Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

سال اول، شماره ۲،بهار۱۳۸۸، صفحه ۲۳ تا صفحه ۳۲

بررسی مقایسه‌ای اثر ضد جهشی و ضد سرطانی بخش‌های رویشی و زایشی بارهنگ کبیر(*Plantago major*) در دو منطقه لنگرود(گیلان) و حصارک(کرج)

صدیقه مهرابیان[۱] ، احمد مجد [۲]، **راضیه دانا**[۳]

۱– استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم.

۲ –استاد گروه زیست شناسی ،دانشکده علوم پایه ،دانشگاه آزاداسلامی واحد تهران شمال.

۳ –کارشناس ارشد گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم.**R_dana@yahoo.com**

چکیده

با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان، نیاز به داروهایی با عوارض جانبی کمتر و اثرات درمانی بهتر مورد توجه پژوهش گران قرار گرفته شده است. به طوری که امروزه بیش از ٦٠ ٪ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها بدست می‌آیند. گیاه بارهنگ کبیر (*Plantago major*) با خواص درمانی گسترده در طب سنتی ، حاوی متا بولیت های ثانویه ای چون ترکیبات فنلی (مشتقات کافئیک اسید)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ویتامین C در درمان بیماری های پوستی، اندام های تنفسی، اندام های گوارشی، گردش خون، پیش گیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت ها می باشد.هدف از این پژوهش بررسی مقایسه ای اثر ضد جهشی وضد سرطانی عصاره متانولی بخش های رویشی و زایشی گیاه بارهنگ می باشد.در این بررسی از عصاره های بخش های رویشی(برگ و ریشه)و زایشی (گل آذین) گیاه جمع آوری شده از دو منطقه، استفاده شد .آزمون تعیین توان ضد جهشی بر اساس روش پیشنهادی پروفسور ایمز و همکاران با استفاده از سویه جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم۱۰۰TAو ماده سرطان زای شناخته شده (آزید سدیم) انجام گرفت.هم چنین با افزودن میکروزوم کبد موش اثرضد سرطانی عصاره ها به اثبات رسید. در هر آزمون ازیک شاهد مثبت(آزید سدیم)ویک شاهد منفی (آب مقطر) استفاده شد. نتایج به دست آمده مشخص نمود که عصاره متانولی گل‌آذین وبرگ بارهنگ کبیر در هر دو منطقه لنگرود و حصارک در حضور S۹ و بدون S۹ با درصد مهار بیش از ٤٠٪ بازدارندگی جهش قوی نشان داده و ریشه با درصد مهار بین ۳۵ تا ٤٠ مهار متوسط نشان داد. نتایج به دست‌آمده از این تحقیق حاکی از آن است که بارهنگ کبیر(بخش‌های رویشی و زایشی) با داشتن خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی،گیاه دارویی با ارزشی است و مقایسه عصاره بارهنگ دو منطقه لنگرود و حصارک، تأثیر شرایط محیطی در میزان ساخت ترکیبات آنتی‌اکسیدان را در گیاه نشان می-دهد.

کلید واژه: عصاره متانولی گیاه بارهنگ کبیر ، سالمونلا تیفی موریوم ، اثر ضد جهش زایی ، اثر ضد سرطانی.

مقدمه

استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطانی برای اولین بار توسط Hartwell و همکارانش در اواخر دهه ۱۹۶۰انجام شد. آن ها از Podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عوامل

www.SID.ir

Archive of SID

ضد سرطانی استفاده کردند(۱). با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان، نیاز به داروهایی با عوارض جانبی و تداخلات دارویی کمتر و اثرات درمانی بهتر از طرف پژوهش گران مورد توجه قرار گرفته است. به طوری که امروزه بیش از ۶۰ درصد ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم‌ها بدست می‌آیند(۳، ۲ و ۱).

