

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

محدثه ابوالحسن نژاد<sup>۱</sup>، غلامرضا شریفزاده<sup>۲</sup>، راحله قاسمزاده<sup>۳</sup>، اصغر زربان<sup>۴</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: امروزه معلوم شده است که برخی از ترکیبات طبیعی و سنتیک، دارای خواص آنتیاکسیدانی می‌باشند و در صنایع غذایی اهمیت فوق العاده‌ای یافته‌اند. بسیاری از این ترکیبات نیز در محافظت از کبد در مقابل عوامل مخرب، 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 ظرفیت تام آنتیاکسیدانی شربت زرشک، با استفاده از روش FRAP و محتوى ترکیبات فنولیک با استفاده از روش فولین‌سیوکالتو، تعیین و ظرفیت خشی‌سازی رادیکال آزاد نیز با استفاده از روش DPPH، در نمونه‌های شربت زرشک، مورد بررسی قرار گرفت.

۶۶ سر موش صحرایی، در ۱۱ گروه، مورد مطالعه قرار گرفتند. شربت زرشک با دوزهای ۱، ۴ و ۲۰ درصد، به مدت ۴ هفته به موش‌ها خورانده شد. سطوح سرمی آنزیمهای آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالن‌فسفاتاز (ALP)، بیلی‌روین‌توتال و بیلی‌روین مستقیم اندازه‌گیری شد؛ سپس داده‌های بدست آمده، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس و تست توکی، به کمک نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۵) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: شربت زرشک، خاصیت آنتیاکسیدانی بالایی را با استفاده از روش FRAP نشان داد ( $1764/8 \pm 233/5$ ). در روش DPPH، نتایج حاکی از آنست که شربت زرشک، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH را در میانگین  $32/2 \pm 18/3$  دارد؛ همچنین نتایج حاصل از آزمایش فولین‌سیوکالتو، وجود ترکیبات پلی‌فنول در سطح  $457/4 \pm 118/1$  را به اثبات رساند. تیمار با تتراکلریدکربن در دوزهای مختلف زرشک، ۴ هفته بعد از مداخله، سطح سرمی آنزیمهای آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالن‌فسفاتاز سرم موش‌های صحرایی را به طور معنی‌داری ( $P \leq 0/01$ ) نسبت به گروه‌های شاهد و گروه‌های تیمار نشده 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): 291-283.

دریافت: 1393/07/08 پذیرش: 1393/09/18

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، خراسان شمالی، ایران.

<sup>۲</sup> استادیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>۳</sup> استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، خراسان شمالی، ایران.

<sup>۴</sup> بوسنده مسؤول؛ دانشیار، عضو مرکز تحقیقات آنرواسکلروز و عروق کرونر، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

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

تلفن: ۰۵۶-۳۲۴۴۰۳۸۸ نامبر: ۰۵۶-۳۲۴۴۰۳۸۸ پست الکترونیک: azarban@yahoo.com

## مقدمه

(13) موثر بوده است. زرشک، محصول مهم منطقه خراسان جنوبی است و امروزه در مقیاس صنعتی به صورت شربت زرشک تولید می‌شود. با توجه به اینکه سیستم آنتی اکسیدانی درونی بدن ما، به طور کامل در برابر عوامل اکسیدان مؤثر نیست؛ بنابراین مصرف بعضی از آنتی اکسیدان‌ها در رژیم غذایی، در جلوگیری از بروز استرس اکسیداتیو و خدمات ناشی از آن، بسیار مؤثر خواهد بود. مطالعات مختلفی، تأثیر مثبت آنتی اکسیدان‌ها را در جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز و بروز سرطان‌ها و کاهش عالیم بسیاری از بیماری‌های دیگر نشان داده‌اند. از آنجایی که شواهد متعددی در رابطه با خواص آنتی اکسیدانی 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 جانی از این گیاهان، رو به گسترش است، بر آن شدیدم تا خواص آنتی اکسیدانی شربت زرشک تولید شده 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 آنتی اکسیدانی شربت زرشک

