Archive of SID

بررسی سمیت سلولی عصاره دانه گیاه اسفند و ارتباط آن با میزان آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی موجود در عصاره

دکتر آرمین مددکارسبحانی I
دکتر سلطان احمد ابراهیمی II
دکتر محمود هورمند III
دکتر ناهید رهبر روشندل IV
*دکتر مسعود محمودیانV

چکیده

عصاره دانه گیاه اسفند (Peganum harmala L.) از جمله اجزای تشکیل دهنده یکی از فرآورده‌های گیاهی بومی بکار رفته جهت درمان سرطان در ایران است. آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی نظیر هارمین و هارمالین قسمت اعظم ترکیبات فعال موجود در اسفند را تشکیل می‌دهند. در پژوهش حاضر از روش تغییر یافته آزمون رنگسنجی MTT (۳-(٤و ٥ – دی‌متیل تیازول ۲-ایل)- ۲، ٥-دی‌فنیل تترازولیوم برماید) جهت تعیین سمیت سلولی عصاره دانه‌های اسفند و آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی آن روی سه رده سلولی HFFF-P16، Hela و KB استفاده شد. در این روش ملح تترازولیوم MTT که زرد رنگ است توسط آنزیمهای دهیدروژناز موجود در میتوکندری سلولهای فعال به ترکیب غیرمحلول و ارغوانی رنگ فورمازان تبدیل می‌شود. جذب این ترکیب پس از حل شدن در DMSO در ٥٧٠ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. میزان سمیت سلولی در بین ترکیبات مورد مطالعه با توالی هارمین> هارمن > هارمالین > عصاره کاهش نشان می‌دهد. تعیین مقدار آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی در عصاره با استفاده از روش HPTLC و مقایسه آن با نتایج حاصل از آزمون سمیت سلولی نشان داد که فعالیت بیولوژیک عصاره ارتباط مستقیمی با میزان آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی موجو در آن (بویژه مقدار هارمین) دارد.

کلید واژه‌ها: ۱ – سمیت سلولی ۲ – آزمون رنگسنجی MTT ۳ – بتا ـ کاربولین ۴ – شیمی درمانی سرطان ۵ - HPTLC

مقدمه

اسفند با نام علمی .Peganum harmala L گیاهی پایا و بدون کرک از تیره Zygophyllaceae است که به ارتفاع ۱۰۰-۳۰ سانتیمتر و بعرض ۱۵۰-۱۰۰ سانتیمتر رشد می‌کند. زیستگاه معمول آن سرزمینهای نسبتاً کم آب، مناطق جلگه‌ای و خاکهای شنی است.

منشاء اولیه آن آسیای مرکزی بود ولی امروزه در شمال آفریقا، خاورمیانه، هند، جنوب غربی آمریکا و استرالیا نیز رشد می‌کند(۱). در ایران، اسفند در حاشیه کویر، در مسیر راه تهران ـ اصفهان، تهران ـ قزوین، اطراف کرج، جاده تفرش، بوشهر و نواحی شمالی می‌روید و بنامهای مختلفی از جمله اسفند و اسپند"Espand" (ایران)، Harmal(عراق)، Harmel(آفریقای شمالی)، Ozallaik(ترکیه)، Alharma(اسپانیا)، سداب آفریقایی(African Rue)، سداب سوری(Syrian Rue)، سداب مکزیکی(Mexican Rue)

این مقاله بخشی است از پایان نامه دکتر آرمین مددکار سبحانی جهت دریافت درجه دکترای تخصصی فارماکولوژی، به راهنمایی دکتر مسعود محمودیان و تحت مشاوره دکتر سلطان احمد ابراهیمی، ۱۳۸۰.

I) استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز علوم پایه، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران
II) استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز علوم پایه، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
III) استادیار،PHD فارماکولوژی، مرکز تحقیقات و آموزش علوم آزمایشگاهی، پارک شهر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
IV) استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز علوم پایه، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
V) استاد گروه فارماکولوژی، مرکز علوم پایه، بزرگراه شهید همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران (*مولف مسؤول).

www.SID.ir

Archive of SID

و سداب ترکی (Turkish Rue) معروف است(۲). برگهای آن به رنگ سبز روشن بطول ۵-۲/۵ سانتمیتر، پر آب، منشعب و شامل ۵-۳ قطعه نامنظم است. ساقه‌های آن زیگزاگی، چوبی و حاوی شاخه‌های متعدد است. گلهای آن دارای پنج گلبرگ سفید به پهنای ۳-۲/۵ سانتیمتر است. میوه آن بصورت کپسول سه خانه، بشکل کروی و بقطر ۱۵-۱۰ میلیمتر است که حین رسیدن از سبز به قهوه‌ای ـ نارنجی تغییر رنگ می‌دهد و از بالا توسط سه دریچه گشوده می‌شود.

هر خانه کپسول حاوی تعداد زیادی دانه است. دانه‌های آن زاویه‌دار، قهوه‌ای تیره، با بوی کاملاً مشخص و ابعاد ٤-۳×۲ میلیمتر است(۲).

دانه‌های اسفند در مناطقی که گیاه به صورت بومی رشد می‌کند دارای سابقه مصرف طولانی است. موارد مصرف آن بعنوان بخور و ادویه، القاء سقط، مخدر و مسکن، تقویت قوه باء (aphrodisiac)، محرک، آرامبخش، ایجاد قاعدگی، تهوع‌آور و ضد کرم ثبت شده است. بعلاوه گزارش شده است که برای درمان سیفلیس(هند)، تب(شمال آفریقا)، هیستری، مالاریا، درد اعصاب، پارکینسون، پرولاپس (prolaps) رحم، رماتیسم، قولنج، آسم و ناراحتیهای چشم نیز بکار می‌رود.

ترکیبات فعال اسفند عمدتاً شامل آلکالوئیدهایی است که بویژه در دانه و ریشه گیاه تجمع می‌یابند(۱).

بتا ـ کاربولینها (β-carbolines) نظیر هارمالین (harmaline)و هارمین (harmine) به تنهایی بالغ بر ٦۰% آلکالوئیدهای موجود در دانه را تشکیل می‌دهند.

مشتقات کینازولینی (quinazolines) همچون وسی‌سین (vasicine) و وسی‌سینون (vasicinone) دسته دیگری از آلکالوئیدهای یافت شده در اسفند هستند(۳).

اثرات روان تحریکی(psychoactive)دانه‌های اسفند ناشی از خاصیت مهارکنندگی آنزیم مونوآمین‌اکسیداز (MAO,Monoamine Oxidase) آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی آن است که موجب تحریک مغز و توهم بینایی (visual hallucination) می‌شود(٤). اثرات اسفند و آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی آن بر سیستم قلبی ـ عروقی عمدتاً شامل افت فشار خون، برادی‌کاردی و آریتمی قلبی است(۵).

مطالعات انجام شده در مصر و پاکستان نشان می‌دهد که عصاره اسفند بطور مشخص دارای اثرات قارچ‌کش (fungicidal) و باکتری‌کش (bactericidal) است که بیشتر این اثرات به هارمین (آلکالوئید) مربوط می‌شود(۹-٦).

یکی از فرآورده‌های گیاهی بومی که از مدتها پیش توسط مرحوم حکیم انالویی، از جمله درمانگران محلی در ایران، جهت درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گرفت مخلوطی از عصاره دو گیاه اسفند و زرین‌گیاه (Dracocephalum kotshyi BOISS) به نسبت ٤ به ۱ (۸۰% عصاره اسفند، ۲۰% عصاره زرین‌گیاه) است. از آنجا که بخش اعظم فرآورده ذکر شده را عصاره دانه‌های اسفند تشکیل می‌دهد و همچنین ترکیبات بتا ـ کاربولینی عمده‌ترین آلکالوئیدهای موجود در دانه این گیاه هستند، مطالعه حاضر جهت تعیین سمیت سلولی عصاره دانه‌های اسفند و بررسی رابطه آن با میزان آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی موجود در عصاره آن انجام شد.

روش بررسی

مواد شیمیایی مصرفی ـ کمپتوتسین (Camptothecin)، سولفات کینیدین (Quinidine sulfate)، هارمن هیدروکلراید، هارمین هیدروکلراید و هارمالین هیدروکلراید از شرکت SIGMA خریداری شد و با غلظت ۱۰μg/ml در مورد کمپتوتسین و ۵۰mg/ml در مورد سایر ترکیبات، در DMSO(dimethylsulfoxide) ساخت شرکت Merck حل گردید. محلولهای حاصل در دمای ۲۰°- نگهداری شدند.

