

## فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدرومتانولی گیاه کارده (*Biarum carduchrum*) در شرایط آزمایشگاهی و تاثیر آن بر لیپیدهای سرم موش‌های صحرایی

ابراهیم حسینی<sup>1</sup>، عصمت روستا<sup>2</sup>، فروغ السادات طبیب لقمانی<sup>3</sup>، محمد باقر محمود پور<sup>4</sup>

1- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ایران پست الکترونیکی: hoss\_ebrahim@yahoo.com

2- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

3- کارشناس آزمایشگاه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ایران

4- کارشناس سابق آزمایشگاه خانه حیوانات، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ایران

تاریخ دریافت: 92/12/2

تاریخ پذیرش: 93/3/28

### چکیده

**سابقه و هدف:** عصاره‌های گیاهی به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش دهنده چربی خون بسیار مورد توجه هستند. در این مطالعه، اثرات عصاره آبی متانولی گیاه کارده (*Biarum carduchrum*) در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش در دو مرحله انجام شد. ابتدا فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کارده از طریق سه آزمون: مهار رادیکال آزاد 2و2-دی فنیل 1-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، گیرندگی فلزات و قدرت احیاءکنندگی تعیین و با اسید اسکوربیک، آلفا توکوفرول، BHT و EDTA مقایسه شد. سپس پژوهش به مدت 21 روز با پنج گروه شش تایی موش صحرایی ادامه یافت. گروه اول و دوم موش‌های صحرایی به ترتیب از رژیم غذایی معمولی (کنترل) و رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند. سه گروه دیگر موش‌ها که رژیم غذایی پرچرب مصرف کرده بودند، روزانه در یک نوبت از طریق دهان 200، 400 و یا 600 میلی گرم عصاره به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. قبل از بررسی و در پایان هر هفته میزان تری گلیسرید (TG)، کلسترول کل (TC)، LDL-C و HDL-C سرم و همچنین وزن موش‌ها تعیین شد.

**یافته‌ها:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متناسب با غلظت افزایش یافت. عصاره کارده در مهار DPPH و قدرت احیاءکنندگی به ترتیب بهتر از BHT و آلفا توکوفرول بود ( $p \leq 0/05$ ). همچنین عصاره گیاه باعث کاهش معنی دار TC، TG و LDL-C ( $p$  به ترتیب صفر، 0/12 و 0/045) و افزایش معنی دار HDL-C سرم گردید ( $p=0/006$ ).

**نتیجه گیری:** عصاره کارده در مقایسه با BHT و آلفا توکوفرول، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً خوبی دارد و سطح چربی‌های افزایش یافته سرم ناشی از رژیم غذایی پرچرب را اصلاح می‌کند.

**واژگان کلیدی:** عصاره کارده، موش صحرایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پروفایل چربی، رژیم غذایی پرچرب

### • مقدمه

دفاعی مختلفی برای مقابله با این رادیکال‌ها دارند. در صورت کافی نبودن دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، تنش‌های اکسایشی حاصل شده و بیماری‌های عصبی، قلبی-عروقی و سرطان بروز می‌کنند (2). رژیم‌های غذایی حاوی مواد آنتی‌اکسیدان، نظیر سبزی‌ها و میوه‌ها، مهم‌ترین حفاظت در برابر این تنش‌ها بوده و از پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک محافظت می‌کنند (3).

گیاهان منبع ارزشمندی از ترکیبات فنلی هستند. این ترکیبات نقش مهمی در خصوصیات حسی و تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزیجات داشته و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود، سلول‌ها را در مقابل تنش‌های اکسایشی محافظت می‌کنند (1). در سلول‌های جانوری ظرفیت تولید آنتی‌اکسیدان بسیار محدود است، در حالی که در متابولیسم هوازی سلول، رادیکال‌های آزاد به طور دائم تولید می‌شوند. موجودات زنده مکانیسم‌های

گزارش شد. به طور خلاصه 0/5 میلی لیتر محلول عصاره (قبل از تغلیظ و خشک شدن) با 2/5 میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو 10 برابر رقیق شده با آب مقطر و 2 میلی لیتر محلول کربنات سدیم 7/5% به خوبی مخلوط شد. لوله آزمایش حاوی نمونه به مدت 15 دقیقه در حمام آب گرم 45 قرار گرفت و در ادامه جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 760 نانومتر خوانده شد. از محلول متانول 80% همراه با واکنشگرهای غیر از نمونه نیز به عنوان کنترل استفاده شد (10).

**ارزیابی فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH:** در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، توانایی به دام انداختن این رادیکال توسط غلظت‌های 150-50 ppm از ترکیبات فنلی عصاره تعیین و با اسید آسکوربیک، آلفا توکوفرول و BHT در غلظت مشابه مقایسه شد. برای این منظور درون لوله آزمایش، غلظت‌های مختلف از ترکیبات فنلی عصاره یا هر یک از ترکیبات آنتی اکسیدان، با 5 میلی لیتر محلول متانولی DPPH (0/1 mM) به طور کامل هم زده شد و پس از 20 دقیقه نگهداری در 25°C، میزان جذب آن در طول موج 517 نانومتر تعیین شد. برای نمونه کنترل، از محلول 80% متانول به جای عصاره استفاده شد. درصد مهار رادیکال DPPH توسط عصاره و ترکیبات، از رابطه:  $\frac{A_{c-As}}{A_c} \times 100$  محاسبه شد. در این فرمول  $A_c$  و  $A_s$  به ترتیب میزان جذب کنترل و جذب نمونه بودند (11).

