

تأثیر عصاره متانولی گیاه *Lippia citriodora* در پیش گیری و کنترل IBD القاء شده توسط استیک اسید در موش

مریم تیموری^{۱*}، فریبا خسروی نژاد^۲

^۱ گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران
^۲ گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* Email: m.teimouri@riau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۴/۲۶

چکیده

بیماری التهابی روده (IBD) وضعیتی از درگیری مزمن روده با عوامل ناشناخته می باشد. هر چند که عوامل ایمنولوژیک، ژنتیکی و فاکتورهای محیطی به عنوان زمینه ساز مطرح شده اند. هدف این مطالعه، بررسی اثرات عصاره متانولی گیاه *Lippia citriodora* به عنوان یک گیاه دارویی مؤثر در پیشگیری و کنترل IBD القاء شده توسط استیک اسید در موش نژاد Balb/C بود. عصاره گیاه *Lippia citriodora* با غلظت ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ $\frac{mg}{kg}$ به موش های نژاد Balb/C مبتلا به IBD داده شد. پردنیزولون نیز به عنوان استاندارد آزمایش و بررسی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی و بیوشیمیایی روی بافت کولون انجام شد. مطالعات بیوشیمیایی از بافت ملتهب شده کولون به وسیله اندازه گیری فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز (MPO) و تعیین غلظت مواد واکنش دهنده باتیوباریتوریک (TBARS) به عنوان مارکر فعالیت رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی در سلول ها انجام شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز و تیوباریتوریک اسید در موش های دریافت کننده اسیداستیک افزایش یافت در حالی که در موش های تحت درمان با دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ $\frac{mg}{kg}$ عصاره *Lippia citriodora* و پردنیزولون مقادیر MPO و TBARS کاهش نشان داد. همچنین موش های تحت درمان با عصاره متانولی *Lippia citriodora* و پردنیزولون مقادیر کمتری را برای ویژگی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی برطبق خراشیدگی های صورت گرفته، در مقایسه با گروه دریافت کننده اسیداستیک نشان دادند. مؤثرترین دوز، ۲۰۰ $\frac{mg}{kg}$ عصاره *Lippia citriodora* بود که تأثیری مشابه با پردنیزولون داشت. فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهابی *Lippia citriodora* اثرات درمانی در IBD داشت. ولی مطالعات بالینی بیش تری جهت بررسی اثرات این گیاه در درمان IBD در انسان مورد نیاز است.

کلیدواژه ها: بیماری التهابی روده، پراکسیداسیون لیپیدی، موش، *Lippia citriodora*.

مقدمه

بیماری‌های التهابی روده (IBD) باعث فعال شدن مزمن و التهاب دستگاه گوارش می‌شود. از لحاظ بافت‌شناسی، التهاب روده‌ای با تراوش لوکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئر، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها مشخص می‌شود [۳، ۴]. دو بیماری کرون و کولیت اولسراتیو دو شکل اصلی IBD هستند، فاکتورهای ژنتیکی، عوامل عفونی و ایمونولوژیک، دخانیات، داروها و نیز برخی از فاکتورهای پاتولوژیک در پاتوفیزیولوژی IBD نقش دارند [۸، ۶]. همچنین تنش اکسیداتیو نقش اساسی در پاتوژنز آسیب روده‌ای در ارتباط با IBD دارد [۷]. عدم موازنه قابل توجه در فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام به طوری که تنش اکسیداتیو افزایش یافته و محافظت آنتی‌اکسیدانی کاهش یابد، در نمونه‌برداری‌های مخاط کولونی مشخص شده‌اند [۱، ۲، ۴]. اگر میزان رادیکال‌های آزاد زیاد و یا محافظت آنتی‌اکسیدانی کم باشد حالتی از تنش اکسیداتیو پیش می‌آید که ممکن است باعث آسیب مزمن یا پایدار به سلول‌ها شود. یکی از مارکرهای استراس اکسیداتیو، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌هاست که از طریق اندازه‌گیری میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربتوریک اسید (TBARS) مشخص می‌شود [۵، ۹]. مطالعات پیشین وجود تنش اکسیداتیو را در مایعات بیولوژیک مانند بزاق و پلاسما در بیماران مبتلا به IBD نشان داده‌اند [۱، ۷]. اثر بخشی روش‌های درمانی گوناگون در درمان IBD را ممکن است بتوان به عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نسبت داد [۹-۱۳]. ترکیباتی نظیر سولفاسالازین و متابولیت‌هایش، ۵-آمینوسالیسیلیک اسید که در درمان IBD استفاده می‌شوند به عنوان حذف‌کنندگان بسیار مؤثر ترکیبات فعال اکسیژن می‌باشند [۱۴، ۱۱].