تهیه عصاره ـ بخشهای هوایی گیاه اسفند از بیابانهای اطراف تهران جمع‌آوری گردیدند و پس از شناسایی، تحت شماره 6520TEH در هرباریوم دپارتمان فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران ثبت گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

به ۱۰ گرم از دانه‌های خشک و پودر شده گیاه اسفند ۲۰ میلی‌لیتر از حلال عصاره گیری (۵/۵ میلیمتر آب مقطر دوبار تقطیر، ٤/٥ میلی‌لیتر اتیل استات و ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵%) افزوده شده و پس از هم زدن کافی، بمدت ٤٨ ساعت در بن‌ماری $50^{\circ}c$ قرار داده شد.

پس از صاف کردن با کاغذ صافی، عصاره حاصل در خلاء و دمای پائینتر از $60^{\circ}c$ تغلیظ گردید تا عصاره کاملاً غلیظ، شامل ۷۰% مواد جامد (T.S.=۷۰) بدست آید. سپس عصاره مذکور در اجاق و دمای کمتر از $70^{\circ}c$، کاملاً خشک شد و با استفاده از آسیاب بصورت پودر در آمد. ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر حاصل در یک میلی‌لیتر DMSO حل شد و در دمای $-20^{\circ}c$ نگهداری گردید.

کروماتوگرافی بر روی صفحه نازک با کارکرد عالی ـ جهت تعیین مقدار آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی موجود در عصاره دانه‌های اسفند، از روش HPTLC (High Performance Thin-Layer Chromatography) استفاده شد.

در این روش از صفحات سیلیکاژل ٦٠ نوع F254 ساخت شرکت Merck به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتیمتر بعنوان فاز ثابت و از محلول متانول ـ آمونیاک غلیظ (۱/۵ : ۱۰۰) بعنوان فاز متحرک استفاده گردید.

لکه‌گذاری به حجم ۱۰ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه لکه‌گذار Desaga AC30 صورت گرفت. جهت آنالیز لکه‌ها از دستگاه چگالی سنج Desaga CD60 با طول موج تحریکی (λ_{ex})۳۲۰nmو طول موج تابش فلورسانس (λ_f)٤٢٠nm استفاده گردید.

جهت ترسیم منحنیهای کالیبراسیون، غلظتهای ۵، ۲۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از هارمالین و هارمین بعنوان استاندارد خارجی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از سولفات کینیدین با غلظت ۱۰۰µg/ml ـ بعنوان استاندارد داخلی ـ در تمامی استانداردها و همچنین نمونه مورد بررسی استفاده شد.

کشت سلولی ـ سه رده سلولی فیبروپلاست پوست حشفه جنین انسان، کارسینومای سلولهای اپیتلوئید گردن رحم انسان و کارسینومای اپیتلیال دهانی انسان ـ که مشخصات آنها در جدول شماره ۱ خلاصه شده است ـ از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سلولها در محیط RPMI 1640 (خریداری شده از شرکت SIGMA)، حاوی ۱۰% سرم جنین گاوی غیر فعال شده (FBS)، محلول پنی‌سیلین (۱۰۰ U/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰µg/ml) کشت داده شدند.

جدول شماره ۱- مشخصات رده‌های سلولی بکار رفته

مشخصات کلی سلولی	نام رده سلولی	کدبانک سلولی
فیبروبلاست حشفه جنین	HFFF-P16	NCBI C170
کارسینوم اپیتلیوم دهانه رحم	Hela	NCBI C115
کارسینوم اپیتلیوم مخاط دهان انسانی	KB	NCBI C152

آزمون سمیت سلولی ـ سمیت سلولی عصاره اسفند و آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی آن بر ضد سه رده سلولی قید شده در جدول شماره ۱، با استفاده از روش تغییر یافته آزمون رنگسنجی MTT (۳- (٤، ٥-دی‌متیل‌تیازول ۲-ایل)- ۲، ٥-دی فنیل تترازولیوم برماید) تعیین گردید(۱۰).

