

# فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی میوه بنه به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی

مصطفی بهره بر<sup>۱</sup>، علی میرزائی<sup>۲</sup>، اقبال منطقیان<sup>۳</sup>، احمد بهره بر<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> دانشگاه آزاد اسلامی واحد دهدشت، دهدشت، ایران، <sup>۲</sup> مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، <sup>۳</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۲۸

## چکیده

زمینه و هدف: با توجه با اثبات خواص آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف پسته، هدف این مطالعه تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی میوه بنه به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی عصاره هیدروالکلی میوه بنه به دو روش ماسراسیون (خیساندن) و دستگاه سوکسله تهیه شد. برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش درون تنی از عصاره هیدروالکلی که بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی را داشت، استفاده شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس، دی فنیل پیکریل هیدرازیل و فسفومولیبیدنیم، میزان فنل تام و فلاونوئیدها اندازه‌گیری شد. در مطالعه درون تنی از ۲۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار استفاده گردید که به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه شاهد که آب مقطر به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه‌های ۱، ۲ و ۳ عصاره هیدروالکلی بنه به ترتیب به میزان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره از طریق گاواژ به مدت ۲۸ روز دریافت نمودند. بعد از ۴ هفته درمان، خونگیری از قلب انجام شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم کاتالاز، فعالیت احیاکنندگی آهن و مالون دی‌آلدهید پلازما اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون آماری آنالیز یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: عصاره متانلی بنه دارای بیشترین مقدار فیتوکمیکال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. کاهش معنی‌داری در میانگین سطح سرمی مالون دی‌آلدهید و افزایش قابل ملاحظه‌ای در میانگین سطح سرمی آنزیم کاتالاز و توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن در گروه‌های دریافت کننده عصاره، نسبت به گروه شاهد دیده شد ( $p < 0/01$ ).

نتیجه‌گیری: عصاره‌های مختلف بنه بسته به نوع عصاره و نوع سیستم آزمایشی دارای درجات مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میوه بنه، کاتالاز سرم، مالون دی‌آلدهید سرم

\* نویسنده مسئول: دکتر علی میرزائی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

Email: mirzaee3a2003@yahoo.com



## مقدمه

میوه بنه در طب سنتی پتانسیل ضد میکروبی، ضدقارچی، ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد اختلالات گوارشی و ضد بیماری‌های گلو دارد. از دیگر خواص بنه می‌توان خاصیت ضد روماتیسمی، ضد التهابی و ضد سرطانی را نام برد. به علاوه در طب سنتی در درمان آگزما، اسهال، سنگ کلیه، درد معده، آسم و یرقان نیز از آن استفاده می‌شود. همچنین بنه، قباض، محرک و خلط‌آور می‌باشد(۸). کندر ایجاد شده به وسیله خانواده پسته در کشور ترکیه برای درمان عفونت‌های ادراری و تنفسی به کار می‌رود. فعالیت پسته لنتیس کوس برابر با آنتی‌اکسیدان سنتزی تورلکس(ویتامین ای) می‌باشد که باعث مهار پراکسیداسیون چربی‌ها در کبد موش می‌شود(۸). ترکیبات فیتوکمیکال موجود در بعضی از انواع پسته گالوتانین، فنل، فلاونوئید، ترپینوئید، روغن‌های ضروری و رزین‌ها می‌باشند که خواص آنتی‌اکسیدانی آنها به خاطر وجود این ترکیبات فیتوکمیکال گزارش شده است(۸-۱۱).

توان بالای خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد ترکیبات فیتوآنتی‌اکسیدانی غالباً بستگی به ساختارهایی مانند پیوندهای دوگانه کونژوگه و تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارد. بنا براین استفاده وسیع از انواع خانواده پسته از جمله بنه در طب سنتی می‌تواند به خاطر خواص فیتوکمیکالی و آنتی‌اکسیدانی آنها باشد(۸).

گیاهان دارویی نقش مهمی در سلامت افراد و جوامع بشری دارند. ارزش دارویی این گیاهان وابسته به ترکیبات شیمیایی موجود در آنها می‌باشد که باعث ایجاد اعمال فیزیولوژیکی خاص در بدن انسان می‌شوند. مهم‌ترین این مواد آلکالوئیدها، تانین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی می‌باشند(۱).