نوتروفیل‌ها نقش عمده‌ای در واکنش‌های التهابی و ایمنی در IBD ایفا می‌کنند [۱۴]. آنزیم میلوپراکسیداز (MPO) قادر به تشکیل تعداد زیادی مواد اکسیدان بوده به طوری که اکسیداسیون ترکیبات دهنده الکترون (مثل هالیدها) را توسط پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند. همچنین مشخص شده که میزان فعالیت MPO که بیش‌تر در گرانول‌های نوتروفیلی یافت شده و مشخص‌کننده تعداد نوتروفیل‌هاست در مدل تجربی IBD القاء شده با استیک اسید افزایش می‌یابد [۱۴]. کولیت القاء شده با استیک اسید یک مدل آسان ایجاد IBD است و شباهت پروفایل مدیاتورهای التهابی در این مدل یا IBD در انسان نشان می‌دهد که فاز التهابی، شباهت‌هایی با التهاب روده‌ای در انسان دارد [۱۵]. مشخص شده که تعداد زیادی از عصاره‌های گیاهی در وضعیت‌های مزمن التهابی مؤثر هستند. گیاه به لیمو با نام علمی *Lippia citriodora*، یکی از گیاهان دارویی متعلق به تیره شاه پسند است که بومی آمریکای جنوبی، شیلی و پرو می‌باشد [۱۵]. در حال حاضر درختچه این گیاه به دلیل اهمیت اقتصادی و دارویی در نواحی شمال ایران به ویژه در استان گلستان کشت داده می‌شود [۱۶، ۱۸]. در طب سنتی از این گیاه در درمان سردرد، سرگیجه، دل پیچه، دل درد و سوء هاضمه، بهبود علائم سرماخوردگی، بهبود تپش قلب، کنترل اسهال، مهار رشد اشریشیاکلی و میکروباکتریوم توبرکلوزیس و استافیلوکوکوس اورئوس در مطالعات درون‌شیشه، استفاده شده است [۱۷، ۱۹]. با توجه به فعالیت‌های گزارش شده برای این گیاه و نیز مطالب گفته شده در مورد IBD، برای اولین بار اثرات عصاره هیدروالکلی این گیاه در درمان بیماری IBD در موش بررسی همچنین وضعیت تنش اکسیداتیو را از طریق اندازه‌گیری میزان TBARS و

۱،۱۴ به مدت ۳ روز و اسید استیک داشتند. تجویز پردنیزولون از زمان تجویز استیک اسید شروع و به مدت ۳ روز ادامه داشت. حیوانات با پنتوباریتال (40mg/kg, i.p.) بیهوش و استیک اسید از طریق مقعد وارد روده شد. ۴۸ ساعت پس از تجویز استیک اسید حیوان کشته شد و پس از درآوردن کولون و شستشو با نرمال سالین، به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژیک، کولون در فرمالین سالین ۱۰ درصد، ثابت و پس از تهیه قطعات ۵ میکرومتری از بافت روده بزرگ، برش‌ها در همتوکسیلین وائوزین رنگ‌آمیزی شدند. قطعات رنگ‌آمیزی شده از لحاظ ارتشاحات سلولی، آسیب ساختارهای سلولی (infiltration)، آسیب‌های سلولی مانند پلاک‌های پی‌یر، آسیب به هسته و غیره توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند. جهت فیکس کردن بافت‌ها از فرمالدئید ۱۰ درصد استفاده شد سپس فرمالین اضافی با آب شسته شده و در الکل ۷۰ درصد فیکس کردن ادامه یافت [۱۳]. سپس بافت در پارافین قرار داده شد، اززایلین به عنوان ماده شفاف ساز استفاده شد. بعد از عمل شفاف‌سازی، زایلین به راحتی در حمام پارافین تبخیر و نمونه‌ها به یک حمام پارافین مذاب در یک دوره قالب‌گیری برای نفوذ و آغشتگی منتقل و بافت نفوذ یافته آغشته به پارافین داخل پارافین مذاب قرار داده شد سپس برش‌های نازک بافتی توسط میکروتوم تهیه و برش‌ها روی لام چسبانده و رنگ‌آمیزی شدند.

