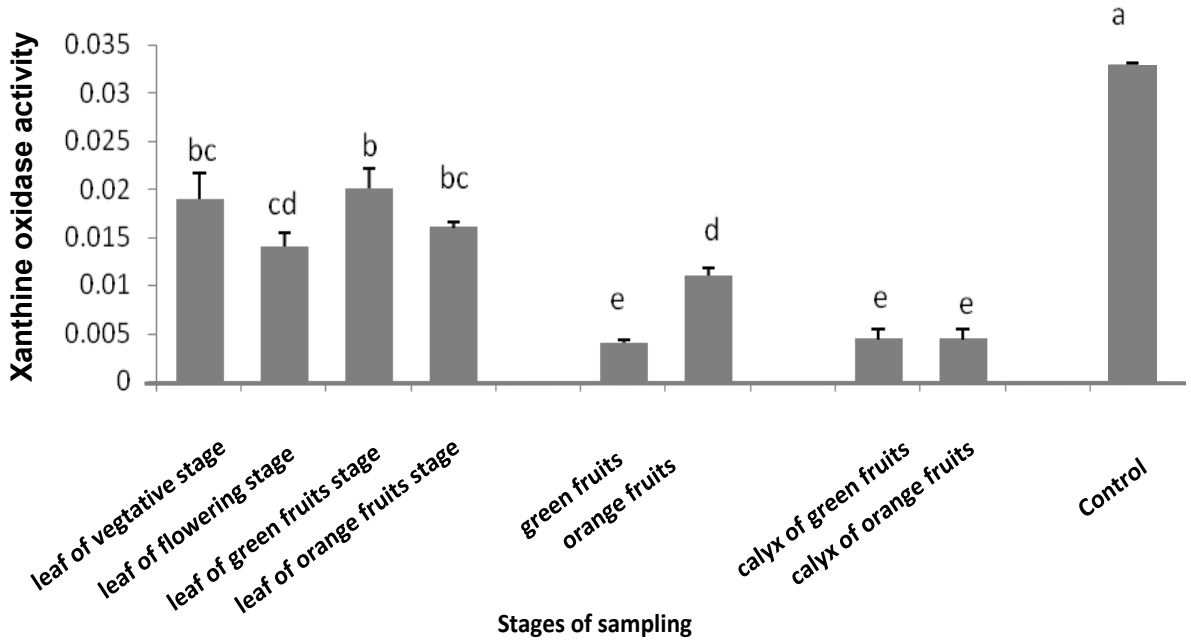
Changing the source	Degrees of Freedom	Xanthin oxidase activity in presence of plant extracts
Stages of sampling	8	0.00026**
Error	18	0.00000815