**ارزیابی قدرت احیاء کنندگی:** برای تعیین میزان احیاء کنندگی عصاره گیاه از روش اویایزو (1986) استفاده شد (12). برای انجام آزمایش، 0/5 میلی لیتر عصاره ی حاوی غلظت‌های مختلف 150-50 ppm از ترکیبات فنلی گیاه با 0/5 میلی لیتر بافر فسفات (pH= 6/6 و 2 مولار) و 0/5 میلی لیتر پتاسیم فری سیانید مخلوط و به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 50°C قرار داده شد. پس از افزودن 2/5 میلی لیتر محلول 10% تری کلرو استیک اسید، نمونه‌ها به مدت 10 دقیقه با سرعت 1500 xg سانتریفوژ شدند. از محلول بالای لوله آزمایش، 2 میلی لیتر برداشته و پس از افزودن یک میلی لیتر آب مقطر و 0/2 میلی لیتر محلول 0/1% کلرید فریک، جذب نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر اندازه گیری شد. برای مقایسه از آلفا توکوفرول، اسید اسکوربیک و BHT استفاده شد. همچنین محلول 80 درصد متانول نیز به عنوان کنترل استفاده شد.

اکسایش لیپیدها در طول نگهداری غذا، از مهم ترین علل فساد غذاهای حاوی چربی و روغن می باشد که برای جلوگیری از آنها به طور گسترده‌ای از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی استفاده می شود (4). آنتی اکسیدان‌های مصنوعی در درجه حرارت‌های بالا تجزیه شده و به دلیل جذب و تجمع در بافت، برای انسان سمی و خطرناک هستند (5). تاکنون تحقیقات زیادی برای جایگزین نمودن آنها با آنتی اکسیدان‌های طبیعی صورت گرفته است. در این رابطه بسیاری از ادویه ها، اسانس ها و عصاره های گیاهی به طور موثری در تأخیر انداختن اکسیداسیون مفید می باشند (6).

کارده Schott (*Biarum carduchorum*) از گیاهان تیره گل شیپوری (Areaceae) است که به دلیل ویژگی برندگی زبان در زمان خوردن برگ‌های تازه آن به این نام معروف شده است. این گیاه به صورت وحشی در دامنه رشته کوه‌های زاگرس واقع در استان‌های فارس و کهگیلویه و بویر احمد می‌روید و در برخی مناطق ترکیه، سوریه و عراق نیز انتشار دارد (7، 8). در جنوب و جنوب غرب ایران و در شهرهای شیراز، کازرون و یاسوج از این گیاه یک نوع غذای تخمیری به نام آش کارده تهیه می‌شود. افراد محلی خواص مختلفی نظیر کاهش چربی و فشار خون به این غذا نسبت می‌دهند. تاکنون هیچ پژوهشی در رابطه با خصوصیات این گیاه انجام نشده است. در این مطالعه ابتدا محتوای فنلی و خواص آنتی اکسیدانی عصاره آبی متانولی کارده در شرایط آزمایشگاهی و سپس اثر آن بر لیپیدهای سرم خون موش‌های صحرایی نر بررسی گردید.

## • مواد و روش‌ها

**آماده سازی عصاره گیری:** گیاه کارده از بازار محلی در کازرون خریداری و پس از شستشوی برگ ها، در آون تحت خلاء 40°C خشک شد. برای عصاره گیری، گیاه خشک شده آسیاب و از الک با مش 40 عبور داده شد. سپس گیاه پودر شده به نسبت 50 : 50 با محلول آبی 80% متانول مخلوط و با ورتکس به شدت هم زده شد. مخلوط حاصل به مدت 10 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ و محلول بالای رسوبات آن جدا گردید. در ادامه عصاره به کمک تبخیرکننده چرخان تحت خلاء در دمای 40°C تغلیظ و در نهایت در آون تحت خلاء با همین دما خشک شد (9).

**اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی:** میزان کل ترکیبات فنلی گیاه با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری و بر اساس میلی گرم اسید تانیک در گرم ماده خشک عصاره

روش اسپکتروفتومتری تعیین شد (15). در تمام مراحل ملاحظات اخلاقی در مورد حیوانات رعایت گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** طرح آزمایش در مرحله بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی عصاره، در قالب طرح کاملاً تصادفی فاکتوریل بود که با سه تکرار انجام شد. اطلاعات این مرحله با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شد ( $P \leq 0/05$ ).