در این گروه از آزمایش‌ها، ابتدا خواص آنتی اکسیدانی 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 ظرفیت تمام آنتی اکسیدانی نمونه‌های شربت زرشک، از روش FRAP استفاده شد. (16) در این روش، برای تعیین قدرت آنتی اکسیدانی گیاه، توانایی عصاره گیاه در احیای یون‌های فریک (Fe<sup>3+</sup>) و تبدیل آن به یون‌های فرو (Fe<sup>2+</sup>) اندازه‌گیری می‌شود. یون Fe<sup>2+</sup> به دست آمده، در pH (Tripyrid-S-triazine) TPTZ اسیدی و در حضور

پدیده استرس اکسیداتیو، در نتیجه عدم تعادل نسبی تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یکسو و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از سوی دیگر اجرا می‌شود (1). رادیکال‌های آزاد، اتم یا یون‌هایی هستند که الکترون جفت‌نشده‌ای در بردارند و به شدت 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. آنتی اکسیدان‌ها، به عنوان ممانع کننده در فرآیند اکسیداسیون عمل می‌کنند. امروزه آنتی اکسیدان‌های طبیعی، به طور قابل ملاحظه‌ای توجه محققین را به خود جلب کرده‌اند؛ زیرا هم این‌ها ثابت شده است و هم به طور بالقوه، مغذی بوده و اثرات درمانی دارند. آنتی اکسیدان‌ها، به طور 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 محققین قرار گرفته‌اند (4).

میوه زرشک، قرمز رنگ، گوشتی، بی‌پیش‌شکل و دارای طعمی ترش است. زرشک، از محدود گیاهانی است که از ریشه، پوست، ساقه، برگ، گل و میوه آن، استفاده‌های مختلف غذایی، دارویی و صنعتی می‌شود. گیاهی است با نام علمی ببربریس ولگاریس. ال که از خانواده ببربریداسه است. این گیاه، در مناطق مختلف جهان وجود دارد و دارای تاریخچه‌ای طولانی در طب سنتی است (5، 6). به دنبال تجزیه آزمایشگاهی این گیاه، برخی از آلکالوئیدهای این گیاه شناسایی شده است که شامل: بربین، بربامین، پالماتین، اکسی‌اکانتین، ژاتروریزین، بربامین و .... است که دارای خواص درمانی مختلف می‌باشد (7، 8). بربین، مهمترین آلکالوئید جداسازی شده از زرشک است که دارای خواص درمانی متفاوت مانند: خواص ضد میکروبی (۹)، ضد تومور (۱۰)، ضد التهاب (۱۱) و کاهنده اختلالات عصبی (۱۲) می‌باشد و همچنین در پیشگیری از اختلالات عروق کرونر

فسفوتنگستومولبیدات در حضور سولفات لیتیم با ترکیبات فنلی، ایجاد رنگ آبی می‌نماید و شدت رنگ حاصل، در طول موج 760 نانومتر قرائت می‌شود که به صورت معادل اسیدگالیک محسنه و بیان می‌گردد. در هر یک از لوله‌های آزمایش، 0/1 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف شربت زرشک ریخته شد. از رقت‌های مختلف اسیدگالیک به عنوان استاندارد، در لوله‌های جداگانه استفاده شد. در همه لوله‌ها، 0/5 میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر، حل و سپس از آن، غلظت‌های 0/00625، 0/0125، 0/025، 0/05 و 0/0125 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد.

فولین‌سیوکالتو، 0/5 میلی‌لیتر به تمام لوله‌ها افزوده و به خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت یک دقیقه، به تمام لوله‌ها مقدار 1/5 میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم 20٪، اضافه و مخلوط گردید. این عمل می‌بایست در عرض کمتر از 8 دقیقه انجام می‌گرفت. محلول حاصل، به مدت 2 ساعت در دمای اتاق انکوبه شد و سپس جذب حاصل، در طول موج 760 نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد و بصورت میلی‌گرم در گرم معادل اسیدگالیک گزارش گردید.

