دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2018.116793.2223
جلد ۳۴، شماره ۳، صفحه ۴۷۷-۴۶۶ (۱۳۹۷)

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) تیمار شده با کیتوزان و تأثیر آن بر روی فاکتورهای کبدی و پروفایل چربی در رت‌های نر نژاد ویستار

شهریار سعیدیان[1*]، یوسف ولی‌زاده[2] و زینب امکی[3]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، پست الکترونیک: saeedyan@pnu.ac.ir

۲- دانشجوی دکترای تخصصی بیولوژی تولیدمثل نازایی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۶ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

چکیده

ریشه گیاه مریم‌گلی با نام علمی (*Salvia officinalis* L.) از خانواده نعناعیان از گذشته بسیار دور، به‌دلیل خواص دارویی مورد استفاده قرارگرفته است. در این تحقیق، نمونه گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان را پس از خشک‌کردن با استفاده از اتانول ۹۶٪ عصاره‌گیری نموده و حلال اتانول با استفاده از دستگاه روتاری از عصاره جدا گردید. برای انجام تحقیق از ۶۰ سر موش سفید آزمایشگاهی بزرگ نژاد ویستار نر بالغ استفاده شد. موش‌ها به ۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم‌بندی شدند که عصاره خوراکی مریم‌گلی و تیمار کیتوزان را با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای القاء اثر اکسیداتیو از داروی ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت گاواژ استفاده شد، همچنین برای مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان از روش DPPH به کمک ماده ۲،۲-دی‌فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل استفاده گردید. استفاده از عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی باعث کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول، LDL و ALP گردید و از سویی باعث افزایش HDL سرم شد. همچنین عصاره مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان باعث کاهش LDL، ALT و باعث افزایش HDL سرم گردید. ازاین‌رو با توجه به این اثرات مثبت استفاده از گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان نتیجه‌گیری شد که اثرات بهبوددهنده فاکتورهای ارزیابی‌شده قابل‌توجه است. همچنین در پایان آزمایش DPPH مشخص گردید که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با مریم‌گلی به‌مراتب بالاتر بود که حکایت از اثر مثبت تیمار کیتوزان بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های مریم‌گلی داشت. نتایج این تحقیق نیز مهر تأییدی بر اثرات مخرب داروی ایزونیازید بر سلول‌های بدن بود.

واژه‌های کلیدی: مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، کیتوزان، پارامترهای بیوشیمیایی سرم، موش ویستار، DPPH.

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی از دیرباز مورد توجه بوده و تحقیقات اخیر نشان داده علاوه‌بر اثراتی که گیاهان دارویی دارند، عصاره قسمت های مختلف گیاهان دارای اثرات ناشناخته دیگری نیز است (Mohammadi Zeid *et al.*, 2012). در زندگی صنعتی با افزایش مصرف ترکیب‌های

Archive of SID
www.SID.ir

اکسیدان و یا مواد حاصل از متابولیسم داروها، با مصرف دخانیات، الکل و نیز قرار گرفتن در معرض تشعشعات یونیزه و غیر یونیزه، مواد اکسیدان زیادی در بدن تولید می‌شود و آسیب‌های فراوانی بر DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و هیدرات‌های کربن وارد می‌سازند (Ranjbar *et al*., 2006). یکی از انواع گیاهانی که همواره مورد توجه بوده، گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvia officinalis* از خانواده نعناع است (Ahmadi *et al*., 2013). از هزار گونه این گیاه حدود هفده گونه آن مختص ایران است. مریم گلی گیاهی پرشاخه، به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی متر است که دارای ظاهری پرپشت است. ریشه گیاه مایل به قهوه‌ای و ساقه‌های متعدد، منشعب، چهارگوش و پوشیده از کرک است (Ghasemloo *et al*., 2015). از گذشته، به‌دلیل خواص دارویی، گیاه مریم گلی استفاده می‌شده و در طب سنتی هم کاربرد دارد. گیاه مریم گلی به حالت خودرو در اماکن خشک یا سنگلاخی و دامنه های بایر بیشتر نواحی آسیا و شمال آفریقا می‌روید. کیتوزان مشتقی از گلوکان با واحدهای تکرارشونده کیتین است و نوع تجاری آن از اسکلت خارجی بندپایانی مانند میگو استخراج می شود. اندام‌های هوایی گیاه به‌ویژه برگ‌های مریم‌گلی حاوی اسانس هستند که مقدار آن در شرایط اقلیمی مختلف متفاوت (۲/۵-۱٪) است. این گیاه دارای یک کتون به نام تویون (۵۰-۳۰٪) است که سالویول، سالویون و سالوون نیز نامیده می‌شود. مریم گلی حاوی مواد تلخ (۸-۳٪)، تانن‌های گروه کاتشین (سالویاتانن)، فلاوونوئید (اپی‌ژنین و لوتئولین)، مواد گلیکوزیدی، رزینی، مقادیر فراوانی توکوفرول، اسید رزمارینیک و اسید آسکوربیک نیز است (Pino *et al*., 1999؛ Fleming, 1998). اسید رزمارینیک یک ترکیب فنلی با فعالیت بیولوژیکی بسیار ازجمله خاصیت ضد توموری، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است (Nagy *et al*., 1999؛ Orhan *et al*., 2006). شیرین‌بیان، مریم‌گلی و آویشن با افزایش فعالیت ویتامین C و نیز با اثر ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی در حیوانات می‌شوند (Cook & Saman, 1996). وجود سزکوئی‌ترپن‌ها و مونوترپن‌ها در این گیاه به اثبات رسیده است (Nickavar *et al*., 2005). با توجه به خواص بسیار ارزنده گیاه دارویی مذکور بر آن شدیم تا اثرات آنتی اکسیدانی عصاره گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان و تأثیر آن بر روی فاکتورهای کبدی HDL، LDL، AST، ALP، ALT و پروفایل چربی کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز سرم را در رت‌های نر نژاد ویستار بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه مریم گلی بعد از تأیید مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، در مزرعه دانشگاه مذکور در شرایط دمایی مطلوب ۱۳ تا ۱۵ درجه سانتی گراد در پاییز سال ۱۳۹۴ در دو گروه، در خاکی با بافت متوسط (خاک شنی-رسی) که حاوی مقادیری کلسیم برای رشد بهتر گیاه بود کشت داده شد. پس از رویش گیاه برای ایجاد گروه مریم گلی تیمارشده با کیتوزان، پودر تجاری کیتوزان را در حلال اسید استیک حل و محلول ۰/۴٪ ایجاد کرده و در ۳ نوبت و هر ۱۰ روز یک‌بار روی گیاه اسپری شد و گروه تیمار شده با کیتوزان بدست آمد (Chien *et al*., 2007). نمونه گیاه مریم گلی و مریم گلی تیمار شده با کیتوزان را پس از خشک کردن به مدت ۱۰ روز در سایه وزن کرده و حلال اتانول (۹۶٪) را به گیاه اضافه کرده و ۷۲ ساعت در دمای زیر نقطه جوش اتانول (۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد) قرار گرفت و بعد از این زمان نمونه محلول رویی را با کاغذ صافی جدا کرده و توسط دستگاه روتاری حلال از عصاره جدا گردید (۵۰۰ گرم گیاه خشک شده و یک لیتر الکل). در مرحله بعد نمونه ها را برای اطمینان بیشتر از حذف اتانولی، به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از نمونه‌ها برای انجام تحقیقات با دوز ۲۰۰mg/kg استفاده شد (Panda & Kar, 1998).

