

اثر عصاره هیدروالکلی کرفس و شوید بر فعالیت آنزیم‌های کبدی رت

دکتر مسیح اله طاهر* دکتر علیرضا قنادی** دکتر رضا کریمیان***

Effects of volatile oil extracts of *Anethum graveolens* L. and *Apium graveolens* L. seeds on activity of liver enzymes in rat

M Taher❖ A Ghannadi R Karmiyan

دریافت: ۸۵/۲/۲۶ پذیرش: ۸۶/۲/۱۲

*Abstract

Background: Various products from celery (*Apium graveolens*) and dill (*Anethum graveolens*) were used to relieve some of liver dysfunctions in Iranian traditional medicine, yet the potential effects of these two medicinal plants on liver function have not been investigated.

Objective: To investigate the effects of volatile oil of these plant seeds on some hepatic enzymes including SGPT, SGOT and ALP in rats and also to identify the active components of volatile oils of these plants by GC/MS.

Methods: Following the preparation of volatile oils, rats were intraperitoneally injected by 500 and 1000 $\mu\text{l/kg}$ of oils and the enzyme activity was measured at 6, 24, 48, 72, 96, 120, 144 and 168 hr post-injection.

Findings: GC/MS analysis showed that the D-carvon and D-limonen are the major active components in volatile oil of dill and D-limonen and myrcen of celery. Serum activity of SGPT 24h post-injection of dill essence (500 $\mu\text{l/kg}$), celery essence (500 $\mu\text{l/kg}$), dill essence (1000 $\mu\text{l/kg}$) and celery essence (1000 $\mu\text{l/kg}$) decreased by 12.85, 11.6, 13.7 and 12.6%, respectively. In the same way, the SGOT activity, under the similar conditions, decreased by 8.7, 10.5, 11.6 and 12.9%, respectively. Activity of SGPT, SGOT and ALP 168 hr post-injection of celery essence at dose of 1000 $\mu\text{l/kg}$, decreased by 21.2, 18.4 and 13.5%, respectively. Injections of dill and celery hydroalcoholic extracts at both doses caused lower enzyme activities.

Conclusion: Active ingredients of dill and celery may act as an antioxidant or to decrease the production of free radicals, causing stabilization of hepatocyte membrane and decreasing the release of enzymes into the blood.

Keywords: Celery Oil, Dill Oil, Liver

* چکیده

زمینه: شوید و کرفس در درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌شوند، اما اثر احتمالی آنها بر فعالیت این غده بزرگ مطالعه نشده است.

هدف: مطالعه به منظور تعیین اثرات عصاره هیدروالکلی دانه‌های شوید و کرفس بر فعالیت آنزیم‌های کبدی رت انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. ابتدا عصاره دانه‌های شوید و کرفس تهیه و توسط GC/MS آنالیز شد. عصاره دو گیاه با دوزهای مختلف و زمان‌های متفاوت به صورت داخل صفاقی در رت تزریق گردید و تغییرات فعالیت آنزیم‌های کبدی شامل آلکان فسفاتاز (ALP)، گلوتامات آکسالوآستات ترانس آمیناز (SGOT) و گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز (SGPT) تعیین شد. داده‌ها با آزمون آماری تی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: د-کارون و د-لیمونن ترکیب عمده عصاره شوید و د-لیمونن و میرسن ترکیب عمده دانه‌های کرفس بود. فعالیت سرمی SGOT و SGPT ۲۴ ساعت پس از تزریق ۵۰۰ میکرو لیتر بر کیلوگرم عصاره شوید به ترتیب ۱۲/۸ و ۸/۷ درصد و در مورد کرفس ۱۱/۶ و ۱۰/۵۲ درصد کاهش یافت و بعد از تزریق ۱۰۰۰ میکرو لیتر بر کیلوگرم عصاره شوید ۱۳/۷ و ۱۱/۶ درصد و برای کرفس ۱۲/۶ و ۱۲/۹ درصد کاهش یافت ($p < 0.05$). با افزایش زمان به ۱۶۸ ساعت، کاهش فعالیت آنزیم‌های SGPT، SGOT و ALP به ترتیب برابر ۲۱، ۱۸/۴ و ۱۳/۵ درصد شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: مواد مؤثره گیاهان شوید و کرفس احتمالاً با آثار آنتی‌اکسیدانت یا کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سبب تثبیت غشاء سلول‌های کبدی و کاهش آزادسازی آنزیم به خون می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: عصاره شوید، عصاره کرفس، کبد

