Archive of SID

Pharmaceutical Sciences, 2010, Vol.15, No4, Page 315- 322

علوم داروئی، ۱۳۸۸ دوره ۱۵، شماره ۴، ۳۲۲-۳۱۵

بررسی اثر مهاری گیاه مریم گلی سهندی (Salvia sahendica) بر آسیب های بافتی ایجاد شده تحت تاثیر مصرف الکل در رت: مطالعه بر روی پارامترهای اکسایشی بافتهای کبد و کلیه

محمد علی اسماعیلی[۱*]، محمد رضا کنعانی [۱]، علی سنبلی[۱]، هیبت اله صادقی[۲] ،نواز کریمیان پور[۳]

[۱] پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی ، تهران، ایران، [۲] دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۳] دانشکده بیوشیمی، بیمارستان کودکان تورنتو، دانشگاه تورنتو، کانادا

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۲۷ ، تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۷

Evaluation of the effect of Salvia sahendica on tissue damages induced by alcohol in oxidative stress conditions in the rat: Effect on liver and kidney oxidative parameters

Esmaeili M.A. [1]*, Sonbol A. [1], Kanani M.R.[1], Sadeghi H.[2] , Karimian pour N.[3]

[1] Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, G. C., Tehran, Iran , [2] School of **Medicine**, **Yasouj University** of **Medical** Sciences, Yasouj, Iran, [3] the Hospital for Sick Children, University of Toronto, Toronto, ON M5G 1X8, Canada

Received: 16 Jan. 2008, Accepted: 29 Sep. 2009

Objectives: Salvia sahendica as an endemic species of salvia in Sahand-Azerbaijan has been used traditionally for treatment of bacterial, fungi and Dyspepsia diseases. The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of various S. sahendica extracts and evaluate the effect of main extract with high antioxidant properties on enzyme and non-enzymatic antioxidant factors in oxidative stress induced by ethanol in rat albino wistar. **Methods:** in this study the antioxidant activity of various extracts of Salvia sahendica was evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and then the protective effect of potential extract (with high antioxidant activity) on rat albino weighting 150-200 g which administered orally ethanol for one month was evaluated. **Results:** Measurement antioxidant activity by scavenging of DPPH radical showed that methanol extract of S. sahendica possesses the highest antioxidant activity (IC_{50}= 17.14 µg/ml). Treatment alcohol rats with S. sahendica methanol extract at a dose of (0.1 g/kg body weight) significantly reduced the level of lipid peroxidation and liver marker enzymes and restored the enzymic and non-enzymatic antioxidants levels in liver and kidney of treated rats. **Conclusion:** The results of this study strongly indicate that S. sahendica methanol has potent hepato-protective effect against alcohol induced tissues damage in experimental animals due to its radical scavenging activity. In order to find the function mechanism of this plant and phyotochemical properties, further investigations should be done.

Key words: *Antioxidant; Oxidative stress; Salvia sahendica.*

زمینه و هدف: مریم گلی سهندی (Salvia sahendica) گونه اندمیک منطقه سهند آذربایجان می باشد که توسط عوام این منطقه جهت درمان عفونت های باکتریایی، قارچی و رفع سوء هاضمه مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این مطالعه، نخست ارزیابی خواص آنتی اکسیدان و جاروب کنندگی (Scavenging) رادیکال های آزاد محیط توسط عصاره های مختلف گیاه و سپس بررسی نقش گیاه بر فاکتور های بیوشیمیایی و سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی تدافعی آنتی اکسیدان در شرایط اکسایشی القا شده توسط الکل می باشد. **روشها:** خواص آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف گیاه با استفاده از روش DPPH (1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl;) مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس تاثیر عصاره دارای حداکثر خاصیت جاروب کنندگی رادیکال های آزاد بر روی رتهای نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۵۰-۲۰۰ گرم که به مدت یک ماه در معرض مصرف الکل بودند مورد ارزیابی واقع شد. **یافته ها:** اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که عصاره متانلی گیاه مذکور دارای حداکثر توانایی آنتی اکسیدانی (۱۷/۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر) می باشد و تاثیر این عصاره (۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) بر حیوانات مورد آزمایش که به مدت یک ماه اتانل مصرف کرده اند حکایت از تاثیر مثبت گیاه در کاهش فعالیت آنزیم های شاخص کبدی، پراکسیداسیون لیپیدی (TBARS) و حفظ سطح فاکتور های آنزیمی و غیر آنزیمی سیستم تدافعی آنتی اکسیدان دارد. **نتیجه گیری:** عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی قادرند از طریق جاروب کردن رادیکال های آزاد اثرات مخرب ناشی از شرایط اکسایشی القا شده توسط اتانل را به حداقل برساند لذا یافتن مکانیسم عمل این گیاه و جستجو در مورد ماده یا مواد موثر موجود در گیاه نیازمند انجام مطالعات بعدی است.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، استرس اکسایشی، سالویا سهندیکا.