هم چنین به علت علاقه وافر مردم و مصرف روزافزون داروهای گیاهی و اهمیتی که این بخش از منابع طبیعی ایران از نظر اقتصادی ودرمانی دارد، ضرورت تحقیق در زمینه اثرات درمانی گیاهان دارویی آشکار است.امروزه برای سنجش فعالیت ضد جهشی ترکیب های مختلف از باکتری‌ها استفاده می‌شود که در زمانی کوتاه نتایج عالی ارائه می‌دهند. یکی از روش‌های سنجش ترکیب های بازدارنده جهش در باکتری‌ها، کاربرد روش ایمز(Ames) است. ایمز و همکارانش در سال ۱۹۷۵ فعالیت ضدجهشی و ضدسرطانی ترکیبات مختلف را مورد بررسی قرار دادند. در این روش از سویه‌های سالمونلایی که بر اثر موتاسیون قدرت سنتز هیستیدین را از دست داده‌اند، استفاده می‌شود. این سوش‌ها در مقابل ماده سرطان‌زا در محیط فاقد هیستیدین، جهش برگشتی در جهت سنتز هیستیدین خواهندداشت(۵ و۴) . در روش ایمز سویه‌های جهش‌یافته سالمونلا تیفی‌موریوم برای شناسایی ترکیبات ضد جهشی به طور گسترده استفاده می‌شود(۶).سویه های جهش یافته سالمونلایی دارای جهش‌هایی از نوع تغییر قالب (fram- shift) یا جانشینی جفت بازی هستند. سویه TA100 استفاده شده در این پژوهش دارای جهش از نوع جانشینی جفت بازی است(۷). سویه‌های جهش‌یافته سالمونلا به علت جهش ایجاد شده، در محیط حداقل (فاقد هیستیدین) توانایی رشد نداشته (اگزوتروف) و هیستیدین منفی هستند.،همه-ی بخش های رویشی و زایشی (ریشه،ساقه و دانه)گیاه بارهنگ کبیر با نام علمی *Plantago major* L. از خانواده‌ی Plantaginaceae، دارای مصارف دارویی از جمله، درمان بیماری های پوستی، ناراحتی های تنفسی، گوارشی، گردش خون، پیش گیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت ها و غیره است (۹ و۸). بارهنگ کبیر با داشتن ترکیباتی مانند ترکیبات فنلی (مشتقات کافئیک اسید)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ویتامین C ، گیاه دارویی مهمی محسوب می‌شود.ترکیب اصلی فلاوونوئیدی در گونه‌های *Plantago*، Luteolin 7-glucoside است که در پیش گیری و مهار سرطان نقش دارد(۱۰ و۹). تری ترپنوئیدهای جدا شده از موم برگی عبارتند از Oleonolic acid , ursolic acid است که این دو ماده اثر مهارکننده بر پیشرفت تومور را بر عهده دارند(۹). مشتق اصلی کافئیک اسید در بارهنگ کبیر Plantamajoside و Actoside است(۱۱). بارهنگ کبیر دارای آلکالوئیدهایی است که تحت عنوان Indican و Plantagonin نام گذاری نموده اند (۹).

بررسی‌هایی که با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بر روی بخش میکروزومی انجام شده نشان می‌دهد که میکروزوم‌ها از قطعاتی از سیستم واکوئلی و نیز قطعات شبکه آندوپلاسمی صاف و زبر و دستگاه گلژی ساخته شده‌اند و در یاخته‌های زنده و سالم دیده نمی‌شوند بلکه ضمن خرد کردن یاخته‌ها، لوله‌ها و کیسه‌های شبکه آندو پلاسمی شکسته و قطعات غشایی شبکه به سرعت حفره-های میکروزومی را بوجود می‌آورند. در غشای میکروزوم‌ها نوعی هموپروتئین به نام سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ وجود دارد. این هموپروتئین در یاخته‌های کبدی بیش از سایر یاخته‌ها وجود دارد و مقدار آن ضمن تیمار جانوران با عوامل القایی مختلف، تغییر می‌کند. سیتوکروم $P_{۴۵۰}$ به صورت یک اکسیداز انتهایی عمل می‌کند و عامل ضد سمی در کبد است و عوامل زیان بار

www.SID.ir

Archive of SID

و تعدادی از مواد دارویی را از طریق اکسیداسیون و نیز هورمون‌های استروئیدی را با هیدروکسیلاسیون غیر فعال می‌سازد(۱۲). فعالیت متابولیکی برخی ترکیبات در حضور عصاره میکروزومی، در جهت مهار جهش تقویت می‌شود. بنابراین استفاده از عصاره میکروزومی به منظور بررسی فعالیت ضدسرطانی عصاره‌های گیاهی در بدن و برقراری ارتباط بین سیستم پروکاریوتی با سیستم یوکاریوتی ضروری است. با توجه به فراوانی گیاه بارهنگ واستفاده متداول از آن در کشور،پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه خواص ضد جهشی عصاره های متانولی با استفاده ازروش ایمز و سپس بررسی خواص ضد سرطانی ناشی از خواص ضد جهشی آن با استفاده از عصاره کبد موش آزمایشگاهی تدوین وانجام شده است