* استاد فارماکوتوزی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* دانشیار بیوشیمی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

*** دکترای داروساز دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده داروسازی، گروه بیوشیمی، تلفن ۰۳۱۱-۷۹۲۲۵۹۰

* مقدمه:

دارد و در اثر بیماری‌های کبدی افزایش می‌یابد. البته بسته به نوع بیماری‌های کبدی مقادیر افزایش یافته این آنزیم‌ها متفاوت است.

ذکر این نکته ضروری است که اگرچه رویکرد درمان بسیاری از بیماری‌ها به سمت گیاه درمانی سوق پیدا کرده است، اما گیاه کرفس به علت دارا بودن مقادیر زیاد فورانونکومارین‌ها می‌تواند باعث شوک آنافیلاکسی شود. اثر سمی شوید بر لنفوسیت‌های انسانی نیز گزارش شده است.^(۱۱) از آنجا که کبد مهم‌ترین و بزرگ‌ترین غده و عضو اساسی در متابولیسم ترکیب‌های مختلف و سم‌زدایی است، این مطالعه به منظور تعیین اثرات عصاره هیدروالکلی شوید و کرفس بر روی آنزیم‌های کبدی رت انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بر روی ۶۰ رت نژاد ویستار انجام شد. دانه گیاه شوید و کرفس در اواخر فصل بهار از مزرعه‌ای واقع در دستگرد اصفهان جمع‌آوری و پس از بررسی خصوصیات ظاهری آن مورد تأیید قرار گرفت.

عصاره هیدروالکلی با استفاده از پودر گیاهان در پركولاتر و حلال مناسب با سرعت ۵ میلی‌لیتر در دقیقه تهیه شد. عصاره استخراج شده تغلیظ و خشک گردید. تجزیه عصاره گیاه توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی و با استفاده از برنامه Wiley275.1 انجام شد. طیف جرمی هر یک از ترکیب‌های جدا شده با در نظر گرفتن شاخص کواتس مقایسه و بررسی شد.

موش‌ها از مواد غذایی استاندارد استفاده می‌کردند و از جنس نر و وزنی معادل ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم داشتند.

برای بررسی اثرات عصاره، رت‌ها به سه گروه ۵ تایی تقسیم شدند. به گروه شاهد نرمال سالیین تزریق شد و به گروه‌های آزمایش ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر کیلوگرم عصاره به طریق داخل صفاقی تزریق و در زمان‌های ۶ تا ۱۶۸ ساعت خون‌گیری انجام شد. پس از جدا کردن سرم رت‌ها میزان فعالیت SGPT، SGOT و ALP با استفاده از روش‌های کینتییک و دستگاه فوتومتر مدل Clima452

نقش گیاهان دارویی و استفاده وسیع آنها در پزشکی می‌تواند در آینده دارای ارزش خاص باشد. شوید و کرفس که با نام علمی *Anethum graveolens* L و *Apium graveolens* L مشخص شده‌اند، دو گیاه دارویی پرمصرف هستند که در طب سنتی برای درمان بیماری‌های کبدی مصرف می‌شوند.^(۱۲) شوید گیاهی یک یا دو ساله است که به طور طبیعی در ایران، مصر و روسیه کشت می‌شود.^(۳) فرآورده دارویی آن به طور عمده از دانه آن است که ۴۳ تا ۶۳ درصد د- کارون (d-Carron) دارد و بقیه آن د- لیمونن (d-limonene) است.^(۴) از نظر داروسازی و زیست‌شناسی در طب سنتی به عنوان اشتها آور، ضد نفخ، مدر، ضد اسپاسم، آنتی‌اکسیدان، ضد یرقان، کاهش‌دهنده کلسترول تام، LDL و تری‌گلیسرید و افزایش‌دهنده HDL در رت‌های آزمایشی مطرح شده است.^(۵)