رادیکال‌های آزاد به طور مداوم به وسیله واکنش‌های طبیعی بدن در موجودات هوازی ایجاد می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پلاسما به تنهایی قادر به خنثی کردن این رادیکال‌ها نیست و به همین جهت بدن برای تأمین سلامتی خود نیاز به تأمین آنتی‌اکسیدان‌ها از منابع طبیعی مانند گیاهان دارد(۲). بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزی‌جات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌نمایند(۵).

نظر به این که گیاهان یکی از منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند که باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شوند(۶). لذا مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشاء گیاهی مورد استقبال قرار گرفته است. بنه با نام علمی *Pistacia Atlantica* از خانواده آنکاردیاسه می‌باشد. میوه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی می‌باشد(۷).

بنه آتلاتنیکا در درمان زخم معده و هم‌چنین دهان شویه به کار می‌رود (۱۲). از آنجایی که توانایی مهار آنزیم آمیلاز را دارد می‌تواند باعث کاهش قند خون شود (۱۳). اسیدهای چرب غیر اشباع مانند؛ اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسیدهای چرب اشباع مانند اسید پالمیتیک و اسید استئاریک مجموعاً در بنه آتلاتنیکا وجود دارند و به همین جهت روغن بنه دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد (۱۴). از آنجا که تمام قسمت‌های گیاه بنه از جمله؛ برگ، دانه، پوسته و کندر (صمغ) آن دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی می‌باشند، مورد توجه محققین قرار گرفته است (۱۵ و ۱۶).

هدف این مطالعه تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکی میوه بنه به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی بود.

### روش بررسی

در این مطالعه تجربی از میوه گیاه بنه استفاده شد. پس از جمع‌آوری، تشخیص و تأیید قطعی به وسیله متخصص گیاه‌شناس و خشک‌کردن آن در سایه، عصاره‌گیری به دو روش ماسراسیون (خیساندن) و دستگاه سوکسله انجام شد. برای عصاره‌گیری به روش ماسراسیون میوه گیاه به مدت ۲ روز در دمای آزمایشگاه در مجاورت آب مقطر قرار داده شد.

در روش سوکسله از حلال‌های آلی کلروفرم، دی اتیل اتر و متانل استفاده شد. بعد از اتمام عملیات

عصاره‌گیری به مدت ۶ ساعت، عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان در درجه حرارتی حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد، تغلیظ شدند و در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها به روش برون تنی و درون تنی نگهداری شدند.

مقادیر فنل و فلاونوئید عصاره‌های گیاهی به ترتیب به روش فولین سیکالتو و زیشن اندازه‌گیری شدند (۱۷ و ۱۸). میزان فنل تام با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میکروگرم اسید گالیک بر میلی‌گرم عصاره بیان گردید. با استفاده از منحنی استاندارد مقدار فلاونوئید بر حسب میکروگرم روتین به ازای میلی‌گرم عصاره محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش درون‌تنی از چهار آزمون استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس عصاره‌های گیاهی به روش ری و همکاران<sup>(۱)</sup> (۱۹۹۹)، دی فنیل پیکریل هیدرازیل به روش ون گادو و همکاران<sup>(۲)</sup> (۱۹۹۷)، برای تعیین فسفومولیبیدنیم از روش پری‌تو و همکاران<sup>(۳)</sup> (۱۹۹۹) استفاده شد (۲۱). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر میلی‌گرم وزن عصاره بیان گردید. به علاوه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای احیاء کنندگی با استفاده از آزمون توان احیاء کنندگی نمونه به روش یین و چن اندازه‌گیری شد (۲۲).

1-Re et al  
2-Von Gadow et al  
3-Prieto et al

به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه ۴ میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره الکی بنه را به مدت ۲۸ روز از طریق گاواژ دریافت نمودند.

بعد از ۴ هفته، حیوانات به مدت ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی و پس از بیهوش شدن به وسیله اتر، از قلب آنها خون‌گیری انجام شد و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. حداکثر تا ۱ ساعت بعد از خون‌گیری، به منظور تهیه پلاسما، نمونه‌های خون در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. تا زمان انجام آزمایش‌ها نمونه‌ها در میکروتیوپ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام پلاسمای حیوانات از آزمون‌های توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید استفاده شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش تجزیه آب اکسیژنه، مالون دی‌آلدئید روش تیوباربیتریک اسید با استفاده از روش رنگ سنجی و توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن از روش استری استفاده شد (۲۷-۲۵).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS<sup>(۱)</sup> و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه<sup>(۲)</sup> تجزیه و تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

میزان فنل در بین عصاره‌های مختلف معادل ۷۷-۱۳۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بود.

