مقاله اصیل پژوهشی

ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک و اثر محافظتی آن بر آسیب کبدی القاشده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی

محدثه ابوالحسن‌نژاد[1]، غلامرضا شریف‌زاده[2]، راحله قاسم‌زاده[3]، اصغر زربان[4]

چکیده

زمینه و هدف: امروزه معلوم شده است که برخی از ترکیبات طبیعی و سنتتیک، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و در صنایع غذایی اهمیّت فوق‌العاده‌ای یافته‌اند. بسیاری از این ترکیبات نیز در محافظت از کبد در مقابل عوامل مخرّب، نقش مهمی دارند. هدف از این مطالعه، بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک و اثر محافظت‌کنندگی آن در کبد موش‌های صحرایی آسیب‌دیده از تتراکلرید کربن بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ابتدا ظرفیّت تام آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک، با استفاده از روش FRAP و محتوی ترکیبات فنولیک با استفاده از روش فولین‌سیوکالتو، تعیین و ظرفیّت خنثی‌سازی رادیکال آزاد نیز با استفاده از روش DPPH، در نمونه‌های شربت زرشک، مورد بررسی قرار گرفت.

66 سر موش صحرایی، در 11 گروه، مورد مطالعه قرار گرفتند. شربت زرشک با دوزهای 1، 4 و 20 درصد، به مدت 4 هفته به موش‌ها خورانده شد. سطوح سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالن‌فسفاتاز (ALP)، بیلی‌روبین‌توتال و بیلی‌روبین مستقیم اندازه‌گیری شد؛ سپس داده‌های به‌دست آمده، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس و تست توکی، به کمک نرم‌افزار SPSS (ویرایش 15) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: شربت زرشک، خاصیّت آنتی‌اکسیدانی بالایی را با استفاده از روش FRAP نشان داد (1764/8±233/5). در روش DPPH، نتایج حاکی از آنست که شربت زرشک، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH را در میانگین 32/2±18/3 دارد؛ همچنین نتایج حاصل از آزمایش فولین‌سیوکالتو، وجود ترکیبات پلی‌فنول در سطح 457/4±118/1 را به اثبات رساند.

تیمار با تتراکلریدکربن در دوزهای مختلف زرشک، 4 هفته بعد از مداخله، سطح سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز سرم موش‌های صحرایی را به‌طور معنی‌داری ($P\leq 0/01$) نسبت به گروه‌های شاهد و گروه‌های تیمارنشده افزایش داد؛ همچنین استفاده از شربت زرشک، منجر به کاهش پارامترهای مورد مطالعه نگردید.

نتیجه‌گیری: شربت زرشک احتمالاً نمی‌تواند از کبد موش‌های صحرایی در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تتراکلریدکربن محافظت نماید و شاید اثرات پراکسیدانی نیز داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: شربت زرشک؛ آنتی‌اکسیدان؛ ترکیبات فنولیک؛ DPPH؛ کبد؛ موش‌های صحرایی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1393؛ 21 (3): 283-291.

دریافت: 1393/07/08 پذیرش: 1393/09/18

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، خراسان شمالی، ایران.

[2] استادیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثّر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[3] استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، خراسان شمالی، ایران.

4نویسنده مسؤول؛ دانشیار، عضو مرکز تحقیقات آترواسکلروز و عروق کرونر، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بیرجند- دانشکده پزشکی