گیاه کرفس به طور طبیعی یک یا دو ساله است و در ایران، ناحیه مدیترانه و جنوب اروپا می‌روید و دانه آن حاوی حدود ۶۰ درصد د- لیمونن و بقیه میرسن (Myrcene) است.^(۶) همچنین ترکیبات فلاونوئیدی دارد.^(۸) این گیاه برای مداوای نقرس، روماتیسم، بیماری‌های کلیه، سرطان و آسم مصرف شده و به علت دارا بودن آپی‌ژنین که از فلاونوئیدهاست، عامل ضد تجمع پلاکت است و توانسته است عامل فعال‌کننده پلاکتی (PAF) را در خرگوش مهار کند. در ضمن به عنوان ضد باکتری، ضد التهاب، کاهش‌دهنده قند خون و کاهشنده فشار خون مصرف می‌شود.^(۹)

هیپاتوسیت‌ها سلول‌های پیچیده متابولیکی حاوی مقادیر زیادی آنزیم هستند. این آنزیم‌ها در اثر آسیب کبدی به داخل پلاسما نشت می‌کنند و می‌توانند برای تشخیص و تعیین آسیب کبدی مفید باشند. SGOT یک آنزیم میکروزومی است که به مقدار زیاد در کبد یافت می‌شود و ضمن تخریب بافت کبدی به مقدار زیاد در خون آزاد می‌شود.^(۱۰) SGPT یک آنزیم اختصاصی کبد است که در سیتوزول وجود دارد و به عنوان شناساگر سلول‌های کبدی تعیین مقدار می‌گردد. آلکانل فسفاتاز در اکثر بافت‌ها وجود

جدول ۲- مواد حاصل از آنالیز عصاره کرفس توسط GC/MS

درصد	زمان نگه‌داری در ستون	اندیس کواتس	مواد تشکیل دهنده
۵۷/۷	۵/۹۵	۱۰۲۹	D-Limonene
۱۸/۷	۴/۹۱	۹۸۷	Myrcene
۸/۶	۹/۲۶	۱۱۷۵	4-Terpineol
۸/۱	۱۹/۳۷	۱۴۸۵	β -Selinene
۲/۴	۴/۵۸	۹۷۷	β -pinen
۰/۵	۱۷/۲۳	۱۴۱۷	β -Caryophyllene
۰/۳	۱۱/۸۷	۱۲۳۹	Carvone
۰/۳	۸/۶۵	۱۱۳۸	Trans-Limonene Oxide
۰/۳	۷/۵۸	۱۰۵۸	α -Terpinolene
۰/۲	۱۹/۵۸	۱۴۹۶	α -Selinene
۰/۱	۲۲/۱۹	۱۷۰۸	Trans-3-butylidenephthalide
۰/۱	۱۹/۷۸	۱۵۰۳	α -Muurolene
۰/۱	۸/۳۶	۱۱۳۲	Cis-Limonene Oxide
۰/۱	۷/۹۱	۱۰۹۶	Linalool
۰/۱	۳/۷۶	۹۳۵	α -pinen
۰/۱	۷/۳۹	۱۰۴۷	Trans-ocimene

فعالیت سرمی SGPT و SGOT، ۲۴ ساعت پس از تزریق ۵۰۰ میکرولیتر بر کیلوگرم از عصاره شوید به ترتیب ۱۲/۸ و ۸/۷ درصد کاهش نشان داد که این کاهش با تزریق عصاره کرفس ۱۱/۶ و ۱۰/۵۲ درصد بود. تزریق ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره شوید باعث کاهش فعالیت سرمی SGPT و SGOT به میزان ۱۳/۷ و ۱۱/۶ درصد پس از ۲۴ ساعت شد و این کاهش با تزریق عصاره کرفس به ترتیب به ۱۲/۶ و ۱۲/۹ درصد رسید. میزان کاهش فعالیت آنزیم‌های SGOT، SGPT و ALP، با افزایش زمان از ۲۴ ساعت به ۱۶۸ ساعت، افزایش یافت (جدول‌های شماره ۳ و ۴).