بررسی آنزیمی و استرس اکسیداتیو

جهت بررسی فعالیت آنزیم میلوپراکسیداز (MPO)، کولون خارج شده از حیوان با نرمال سالین شستشو توسط کاغذ صافی خشک، توزین و تکه تکه

آنزیم میلوپراکسیداز و بررسی‌های میکرو و ماکروسکوپی در روده در مدل کولیت القاء شده با استیک اسید انجام شد.

مواد و روش‌ها:

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

به‌لیمو از استان گلستان جمع‌آوری و توسط بخش هر باریوم دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران تایید شد (کد شماره ۱۵۲۴-Aups). قسمت‌های هوایی گیاه *L.citrodoia* پس از خشک کردن در سایه با آسیاب بودر، سپس ۴۰ گرم از بودر حاصل با متانول به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. عصاره متانولی بعد از صاف شدن، در شرایط خلأ و حرارت پایین تقطیر شد. عصاره غلیظ بدست آمده با کلروفرم و اتریترول شستشو داده شد. محلول‌های کلروفرمی را روی هم ریخته و جداگانه شدند و باقیمانده عصاره متانولی بدست آمده در آب حل شد. سپس غلظت‌های 00mg/kg، ۱۰۰ و ۵۰۰ به موش‌ها از راه دهان داده شد.

حیوانات آزمایشگاهی و بررسی‌های هیستولوژیک

در این تحقیق از ۲۴ عدد موش نر نژاد Balb/c در محدوده وزنی (۲۸ گرم) در هر گروه استفاده شد. که در ۴ گروه شش تایی برای انجام این پژوهش قرار داده شدند: گروه اول: گروه نرمال که درمان دارویی و اسید استیک دریافت نمی‌کنند. گروه دوم: گروه کنترل که 0.1 سی سی محلول استیک اسید ۶ درصد بصورت داخل مقعدی دریافت می‌کنند. گروه سوم: عصاره گیاهی بصورت دهانی و 0.1 سی سی استیک اسید ۶ درصد دریافت می‌کنند، گروه چهارم: تجویز خوراکی سوسپانسیون حاوی ۰،۵٪ پردنیزولون با دوز mg/kg

ماکروسکوپی و میکروسکوپی در گروه‌های تحت درمان با گیاه *Lippia citrodora* با غلظت (50-200 mg/kg) و پردنیزولون (1.14 mg/kg) بسیار کمتر بود، بطوریکه اثرات مثبت عصاره به لیمو به ویژه غلظت (200mg/kg) روی تغییرات ماکروسکوپی و میکروسکوپی القا شده با استیک اسید در کولون مشابه اثرات پردنیزولون بود. میزان فعالیت MPO در گروه کنترل در مقایسه با گروه جمعیت عادی به میزان زیادی افزایش داشت (بافت کولون 2.89 ± 0.15 vs 4.76 ± 0.17 u/g). در حالی که در گروه‌های تحت درمان با عصاره تام گیاه *Lippia citrodora* و پردنیزولون (1.14 mg/kg) در مقایسه با گروه کنترل، میزان فعالیت MPO کاهش نشان داد. میانگین درصد کاهش فعالیت MPO در گروه‌های تحت درمان با عصاره به لیمو و پردنیزولون به ترتیب ۱۵ و ۵ و ۲۶ و ۵۵٫۱٪ بود. میزان TBARS در گروه کنترل در مقایسه با گروه جمعیت عادی افزایش داشت (بافت کولون تیمار شده با عصاره *Lippia citrodora* در غلظت (200-50 mg/kg) و پردنیزولون (1.14 mg/kg) میزان TBARS کاهش نشان داد. میانگین درصد کاهش میزان TBARS در گروه‌های تحت درمان با عصاره *Lippia citrodora* و پردنیزولون ۷٫۹ و ۱۶٫۳۵ و ۳۳٫۹ و ۳۵٫۶٪ بود.

