

ارزیابی مقایسه ای خواص آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی و متانولی بومادران زرد (*Achillea biebersteinii* Afan)

مریم هرمزی^۱، پرستو بهاروند^{۲*}

۱- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره بیستم / شماره ۳ / پاییز ۹۷ / مسلسل ۷۷

چکیده

دریافت مقاله: ۹۷/۶/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۷/۷/۲

مقدمه: ترکیبات آنتی اکسیدان مشتق از گیاهان در کاهش شیوع بسیاری از بیماریهای مزمن و استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکالهای آزاد نقش بسزائی دارند. هدف از این بررسی تعیین و مقایسه خواص آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی و متانولی بومادران منطقه الیگودرز لرستان بود.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه عصاره اتانولی و متانولی سرشاخه های گل دار بومادران، توان حذف رادیکالهای آزاد از طریق روش ۲،۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی با استفاده از روش فسفو مولیبدینوم و میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌ها با استفاده از روش فولین سیوکالتو و زایشن بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان داد که ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، محتوی فنلی تام و ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های اتانولی و متانولی مشابه بوده، میزان IC50 عصاره‌های اتانولی، متانولی بومادران و بوتیلیند هیدروکسی تولوئن به ترتیب برابر $67/43 \pm 5/16$ ، $64/4 \pm 96/93$ و $3/88 \pm 1$ میکروگرم بر میلی لیتر بود ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره های اتانولی و متانولی بومادران از لحاظ خواص آنتی اکسیدانی مشابه بوده و استفاده از حلال اتانول یا متانول در فرایند استخراج عصاره بر خواص آنتی اکسیدانی این گیاه تأثیری ندارد، به نظر می رسد این گیاه منبع خوب و قابل دسترسی از ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی بوده و می توان از آن در فرآورده های غذایی، دارویی و صنعتی استفاده نمود. واژه‌های کلیدی: عصاره، اتانولی، متانولی، بومادران، فنل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی، گروه پزشکی اجتماعی.

پست الکترونیک: dr.baharvand@gmail.com

مقدمه

رادیکال‌های آزاد به دلیل دارا بودن الکترون‌های منفرد، ترکیباتی بسیار واکنش پذیر هستند. این ترکیبات به طور برگشت ناپذیر به ماکرومولکولها و اجزای مختلف سلولها آسیب وارد و در ایجاد بیماریهای مختلف نظیر سرطان، دیابت، آرتریت روماتوئید، مولتیپل اسکلروزیس، آلزایمر، پارکینسون، فرایند پیری، بیماریهای کبدی و کلیوی نقش دارند. بدن به منظور مقابله با آسیب‌های ناشی از رادیکالهای آزاد و جلوگیری از تشکیل آنها، ترمیم صدمات وارده، افزایش دفع مولکولهای صدمه دیده و به حداقل رساندن جهش‌های سلولی از سیستم دفاع آنتی اکسیدانی که شامل دو نوع سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی است استفاده می کند (۳-۱). آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز اجزای تشکیل دهنده سیستم آنزیمی هستند، در حالیکه ترکیباتی چون ویتامین E، اسید اسکوربیک، کارتنوئیدها، بیلی روبین، کاروتن، اسید اوریک و گلوکاتایون اجزای تشکیل دهنده سیستم غیر آنزیمی را تشکیل می دهند (۴،۵)، بنابراین استفاده از آنتی اکسیدانها مصنوعی و طبیعی به منظور تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن در مهار و پیشگیری و یا درمان بیماریهایی که به آنها اشاره شد موثر هستند. به دلیل عوارض جانبی آنتی اکسیدانهای مصنوعی تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است. آنتی اکسیدانها طبیعی ترکیبات پلی فنلی هستند که در قسمت‌های مختلف گیاهان نظیر ریشه، ساقه، برگ، گل و میوه وجود دارد. اثرات حفاظتی و درمانی گیاهان در برابر بیماریهای مختلف تا حدودی مربوط به حضور آنتی اکسیدانها طبیعی موجود در آنها است. مواد موثر موجود در گیاهان به دلیل همراه بودن با سایر ترکیبات از تعادل بیولوژیک برخوردار بوده لذا در بدن انباشته نشده، فاقد یا حداقل عوارض جانبی را دارا هستند (۸-۵).