برای مقایسه میانگین وزن و سطح لیپیدهای سرم موش‌های صحرایی در شروع و پایان بررسی از مقایسه T زوجی و برای مقایسه نتایج گروه‌های مختلف موش‌ها در مرحله تیمار دهی از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن استفاده شد ( $P \leq 0/05$ ). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS 18 و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

### • یافته‌ها

**بازده عصاره گیری و میزان ترکیبات فنلی:** بازده عصاره گیری با محلول آبی متانول، 17/47% بود. این عصاره در آون تحت خلاء  $40^\circ\text{C}$  خشک گردید که حاصل آن، 175 میلی گرم ماده خشک از یک گرم گیاه خشک بود.

میزان کل ترکیبات فنلی حاصل از عصاره گیاه کارده با روش فولین سیوکالتو، معادل  $0/16 \pm 1/23$  میلی گرم اسیدتانیک در گرم وزن خشک گیاه بود. این مقدار بر اساس معادله خط منحنی استاندارد اسیدتانیک یعنی  $Y = 0/0048X + 0/0339$  به دست آمد که در آن X مقدار جذب و Y مقدار ترکیبات فنلی گیاه برحسب اکسی والان اسیدتانیک است.

**بررسی میزان مهار رادیکال آزاد DPPH:** با افزایش غلظت ترکیبات فنلی عصاره، اسید اسکوربیک، آلفا توکوفرول و BHT، فعالیت آنتی اکسیدانی مهار رادیکال DPPH به طور معنی داری در سطح  $P \leq 0/05$  افزایش یافت (جدول 1). از این لحاظ نمونه‌های حاوی اسید اسکوربیک به ترتیب در غلظت‌های 150، 100 و 50 و آلفا توکوفرول و عصاره در غلظت‌های 150 ppm بیشترین فعالیت را داشتند و پس از آنها آلفا توکوفرول و عصاره با غلظت‌های 100 و 50 قسمت در میلیون و BHT به ترتیب در غلظت‌های 150، 100 و 50 قرار داشتند.

**ارزیابی توانایی گیرندگی فلزات:** در این آزمایش 50 میکروگرم عصاره خشک گیاه با 100 میکرولیتر محلول کلرید فرو 2 میلی مولار و 900 میکرولیتر متانول مخلوط و به مدت 5 دقیقه گرمخانه گذاری شد. در ادامه پس از افزودن 400 میکرولیتر محلول 5 mM فروزین و 10 دقیقه دیگر گرمخانه گذاری، جذب نمونه‌ها در 526 نانومتر خوانده شد. برای مقایسه از EDTA و ویتامین C استفاده شد (13).

**حیوانات مورد بررسی و روش کار:** در این پژوهش از 30 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 230-250 گرم و سن تقریبی 3-2/5 ماه استفاده شد. موش‌ها از خانه پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد کازرون تهیه شدند و به مدت 21 روز در شرایط مطلوب از نظر آب و غذا، دما و نور تحت آزمایش قرار گرفتند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا (معمولی یا پرچرب) داشته و روزانه به طور متوسط  $24 \pm 13$  گرم غذا مصرف کردند. در طول شبانه روز نیز درجه حرارت محیط  $22 \pm 3^\circ\text{C}$  و چرخه روشنایی و تاریکی 12 ساعت برقرار بود.

حیوانات به طور تصادفی به 5 گروه شش تایی تقسیم شدند. در گروه اول (کنترل)، موش‌های صحرایی از آب و غذای معمولی تغذیه کرده و هیچ عصاره ای دریافت نکردند. غذای معمولی، غذای فشرده موش بود که از شرکت خوراک دام پارس تهیه گردید. در گروه دوم، موش‌های صحرایی از غذای پرچرب استفاده کردند. غذای پرچرب شامل غذای فشرده موش همراه با 15 درصد چربی اطراف روده گاو بود. گروه‌های سوم، چهارم و پنجم موش‌های صحرایی نیز از غذای پرچرب استفاده کرده و روزانه از طریق سرنگ به ترتیب مقدار 200، 400 و 600 میلی گرم بر کیلوگرم وزن خود عصاره دریافت کردند (14).

**اندازه گیری تغییرات وزن و شاخص‌های چربی سرم:** وزن موش‌ها و میزان تری گلیسرید (TG)، کلسترول کل (TC)، HDL-C و LDL-C آنها در شروع و پایان هفته‌های اول، دوم و سوم مطالعه اندازه گیری شدند. برای بررسی وضعیت لیپیدهای سرم موش، خون گیری بین ساعت‌های 8-10 صبح و از ناحیه دم موش‌های ناشتا انجام گرفت. نمونه‌های خون موش‌ها به مدت 15 دقیقه با سرعت  $\times g$  1500 سانتریفوژ و میزان TG، TC و HDL-C با کیت‌های آزمایش شرکت من و LDL-C با کیت شرکت ارم طب به