** در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است.

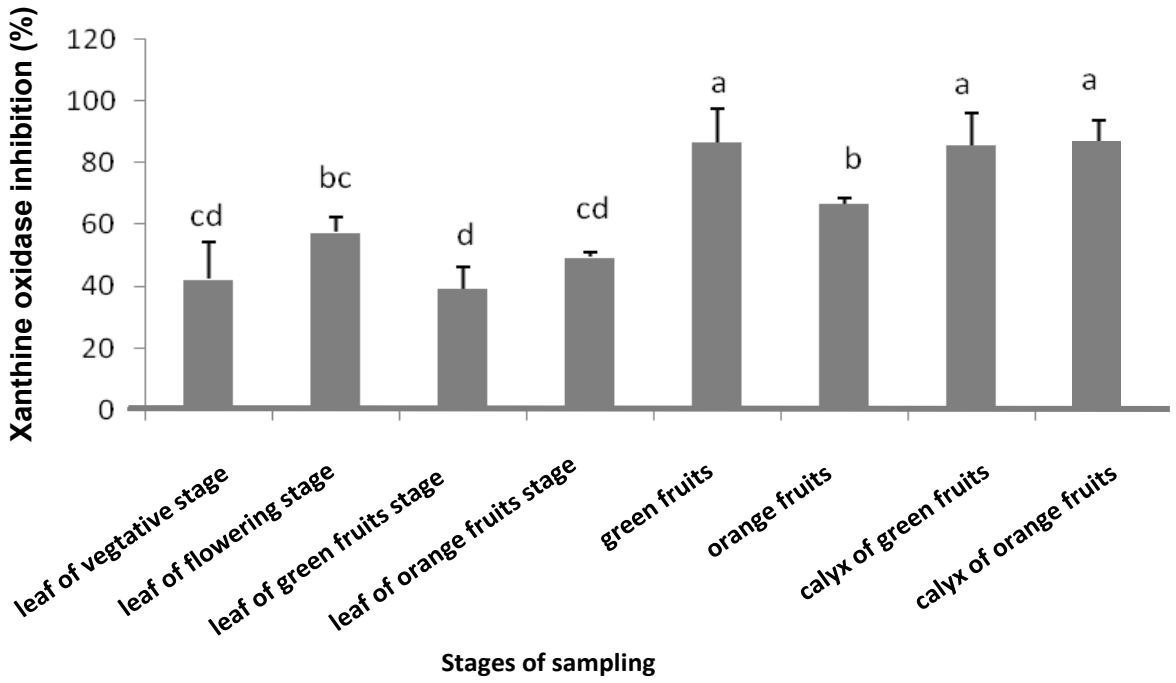
تأثیر معنی‌داری بر محتوای قندهای محلول داشت. مقایسه میانگین‌ها (شکل۳)، نشان داد که میزان قندهای محلول همگام با بلوغ در برگ، میوه و غلاف افزایش یافت. تولید بیش از حد اسید اوریک به وسیله‌ی آنزیم زانتین اکسیداز سبب بروز بیماری نقرس می‌شود. گیاهان از جمله منابع طبیعی در دسترس هستند که می‌توانند در درمان نقرس موثر و مفید باشند. نتایج آنالیز واریانس داده‌های مربوط به میانگین فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز (جدول۲) نشان می‌دهد که تغییرات جذب محصول در حضور و بدون حضور آنزیم زانتین اکسیداز تحت تیمار بافت های مختلف حاصل از مراحل مختلف نمو گیاه عروسک پشت پرده، معنی‌دار است. به طوری که کمترین تغییرات جذب که نشان دهنده کاهش محصول واکنش آنزیمی است، نسبت به نمونه کنترل در مرحله میوه سبز، غلاف سبز و نارنجی مشاهده شد (شکل ۴ الف). محاسبه درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز نشان داد که با توجه به حداکثر قابلیت مهار آنزیم، عصاره خام میوه سبز، غلاف سبز و غلاف نارنجی با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر ۱/۶ میلی‌لیتر به ترتیب با ۸۶/۸۶، ۸۵/۸۵، ۸۵/۸۵ درصد مهار، بیشترین اثر مهاری را بر فعالیت آنزیم داشتند (شکل۴ ب). بررسی همبستگی بین درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز با محتوای قند محلول همبستگی خطی مثبت معنی‌دار (در سطح ۱ درصد) داشت اما با اسید آسکوربیک همبستگی خطی معنی‌دار نمی‌باشد (جدول۳).

بحث

آسیب‌های ناشی از اکسیژن فعال به اجزاء سلولی، مستعد کننده‌ی بروز یا پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های التهابی، نقرس، دیابت، پیری، سرطان و بیمارهای قلبی–عروقی



a)



b)

شکل٤- مقایسه اثر مهاری عصاره گیاهی حاصل از مراحل مختلف نمونه برداری گیاه عروسک پشت پرده بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز. a) فعالیت آنـزیم زانتـین اکسـیداز در حضور عصاره گیاهی، b) درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز. هر ستون نشان دهنده میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با هم تفاوت معنی‌دار ندارند.

می‌باشند [۲۶، ۲۷].