مواد و روش ها

عصاره گیری و نمونه برداری گیاه

به منظور بررسی فعالیت ضد سرطانی بارهنگ کبیر و تأثیر شرایط محیطی بر روی میزان و نوع ترکیبات ضد سرطانی موجود در گیاه، جمع آوری بخش‌های ریشه، برگ و گل‌آذین در دو منطقه حصارک (کرج) و لنگرود(گیلان) انجام شد. نمونه‌ها در ساعات اولیه صبح فصل پاییز جمع آوری شدند. پس از شستشوی اولیه، نمونه‌ها در دمای اتاق و دور از نور مستقیم خورشید خشک و به وسیله آسیاب برقی پودر شده ،سپس با استفاده از روش تندالیزاسیون استریل شده و با استفاده از متانول ۸۰٪، عصاره‌های متانولی ریشه، برگ و گل آذین گیاه بارهنگ کبیر تهیه شدند(۱۳).

باکتری مورد آزمایش

باکتری مورد استفاده، باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم TA۱۰۰ است که مستقیماً از پروفسور ایمز دریافت شد.

آزمون‌های تأیید سوش مورد آزمایش(TA۱۰۰)

برای تأیید سوش در تمامی آزمون‌های زیر از کشت تازه شبانه استفاده شد.

جهش rfa: سوش مورد نظر برای حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. به این منظور یک دیسک(فیلتر) کاغذی استریل آغشته به کریستال ویوله را در سطح پلیت کشت شده با سالمونلا تیفی-موریوم(TA100) قرار داده، بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله مهار رشد سنجیده شد.

جهش uvrB: جهش uvrB با نشان دادن حساسیت به UV در سوش TA۱۰۰ حامل این جهش تأیید شد.

فاکتور R: سوش TA۱۰۰ به طور معمول برای وجود فاکتور مقاومت به آمپی‌سیلین مورد آزمایش قرار گرفت. این آزمایش تنها نشانه ای مناسب برای کسب اطلاع در زمینه وجود پلاسمید است.

آزمون اثر ضدجهشی عصاره متانولی ریشه ،گل آذین وبرگ بارهنگ کبیر با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم

مرحله اول این آزمون، شامل آمیختن ماده مورد آزمایش به ۰/۵ میلی‌لیتر کشت تازه شبانه سالمونلا تیفی-موریوم (TA۱۰۰) و ۰/۱ میلی لیتر محلول هیستیدین-بیوتین در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار است. سپس محتویات این لوله را پس از ۳ ثانیه تکان دهی (در shaker)، به طور یک نواخت در سطح محیط آگار حداقل گسترده و بعد از سفت شدن آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای $37^{o}C$ قرار می‌گیرد(برای هر عصاره مورد آزمایش ۳ پلیت در نظر گرفته می‌شود). شاهد منفی حاوی باکتری و آب مقطر استریل است و شاهد مثبت نیز شامل باکتری و سدیم آزید می‌باشد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، کلنی‌های برگشت یافته در پلیت‌های شاهد شمارش می‌گردند. در این آزمون عصاره‌های متانولی گل‌آذین، برگ و ریشه گیاهان بارهنگ کبیر در دو منطقه حصارک ولنگرود مورد مطالعه و آزمایش قرار گرفت.

آزمون فعالیت ضد جهشی عصاره‌ها با استفاده از میکروزوم کبد موش(S ۹)

www.SID.ir

Archive of SID

جهت تهیه S_9 از کبد رت نر استفاده می‌شود. با شستشوی کبد موش در محلول استریل و سرد کلرید پتاسیم ۰/۱۵ مولار و سانتریفوژ کردن، محلول S_9 تهیه گردید(۴). این آزمون نیز مرکب از آمیختن ماده‌ی آزمایشی، سوش باکتری آزمایشی، محلول هیستیدین – بیوتین و مخلوط S_9 در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار بوده، که در سطح محیط آگار حداقل گسترده شده است. در این آزمون نیز شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته می‌شودو پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای درجه سانتی گراد۳۷ کلنی‌های برگشت‌یافته، شمارش می‌شوند.

محاسبه درصد بازدارندگی جهش توسط عصاره ها

مقدار درصد بازدارندگی از جهش با استفاده از فرمول $S=(1 - T/ M) \times ۱۰۰$ محاسبه می‌شود(۱۴). در این فرمول S مقدار در صد بازدارندگی از جهش، T تعداد کلنی های برگشتی در هر پلیت در حضور عامل جهش‌زا و عصاره و در نهایت M تعداد کلنی های برگشتی در هر یک از پلیت های شاهد مثبت می باشند(تعداد کلنی های برگشتی خود به خودی در شاهد منفی باید از صورت و مخرج کسر کاسته شود).