**جدول 1.** توان آنتی اکسیدانی عصاره کارده در مقایسه با اسید اسکوربیک، آلفا توکوفرول و BHT

| EDTA                    | BHT                      | آلفا توکوفرول            | اسید اسکوربیک            | عصاره کارده              | غلظت (ppm) | نوع فعالیت آنتی اکسیدانی   |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------|----------------------------|
|                         | 1/93±0/38 <sup>j</sup>   | 25/11±0/38 <sup>g</sup>  | 62/62±0/55 <sup>c</sup>  | 24/75±0/24 <sup>g</sup>  | 50         | مهار رادیکال آزاد DPPH (%) |
|                         | 6/64±0/17 <sup>i</sup>   | 33/90±0/33 <sup>f</sup>  | 70/50±0/71 <sup>b</sup>  | 33/08±0/48 <sup>f</sup>  | 100        |                            |
|                         | 9/97±0/23 <sup>h</sup>   | 52/16±0/45 <sup>d</sup>  | 85/22±0/26 <sup>a</sup>  | 45/92±0/86 <sup>e</sup>  | 150        |                            |
|                         | 0/187±0/005 <sup>f</sup> | 0/020±0/003 <sup>j</sup> | 0/235±0/005 <sup>e</sup> | 0/091±0/042 <sup>g</sup> | 50         | قدرت احیاء کنندگی          |
|                         | 0/343±0/004 <sup>d</sup> | 0/034±0/001 <sup>i</sup> | 0/490±0/008 <sup>b</sup> | 0/185±0/004 <sup>f</sup> | 100        |                            |
|                         | 0/468±0/004 <sup>c</sup> | 0/051±0/008 <sup>h</sup> | 0/688±0/006 <sup>a</sup> | 0/348±0/009 <sup>d</sup> | 150        |                            |
| 81/51±0/24 <sup>c</sup> |                          |                          | 21/67±0/63 <sup>h</sup>  | 66/19±1/48 <sup>e</sup>  | 50         | گیرندگی فلزات (%)          |
| 84/62±0/48 <sup>b</sup> |                          |                          | 31/91±0/65 <sup>g</sup>  | 67/61±0/82 <sup>de</sup> | 100        |                            |
| 89/00±1/41 <sup>a</sup> |                          |                          | 43/78±0/32 <sup>f</sup>  | 68/95±0/07 <sup>d</sup>  | 150        |                            |

\*حروف غیر یکسان برای هر نوع فعالیت آنتی اکسیدانی نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح 5% است.

به مقدار عصاره است. همچنین فعالیت گیرندگی فلزات آن در غلظت‌های مشابه به طور معنی داری کمتر از EDTA و بیشتر از اسید اسکوربیک بود ( $P \leq 0/05$ ).

**بررسی وزن و سطح لیپیدهای سرم موش:** موش‌های صحرایی در شروع آزمایش از نظر وزنی تفاوت معنی داری نداشتند، اما در طول سه هفته تغذیه با غذای معمولی و یا پرچرب وزن آنها به طور معنی داری افزایش یافت (جدول 2). در این مدت سطح لیپیدهای سرم نیز مشابه وزن موش‌ها افزایش یافت که این افزایش نشانه اثر معنی دار رژیم غذایی بر این شاخص‌ها در سطح  $P \leq 0/05$  بود (جدول 3). مقدار P این جدول نشان می‌دهد که تغذیه موش‌ها با رژیم‌های غذایی معمولی و یا پرچرب، وزن و TC را با شدت بیشتری ( $p=0/0001$ ) در مقایسه با HDL-C، TG و LDL-C افزایش داد (p به ترتیب 0/006، 0/012 و 0/045).

**بررسی قدرت احیاء کنندگی:** از لحاظ میزان احیاء کنندگی آهن و افزایش جذب نمونه در طول موج 700nm، نمونه‌های حاوی اسید اسکوربیک به ترتیب در غلظت‌های 150 و 100 BHT و عصاره کارده در غلظت 150 ppm بیشترین فعالیت احیاء کنندگی را داشتند (جدول 1). از این نظر نمونه‌های حاوی عصاره در غلظت‌های 100 و 150 قسمت در میلیون، تفاوت آماری معنی داری با BHT در غلظت‌های 50 و 100 قسمت در میلیون نداشتند و فعالیت احیاء کنندگی عصاره کارده در غلظت 150 ppm به طور معنی داری از اسید اسکوربیک با غلظت 50 ppm بیشتر بود. در بین این ترکیبات، آلفا توکوفرول کمترین فعالیت احیاء کنندگی را داشت ( $P \leq 0/05$ ).

**بررسی قدرت گیرندگی فلزات:** نتایج پژوهش در جدول 1 نشان می‌دهد که عصاره به عنوان یک آنتی اکسیدان به طور مؤثری قابلیت اتصال به آهن دارد و این قابلیت وابسته