1-Statistical Package for Social Sciences  
2-One-Way ANOVA

پس از تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره های مختلف به روش برون تنی، عصاره‌ای که بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی را داشت، جهت مطالعه آنتی‌اکسیدانی به روش درون تنی انتخاب شد. ابتدا برای محاسبه میزان ۵۰ درصد دوز کشنده عصاره هیدروالکی LD<sub>50</sub> از روش استاندارد استفاده شد (۲۳). بر اساس میزان LD<sub>50</sub> عصاره هیدروالکی میوه بنه، مقدار عصاره مورد نیاز برای آزمایش‌های درون‌تنی مشخص شد (۲۴). در این مطالعه برای ارزیابی مصرف طولانی مدت (۴ هفته‌ای) عصاره بنه میزان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شد.

در این مطالعه از ۲۴ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم استفاده گردید که از دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شده و در لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی یاسوج نگهداری شدند. حیوانات در دوره آزمایش در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آب معمولی و غذا به اندازه کافی در دسترس آنها قرار گرفت.

پروتکل این تحقیق مطابق اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته‌های بین‌المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شد.

حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه ۱ یا شاهد که آب مقطر را از روز اول از طریق گاواژ به مقدار ۰/۵ میلی لیتر در کیلوگرم دریافت نمود. گروه ۲ عصاره هیدروالکی بنه به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه ۳ عصاره الکی بنه

شد. هرچند که بین گروه‌های تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۳).

تغییرات معنی‌داری در میانگین سطح سرمی آنزیم کاتالاز و توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن در تمام گروه‌ها، نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده شد ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۳ و ۴).

با افزایش غلظت عصاره بنه میزان مالون دی‌آلدئید کاهش یافت و این کاهش میزان مالون دی‌آلدئید وابسته به دوز بود. بنابراین ارتباط معکوسی بین میزان مالون دی‌آلدئید و غلظت عصاره بنه وجود داشت. اختلاف معنی‌داری بین تمام گروه‌های درمانی با کنترل دیده شد ( $p < 0.05$ ). اگرچه گروه‌های درمانی ۱ و ۲ با هم اختلافی نداشتند. بر عکس در آزمون توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن افزایش غلظت عصاره بنه باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن شد که این افزایش در مقایسه با کنترل معنی‌دار بود. همچنین تغییرات دیده شده در بین گروه‌های درمانی در دوزهای مختلف معنی‌دار بود ( $p < 0.001$ ).

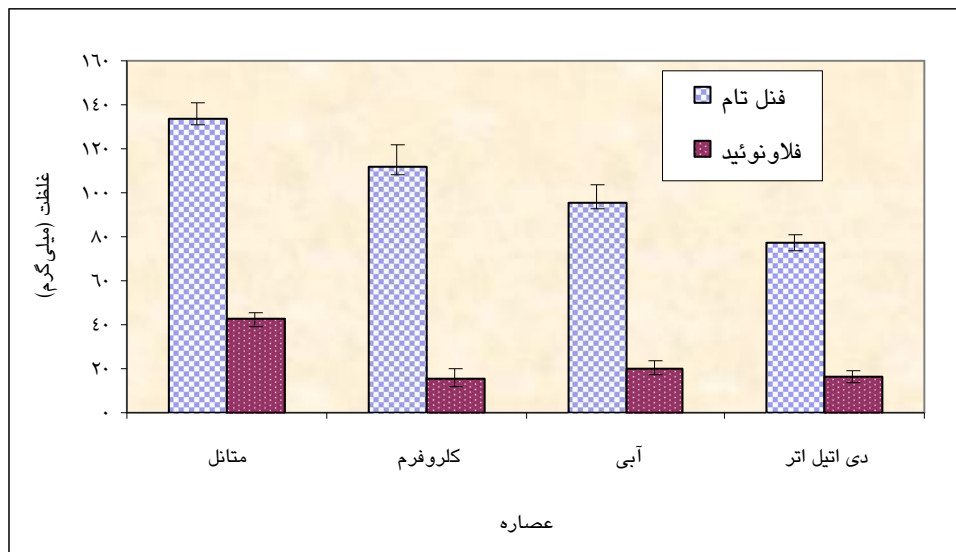
در آزمون کاتالاز سرم با افزایش میزان عصاره افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم دیده شد. رابطه مستقیمی بین غلظت عصاره و میزان فعالیت آنزیم دیده نشد. رابطه خطی معکوس و معنی‌داری بین میزان مالون دی‌آلدئید و توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن وجود داشت، بدین صورت که با افزایش غلظت عصاره هیدروالکی بنه میزان مالون دی‌آلدئید کاهش و مقدار توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن افزایش یافت.