تلفن: 056-32440388 نمابر: 056-32440388 پست الکترونیک: azarban@yahoo.com

مقدمه

پدیده استرس اکسیداتیو، در نتیجه عدم تعادل نسبی تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعّال اکسیژن از یک‌سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر اجرا می‌شود (1). رادیکال‌های آزاد، اتم یا یون‌هایی هستند که الکترون جفت‌نشده‌ای دربردارند و به‌شدّت واکنش‌پذیرند (2) و نقش اساسی در سبب‌شناسی بسیاری از بیماری‌ها از جمله: آرتروز، سرطان و بیماری‌های قلبی- عروقی دارند (3). گیاهان و سایر ارگانیسم‌ها، دارای مکانیسم مبارزه با رادیکال‌های آزاد می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها، به‌عنوان ممانعت‌کننده در فرآیند اکسیداسیون عمل می‌کنند. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای توجّه محقّقین را به خود جلب کرده‌اند؛ زیرا هم ایمنی آنها ثابت شده است و هم به‌طور بالقوّه، مغذّی بوده و اثرات درمانی دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها، به‌طور طبیعی در مواد غذایی، میوه‌ها، نوشیدنی‌ها، ادویه‌جات و ترشیجات موجودند. در این میان، چند سالی است که گیاهان از جمله: زرشک، چای سبز و....، مورد توجه محقّقین قرار گرفته‌اند (4).

میوه زرشک، قرمز رنگ، گوشتی، بیضی‌شکل و دارای طعمی ترش است. زرشک، از معدود گیاهانی است که از ریشه، پوست، ساقه، برگ، گل و میوه آن، استفاده‌های مختلف غذایی، دارویی و صنعتی می‌شود. گیاهی است با نام علمی *بربریس ولگاریس. ال* که از خانواده *بربریداسه* است. این گیاه، در مناطق مختلف جهان وجود دارد و دارای تاریخچه‌ای طولانی در طبّ سنّتی است (5، 6). به‌دنبال تجزیه آزمایشگاهی این گیاه، برخی از آلکالوئیدهای این گیاه شناسایی شده است که شامل: بربرین، بربامین، پالماتین، اکسی‌اکانتین، ژاتروریزین، بربامین و .... است که دارای خواصّ درمانی مختلف می‌باشند (7, 8). بربرین، مهمترین آلکالوئید جداسازی‌شده از زرشک است که دارای خواص درمانی متفاوت مانند: خواص ضدّ میکروبی (۹)، ضدّ تومور (۱۰)، ضدّ التهاب (۱۱) و کاهنده اختلالات عصبی (12) می‌باشد و همچنین در پیشگیری از اختلالات عروق کرونر (13) موثّر بوده است. زرشک، محصول مهم منطقه خراسان جنوبی است و امروزه در مقیاس صنعتی به‌صورت شربت زرشک تولید می‌شود. با توجه به اینکه سیستم آنتی‌اکسیدانی درونی بدن ما، به‌طور کامل در برابر عوامل اکسیدان مؤثّر نیست؛ بنابراین مصرف بعضی از آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی، در جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو و صدمات ناشی از آن، بسیار مؤثّر خواهد بود. مطالعات مختلفی، تأثیر مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها را در جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز و بروز سرطان‌ها و کاهش علایم بسیاری از بیماری‌های دیگر نشان داده‌اند. از آنجایی که شواهد متعدّدی در رابطه با خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف و همچنین اثرات حفاظت کبدی آنها وجود دارد (14، 15) و از طرفی صنعت غذا، با تکنولوژی رو به پیشرفت و تولید فرآورده‌های جانبی از این گیاهان، رو به گسترش است، بر آن شدیم تا خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک تولیدشده صنعتی و همچنین اثر محافظت کبدی آن را مورد بررسی قرار دهیم.

روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، ابتدا شربت زرشک از کارخانه سرشک قائن، واقع در خراسان جنوبی تهیه شد؛ سپس دو سری آزمایش به شرح زیر بر روی آن انجام شد:

الف) ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک

در این گروه از آزمایش‌ها، ابتدا خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک، با استفاده از روش‌های FRAP، DPPH و فولین‌سیوکالتو، مورد بررسی قرار گرفت. شربت زرشک با 4 تاریخ تولید مختلف تهیه گردید.