**جدول 2.** تاثیر رژیم های معمولی و پرچرب بر وزن موش های صحرایی در مدت آزمایش

| مقدار p | وزن (گرم)               |                         |                         |                         | مقدار عصاره (mg/kg) | رژیم غذایی |
|---------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|------------|
|         | پایان هفته سوم          | پایان هفته دوم          | پایان هفته اول          | قبل از آزمایش           |                     |            |
| 0/0001  | 272/5±0/71 <sup>a</sup> | 260/5±0/71 <sup>b</sup> | 249±1/41 <sup>c</sup>   | 244±2/82 <sup>d*</sup>  | بدون عصاره          | معمولی     |
| 0/0001  | 280/5±0/71 <sup>a</sup> | 264/5±0/71 <sup>b</sup> | 253/5±1/41 <sup>c</sup> | 242±2/82 <sup>d</sup>   | بدون عصاره          | پرچرب      |
| 0/0001  | 283±1/41 <sup>a</sup>   | 268±2/82 <sup>b</sup>   | 255±2/82 <sup>c</sup>   | 247±1/41 <sup>d</sup>   | 200                 | پرچرب      |
| 0/0001  | 276±1/41 <sup>a</sup>   | 264±2/82 <sup>b</sup>   | 252±1/41 <sup>c</sup>   | 243/5±2/12 <sup>d</sup> | 400                 | پرچرب      |
| 0/001   | 276±4/24 <sup>a</sup>   | 265±0/00 <sup>b</sup>   | 253±2/82 <sup>c</sup>   | 246 ±1/41 <sup>d</sup>  | 600                 | پرچرب      |

\*حروف غیر یکسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار در سطح 5% است.

**جدول 3.** وزن و سطح لیپیدهای سرم موش های صحرایی در شروع و پایان آزمایش

| HDL                     | سطح لیپیدهای سرم موش ها (mg/dl) |                           |                           | تری گلیسرید               | وزن موش ها (گرم) | زمان بررسی   |
|-------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------|--------------|
|                         | LDL                             | کلسترول کل                |                           |                           |                  |              |
| 22/16±5/42 <sup>b</sup> | 65/51±3/70 <sup>b</sup>         | 92/10±5/46 <sup>b</sup>   | 144/40±7/55 <sup>b</sup>  | 244/50±9/36 <sup>b*</sup> |                  | قبل آزمایش   |
| 27/43±6/15 <sup>a</sup> | 71/22±8/32 <sup>a</sup>         | 117/33±13/75 <sup>a</sup> | 165/50±18/41 <sup>a</sup> | 287/00±13/44 <sup>a</sup> |                  | پایان آزمایش |
| 0/006                   | 0/045                           | 0/000                     | 0/012                     | 0/000                     |                  | مقدار P      |

\*حروف غیر یکسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی دار در سطح 5% است.

معنی دار بود ( $p=0/001$ ). همچنین رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با رژیم معمولی اثر معنی داری بر شاخص‌های لیپیدی داشت. این نتایج نشان می‌دهد که در موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب، با افزایش دریافت عصاره از 200 تا 600 قسمت در میلیون، میزان TC، TG و LDL-C به طور معنی داری کاهش (p به ترتیب صفر، صفر و 0/002) و شاخص HDL-C به طور معنی داری افزایش یافت ( $p=0/015$ ).

تغذیه موش‌ها با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با رژیم غذایی معمولی سبب افزایش معنی دار وزن موش‌ها شد که در این میان وزن موش‌های تغذیه شده منحصراً با غذای معمولی (کنترل) و با غذای پرچرب به ترتیب برابر  $28/50 \pm 0/71$  و  $38/50 \pm 0/52$  درصد بود (جدول 4). همان طور که در جدول 4 مشاهده می‌شود دریافت روزانه عصاره همراه با رژیم غذایی پرچرب سبب کاهش وزن موش‌ها شد که این کاهش پس از مصرف 400 و 600 قسمت در میلیون

جدول 4. اثر رژیم های معمولی و پرچرب بر درصد افزایش وزن و اندیس های لیپیدی سرم موش های صحرایی نر در پایان آزمایش

| رژیم غذایی | مقدار عصاره (mg/kg) | افزایش وزن موش (%)    | تری گلیسیرید        | کلسترول کل          | LDL                | HDL                   |
|------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|
| معمولی     | بدون عصاره          | $28/50 \pm 0/71^{c*}$ | $162/00 \pm 2/83^c$ | $105/00 \pm 2/12^c$ | $69/00 \pm 1/41^c$ | $24/00 \pm 1/41^b$    |
| پرچرب      | بدون عصاره          | $38/50 \pm 0/71^a$    | $191/50 \pm 2/12^a$ | $136/00 \pm 1/41^a$ | $82/50 \pm 2/12^a$ | $21/00 \pm 2/83^b$    |
| پرچرب      | 200                 | $36/00 \pm 1/41^a$    | $176/00 \pm 1/41^b$ | $125/00 \pm 4/24^b$ | $76/00 \pm 1/41^b$ | $27/00 \pm 2/83^{ab}$ |
| پرچرب      | 400                 | $32/50 \pm 0/71^b$    | $156/00 \pm 1/41^d$ | $119/00 \pm 2/83^b$ | $69/50 \pm 2/83^c$ | $32/00 \pm 1/41^a$    |
| پرچرب      | 600                 | $30/00 \pm 1/41^c$    | $140/50 \pm 2/12^e$ | $100/50 \pm 2/12^c$ | $59/50 \pm 3/54^d$ | $33/00 \pm 2/83^a$    |
| مقدار P    |                     | 0/001                 | 0/0001              | 0/0001              | 0/002              | 0/015                 |

\*حروف غیر یکسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی دار در سطح 5% است.

## • بحث

روش فولین یک روش ساده در اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی گیاهان است. یافته‌های این تحقیق نشان داد گیاه کارده حاوی  $1/23 \pm 0/16$  میلی گرم اسید تانیک در گرم وزن خشک گیاه است که این مقدار در حد عصاره 70% متانولی جو (16)، و کمتر از اغلب میوه ها، سبزیجات و غلات است (17-19).