عصاره متانلی دارای بیشترین و عصاره دی‌اتیل اتر دارای کمترین مقدار بود. اختلاف معنی‌داری بین میزان فنل در عصاره متانلی و دی‌اتیل اتر وجود داشت. عصاره دی‌اتیل اتر در تمام آزمایش‌های انجام شده به استثنای آزمایش فلاوونوئیدها دارای کمترین مقدار بود (نمودار ۱).

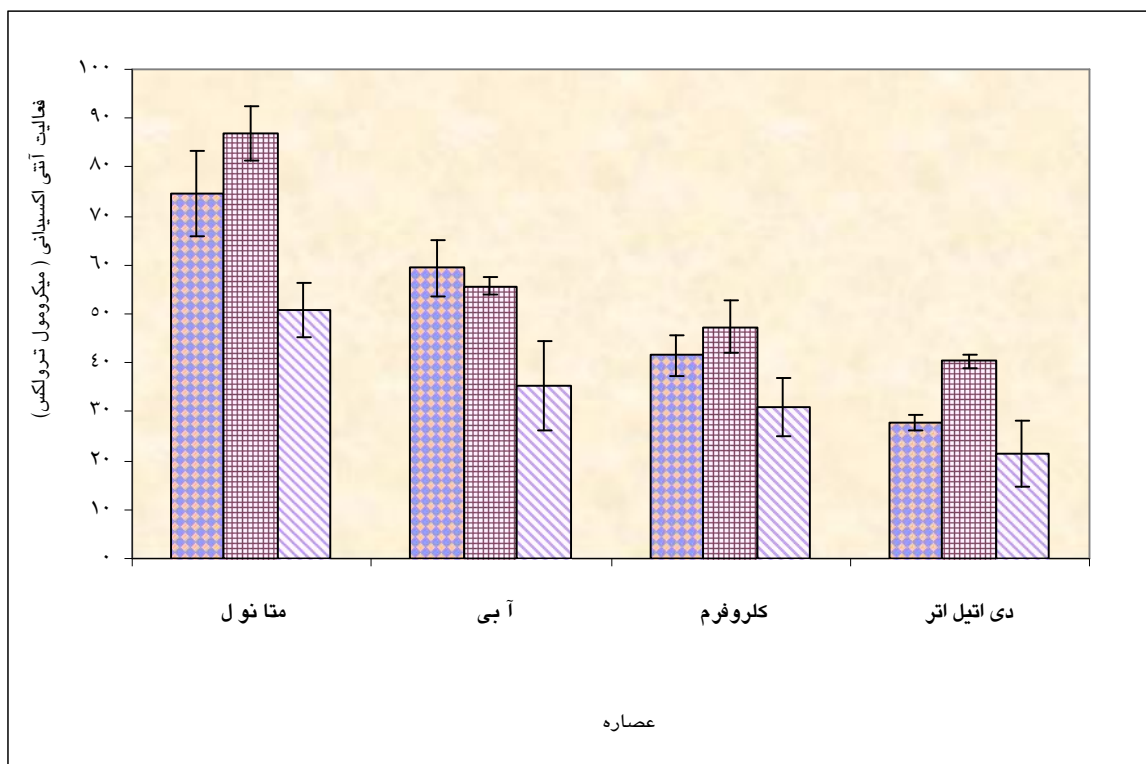
بیشترین میزان فلاوونوئید در عصاره متانلی و کمترین میزان آن در عصاره کلروفرمی دیده شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آزمایش‌های برون‌تنی به ترتیب در عصاره متانلی، آبی، کلروفرم و دی‌اتیل اتر دیده شد (نمودار ۲). از آنجایی که عصاره متانلی بنه دارای بیشترین مقدار فیتوکمیکال و خواص آنتی‌اکسیدانی در تمام آزمایش‌های انجام شده بود، لذا برای بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی به روش درون تنی مورد استفاده قرار گرفت.