حیوانات مورد استفاده آزمایش

در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی از ۶۰ سرموش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی

Archive of SID

www.SID.ir

۲۲۰-۱۸۰ گرم از دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد خریداری شد. در طول زمان آزمایش موش ها در قفس های پلی‌کربنه و به‌صورت ۱۰ تایی و در شرایط استاندارد در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند، به‌طوری که دسترسی آسان به آب و غذا داشتند. موش ها به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰تایی تقسیم شدند.

گروه اول: گروه شاهد که هیچ ترکیب دارویی به غیر از آب مقطر و غذا دریافت نکردند. گروه دوم: گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه مریم‌گلی به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه سوم: گروه دریافت‌کننده عصاره گیاه مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان ۰/۴ به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه چهارم: گروه دریافت کننده داروی ایزو نیازید به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه پنجم: گروه دریافت‌کننده داروی ایزونیازید به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه عصاره گیاه مریم‌گلی به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن. گروه ششم: گروه دریافت کننده داروی ایزونیازید به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به همراه عصاره گیاه مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان ۰/۴ به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود.

نحوه تجویز عصاره

دو عصاره مورد نظر مریم گلی و تیمار کیتوزان با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هر روز در زمان مشخص ۹ صبح به صورت گاواژ خورانده شد. برای گروه شاهد فقط از آب مقطر استفاده گردید. پس از گذشت ۱۴ روز و در پایان دوره مطالعه موش‌ها و با در نظر گرفتن کلیه مسائل اخلاقی مربوط به حیوانات بدون هیچ موردی از اذیت و آزار توسط کلروفرم ۹۶/۴٪ شرکت مرک آلمان، در دسیکاتور به صورت استنشاقی بیهوش شدند. پس از بیهوشی از هر موش خون‌گیری به‌صورت مستقیم از قلب انجام شد و به این منظور از هر موش ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد و در یک لوله بدون ماده ضدانعقاد برای جداسازی سرم و اندازه‌گیری فاکتورهای لیپوپروتئین با چگالی پایین، لیپوپروتئین با چگالی بالا، آلانین ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کلسترول، گلوکز و تری گلیسیرید استفاده شد. برای انجام آزمایش میزان لیپوپروتئین با چگالی پایین، لیپوپروتئین با چگالی بالا، آلانین ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کلسترول، گلوکز و تری گلیسیرید از خون بدون ماده ضد انعقاد استفاده شد، به طوری که پس از تشکیل لخته خون و جداسازی سرم میزان فاکتورها توسط کیت های اسپکتروفوتومتری شرکت پادتن علم با دستگاه اتوآنالیزر آلفا ساخت کشور ایتالیا در آزمایشگاه تشخیصی بیمارستان امام خمینی (ره) ایلام اندازه‌گیری شد.

انجام آزمایش DPPH

این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه های گیاهیست. این روش مبتنی بر به دام‌اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام ۲،۲-دی‌فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی است که سبب کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌شود (Jimenez-Escrig *et al.*, 2000). موقعی که محلول DPPH با ماده‌ای که می‌تواند دهنده اتم هیدروژن باشد مخلوط شود فرم احیای رادیکال تشکیل می‌شود که همراه با کاهش رنگ است. این واکنش سبب از بین رفتن رنگ بنفش می‌شود که شاخص آن تشکیل باند جذبی در ۵۱۷ نانومتر است. در تهیه محلول استک DPPH مقدار ۱۳ میلی‌گرم از DPPH در اتانول مرک در بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتر به حجم رسانده شد و پس از آن طول موج محلول فوق در دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (طول موج باید بین ۰/۷ تا ۰/۸ باشد). مقدار ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول استک

Archive of SID

www.SID.ir

ساخته‌شده را در لوله‌های آزمایش ریخته و مقدار ۱۰۰ ماکرولیتر از غلظت های مختلف عطرمایه مریم گلی و تیمار کیتوزان را اضافه و در محل تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد و نمونه‌های مریم‌گلی و تیمار کیتوزان به‌صورت مجزا از غلظت‌های بالا به پایین توسط اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد و با فرمول زیر درصد IC_{50} با استفاده از نمودار اکسل محاسبه گردید.

$$\left[1-\frac{A_A}{A_B}\right]\times 100$$

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

پس از بدست آوردن داده ها، برای تجزیه‌وتحلیل آنها پس از اطمینان از نرمال بودن، داده‌ها در جدولهای اکسل توسط برنامه نرم‌افزاری SAS 2000 آنالیز آماری شد. آنالیز واریانس (ANOVA) مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام شد.