در این روش ملح MTT که زرد رنگ است، توسط آنزیمهای دهیدروژناز موجود در میتوکندری سلولهای فعال به ترکیب غیرمحلول و ارغوانی رنگ فورمازان تبدیل می‌شود.

جذب این ترکیب پس از حل شدن در DMSO در ۵۷۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. سه رده سلولی قید شده در محیط کشت RPMI 1640 که حاوی پنی‌سیلین (۱۰۰IU/mL)، استرپتومایسین (۱۰۰IU/mL)، L-گلوتامین (۲mmol) و ۱۰% سرم جنین گاو (FBS) بود در درمای $37^{\circ}c$ و در اتمسفر حاوی CO_2 ۵% انکوبه شدند.

سلولها در فلاسکهای T شکل به مساحت $75cm^2$، در ۱۵ میلی‌لیتر محیط و با اینوکولوم اولیه $1-2\times10^{6}$ سلول، شروع به رشد کردند(بسته به نوع رده سلولی سرعت رشد متفاوت بود).

پس از گذشت سه روز و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و

www.SID.ir

Archive of SID

با استفاده از تریپسین ـ ورسن (۰/۲۵% ـ ۱ mmol) جدا شد و پس از انتقال به لوله آزمایشهای استریل، بمدت ۸ دقیقه با شتاب ۱۲۰g (RCF=۱۲۰) سانتریفوژ شد. سپس سلولها بطور مجدد با کمک پیپت پاستور در محیط کشت تازه معلق شده و از آنها سوسپانسیون سلولی ($۱۰^{۵}$/mL) تهیه گردید. با استفاده از نمونه‌گیر (sampler) ۸ کاناله، ۱۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون (معادل $۱۰^{۴}$ سلول) درون چاهکهای پلیت ۹۶ خانه‌ای کف صاف (ویژه کشت سلولی) ریخته شد.

یک ردیف از چاهکها بدون سلول و فقط حاوی محیط کشت ـ بعنوان بلانک (blank) ـ و یک ردیف نیز حاوی محیط کشت و سلول ـ بعنوان شاهد (control) ـ نگهداشته شد.

پلیتها بمدت ۲۴-۱۸ ساعت درون انکوباتور نگهداری شدند تا سلولها از استرس ناشی از تریپسینه شدن به حالت عادی بازگردند. سپس ۱۰۰µl از ترکیبات مورد مطالعه (در ۱۰ رقت) به چاهکها اضافه شد (بنابراین غلظت نهایی ترکیبات مورد مطالعه در چاهکها به نصف تقلیل یافت).

غلظت نهایی DMSO در رقتهای تهیه شده از ترکیبات مورد آزمایش برابر ۰/۱% بود که در این غلظت، DMSO روی نمونه‌های شاهد (فاقد دارو) اثری نداشت. سلولها بمدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه شدند. سپس محیط درون چاهکها خالی و به هر چاهک ۵۰ µl از محلول MTT (۲mg/ml) اضافه شد.

پلیتها بمدت ۴-۳ ساعت انکوبه شدند. سپس محلول باقیمانده خارج و به هر چاهک ۱۰۰µl DMSO اضافه شد تا فورمازان (Furmazan) حاصله حل گردد.

پلیتها بمدت ۱۰ دقیقه در تکان دهنده قرار گرفتند. سپس جذب نوری فورمازان در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از خوانشگر پلیت (Plate reader) مدل Dynex MMX خوانده شد.

درصد حیات سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$(\text{درصد}) \times ۱۰۰ \quad \frac{(OD_{\text{بلانک}}-OD_{\text{شاهد}})}{(OD_{\text{بلانک}}-OD_{\text{بلانک}})}$$

در فرمول فوق، $OD_{\text{بلانک}}$، چگالی نوری (OD, Optical Density) چاهکهای بدون سلول و تنها حاوی DMSO است. $OD_{\text{شاهد}}$، نیز چگالی نوری چاهکهای حاوی سلول و MTT و فاقد ترکیبات مورد آزمایش است.

غلظتی از ترکیبات مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل دهد بعنوان IC_{50} در نظر گرفته شد.

