[illegible]

دكتر سيد ابراهيم سجادي*؛ دكتر غلامعلي نادري**؛ دكتر رباب ضيائي***

چكيده :

سابقه وهدف: اسیدهای چرب غیراشباع ازمهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده غشاهای بیولوژیکی هستند. اکسیداسیون این اسیدها عامل ایجاد بسیاری از بیماری‌ها ازجمله آتروسکلروز و سرطان می‌باشد. تعدادی آنتی‌اکسیدان صناعی به بازارعرضه شده که به‌علت سمیت، مصرف آن‌ها محدوداست. با توجه به ایمنی کاربرد گیاهان دارویی، در این پژوهش تأثیرات آنتی‌اکسیدانی منتخبی ازگیاهان دارویی بومی کشورمان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد وروش‌ها: عصاره‌های هیدروالکلی شش گیاه دارویی پرمصرف ازخانواده نعناع به نام‌های مریم گلی، بادرنجبویه، آویشن دنایی، زرین گیاه، اسطوخودوس و بادرشبویه به روش ماسراسیون تهیه شد و تأثیرآن‌ها در کاهش اکسیداسیون هپاتوسیت‌ها با اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (به روش کالریمتری) وهمچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های SGOT وLDH بر اساس روش کالریمتری و با استفاده از کیت‌های مربوطه مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: از بین گیاهان مورد بررسی، مریم گلی وبادرنجبویه تأثیرات آنتی اکسیدانی بهتری داشتند، به طوری‌که عصاره‌های آن‌ها درغلظت ۰/۰۱ mg/ml به‌طور معناداری اثرآنتی اکسیدانی ازخود نشان داد. در مورد دو گیاه آویشن دنایی و زرین‌گیاه نیز اگرچه اثر کاهندگی اکسیداسیون درغلظت ۰/۰۱ mg/ml معنادارنبود، ولی عصاره‌های این دو گیاه درغلظت ۰/۰۵ mg/ml به‌طور معنادار از خود، اثر آنتی اکسیدانی نشان دادند. همچنین هیچ‌کدام ازکاهش‌های ایجادشده در پارامترهای بررسی اثرآنتی اکسیدانی عصاره های دو گیاه اسطوخودوس و بادرشبویه، معنادار نبود.

بحث: از بین گونه‌های دارویی مورد مطالعه، عصاره بادرنجبویه دارای جالب‌ترین اثر آنتی اکسیدانی است. ازآنجاکه گونه‌های مختلف خانواده نعناع دارای ترکیبات مؤثره اسانس فرار و پلی‌فنلی هستند، این احتمال وجود دارد که عامل اصلی در بروز خواص آنتی اکسیدانی این گیاهان ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها باشد.

کلیدواژه‌ها: آنتی اکسیدان، مریم گلی، بادرنجبویه، آویشن دنایی، زرین گیاه، اسطوخودوس، بادرشبویه.

« دريافت: ۱۳۸۲/۷/۱۲ پذيرش: تابستان ۱۳۸۳ »

* دانشيارگروه فارماكوگنوزي، دانشكده داروسازي، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان.

** استاديار مركز تحقيقات قلب وعروق، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان.

*** فارغ التحصیل دکتراي داروسازي.

* **عهده دارمکاتبات:** اصفهان، دانشگاه علوم پزشکي اصفهان، دانشکده داروسازي، مرکز تحقیقات علوم دارویي، تلفن:۷۹۲۲۶۱۱- ۰۳۱۱.

مقدمه:

اسیدهاي چرب از مهمترین ترکیبات موجود درغشاهاي بیولوژیکي به شمار میروند. از بین اسیدهاي چرب، اسیدهاي چرب غیراشباع سهم عمدهاي را در سیالیت غشا به عهده دارند. اسیدهاي چرب غیراشباع به واکنشهاي اکسیداتیو حساس هستند و لذا بیشترمورد هجوم عوامل اکسیدانت قرار میگیرند(۱).

پراکسیداسیون لیپیدي توسط انواع رادیکالهاي آزاد و ضمن حمله رادیکالي به هیدروژن گروه متیلني و با جدانمودن آن آغاز میگردد. براثر ازدستدادن هیدروژن، رادیکال آلکن حاصل میشود که ناپایدار است و با اکسیژن ترکیب میشود و تولید لیپیدهاي هیدروپروکسید را مینماید. براثر شکستهشدن لیپیدهاي هیدروپروکسید، ترکیبات جدیدي مانند رادیکالهاي پروکسي ازجمله مالون دي آلدئید[۱] بهوجود میآید(۲و۳). چرخه اکسیداسیون لیپیدها توسط رادیکالهاي آزاد قابلتکرار است و تا وقتي اکسیژن و زنجیره اسید چرب غیراشباع PUFA[۲]موجود باشد، این روند ادامه مییابد و در نهایت تجمع هیدرو پراکسیدها حاصل میگردد(۲).

رادیکالهاي پراکسید بهطور طبیعي وبراثر فعالیت اکسیدازها (مانند گزانتین اکسیداز) در بدن ایجاد میگردند. بعضي از این رادیکالها در فرایندهاي بیوشیمیایي نقش تنظیمکننده دارند؛ به عنوان مثال لنفوسیتها و فیبروبلاستها بهطور مداوم مقادیر کمي ازرادیکالهاي سوپراکسید را به عنوان تنظیمکنندههاي رشد تولید مینمایند(۴). رادیکالهاي آزاد همچنین در عمل برخي از آنزیمها مانند ریبونوکلئوتیددیفسفات

ردوكتاز شركتمي‌كنند(۴). دركنار اين اعمال مفيد، راديكال‌هاي آزاد تأثيرات مخربي نيز در بافت‌هاي بدن اعمال مي‌نمايند.