نتایج

میزان گلوکز در گروه دوم که عصاره مریم‌گلی را دریافت کردند نتوانست نسبت به گروه شاهد تغییر معنی داری ایجاد نماید ($P>0.05$). همچنین در مقایسه بین گروه های دریافت‌کننده ایزونیازید با مریم گلی و ایزونیازید با مریم گلی تیمار شده با کیتوزان نتوانسته است موجب کاهش گلوکز گردد و اختلاف آنها معنی دار در سطح ۱٪ است ($P<0.05$) (شکل ۱). میزان تری‌گلیسیرید در گروه مریم گلی با گروه شاهد تفاوت معنی دار در سطح ۱٪ داشته و باعث کاهش میزان فاکتور تری‌گلیسیرید شده است ($P<0.05$) (شکل ۱). همچنین در دو گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و ایزونیازید همراه با مریم گلی نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است که معنی دار شده است ($P<0.05$) (شکل ۱). در بین گروه ها مریم گلی با عملکردی بهتر باعث کاهش تری‌گلیسیرید شده و گروه ایزونیازید باعث افزایش این فاکتور شده است. البته میزان کلسترول در گروه مریم گلی نسبت به تمامی گروه ها کمتر بود ($P<0.05$) (شکل ۱، جدول ۱). گروه ایزونیازید از همه بیشتر باعث افزایش کلسترول شده است ($P<0.05$). گروه ایزونیازید با مریم گلی تیمار شده با کیتوزان نتوانست اثر مثبتی بر روی کلسترول در مقایسه با گروه ایزونیازید با مریم‌گلی داشته باشد.

جدول ۱- اثر عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان فاکتورهای بیوشیمیایی سرم رت (mg/dl)

گروه	دوز دریافتی (mg/dl)	گلوکز (میانگین± انحراف معیار)	تری‌گلیسیرید (میانگین± انحراف معیار)	کلسترول (میانگین ± انحراف معیار)
۱	–	۲۰۴±۳/۱d	۹۱±۱/۳c	۶۳±۲/۳cd
۲	۲۰۰	۲۰۱±۰/۶d	۵۱±۰/۳e	۶۲±۰/۶d
۳	۲۰۰	۳۰۵±۱/۱c	۷۶±۰/۵d	۶۹±d۰/۷d
۴	۲۰۰±۵۰	۱۷۴±۱/۴۹e	۱۴۰±۱/۵a	۹۴±۰/۸a
۵	۲۰۰±۵۰	۳۲۴±۰/۸b	۱۲۵±۰/۶c	۶۴±۰/۶c
۶	۲۰۰±۵۰	۳۳۴±۰/۶a	۹۰±۰/۳b	۶۹±۰/۳b

در هر ستون اعدادی که حروف مشابه دارند تفاوت معنی‌دار نیست ($P>0.05$).

Archive of SID

www.SID.ir

میزان HDL در گروه‌های مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان به صورت معنی داری بالاتر از گروه شاهد و بقیه گروها بود ($P<0.05$) (شکل ۱، جدول ۲). در میان تمام گروه‌ها میزان HDL ایزونیازید از همه کمتر بود ($P>0.05$). میزان LDL در گروه دریافت‌کننده مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان پایین‌تر از گروه شاهد مشاهده شد (شکل ۱) و اختلاف آماری معنی داری بین گروه شاهد با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان وجود دارد ($P<0.05$) (جدول ۲). میزان آنزیم غیراختصاصی کبد AST در بیشتر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P>0.05$) (شکل ۱). میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد تنها گروه دریافت‌کننده مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان توانسته است سطح آنزیم را پایین نگه دارد ($P<0.05$) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است ($P>0.05$) و در گروه ایزونیازید همراه با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با ایزونیازید همراه با مریم‌گلی نتوانسته اثرات مخرب ایزونیازید را کاهش دهد ($P>0.05$).

جدول ۲- اثر عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان HDL و LDL سرم رت (mg/dl)

گروه	دوز دریافتی (mg/dl)	HDL (میانگین± انحراف معیار)	LDL (میانگین± انحراف معیار)
۱	–	۲۷±۰/۵e	۲۶±۰/۸b
۲	۲۰۰	۳۲±۰/۴c	۲۵±۰/۷b
۳	۲۰۰	۲۹±۰/۳c	۲۴±۰/۴b
۴	۲۰۰±۵۰	۲۵±۰/۸f	۲۳±۰/۶c
۵	۲۰۰±۵۰	۳۸±۰/۵a	۲۹±۰/۴a
۶	۲۰۰±۵۰	۳۶±۰/۵d	۲۷±۰/۳b

در هر ستون اعدادی که حروف مشابه دارند تفاوت معنی‌دار نیست ($P>0.05$).

جدول ۳- اثر عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان AST و ALT و ALP سرم رت (Iu/ml)

گروه	دوز دریافتی (mg/dl)	AST (میانگین± انحراف معیار)	ALT (میانگین± انحراف معیار)	ALP (میانگین± انحراف معیار)
۱	–	۱۴۲±۰/۸c	۶۵±۰/۶e	۴۱۰±۰/۴cd
۲	۲۰۰	۲۰۶±۱/۲a	۶۶±۰/۶d	۳۲۸±۱/۳d
۳	۲۰۰	۱۴۲±۰/۶c	۵۴±۰/۳f	۵۱۹±۰/۵b
۴	۲۰۰±۵۰	۱۵۲±۱b	۸۲±۰/۷a	۱۰۲۸±۰/۸a
۵	۲۰۰±۵۰	۱۳۵±۰/۸d	۷۴±۰/۴c	۴۹۴±۲c
۶	۲۰۰±۵۰	۱۴۲±۱/۶b	۷۶±۰/۵b	۵۶۵±۱/۳b

در هر ستون اعدادی که حروف مشابه دارند تفاوت معنی‌دار نیست ($P>0.05$).