از جمله گیاهان دارویی که در طب سنتی مدرن اثرات مختلفی برای آن ذکر شده بومادران می باشد این گیاه بیش از ۳۰۰۰ سال است که در درمان بیماریهای مختلف مورد استفاده قرار می گیرد. گیاه بومادران زرد (که در گویش لری برنج‌داس نامیده می شود) با نام علمی *Achillea biebersteinii* Afan از شاخه دانه دارها، رده دو لپه ایها، راسته آسترالسز *Asterales* و تیره کاسنی می‌باشد که به صورت خودرو در نواحی مختلف اروپا و آسیا از جمله ایران می‌روید، حدود ۱۰۰ گونه آن در جهان وجود دارد. از این گیاه بیشتر به عنوان داروی ضد خونریزی، محرک ترمیم و درمان زخم، مسکن و اسپاسمولیتیک استفاده می شود، که خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد درد، ضد توموری، ضد میکروبی، ضد تشنج و ضد اسپاسم برخی از گونه‌های آن توسط محققین به اثبات رسیده است، همچنین این گیاه به دلیل دارا بودن تانن بر روی سلسله اعصاب و قلب اثر داشته و در درمان بیماری‌های عصبی و هیستری، صرع، ضعف قلب و خستگی موثر است. در نمونه بومادران زرد ترکیباتی مختلف شناسایی شده است که عمده آنها عبارتند از فلاونوئیدها، پیریتون *piperitone*، سینئول *Cineol* لیمونن *Limonen*، پی سیمن *p-Cymene*، کامفور *Camphor* (۹-۱۴)، از آنجائیکه محتوی ترکیبات شیمیایی، میزان فنل تام و خواص آنتی اکسیدانی گیاهان هر منطقه به عوامل مختلفی نظیر آب و هوا، خاک، ارتفاع، نور و گونه گیاهی دارد، هدف از این مطالعه بررسی مقایسه ای، عصاره‌های اتانولی و متانولی *Achillea biebersteinii* Afan منطقه الیگودرز لرستان از لحاظ خواص آنتی اکسیدانی، محتوی فنل و فلاونوئیدی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش که به صورت توصیفی تحلیلی طراحی گردید، از عصاره اتانولی و متانولی سرشاخه‌های گل دار

سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار و مولیبدات آمونیوم ۴ میلی مولار) اضافه شد، سپس نمونه‌ها ۹۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار گرفتند، بعد از سرد شدن نمونه‌ها جذب هر نمونه در طول موج ۶۹۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد (۱۷،۱۸). این عمل برای هر نمونه سه بار تکرار شد. با استفاده از همین روش منحنی استاندارد ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اسید اسکوربیک بر حسب غلظت اسید اسکوربیک در محدوده ۰/۰۱ تا ۱۵ نانومولار رسم و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره بومادران بر حسب نانومولار اسید اسکوربیک بر گرم عصاره محاسبه گردید.

میزان فنل تام

برای اندازه گیری محتوی فنلی تام عصاره اتانولی و متانولی بومادران، غلظت‌های مختلف عصاره تهیه و به ۲ میلی لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۷ فولین سیوکالتو و ۲۰ میکرولیتر نمونه عصاره اضافه، بعد از سه دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۰/۶ اضافه و بعد از ۲ ساعت شیکر نمونه جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (۱۹)، این سنجش برای هر نمونه ۳ بار تکرار شد، با همین روش منحنی استاندارد گالیک اسید در محدوده غلظتی ۱۰ تا ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر گالیک اسید رسم شد و مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره محاسبه شد.