محافظت علیه این بیماری‌ها می‌تواند توسط آنتی‌اکسیدان-های موجود در رژیم غذایی صورت گیرد [۲۴]. در تمام مراحـل رشد گیاهان به عنوان یکی از منابع غذایی، یک سیسـتم دفـاع آنتی‌اکسیدانی فعال می‌باشد که شامل ترکیبات آنزیمـی و غیـر آنزیمی است. عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به طـور گسترده با عـواملی مثـل مراحـل بلـوغ، شـرایط آب و هـوایی، بخش‌های مختلف مورد استفاده گیاه، شرایط برداشت و ذخیـره سازی تغییر می‌کند [۲۵]. تغییرات فیتوشیمیایی که در طی بلوغ گیاهان رخ می‌دهند، بر نوع و مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنها

جدول۳- همبستگی بین درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز با عوامل مختلف اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف نمونه‌برداری گیاه عروسک پشت پرده.

	Ascorbic acid content	Soluble sugar content	Xanthin oxidase activity
Xanthin oxidase activity	-0·333 ^{ns}	-0·431 *	1
Soluble sugar content	0·191 ^{ns}	1	
Ascorbic acid content	1		

** همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار است. * همبستگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. ^{ns} همبستگی بین صفات معنی‌دار نیست.

موثر است [۵]. علاوه بر اکسیژن فعال، افزایش اسید اوریک نیز می‌تواند زمینه‌ساز ابتلا به بیماری‌های مختلفی همچون نقرس، افزایش فشار خون، افزایش چربی‌ها، دیابت و چاقی شود [۲۰]. داروی آلوپورینول در حال حاضر یکی از مهم‌ترین داروهای ضد نقرس است که با مهار آنزیم زانتین اکسیداز عمل می‌کند. با این حال استفاده از این دارو ممکن است عوارضی همچون تهوع و استفراغ، سرکوب مغز و استخوان، آسیب‌های کبدی و کلیوی به همراه داشته باشد [۱۸]. بررسی‌های زیادی تاکنون برای یافتن مهارکننده‌های گیاهی آنزیم زانتین اکسیداز در کشورهای مختلف از جمله هندوستان [۳۶]، ویتنام [۲۸]، استرالیا [۳۴]، آمریکا [۳۱] و شیلی [۳۵]، صورت گرفته است. ترکیبات طبیعی زیادی به عنوان مهارکننده‌های آنزیم زانتین اکسیداز مطرح شده‌اند که مهم‌ترین آنها فلاونوئیدها هستند. از جمله این مهارکننده‌های طبیعی می‌توان به پنتاگالوئیل گلوکز [۱۵]، و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین [۲۲]، پلی‌فنول‌ها [۷]، فلاونول‌ها [۷]، آلکالوئیدهای استروئیدی [۳۹]، کومارین‌ها [۱۴]، پترین‌ها [۳۸] و آنتوسیانیدین [۸] اشاره کرد. سنجش اثر مهاری آنزیم زانتین اکسیداز توسط عصاره متانولی گیاه عروسک پشت پرده نشان داد که این گیاه در طی مراحل مختلف رشد مهارکننده آنزیم زانتین اکسیداز می‌باشد (شکل ۴-ب)، و درصد مهار آنزیم زانتین اکسیداز با محتوای قند محلول همبستگی مثبت معنی‌دار و با میزان اسید آسکوربیک همبستگی نداشت (جدول۳). اسید آسکوربیک به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان می‌تواند با اکسیژن منفرد و دیگر رادیکال-های آزاد واکنش دهد [۱۱]. با وجود آن که اسید آسکوربیک به عنوان جمع کننده آنیون سوپراکسید شناخته شده است و با بهبود شرایط واکنش آنزیمی می‌تواند سبب تسریع واکنش آنزیمی شود اما تغییرات غلظت آن در عصاره‌های گیاهی اثری بر آنزیم زانتین اکسیداز نداشت. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد ردوکتیک اسید، یک آنالوگ اسید آسکوربیک، که تولید اکسیژن فعال را کاهش می‌دهد و خاموش کننده رادیکال هیدروکسیل و مهار کننده پراکسیداسیون لیپید می‌باشد زانتین اکسیداز را مهار می‌نماید در صورتی که اسید آسکوربیک اثر مهارکنندگی بر زانتین اکسیداز ندارد [۲۳]. قندهای محلول و آنزیم‌های مرتبط با مسیر متابولیکی آنها، به طور گسترده به تنش اکسیداتیو و سیگنالینگ گونه‌های اکسیژن فعال مرتبط می‌شوند [۳۷]. بعبارت دیگر قندهای محلول با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پالایش رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید و مهار پراکسیداسیون لیپیدها دخالت دارند. بین غلظت قند محلول در عصاره عروسک پشت پرده و مهار آنزیم زانتین اکسیداز همبستگی مثبت معنی‌دار وجود دارد که نشان می‌دهد قندهای محلول این گیاه می‌توانند به طور مستقیم یا بواسطه اتصال به ترکیبات گیاهی مختلف و به طور غیرمستقیم بر آنزیم زانتین اکسیداز اثر گذاشته و آن را مهار کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که پلی‌ساکاریدهای میوه و غلاف گیاه عروسک پشت پرده به طور موثری دارای فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال-های هیدروکسیل و DPPH می‌باشند [۱۲]. همچنین در این گیاه در حضور ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی تغییرات جذب محصول در طول موج ۲۹۰ نانومتر افزایش یافت که این متناسب با افزایش محصول (اسید اوریک) و افزایش محصول هم متناسب با انجام واکنش آنزیمی و افزایش فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز است [۱۶]. مطالعات نشان داده است که ترکیبات فلاونوئیدی جمع‌کننده‌ی رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید می‌باشند [۳۲]. علاوه بر این، فلاونوئیدها از طریق مهار رقابتی با جایگاه فعال آنزیم موجب مهار زانتین اکسیداز می‌شوند. با کمک روش مدل سازی مولکولی ساختمانی نشان داده شده است که در بین فلاونوئیدها آپی‌ژنین قوی‌ترین مهار کننده زانتین اکسیداز دارای میان کنش قوی‌تر با جایگاه فعال آنزیم است. در بین چند فلاونوئید مورد بررسی، ضعیف‌ترین اثر مهاری بر زانتین اکسیداز مربوط به ایزوویتکسین است که