تحلیل آماری

بررسی آماری این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS و تحلیل واریانس یک عاملی (One -Way Anova) و نیز رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

تأیید سوش باکتری

نتایج تأیید ژنوتیپ سوش سالمونلاتیفی موریوم TA100 حاکی از آن است که این سوش کاملاً جهش یافته بوده و جهت انجام آزمون‌های ضد جهشی عصاره-های گیاهی مناسب است(جدول ۱). جهش rfa سبب فقدان جزئی لیپو پلی ساکاریدهای پوشش سطحی باکتری می‌شود و در نتیجه باکتری به کریستال ویوله نفوذپذیر شده و حضور کریستال ویوله در محیط سبب مرگ باکتری می‌شود.جهش uvrB نشان‌دهنده جهش در ژن‌های تعمیریافته DNA در اثر آسیب UV می‌باشد. با تاباندن UV و قرار دادن نمونه در تاریکی، باکتری قادر به تعمیر بخش آسیب دیده نخواهد بود و بخشی که در معرض UV بوده، باکتری‌ها رشد نمی کنند.پلاسمید R در سویه TA100 دارای ژن مقاومت به آمپی‌سیلین است و در حضور دیسک آمپی‌سیلین، باکتری رشد می‌نماید.

بررسی اثر ضدجهشی بارهنگ کبیر در حضور S_9 و بدون S_9 با استفاده از سالمونلا تیفی‌موریوم در دو منطقه لنگرود و حصارک

نتایج به دست آمده از تأثیر عصاره‌های متانولی گل‌آذین، برگ و ریشه بر جهش‌زایی سدیم آزید در غیاب S_9 نشان داد که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه (به ترتیب:

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپی سویه های سالمونلا تیفی موریوم۱۰۰ TA

سویه مورد آزمایش	جهش rfa	جهشUvrB	پلاسمید R- Factor
سالمونلا تیفی موریوم TA۱۰۰	+	+	+

www.SID.ir

Archive of SID

۳۷۵، ۷۲۸، ۱۵۴۸) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی در پلیت شاهد مثبت(۲۰۷۳)، کمتر است. هم چنین محاسبه درصد مهار جهش عصاره‌ها با استفاده از فرمول Ong(1986) نشان داد که عصاره گل‌آذین و ریشه به ترتیب با درصد مهار ۹۶/۸۳ و ۴۰/۲۲، بیش ترین وکم ترین درصد مهار را جهش داشتند و عصاره برگ با درصد مهار ۷۹/۸ درصد مهار جهش کمتری نسبت به گل‌آذین نشان داد(جدول ۲). به همین ترتیب درصد مهار جهش عصاره گل‌آذین، تفاوت معنی داری با درصد مهار جهش عصاره برگ و ریشه دارد($P<۰/۰۰۱$).نتایج بررسی عصاره‌ها در حضور $S_۹$ نشان دادند که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره های گل‌آذین، برگ و ریشه(به ترتیب: ۳۷۴، ۷۳۶، ۱۵۱۷) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی در شاهد مثبت (۲۰۲۴)، کمتر است و نیز درصد مهار جهش عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه به ترتیب از بیش ترین به کم ترین شامل ۹۵/۳۶، ۷۷/۶۳، ۳۹/۶۵ است(جدول ۲). بررسی آماری فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی نشان می دهد که بین نتایج استفاده از $S_۹$ و عدم استفاده از $S_۹$ ، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد($P<۰/۰۵$).بنابراین عصاره‌های استفاده شده منطقه لنگرود در غیاب $S_۹$ ودرحضور $S_۹$ ، فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی یکسانی دارند.

نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل‌اذین، برگ و ریشه گیاهان منطقه حصارک