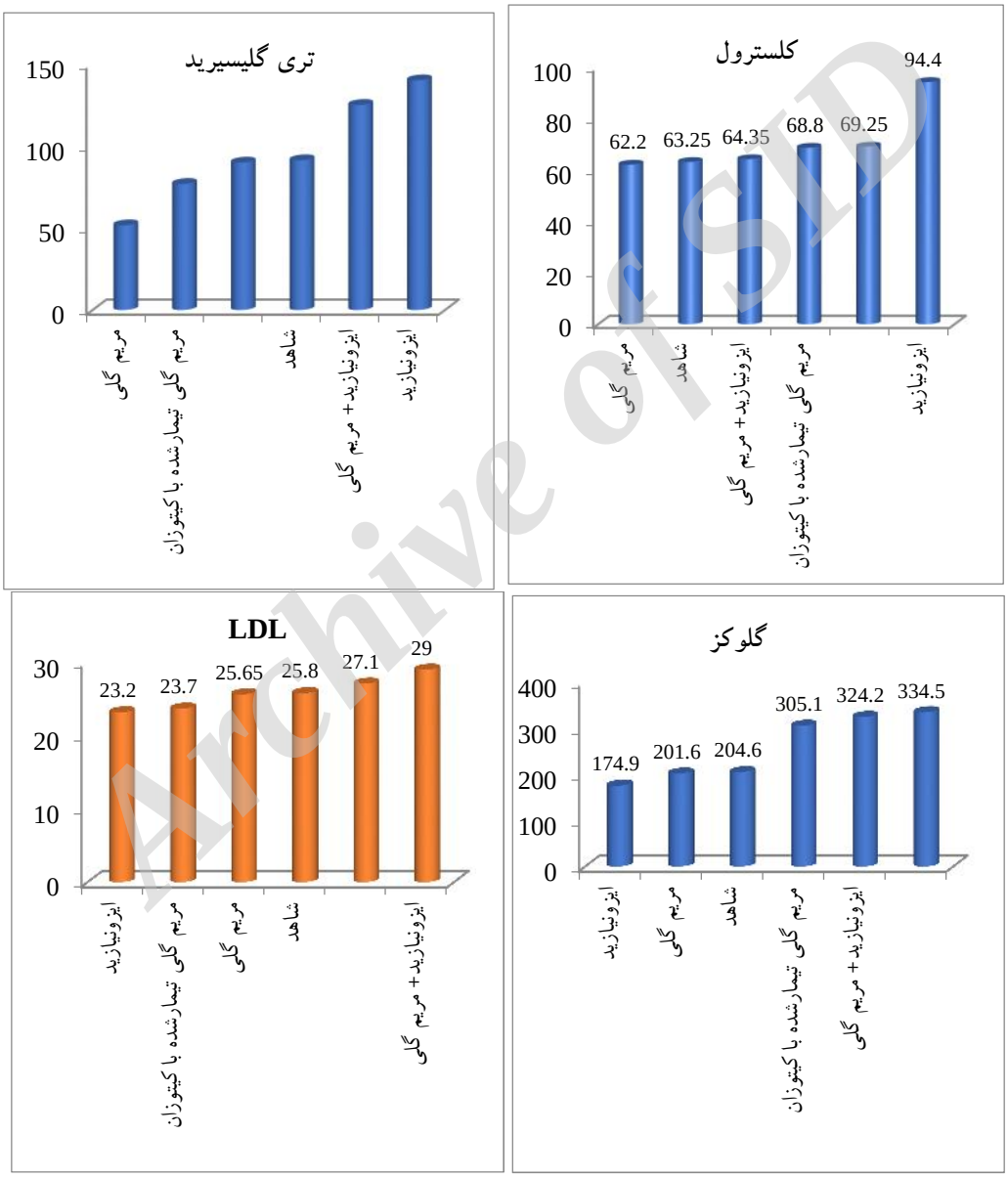
Archive of SID

www.SID.ir

میزان آنزیم غیراختصاصی کبد ALP در گروه دریافت‌کننده مریم‌گلی توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد ($P<0.05$). بالاترین میزان آنزیم هم مربوط به گروه دریافت‌کننده ایزونیازید است ($P>0.05$) (شکل ۱). در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید همراه با مریم‌گلی، تیمار کیتوزان نتوانسته است سطح آنزیم را پایین نگه دارد ($P>0.05$) (جدول ۳).