در آزمایش تعیین ۵۰ درصد دوز کشنده عصاره متانلی، در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم هیچ‌گونه مرگ و میر و عوارض مسمومیت تا ۱۴ روز پس از تجویز دیده نشد. پس میزان ۵۰ درصد دوز کشنده عصاره متانلی به روش دهانی در موش‌های نر نژاد ویستار بیشتر از ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن گزارش شد.

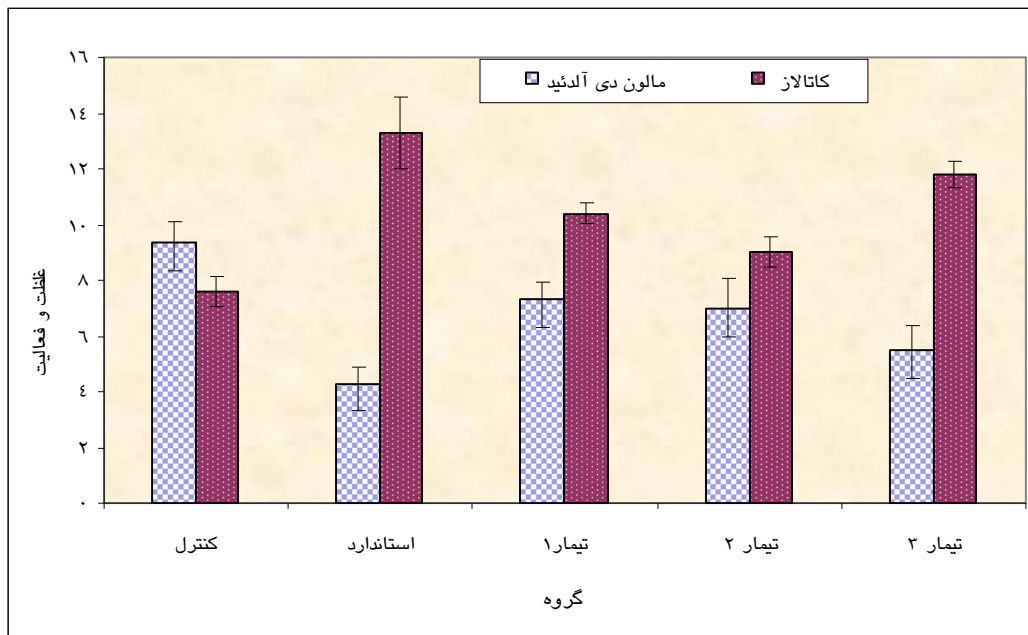
میانگین سطح سرمی مالون دی‌آلدئید در گروه دریافت‌کننده عصاره بنه در غلظت‌های مختلف، نسبت به گروه کنترل منفی تغییرات معنی‌داری دیده



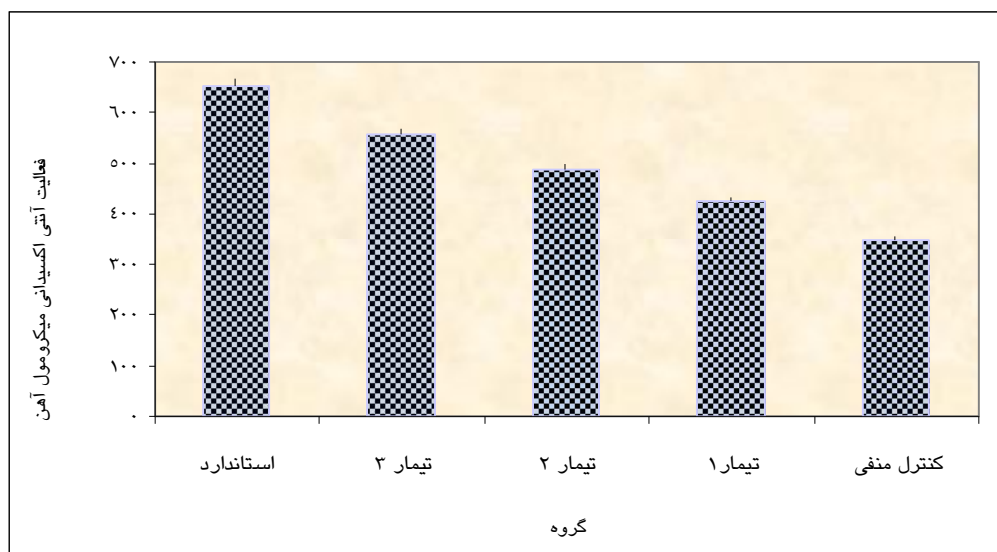
نمودار ۱: مقایسه میزان فنل تام (میلی گرم اسید گالیک) و فلاونوئید تام (میلی گرم روتین) میوه بنه در عصاره های مختلف در گرم عصاره