نتایج به دست آمده از تأثیر عصاره‌های متانولی گل آذین، برگ و ریشه بر جهش‌زایی سدیم آزید در غیاب $S_۹$ نشان داد که تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه(به ترتیب: ۳۸۳، ۴۸۱، ۱۵۹۰) در مقایسه با تعداد کلنی‌های برگشتی پلیت شاهد مثبت (۲۰۷۳)، کمتر بود(جدول۳). هم چنین محاسبه درصد مهار جهش عصاره‌ها با استفاده از فرمول Ong(1986) نشان داد که عصاره گل‌آذین و برگ به ترتیب با درصد مهار جهش ۹۶/۳۹ و ۹۱/۶۸ بیش ترین و ریشه با درصد مهار جهش ۳۸/۱۶ کم ترین درصد مهارجهش را داشتند(جدول۳). درصد مهار جهش عصاره گل‌آذین تفاوت معنی‌داری با درصدمهار جهش عصاره برگ ($P<۰/۰۵$) و ریشه ($P<۰/۰۰۱$) نشان داد. نتایج بررسی تأثیر عصاره‌ها در حضور$S_۹$ نشان دادند که تعداد کلنی‌ها ی برگشتی در حضور عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه(به ترتیب: ۳۸۲، ۵۲۰، ۱۶۰۹) درمقایسه با

جدول ۲- نتایج بررسی اثر ضدجهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل آذین،برگ، ریشه گیاهان منطقه لنگرود با استفاده از سالمونلا تیفی‌موریوم TA۱۰۰ ،$S_۹$ –(بدون $S_۹$)، +$S_۹$ (حضور $S_۹$).

عصاره‌های متانولی	سالمونلا تیفی موریوم TA ۱۰۰ (-$S_۹$)		سالمونلا تیفی موریوم TA ۱۰۰ (+$S_۹$)	
	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	درصد مهار جهش
شاهد منفی	۳۰۹	–	۲۹۶	–
شاهد مثبت	۲۰۷۳	–	۲۰۲۴	–
گل‌آذین	۳۷۵	۹۶/۸۳	۳۷۴	۹۵/۳۶
برگ	۷۲۸	۷۹/۸۰	۷۳۶	۷۷/۶۳
ریشه	۱۵۴۸	۴۰/۲۲	۱۵۱۷	۳۹/۶۵

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد کلنی های برگشتی در شاهد مثبت (۲۰۲۴)، کمتر است و نیز درصد مهار جهش عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه به ترتیب از بیش ترین به کم ترین ۹۵/۷۶، ۸۸/۹۲، ۳۵/۰۸ است. عصاره گل آذین و برگ نسبت به ریشه درصد مهار بیشتری نشان دادند(جدول۳).بررسی آماری فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی نشان می دهد که بین نتایج استفاده از S_9 و عدم استفاده از S_9 ، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد($P<۰/۰۵$).بنابراین گیاهان منطقه حصارک نیز مانند گیاهان منطقه لنگرود در غیاب S_9 ودرحضور S_9 ، فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی یکسانی دارند.

مقایسه فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل‌آذین، برگ و ریشه گیاهان بارهنگ کبیر در دو منطقه لنگرود و حصارک

نتایج به دست‌آمده از بررسی آماری نشان داده است که فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل-آذین و ریشه گیاهان منطقه لنگرود با عصاره‌های گل-آذین و ریشه گیاهان منطقه حصارک درحضور S_9 و بدون S_9 ، تفاوت معنی داری ندارند($P<۰/۰۵$). امّا بین عصاره برگ گیاهان منطقه لنگرود در حضور S_9 و بدون S_9 به ترتیب با درصد مهار ۷۹/۸ و ۷۷/۶۳ ، با عصاره برگ گیاهان منطقه حصارک درحضور S_9 و بدون S_9 به ترتیب با درصد مهار ۹۱/۶۸ و ۹۲/ ۸۸ ، تفاوت معنی-داری وجود دارد ($P<۰/۰۵$)، به طوری‌که عصاره برگ گیاهان منطقه حصارک در مقایسه با برگ گیاهان منطقه لنگرود، درصد مهار بیشتری نشان می‌دهند(نمودار۱) .