سيستم دفاع آنتي‌اكسيداني بدن ازجمله آنزيم‌ها و ويتامين‌ها به‌طور مستقيم يا غيرمستقيم سلول‌ها را دربرابر آسيب‌هاي ناشي ازاكسيدان‌ها محافظت مي‌نمايند(۵). معمولاً بين‌اكسيدان‌ها و آنتي‌اكسيدان‌ها دربدن تعادل وجوددارد، ولي درصورت به‌هم‌خوردن اين تعادل، راديكال‌هاي آزاد براي سلول‌ها ودر نتيجه بافت‌ها اثر تخريب‌كننده دارند. اين حالت براثر بحران‌هاي اكسيداتيو بروز مي‌نمايد كه تعادل به نفع راديكال‌هاي آزاد تغيير مي‌كند(۵).

بحران‌هاي اكسيداتيو به دو دسته با منشأ داخلي و خارجي تقسيم مي‌گردند. از منابع داخلي توليدكننده راديكال‌هاي آزاد مي‌توان به افزايش فعاليت فاگوسيت‌ها(۶)، فعال‌شدن متابوليسم آراشيدونيك اسيد، تغيير موضع فلزات مانند جداشدن آهن از پروتئين‌هاي هم‌دار مثل هموگلوبين (۷) واختلال در زنجير انتقال الكترون در ميتوكندري اشاره نمود. منابع خارجي توليدكننده راديكال‌هاي آزاد نيز شامل اشعه ماوراءبنفش، افزايش عدد اكسيداسيون عناصر واسطه مانند مس و آهن، تأثيرداروها و مواد سمي و افزايش اكسيژن محيط مي‌باشند(۷و۸).

بسياري از محققين بر اين عقيده‌اند كه مهم‌ترين رويداد در بروز آتروسكلروز اكسيداسيون LDL است (۱۲-۹). LDL به دليل داشتن مقادير زياد اسيد چرب غيراشباع، به پراكسيداسيون ليپيدي بسيار حساس مي‌باشد(۹). در يكي از مكانيسم‌هاي پيشنهادي درمورد بروز آتروسكلروز، گفته‌مي‌شود LDL اكسيدشده براي سلول‌هاي اندوتليال عروق سمي بوده، سبب آسيب به اين سلول‌ها مي‌شود. اين آسيب به عنوان يكي از اتفاقات اوليه در پاتوژنز

1.Malondialdehyde

2.Poly Unsaturated Fatty Acid

آتروسکلروز شناخته شده (۱۳) و لذا استفاده از آنتي‌اکسیدان‌هاي خوراکي به منظور پیشگیري وکاهش آتروسکلروز توصیه شده است(۱۰و۱۱). به‌عنوان مثال، استفاده از ویتامین E به‌عنوان آنتي‌اکسیدان در بیماري آتروسکلروز و عوارض قلبي پس از انفارکتوس حاد میوکارد مورد بررسي قرار گرفته و تأثیرات مفید آن گزارش شده است (۱۴).

تحقیقات انجام‌شده در روي آرتریت روماتوئید نشان‌دهنده کاهش سطح آنتي‌اکسیدان‌هایي مانند ویتامین E و سلنیوم وافزایش سطح مالون‌دي‌آلدئید (که محصول اکسیداسیون لیپیدهاست) مي‌باشد(۱۵). از جمله عوارض افزایش رادیکال‌هاي آزاد، آسیب به DNA سلولي است(۹)، که این آسیب به عنوان عاملي در سرطان، بیماري‌هاي اتوایمیون و عوارض پیري شناخته شده است. ظرفیت آنتي‌اکسیداني یا مکانیسم‌هاي جبراني براي آسیب‌هاي اکسیداتیو DNA عامل تعیین‌کننده‌اي براي جلوگیري از آسیب سلولي در این مرحله است. در همین ارتباط اثر محافظتي آنتي‌اکسیدان‌هایي مانند ویتامین E و بتاکاروتن در برابر سرطان ریه مطالعه گردیده است (۱۶). همچنین تأیید شده است که اثر ضدسرطانزایي کاروتنوئیدها مي‌تواند با یک مکانیسم آنتي اکسیداني در ارتباط باشد (۱۷). گزارش‌هاي متعددي نیز درخصوص تأثیرات رادیکال‌هاي آزاد در بروز بیماري‌هاي دیابت (۱۸) و ایدز (۱۹) وجود دارد.