در کلیه آزمون‌های اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی، با افزایش غلظت عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش یافت که دلیل آن ورود مقدار بیشتر ترکیبات فنلی به محیط واکنش است. با افزایش غلظت ترکیبات فنلی و افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل در محیط واکنش، احتمال هیدروژن دهی به رادیکال‌های آزاد بیشتر شده و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد (20). این نتایج مطابق نتایج پژوهش Sowndhararajan و همکاران است که نشان دادند فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره گیاه تابع غلظت آن است و با افزایش غلظت عصاره، افزایش می‌یابد (21).

برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری به نام  $IC_{50}$  نیز استفاده شد. طبق تعریف  $IC_{50}$  غلظتی از عصاره است که 50% از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش را مهار می‌کند (22). هر چقدر این مقدار کمتر باشد، فعالیت ضد رادیکالی عصاره بیشتر است. در این بررسی  $IC_{50}$  برای عصاره کارده معادل 165 ppm.

برای اسید اسکوربیک و آلفاتوکوفرول به ترتیب 5/5 و 150 و برای BHT بیشتر از 700 ppm بود، نزدیک بودن مقدار  $IC_{50}$  عصاره کارده به آلفاتوکوفرول و بیشتر بودن آن نسبت به BHT نشانه توانایی عصاره کارده در مهار رادیکال‌های آزاد در حد آلفاتوکوفرول و قوی تر از BHT است. چنین توانایی در اغلب عصاره‌ها مانند عصاره گل شوید (23) و چای سبز (24) هم گزارش شده است.

توان احیاء کنندگی آهن (III) معیاری برای قابلیت الکترون دهی و اکسیداسیون ترکیبات فنلی محسوب می‌شود (25). این ویژگی به طور معمول در ارتباط با ردوکتان‌ها می‌باشد. این ترکیبات نقش آنتی اکسیدانی خود را از طریق دادن هیدروژن و مختل نمودن واکنش‌های زنجیره‌ای تشکیل رادیکال‌های آزاد و یا واکنش با بعضی از پیش سازهای پراکسید و ممانعت از تشکیل آنها ایفا می‌کنند (26). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد فعالیت احیاء کنندگی عصاره، قابل مقایسه با BHT و بسیار فراتر از آلفاتوکوفرول بوده و با افزایش میزان عصاره، قدرت احیاء کنندگی نیز افزایش می‌یابد. ممکن است ترکیبات فنلی عصاره با روشی مشابه ردوکتان‌ها، یعنی از طریق دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد، با تشکیل محصولات پایدار و پایان دادن به واکنش‌های زنجیره ای رادیکال‌های آزاد، خاصیت آنتی اکسیدانی خود را بروز دهند (16).

تجربی دیابت قندی نیز موجب تغییرهای مطلوب و سودمند در سطح لیپیدهای خون شده است (33). تغییر مطلوب شاخص‌های لیپیدی سرم، یعنی کاهش TC، TG، LDL-C و افزایش LDL-C را به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای گیاه نسبت می‌دهند (34). این ترکیبات سلول و بافت را در برابر عوامل استرس‌زا و اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند (35). Nieua و همکاران نیز فلاونوئیدها را عامل کاهش دهنده تشکیل رادیکال‌های آزاد معرفی کرده و نشان دادند که بین میزان فلاونوئید گیاه و مهار رادیکال آزاد یک رابطه معنی‌دار وابسته به غلظت وجود دارد (36). Chen و همکاران اولیگوساکاریدهای سویا را عامل کاهش دهنده چربی موش‌های صحرایی معرفی کردند. به اعتقاد این محققین اولیگوساکاریدهای سویا از طریق تشکیل کمپلکس با ترکیبات فنلی با وزن ملکولی بالا، فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی پیدا کرده و با شدت بیشتری رادیکال‌های آزاد را جذب و خنثی می‌کنند (14). گرجانی و همکاران کاهش شاخص‌های لیپیدی توسط عصاره را تا حدی به اثر مستقیم عصاره بر ممانعت از جذب چربی در ناحیه دستگاه گوارش نسبت دادند (37).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره کارده در برخی خصوصیات آنتی اکسیدانی در حد و یا حتی قوی‌تر از بعضی آنتی اکسیدان‌های طبیعی و یا مصنوعی عمل می‌کند. همچنین تیمار موش‌های صحرایی با عصاره موجب تغییرهای مطلوب و سودمند در سطح لیپیدهای خون می‌گردد. با توجه به ناخالص بودن عصاره و همچنین شباهت کم متابولیسم لیپیدها در انسان و موش، مطالعات دیگری در ارتباط با خالص سازی عصاره و تجویز آن به سایر حیوانات آزمایشگاهی پیشنهاد می‌گردد.

### سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت حمایت‌های مالی و فراهم آوردن امکان انجام این تحقیق در قالب طرح پژوهشی مصوب دانشگاه تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

## References

- Halvorsen BL, Carlsen MH, Phillips KM, Holte K, Jacobs DR, Blomhoff R. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 95-135.
- Blomhoff R, Carlsen MH, Andersen LF, & Jacobs, DR. Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants. *Brit J Nutr* 2006; 96 Suppl 2: S52-S60.
- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 33-49.
- Branen A. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAACS* 1975; 52: 59-63.
- Linderschmidt R, Trylka A, Goad M, Witschi H. The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicology* 1986; 38: 151-160.
- Ramarathnam N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Sci Tech* 1995; 6: 75-82.

اگر چه آهن برای انتقال، تنفس و فعالیت آنزیم‌ها ضروری می‌باشد، اما یک فلز فعال است و موجب آسیب‌های اکسایشی به سلول‌ها و بافت‌های زنده می‌شود (27). پلی فنل‌ها ممکن است خاصیت گیرندگی فلزات نیز داشته باشند و به واسطه این توانایی، از واکنش‌های اکسایشی کاتالیز شده توسط آهن و مس ممانعت کنند. در این پژوهش، میزان گیرندگی فلزات توسط عصاره کارده حدود 66-69% و در غلظت‌های مشابه کمتر از EDTA و بیشتر از اسید اسکوربیک بود ( $P \leq 0/05$ ). Choi و همکاران میزان کلاته‌کنندگی نمونه‌های 4 میلی گرم در لیتر عصاره متانولی ماش، سورگوم، ارزن و برنج سیاه را 67-90% گزارش کرده و حضور گروه‌های کاتکول را عامل اصلی فعالیت گیرندگی فلزات توسط پلی فنل‌ها معرفی کردند (28).

در پژوهش حاضر تغذیه موش‌های صحرایی به مدت سه هفته با رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش قابل توجه وزن موش‌ها شد (جدول 2 و 3). این نتیجه مطابق نتایج Akbay و همکاران است که نشان دادند رژیم‌های غذایی پرچرب در مقایسه با رژیم معمولی، وزن جوندگان را به میزان بیشتری افزایش می‌دهند (29).

بدن در حال طبیعی دارای یک تعادل پویا بین میزان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی است که این تعادل، بدن را در مقابل ابتلا به بیماری‌های مختلف از جمله سرطان حفظ می‌کند (30). رژیم‌های غذایی پرچرب با تولید مقادیر زیاد رادیکال‌های آزاد در بافت، سبب افزایش میزان رادیکال‌های آزاد سرم و در نتیجه افزایش TC، TG، LDL-C و کاهش HDL-C می‌شوند که یکی از عواقب آنها ابتلا به بیماری‌های کرونری قلب می‌باشد (31). در این مطالعه تیمار موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به مدت سه هفته با عصاره کارده، سطح افزایش یافته TC، TG، LDL-C را اصلاح نمود و سبب کاهش معنی‌دار این شاخص‌ها گردید. اثر مصرف درازمدت بخش هوایی کرفس وحشی بر لیپیدهای سرم موش‌های صحرایی در مدل تجربی هیپرلیپیدمی (32) و همچنین اثر تجویز عصاره آبی کرفس وحشی بر موش‌های صحرایی در مدل