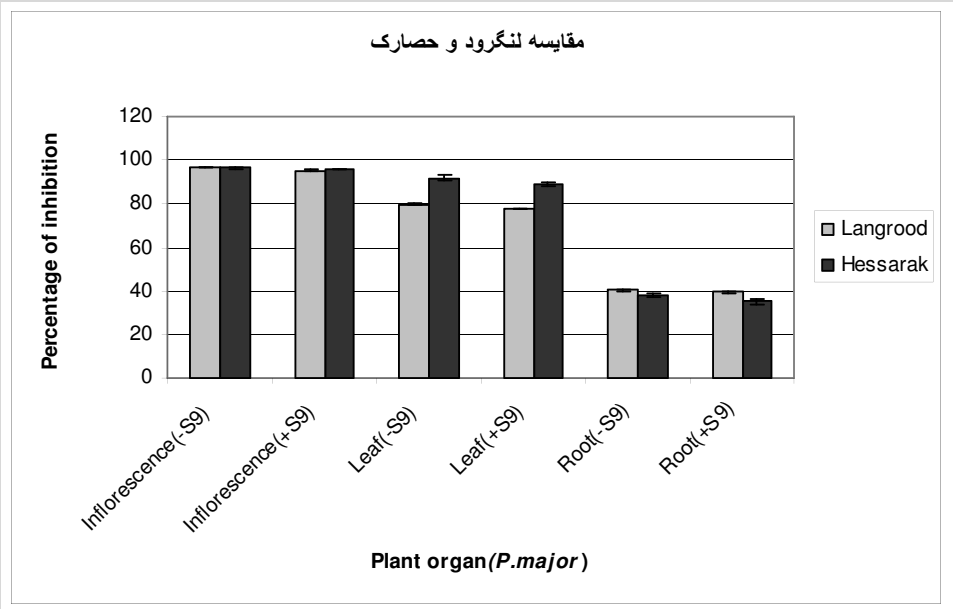
در مقایسه میانگین‌ها در سوش ۱۰۰ TA (بدون S_9 و در حضور S_9) کم ترین میانگین کلنی‌های برگشت‌یافته مربوط به شاهد منفی و بیش ترین میانگین کلنی‌های برگشت‌یافته مربوط به شاهد مثبت می‌باشد. پس از آن ها به ترتیب از کم ترین به بیش ترین : شاهد منفی، گل-آذین، برگ، ریشه و شاهد مثبت است

جدول ۳- نتایج بررسی اثر ضدجهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل آذین،برگ، ریشه گیاهان منطقه حصارک با استفاده از سالمونلا تیفی‌موریوم TA۱۰۰ ، S_9 –(بدون S_9)، +S_9 (حضور S_9).

عصاره‌های متانولی	سالمونلا تیفی موریوم TA ۱۰۰ (-S_9)		سالمونلا تیفی موریوم TA ۱۰۰ (+S_9)	
	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	درصد مهار جهش	میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی	درصد مهار جهش
شاهد منفی	۳۰۹	–	۲۹۶	–
شاهد مثبت	۲۰۷۳	–	۲۰۲۴	–
گل‌آذین	۳۸۳	۹۶/۳۹	۳۸۲	۹۵/۷۶
برگ	۴۸۱	۹۱/۶۸	۵۲۰	۸۸/۹۲
ریشه	۱۵۹۰	۳۸/۱۶	۱۶۰۹	۳۵/۰۸

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- مقایسه درصد مهار جهش بخش‌های مختلف بارهنگ کبیر در دو منطقه لنگرود و حصارک

بحث

در این پژوهش جهش‌یافتگی سالمونلاتیفی موریوم TA۱۰۰ با جدول پروفسور ایمز که درسال ۱۹۸۳بر اساس آخرین بررسی ها ارایه شده (۴) هم‌سویی نشان داده و سوش TA۱۰۰ تأیید گردید. روش فعالیت ضد جهشی با کاهش تعداد جهش‌های برگشتی در مقایسه با شاهد مثبت رایج در آزمایشگاه‌های سراسر دنیا استفاده می‌شود(۱۵). بررسی جدول نتایج نشان می‌دهد تعداد کلنی‌ها با جهش برگشتی در حضور عصاره‌ها در مقایسه با شاهد مثبت کاهش یافته است که نشان‌دهنده فعالیت ضد جهشی عصاره‌ها می‌باشد. بررسی ها نشان داده که گیاهانی که در ارتفاعات می‌رویند با کاهش دما و افزایش تولید گونه‌های اکسیژن آزاد مواجه می‌شوند، افزایش شدت نور نیز سبب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن آزاد و آسیب اکسیداتیو سلول‌ها می‌شود. برگ این مناطق برای مقابله با شدت نور زیاد، دارای ترکیبات آنتی اکسیدان بیشتری نسبت به گیاهان رویش‌یافته در مناطق کم ارتفاع هستند(۱۶).بنابراین با توجه به آن‌که ارتفاع از سطح دریای منطقه حصارک از لنگرود بیشتر می‌باشد، نتایج ما با بررسی های Renو همکارانش درباره‌ی افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مناطق با ارتفاع بیشتر، مطابقت دارد.گونه‌های مختلف *Plantago* در مناطق مختلف جهان در درمان سرطان استفاده می‌شوند. Hartwell در بررسی هایش در مورد استفاده‌ی انسان از گیاهان در درمان سرطان نشان داد که از گونه‌های مختلف*Plantago* از جمله *Plantago major*استفاده می کند(۱۷). اخیراً نیز گزارش‌های فراوانی مبنی بر استفاده از گونه‌های *Plantago* در طب سنتی، علیه سرطان درکشورهای مختلف جهان از جمله مکزیک و آرژانتین منتشر شده است(۱). Galvez