نتایج

در روش HPTLC، هارمین و هارمالین موجود در عصاره بترتیب با مقادیر Rf برابر با ۰/۶۶ و ۰/۲۱ از یکدیگر تفکیک شدند، اما حضور هارمن (Rf=۰/۷۰) در عصاره محرز نگشت.

جهت تعیین مقدار هارمین و هارمالین در عصاره، نمودار نسبت سطح زیر قله (peak area) هر یک از آلکالوئیدها به سطح زیر قله سولفات کینیدین (Rf=۰/۴۰) ـ که بعنوان استاندارد داخلی بکار رفته بود ـ در برابر غلظت ترسیم گشت و دو منحنی استاندارد با شیبهای ۰/۰۲۷۴ (r^2=۰/۹۸۹۷) در مورد هارمین و ۰/۰۲۱۱ (r^2 =۰/۹۹۲۵) برای هارمالین بدست آمد.

با استفاده از میان‌یابی (interpolation) روی این دو منحنی، مشخص گردید که هر گرم از عصاره‌های خشک بترتیب حاوی ۵۵/۰ و ۷۹/۰ میلی‌گرم هارمین و هارمالین است. سمیت سلولی عصاره دانه‌های اسفند، هارمین، هارمن و هارمالین روی رده‌های سلولی HFFF-P16، Hela و KB مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج حاصل در مورد هر رده بترتیب در نمودارهای شماره ۳-۱ و مقادیر IC_{50} در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

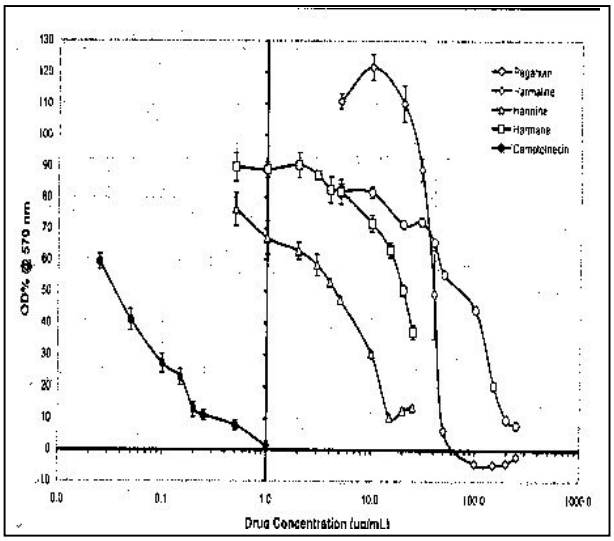
در هر مورد، اثرات کمپتوتسین ـ که از جمله معروفترین سموم توپوایزومراز I است ـ نیز بعنوان کنترل مثبت قید گردیده است.