*Corresponding Author: Mohammad Ali Esmaeili, Assistant professor, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, G.C., Tehran, Iran. Tel: +98-21-29903025; Fax: : +98-21-29903023; E-mail: m_esmaeili@sbu.ac.ir

*نویسنده مسئول: محمد علی اسماعیلی، استادیار، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی ، تهران، ایران. تلفن: ۲۹۹۰۳۰۲۵-۰۲۱ ، نمابر: ۲۹۹۰۳۰۲۳-۰۲۱

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

فرمهای بسیار فعال اکسیژن (ROS) شامل پراکسید هیدروژن ، رادیکال های سوپراکسید، رادیکال های هیدروکسیل و ... مشتق از متابولیسم اکسیژن در شرایط نامتعادل اکسید و احیا درون سلول می توانند آسیب های جبران ناپذیری به ماکرومولکولهای سلولی همچون DNA ، پروتئین و چربی وارد نمایند (۱ و۲). تجمع این دسته از مواد، عامل بسیار مهمی در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها همچون دیابت، سرطان، ناراحتی های التهابی، آترواسکلروزیز و آلزایمر به حساب می آید(۳). ارگانهای زنده سیستم آنتی اکسیدانی پیچیده‌ای جهت مواجهه با گونه های فعال رادیکال آزاد و کاهش اثرات مخرب آنها گسترش داده‌اند. حضور سیستم های دفاعی آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز) و غیر آنزیمی (ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در رژیم غذایی همچون ویتامین های C و E ، پلی فنل ها و کاروتن ها) بهترین واصلی‌ترین سیستمهای تدافعی جهت تنظیم میزان رادیکالهای آزاد اکسیژن و محافظت سلول تحت شرایط استرس می‌باشند (۴). مطالعات چند سال اخیر نشان داده است که مصرف الکل می تواند از طریق تشکیل رادیکال های آزاد عوارض جبران ناپذیری به سلول وارد سازد (۵). آسیب های اکسایشی ناشی از مصرف الکل با متابولیسم آن ارتباط مستقیمی دارد. چرا که متابولیسم الکل در تشکیل فرمهای بسیار فعال اکسیژن و فرمهای فعال نیتروژن (RNS) درگیر می باشد (۶). از این رو مصرف ترکیبات آنتی اکسیدان می تواند یکی از راههای مناسب در جهت کاهش آسیب های استرس اکسایشی ناشی از مصرف الکل مورد توجه قرار گیرد. اما از آنجایی که بی خطر بودن آنتی اکسیدانهای صناعی همواره مورد سوال بوده است، گرایش به سمت مصرف ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی مانند آنچه در میوه ها، سبزیجات و دانه های روغنی وجود دارد در حال افزایش است. مقایسه تاثیر برخی آنتی اکسیدان ها میوه ها وسبزیجات نشان می دهد که مصرف یک آنتی اکسیدان به تنهایی نمی تواند جایگزین ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در گیاهان و فواید آنها در امر سلامت باشد. حتی اکتساب آنتی اکسیدان ها از راه مصرف غذا و مکمل های غذایی و نه مکمل های دارویی صناعی گران قیمت توصیه می شود چرا که بسیاری از مکمل های غذایی، رژیم غذایی و گیاهان دارویی پتانسیل پیشگیری از استرس های اکسایشی را دارند که نهایتا می توانند عملکردهای فیزیولوژیک منجمله عملکرد مغز را تنظیم کنند. بدین ترتیب بازده اقتصادی جمعیت را به عنوان عملکرد سلامت یک جامعه افزایش دهند . بنابراین آمیختن عصاره های غنی از آنتی اکسیدان به غذا می تواند سلامت افراد را در کنار خواصی که مربوط به عملکرد ذاتی مواد غذایی است فراهم سازد. یکی از این دسته گیاهان که همواره مورد توجه بوده است گیاه مریم گلی با نام علمی (Salvia) از خانواده نعنا می باشد. از هزار گونه این گیاه حدود هفده گونه آن مختص ایران بوده و رویشگاه اصلی آن در ایران می باشد (۷). گونه مریم گلی سهندی (Salvia sahendica) گونه اندمیک منطقه سهند آذربایجان می باشد که توسط عوام این منطقه جهت درمان عفونت های باکتریایی، قارچی و رفع سوء هاضمه مورد استفاده قرار می گیرد. لطفی پور و همکاران در سال ۲۰۰۷ به خواص ضد باکتریایی آن اشاره کرده اند (۸). با توجه به اطلاعات موجود مطالعه حاضر بر آن است تا با مطالعه بر روی خواص آنتی اکسیدان عصاره های مختلف این گیاه با انتخاب بهترین عصاره ، اثرات احتمالی گیاه را در کاهش آسیب های استرس اکسایشی القا شده توسط مصرف الکل در شرایط in vivo با استفاده از مدل حیوانی مورد مطالعه قرار دهد.