احتمالاً به علت گروه بزرگ قندی متصل به آن است که از طریق ایجاد ممانعت فضایی مانع میان‌کنش صحیح فلاونوئید با زانتین اکسیداز می‌گردد [۲۱]. با توجه به این مطالب نقش مهارکننده‌های آنزیم زانتین اکسیداز در کنترل بیمارهای مختلف از جمله نقرس، تصلب شرایین، التهاب و حتی ایسکمی به خوبی درک می‌شود زیرا این آنزیم در طی ایسکمی با تبدیل هیپوزانتین به اورات، مقادیر زیادی رادیکال آزاد تولید می‌کند که باعث آسیب‌های بافتی می‌شوند [۶]. در همین خصوص تحقیقاتی که بر روی آلوپورینول و اکسی پورینول صورت گرفته است، نشان می‌دهد که هردو ترکیب با مهار آنزیم زانتین اکسیداز در کاهش صدمات مغزی ناشی از ایسکمی موثر هستند [۲]. نتایج این مطالعه، نشان می‌دهد که عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت پرده در طی مراحل رشد حاوی غلظت‌های مختلفی از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدان می‌باشد، بنابراین عصاره بخش‌های مختلف این گیاه در طی مراحل رشد دارای اثر مهاری بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز می‌باشد. میزان قند محلول و اسید آسکوربیک در میوه سبز، غلاف سبز و نارنجی گیاه عروسک پشت پرده تقریباً بالا بود. همچنین میوه سبز بالاترین اثر مهاری را بر فعالیت آنزیم زانتین اکسیداز از خود نشان داد. بنابراین میوه سبز، غلاف سبز و نارنجی به عنوان بافت‌های مناسب برداشت گیاه برای بررسی-های فارماکولوژی توصیه می‌شوند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان و ریاست محترم دانشکده علوم برای فراهم آوردن اعتبار پژوهشی برای دانشجوی کارشناسی ارشد مهدیه هوشنی سپاسگزاری می‌شود.