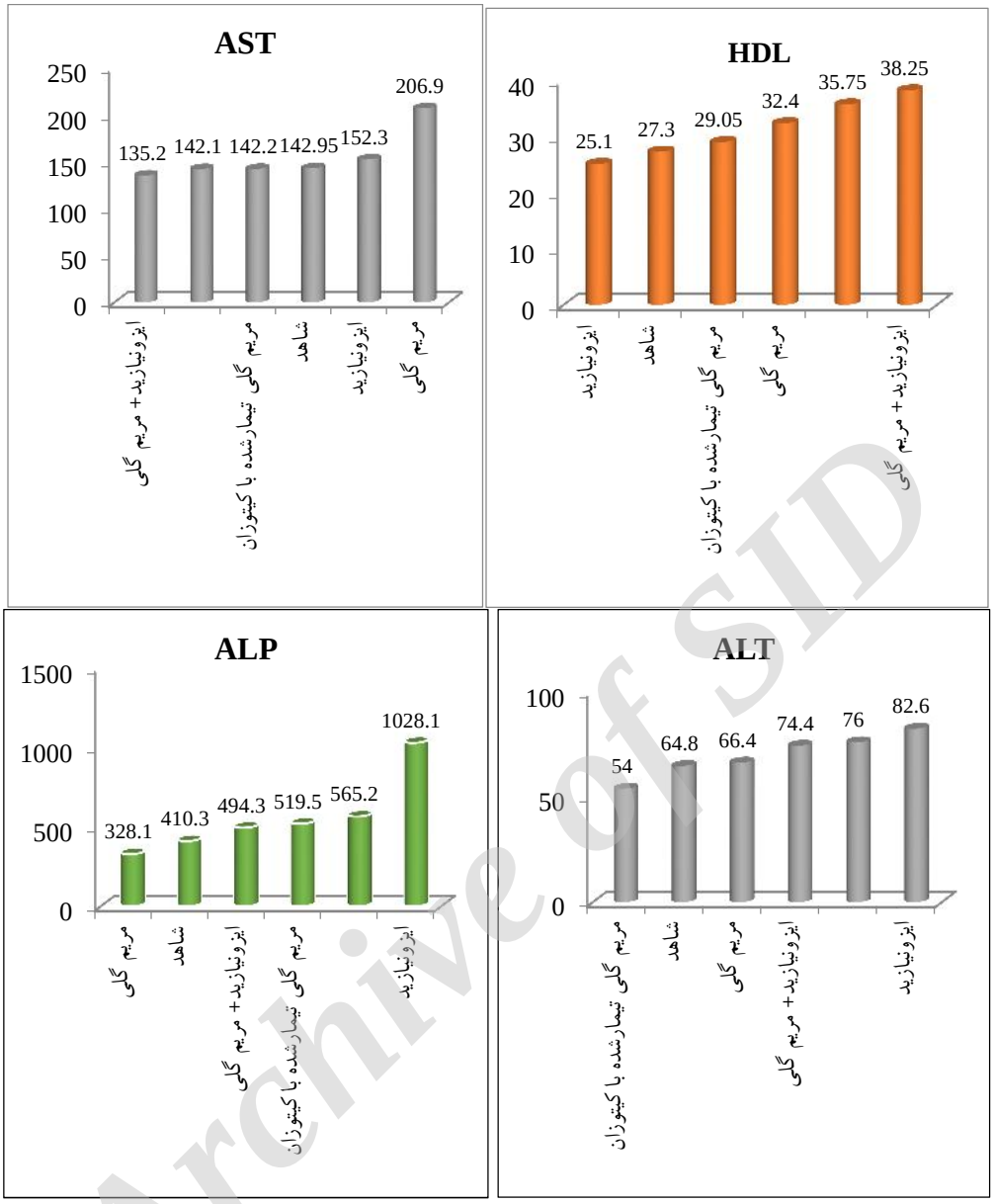
نتایج مقایسه آنتی‌اکسیدانی مریم‌گلی و تیمار کیتوزان با روش DPPH

در شکل ۱ تیمار کیتوزان مریم‌گلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی حاصل نسبت به مریم‌گلی به‌مراتب بالاتر است.



Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- اثر عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان با ایزونیازید بر میزان گلوکز (Mg/dl) و تری‌گلیسیرید و کلسترول HDL، LDL، AST، ALT و ALP در گروه‌های مورد مطالعه

بحث

این مطالعه از اولین تحقیقاتی است که روی این ماده به همراه گیاه مریم‌گلی برای سنجش تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی سرم مربوط به کبد و پروفایل چربی سرم و خاصیت آنتی‌اکسیدانی انجام شده است. در این تحقیق استفاده از دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمارشده با کیتوزان و همچنین ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز در موش‌های نژاد ویستار میزان گلوکز در گروه دوم که عصاره مریم‌گلی را دریافت کردند نتوانست نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌داری ایجاد نماید ($P>0.05$).

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین در مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده ایزونیازید با مریم‌گلی و ایزونیازید با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان نتوانسته است موجب کاهش گلوکز گردد و اختلاف آنها با گروه شاهد معنی دار است ($P<0.05$). در هفته ششم میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با مریم‌گلی به‌طور معنی‌داری بیش از نتایج روز اول بود ($P<0.05$) و تیمار گروه دیابتی با مریم‌گلی، کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی بوجود نیاورد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق همخوانی دارد. بنابراین به نظر می‌رسد ایزونیازید در بازه زمانی ۱۴ روز بر روی سلول‌های بتا در جزایر لانگرهانس پانکراس اثر گذاشته، به طوری که توانایی ترشحی خود را تا حدودی از دست داده و موجب بروز یک هیپرگلیسمی در موش ها گردیده و ترشح انسولین کاهش یافته و از سویی گیاه مریم گلی و مریم گلی تیمار شده با کیتوزان در این بررسی نتوانستند اثر کاهندگی بر قند خون داشته باشند. افزایش بیش از حد تری‌گلیسیریدها در سرم نیز از ظرفیت هیدرولیزکنندگی آنزیم های صفراوی و آنزیم لیپاز فراتر رفته و باعث ذخیره آن به صورت چربی در کبد و بافت های بدن می‌گردد که خود نیز زمینه‌ساز بسیاری از بیماری‌های متابولیکی است. پس در این مورد نیز استفاده از ترکیب‌ها و داروهایی که بتوانند میزان تری‌گلیسیرید اضافی را تعدیل کنند و آن را کاهش دهند بسیار مفید خواهد بود، به‌طوری که در این مطالعه میزان تری‌گلیسیرید در گروه مریم‌گلی با گروه شاهد تفاوت معنی دار داشته و باعث کاهش میزان فاکتور تری‌گلیسیرید شده است ($P<0.05$). همچنین به‌صورت معنی‌داری در دو گروه دریافت‌کننده ایزونیازید و ایزونیازید همراه با مریم‌گلی نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است ($P<0.05$). در بین گروه‌ها مریم‌گلی با عملکردی بهتر باعث کاهش تری‌گلیسیرید شده و گروه ایزونیازید باعث افزایش این فاکتور شده است ($P>0.05$). Carta و همکاران (۱۹۹۶) در یک مطالعه گزارش کردند که عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی سبب افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود. همچنین نوشیدن دم‌کرده گیاه مریم‌گلی سبب تعدیل میزان لیپیدهای خون گردید (Carta *et al.*, 1996). همچنین در یک مطالعه دیگر Khosravi و همکاران (۲۰۱۰) اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر میزان LDL و HDL و تری‌گلیسیرید در موش بزرگ آزمایشگاهی نر را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی سطح لیپیدهای خون، LDL و تری‌گلیسیرید در گروه‌های دریافت کننده دارو ایزونیازید افزایش یافت، در صورتی‌که در حیواناتی که دارو و عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی به صورت همزمان تجویز شده بود، کاهش سطح لیپیدهای خون مشاهده گردید که نتایج بدست‌آمده دقیقاً با مطالعه انجام‌شده در این تحقیق همخوانی دارد. چنین گیاهانی موجب بهبود متابولیسم چربی ها در بدن به‌ویژه در دو ناحیه کبد و بافت چربی می‌شوند. از آنجایی که مقدار کلسترول موجود در خون و صفرا از ظرفیت عوامل محلول‌کننده آن فراتر می رود احتمال رسوب کلسترول و همچنین تشکیل سنگ های صفراوی کلسترولی وجود دارد، پس جدای از لزوم وجود میزان کلسترول به میزان مورد نیاز برای سنتز برخی هورمون ها و استفاده در متابولیسم سلولی مازاد آن می‌تواند عوارض جبران‌ناپذیری ازجمله ایجاد تصلب شرایین نموده و بیماری‌های خطرناک عروقی مانند عروق کرونر و سکته شود. در این تحقیق میزان کلسترول در گروه مریم‌گلی نسبت به تمامی گروه ها کمتر بود ($P>0.05$). گروه ایزونیازید از همه بیشتر باعث افزایش کلسترول شده است ($P<0.05$). گروه ایزونیازید با مریم گلی تیمار شده با کیتوزان نتوانسته است اثر مثبتی بر روی کلسترول در مقایسه با گروه ایزونیازید با مریم‌گلی داشته باشد ($P<0.05$). Lima و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی روی اثرات دمنوش گیاه مریم گلی بر روی کلسترول و تری‌گلیسیرید خون به این نتیجه رسیدند که دمنوش گیاه مریم گلی باعث کاهش کلسترول و تری گلیسیرید خون می شود. همچنین در مطالعه Khosravi و همکاران (۲۰۱۳) اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر میزان LDL و HDL و تری‌گلیسیرید در موش بزرگ آزمایشگاهی نر مشخص