با توجه به اهمیت آنتي‌اکسیدان‌ها، تاکنون تعدادي از آنتي اکسیدان‌هاي صناعي تولید و به بازار عرضه شده‌اند که ازجمله مي‌توان به هیدروکسي آنیزول بوتیله‌شده BHA[1] وهیدروکسي‌تولوئن بوتیله‌شده BHT[2] اشاره نمود، اما به علت سمیت ترکیبات سنتزشده، استفاده از آن‌ها محدود مي‌باشد. امروزه با توجه به ایمني کاربرد گیاهان دارویي وحتي مصرف مستمر گونه‌هاي متعددي از گیاهان به عنوان

رژيم غذايي، تحقيقات گسترده اي روي تركيبات طبيعي آنتي‌اكسيدان متمركز شده است. درادامه اين نگرش و با توجه به ذخاير غني كشور از حيث گياهان دارويي، تصميم‌گرفته شد تا طي اين تحقيق به مطالعه تأثيرات آنتي‌اكسيداني منتخبي ازگياهان دارويي بومي كشورمان پرداخته شود. در اين راستا تأثيرات آنتي‌اكسيداني عصاره‌هاي هيدروالكلي شش گياه دارويي پرمصرف ازخانواده نعناع به نام‌هاي مريم‌گلي[3]، بادرنجبويه[4]، آويشن دنايي[5]، زرين‌گياه[6]، اسطوخودوس[7] و بادرشبويه[8]، مورد مطالعه قرار گرفتند.

1. Butylated Hydroxy Anisol
2. Toluene Butylated Hydroxy
3. Salvia officinalis L.
4. Melissa officinalis L.
5. Thymus daenensis Celack.
6. Dracocephalum Kotschyi Boiss.
7. Lavandula angustifolia Mill.
8. Dracocephalum moldavica L.

مواد و روشها:

الف)گياهان‌وحيوانات‌آزمايش گاهي‌مورد استفاده:

گياهان دارويي به‌كاررفته در اين تحقيق از باغ گياهان دارويي شهيد فزوه وزارت جهاد كشاورزي واقع در نجف آباد اصفهان ودر ارتفاع ۱۶۹۰ متري از سطح دريا جمع‌آوري و توسط گروه گياه‌شناسي دانشكده علوم دانشگاه اصفهان شناسايي گرديدند.همچنين رت‌هاي نژاد Wistar از انستيتو پاستورتهران تهيه شد و پس از انتقال به آزمايشگاه در اطاق و قفس‌هاي مخصوص نگهداري گرديدند.

ب) تهيه عصاره‌هاي تام گياهي:

عصاره‌هاي گياهي به روش ماسراسيون تهيه‌شد. بدين‌منظور۵۰گرم از گياه خردشده به ارلن يك‌ليتري انتقال و به كمك ۴۰۰ ميلي‌ليتر الكل اتيليك ۷۰درجه به‌مدت يك روز خيسانده و سپس به مدت يك‌ساعت روي دستگاه شيكر تكان‌داده‌شد. با استفاده از قيف بوخنر محتويات ارلن صاف و از تفاله باقيمانده مجدداً و براي دو بار ديگر

عصاره‌گیري شد. در مرحله آخر حاصل‌هاي صافي به هم اضافه و با دستگاه تقطیر در خلأ خشک گردید. در نهایت با استفاده از عصاره‌هاي خشک‌شده، غلظت‌هاي ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۵ میلي‌گرم درمیلي‌لیتر از عصاره درحلال دي‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) تهیه گردید.

ج) تهیه هپاتوسیت‌ها:

براي تهیه هپاتوسیت‌ها، رت‌ها را با کلروفرم بیهوش کرده و پس از کشتن آن‌ها، حیوان با سوزن در روي صفحه مقوایي از پشت ثابت شد. سپس حفره شکمي باز و قسمت احشاي شکمي کنار زده شد تا کبد کاملاً نمایان گردد. در مرحله بعد رگ‌هاي واردکننده و خارج‌کننده خون به کبد (ورید باب و ورید اجوف تحتاني) توسط نخ کاملا مسدود شد. پس از کانوله‌کردن رگ‌هاي کبد، با یک سرنگ ۲۰ میلي لیتري، محلول هانک بدون کلسیم از مسیر ون‌ست تعبیه شده در روي ورید باب آرام آرام به داخل کبد وارد شد تا خون موجود در کبد خارج گردد. پس ازعاري‌شدن کبد از خون وسفیدشدن کامل آن، کبد توسط قیچي جدا گردید و به داخل محلول بافرتریس (به عنوان محلول انکوباسیون) قرار داده شده در روي یخ، انتقال داده شد. پس از شستشوي کبد با محلول تریس، کبد به قطعات کوچک تقسیم و به درون لوله هموژنایزر انتقال داده شد و ضمن اضافه‌نمودن محلول بافرتریس، بافت کبدي با دستگاه هموژنایزر کاملاً هموژن گردید. سوسپانسیون سلولي حاصله ابتدا از صافي با مش ۸۰ و سپس ۲۰۰ عبور داده شد تا بافت همبند آن جداگردد(۲۰). در نهایت هپاتوسیت‌هاي جداشده به مدت ۳ دقیقه سانتریفوژ گردیده، رسوب سلولي جدا و مجدداً توسط محلول انکوباسیون شسته شد.

د) تهیه‌سوسپانسیون سلولي با غلظت‌مشخص:

پس از شستشو، هپاتوسیت‌ها با محلول انکوباسیون رقیق و یک‌میلي‌لیتر آن با رنگ تریپان بلو رنگ‌آمیزي شده و تعداد سلول‌هاي رنگ‌نشده که مربوط به سلول‌هاي زنده است، در روي لام

شمارش گردید. همچنین توسط لام نئوبار تعداد سلول‌ها در سوسپانسیون اولیه شمارش و بر اساس اعداد به‌دست‌آمده، سوسپانسیون‌ها تا رسیدن به غلظت سلولي 10^6 سلول‌زنده در میلي‌لیتر رقیق‌گردیدند(۲۱). سوسپانسیون‌هاي تهیه‌شده در روي یخ قرار داده شد.