برای تعیین ظرفیّت تام آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های شربت زرشک، از روش FRAP استفاده شد. (16) در این روش، برای تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه، توانایی عصاره گیاه در احیای یون‌های فریک (+Fe3) و تبدیل آن به یون‌های فرو (Fe^{2+}) اندازه‌گیری می‌شود. یون Fe^{2+} به‌دست آمده، در pH اسیدی و در حضور TPTZ (Tripyrid-S-triazine)،

کمپلکس Fe-TPTZ را تشکیل می‌دهد که دارای رنگ بنفش است و شدّت رنگ حاصله، در طول موج 593 نانومتر و به‌صورت اسپکتروفتومتریک، قابل اندازه‌گیری است. این واکنش، غیر اختصاصی است و هر مولکولی که تحت شرایط فوق، قابلیت احیای یون فریک را داشته باشد، در این واکنش شرکت می‌نماید. در این روش، مقدار 20mg از شربت زرشک در 10 میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر، حل و سپس از آن، غلظت‌های 0/05، 0/025، 0/0125 و 0/00625 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد.

مقدار 2 میلی‌لیتر از محلول کاری FRAP، به هر یک از لوله‌های آزمایش مورد نظر اضافه شد و به‌مدّت 5 دقیقه، در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

روش دیگر ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی، بررسی میزان خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) DPPH) است که بر اساس روش Brand-Eilliams و همکاران ارزیابی شد (17). DPPH، یک رادیکال آزاد پایدار و محلول در الکل است. در این روش، در اثر کاهش رادیکال DPPH توسط آنتی‌اکسیدان، میزان رنگ بنفش محلول، کاهش یافته و به رنگ زرد تبدیل می‌شود که در طول موج 517 نانومتر، قابل اندازه‌گیری می‌باشد. مقدار 20 میلی‌گرم از شربت زرشک، در 10 میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر، حل و سپس از آنها غلظت‌های 0/05، 0/025، 0/0125 و 0/00625 میلی‌گرم در میلی‌لیتر (رقّت‌های) تهیه شد و مقدار 50میکرولیتر از غلظت‌های مختلف شربت زرشک، درون کووت مخصوص دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته شد؛ سپس مقدار 2میلی‌لیتر از محلول DPPH، به هر یک از کووت‌های مورد نظر اضافه شد. پس از 10 دقیقه، شدّت رنگ حاصل، توسط اسپکتروفتومتر در طول موج 517نانومتر در مقابل گروه کنترل، اندازه‌گیری و ثبت گردید.

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک، از روش فولین‌سیوکالتو استفاده شد (18). در این روش، فسفوتنگستومولیبدات در حضور سولفات‌لیتیم با ترکیبات فنلی، ایجاد رنگ آبی می‌نماید و شدّت رنگ حاصل، در طول موج 760نانومتر قرائت می‌شود که به‌صورت معادل اسیدگالیک محاسبه و بیان می‌گردد. در هر یک از لوله‌های آزمایش، 0/1میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف شربت زرشک ریخته شد. از رقّت‌های مختلف اسیدگالیک به‌عنوان استاندارد، در لوله‌های جداگانه استفاده شد. در همه لوله‌ها، 5/9میلی‌لیتر آب مقطر دوبارتقطیر ریخته شد و مخلوط گردید. از محلول فولین‌سیوکالتو، 0/5میلی‌لیتر به تمام لوله‌ها افزوده و به‌خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت یک دقیقه، به تمام لوله‌ها مقدار 1/5میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم 20%، اضافه و مخلوط گردید. این عمل می‌بایست در عرض کمتر از 8 دقیقه انجام می‌گرفت. محلول حاصل، به مدّت 2 ساعت در دمای اتاق انکوبه شد و سپس جذب حاصل، در طول موج 760نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و بصورت میلی گرم در گرم معادل اسیدگالیک گزارش گردید.

ب) مطالعه اثر محافظتی شربت زرشک بر آسیب کبدی القاشده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی

تعداد 66 سر موش صحرایی مذکّر از نژاد Wistar-Albino با وزن تقریبی 220-280 گرم، از دانشگاه علوم پزشکی بیرجند خریداری شد. حیوانات، تحت شرایط محیطی استاندارد و در دمای 20-25 درجه سانتی‌گراد و با رعایت سیکل 12 ساعته روشنایی-تاریکی، در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بیرجند نگهداری و با رژیم غذایی استاندارد حیوانات و با دسترسی آزادانه به آب و غذا، تغذیه شدند. موش‌ها، تتراکلریدکربن 50% (با نسبت 1:1 رقیق‌شده با روغن ذرت) را به مقدار یک میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت خوراکی دریافت کردند.