میزان فلاونوئید تام

برای تعیین محتوی فلاونوئیدی تام عصاره هیدرواتانولی بومادران، پس از تهیه غلظت‌های مختلف عصاره، به ۵۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۲ کلرید آلومینیوم در اتانول، ۵۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد. پس از قرار محلولها به مدت یک ساعت در درمای اتاق، جذب محلولها در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شد (۲۰)، این روش اندازه گیری برای هر نمونه سه بار تکرار شد، با همین

این گیاه استفاده شد. گیاه مورد نظر از مزارع شهرستان الیگودرز استان لرستان جمع آوری و توسط متخصصین گیاه شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان شناسایی شد. پس از خشک کردن سرشاخه های گل دار در سایه، ۱۰ گرم پودر آن بر روی کاغذ صافی قرار داده شد و در دستگاه سوکسله قرار گرفت، عمل استخراج با حلال هیدرواتانولی و هیدرومتانولی (نسبت ۱:۱ اتانول یا متانول و آب) به مدت ۸ ساعت ادامه پیدا کرد، سپس حلال، با قرار دادن در انکوباتور ۴۰ درجه سانتی گراد حذف گردید. میزان درصد عصاره اتانولی و متانولی نسبت به پودر گیاه ۶/۵۳ و ۷/۲۳ درصد بود.

ارزیابی ۲و۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی و متانولی سر شاخه- های گیاه بومادران با استفاده از روش ۲و۲ دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) بر مبنای درصد مهار تولید رادیکالهای آزاد اندازه گیری شد. پس از تهیه غلظت‌های مختلف عصاره بومادران، ۲۰۰ میکرو لیتر نمونه با یک میلی لیتر محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط و با متانول ۰/۹۵ به حجم ۴ میلی لیتر رسد بعد از ۶۰ دقیقه نگهداری نمونه‌ها در تاریکی (در این مدت نمونه با استفاده از شیکر مخلوط می‌شد)، جذب نمونه‌های حاوی عصاره و بلانک در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد، این عمل برای هر نمونه سه بار تکرار شد. در این آزمایش از بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهار تولید رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۶).

$$100 \times (\text{جذب بلانک} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب بلانک}) = \text{درصد تولید رادیکال آزاد}$$

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی از معرف فسفومولیبدینوم استفاده شد. پس از تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره اتانولی و متانولی بومادران، به ۰/۱ میلی لیتر عصاره ۱ میلی لیتر معرف واکنش (حاوی اسید

میزان فنل تام

پس از ترسیم منحنی استاندارد اسید گالیک، از معادله $y = 0.0008x + 0.1649$ برای محاسبه محتوی فنل عصاره های اتانولی و متانولی بومادران استفاده شد. بین دو عصاره از لحاظ محتوی فنل تام اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

میزان فلاونوئید تام

پس از ترسیم منحنی استاندارد کوئرستین، از معادله $y = 0.0454X + 0.0297$ برای محاسبه محتوی فلاونوئیدی تام عصاره های اتانولی و متانولی بومادران استفاده شد. بین دو عصاره از لحاظ محتوی فلاونوئیدی تام اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، فنل تام و فلاونوئید تام عصاره های اتانولی و متانولی سرشاخه های گل دار بومادران (اعداد بدست آمده میانگین ۵ آزمایش می باشند)

شاخص آنتی اکسیدانی	عصاره اتانولی	عصاره متانولی
ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (نانومول اسید اسکوربیک بر گرم عصاره)	۱/۶۹ ± ۰/۰۳	۱/۷۴ ± ۰/۰۲
فنل تام (میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)	۲۹۱/۳ ± ۱۰/۶۱	۲۸۸/۹ ± ۱۲/۳۷
فلاونوئید تام (میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره)	۱۳/۵۵ ± ۰/۴۹	۱۴/۹۷ ± ۱/۴۴

آزمون: یومن ویتنی، $P > 0.05$

بحث و نتیجه گیری

تاثیر مصرف منابع غذایی گیاهی بر سلامت انسان ثابت شده است. این تاثیر به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد رادیکالی ترکیبات گیاهی به ویژه ترکیبات فنلی آن می باشد، که به پیشگیری از بیماری های مختلف نظیر بیماری های دیابت، سرطان و قلبی و عروقی منجر می شود (۲۱). در این مطالعه عصاره های اتانولی و متانولی سرشاخه های گل دار بومادران از فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد رادیکالی مناسبی برخوردار بود، که ناشی از محتوی مناسب فنلی و فلاونوئیدی آنها است.