Archive of SID
www.SID.ir

گردید. سطح لیپیدهای خون، LDL و تری‌گلیسرید در گروه‌های دریافت‌کننده دارو ایزونیازید افزایش یافت. در صورتی‌که در حیواناتی که دارو و عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی به‌صورت همزمان تجویز شده بود، کاهش سطح لیپیدهای خون مشاهده شد که با نتایج حاصل از این تحقیق کاملاً همخوانی دارد. مطالعات نشان داده که سینئول و کامفور موجود در گیاه مریم گلی مانع فعالیت آنزیم HMG-COA (آنزیم تنظیم‌کننده سنتز کلسترول) شده، درنتیجه سبب کاهش سنتز کلسترول می شود. مسیر معکوس کلسترول یعنی برداشت اضافی کلسترول از سلول های محیطی و بازگرداندن آنها به کبد برای دفع است که این فرایند متابولیکی توسط لیپوپروتئین با چگالی بالا به نام HDL وساطت می شود. پس وجود ترکیب HDL در سرم برای جلوگیری از رسوب بیش از حد کلسترول در سلول‌ها و بافت‌ها و ایجاد بیماری هایی از قبیل تصلب شرایین یا گرفتگی عروقی بسیار حیاتی است. در تحقیق انجام شده میزان این لیپوپروتئین با چگالی بالا HDL در گروه‌های مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان به صورت معنی داری بالاتر از گروه شاهد و بقیه گروها بود ($P>0.05$). در میان تمام گروه‌ها میزان HDL ایزونیازید از همه کمتر بود ($P>0.05$). در بررسی Khosravi و همکاران (۲۰۱۳) نشان داده شد که سطح لیپوپروتئین با چگالی HDL در گروه دریافت‌کننده ایزونیازید با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کنترل و شاهد کاهش که با نتایج انجام شده این تحقیق همخوانی دارد. در مطالعه ای بر روی موش های آزمایشگاهی که با داروی ایزونیازید ایجاد اکسیدان کرده بودند باعث افزایش سطح گلوکز خون شد که می‌تواند به‌طور غیرمستقیم موجب افزایش سطح کلسترول، تری گلیسرید و LDL و منجر به کاهش سطح HDL شود. در این بررسی میزان LDL در گروه دریافت‌کننده مریم‌گلی و مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان پایین تر از گروه شاهد مشاهده شد و اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه شاهد با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان وجود داشت ($P<0.05$). Kianbakht و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه ای بر روی اثرات عصاره برگ مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر غلظت لیپیدهای خون بیماران هیپرلیپیدمیک مبتلا به دیابت نوع دوم انجام دادند که عصاره برگ مریم گلی باعث کاهش LDL شد؛ همچنین در مطالعه Khosravi و همکاران (۲۰۱۳) مشخص شد که عصاره هیدروالکلی مریم‌گلی باعث کاهش میزان LDL می‌شود که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد و همچنین کیتوزان می‌تواند در پایین آوردن LDL همراه با عصاره گیاه مریم گلی عمل کند. مواد اکسیدان، ازجمله مواد حاصل از متابولیسم داروها مانند ایزونیازید هستند که قبل از اینکه آسیبی به سلول های اصلی بدن وارد نمایند، آنتی‌اکسیدان‌ها آن را از محیط پاک می‌کنند. در میزان آنزیم غیراختصاصی کبد AST در بیشتر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد ($P>0.05$). در بررسی تغییرات آنزیم‌های کبدی میزان آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز یا ALT اندازه‌گیری گردید که این آنزیم در سیتوپلاسم سلول‌های کبدی بیشترین فعالیت را داشت. افزایش نفوذپذیری غشای سلول های کبدی در اثر هیپوکسی یا نکروز سلولی به دلایل مختلف می تواند موجب نشت این آنزیم به داخل خون و افزایش فعالیت آن در خون شود، پس اندازه‌گیری این آنزیم در تشخیص آسیب‌های کبدی با دلایل مختلف مفید است که در این تحقیق میزان آنزیم اختصاصی کبد ALT در مقایسه با گروه شاهد، تنها گروه دریافت‌کننده مریم گلی تیمار شده با کیتوزان توانسته سطح آنزیم را پایین نگه دارد ($P<0.05$) و بالاترین سطح آنزیم مربوط به تیمار ایزونیازید است ($P>0.05$). در گروه ایزونیازید همراه با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با ایزونیازید همراه با مریم‌گلی نتوانسته اثرات مخرب ایزونیازید را کاهش دهد ($P>0.05$). Khosravi و همکاران (۲۰۱۳) بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) بر آنزیم های کبدی در موش های بزرگ آزمایشگاهی را انجام دادند. در این مطالعه تجربی با توجه به بررسی سطح آنزیم‌های AST، ALT، GGT، ALP و بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبدی، به نظر می‌رسد برای کاهش سطح آنزیم های موردنظر، دوز مؤثر عصاره هیدروالکلی گیاه