۱- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه عصاره های مختلف گیاه

سر شاخه های هوایی گیاه در فصل بهار از منطقه آذربایجان شرقی جمع آوری شد و پس از شناسایی در هرباریوم پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی با شماره هرباریوم (MPH-848) نگهداری شد. بعد از خشک کردن اندام هوایی گیاه در شرایط عاری از نور و رطوبت گیاه توسط آسیاب برقی خرد و پودر گردید. حدود ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده به روش خیساندن توسط حلال های مختلف (متانل ، استون ، کلروفرم و اتانل) عصاره گیری شد. تمامی عصاره ها تحت خلا توسط دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ شد و جهت مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- تعیین میزان فلاونوئید و ترکیبات فنلی عصاره ها

محتوای فنلی عصاره های مختلف گیاه بر اساس روش اسلینکارد و همکاران (۹) مورد مطالعه قرار گرفت. به طور اختصار ۰/۵ میلی لیتر عصاره گیاه را در معرض ۲/۵ میلی لیتر محلول FC (محلول فولین) و ۲ میلی لیتر کربنات سدیم قرار داده و سپس جذب نمونه ها را در طول موج ۷۶۵ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در محیط آزمایشگاه اندازه گیری کرد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت های مختلف اسید گالیک به دست آمد. نتایج حاصله به صورت میلی گرم گالیک اسید به ازای هر گرم ماده خشک بیان شد. جهت اندازه گیری مقادیر فلاونوئید ها در هر عصاره از روش ژیسن و همکاران (۱۰) استفاده شد. به این ترتیب که به ۰/۵ میلی لیتر عصاره گیاه ۲ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر و ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم اضافه کرده و بعد از گذشت ۶ دقیقه با افزودن ۱۵۰ میکرولیتر محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۲ میلی لیتر محلول هیدروکسید سدیم چهار درصد به سرعت با افزودن آب حجم را به ۵ میلی لیتر رسانده و و بعد از ۱۵ دقیقه، جذب نمونه ها را در

www.SID.ir

Archive of SID

۵۱۰ نانومتر اندازه گیری کرده و با مقایسه منحنی کالیبراسیون کاتچین غلظت فلاونوئید ها به صورت میلی گرم کاتچین به ازای هر گرم ماده خشک بیان شد.

۲-۳- اندازه گیری میزان آنتی اکسیدانی عصاره گیاه توسط روش DPPH

فعالیت آنتی اکسیدان عصاره گیاه با استفاده از روش بلوایس (۱۱) مورد بررسی قرار گرفت. به ۱/۵ میلی لیتر از محلول DPPH (۰/۲۵ میلی مولال) ۱/۵ میلی لیتر عصاره گیاه افزوده و به سرعت مخلوط کرده و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه تغییر رنگ DPPH تحت تاثیر عصاره با اندازه گیری جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف گیاه با استفاده از معادله زیر به دست آمد:

فعالیت آنتی اکسیدان = $[(A_0-A_1)/A_0]\times 100$

A_0= جذب نمونه بلانک بدون حضور عصاره گیاه

A_1= جذب نمونه ها در حضور عصاره گیاه یا ماده استاندارد بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)

۲-۴- حیوانات

مطالعه بر روی رتهای نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰-۱۵۰ گرم در رنج سنی ۷-۵ ماه که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بود انجام شد. حیوانات در قفسهای استاندارد در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی گراد و دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. در طی مطالعه آب و غذای کافی در دسترس حیوانات قرار داشت. تمام مطالعات انجام شده بر روی حیوانات منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود.

۲-۵- تزریق دهانی الکل و عصاره گیاه

در یک بازه زمانی یک ماهه محلول های الکل ۲۰ درصد و عصاره با غلظت (۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) توسط سرنگ گاواژ مخصوص به صورت دهانی مستقیما به حیوانات هر گروه خورانده شد.

گروه اول ، حیوانات نرمال (به تعداد ۸ عدد در هر گروه)، دریافت کننده محلول ۳۰ درصد گلوکز (علت انتخاب گلوکز هم کالری بودن آن با اتانل است). گروه دوم ، حیوانات نرمال (به تعداد ۸ عدد در هر گروه)، دریافت کننده عصاره متانلی. گروه سوم ، حیوانات نرمال (به تعداد ۸ عدد در هر گروه)، دریافت کننده اتانل ۲۰ درصد. گروه چهارم ، حیوانات نرمال (به تعداد ۸ عدد در هر گروه)، دریافت کننده محلول ۲۰ درصد اتانل و عصاره متانلی.

۲-۶- اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی و نشانه گرهای فعالیت سیستم دفاعی آنتی اکسیدان