میزان IC_{50} عصاره های اتانول و متانولی بومادران در این مطالعه به ترتیب ۶۷/۴۳ و ۶۴/۹۶ میکروگرم بر میلی

روش منحنی استاندارد کوئرستین در محدوده غلظتی ۵ تا ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر رسم شد و محتوی ترکیبات فلاونوئیدی تام عصاره بر حسب گرم عصاره محاسبه شد.

آنالیز آماری

نتایج به صورت انحراف معیار \pm میانگین بیان شده اند. معنی دار بودن نتایج از نظر آماری و اختلاف بین گروهها با استفاده از آزمون کروسکال والیس و آزمون من ویتنی ارزیابی و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. میزان IC_{50} عصاره اتانولی و متانولی سرشاخه های گل دار بومادران و BHT (کنترل مثبت) بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر (اعداد بدست آمده میانگین ۵ آزمایش می باشند)

میزان IC_{50}	میانگین	انحراف معیار	P value
عصاره اتانولی سرشاخه های گل دار بومادران	۶۷/۴۳	۴/۱۶	۰/۰۰۱
عصاره متانولی سرشاخه های گل دار بومادران	۶۴/۹۶	۵/۹۳	
BHT	۳/۸۸*##	۱	

* معنی دار نسبت به عصاره اتانولی $P < 0.05$ # معنی دار نسبت به عصاره متانولی $P < 0.05$. آزمون: کروسکال والیس

یافته ها

ارزیابی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) میزان توان حذف رادیکال های آزاد عصاره اتانولی و متانولی بومادران بر حسب درصد مهار حذف رادیکال های آزاد در جدول ۱ نمایش داده شده است. میزان IC_{50} (غلظتی که باعث حذف ۵۰ درصد رادیکال های آزاد می شود) عصاره اتانولی و متانولی بومادران نسبت به BHT (butylated hydroxy toluene) به عنوان کنترل مثبت به ترتیب ۱۷/۳۸ و ۱۶/۷۴ برابر بیشتر بود که از لحاظ آماری معنی دار $P < 0.05$ بود. اما بین دو عصاره اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

پس از ترسیم منحنی استاندارد اسید اسکوربیک، از معادله $y = 0.07633x + 0.149$ برای محاسبه ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی و متانولی بومادران استفاده شد. بین دو عصاره از لحاظ ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

ترکیبات فنلی، متابولیت‌های ثانویه گیاهان به ویژه در گیاهان دارویی، توان آنتی اکسیدانی بالایی در حذف و مهار ایجاد رادیکال‌های آزاد از طرق مختلف دارند یکی از این روش‌ها رسوب عناصر اکسیدان نظیر آهن است که به این ترتیب باعث مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود (۸-۵،۱،۲).

بین دو عصاره اتانول و متانولی از لحاظ میزان محتوی تام فلاونوئید اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. میزان محتوی فلاونوئیدی مشابه با سایر مطالعات می‌باشد، هر چند برخی بررسی‌ها محتوی فلاونوئیدی بیشتری را برای این گیاه گزارش نموده‌اند که این اختلاف ممکن است به دلیل روش‌های متفاوت اندازه گیری محتوی فلاونوئیدی، روش استخراج یا تفاوت‌های اقلیمی و محل رویش گیاه باشد (۲۳،۲۲،۱۲،۱۱،۴).