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

تعداد 66 سر موش صحرایی مذکور 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 رقیق شده با روغن ذرت) را به مقدار یک میلی‌لیتر بر کیلو‌گرم وزن بدن، به صورت خوارکی دریافت کردند.

**نحوه تیمار:** موش‌ها به طور تصادفی در 11 گروه (6 موش در هر گروه) به صورت زیر قرار گرفتند:

گروه ۱، 2، 3 (دوز کم)= که محلول 1٪ شربت زرشک را روزانه با دوز یک میلی‌لیتر دریافت نمودند. گروه ۱ پس از 2

کمپلکس Fe-TPTZ را تشکیل می‌دهد که دارای رنگ بنفش است و شدت رنگ حاصله، در طول موج 593 نانومتر و به صورت اسپکتروفوتومتریک، 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 0/00625، 0/0125، 0/025، 0/05 و 0/0125 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد.

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

روش دیگر ارزیابی قدرت آنتی‌اسیدانی، بررسی میزان خثی‌سازی رادیکال‌های آزاد 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) است که بر اساس روش Brand-Eilliams DPPH و همکاران ارزیابی شد (17). یک رادیکال آزاد پایدار و محلول در الکل است. در این روش، در اثر کاهش رادیکال DPPH توسط آنتی‌اسیدان، 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، 0/0125، 0/025 و 0/00625 میلی‌گرم در میلی‌لیتر (رقت‌های) تهیه شد و مقدار 50 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف شربت زرشک، درون کووت مخصوص دستگاه اسپکتروفوتومتر ریخته شد؛ سپس مقدار 2 میلی‌لیتر از محلول DPPH، به هر یک از کووت‌های مورد نظر اضافه شد. پس از 10 دقیقه، شدت رنگ حاصل، توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج 517 نانومتر در مقابل گروه کنترل، اندازه‌گیری و ثبت گردید.

برای اندازه‌گیری ترکیبات فولیک، از روش فولین‌سیوکالتو استفاده شد (18). در این روش،

بیوشیمیایی نگهداری شد. ارزیابی سطوح سرمی آنزیمهای آسپارتات‌امینوترانسفراز، آلانین‌امینوترانسفراز، 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  $\alpha=0/05$  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، به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. در بقیه گروه‌ها نیز که شربت زرشک را به مدت 2 و 4 هفته دریافت کردند، ولی تتراکلریدکربن به آنها خورانده نشد، نسبت به گروه کنترل منفی، افزایش آنزیم کبدی مشاهده شد (جدول 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 مدت 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 2 هفته، گروه 8 پس از 4 هفته 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 گاوaz 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 گاوaz، موش‌های صحرایی توسط کلروفرم بیهوش شده و خونگیری از قلب آنها انجام شد. خون‌های جمع‌آوری شده که برای جلوگیری از لخته‌شدن، هپارینه شده بود، بلافالسله توسط دستگاه سانتریفوژ با دور 3000 و به مدت 10 دقیقه، پلاسمای آنها جداسازی و درون اپندورف برای انجام آزمایش‌های