Archive of SID

www.SID.ir

مریم گلی دوزهای ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باشند. Arabi و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه بر روی عصاره الکلی مریم گلی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون در موش نر به این نتیجه رسیدند که آنزیم ALT یک کاهش معنی داری توسط دوز ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره گیاه مریم‌گلی پیدا کرده است ($P<0.05$)، که با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه همخوانی دارد. در این مطالعه از داروی ایزونیازید برای القاء اثر استرس اکسیداتیو استفاده شد که باعث بالا رفتن سطح ALT در بین تمام گروه ها گردید که به نظر می‌رسد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) با اثرات سمّی خود موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شوند و بدین‌ترتیب اثر تخریبی بر غشاء سلول‌ها داشته باشند و با اثر بر سیتوپلاسم سلول های کبدی می‌توانند باعث افزایش این آنزیم گردند. ALP آنزیم هیدرولیتیکی است، ازاین‌رو بیشترین میزان فعالیت آن در pH قلیایی مشاهده می‌شود. مقدار آلکالین فسفاتاز سرم خون در شرایط پاتولوژیک و در ضایعات استخوانی و کبدی افزایش می‌یابد که در این تحقیق میزان آنزیم غیراختصاصی کبد ALP در گروه دریافت کننده مریم گلی توانسته سطح آنزیم را نسبت به گروه شاهد پایین‌تر نگه دارد ($P<0.05$). بالاترین میزان آنزیم هم مربوط به گروه دریافت کننده ایزونیازید است ($P>0.05$). در مقایسه گروه دریافت‌کننده ایزونیازید همراه با مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان و ایزونیازید همراه با مریم‌گلی، تیمار کیتوزان نتوانسته است که سطح آنزیم را پایین نگه دارد ($P>0.05$). Nan و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی اثر عصاره مریم گلی بر پارامترهای کبد و پانکراس در موش به این نتیجه رسیدند که عصاره این گیاه بر عملکرد آنزیم های کبد موش ازجمله ALP اثر گذاشته و آن را کاهش می دهد. عصاره گیاه مریم‌گلی بر تنظیم بیان ژن آلکالن فسفاتاز نیز تأثیر دارد و باعث کاهش آن می‌شود، از سویی با توجه به اینکه آلفا-پنین از دیگر ترکیب های مهم عصاره مریم گلی است که مانع تولید ATP در میتوکندری می‌شود، بنابراین می‌توان بیان نمود که براساس نتایج این پژوهش، احتمالاً سطح سرمی کراتین کیناز در دوز پایین عصاره گیاه مریم‌گلی کاهش یافته و در مقابل سطح سرمی آلکالین فسفاتاز برای تأمین فسفات مورد نیاز برای تولید ATP افزایش می یابد. در پایان این تحقیق مشخص شد که استفاده از عصاره الکلی گیاه مریم‌گلی باعث کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول LDL و ALP می‌شود و از سوی دیگر باعث افزایش HDL شده است. همچنین اثر عصاره مریم گلی تیمار شده با کیتوزان به این صورت مشخص شد که باعث کاهش LDL و ALT و باعث افزایش HDL سرم شد. ازاین‌رو با توجه به این اثرات مثبت استفاده از گیاه مریم گلی و مریم گلی تیمار شده با کیتوزان نتیجه می‌گیریم که اثرات بهبوددهنده فاکتورهای ارزیابی‌شده قابل توجه است. همچنین در پایان آزمایش DPPH مشخص گردید که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی مریم‌گلی تیمار شده با کیتوزان در مقایسه با مریم‌گلی بالاتر بود که حکایت از اثر مثبت تیمار کیتوزان بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های مریم گلی دارد. همچنین نتایج این تحقیق نیز مهر تأییدی بر اثرات مخرب داروی ایزونیازید بر سلول‌های بدن بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از مسئولان محترم مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد و آزمایشگاه تشخیصی بیمارستان امام خمینی (ره) ایلام برای همکاری اعلام می‌داریم.