به صورت دو تایی تعیین شد.^(۱۲) میانگین‌ها بین گروه‌های آزمایش و شاهد با استفاده از آزمون تی تجزیه و تحلیل شدند و مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

*** یافته‌ها:**

تعداد ۱۹ ترکیب در عصاره دانه شوید شناسایی شد که ۸۹/۹ درصد کل ترکیبات عصاره را شامل می‌شد (جدول شماره ۱).

جدول ۱- مواد حاصل از آنالیز عصاره شوید توسط GC/MS

درصد	زمان نگه‌داری در ستون	اندیس کواتس	مواد تشکیل دهنده
۶۷/۶	۱۱/۷۰	۱۲۴۰	d-carvone
۱۲/۰	۵/۲۴	۱۰۲۸	d-Limonen
۷/۸	۲۳/۶۶	۱۶۲۹	Dill apiol
۳/۶	۱۰/۰۷	۱۱۹۷	Trans-dihy
۱/۸	۲۱/۹۱	۱۵۵۵	Elemicin
۱/۳	۴/۶۶	۱۰۰۱	α -phellandene
۰/۹	۹/۸۳	۱۱۹۰	Cis-dihydrocarvone
۰/۸	۲۲/۴۷	۱۵۶۷	Cis-Isoeugenol acetate
۰/۶	۱۸/۷۶	۱۵۲۵	Eugenyl acetate
۰/۶	۱۷/۹۶	۱۵۰۷	Garnyl n-propanoate
۰/۴	۱۴/۶۶	۱۳۵۵	Eugenol
۰/۳	۱۷/۵۹	۱۴۶۹	Granyl n-propanoate
۰/۳	۱۷/۲۴	۱۴۱۶	β -caryophyllene
۰/۲	۲۰/۰۵	۱۵۳۶	Dihydrogengenol acetate
۰/۲	۱۸/۲۳	۱۵۱۹	Myristicin
۰/۲	۹/۴۵	۱۱۸۱	Dill ether
۰/۱	۲۴/۶۵	۱۶۴۲	Trans-isdill apiole
۰/۱	۱۲/۵۹	۱۲۷۸	Trans-anethole
۰/۱	۱۲/۳۷	۱۲۵۰	Cis-anethole

همچنین تعداد ۱۶ ترکیب در عصاره دانه کرفس شناسایی شد که ۹۸/۷ درصد کل ترکیبات عصاره را شامل می‌شد که قسمت اصلی آن د.لیمونن و میرسن بود (جدول شماره ۲).

*** بحث و نتیجه گیری:**

با توجه به این که در تزریق عصاره این دو گیاه به رت هیچ گونه افزایش فعالیت آنزیم های کبدی مشاهده نشد، احتمالاً دو گیاه دارویی مورد مطالعه اثر تخریبی بر غشای هپاتوسیت ها نداشته است. اما کاهش سطح آنزیمی در پلاسما می تواند به علت تغییرات نیمه عمر آنزیم ها، افزایش دفع آنها، مصرف بیش از حد آنها، تأثیر بعضی داروها یا کاهش تولید آنها باشد.^(۱۳)

مطالعه انجام شده در دانشکده داروسازی دهلی نو نشان داد که عصاره کرفس یک اثر تثبیت کننده غشای سلولی (membrane stabilizer) بر روی هپاتوسیت ها دارد که این اثر از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی و کاهش تولید رادیکال های آزاد در هپاتوسیت ها اعمال می شود.^(۱۴) با توجه به این که دو گیاه مورد نظر از یک خانواده (چتریان) هستند و از لحاظ ترکیب های شیمیایی شباهت های زیادی دارند احتمالاً این اثر در گیاه شوید هم مشاهده می شود.