References

[1] Atlante A, Valenti D, Gagliardi S, Passarella S, A sensitive method to assay the xanthine oxidase activity in primary cultures of cerebellar granule cells. ***Brain Res Protocol*** 6 (2000) 1-5.

[2] Akdemir H, Asik Z, Pasaoglu H, Karakucuk I, Oktem IS, Koc RK, The effect of allopurinol on focal cerebral ischaemia: an experimental study in rabbits. ***Neurosurg Rev*** 24 (2001) 131-135.

[3] Amini A, ***Dictionary of therapeutic plants***. Tehran: Tehran University, 2004.

[4] Ardan T, Kovaceva J, Cejkowa J, Comparative histochemical and immunohistochemical study on xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in mammalian corneal epithelium. ***Acta Histochem*** 106 (2004) 69-75.

[5] Conforti F, Statti GA, Menichini F, Chemical and biological variability of hot pepper fruits (Capsicum annuum var. acuminatum L.) in relation to maturitystage. ***Food Chem*** 102 (2007) 1096-1104.

[6] Cos P, Ying L, Vlietinck AJ, Vanden-Berghe D, Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxidase scavengers. ***J Nat Prod*** 61 (1998) 71-76.

[7] Costantino L, Albasini A, Rastelli G, Benvenuti S, Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors xanthine oxidase. ***Planta Med*** 58 (1992) 342-344.

[8] Costantino L, Rastelli G, Albasini A, Anthocyanidines as inhibitors of xanthine oxidase. ***Pharmazie*** 50 (1995) 573-4.

[9] De pinto MC, Francis D, Degara L, The redox state of the ascorbate-dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco TBY2 cells. ***Protoplasma*** 209 (1999) 90-97.

[10] Fauci A, Kasper D, Longo D, Braunwald E, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J, ***Harrison's Principle of Internal Medicine***. New York: McGraw Hill, 2008, 2109-2115.

[11] Fu M, He Z, Zhao Y, Yang J, Mao L, Antioxidant properties andinvolved compounds of daylily flowers in relation to maturity. ***Food Chem*** 85 (2008) 231-237.

[12] Ge Yu, Duan Y, Fang G, Zhang Y, Wang Sh, Study on biological activites of Physalis alkekengi Var. francheti polysaccharide. ***Sci Food Chem*** 89 (2009) 1593-1598.

[13] Gillespie M, Ainsworth E, Measurement of reduced, oxidized and total ascorbat content in plant. ***Nat Protocol*** 4 (2007) 871-874.

[14] Hatano T, Yasuhara T, Fukuda T, Noro T, Okuda T, Phenolic constituents of licorice. Π. Structures of ly icopyranocoumarin, licoarylcoumarin and glisoflavone,

and inhibitory effect of licorice phenolics on xanthine oxidase. ***Chem pharm Bull*** 37 (1989) 305-309.

[15] Hayashi T, Nagayama K, Arisawa M, Shimizu M, Suzuki S, Yoshizaki M, MoritaN, Ferro E, Basualdo I, Berganza LH, Pentagalloylglucose, a xanthine oxidase inhibitor from a Paraguayan crude drug. ***J Nat Prod*** 52 (1989) 210-211.

[16] Hoshani M, Mianabadi M, Evaluation of antioxidant potentials of *physalis alkekengi* in different phenological stages. ***Abstracts of the 2nd Iranian Conference of Plant Physiology*** 2011 April. 28-29, Yazd, IRAN.

[17] Ide T, Tsutsui H, Hayashidani S, Kang D, Suematsu N, Nakamura KI, Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. ***Circ Res*** 88 (2001) 529-35.