www.SID.ir

Archive of SID

وهمکارانش در بررسی‌های خود در مورد *P.major* نشان داد که در جزایر قناری،شیلی، ونزوئلا و پاناما از *P.major* در درمان تومور استفاده می‌شود(۱۰).در پژوهش حاضر، مشاهدات ما از فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی بخش‌های مختلف بارهنگ کبیر با مشاهده های Samuelsen و Hartwell در استفاده سنتی بارهنگ کبیر در درمان سرطان مطابقت دارد(۱۷ و۹) . Kanda و همکارانش، فلاونوئیدهای ۸ گونه از *Plantago* را مطالعه نمودند و نشان دادند که Luteolin- 7-O- ß-glucosideترکیب اصلی فلاونوئیدی در بیشتر گونه‌های *Plantago* است(۱۸). نتایج بررسی‌های Galves و همکارانش نشان داد که Luteolin- 7-O- ß-glucoside به عنوان مولکول ضد سرطان قوی در مهار آدنوکارسینومای پستان می‌باشد. مکانیزم دقیق فعالیت مهاری Luteolin- 7-O- ß-glucoside درگونه‌های *Plantago* به طور دقیق شناخته نشده است. امّا به نظر می‌رسد مهار آسیب DNA که به وسیله توپوایزومرازها وساطت می‌شود کاندید اصلی عملکردLuteolin- 7-O- ß-glucoside در مهار سرطان باشد(۱۰).Galves و همکاران اثر مهاری عصاره متانولی بخش‌های هوایی(گل‌آذین و برگ) گیاه بارهنگ کبیر بر لایه های سلول‌های سرطانی آدنوکارسینومای انسان(MCF-7) و لایه های سلول‌های سرطانی ملانومای انسان(UACC-62) را نشان دادند.نتایج ما درباره‌ی فعالیت ضد سرطانی عصاره‌های متانولی بخش‌های مختلف گیاه بارهنگ کبیربا استفاده از روش ایمز با نتایج Galves و همکاران(۲۰۰۳) در مورد فعالیت ضد سرطانی عصاره متانولی بخش هوایی بارهنگ کبیر بر لایه های سلول‌های سرطانی نام برده، هم‌سویی داشت(۹).مشتقات کافئیک اسید موجود در بارهنگ در شیشه(In vitro) نقش آنتی اکسیدانی داشته واثر جهش زایی و سرطان‌زایی ترکیباتی مانند نیتروزآمین را مهار می نمایند (۱۱).بررسی های ما در مهار جهش‌زایی سدیم‌آزید با استفاده از عصاره متانولی بخش‌های رویشی و زایشی بارهنگ کبیر با بررسی های Olthof و همکاران (۲۰۰۰) در مهار جهش زایی ترکیب جهش‌زای نیتروزآمین به وسیله مشتقات کافئیک اسید موجود در بارهنگ کبیر، مطابقت دارد.در ترکیبات شیمیایی بارهنگ کبیر، ترکیبات فنلی نیز وجود دارند. ترکیبات فنلی به ویژه فلاونوئیدها دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند، امّا آن ها همه‌ی جهش‌هایی را که توسط عوامل جهش‌زا القاء می‌شوند، نمی‌توانند مهار نمایند. بررسی‌ها نشان داده که ترکیبات فنلی در گیاه علیه تشعشعات UV استفاده می‌شوند. از این رو، آن ها برای عمل ضدجهشی خود در بدن جانوران دیگر نیازمند ترکیبات فعال متابولیکی هستند(۶).به همین علت در روش ایمز برای بررسی فعالیت ضد سرطانی عصاره‌های گیاهی از عصاره میکروزومی کبد پستانداران(موش یا انسان) استفاده می‌شود(۱۹).فعالیت ضد جهشی ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن ها همراه می‌شود، زیرا ترکیبات فنلی سبب مهار آسیب DNA در حضور رادیکال‌های آزاد می‌شوند(۶).

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1.Srivastava V , Negi A S , Kuma J K R, Gupta M M and Khanuja S P S.(2005)Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 13:5892–590.

2. Moller P,Wallin H,Knudsen LE. (1996)Oxidative stress associated psychological stress and life-style factor.Chem Bio Interact.102:1-36.