هـ) اندازه‌گیري پراکسیداسیون لیپیدها:

۱) مالون‌دي‌آلدئید: یکي ازمحصولات واکنش پراکسیداسیون لیپیدها، ترکیب مالون‌دي‌آلدئید (MDA) است. مالون‌دي‌آلدئید قادر است با تیوباربیتوریک اسید واکنش رنگي دهد که غلظت رنگ ایجادشده متناسب با مقدار مالون‌دي‌آلدئید است (۲۲). براین اساس، در این تحقیق براي بررسي تأثیرات آنتي‌اکسیداني عصاره‌هاي گیاهي از روش مذکور استفاده گردید.

آزمایش توسط دوسري لوله (یک‌سري از لوله‌ها براي آزمایش‌هاي آنزیمي در نظر گرفته شد) به‌طور همزمان انجام‌گردید. درابتدا ۲ میلي‌لیتر از سوسپانسیون سلولي و سپس مقدار کافي از ترشیوبوتیل‌هیدروپراکسید (tBH) در دي‌متیل سولفوکساید را وارد هر لوله نموده تا غلظت tBH در محلول نهایي ۱/۵ میلي‌مولار شود. در مرحله بعدي به لوله‌هاي آزمایش۰/۱میلي‌لیتر از هرغلظت عصاره گیاهي (براي لوله‌هاي کنترل به میزان ۰/۱ میلي‌لیتر دي‌متیل سولفوکساید) اضافه‌گردید. لوله‌هاي آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در دماي ۳۷ درجه سانتي‌گراد انکوبه شد تا عصاره‌هاي گیاهي فرصت عمل براي محافظت غشا از اکسیداسیون را پیدا نمایند. پس از انکوباسیون، از هر لوله ۱ میلي‌لیتر سوسپانسیون را برداشته و به سري دوم لوله (حاوي ۲ میلي‌لیتر تري‌کلرواستیک اسید ۱۰%) انتقال داده تا محیط دپروتوئینه گردد. لوله‌ها را سانتریفوژ نموده، ۲میلي‌لیتر از محلول فوقاني به سري سوم لوله‌ها انتقال داده شد. درلوله‌هاي جدید ۲ میلي‌لیتر

محلول تیوباربیتوریک اسید ۱% اضافه وسپس به مدت ده دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند تا واکنش رنگي صورت پذیرد. پس از مدت زمان ذکرشده لوله‌ها سرد و جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیري وازفرمول C=A:۱۵۳۰۰۰ غلظت MDA بر حسب مول در لیتر محاسبه شد (۲۲و۲۳).

۲) اندازه‌گیري فعالیت آنزیم‌هاي آزادشده: به منظور اندازه‌گیري آنزیم‌هاي آزادشده، ابتدا سوسپانسیون باقیمانده در لوله‌هاي سري اول به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژگردید تا سلول‌هاي آن ته‌نشین شود. سپس محلول رویي که حاوي آنزیم‌هاي آزادشده از سلول مي‌باشند، در فریزر ۲۰- درجه سانتي‌گراد نگهداري و آزمایش‌هاي آنزیمي در روي آن انجام شد.

چون آنزیم‌هاي LDH وSGOT درون‌سلولي هستند، درصورتي که براثر پراکسیداسیون لیپیدي به غشاي سلول آسیب رسانده شود، این آنزیم‌ها از سلول خارج شده، وارد محیط مي‌گردند که با توجه به میزان فعالیت آن‌ها مي‌توان به میزان پراکسیسداسیون لیپیدي پي برد.

فعالیت آنزیم LDH با استفاده از روش کالریمتري وبا استفاده ازکیت‌هاي LDL ساخت کارخانه درمان‌کاو و به روش ذکرشده دردستورالعمل آن انجام گرفت. ابتدا سوبسترا (پیروات) در مقابل LDH قرارمي‌گیرد ودرنتیجه مقداري ازآن احیا و به L-Lactate تبدیل مي‌شود. پیروات باقیمانده بامعرف ۲،٤-دي‌نیتروفنیل‌هیدرازین تولید هیدرازون مي‌کند که رنگي بوده وجذب ماکزیمم آن درمحدوده طول موج ۵۵۰- ٤۰۰ نانومتر است. هرچه فعالیت آنزیم بیشتر باشد، مصرف پیروات بیشتر بوده ودرنتیجه شدت رنگ حاصل کمتر است(۲۴).

براي اندازه‌گیري فعالیت آنزیم SGOT از کیت ساخت کارخانه زیست شیمي استفاده شد. اساس اندازه‌گیري با این کیت متد کالریمتري است که طبق واکنش زیر طراحي گردیده است:

$$\text{L-Aspartate+2-Oxoglutarate} \xrightarrow{GOT} \text{Oxalacetate+Glutamate}$$

بعد ازانجام واكنش فوق، اگسال‌استات حاصل دكربوكسيله شده ، ايجاد پيروات مي‌نمايد. پيروات با۲،۴- دي‌نيتروفنيل هيدرازين تشكيل هيدرازون كرده كه در محيط قليايي قهوه‌اي مي‌گردد. فعاليت آنزيم با اندازه‌گيري جذب رنگ حاصله ، در ۵۰۵ نانومتر و با استفاده از منحني استاندارد محاسبه مي‌شود. از آنجا كه پيروات توليدشده متناسب با فعاليت آنزيم SGOT است، هرچه فعاليت آنزيم بيشتر باشد، پيروات بيشتري توليد و در نتيجه شدت رنگ حاصله بيشتر خواهد شد؛ بنابراين فعاليت آنزيم با جذب نور نسبت مستقيم دارد(۲۴).