در آنالیز عصاره استخراج شده از دانه شوید، ۱۹ ترکیب به دست آمد که مشابه تحقیق های قبلی است.^(۴۳) همچنین ترکیبات اصلی عصاره دانه کرفس، د- لیمون و میرسن بودند که با مطالعات قبلی همخوانی دارد، ولی مطالعه حاضر از نظر آنالیز بقیه ترکیب های دانه کرفس با مطالعات قبلی تفاوت داشت.^(۸)

با توجه به این که حدود دو سوم ترکیب های عصاره شوید و کرفس را د- کارون و د- لیمون تشکیل می دهند، لذا احتمال دارد اثرات ایجاد شده توسط این دو گیاه بیش تر در ارتباط با این ترکیب های شیمیایی باشد و مطالعات دقیق تر در این مورد لازم است.

با توجه به نتایج حاصل از تزریق مقادیر متفاوت مشتقات این دو گیاه و همچنین زمان های گوناگون که باعث کاهش معنی دار فعالیت آنزیم های SGPT، SGOT و ALP شد، شاید بتوان گفت این گیاهان قادرند در تعدادی از بیماری های کبدی مؤثر واقع شوند.

جدول ۳- میزان تغییرات فعالیت آنزیم های SGPT و SGOT در اثر تزریق عصاره شوید

درصد کاهش فعالیت با دوز ۱۰۰۰	درصد کاهش فعالیت با دوز ۵۰۰	فعالیت آنزیمی گروه آزمایش (IU/L)	فعالیت آنزیمی گروه شاهد (IU/L)	تفاوت	ردیف
۵/۳	۴/۲۵	۸۵/۶±۳/۰۱	۶۱/۲±۲/۷۰	۶	SGPT
۱۳/۷*	۱۲/۸۵*	۵۶±۲/۱	۶۵±۳/۳۰	۲۴	
۱۵/۳*	۱۴/۷۹*	۵۲/۸±۳/۸۷	۶۱/۶±۴/۵۸	۴۸	
۱۶/۶*	۱۵/۳۶*	۵۹/۸±۵/۴۲	۶۸/۸±۳/۱۲	۷۲	
۱۸/۶*	۱۶/۵۷*	۵۱/۴±۵/۵۷	۶۱/۲±۲/۹۹	۹۶	
۲۰/۸*	۱۷/۵۸*	۵۲/۶±۴/۷۲	۶۳/۸±۲/۵۴	۱۲۰	
۲۱/۵*	۱۸/۱۷*	۵۰±۶/۳۹	۶۰±۴/۰۰	۱۴۴	
۲۱/۲*	۱۸/۲*	۵۴/۲±۶/۱	۶۵±۴/۴۳	۱۶۸	
۶/۴	۴/۵۴	۶۸/۸±۵/۷۴	۶۱/۲±۴/۰۷	۶	SGOT
۱۱/۶	۸/۷۲	۶۹/۴±۲/۹۴	۷۲/۲±۳/۹۷	۲۴	
۱۲/۴	۹/۷۸	۶۵/۸±۳/۹۹	۷۵/۸±۶/۱۵	۴۸	
۱۴/۲	۱۰/۵۸	۷۰/۴±۵/۳۹	۷۸/۲±۳/۴۳	۷۲	
۱۵/۷	۱۲/۵۵	۶۶/۲±۵/۸۱	۷۱/۷±۸/۱۷	۹۶	
۱۶/۲	۱۳/۰۵	۶۸/۶±۶/۶۲	۷۸/۲±۷/۱۹	۱۲۰	
۱۷/۵	۱۴/۵	۶۴/۲±۵/۸۱	۷۴/۸±۹/۹۶	۱۴۴	
۱۸/۴	۱۴/۲	۶۸/۷±۶/۳۲	۸۰/۲±۷/۳۶	۱۶۸	