جدول 1- شاخص‌های گرایش مرکزی و پراکنده‌گی FC و DPPH در نمونه شربت زرشک

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

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

جدول 2 - مقایسه میانگین آنزیم‌های کبدی در گروه‌های مورد آزمایش

## بحث

همکارانش در سال 2005 مطالعه‌ای با هدف ارزیابی میزان ترکیبات فنولیک و ظرفیت تمام آنتیاکسیدانی عصاره میوه زرشک انجام دادند که بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد، در عصاره آبی زرشک مشاهده شد. عصاره زرشک متابولی ۸۰٪، بالاترین محتوای فنولیک را در مقایسه با عصاره آبی داشت. به طور کلی، نتایج اختلافات چشمگیری را در فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره اتانولی و آبی زرشک نشان دادند و فعالیت آنتیاکسیدانی میوه گیاه زرشک را تأیید کردند (20). Gundogdu در سال 2013 مطالعه‌ای بر روی میوه زرشک انجام داد و خواص آنتیاکسیدانی، محتوای ارگانیک اسید و HPLC ترکیبات فنولیک زرشک را با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کرد. ظرفیت آنتیاکسیدانی میوه زرشک ۸/۷۳۱ $\mu\text{m}$  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 مسموم شده توسط تتراکلرید کربن در مقایسه با گروه‌های دیگر، میزان آنزیمهای شاخص آسیب کبدی (ALT، AST، ALP) و بیلروبین پلاسمما، به طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده از این بررسی، دریافت شربت زرشک قبل از گاواظ تتراکلرید کربن، نتوانست از افزایش ALT، AST و ALP نسبت به گروه کنترل مثبت پیشگیری کند و آنچه ALP مقایسه میانگین آنزیمهای سرمی ALT، AST و ALP نشان می‌دهد، افزایش میزان این آنزیمهای در ۹ گروه دریافت‌کننده شربت زرشک در مقایسه با گروه کنترل مثبت و کنترل منفی است که احتمالاً نشان‌دهنده خاصیت پراکسیدانی شربت زرشک است که این خاصیت 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

نتایج مربوط به ارزیابی خواص آنتیاکسیدانی شربت زرشک نشان داد که این محصول، دارای ظرفیت آنتیاکسیدانی بالایی است. یکی از روش‌های به کار رفته، 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 خاصیت 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 DPPH زمان تولید تا مصرف شربت زرشک، مهار رادیکال افزایش می‌یابد. این آزمایش نشان می‌دهد که شربت زرشک می‌تواند این رادیکال را خنثی کند که احتمالاً توانایی خنثی کردن رادیکال‌های مشابه را نیز دارد.

نظر به اهمیت ترکیبات پلی‌فنول به عنوان عوامل آنتیاکسیدانی موجود در گیاهان، در این مطالعه، اندازه‌گیری میزان توتال این ترکیبات به روش 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 به طور کل نمی‌توانند در طی فرایند و نگهداری محصولات، پایدار باشند و با توجه به دما، PH، اکسیژن و فعالیت آبی، مقادیر آنها قابل تغییراند. مطالعات مختلفی بر روی خواص آنتیاکسیدانی مواد غذایی انجام گرفته است؛ از جمله زربان و همکارانش در سال ۱۳۸۶، 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 فنولیک بیشتری برخوردار است و ظرفیت تمام آنتیاکسیدانی آن بالا می‌باشد؛ همچنین توانایی مهار رادیکال DPPH را به طور قابل ملاحظه‌ای دارد (19). مطلب و

بررسی قراردادن 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 القاشه 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.

مبلا به دیابت دارد و احتمالاً برای پیشگیری از عوارض ناشی از دیابت، مؤثر 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 گلودکسترن، برای حفاظت کبدی در مقابل تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که ترکیب عصاره زرشک و گلودکسترن، 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 مسمومیت 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 القاشه توسط تتراکلرید کربن در موش‌های صحرایی را مورد

### 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 sulphydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation, Analysis of free radicals in biological systems. *Birkhäuser 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 Ghaham J, Rezazade Sh, Adeli R. Hepatoprotective effect of Berberis vulgaris L. extract on CCl<sub>4</sub>-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 Hepatotoxicity 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, Hahn 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 vulgaris syrup and their protective effects on hepatic damages induced by CCl<sub>4</sub> in the rat

**Mohaddeseh Abolhasannezhad<sup>1</sup>, Gholamreza Sharifzadeh<sup>2</sup>, Raheleh Ghasemzadeh<sup>3</sup>, Asghar Zarban<sup>4</sup>**

**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 vulgaris 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 vulgaris 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 vulgaris 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*

<sup>1</sup> M.Sc in food science & engineering, Quchan Azad university, Quchan, North Khorasan, Iran;

<sup>2</sup> Assistant Professor, Social Determinants of Health Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran;

<sup>3</sup> Assistant Professor, Phd in department of food science & engineering, Quchan Azad university, Quchan, North Khorasan, Iran;

<sup>4</sup> Corresponding author, Associate professor, member of Atherosclerosis and Coronary Artery Research Centre, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran. azarban@yahoo.com