براساس دستورالعمل ذكرشده توسط شركت سازنده كيت و با توجه به منحني همراه آن، فعاليت آنزيم براي هرنمونه مشخص گرديد.

يافته‌ها:

الف) نتايج حاصل از تهيه عصاره گياهي:

پس ازخشك‌نمودن عصاره‌هاي گياهي، درصدعصاره تام آن‌ها محاسبه شد. درصد عصاره به‌دست‌آمده از هريك از گياهان مورد استفاده را مي‌توان در جدول ۱ مشاهده نمود.

ب) اثر آنتي‌اكسيداني عصاره‌هاي تام گياهان مورد بررسي:

تعداد ۲×۱۰^{۶} سلول كبد رات تهيه شده به عنوان سيستم حساس به پراكسيداسيون (توسط ماده اكسيدكننده tBH) و درحضور غلظت‌هاي مختلف عصاره‌هاي تام (mg/ml ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۵) مورد بررسي قرارگرفت و مقدار درصد كاهش MDA در حضور عصاره‌هاي مختلف گياهي محاسبه گرديد. نتايج به‌دست آمده از اين مطالعه در جدول ۲ مشاهده مي‌گردد. براي بررسي آماري نتايج ازآزمون Student's t-Test استفاده گرديد.

همچنين دو غلظت (mg/ml ۰/۰۵ و ۰/۰۱) عصاره‌هاي گياهي به منظور بررسي آزمايش‌هاي آنزيم‌هاي درون سلولي انتخاب گرديدند. نتايج حاصل از تأثير عصاره‌هاي گياهي در ميزان ترشح SGOT وLDL در جدول‌هاي ۳ و ۴ مشاهده‌مي‌گردد.

همان‌طور که از نتایج ذکرشده در جداول مشخص است، عصاره آویشن دنایي قادر به ایجاد اثر آنتي‌اکسیداني بوده، چنانکه غلظت ۰/۰۵ میلي‌گرم بر میلي‌لیتر عصاره آویشن دنایي۳٤% مقدار تولید MDA و به‌ترتیب ۱۶% و۲۳% میزان آزادشدن SGOT و LDL را به صورت معناداري کاهش داده است.

Čğp/Σ - درصد عصاره‌هاي تام گیاهان مورد استفاده.

نام گیاه	آویشن	اسطوخودوس	بادرنجبویه	بادرشبویه	مریم گلي	زرین گیاه
درصدعصاره تام	٤/۷	۸/٤	۷/۲	۷/۲	۸/۷	۱۰/۳

ĥğp/Σ - مقایسه درصد کاهش میزان تولید MDA طي پراکسیداسیون براثر مجاورت با عصاره‌هاي تام گیاهي.

نوع گیاه	غلظت عصاره (nm/ml)	کنترل	آزمایش	درصد کاهش
آویشن دنائي	۰/۰۵	٦۹۹/ ۳ ± ۳٤/۱	٤٦۱/٦ ± ٦۰/٦	%۳٤*
	۰/۰۱	۷٤۰/٦ ± ۹۸/۱	٦٥۱/۳ ± ۸۰/۷	%۱۲
	۰/۰۰٥	٦۸٦/۳ ± ۸٦/۱	٥۹۰/۳ ± ٦۸/٥	%۱۳
اسطوخودوس	۰/۰۵	۱۲۰۱/ ٦ ± ۱۲۲/۱	۹۳۳/٦ ± ۱۷۸/۸	%۲۲
	۰/۰۱	۱۲٦۸/۰ ± ۱٥٤/۱	± ۲٥٥/۲	%۱٤
	۰/۰۰٥	۱۲۳۰/۰ ± ۱۳۱/۱	۱۰۹۱/۱ ± ۲۳۸/٦ ۱۱۲۸/۰	%۸
بادرنجبویه	۰/۰۵	٦۰۱/ ۳ ± ٤۲/۸	٤۲۲/۳ ± ٦٦/۱	%۳٤*
	۰/۰۱	٦۰۳/۳ ± ۲۹/٥	٤۹۰/۰ ± ۲۸/۷	%۱۹*
	۰/۰۰٥	٦۰۳/۳ ± ۳۰/٤	٥۳۱/٦ ± ۳۰/۰	%۱۲*
بادرشبویه	۰/۰۵	۱۳٦۷/ ۰ ± ٦۰۳/۱	± ٤۳۷/۳	%۱۷
	۰/۰۱	۱٤۳٦/٦ ± ٥۹۷/۸	۱۱۲٦/٦	%۱۱

	۰/۰۰۵	۱۵۴۳/۳ ± ۵۶۹/۷	± ٦٤٥/٩ ۱۲۷۷/۰ ± ٦٩٨/٠ ۱۳۸۲/۰	%۱۰
مريم گلي	۰/۰۵ ۰/۰۱ ۰/۰۰۵	۱۲۰۰/ ۰ ± ۲۰۱/۷ ۱۲۳۰/۱ ± ۱۵۳/۹ ۱۱۹۲/۳ ± ۱٦٤/٦	۷٦۲/۳ ± ۱۳۷/۵ ۹۲٤/۰ ± ۹۰/۵ ± ٤٨١/٢ ۱۱٦۰/۰	%۳٦* %۲٦* %۳*
زرين گياه	۰/۰۵ ۰/۰۱ ۰/۰۰۵	۱۱۰۰/ ۰ ± ۷۸/۱ ۱۱۵٦/٦ ± ۲۱۰/۷ ۱۱۷٦/٦ ± ۸۷/۳	۸۳۲/۳ ± ۸۷/۱ ± ۲۰٦/۵ ۱۰٤۲/۳ ± ۲۰۸/٤ ۱۰۵٦/٦	%۲٤* %۱۰ %۸

- نتايج، حاصل سه مرتبه تكرار آزمايش است.
- اعداد ستاره‌دار از لحاظ آماري معنادار مي‌باشند ($p \leq ۰/۰۵$) .