بحث

نتایج ارزیابی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی و بیوشیمیایی، نشان داد که عصاره گیاه *L. citrodora* دارای توانایی مهار کولیت در موش‌های مورد آزمایش می‌باشد بطوری‌که بکارگیری عصاره گیاه *L. citrodora*، فعالیت MPO و غلظت TBARS را

شد. هموژنیزاسیون بافت تکه تکه شده در ۱۰ حجم با فر فسفات (PH=7.4) و سانتی‌فیوژ در دور ۳۵۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محلول فوقانی برای تست TBA با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر با فر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=6) حاوی هگزا دیسیل تری متیل آمونیوم بروماید (HETAB) ۰٫۵ درصد و EDTA ۱۰ میلی‌مولار، سونیکه و سپس سانتی‌فیوژ در دور ۱۲۰۰۰ g بمدت ۲۰ دقیقه انجام شد در نهایت فعالیت آنزیم MPO توسط اسپکتوفوتومتر به صورت زیر اندازه‌گیری گردید: افزودن ۰٫۱ میلی‌لیتر از محلول فوقانی به ۲٫۹ میلی‌لیتر با فر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=6) حاوی O-dianisidine هیدروکلراید 0.167 mg/ml و 0.0005 H₂O₂ درصد؛ سپس جذب محلول در طول موج ۴۶۰ نانومتر خوانده شد. جهت بررسی استرس اکسیداتیو، از روش تیوباربیتوریک اسید (TBA) استفاده شد بطوری‌که که محلول فوقانی حاصل از هموژنیزاسیون و سانتی‌فیوژ به TBA اضافه و جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد.

آنالیز آماری

از نرم افزار آماری SPSS و آنالیز واریانس Anova و نیز تست Post Hoc جهت مقایسه‌های چندگانه استفاده شد. نتایج به صورت Mean±SEM نشان داده و در مورد هر مقایسه آماری $P < 0,05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تجویز داخل مقعدی استیک اسید باعث تغییرات التهابی در کولون گردید. در مقایسه با گروه کنترل، میزان خراشیدگی کولون برای ویژگی‌های

جدول ۱. اثر دوزهای مختلف عصاره تام گیاه *L. citrodoria* روی ویژگی‌های ماکروسکوپی در کولیت القا شده بوسیله استیک اسید در موش

گروه	میانگین خراش‌های ماکروسکوپی $\pm SEM$
کنترل	4.12 ± 0.13^a
پردنیزولون	1.39 ± 0.13^a
عصاره گیاه 50	3.01 ± 0.40^a
عصاره گیاه 100	2.18 ± 0.34^a
عصاره گیاه 200	$1.31 \pm 0.11^{a,b}$

a: کاهش خراشیدگی ماکروسکوپی در مقایسه با گروه کنترل

b: مقادیر خراشیدگی ماکروسکوپی از لحاظ آماری برای گروه‌های تحت درمان با *L. citrodoria* و پردنیزولون یکسان بود.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره تام گیاه *L. citrodoria* بر ویژگی‌های میکروسکوپی در کولیت القا شده توسط اسید استیک در موش

گروه	میانگین خراش‌های میکروسکوپی $\pm SEM$
کنترل	20.81 ± 0.35
پردنیزولون	$7.72 \pm 0.43a$
عصاره به لیمو 50	$1612 \pm 0.74a$
عصاره به لیمو 100	$11.22 \pm 0.57a$
عصاره به لیمو 200	$7.21 \pm 0.48ab$

a: کاهش بسیار مشخص خراش‌های میکروسکوپی در گروه‌های درمان شده در مقایسه با گروه کنترل است ($P < 0.01$)

b: مقادیر خراش‌های میکروسکوپی برای گروه‌های تحت درمان *L. Citrodoria* و پردنیزولون که از لحاظ آماری تفاوت ندارد.