نحوه تیمار: موش‌ها به‌طور تصادفی در 11 گروه (6 موش در هر گروه) به‌صورت زیر قرار گرفتند:

گروه 1، 2، 3 (دوز کم)= که محلول 1% شربت زرشک را روزانه با دوز یک میلی‌لیتر دریافت نمودند. گروه 1 پس از 2

هفته و گروه 2 پس از 4 هفته دریافت عصاره خونگیری شدند و گروه 3 علاوه بر 4 هفته دریافت عصاره، پس از پایان این مدّت تتراکلریدکربن نیز دریافت کردند و پس از 48 ساعت خونگیری از آنها به عمل آمد.

گروه 4، 5، 6 (دوز متوسط)= که محلول 4% شربت زرشک را روزانه با دوز یک‌میلی‌لیتر دریافت نمودند و گروه 4 پس از 2 هفته، گروه 5 پس از 4 هفته خونگیری شدند و گروه 6 علاوه بر 4 هفته دریافت عصاره پس از پایان این مدت تتراکلرید کربن نیز دریافت کردند و پس از 48 ساعت خونگیری از آنها به عمل آمد.

گروه 7، 8، 9 (دوز زیاد)= که محلول 20% شربت زرشک را روزانه با دوز یک‌میلی‌لیتر دریافت نمودند و گروه 7 پس از 2هفته، گروه8 پس از 4هفته و گروه 9 علاوه بر 4 هفته دریافت عصاره، پس از پایان این مدت تتراکلریدکربن دریافت کردند و سپس خونگیری از آنها به عمل آمد.

گروه 10 (کنترل منفی)= موش‌های این گروه فقط به مدت 14 روز با آب گاواژ شدند.

گروه 11 (کنترل مثبت)= به موش‌های این گروه، روزانه و به مدت 14 روز، آب خورانده شد. در روز پانزدهم، تتراکلریدکربن دریافت کردند.

بررسی‌های بیوشیمیایی: 48 ساعت پس از آخرین گاواژ، موش‌های صحرایی توسط کلروفرم بیهوش شده و خونگیری از قلب آنها انجام شد. خون‌های جمع‌آوری‌شده که برای جلوگیری از لخته‌شدن، هپارینه شده بود، بلافاصله توسط دستگاه سانتریفوژ با دور 3000 و به مدت 10 دقیقه، پلاسمای آنها جداسازی و درون اپندورف برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی نگهداری شد. ارزیابی سطوح سرمی آنزیم‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز، آلکالن‌فسفاتاز، بیلی‌روبین‌توتال و بیلی‌روبین مستقیم، با استفاده از روش‌های استاندارد و کیت‌های شرکت پارس‌آزمون-ایران انجام شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری، در نرم‌افزار SPSS (ویرایش 15) وارد و ضمن ارائه آمار توصیفی، به‌وسیله آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی در سطح α=0/05 تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

نتایج ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک نشان داد که میانگین FRAP در شربت زرشک 1764/8 و DPPH 32/3 می‌باشد که نشان از خواص آنتی‌اکسیدانی خوب شربت زرشک دارد (جدول 1).

مقایسه میانگین آنزیم‌های سرمی ALT، AST و ALP و بیلی‌روبین نشان داد که در موش‌های گروه 3، 6، 9 و 11 که آسیب کبدی توسط تتراکلریدکربن القا شده، سطح سرمی آنزیم‌های شاخص کبدی در مقایسه با گروه‌های دیگر، به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است. در بقیّه گروه‌ها نیز که شربت زرشک را به‌مدّت 2 و 4 هفته دریافت کردند، ولی تتراکلرید کربن به آنها خورانده نشد، نسبت به گروه کنترل منفی، افزایش آنزیم کبدی مشاهده شد (جدول 2).