درمورد گياه اسطوخودوس، به‌رغم ايجاد كاهش درمقادير پارامترهاي مورد بررسي، كاهش‌هاي ايجادشده معنادار نبوده و براي ايجاد اثر مطلوب و معنادار به‌غلظت‌هاي بالاتري از عصاره گياه نيازاست.

در مورد عصاره تام گياه بادرنجبويه، غلظت‌هاي ۰/۰۵ و ۰/۰۱ ميلي‌گرم بر ميلي‌ليتر كاهش‌هاي معناداري را دركاهش پارامترهاي مورد بررسي ايجاد كرده است، چنانكه در غلظت‌هاي ۰/۰۵، ۰/۰۱ و

Hğ‹ÿΣ-مقايسه ميزان اثر عصاره‌هاي گياهي دركاهش درصد SGOT آزاد شده ازهپاتوسيت‌ها طي آسيب غشاي سلولي.

نوع گياه	غلظت عصاره (mg/ml)	كنترل (IU/lit)	آزمايش (IU/lit)	درصد كاهش
آويشن	۰/۰۵	۸۰٤/۰ ± ۷/۱	٦۷۸/۳ ± ۷/۱	%۱٦*

دنائي	۰/۰۱	۷۵٦/۰ ± ۷/۱	٦۷۱/۰ ± ٥/٦	%۱۱
اسطوخودوس	۰/۰٥	۱٥۹٦/۰±٦٥/۱	۱۲۷۳/۳ ± ٦٦/٤	%۲۰
	۰/۰۱	۱۳۳۳/۰±٦٤/٥	۱۲٥۹/٥ ± ٦٤/۳	%٦
بادرنجبویه	۰/۰٥	۲۱۲/۲ ± ۱۷/۳	۱٥۲/۰ ± ۱٤/۱	%۲۸*
	۰/۰۱	۲٦۸/۰ ± ۳۱/۱	۲۲۲/۰ ± ۳۳/۹	%۱۷*
بادرشبویه	۰/۰٥	۱۰۳۹/۲±٤۱/۰	۸٦۷/۰ ± ۳۸/۲	%۱٦
	۰/۰۱	۹۳۲/٥ ± ۳۸/۸	۸٤۷/٥ ± ۳۱/۸	%۹
مریم گلي	۰/۰٥	۱٥٥٦/۰±٥٦/٥	٦۸۳/٥ ± ٦۰/۱	%٥٦*
	۰/۰۱	٦۳۲/۰ ± ٥٦/٥	۲۸۲/۰ ± ٥٦/٥	%۳*
زرین گیاه	۰/۰٥	۱٥۹۸/۰ ± ۲/۸	۱۰۲۲/٥ ± ۳/٥	%۳٦*
	۰/۰۱	۱٤۰۸/۰±۱۱/۳	۱۱٥۷/۰ ± ۹/۹	%۱۸

- نتایج حاصل سه مرتبه تکرار آزمایش است. - اعداد ستاره داراز لحاظ آماري معنادار مي باشند ($p \leq ۰/۰٥$).

۰/۰۰٥ میلي‌گرم بر میلي‌لیتر از عصاره تام، میزان تولید MDA به ترتیب ۳۴ ، ۱۹ و ۱۲ درصد کاهش یافته است. همچنین ترشح SGOT در غلظت‌هاي ۰/۰٥ و ۰/۰۱ به ترتیب ۲۸ و ۱۷درصد و میزان LDL نیز به ترتیب ۲۳ و ۳ کاهش یافته است.

غلظت‌هاي به‌کاررفته از عصاره گیاه بادرشبویه به‌منظور ایجاد اثر آنتي‌اکسیداني، نتایج معناداري را ارائه ننمود و لذا به‌نظر مي‌رسد براي ایجاد تأثیرات مطلوب به غلظت‌هاي بالاتري ازعصاره این گیاه نیاز است.

عصاره گیاه مریم‌گلي نیز دربین گیاهان مورد بررسي داراي تأثیرات جالب آنتي‌اکسیداني بوده و براساس نتایج‌حاصل از این تحقیق، عصاره‌هاي با غلظت‌هاي ۰/۰٥، ۰/۰۱ و ۰/۰۰٥ میلي‌گرم بر میلي‌لیتر از این گیاه مقدار MDA را به‌ترتیب ۳۶ و ۲۶ و ۳ درصد به‌صورت معناداري کاهش داد. همچنین غلظت‌هاي ذکرشده سبب کاهش ترشح SGOT به مقدار ٥۶ و ۳

درصد و كاهش ۵۵ و ۱درصد در مقدار ترشح LDL گرديد. زرين‌گياه تنها با غلظت ۰/۰۵ ميلي‌گرم بر ميلي‌ليتر به‌طور معناداري اثر آنتي‌اكسيداني از خود ارائه نمود. در غلظت ذكرشده عصاره تام اين گياه ۲۴ درصد مقدارMDA ، ۳۶درصد مقدار SGOT و ۱۰ درصد مقدار LDL را كاهش داد.