شایان ذکر است که در مورد هر ترکیب یک آزمایش مستقل که ۸ بار در هر پلیت تکرار شد

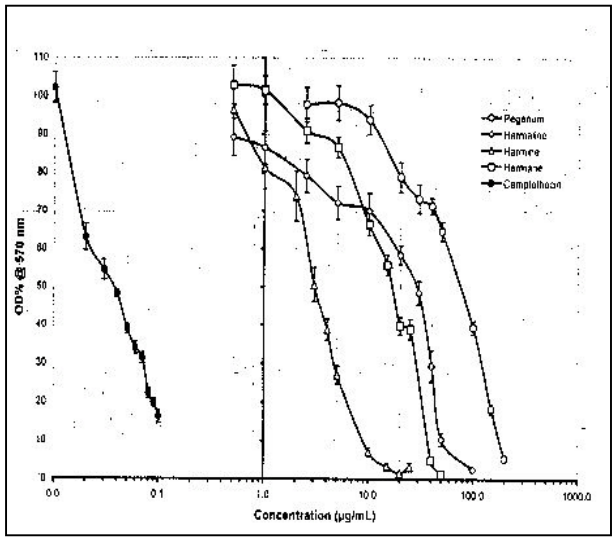
www.SID.ir

Archive of SID

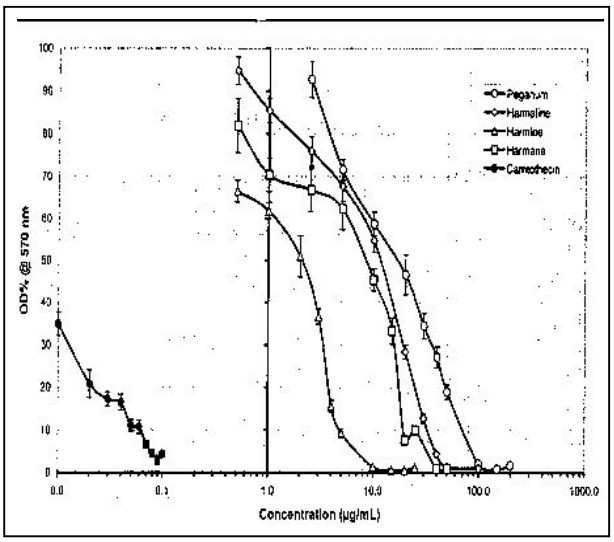
صورت گرفت و نقاط درج شده در نمودارها، غلظت میانگین ± خطای معیار میانگین برای ۸ بار تکرار (Mean concentration ±SEM) است. همانطور که مشاهده می‌شود، تنها هارمین روی تمامی رده‌های مورد مطالعه سمیت موثر (IC_{50}<٤ µg/mL) نشان داد. سمیت سلولی در بین ترکیبات مورد مطالعه با توالی هارمین > هارمن > هارمالین > عصاره، کاهش نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱- اثرات سایتوتوکسیک عصاره اسفند، هارمالین، هارمین هارمن و کمپتوتسین روی فیبروبلاست انسانی(HFFF-P16)



نمودار شماره ۲- اثرات سایتوتوکسیک عصاره اسفند، هارمالین، هارمین، هارمن و کمپتوتسین روی سلولهای Hela



نمودار شماره ۳- اثرات سایتوتوکسیک عصاره اسفند، هارمالین، هارمین، هارمن و کمپتوتسین روی سلولهای KB

جدول شماره ۲- مقادیر IC50 ترکیبات مورد مطالعه روی سلولهای فیبروبلاست انسانی، Hela و KB

ترکیب	IC_{50}(µg/mL) HFFF-P16	Hela	KB
کمپتوتسین	۰/۰۳٦	۰/۰۳٤	۰/۰۰٤۸
عصاره دانه‌های اسفند	۷۷/۵۹	۷٤/۵۳	۱٤/۷۳
هارمین	۳/۷۹	۳/۱۵	۱/٦۹
هارمن	۱۹/۳۲	۱٦/٦۸	٦/۸۸
هارمالین	۳۹/٤۲	۲۲/۲٤	۹/۵۲

بحث

نتایج بررسیهای HPTLC انجام شده در این مطالعه نشان می‌دهد که هارمالین و هارمین دو آلکالوئید عمده موجود در دانه‌های گیاه اسفند جمع‌آوری شده در ایران هستند که روی هم بیش از ۱۳% از وزن عصاره خشک را تشکیل می‌دهند. بعبارت دیگر ۱۳ : ۱ از وزن عصاره خشک را هارمالین و ۱۸ : ۱ آنرا هارمین تشکیل می‌دهد. این در حالی است که چنانچه هارمن در عصاره وجود داشته باشد، میزان آن پایینتر از محدوده تشخیص

www.SID.ir

Archive of SID

(detection limit) روش HPTLC بکار رفته بوده است. شایان ذکر است که بررسیهای HPTLC حضور مقادیر جزئی از هارمین را حتی در نمونه‌های خالص هارمالین تهیه شده از شرکت SIGMA نشان داد. این یافته می‌تواند بیانگر این فرضیه باشد که هارمین فرم پایدارتر هارمالین بوده و با قرار گرفتن در شرایط محیط، هارمالین بتدریج تبدیل به هارمین می‌شود.

بر اساس استاندارد تعیین شده توسط موسسه ملی سرطان آمریکا (NCI) حداقل IC_{50} لازم جهت تایید سمیت سلولی، در مورد عصاره تام گیاهی ۵۰ µg/ml و در مورد جزء فعال ٤ µg/ml است(۱۱و ۱۲).

لازم به تذکر است که هدف NCI از تعیین این دامنه باریک غلظت، کاهش موثر حجم بالای نمونه‌ها در مطالعات غربالگری با ظرفیت بالا(high throughput screening) می‌باشد و بهمین دلیل بسته به نوع مطالعه، اتخاذ معیار سمیت سلولی می‌تواند با انعطاف بیشتر و یا حتی کمتری صورت گیرد.