جدول 1- شاخص‌های گرایش مرکزی و پراکندگی DPPH، FC و FRAP در نمونه شربت زرشک

شاخص آماری	فراوانی	میانگین	انحراف‌معیار	انحراف‌استاندارد	مینیمم	ماکزیمم
FRAP(µmol/l)	4	1764/8	233/5	67/4	1436/7	2096
FC(Mg/g)	4	457/4	118/1	34/1	183	575
DPPH(mg/ml)	4	32/2	18/3	4/1	2/72	69/7

گروه‌های مورد مطالعه	آلانین‌آمینوترانسفراز $\bar{X}_{\pm SD}$	آسپارتات‌آمینوترانسفراز $\bar{X}_{\pm SD}$	آلکالین فسفاتاز $\bar{X}_{\pm SD}$	بیلی‌روبین $\bar{X}_{\pm SD}$	توتال‌بیلی‌روبین $\bar{X}_{\pm SD}$
گروه 1 (دوز کم 2 هفته)	73/34±24/3	7/1±2/9	323/6±109/2	0/1±0	0/2±0/04
گروه 2 (دوز کم4هفته)	114/5±40/1	27/3±11/1	428/6±94/5	0/1±0	0/2±0/05
گروه 3 (دوز کم4هفته+ ccl_4)	5991/5±3232/8	4041/1±1649/7	1273/3±222/5	1±0/7	1/5±0/9
گروه 4 (دوز متوسط 2 هفته)	138/16±109/8	37/1±15/1	369/3±156/6	0/1±0	0/2±0/07
گروه 5 (دوز متوسط 4 هفته)	28/15±11/49	3/2±1/3	261/1±43/9	0/1±0	0/1±0/05
گروه 6 (دوز متوسط 4 هفته+ccl_4)	1130/1±5/3	2582/3±1154/8	1303/1±258/3	0/2±0/1	0/38±0/2
گروه 7 (دوز زیاد 2 هفته)	24/4±9/9	10/9±4/4	437/6±166/9	0/1±0	0/1±0/04
گروه 8 (دوز زیاد 4 هفته)	37/8±15/4	26/6±10/8	306/8±152/2	0/1±0	0/23±0/05
گروه 9 (دوز زیاد 4 هفته+(ccl_4))	613/9±250/6	1154/4±471/3	1233/8±357/9	0/2±0/1	0/48±0/3
گروه 10 (کنترل منفی)	42/6±17/4	24/3±9/9	265/1±40/7	0/1±0	0/02±0/08
گروه 11 (کنترل مثبت)	681/5±278/2	1261/7±515/1	1065±556/7	0/3±0/04	0/5±0/52
نتیجه آزمون آماری آنالیز واریانس و تست توکی	همه گروه‌ها با گروه 3 و 6 معنی‌دار می‌باشند. P≤0/001	همه گروه‌ها با گروه 3، 6 و 9معنی‌دار می‌باشند. P≤0/001	همه گروه‌ها با گروه 3، 6، 9 و 11معنی‌دار می‌باشند. P≤0/001	همه گروه‌ها با گروه 3 معنی‌دار می‌باشند. P≤0/001	همه گروه‌ها با گروه 3 معنی‌دار می‌باشند. P≤0/001

جدول 2- مقایسه میانگین آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مورد آزمایش

بحث

نتایج مربوط به ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی شربت زرشک نشان داد که این محصول، دارای ظرفیّت آنتی‌اکسیدانی بالایی است. یکی از روش‌های به‌کاررفته، روش FRAP بود که روشی بسیار دقیق، سریع و کم‌هزینه برای تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در این روش، در واقع قدرت احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف سنجیده می‌شود که انواع آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر: ویتامین C، E، فلاونوئیدها و .....، در واکنش شرکت می‌نمایند؛ بنابراین شربت زرشک که خاصیّت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داده است، حاوی یک یا چند نوع از این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد.