ħğp/Σ- مقايسه ميزان اثر عصاره‌هاي گياهي دركاهش درصد LDL آزادشده ازهپاتوسيت‌ها طي آسيب غشاي سلولي.

نوع گياه	غلظت عصاره (mg/ml)	كنترل (IU/lit)	آزمايش (IU/lit)	درصد كاهش
آويشن دنايي	۰/۰۵ ۰/۰۱	۲۳۸۷/۷ ± ۷/۴ ۲۱۳۵/۴ ± ۷/۲	۱۸۴۴/۶ ±۱۰/۰ ۱۸۱۲/۵ ±۱۴/۱	%۲۳* %۱۵
اسطوخودوس	۰/۰۵ ۰/۰۱	۳۹۸۴/۴ ±۹/۶ ۳۸۱۴/۳ ±۷/۵	۳۹۱۴/۸ ±۱۱/٤ ۳۷۵۸/۰ ±۴/ ۱	%۲ %۱
بادرنجبويه	۰/۰۵ ۰/۰۱	۲۹۹۱/۸ ±۸۹/۱ ۲۱۸۳/۳ ±۸۲/۰	۲۲۹۶/۳ ±۸۷/۷ ۲۱۲۴/۰ ±۸۴/۱	%۲۳* %۳*
بادرشبويه	۰/۰۵ ۰/۰۱	۵۹۶۷/۶ ±۱۲/۶ ۵۹۰۱/۱ ±۱۴/۴	۵۶۶۴/۰ ±۱۶/۶ ۵۸۲۴/۷ ±۱۸/۵	%۵ %۱
مريم گلي	۰/۰۵ ۰/۰۱	۳۹۵۷/۲ ±۳۵/۶ ۳۹۸۱/۹ ±۳۰/۸	۳۸۶۱/۲ ±۳۸/۵ ۳۹۳۱/۸ ±۲۸/۴	%۵۵* %۱*
زرين گياه	۰/۰۵ ۰/۰۱	۳۷۸۷/۵ ±۲۱/۲ ۳۹۴۶/۸ ±۱۶/۸	۳۴۲۷/۶ ±۲۱/۸ ۳۷۶۲/۷ ±۱۷/۷	%۱۰* %۵

- نتايج حاصل سه مرتبه تكرار آزمايش است.
- اعداد ستاره‌دار از لحاظ آماري معنادار مي‌باشند($p \leq ۰/۰۵$) .

با توجه به نتايج به‌دست آمده مشخص مي‌شود كه عصاره بادرنجبويه در غلظت كمتري از ساير عصاره‌ها به‌طور معنادار سبب كاهش پارامترهاي مورد بررسي شده است و لذا تأثيرات آنتي‌اكسيداني قابل‌توجه‌تري دارد.

بحث:

مقالات متعددي در مورد تأثیرات آنتي‌اکسیداني ترکیبات مختلف در گیاهان گزارش شده است (۲۷-۲۵). به عنوان مثال، در بررسي درخصوص ترکیبات فنلي عصاره انگور، مشخص شده است که عصاره پلي فنلیک انگور قادر به مهار پراکسیداسیون LDL مي‌باشد(۱۱). از جمله ترکیبات فنلي موردتوجه محققین در این زمینه فلاونوئیدها هستند که طي تحقیقات متعددي به بررسي تأثیرات آنتي‌اکسیداني آن‌ها پرداخته شده است(۳۱-۲۸).

گرچه تاکنون ترکیبات آنتي‌اکسیدان متعددي متعلق به دستجات شیمیایي متفاوت گزارش شده است، ولي درگیاهان دارویي توجه بیشتر معطوف به ترکیبات فنلي (به‌عنوان ترکیبات آنتي‌اکسیدان) مي‌باشد. ترکیبات پلي‌فنلي به علت ساختمان ویژه و وجود گروه‌هاي فعال از جمله پیوندهاي دوگانه و گروه‌هاي هیدروکسیل متعدد داراي تأثیرات فارماکولوژیک متنوعي مي‌باشند که از آن جمله اثر آنتي‌اکسیداني را مي‌توان نام برد. به‌عنوان مثال، مجموعه فلاونولیگنان‌هاي سیلیمارین در گیاه خار مریم داراي ظرفیت ضد رادیکال آزاد بسیار جالبي بوده است و پراکسیداسیون لیپیدي را در مدل‌هاي آزمایشي به‌خوبي مهار مي‌کند(۳۱و۳۲). همچنین فلاونوئیدهاي مختلف موجود در بسیاري ازگیاهان دیگر در زمینه تأثیرات آنتي‌اکسیداني مورد بررسي قرار گرفته‌اند(۳۰-۲۸). نتایج حاصل از این مطالعات بیانگر این است که این دسته از ترکیبات مي‌توانند به‌عنوان ترکیبات جدید و مؤثر آنتي اکسیدان مطرح گردند. همچنین این موضوع از آنجا اهمیت بیشتري مي‌یابد که به غیرسمي‌بودن اکثر این ترکیبات نیز توجه نماییم. از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه عمده موجود درگیاهان خانواده نعناع نیز مي‌توان به اسانس‌ها وترکیبات فنلي از جمله فلاونوئیدها اشاره نمود، لذا این احتمال وجود دارد که عامل اصلي بروز تأثیرات آنتي اکسیداني گیاهان مورد بررسي ترکیبات ذکرشده باشند.