نمونه های خون (۵/۱-۱ میلی لیتر)ازقلب حیوانات پس از یک دوره درمان یک ماهه با رعایت کلیه نکات اخلاقی جمع آوری شد و با استفاده از سانتریفوژ دور g× ۲۰۰۰ پلاسمای آنها جداگردید. کبد و کلیه حیوانات نیز به سرعت برداشته شده و بعد از شستشو توسط محلول سالین در بافر فسفات (۵۰ میلی مولار) هموژنه گشته و در دور g×۳۰۰۰ دردمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. پلاسما و مایع رویی حاصل از عمل سانتریقوژ نمونه های هموژنه شده جهت انجام تمامی آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیمهای آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) بر اساس روشهای استاندارد با استفاده از کیت های آنزیمی شرکت پارس آزمون اندازه گیری شد. فعالیت گاما-گلوتامیل ترانسفراز (GGT) نیز بر اساس روش رسالکی و را یو (۱۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت فاکتور های آنزیمی و غیر آنزیمی سیستم دفاعی آنتی اکسیدان همچون کاتاز با استفاده از روش آبی (۱۳)، فعالیت آنزیم سوپراکسیداز (SOD)، غلظت ویتامین C ، ویتامین E ، گلوتاتیون و پراکسید گلوتاتیو با استفاده از روش ارایه شده در مقالات اندازه گیری شد. (۱۸-۱۴). میزان پراکسید اسیون چربیها در هر چهار گروه با اندازه گیری میزان سوبسترای فعال تیوبارتیوریک اسید (TBARS) بافتهای هموژنه به دست آمد (۱۹). به طور اختصار،۰/۱ میلی لیتر هموژنه بافتی در معرض ۰/۲ میلی لیتر مخلوط اسیدکلریدریک- تیوبارتیوریک اسید- تیوکلریدریک اسید قرار گرفت و بعد از مخلوط کردن کامل و نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه مایع رویی حاصل از سانتریفوژ نمونه ها جمع آ وری شد و با اندازه گیری جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر میزان TBARS هر نمونه بر حسب میزان میلی مولار به ازای هر گرم بافت گزارش شد. میزان هیدروپراکسید هر نمونه نیز با افزودن ۰/۱ میلی لیتر هموژنه بافتی به مخلوط ۷/۶ میلی لیتری گزیلنول نارنجی و ۹/۸ میلی لیتر متانل و ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک (۲۵۰ میلی مولار) و اندازه گیری جذب در ۵۶۰ نانومتر به صورت میلی مولار به ازای هر گرم بافت گزارش شد.

۲-۷- تحلیل آماری داده ها

مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از روش Student-t-test مورد ارزیابی قرار گرفت. $P<0/05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

۲- نتایج

فعالیت آنتی اکسیدان عصاره های مختلف گیاه احتمالا مرتبط با میزان ترکیبات فنلی آن می باشد. ترکیبات فنلی با توجه به توانایی عمل، به عنوان یک ماده دهنده الکترون و خصوصیت

www.SID.ir

Archive of SID

شلاته کنندگی یونهای فلزی، می توانند فعالیت جذب یا مهار رادیکال های آزاد از خود نشان دهند (۲۰). محتوای فنلی و فلاونوئیدی عصاره های مختلف گیاه مریم گلی سهندی در جدول ا نشان داده شده است. نتایج مطاله حاضر نشان می دهد که میزان ترکیبات فنلی عصاره های مختلف این گیاه از رابطه زیر تبعیت می کنند:

عصاره اتانلی<عصاره کلروفرمی<عصاره استونی<عصاره متانلی

علاوه بر این همان ترتیب ذکر شده در بالا نیز برای میزان ترکیبات قلاونوئیدی عصاره های مختلف گیاه صادق است.

رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد آلی پایدار است که در ناحیه جذبی ۵۱۵–۵۲۸ نانومتر دارای جذب بوده و ترکیب مناسبی جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی یک ماده می باشد (۲۱). با استفاده از این روش، نتایج جدول ۱ به دست آمد. همان طور که ملاحظه می شود عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی در مقایسه یا سایر عصاره های مورد آزمایش از قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری برخوردار است. علت این امر را می توان توانایی متانل با توجه به قطبیت بالای متانل نسبت به سایر حلا لهای مورد استفاده در استخراج ترکیبات فنلی از گیاه دانست. لذا بر این اساس عصاره متانلی غنی از ترکیبات فنلی با حداکثر توانایی آنتی اکسیدانی جهت سایر مراحل کار مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

به منظور بررسی تاثیر عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی بر فعالیت فاکتور های اساسی بیوشیمیایی سرم حیوانات مورد آزمایش ، فعالیت چهار آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) وگاما–گلوتامیل ترانسفراز (GGT) مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که نتایج حاصله (جدول ۲) نشان می دهند، مصرف اتانل به مدت یک ماه پی درپی میزان فعالیت این دسته از آنزیم ها را به شدت افزایش می دهد. در حالیکه در حیواناتی که همزمان با مصرف الکل تحت درمان با عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی قرار گرفته اند میزان فعالیت این چهار آنزیم در مقایسه با حیواناتی که تنها الکل مصرف کرده اند کاهش چشمگیری نشان داده است. ازسویی دیگر ، مقایسه سطح محصولات پراکسیداسیون لیپیدی (TBARS) و لیپید پراکسید حیوانات مورد مطالعه نشان داد که عصاره گیاه مذکور قادر است سطح TBARS و لیپید پراکسید کبد و کلیه حیواناتی که در معرض درمان همزمان الکل و عصاره گیاه قرار گرفته اند را کاهش داده و به سطح میزان این دو ماده در حیوانات کنترل برساند (جدول ۳).

میزان فعالیت سیستم آنتی اکسیدان کبد و کلیه چهار گروه مورد مطالعه نیز در جدول ۴ نشان داده شده است. سطح فاکتور های سیستم دفاعی غیر آنزیمی آنتی اکسیدان (ویتامین C، ویتامین E و گلوتاتیون احیا) در حیواناتی که تحت تاثیر الکل قرار گرفته اند در مقایسه با حیواناتی که علاوه بر الکل در معرض مصرف عصاره گیاه بوده اند به شدت کاهش یافته است. در حالی که در نمونه هایی که در معرض مصرف الکل قرار گرفته اند تزریق دهانی عصاره گیاه به مدت یک ماه میزان فعالیت این سیستم دفاعی را در سطح شرایط نرمال نگه می دارد (جدول ۴). بررسی فعالیت سایر فاکتورهای دفاعی آنزیمی سیستم آنتی اکسیدانی نیز حاکی از توانایی عصاره متانلی گیاه در حفظ فعالیت این سیستم در حد شرایط نزدیک به حالت طبیعی است.