7. Karimi H. A Dictionary of Iran's Vegetation Plants. Tehran: Parcham Press; 2001. [in Persian].
8. Boyce PC. A Taxonomic revision of *Biarum*. Curtis's Botanical Magazine 2008; 25(1): 2–118.
9. Kahkonen MP, Hopia AL, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plarit extracts containing phenolic compounds. J Agric Food Chem 1999 ; 47: 3954–3962.
10. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 2000; 21: 2073–2085.
11. Singh RP, Chudambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J Agric Food Chem 2002; 50(1): 81–86.
12. Oyaizu M. Studies on products of browning reactions antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn J Nutr 1996; 44: 307–31.
13. Carter P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). Anal Biochem 1971; 40: 450–458.
14. Chen J, Zhao H, Yang Y, Liu B, Ni J, Wang W. Lipid-lowering and antioxidant activities of Jiang-Zhi-Ning in traditional Chinese medicine. J Ethnopharmacol 2011; 134: 919–930.
15. Alkadi KA, Alzoubi KH, Aleisa AM. Psychosocial stress-induced hypertension results from invivo expression of long-term potentiation in rat sympathetic ganglia. Neurobiol Dis 2005; 20: 849–57.
16. Liu Q, Yao H. Antioxidant activities of barley seeds extract. Food Chem 2007; 102: 732–737.
17. Gharas HE. Polyphenols: food sources, properties and applications – A review. Int J Food Sci Tech 2009; 44: 2512–2518
18. Ignat I, Volf I, Popa VI. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem 2011; 126: 1821–1835
19. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity occurrence, and potential uses. Food Chem 2006; 99: 191–203.
20. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT 1995; 28: 25–30.
21. Sowndhararajan K, Joseph JM, Manian, S. Antioxidant and free radical scavenging activities of Indian Acacias: *Acacia leucophloea* (Roxb.) Willd, *Acacia ferrugineadc* DC, *Acacia dealbata* Linl and *Acacia pennata* (L.) Willd. Int J Food Prop 2013; 16: 1717–1729.
22. Cuendet M, Hostettmann K, Potterat O, Dyatmiko W. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta 1997; 80: 1144–1152
23. Shyu YS, Lin JT, Chang YT, Chiang CJ, Yang DJ. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill flower. Food Chem 2009; 115: 515–521.
24. Lee MH, Sher RL. Extraction of green tea antioxidants and their antioxidants activities in various edible oils and fats. J Chinese Agric Chem Soc 1984; 22: 226–31.
25. Yildirim A, Mavi A, Kara A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L extracts. J Agric Food Chem 2001; 49: 4083–4089.
26. Gordon M. F. The mechanism of antioxidant action in vitro. In Hudson BJF, editor. Food Antioxidants. London: Elsevier Applied Science; 1990: 1–18.
27. Miller HE, Rigelhof F, Marquart L, Prakash A, Kanter M. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. J Am Coll Nutr 2000; 19: 312S–319S.
28. Choi Y, Jeong HS, Lee J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. Food Chem 2007; 102: 732–37.
29. Akbay E, Ulusu NN, Töröner F, Ayvaz G, Taneri F, Aktürk M, et al. Effects of rosiglitazone treatment on the pentose phosphate pathway and glutathione-dependent enzymes in liver and kidney of rats fed a high-fat diet. Curr Ther Res 2004; 65: 79–89.
30. Wang HW, Wei NP, Wang SY, Gui L, Wu WY, Xu YS. Melatonin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress. Life Sci 2005; 77:1902–1915.
31. Lee YM, Choi JS, Kim MH, Jung MH, Lee YS, Song J. Effects of dietary genistein on hepatic lipid metabolism and mitochondrial function in mice fed high-fat diets. Nutrition 2006; 22: 956–964.
32. Tsi D, Das NP, Tan BK. Effects of aqueous celery *Apium graveolens* extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. Planta Med 1995; 61: 18–21.
33. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Amin A, Amirtouri R. The effect of administration of *Apium graveolens* aqueous extract on the serum levels of glucose and lipids of diabetic rats. Iran J Endocrinol Metab 2007; 9(2): 177–181. [in Persian].
34. Chan PT, Fonf WP, Cheung YL, Huang Y, Ho WK, Chen ZY. Jasmine green tea epicatechins are hypolipidemic in hamsters fed a high fat diet. J Nutr 1999; 129: 1094–1101.
35. Popovic M, Kaurinovic B, Trivic S, Mimica-Dukic N, Bursac M. Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. Phytother Res. 2006; 20: 531–7.
36. Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone, MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol 2000; 71: 109–114.
37. Garjani A, Fathiazad F, Zakheri A, Allaf Akbari N, Azarmie Y, Fakhrjood A, Andalib S, Maleki-Dizaji N. The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. J Ethnopharmacol 2009; 126: 525–532.

## ***In Vitro* Antioxidant Activity of Hydromethanolic Extract of Karde (*Biarum carduchrum*) and Its Effects on the Serum Lipids of Rats**

Hosseini E<sup>1\*</sup>, Roustae E<sup>2</sup>, Tabib Loghmany F<sup>3</sup>, Mahmoudpour MB<sup>4</sup>

1- \*Corresponding Author: Assistant Prof, Dept. of Food Science & Technology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran. Email: hoss\_brahim@yahoo.com

2- M.Sc in Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Laboratory Expert of Food Technology, Faculty of Agriculture, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

4- Former Laboratory Expert of Animal House, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Received 21 Feb, 2014

Accepted 18 Jun, 2014

**Background and Objective:** Plant extracts are of considerable interest due to antioxidant and lipid-lowering activities. In this study, the effects of hydromethanolic extract of Karde (*Biarum carduchrum*) in *in vitro* and animal model systems were determined.

**Materials and Methods:** This study was conducted in two stages. Firstly, the antioxidant activity of hydromethanolic extract of Karde was assessed by three tests (namely: 2,2-Diphenyl--picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging, chelating activity and reducing power), and compared with ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, BHT and EDTA. Secondly, the study was continued with five groups of six rats for 21 days. The first and second groups of rats were fed with normal diet (control) and high-fat diet, respectively. The other three groups of rats received high-fat diet, and were orally fed with extract at a single dose of 200, 400 and 600 mg/kg body weight, respectively. Triglycerides (TG), total cholesterol (TC), LDL-C and HDL-C along with the body weight of experimental animals were determined at the beginning and end of each week.

**Results:** Antioxidant activity of the extract was increased proportionally with the concentration. Karde extract had significant DPPH radical scavenging and reducing power properties compared to BHT and  $\alpha$ -tocopherol, respectively ( $p \leq 0.5$ ). Moreover, the plant extract significantly reduced the serum TC, LDL-C and TG levels ( $p = 0.000$ ,  $0.012$  and  $0.045$ , respectively) and increased serum HDL-C ( $p = 0.006$ ).

**Conclusion:** Karde extract has a relatively good antioxidant activity, and can modify abnormal blood lipid levels induced by high-fat diets.

**Keywords:** Karde extract, Rat, Antioxidant activity, Lipid profile, High-fat diet