3.NamikiM.(1990)Antioxidants/antimutagenes in foods.Crit Rev.Food Technol.29:273-300.

4. Ames B N(1983)Directary carcinogens and anticarcinogens.Science. 221(1983): 1256-1263.

5. Ames B N.(1976) Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* / mammalin microsome mutagenicity test.Mutat.Res. 31(1973) : 347-349.

6.The´riault M A, Caillet S A, Kermasha S A, Lacroix M.(2006)Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. Food Chemistry. 98: 490–501.

7. Gee P, Maron D P and Ames BN.(1994) Detection and classification of mutagens: A sof base-specific *Salmonella* tester strains. Proc. Nad. Acad. Sci. 91: 11606-11610.

8. Chiang LC , Chiang W, Chang MY , Lin LT.(2002)Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro.Antiviral Research .55: 53–62.

9. Samuelsen A B(2000)The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology. 71:1–21.

10. Galvez M,Cordero M C,Cortes F and Ayus MY.(2003)Cytotixic effect of *Plantago spp*.oncanceralllins.J.Ethopharmacology.88:125-130.

11. Olthof mR, Hollman P C H and Katan M B(2000)Chlorogenic Acid and caffeic acid are absorbed in humans.American Society for Nutritional Sciences

۱۲-مجد، احمد و شریعت زاده، سید محمد علی(۱۳۸۴) زیست سلولی مولکولی، انتشارات آییژ.

13. Motalleb G , Hanachi P. (2005) Evaluation of Phenolic contentand total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extracts. J.Biol.Sci:648-653.

14. Ong T, ong W Z W, Stwart J D and Brockman H E(1986)Chlorophllin.A potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture.Mutate Res.173:111-115.

15. Shamon L A & Pezzuto J M.(1997)Assesment of antimutagenic activity with *Salmonella typhimurium* strain TM677.Methods in science.19 [Abstract].

16. Ren H X , Wang Z L , Chen X , Zhu Y L.(1999)Antioxidative responses to different altitudes in *Plantago major.*Environmental and Experimental Botany.42 : 51–59.

17. Hartwell J L.(1982)Plants used a gainst cancer :Asurvey.Quterman publications, Lawerce,MA.

18. Kanda S,Wani C,Middletion E.(1994)Free scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids .Advanses in Experimental.Medicine andBiology.366:354-376.

19. Thepouyporn A, Kwanbunjan K, Poudong S and Changbumrung S .(2006) Mutagenicity of study weeds and common. plants used in traditional medicine and for animal feed.Mahidol University. 37.

www.SID.ir

Archive of SID

Abstract

Along with increasing cancer all over the world and also in Iran the need for anticarcinogenic medicines with more effects and less side effects seems to attract researchers' attention day by day. Nowadays, however, more than 60% of anticarcinogenic compounds are derived from herbal, marine and micro-organisms resources. *Plantago major L.* with its expanded medical property in traditional medicine has got several secondary metabolites such as: Fenolice compounds (Coffeic acid derivatives) Felavonoids, Alkaloids, Terpenoids and Vitamin C, which can be used in the dermal disease healing, and respiratory, digestive and blood circulation problems therapies. It also can prevent cancer and tumor and infectious wounds. The aim of this study was to compare the anticarcinogenic and antimoutagenic effect of the metanolic extract of vegetative (leaves, roots) and generative (inflorescences) parts of the plant in two different regions: Hesarak and Langerood. The antimoutagenic potential determination experiment was done using Professor Ames and et al. Method on mutagened *Salmonella typhimurium* TA100 and in the presence of a carcinogenic compound, Sodium Azid. Furthermore, by adding rat liver microsome, the anticarcinogenic effect of the extracts was proved. Each experiment included positive control (Sodium Azid+ bacteria) and negative experiment (water + bacteria). The results revealed that the methanolic extracts of the florescences and the leaves of *P.major* in both Langerood and Hesarak region with and without S_9 and inhibition percentage of more than 40% showed strong antimutagenicity and anticarcinogenicity efficiency. However, the root extracts, by less than 40% inhibitory percentage revealed decrease in antimutagenicity and anticarcinogenicity efficiency. It is concluded that the *P.major* by having anticarcinogenic and antimoutagenic properties is a valuable medical plant and finally, comparing the extracts of the plants in both regions showed the effect of environmental conditions in antioxidant production in the plants.

Key words: *Plantago major*, *Salmonella typhimurium*, antimutagenicity, anticarcinogenicity, Ames test.

www.SID.ir