جدول ۱. محتوای فنلی[۱] ، فلاونوئیدی[۲] و فعالیت آنتی اکسیدان (IC_{50}) [۳] عصاره های مختلف گیاه مریم گلی سهندی

عصاره	محتوای فنلی	محتوای فلاونوئیدی	فعالیت آنتی اکسیدان
متانلی	۶۴/۵±۳/۴	۳۵/۲۱±۱/۲	۱۷/۱۴±۱/۰۴
استونی	۶۰/۲±۱/۸	۳۱/۱۶± ۱/۴	۱۸/۵۰±۲/۱۱
کلروفرمی	۴۸/۱۳±۲/۱	۲۵/۴۶ ± ۱/۸۰	۲۲/۳۰±۱/۳۷
اتانلی	۳۱/۱۳±۱/۸	۱۹/۲۷ ±۰/۵۴	۲۵/۱۲±۱/۲۳

۱. محتوای فنلی عصاره ها معادل میلی گرم اسید گالیک به ازای هر گرم عصاره خشک شده می باشد.

۲. محتوای فلاونوئیدی عصاره ها معادل میلی گرم کاتچین به ازای هر گرم عصاره خشک شده می باشد.

۳. IC_{50} به صورت میگروکرم بر میلی لیتر بیان شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. تاثیر عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی بر میزان آنزیم های کبدی سرم حیوانات مورد آزمایش.

آنزیم	کنترل	کنترل + عصاره	الکل	الکل+ عصاره گیاه
AST (IU/L)	۷۰/۲۵±۳/۶۷	۷۲/۴۳±۳/۲۵	۱۵۷/۲۴±۸/۶۳*	۸۵/۲۶±۶/.۳**
ALT (IU/L)	۲۴/۸۳±۲/۸۷	۲۲/۴۴±۵/۴۸	۵۹/۲۱±۱/۰۶*	۲۸/۴۷±۵/۶۵**
ALP (IU/L)	۷۸/۴۷±۵/۱۳	۷۶/۳۲±۲/۱۴	۱۳۴/۸۷±۹/۵۴*	۸۹/۲۱±۷/۲۵**
CGT (IU/L)	۲/۱۴±۰/۱۵	۱/۹۹±۰/۱۱	۵/۴۵±۰/۵۴*	۲/۵۴±۰/۲۴**

* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که به تنهایی الکل مصرف کرده اند با نمونه های کنترل

** نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که تحت درمان با عصاره گیاه قرار گرفته اند با نمونه هایی که تنها الکل مصرف کرده اند .

جدول ۳. تاثیر عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی بر میزان لیپیدپراکسیداسیون در بافتهای حیوانات مورد آزمایش

نمونه ها		کنترل	کنترل + عصاره	الکل	الکل+ عصاره گیاه
TBARS	کبد	۰/۷۶±۰/۰۵	۰/۷۰±۰/۰۵	۱/۹۰±۰/۱۲*	۰/۸۷±۰/۰۳**
	کلیه	۱/۲۸±۰/۱۴	۱/۶۷±۰/۸۱	۲/۳۲±۰/۱۸*	۱/۴۵±۰/۰۷**
Hydroperoxide	کبد	۸۹/۹۶±۳/۲۴	۸۷/۵۴±۲/۸۷	۱۵۶/۳۲±۹/۱۸*	۱۰۰/۲۶±۸/۰۷**
	کلیه	۷۶/۲۱±۴/۸۷	۷۳/۲۴±۴/۴۸	۱۴۰/۲۵±۱۱/۰۶*	۸۵/۹۸±۵/۷۵**

مقدار TBARS و Hydroperoxide به صورت میلی مول بر یکصد گرم بافت بیان شده است.

* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که به تنهایی الکل مصرف کرده اند با نمونه های کنترل

** نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که تحت درمان با عصاره گیاه قرار گرفته اند با نمونه هایی که تنها الکل مصرف کرده اند .

جدول ۴. تاثیر عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی بر میزان گلوتاتیون احیا، ویتامینC و ویتامین E و فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ترانسفراز بافتهای کبد وکلیه حیوانات مورد آزمایش.