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری و مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به دلیل حمایت مالی و فراهم نمودن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی مورد نیاز این پروژه تحقیقاتی قدردانی می‌شود.

لیتر بود. که مشابه با نتایج بدست آمده از مطالعه انجام شده توسط Benedec و همکاران بود (۱۱) هرچند در مطالعه دیگری این میزان ۲۷۸ میکرو گرم بر میلی لیتر گزارش شده است (۲۲)، که این تفاوت می‌تواند به دلایل متفاوتی نظیر محل رشد گیاه یا روش استخراج باشد. از آنجائیکه محققین به دنبال آنتی اکسیدان‌های طبیعی به دلیل سالم‌تر بودن و اثرات جانبی کمتر جهت جایگزین کردن با آنتی اکسیدان‌های مصنوعی هستند و با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که گیاه بومادران به عنوان یک آنتی اکسیدان اولیه، از طریق تبادل هیدروژن و واکنش با رادیکال‌های آزاد دارای توان خوبی در حذف رادیکال‌های آزاد باشد.

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و متانولی بومادران تقریباً مشابه بوده و اختلاف آماری معنی‌داری بین دو عصاره وجود نداشت به نظر می‌رسد استفاده از حلال اتانول یا متانول تاثیر بر ظرفیت تام آنتی اکسیدانی این گیاه نداشته باشد. از آنجائیکه فعالیت تام آنتی اکسیدانی یک گیاه ارتباط مستقیمی با نوع و میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در آن گیاه نظیر کارتنوئیدها، فنل و اسید اسکوربیک دارد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات گذشته به نظر می‌رسد این گیاه از توان حذف رادیکال‌های آزاد بالایی برخوردار و ظرفیت آنتی اکسیدان مناسبی دارد (۲۳،۲۲،۱۲،۱۱،۴).

بین محتوی فنل تام عصاره‌های اتانولی و متانولی بومادران نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعات مختلف، مقادیر متفاوتی برای محتوی فنلی این گیاه را گزارش نموده‌اند، که اکثراً کمتر از نتایج گزارش شده در این مطالعه می‌باشد، اما در یک بررسی این میزان ۲۸۱/۷ گزارش شده که مشابه نتیجه بدست آمده در این بررسی است (۲۳،۲۲،۱۲،۱۱،۴).

آنتی اکسیدانها از طریق انتقال الکترون منفرد بر روی رادیکال‌های آزاد قادر به حذف آنها از محیط هستند.

References

1. Devasagayam T, Tilak J, Boloor K, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele R. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*. 2004;52(4): 794-804
2. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology. Natural antioxidants in human health and disease: Elsevier Inc.; 2012.
3. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of carcinogenesis*. 2006;5:14.107-119
4. Mazandarani M, Osia N, Ghafourian M. Antioxidant activity and ethno pharmacological survey of *Achillea biebersteinii* Afan. in the treatment of dysmenorrhoea in traditional medicine of Golestan province, *International Journal of Women's Health and Reproduction Science*. 2015;3(2):107-110.
5. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2014;436:332-347.
6. Memvanga PB, Tona GL, Mesia GK, Lusakibanza MM, Cimanga RK. Antimalarial activity of medicinal plants from the Democratic Republic of Congo: A review. *Journal of ethnopharmacology*. 2015;169:76-98.
7. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*. 2012;6(11):-1-9.
8. Kong J-M, Goh N-K, Chia L-S, Chia T-F. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2003;24(1): 7-21.
9. Benedek B, Kopp B, Melzig MF. *Achillea millefolium* L. sl—Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of ethnopharmacology*. 2007;113(2):312-317.
10. Cavalcanti AM, Baggio CH, Freitas CS, Rieck L, De Sousa RS, Da Silva-Santos JE, et al. Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;107(2):277-284.
11. Benedec D, Hanganu D, Oniga I, Filip L, Bischin C, Silaghi-Dumitrescu R, et al. *Achillea schurii* flowers: chemical, antioxidant, and antimicrobial investigations. *Molecules*. 2016;21(8):1050-1057.
12. Georgieva L, Gadjalova A, Mihaylova D, Pavlov A. *Achillea millefolium* L.-phytochemical profile and in vitro antioxidant activity. *International Food Research Journal*. 2015;22:1347-1352.
13. Akkol EK, Koca U, Pesin I, Yilmazer D. Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae) by in vivo excision and incision models. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;1-7.
14. Bariş Ö, Güllüce M, ŞAHİN F, Özer H, Kiliç H, Özkan H, et al. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae). *Turkish Journal of Biology*. 2006;30(2):65-73.