جدول ۴- میزان تغییرات فعالیت آنزیم SGOT در اثر تزریق عصاره کرفس

درصد کاهش فعالیت با دوز ۱۰۰۰	درصد کاهش فعالیت با دوز ۵۰۰	فعالیت آنزیمی گروه آزمایش (IU/L)	فعالیت آنزیمی گروه شاهد (IU/L)	ساعت
۶/۲	۴/۸۶	۶۸/۸±۵/۴۲	۷۲/۲±۴/۰۷	۶
۱۲/۹*	۱۰/۵۲	۶۸±۲/۸۳	۷۵/۸±۳/۹۷	۲۴
۱۴/۲*	۱۱/۵۲	۶۴/۶±۵/۱۶	۷۲/۸±۶/۱۵	۴۸
۱۶/۲*	۱۳/۱۱*	۶۳/۲±۶/۱۴	۷۳/۲±۳/۴۳	۷۲
۱۸/۴*	۱۴/۱۱*	۶۲/۸±۵/۳۸	۷۲/۷±۸/۱۸	۹۶
۱۹/۷*	۱۵/۵۶*	۶۳/۲±۸/۱۸	۷۴/۲±۴/۰۷	۱۲۰
۲۰/۱*	۱۶/۲*	۶۱/۴±۵/۳۱	۷۲/۸±۹/۶۸	۱۴۴
۲۱/۵*	۱۶/۴۹*	۶۱/۲±۵/۲۷	۷۳/۲±۷/۳۶	۱۶۸

* p<۰/۰۵

* مراجع:

1. امین غ. گیاهان سنتی ایران. تهران: انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، ۱۳۷۰، ۴۰ [جلد اول]
 2. عقیلی علوی. گیاهان شفابخش، قرابادین کبیر، تهران: بوذرجمهری، ۱۳۷۷، ۲۶۱
 3. Evans WC. Trease and evans Pharmacognosy. 14th ed. London: Saunders; 1996; 45, 264, 460, 503
 4. Royal pharmaceutical society. The extrapharmacopeia martindale. 34th ed. London: The Pharmaceutical press 2005, 300-10
 5. Segen JC. Dictionary of alternative medicine. USA: Appleton and Lang; 1998, 113
 6. عباسی ن. بررسی اثر اسانس شوید بر غلظت سرمی کلسترول، تری گلیسیرید LDL و HDL در رت. پایان نامه دکترای عمومی داروسازی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۷۹، ۵۲
 7. Leung A. Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, durgs and cosmetics. 2nd ed. New York: Jhon wiley & Sons; 1980, 1080
 8. Newall CA, Anderson LA, Phillipson
- JD. Herbal medicines. London: The pharmaceutical press; 1996, 65-6
9. Teng CM, Handa S. Inhibition of platelet aggregation by apigenin from *Apium graveolens*. *Asia Pac J Pharmacol*. 1988; 3(2): 85-9
 10. Walshe JM. Tetra timolybdata (MoS4) as anticapper agent in man. Disease and orphan drugs Manchester University press; 1980, 76-85
 11. Lazutka JR, Mierauskiene J, Slapsyte G, Dedonyte V. Genotoxicity of dill (*Anethum graveolens* L.), Peppermint (*menthaxpiperita* L.) and pine (*pinus sylversis* L.) jessential oils in human lymphocytes and *Drosophila melanogaster*. *Food Chemical Toxicol* 2001 May; 39 (5): 485-92
 12. Kolder G. Methods in laboratory medicin. *Clin Enzyme*. 1983; 203: 154-6
 13. Balistrei WF, Rej R. Liver Function In: Burtis CA, Ashwood E, Tietz R. *Fundamentals of clinical chemistry*. 4th ed. Toronto: W. B. Saunders; 1994, 539-58
 14. Ahmed B, Alam T, Varshney M, Aiam Khan S. Hepatoprotective activity of two plants belonging to the Apiaceae and Euphorbiaceae family. *J Ethnopharmacol* 2002 Mar; 79 (3): 313-6