نمونه ها		کنترل	کنترل + عصاره	الکل	الکل+ عصاره گیاه
GSH (mg/100 g tiss	کبد	۴۳/۳۵±۲/۶۷	۴۶/۴۳±۲/۱۲	۲۳/۵۴±۲/۱۳*	۳۷/۲۶±۲/۴۳**
	کلیه	۳۷/۲۳±۱/۸۷	۳۹/۳۴±۲/۳۴	۲۱/۲۴±۱/۷۶*	۳۲/۳۰±۲/۶۵**
Vitamin C (µmol/n tissue)	کبد	۱/۵۴±۰/۱۳	۱/۴۳±۰/۱۴	۰/۸۴±۰./۱۳*	۱/۲۲±۰/۰۳**
	کلیه	۱/۱۰±۱/۰۷	۱/۱۵±۰/۰۶	۰/۱۹±۰/۰۴*	۰/۸۹±۰/۰۵**
Vitamin E(µmol/n tissue)	کبد	۱/۶۴±۰/۱۱	۱/۵۳±۰/۱۳	۰/۸۹±۰/۰۳*	۱/۳۲±۰/۰۹**
	کلیه	۰/۷۸±۰/۰۷	۰/۷۴±۰/۰۶	۰/۳۹±۰/۰۷*	۰/۶۹±۰/۰۸**
CAT (U/mg protei	کبد	۷۳/۴۵±۳/۶۷	۷۸/۵۶±۴/۵۴	۵۶/۳۴±۴/۱۳*	۶۹/۲۷±۳/۹۳**
	کلیه	۳۴/۶۳±۳/۰۲	۳۹/۶۴±۴/۳۴	۲۵/۸۷±۱/۲۶*	۳۰/۳۴±۴/۲۵**
SOD (U/mg protei	کبد	۱۰/۵۶±۱/۳۴	۱۱/۴۳±۲/۱۲	۴/۳۴±۰/۱۳*	۸/۱۶±۰/۷۸**
	کلیه	۱۱/۵۶±۰/۸۷	۱۲/۵۵±۱/۳۴	۸/۱۳±۱/۵۵*	۱۰/۳۲±۲/۱۵**
GPx (U/mg protei	کبد	۹/۳۶±۰/۶۴	۱۰/۱۲±۰/۱۲	۵/۴۳±۰/۳۴*	۸/۶۴±۰/۷۶**
	کلیه	۷/۴۷±۰/۶۹	۷/۶۵±۰/۴۸	۴/۳۲±۰/۶۸*	۶/۳۵±۰/۶۲**
GST(U/mg protei	کبد	۵/۸۸±۰/۴۴	۶/۰۳±۰/۱۲	۳/۵۴±۰/۲۶*	۴/۷۶±۰/۴۳**
	کلیه	۴/۶۸±۰/۸۷	۵/۳۴±۰/۳۹	۳/۰۳±۰/۷۶*	۴/۱۲±۰/۴۳**

* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که به تنهایی الکل مصرف کرده اند با نمونه های کنترل

** نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان مونه هایی است که تحت درمان با عصاره گیاه قرار گرفته اند با نمونه هایی که تنها الکل مصرف کرده اند .

www.SID.ir

Archive of SID

۳- بحث

استرس اکسایشی منشا آغاز و پیشرفت بسیاری از بیماریهاست. سیستم تدافعی بدن یک موجود هوازی با استفاده از مکانیسم های تدافعی آنزیمی و یا غیر آنزیمی در برابر شرایط اکسایشی مقابله می کند. عدم کارایی مناسب این سیستم می تواند اسیب های جبران ناپذیری به سلول وارد ساخته و نهایتا گسترش بیماری های مختلف را به همراه داشته باشد. مطالعات لیبر در سال ۱۹۹۷(۶) و نردمن در سال ۱۹۹۴ (۲۲) نشان داده است که در طی متابولیسم اتانل، رادیکال های آزاد تولید می شوند که وجود این رادیکال ها می تواند سیستم تدافعی آنتی اکسیدان سلول را تحت الشعاع قرار دهد. با توجه به نقش رادیکال های آزاد و مراحل اکسیداسیون در روند اغلب بیماری ها ، به نظر می رسد استفاده از مواد مکمل با خاصیت آنتی اکسیدان بتواند آسیب های ناشی از مصرف الکل را متوقف و یا به حداقل برساند. در سالهای اخیر استفاده از منابع طبیعی بالاخص گیاهان با توجه به دارا بودن ترکیبات فعال با خاصیت آنتی اکسیدان همواره مورد توجه بوده است. اساوا و کاتو در سال (۲۳) نشان دادند که منابع گیاهی می توانند بافتها را از آسیب ها و رادیکال های آزاد حفظ کنند. همچنین مکمل های غذایی همراه با آنتی اکسیدان های طبیعی مثل ویتامین ها و قلاونوئید ها می توانند آسیب های استرس اکسایشی ناشی از مصرف الکل را به حداقل برساند. ترکیبات فنلی به علت اینکه قادرند رادیکال های آزاد را از محیط جاروب کنند به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی شناخته شده اند. نتایج برسی ما بر روی گیاه مریم گلی سهندی نشان از توانایی عصاره متانلی غنی از ترکیبات فنلی با حداکثر قدرت آنتی اکسیدانی ۱۷/۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر در جاروب کردن رادیکال های آزاد از محیط می باشد.

آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز وگاما-گلوتامیل ترانسفراز ایندکس های شاخص سلامت و عملکرد طبیعی کبد می باشند. افزایش میزان فعالیت آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز می تواند موید افزایش نفوذپذیری سلول یا نکروزه شدن سلولهای کبدی باشد (۲۴). آنزیم های غشایی آلکالین فسفاتاز و وگاما-گلوتامیل ترانسفراز نیز بر حسب شرایط پاتولوژیکی در جریان خون رها می شوند (۲۵). لذا بر اساس این اطلاعات و نتایج مطالعه ما، مصرف بیش از حد الکل می تواند افزایش بیش از حد فعالیت آنزیم های فوق را به همراه داشته باشد. این می تواند موید آسیب جدی بافتی باشد. در حالیکه عصاره گیاه قادر است اثر حفاظتی خود را با کاهش فعالیت این آنزیمها در حیوانات مورد مطالعه نشان دهد. مطالعات نردمن و همکاران (۲۶) و هوک و پاستورین (۲۷)نشان داده است که رادیکال های آلفا-هیدروکسی اتیل، سوپراکسید و هیدروکسیل که در روند متابولیسمی اتانل تولید می شود قادرند به سرعت با تاثیر بر روی لیپید ها، اکسیداسیون لیپیدها را تسهیل سازند. تغییر در نسبت NAD^+ به NADH ، القا تشکیل فاکتور CYP2E1 (شکلی از سیتوکروم C القا شده توسط اتانل)، ایجاد رادیکال های آزاد اتیل هیدروکسی، تشکیل فرمهای استالدهید پروتئین، فعالیت سلولهای کوپفر تحت تاثیر اندوتوکسین و کاهش سطح سیستم تدافعی آنتی اکسیدان همگی از مسیرهای اصلی آسیب های استرس اکسایشی القا شده توسط اتانل هستند (۲۸). درمان حیوانات با عصاره گیاه به شدت سطح پراکسیداسیون لیپیدی را در مقایسه با نمونه هایی که تنها در معرض الکل بوده اند می کاهد که این احتمالا ناشی از وجود ترکیبات جاروب کننده رادیکال های آزاد در عصاره متانلی است. زوپکو و همکاران (۲۹) نشان دادند که گونه های مختلف گیاه مریم گلی دارای اثر مهاری بر پراکسیداسیون لیپیدهای القا شده توسط Fe^{+2} و Cu^{+2} توسط ترکیبات جاروب کننده رادیکال آزاد خود دارند. به واسطه نقش حیاتی فلزات انتقالی در روند اکسیداسیون چربی ها، نتایج ما توانایی عصاره این گیاه را در کاهش یا حذف رادیکال های آزاد و در نتیجه مهار پراکسیداسون لیپیدی به اثبات می رساند. سیستم گلوتاتیون پراکسیداز که شامل فرم احیا گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون و NADPH است قادر است به شکل موثر پراکسید هیدروژن را از محیط حذف کند (۳۰). گلوتاتیون به عنوان ترکیب ضروری این سیستم نقش کوفاکتوری آنزیم گلوتاتیون ترانسفراز که برداشت ترکیبات شیمیایی و دارویی را از سلول ممکن می سازد برعهده دارد. همچنین گلوتاتیون می تواند مستقیما با رادیکال های آزاد میانکنش داده و آنها را غیر فعال سازد. بر این اساس کاهش در این قبیل فاکتورهای سیستم آنتی اکسیدانی در بافت هایی که در معرض الکل قرار گرفته اند می تواند ناشی از مهار سنتز آنها یا افزایش سرعت turnover ویا حذف رادیکال های آزاد از محیط باشد (۶). به نظر می رسد گیاه مریم گلی سهندی توانایی بالقوه ای در حذف رادیکال های آزاد از محیط دارد و بالطبع سطح سیستم آنتی اکسیدانی را در شرایط نرمال نگه می دارد. سیستم دفاعی آنتی اکسیدان آنزیمی نیز بخش دیگری از سیستم تدافعی سلول در برابر شرایط ناشی از استرس اکسایشی است. سوپراکسید دیسموتاز که برداشت سریع رادیکال های آزاد را کاتالیز می کند یکی از این دسته آنزیمهاست. کاهش فعالیت این آنزیم در کبد حیواناتی که در معرض الکل قرار گرفته اند دیده شده است. کاتالاز نیز که در پراکسیزوم سلولهای هوازی دیده می شود می تواند سلول را از اثرات سمی پراکسید هیدروژن با تبدیل آن به آب و اکسیژن محفوظ نگه دارد. گلوتاتیون پراکسیداز نیز قادر است با کاهش هیدروپراکسید

www.SID.ir

Archive of SID

سلول را از آسیب های اکسایشی حفظ کند (۳۱). آلین و همکاران (۳۲) نشان دادند که میزان اتانل و یا محصولات متابولیتی آن مثل ۴-هیدروکسی نان انال با کاهش سطح آنزیم فوق افزایش می یابد و کاهش فعالیت این آنزیم یا بیان آن می تواند در سمیت اتانل دخیل باشد. مقایسه اطلاعات موجود در منابع علمی و نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که کاهش فعالیت آنزیم های ذکر شده در بافت های حیوانات مورد مطالعه ناشی از شرایط استرس اکسایشی اعمال شده توسط اتانل است. در حالیکه ظاهرا عصاره متانلی گیاه مریم گلی سهندی به علت داشتن توانایی بالا در حذف رادیکال های آزاد می تواند سطح و توانایی سیستم تدافعی آنتی اکسیدان را در شرایط تقریبا طبیعی نگه دارد.