15. Bashi DS, Fazly Bazzaz BS, Sahebkar A, Karimkhani MM, Ahmadi A. Investigation of optimal extraction, antioxidant, and antimicrobial activities of *Achillea biebersteinii* and *A. wilhelmsii*. *Pharmaceutical Biology*. 2012;50(9):1168-1176.
16. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-1200.
17. Aguilar Urbano M, Pineda Priego M, Prieto P. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anlytical biochemistry*. 1999; 269(2):337-341.
18. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*. 1999;269(2):337-341.
19. Kowalczyk A, Biskup I, Fecka I. Total phenolic content and antioxidative properties of commercial tinctures obtained from some Lamiaceae plants. *Natural product communications*. 2012;7(12):1631-1634.
20. Mikkonen TP, Määttä KR, Hukkanen AT, Kokko HI, Törrönen AR, Kärenlampi SO, et al. Flavonol content varies among black currant cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(7):3274-3277.
21. Dillard CJ, German JB. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000;80(12):1744-1756.
22. Özgen U, Mavi A, Terzi Z, Coflkun M. Antioxidant activities and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. 2004.1(3);203-216
23. Albayrak S. The volatile compounds and bioactivity of *Achillea sieheana* Stapf.(Asteraceae). *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2013;12(1):37-45.
24. Vitalini S, Beretta G, Iriti M, Orsenigo S, Basilico N, Dall'Acqua S, et al. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity. *Acta Biochimica Polonica*. 2011;58(2):203-219.

Comparative evaluation of the various antioxidant properties of ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan.

Hormozi M¹, Bahavrvand P^{*2}

1. Assistant professor, Department of biochemistry, faculty of medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

2. Assistant professor, Department of Community Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, dr.bahavrvand@gmail.com.

Received: 1 Sep 2018 Accepted: 29 Sep 2018

Abstract

Background: Antioxidants derived from plants play an important role in reducing the risks of chronic and oxidative stress due to free radicals. The present study aimed to measure and compare the various antioxidative activities of ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan from Aligudarz, Lorestan Province.

Materials and Methods: After obtaining ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan, the radical scavenging activity of the samples was assessed using diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). The total antioxidant capacity of the samples was assessed by the Phosphomolybdenum method. The amount of total phenol and flavonoid in the samples was assessed using the Folin-Ciocalteu and Zhishen methods.

Results: It was found that the total antioxidant capacity, and the phenol and flavonoid content of the ethanolic and methanolic extracts were similar. The IC₅₀ values (the concentration required to scavenge 50% of radicals) of the ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan, with Butylated hydroxytoluene (BHT) as a reference was 67.43±4.16, 67.96±5.93, and 3.88±1µg/ml, respectively, P<0.05.

Conclusion: The results showed that there was no difference between the antioxidant properties of the ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. The solvent type used in the extraction process did not affect the antioxidant properties of this plant. This suggests *Achillea biebersteinii* Afan is a suitable and easily accessible source of natural antioxidants, which could be included in foods and pharmaceutical applications.

Keywords: *Achillea biebersteinii* Afan, Ethanolic, Methanolic, Extract, Total phenols, Total flavonoids, Antioxidant activity

***Citation:** Hormozi M, Bahavrvand P. Comparative evaluation of various antioxidant properties of ethanolic and methanolic extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. Yafte. 2018; 20(3):1-8.