در روش DPPH، نتایج حاکی از آنست که با کاهش زمان تولید تا مصرف شربت زرشک، مهار رادیکال DPPH افزایش می‌یابد. این آزمایش نشان می‌دهد که شربت زرشک می‌تواند این رادیکال را خنثی کند که احتمالاً توانایی خنثی‌کردن رادیکال‌های مشابه را نیز دارد.

نظر به اهمیّت ترکیبات پلی‌فنول به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان، در این مطالعه، اندازه‌گیری میزان توتال این ترکیبات به‌روش فولین‌سیوکالتو انجام شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار است. اگرچه ترکیبات فنولی و آنتوسیانین‌ها، منبع طبیعی آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، ولی به‌طور کل نمی‌توانند در طی فرایند و نگهداری محصولات، پایدار باشند و با توجه به دما، PH، اکسیژن و فعالیّت آبی، مقادیر آنها قابل تغییراند. مطالعات مختلفی بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی موادّ غذایی انجام گرفته است؛ از جمله زربان و همکارانش در سال 1386، خواص آنتی‌اکسیدانی آب انار و توانایی آن در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که آب انار نسبت به سایر میوه‌های مورد مطالعه، از ترکیبات فنلیک بیشتری برخوردار است و ظرفیّت تام آنتی‌اکسیدانی آن بالا می‌باشد؛ همچنین توانایی مهار رادیکال DPPH را به‌طور قابل ملاحظه‌ای دارد (19). مطلب و همکارانش در سال 2005 مطالعه‌ای با هدف ارزیابی میزان ترکیبات فنولیک و ظرفیّت تام آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زرشک انجام دادند که بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد، در عصاره آبی زرشک مشاهده شد. عصاره زرشک متانولی 80%، بالاترین محتوای فنولیک را در مقایسه با عصاره آبی داشت. به‌طور کلی، نتایج، اختلافات چشمگیری را در فعالیّت مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره اتانولی و آبی زرشک نشان دادند و فعالیّت آنتی‌اکسیدانی میوه گیاه زرشک را تأیید کردند (20). Gundogdu در سال 2013 مطالعه‌ای بر روی میوه زرشک انجام داد و خواص آنتی‌اکسیدانی، محتوای ارگانیک‌اسید و ترکیبات فنولیک زرشک را با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری کرد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک 8/731µm گزارش شد. در این مطالعه نشان داده شد که میوه زرشک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد (21). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که شربت زرشک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که در موش‌های مسموم‌شده توسط تتراکلرید کربن در مقایسه با گروه‌های دیگر، میزان آنزیم‌های شاخص آسیب کبدی (ALT، AST، ALP) و بیلی‌روبین پلاسما، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این بررسی، دریافت شربت زرشک قبل از گاواژ تتراکلرید کربن، نتوانست از افزایش ALT، AST و ALP نسبت به گروه کنترل مثبت پیشگیری کند و آنچه مقایسه میانگین آنزیم‌های سرمی ALT، AST و ALP نشان می‌دهد، افزایش میزان این آنزیم‌ها در 9 گروه دریافت‌کننده شربت زرشک در مقایسه با گروه کنترل مثبت و کنترل منفی است که احتمالاً نشان‌دهنده خاصیّت پراکسیدانی شربت زرشک است که این خاصیّت با غلظت مختلف عصاره تغییر کرده و بیشتر در دوز متوسط دیده می‌شود. در مطالعه‌ای که *Lee* و همکارانش در سال 2009 انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که زرشک، اثرات مفیدی بر روی کبد رت‌های

مبتلا به دیابت دارد و احتمالاً برای پیشگیری از عوارض ناشی از دیابت، مؤثّر است و باعث تنظیم هموستاز قند از طریق کاهش تولید قند و کاهش استرس‌های اکسیداتیو می‌شود (22).