۵- نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که عصاره متانولی گیاه مریم گلی سهندی می تواند با حذف رادیکال های آزاد محیط، اثرات ناشی از استرس های اکسایشی القا شده توسط الکل را به حداقل برساند. برای پی بردن به اینکه این اثرمربوط به چه ترکیب یا ترکیباتی ازگیاه است نیاز به مطالعات فیتوشیمیائی گسترده ای چون شناسائی ترکیبات، استخراج، خالص سازی و انجام مطالعات فارماکولوژیک بعدی می باشد.

۶- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مساعدت معاونت پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی که امکانات این پژوهش را فراهم آوردند تقدیـــــر و قدردانی می شود.

References

1. Gutteridge J.M. Biological origin of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. Chem. Biol. Interact., 1954, (91): 133-140.
2. Aruoma O.I., Kaur H., Halliwell B. Oxygen free radicals and human diseases. J. Roy. Soc. Health., 1991, (111): 172-177.
3. Emerit J., Edeas M., Bricaire F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. Biomed. Pharmacother., 2004, (58): 39-46.
4. Block G. Vitamin C and cancer prevention: The epidemiologic evidence. Am. J. Clin. Nut., 1991, (53): 270S-282S.
5. Kumar D.S., Vasudevan D.M. Alcohol-induced oxidative stress. Life. Sci., 2004, 3: 177-187.
6. Lieber C.S. Alcohol: its metabolism and interaction with nutrients. Annu. Rev. Nutr., 2000, (20): 395-430.
7. Mozafarian V. A dictionary of Iranian plant names (Latin English Persian) Farhang Moaser Publication, Tehran, 1996, pp. 477-479.
8. 8-Lotfipour F., Samiee M., Nazemiyeh H. Evaluation of the antibacterial activity of Salvia sahendica and Phlomis caucasica. Pharmaceutical sciences 2007, (1): 29-34.
9. Slinkard J., Singleton V.L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am.J. Enol .Viticult., 1977, (28): 49-55.
10. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food. Chem., 1999, (64): 555-559.
11. Blois M.S., Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 1951, (181): 1199-1200.
12. Rosalki S.B., Rau D. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity in alcoholism. Clin. Chim . Acta., 1972, (39): 41-47.
13. Aebi H. Catalase in vitro. In: Methods in Enzymology, Vol 105. (Packer L, ed.) Academic Press, New York, 1984. pp. 121-126.
14. 14-Kakkar P., Das B., Viswanathan P.N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. Indian. J. Biochem. Biophys., 1984, (21): 130-132.
15. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys., 1954, (82): 70-77.
16. Omaye S.T., Turbull T.P., Sauberlich H.C. Selected methods for determination of ascorbic acid in cells, tissues and fluids. Methods. Enzymol., 1979, (6): 3-11.
17. Desai I.D. Vitamin E analysis method for animal tissue. Methods. Enzymol., 1984, 105: 138-143.
18. Folch J., Less M., Solane S.G.H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 1954, (226): 497-509.
19. Mahakunakorn P., Tohda M., Murakami Y., Matsumoto K., Watanabe H.. Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents. Biol. Pharmaceut. Bull. 2007, (27): 38-46.
20. Rice-Evans C.A., Miller N.G., Paganga G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. Free Radical. Biol. Med., 1996, (20): 933-956.
21. Maksimovic Z., Malencié N.D., Kovacevié N. Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. Bioresource. Technol., 2005, (96): 873-877.
22. Nordman R. Alcohol and antioxidant system. Alcoholism and Alcohol. 1994, (29): 513-522.
23. Osawa T., Kato Y. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress

www.SID.ir

Archive of SID

caused by hyperglycemia. Ann. NY. Acad. Sci., 2007, (1043): 440-451.
24. Goldberg D.M., Watts C. Serum enzyme changes as evidence of liver reaction to oral alcohol. Gastroenterology 1965, (49): 256-261.
25. 25-Sillanaukee P. Laboratory markers of alcohol abuse. Alcohol Alcoholism. 1996, (31): 613-616.
26. 26-Nordmann R., Ribiere C., Rouach H. Implications of free radical mechanisms in ethanol induced cellular injury, Free Radical. Biol .Med., 1992, (12): 219-232.
27. Hoak J.B., Pastorino J.G. Ethanol, oxidative stress and cytokine induced liver injury. Alcohol., 2002, (27): 63-68.
28. Sergent O., Griffon B., Cillard P., Cillard J. Alcohol oxidative. Pathol. Bio, 2001, (27): 689-695.
29. 29-Zupkó I., Hohmann J., Rédei D., Falkay G., Janicsák G., Máthé I. Antioxidant activity of leaves of Salvia species in enzyme-dependent and enzyme-independent systems of lipid peroxidation and their phenolic constituents. Planta. Med., 2001, (67):366-368.
30. Wu D., Cederbaum I. Alcohol, Oxidative Stress, andFree Radical Damage. Alcohol. Res. Health., 2003, (27): 277-284.
31. Wilce M.C., Parker M.W.. Structure and function of glutathione Stransferases. Biochim. Biophys. Acta. 1994, (1205):1-18.
32. Alin P., Danielson H.U., Mannervik B. 4-Hydroxyalk-2-enals are substrates for glutathione transferase. FEBS Lett., 1985, (179): 267-270.

www.SID.ir