[18] Katzung BG, editor. ***Basic and Clinical Pharmacology***. 10th ed. New York: McGraw Hill, 2007.

[19] Kochert A, ***Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method***. In: Hellebust JA, Craige JS, editors. Handbook of Physiological methods: physiological and biochemical methods. Cambridge: Cambridge University Press, (1978) 95-97.

[20] Lin KCM, Lin HY, Chou P, The interaction between uric acid level and other risk factors on the development of gout among asymptomatic hyperuricemic men in a prospective study. ***J Rheumatol*** 27 (2000) 1501-5.

[21] Lin Ch-M, Chen Ch-Sh, Chen Ch-T, Liang Y-Ch. Lin JK, Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. ***Biocem Biophys Res Commun*** 294 (2002) 167-72.

[22] Lio M, Moriyama A, Matsumoto Y, Takakin N, Fukumoto M, Inhibiton of xanthine oxidase by flavonoids. ***J Agric Biol Chem*** 49 (1985) 2173-2176.

[23] Mashino T, Takigawa Y, Satio N, Wong LQ, and Mochizuki M, Antioxidant activity and xanthine oxidase inhibition activity of reductic acid: ascorbic acid analogue. ***Bioorg Med Chem Lett*** 10 (2000) 2783-2785.

[24] Mackerras D, Antioxidant health. Fruits and vegetables of supplements? ***Food Chem*** 47 (1995) 3-23.

[25] Mejia LA, Hudson E, Gonzalez de Mejia E, Vasquez F, Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annuum*) as determined by HPLC. ***J Food Sci*** 53(1988) 1448-51.

[26] Meyer A, Heinomen M, Frankel E, Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin and ellagic acid on human LDL oxidation. ***Food Chem*** 61 (1998) 71-75.

[27] Nakagami T, Nanaumi-Tamura N, Toyomura K, Nakamura T, Shigehisa T, Dietary flavonoids as potential natural biological response modifiers affecting the autoimmune system. ***J Food Sci*** 60 (1995) 653-6.

[28] Nguyen MT, Awale S, Tezuka Y, Tran QL, Watanabe H, Kadota S, Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. ***Biol Pharmacol*** 27(2004) 1414-21.

[29] Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S, Inhibitor of xanthine oxidase from flowers and buds of Daphne genkwa. ***Chem Pharm Bull*** 31 (1983) 3984-7.

[30] Orrenius S, Gogvadze V, Zhivotovsky B, Mitochondrial oxidative stress implications for cell death. ***Annu Rev Pharmacol Toxicol*** 47 (2007) 143-183.

[31] Owen PL, Johns T, Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies use for gout. ***J Ethnopharmacol*** 64 (1999) 149-160.

[32] Percival M, Antioxidants. ***Clin Nutr Insights*** 31 (1998) 1-4.

[33] Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. ***African J Biotechnol*** 5 (2006) 1142-5.

[34] Sweeney AP, Wyllie SG, Shalliker RA, Markham JL, Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. ***J Ethnopharmacol*** 75 (2001) 273-7.

[35] Theoduloz C, Pacheco P, Schmeda-Hirschmann G, Xanthine oxidase inhibitory of Chilean Myrtaceae. ***J Ethnophrmacol*** 33 (1991) 253-5.

[36] Umamaheswari M, Asokkumar K, Somasundaram A, Sivashanmugam T, Subhadradevi V, Ravi TK, Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plant. ***J Ethnopharmacol*** 109 (2007) 547-51.

[37] Van den Ende W, Valluru R, Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? ***J Exp Bot*** 60 (2009) 9-18.

[38] Wede I, Altindag ZZ, Widner B, Wachter H, Fuchs D, Inhibition of xanthine oxidase by pterins. ***Free Radic Res*** 29 (1998) 331-8.

[39] Zhou J, Wang L, Analysis of nutrient composition in the fruit of Physalis alkekengi L. ***J Nutr*** 19 (1997) 243-5.