نمودار ۲: مقایسه فعالیت برون تنی آنتی اکسیدانی آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و فسفومولیدینم میوه بنه بر حسب میکرومول ترولکس در گرم عصاره



نمودار ۳: فعالیت درون تنی آنتی‌اکسیدانی آزمون های کاتالاز و مالون دی آلدئید در پلاسماهای گروه های مختلف رت نر نژاد ویستار دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بنه



نمودار ۴: مقایسه فعالیت درون تنی آنتی‌اکسیدانی آزمون توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن (میکرومول سولفات آهن در پلاسما) در گروه‌های مختلف رت های نر نژاد ویستار دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بنه

## بحث

ترکیبات فنلی محلول در آب بوده و می‌توانند در متانل هم حل شوند و از آن جا که متانل به عنوان بهترین حلال برای استخراج غالب ترکیبات قطبی و غیرقطبی می‌باشد، می‌توان گفت که به همین جهت عصاره

برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان به خصوص گونه‌ای که دارای بیشترین ترکیبات فنلی است توصیه می‌شود (۱).



در این مطالعه در تمام روش‌های اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانل بیشتر از عصاره آبی، کلروفرم و دی‌اتیل اتر بود. نتایج حاصله از روش دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل قابل مقایسه و مشابه آزمون پتانسیل آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس می‌باشد. خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی بنه با این سیستم می‌تواند ناشی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی باشد. بر اساس یافته‌های این پژوهش مصرف روغن بنه می‌تواند باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش تخریب‌های ایجاد شده ناشی از رایکال‌های آزاد شود. در این مطالعه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش مالون دی‌آلدئید در موش‌های صحرایی مصرف کننده بنه دیده شد. در مطالعه دیگری مصرف روغن بنه باعث پاک‌سازی رادیکال پراکسید هیدروژن و رادیکال دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل گردید (۸).

کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که باعث تبدیل سریع رادیکال سوپراکسید به آب می‌شود. کاتالاز به کمک آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز باعث حفاظت از بافت‌ها از طریق کاهش رادیکال سوپراکسید می‌شود. در این تحقیق تجویز عصاره بنه باعث افزایش فعالیت کاتالاز شد. با مصرف روغن بنه می‌توان قدرت دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن را در مقابل رادیکال‌ها بالا برد (۳۲).

در مطالعه حاضر تجویز عصاره بنه باعث افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن پلاسما شد. در یک مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره بنه با استفاده از آزمون

متانلی دارای بیشترین مقدار فنل تام است (۲۸). هدف این مطالعه تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکی میوه بنه به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی بود.

بر اساس گزارش بعضی از محققان و نتایج این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین آزمایش فنل تام با آزمایش‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی مانند فسفومولیدات، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس و دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل وجود داشت (۲۹).

ترکیبات فنلی با وزن ملکولی بالا توانایی زیادی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابه‌جا شونده هیدروکسیل می‌باشد. با توجه به نتایج این تحقیق احتمالاً عصاره متانلی دارای ترکیبات فنلی با وزن ملکولی زیاد می‌باشد که در تمام روش‌های مورد آزمایش دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (۳۰).

در مطالعه حاضر میزان فنل در بین عصاره‌های مختلف معادل ۱۳۴-۷۷ میلی‌گرم اسید گالیک بود که در عصاره متانلی دارای بیشترین عصاره دی‌اتیل اتر کمترین مقدار بود. نتایج این تحقیق مشابه نتایج حاصل از مطالعه جوکی و همکاران (۲۰۰۱) بود که میزان عصاره متانلی دارای بیشترین مقدار فنل تام و برابر با ۱۶۱/۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بود (۳۱).

گیاهی، تغییرات آب و هوایی و زمان برداشت نمونه‌های مورد مطالعه می‌توانند باعث ایجاد اشکال شوند. این مشکل با به کارگیری استانداردهای واحد با استفاده از عصاره‌گیری مشخص با روش کار استاندارد و به کار بردن پروتکل مشابه برطرف خواهد شد.

### تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دهدشت به دلیل حمایت مالی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و بخش بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به دلیل تأمین امکانات این تحقیق قدردانی می‌شود.

پاکسازی آنیون سوپر اکسید به طور متوسط گزارش گردید، هرچند که در مطالعه ذکر شده عصاره بنه دارای خواص احیاء کنندگی بسیار بالایی بود که موافق با نتایج این تحقیق بود (۳۳).

ترکیباتی که خواص آنتی‌اکسیدانی و یا قدرت احیاء کنندگی داشته باشند، می‌توانند باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن پلاسما شوند. بنابراین ترکیباتی که دارای فنل تام بالایی باشند، به خاطر خاصیت احیاء کنندگی بالایی که دارند، قادرند باعث افزایش فعالیت توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن شوند که در مطالعه حاضر دیده شد.

### نتیجه‌گیری

عصاره‌های مختلف بنه بسته به نوع عصاره و نوع سیستم آزمایشی دارای درجات مختلفی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند. در روش برون تنی با تجویز عصاره فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن افزایش و میزان مالون دی‌آلدئید کاهش یافت. علت افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی شاید ناشی از ترکیبات فیتوکمیکال مانند فنل تام و فلاونوئیدها باشد که برای بهتر فهمیدن مکانیسم باید عصاره‌ها به کمک کروماتوگرافی به اجزای مختلف تقسیم شده و سپس آزمایش‌های آنتی‌اکسیدانی بر روی اجزای منفک شده انجام شود.

عدم استفاده از یک نوع استاندارد برای مقایسه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در روش‌های مختلف، تهیه عصاره به شیوه‌های مختلف، تنوع

## REFERENCES:

1. Padulosi S, Hadj-Hassan A. Towards a comprehensive documentation of distribution and use of Pistacia: genetic diversity in central and west asia, north africa and mediterranean europe. Report of the IPGRI Workshop 1998; 4: 25-30 .
2. Young IS, Woodside J. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol 2001; 54: 176-86.
3. Gao JJ, Igalashi K, Nukina M. Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in *Caryopteris incana*. Biosci Biotechnol Biochem 1999; 63: 983-8.
4. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. Food Chem Toxicol 1999; 37: 1027-38.
5. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. J Sci Food Agric 1999; 54: 495-511.
6. Prior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables Diet and health implications. Hort Sci 2000; 35: 588-92.
7. Daneshrad A, Aynechi Y. Chemical studies of the oil from pistacia nuts growing wild in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society 1980; 57: 248-9.
8. Aysegul P. Antioxidative properties of decoction of pistacia atlantica desf. Leaves. Asian Journal of Chemistry 2008; 20(1): 681-93.
9. Taran M, Sharifi M, Azizi E, Khanahmadi M. Antimicrobial activity of the leaves of *pistacia khinjuk*. Journal of Medicinal Plants 2010; 9: 81-5.
10. Nabila B, Fawzia AB, Tatjana KP. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *PA* extracts. African J Pharmacy and Pharmacol 2008; 2: 22-8.
11. Parola M, Leonarduzzi G, Biasi F, Albano M, Biocca E, Polic G, et al. Vitamin E dietary supplementation protects against CCl<sub>4</sub> induced chronic liver damage and cirrhosis. Hepatology 1992; 16: 1014-21.
12. Delazar A, Reid RG, Sarker SD. GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *Mutica* Chem Nat Compd 2004; 40(1): 24-7.
13. Hamdan II, Affif U. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. J Ethnopharmacol 2004; 93: 117-21.
14. Yousfi M, Nadjemi B, Bellal R, Ben Bertal D, Palla G. Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. JAOCS 2002; 79(10): 1049-50.
15. Hosseinzadeh H, Behravan E, Soleimani MM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *pistacia vera* leaf extract in mice. *Iranian J Pharm Res* 2011; 10: 821-5.
16. Souri E, Amin G, Dehmobed-Sharifabadi A, Nazifi A, Farsam H. Antioxidative activity of sixty plants from Iran. *Iranian J Pharm Res* 2004; 3: 55-9.
17. McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry 2001; 73: 73-84.
18. Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J Agri Food Chem 1992; 40: 945-8.
19. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology 1999; 26: 1231-7.
20. Von gadow A, Joubert E, Hansmann C. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathos linearis*),  $\alpha$ -tocopherol, BHT and BHA. J Agric and Food Chem 1997; 45: 632-8.
21. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex vitamin E. Anal Biochem 1999; 269: 337-41.
22. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jap J Nut 1986; 44: 307-31.
23. Turner R. Quantal responses and Calculation of LD<sub>50</sub>. In: Turner R, Hebborn P. Screening Methods in Pharmacology. 2<sup>ed</sup>. New York: Academic Press; 1965; 61-3.
24. Nitinkumar U, Roshan P, Naheed W, Naveen KM. Anti-inflammatory potential of alcoholic extract of *Indigofera oblongifolia* Forsk. International J Res in PharmaceSci 2011; 2(1): 23-5.
25. Read SM, Northcole DH. Minimization of variation in the response to different protein of the Coomassie blue G dye-binding assay for protein. Anal Biochem 1981; 116: 53-64.