بر اساس این معیار و نتایج حاصل از آزمون سمیت سلولی روی رده‌های HFFF-P16، Hela و KB که در این مطالعه انجام شد، عصاره اسفند با IC_{50} کمتر از ۲۰µg/ml روی سلولهای KB و با غلظت ۷۵µg/ml روی دو رده دیگر (که به معیار تعیین شده از سوی NCI خیلی نزدیک است) عملاً واجد اثرات سمیت سلولی است. از سوی دیگر در بین آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی، تنها هارمین دارای سمیت موثر (effective toxicity) روی تمامی رده‌های سلولی مورد مطالعه بود و هیچ یک از دو آلکالوئید دیگر (هارمن و هارمالین) مقادیر IC_{50} برابر یا کمتر از ٤ µg/ml از خود نشان ندادند.

نکته قابل توجه در نتایج سمیت سلولی این است که نسبت IC_{50} عصاره اسفند به IC_{50} هارمین روی رده‌های سلولی HFFF-P16 و Hela بترتیب برابر با ۲۰ : ۱ و ۲٤ : ۱ بود که به نسبت مقدار هارمین در عصاره (۱۸ : ۱) نزدیک است و تنها در مورد سلولهای KB این مقدار به ۹ : ۱ تقلیل یافت. این امر می‌تواند ناشی از حساسیت بیشتر این سلولها باشد. این یافته نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین میزان هارمین در عصاره و سمیت سلولی مشاهده شده وجود دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره گیاه اسفند جمع‌آوری شده در ایران دارای اثر سمیت سلولی بوده و این امر ارتباط مستقیمی با میزان آلکالوئیدهای بتا ـ کاربولینی موجود در عصاره بویژه مقدار هارمین است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری جناب آقای دکتر غلامرضا امین مسؤول هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران در شناسایی نمونه گیاهی و جناب آقای دکتر محمد اسماعیل ذوالفقاری مدیر شرکت تماد در تهیه عصاره دانه‌های گیاه اسفند قدردانی و سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1- Loub WD, Farnsworth NR, Soejarto DD, et al. NAPRALERT: Computer handling of Natural product research data. J Chemical Info Comput Sciences; 1985; 25:99-103.

2- Rechinger KH: Flora Iranica. Graz: Akademische Druck Verlagsanstalt, 1982. pp 18-20.

3- Glasby JS: Encyclopedia of the alkaloids. London: Plenum Press, 1978. pp 658-661.

4- Udenfriend S, Witkop B, Redfield BG, et al. Studies with reversible inhibitors of 5-monoamine oxidase: harmaline and related compounds. Biochem Pharmacol; 1958; 1:160-165.

5- Aarons DH, Rossi GV, Orzechowski RF. Cardiovascular actions of three harmala alkaloids: harmine, harmaline, and harmalol. J Pharmaceut Sciences; 1977; 66:1244-1248.

www.SID.ir

Archive of SID

6- El-Rifaie ME-S. Peganum harmala: its use in certain dermatoses. Internat J Dermatol; 1980; 19:221-222.

7- Al-Sharma AS, Drake DL, Flynn L, et al. Antimicrobial agents from higher plants: Antimicrobial agents from Peganum harmala seeds. J Natur Produc; 1981; 44:745-747.

8- Ross SA, Megalla SE, Bishay DW, et al. Studies for determining antibiotic substances in some Egyptian plants. Part II. Antimicrobial alkaloids from the seed of Peganum harmala L. Fitoterapia; 1980; 51:309-312.

9- Ahmad A, Khan KA, Sultana S, et al. Study of the invitro antimicrobial activity of harmine, harmaline and their derivatives. J Ethnopharmacol; 1992; 35:289-294.

10- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: applications to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods; 1983; 65:55-63.

11- Mans DRA, Rocha ABD, Schwartsmann G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. Oncologist; 2000; 5:185-198.

12- Suffness M, Pezzuto JM. Assays for cytotoxicity and antitumor activity. In: Hostettmann K, ed. Methods in Plant Biochemistry. Vol. 6, London: Academic Press; 1991; pp71-133.

www.SID.ir