References:

1. Porter NA, Wujek DG. Reactive oxygen species in chemistry, biology and medicine. New York: Plenum Press; 1988, PP. 55-79.
2. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's biochemistry. 24th ed. Appleton & Lange; 1996, PP.146-157.
3. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol 1978; 52: 302-310.
4. Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of super oxide production. Biochim Biophys Acta 1991; 1057: 281-298.
5. Biesalski HK, Frank J. Antioxidants in nutrition and their importance in the anti-oxidative balance in the immune system. Immun Infekt 1995; 23(5): 166-173.
6. Leuke DS, Rankin SM. The oxidative modification of LDL by macrophages. Biochem J 1990; 270: 741-748.
7. Puppo A, Halliwell B. Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron, is hemoglobin a biological Fenton reagent? Biochem J 1988; 249 (1): 185-190.
8. Cross C, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM. Oxygen radical and human diseases. Ann Int Med 1987; 107(4): 526-545.
9. Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. Elsevier Amsterdam 1994; 46:113-125.
10. Martin A, Wu D. Meydani SN, Blumberg JB, Meydani M. Vitamin E protects human aortic endothelial cells from cytotoxic injury induced by oxidized LDL in vitro. Nutr Biochem 1998; 9: 201-208.
11. Lanningham-Foster L, Chen C, Chance DS, Loo G. Grape extract inhibits lipid peroxidation of human low density lipoprotein. Biol Pharm Bull 1995; 18(10): 1347-51.
12. Steinberg D. Clinical trials of antioxidants in arteriosclerosis: are we doing the right thing?. Lancet 1995; 346 (8966): 36-38.
13. Dicorleto PE, Chisolm GM. Participation of the endothelium in the development of the atherosclerotic plague. Prog Lipid Res 1986; 25: 365-374.

14. Singh RB, Niaz MA, Rastogi SS, Rastogi S. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1996; 77: 232-236.

15. Sato H, Takahashi T, Ide H, Fukushima T, Tabata M, Sekine F, Kobayashi K, Negishi M, Niwa Y. Antioxidant activity of synovial fluid, hyaluronic acid, and two subcomponents of hyaluronic acid: Synovial fluid scavenging effect is enhanced in rheumatoid arthritis patients. Arthritis Rheum 1988; 31(1): 63-71.

16. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996; 334: 1150-1155.

17. Palozza P, Lubertoc C, Ricci P, Sgarlata E, Calviello G, Bartoli GM. Effects of beta-carotene and canthaxanthin on tert-butyl hydroperoxide- induced lipid peroxidation in murine normal and tumor thymocytes. Arch Biochem Biophys 1996; 325(2): 145-151.

18. Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Matsuako S, Ohishi N, Yagi K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. Biochem Med 1979; 21(1): 104-107.

19. Dong Y, Venkatachalam TK, Narla RK, Trieu VN, Sudbeck EA, Uckun FM. Antioxidant function of phenethyl-5-bromo-pyridyl thiourea compounds with potent anti-HIV activity. Bioorg Med Chem Lett 2000; 10 (1): 87-90.

20. Suzangar M, Dickson J. Biochemical studies on cell isolated from adult rat liver. Exp Cell Res 1970; 63: 353-364.

21. Cook JA, Mitchell JB. Viability measurements in mammalian cell system, Anal Biochem 1989; 179:1-7.

22. Kostner K, Hornykewycz S, Yang P, Neunteufl T, Glogar D, Weidinger F, Maurer G, Huber K. Is oxidative stress causally linked to unstable angina pectoris? A study in 100 CAD patients and matched controls. Cardiovasc Res 1997; 36(3): 330-336.

23. Joyeux M. t-Butyl hydro peroxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: A model for studying anti-hepatotoxic crude drugs. Planta Medica 1990; 56:171-74.

24. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz NW, Border B. Tietz fundamentals of clinical chemistry. London: WB Saunders Co; 2000; PP. 229-301, 308-341.

25. Marinova EM, Yanishlieva NV. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in Sunflower oil. Food Chem 1997; 58(3): 245-248.

26. Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. Active oxygen scavengering activity of plant exrtracts. Biol Pharm Bull 1995; 18(1): 162-166.

27. Laughton MJ, Halliwell B, Evans PJ, Hoult JRS. Antioxidant and prooxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin dependent damage to DNA. Biochem Pharmacol 1989; 38(17): 2859-2865.

28. Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effect and bioavailability. Food Chem Toxic 1999; 37: 937-942.

29. Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM, Jang J. Plant flavonoids especially tea flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart diseases. J Agric Food Chem 1995; 43(11): 2800-2802.

30. Minoggio M, Bramati L, Simonetti P, Gardana C, Iemoli L, Santangelo E, Mauri PL, Spigno P, Soressi GP, Pietta PG. Polyphenol pattern and antioxidant activity of different tomato lines and cultivars. Ann Nut Metabolism 2003; 47: 64-69.

31. Valenzuela A, Guerra R, Videla LA. Antioxidant properties of the flavonoids silybin and (+)-cyanidanol-3: comparison with butylated hydroxylanisol and butylated hydroxyltoluene. Planta Medica 1986; 438-440.

32. Burgess CA. Silybum marianum. J Pharmacy Soci Wisconsin 2003; 38-40.