منابع مورد استفاده

- Ahmadi, R., Balali, Sh., Tavakoli, P., Mafi, M. and Haji, Gh., 2013. The effect of hydroalc oholic leaf extract of *Salvia officinalis* on serum levels of FSH, LH, testosterone and testicular tissue in rats. Journal of Kashan University of Medical Sciences, 17(3): 225-231.
- Arabi, S., Arshami, J. and Haghparast, A.R., 2014. Effects of *Salvia officinalis* L. extract on biochemical blood parameters in male rats. Journal of Zanjan University of Medical Sciences, 22(94): 34-43.
- Carta, C., Moretti, M.D.L. and Peana, A.T., 1996. Activity of oil *Salvia officinalis* against of *Botrytis*

Archive of SID
www.SID.ir

- Mohammadi Zeidi, I., Akaberi, A. and Pakpour, A.H., 2012. Factors associated with herbal medicine use among women in Qazvin city: application of theory of planned behavior. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences, 4: 103-114.
- Nagy, G., Gunther, G., Mathe, I., Blunden, G., Yang, M. and Crabb, T.A., 1999. Diterpenoids from *Salvia glutinosa*, *S. austriaca*, *S. tomentosa* and *S. verticillata* roots. Phytochemistry Journal, 52(6): 1105-1109.
- Nan, J.X., Park, E.J., Kanq, H.C., Park, P.H., Kim, J.Y. and Sohn, D.H., 2001. Anti-fibrotic effects of a hot-water extract from Salvia miltiorrhiza roots on liver fibrosis induced by biliary obstruction in rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 53(2): 197-204.
- Nickavar, B., Mojab, F. and Asgarpanah, J., 2005. Volatile composition of the essential oil of *Salvia hypoleuca* Benth. International Journal of Aromatherapy, 15: 51-53.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., Konuklugi, B., Şener, B. and Choudhary, M.I., 2006. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. Food Chemistry, 103(4): 1247-1254.
- Panda, S. and Kar, A., 1998. Dual role of betel leaf extract on thyroid function in male mice. Pharmacological Research, 38(6): 493-496.
- Pino, J.A., Estrarron, M. and Fuentes, V., 1999. Essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) grown in Cuba. Journal of Essential Oil Research, 9(2): 221-222.
- Ranjbar, A., Ghasmeinezhad, S., Zamani, H., Malekirad, A.A., Baiaty, B., Mohammadirad, A. and Abdollahi, M., 2006. Antioxidative stress potential of *Cinnamomum zeylancium* in human: a cross-sectional clinical study. Therapy, 3: 15-111.
- Ranjbar, A., Khorami, S., Safarabadi, M., Shahmoradi, A., Malekirad, A.A., Vakilian, K., Mandegary, A. and Abdollahi, M., 2006. Antioxidant activity of Iranian *Echium amoenum* Fisch & C.A.Mey flower decoction in humans. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 3(4): 469–473.
cinerea. Journal of Essential Oil Research, 8(4): 399-404.
- Chien, P.J., Sheu, F. and Lin, H.R., 2007. Coating citrus (*Murcott tangor*) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. Food Chemistry, 100: 1160-1164.
- Cook, N.C. and Saman, S., 1996. Flavonoids chemistry, metabolism, cardio protective effects, dietary sources. The Journal of Nutritional Biochemistry, 7(2): 66-76.
- Fleming, T., 1998. PDR for Herbal Medicines. Montvale, Medical Economics Company, 1244p.
- Jimenez-Escrig, A., Jimenez-Jimenez, I., Sanchez-Moreno, C. and Saura-Calixto, F., 2000. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2 diphenyl-1picrylhydrazy1. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(11): 1686-1690.
- Ghasemloo, E., Rahnema, M. and Bigdeli, MR., 2015. The effect of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* on brain edema and neurologic deficits in rat stroke model. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 5(3): 378-386.
- Khosravi, M., Khakpor, Sh., Mirzaei, M. and Najjari, M., 2010. Effect of homogenate of *Salvia officinalis* on LDL, HDL and triglyceride at male rat. Journal of Developmental Biology, 3(10): 15-24.
- Khosravi, M., Khakpor, Sh., Tajadod, Gh. and Takzobani belasi, F., 2013. Effect of *Saliva officinalis* hydroalcoholic extract on liver enzymes in male rat. Medical Science Journal of Islamic Azad University. 23(2): 113-119.
- Kianbakht, S., Rezazadeh, Sh., Razaghi Azar, M., Khamseh, A. and Baradaran, H.R., 2012. Study on effects of *Salvia officinalis* L. leaf extract on blood lipid levels of hyperlipidemic patients with type 2 diabetes mellitus. Plan of Iranian Instituates of Medicinal Plants.
- Lima, C.F., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira-Wilson, C., 2005. The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology, 97(2): 383-389.

Archive of SID

www.SID.ir

Antioxidant effects of sage (*Salvia officinalis* L.) extract and chitosan-treated sage on liver factors and lipid profiles in male Wistar rats

Sh. Saeidian[1*], Y. Valizadeh[2] and Z. Amaki[3]

1*- Corresponding author, Department of Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran, E-mail: saeedyan@pnu.ac.ir
2- Ph.D. Student of Biology, Tehran University, Tehran, Iran
3- M.Sc. student of Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received: January 2018 Revised: April 2018 Accepted: April 2018

Abstract

Due to the medicinal properties, the root of sage (*Salvia officinalis* L.) has been used from a very distant past. In the present study, the homogenate of sage and the sage treated with chitosan was extracted after drying using 96% ethanol. Then, ethanol solvent was removed from the extract using rotary equipment. To do this research, 60 adult male white Wistar rats were used. The rats were divided into six groups of 10. The oral extract of sage and the sage treated with chitosan was used at a dose of 200 mg/kg. In addition, a dose of 50 mg/kg of isoniazid was used as gavage to induce oxidative effect. The DPPH method was also used with the help of 1,2-diphenyl 1-picyril hydrazine to compare the antioxidant effects of sage and the sage treated with chitosan. The use of alcoholic extract of *Salvia* sp. led to reduced triglyceride, cholesterol, LDL and ALP as well as increased HDL levels. In addition, the extract of sage treated with chitosan led to decreased LDL, ALT and increased HDL levels. Therefore, according to the results, it was concluded that the beneficial effects of the factors evaluated were significant. Also, the DPPH test results showed that antioxidant effects of alcoholic extract of the sage treated with chitosan was much higher and more effective than sage, indicating the positive effect of chitosan treatment on the amount of sage antioxidants. The results of this study confirmed the undesirable effects of isoniazide on the cells of body.

Keywords: Sage (*Salvia officinalis* L.), chitosan, serum biochemical parameters, wistar rat, DPPH.

Archive of SID

www.SID.ir