Hermenean و همکارانش در سال 2012، طی مطالعه‌ای، از ترکیب عصاره زرشک و βسیکلودکسترین، برای حفاظت کبدی در مقابل تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که ترکیب عصاره زرشک و βسیکلودکسترین، دارای اثرات محافظت کبدی در برابر CCL_4 می‌باشد (23). عیدی و همکارانش در سال 2011، در مطالعه اثرات محافظت کبدی عصاره الکلی زرشک دانه‌دار کوهی در مسمومیّت ناشی از تیمار با تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی نر، اثرات حفاظت کبدی زرشک را به اثبات رساندند و این اثر را با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن مربوط دانستند (14). رفیعی و همکاران در سال 1392، اثر محافظتی عصاره میوه زرشک زرافشانی در برابر آسیب کبدی القاشده توسط تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که عصاره زرشک، احتمالاً از طریق تعدیل آنزیم‌های سم‌زدایی‌کننده و فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی و جاروکنندگی رادیکال‌های آزاد، سبب حفاظت کبدی می‌شود (15). در این مطالعه، در هیچ‌یک از گروه‌های دریافت‌کننده شربت زرشک، کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های فوق مشاهده نگردید که این اثر می‌تواند ناشی از علل مختلفی باشد و نیاز به بررسی بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه انجام‌شده، شربت زرشک از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را دارد؛ همچنین دارای ترکیبات فنولیک می‌باشد. ولی با وجود خواص آنتی‌اکسیدانی، توانایی محافظت کبد در آسیب کبدی القاشده توسط تتراکلریدکربن در دوزهای مطالعه‌شده را ندارد و احتمال می‌رود که در دوزهای دیگری، اثرات مفیدی از آن مشاهده شود که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

منابع:

1- Iizuka N, Miyamoto K, Okita K, Tangoku A, Hayashi H, Yosino S, et al. Inhibitory effect of Coptidis Rhizoma and berberine on the proliferation of human esophageal cancer cell lines. Cancer lett. 2000; 148(1): 19-25.

2- Sivanandham V. Free radicals in health and diseases a mini review. Pharmacologyonline. 2011; 1: 1062-77.

3- Kuhn MA. Oxygen free radicals and antioxidants: An overview of how antioxidants protect the body from disease. Am J Nurs. 2003; 103(4): 58-62.

4- Halliwell B, Gutteridge J. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys. 1990; 280(1):1-8.

5- Faure P, Lafond JL. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation, Analysis of free radicals in biological systems. Birkh?user Basel; 1995.

6- Liang D1, Zhou Q, Gong W, Wang Y, Nie Z, He H, et al. Studies on the antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from Talinum triangulare. J Ethnopharmacol. 2011; 136(2): 316-21.

7- Corongiu FP, Milia A. An improved and simple method for determining diene conjugation in autoxidized polyunsaturatedfatty acids. Chem Biol Interact. 1983; 44(3): 289-97.

8- Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J. 1984; 219(1): 1-14.

9- Ledda-Columbano GM, Coni P, Curto M, Giacomini L, Faa G, Oliverio S, et al. Induction of two different modes of cell death, apoptosis and necrosis, in rat liver after a single dose of thioacetamide. Am J Pathol. 1991; 139(5): 1099-109.

10- Ortiz LM, Lombardi P, Tillhon M, Scovassi AI. Berberine, an epiphany against cancer. Molecules. 2014 Aug 15;19(8):12349-67

.11- Li Z, Geng YN, Jiang JD, Kong WJ. Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:289264.

12-Vuddanda PR, Chakraborty S, Singh S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. Expert Opin Investig Drugs. 2010 Oct;19(10):1297-307.

13- Derosa G1, Maffioli P, Cicero AF. Berberine on metabolic and cardiovascular risk factors: an analysis from preclinical evidences to clinical trials. Expert Opin Biol Ther. 2012 Aug;12(8):1113-24.

14- Eidi A, Zarin Ghalam J, Rezazade Sh, Adeli R. Hepatoprotective effect of Berberis vulgaris L. extract on CCl4-induced toxicity in rats. Kowsar Medical Journal. 2011; 16 (3): 169-173. [Persian]

15- Rafiee F, Heidari R, Ashraf H, Rfiee P. Protective Effect of Berberis integerrima Fruit Extract on Carbon-Tetrachloride Induced Hepatptoxicty in Rats. Journal of Fasa University of Medical Science. 2013; 3(3):179-87. [Persian]

16- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem. 1966; 239(1): 70-6.

17- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technol. 1995; 28(1): 25-30 .

18-. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 1999; 299:152-78.

19- Zarban A, Malekaneh M. Reza Boghrati M. Antioxidant properties of pomegranate juice and its scavenging effect on free radicals. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2007; 14(3): 19-27. [Persian]

20- Motalleb G, Hanachi P, Kua SH, Fauziah O, Asmah R. Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in Berberis vulgaris fruit extract. J Biol Sci. 2005; 5(5): 648-53.

21- Gundogdu M. Determination of Antioxidant Capacities and Biochemical Compounds of Berberis vulgaris L. Fruits. Advances in Environmental Biology. 2013; 7(2): 344-8.

22- Lee B, Yang CH, Hahm DH, Choe ES, Lee HJ, Pyun KH, et al. Inhibitory effects of Coptidis rhizoma and berberine on cocaine-induced sensitization. Evid Based Complement Alternat Med. 2009; 6(1): 85-90.

23- Hermenean A, Popescu C, Ardelean A, Stan M, Hadaruga N, Mihali CV, et al. Hepatoprotective Effects of Berberis vulgaris L. Extract/β Cyclodextrin on Carbon Tetrachloride–Induced Acute Toxicity in Mice. Int J Mol Sci. 2012; 13(7): 9014-34.

Abstract *Original Article*

Assessment of antioxidant properties of berberis vulgarris syrup and their protective effects on hepatic damages induced by CCl_4 in the rat

Mohaddeseh Abolhasannezhad[1], Gholamreza Sharifzadeh[2], Raheleh Ghasemzadeh[3], Asghar Zarban[4]

Background and Aim: Today, it is known that some natural and synthetic compounds possess antioxidant properties and as a result, have gained a lot of significance in food industry. Many of these compounds have got important roles in protecting the liver against destructive factors.. The present study is an attempt to survey the antioxidant properties of berberis vulgarris syrup and its liver preserving effects in the rat damaged by carbon tetrachloride.

Materials and Methods: In this experimental study, total antioxidant capacity of berberis vulgarris syrup was assessed at first using FRAP method and phenolic compound content was tested through FolinCiocalteumethod. Then, radicals neutralizing effects of berberis syrup were examined by means of DPPH method.

Our subjects,i.e. 66 rats, were randomly divided into 6 equal groups. Then, they were fed with Berberis vulgarris syrup at different doses (1%, 4%, and 20%) for four weeksFinally. serum content of aminotransferase (SGPT and SGOT), alkaline phosphatase,and bilirubin were measured .The obtained data was analyzed using variance analysis and Tukey test through SPSS software (V:15).

Results: BerberisVulgarris syrup has high antioxidant properties as indicated by FRAP method. Results obtained from DPPH method showed that DPPH radicals are better controlled by reducing their production to the consumption interval. FolinCiocalteu test demonstrated that with an increase in the polyphenol combination, through reducing production to consumption time, a significant increase in polyphenol combination occurred. Tetrachloride carbon treatment significantly increased serum level of alanine aminotransferase, and aspartate transferas of the sample ($P \leq 0.01$). But the syrup had no effect in reducing these parameters.

Conclusion: As suggested by the results, BerberisVulgarris syrup failed to preserve the liver of the rat against oxidative damages caused by carbon tetrachloride but iteven showed a proxidative effect.

Key Words: BerberisVulgarris syrup; Antioxidant; Phenolic compounds; DPPH; Preservation of the liver; Rat

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 21 (3): 283-291.

Received: September 30, 2014 ***Accepted: December 9, 2014***

[1] *M.Sc in food science & engineering, Quchan Azad university, Quchan, North Khorasan, Iran;*

[2] *Assistant Professor, Social Determinants of Health Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran;*

[3] *Assistant Professor, Phd in department of food science & engineering, Quchan Azad university, Quchan, North Khorasan, Iran;*

[4] *Corresponding author, Associate professor, member of Atherosclerosis and Coronary Artery Research Centre, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran. azarban@yahoo.com*