26. Buege JA, Aust SD. Lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 51: 324–437.
27. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. *The FRAP Assay Analy Biochem* 1996; 239: 70–6.
28. Harborne JB. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 3<sup>ed</sup> ed. London: Thomson science; 1998; 5-8.
29. Gheldof N, Engeseth NJ. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 30-50.
30. Lagouri V, Boskou D. Nutrient antioxidants in oregano. *Int J Food Sci Nutr* 1996; 47: 493-7.
31. Jouki M, Khazaei N. Compare of extraction of phenolic compounds from *Pistacia atlantica* in different solvents. *Advances in Biome Res* 2001; 6; 361-5.
32. Otitoju O, Onwurah NE. Effects of Rambo insect powder on glutathione-S-transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) activity in rats. *Bio Resourc* 2006; 4: 51-8.
33. Benhammou N, Fawzia AB, Tatjana K P. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2008; 2(2): 022-8.

# In vivo and in Vitro Antioxidant Activity of Hydro-Alcoholic Extract of *Pistacia Atlantica*

Bahrebar M<sup>1</sup>, Mirzaei A<sup>2\*</sup>, Mantegheyan E<sup>3</sup>, Bahrebar A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Islamic Azad University, Dehdasht Branch, Dehdasht, Iran, <sup>2</sup>Medicinal Plant Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran, <sup>3</sup>Department of Biology, Yasuj University, Yasuj, Iran

Received: 15 Jun 2012

Accepted: 15 Aug 2012

## Abstract

**Background & aim:** The genus *Pistacia* belonging to the *Anacardiaceae* family which consists of 15 species only three species of which, namely *Pistacia vera*, *Pistacia Atlantica*, and *Pistacia Khinjuk* grow in Iran. The aim of present study was to investigate the antioxidant activity of *Pistacia Atlantica* fruit hydroalcoholic extract in Yasuj.

**Methods:** In the present experimental study, the extract was carried out with two, maceration and Soxhlet methods. For in vitro antioxidant assay, (trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) phosphomolybdenum (PMB) was conducted. For determination of antioxidant components, total phenolic and flavonoids contents were analyzed in in vitro assay. To evaluate the antioxidant activity by *In Vivo* method, the hydro alcoholic extract, having the most antioxidant activity, was used. 24 Wistar rats with the weight 250-300 g were examined that were randomly divided into 4 groups of 6. Group 1 (control group) used distilled water by oral route with amount of 0.5 ml/kg. Groups 2, 3, and 4 used 100, 200, and 400 mg/kg of *Pistacia Atlantica* hydro alcoholic extract by gavages, respectively. After 4 weeks of treatment, blood samples were collected by heart puncture. Catalase enzyme activity, Mallon dialdehyde and Ferric reducing antioxidant power were measured in rats' plasma. ANOVA was used for data analysis.

**Results:** Methanol extract of *Pistacia Atlantica* contained the maximum amount of phytochemical and antioxidant activities. A significant decrease was observed in serum malondialdehyde (MDA) of the treatment group compared to the control group (P<001). There was a significant increase in level of Catalase and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of treatment groups compared to the control group (P<001).

**Conclusion:** *Pistacia Atlantica* extracts depending on type and system of extraction contains different antioxidant potential.

**Key words:** Antioxidant Activity, *Pistacia Atlantica*, Catalase, MDA, lipid Peroxidation

---

**Corresponding Author:** Mirzaei A, Medicinal Plant Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran

**Email:** mirzaee3a2003@yahoo.com