ماکروسکوپی و بیوشیمیایی و هستیولوژیک نشان داد که مدل کولیت القا شده توسط استیک اسید در موش مشابه کولیت اولسراتیو در انسان بود. این بیماری قسمت انتهایی کولون را درگیر و منجر به التهاب در بخش‌های سطحی، ادم مخاطی، نکروز پیشرفته در لایه‌های مخاطی وزیر مخاطی و حتی زخم در ناحیه

کاهش داد. MPO و TBARS فاکتورهای مهمی در تنش اکسیداتیو و مارکرهای کولیت می‌باشند [۱۹]، [۱، ۲، ۵، ۷، ۹]. اثرات دوزهای مختلف عصاره به ویژه 200 mg/kg عصاره گیاه *L. citrodoria* بسیار مشابه پردنیزولون بود که این مسئله باعث محافظت گیاه در مقابل کولیت شد. بررسی‌های میکروسکوپی و

ویژگی‌های مشخص آنتی‌اکسیدانی و کلات‌کنندگی هستند که باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدها و کلات فلزات دخیل در اکسیداسیون - احیا و تضعیف فرآیندهای منتهی به تولید ترکیبات فعال اکسیژن شده و از این نظر توجه زیادی به مداخله مواد پلی فنولیک با مخاط روده‌ای و نقش احتمالی آنها به عنوان تنظیم‌کننده‌های تکثیر و مرگ تنظیم شده سلولی (آپوپتوز) در سلول‌های سریع تکثیر شونده اپی تلوم دستگاه گوارش می‌شوند [۲۱، ۲۲]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تأثیر فلاونوئیدها بر روی التهاب تجربی کولون مثبت می‌باشد [۲۶، ۲۵]. خشی از اثرات مثبت فلاونوئیدها به دلیل اثرات ضد دردی آنها بوده [۲۳، ۲۴] و اثرات ضدالتهاب فلاونوئیدها با کاهش ارتشاح نوتروفیل‌ها، تنظیم منفی IL-1B و کاهش تولید پروستاگلندین در مخاط کولونی مرتبط می‌باشد [۲۷]. زیرا شواهد نشان می‌دهد که فلاونوئیدها دارای فعالیت ضد فسفر دی استراز داشته و میزان نوکلئوتیدهای حلقوی داخل سلولی را افزایش می‌دهند [۲۸].

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که CAMP و CGMP می‌توانند تنش اکسیداتیو را در تعداد بیشماری از سیستم‌های بیولوژیک و نیز بیماری‌ها مهار نمایند [۳۶، ۳۴، ۳۰، ۲۹]. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و اسانس *L. citrodora* در تعدادی از تست‌های *Invitro* ارزیابی شده است [۳۷، ۳۱]. توانایی حذف رادیکال‌های آزاد عصاره این گیاه توسط تست DPPM ارزیابی شده است [۳۷] و اثرات مثبت *L. citrodora* در IBD را می‌توان به توانایی آنتی‌اکسیدان این گیاه نسبت داد [۳۷، ۳۳، ۳۱]. مشخص شده که ترکیبات پلی فنولیک مسئول غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد بوده و تنش اکسیداتیو نقش مهمی

زیر مخاط می‌گردد. شکل پروتونه شده اسید پروتون‌هایی را در فضای بین سلولی آزاد و منجر به اسیدی شدن فضای بین سلولی و آسیب وسیع اپی‌تلیال می‌شود. التهاب وجه تمایز مهمی از بیماری‌زایی IBD می‌باشد. پاسخ التهابی ایجاد شده توسط استیک اسید، شامل فعال شدن مسیرهای سیکلو‌اکسیژناز می‌باشد [۱۳، ۱۱]. داروی پردنیزولون به عنوان یک داروی ضد التهابی، تعداد ماکروفاژها را در ناحیه مبتلا کاهش و باعث مهار سنتز تعداد زیادی از واسطه‌های التهابی نظیر IL-1 از مونوسیت‌ها، IL-2 و فاکتور نکروز توموری لنفوسیت‌ها می‌شود. پردنیزولون سبب مهار آنزیم فسفولیپاز A₂ شده و از این راه سبب کاهش میزان پروستاگلندین‌ها و کلوترین‌ها می‌شود [۱۹]. بنابراین فرض بر این است که *L. citrodora* دارای اثرات مهاری بر روی سنتز یا آزادسازی واسطه‌های التهابی است. در تأیید این فرضیه، مشخص شده که این گیاه دارای اثرات تب بر بوده و در درمان سر درد و سرگیجه و دل پیچه و دل درد و سوء هاضمه، دردهای عصبی یک طرفه تهوع، تپش قلب، اسهال درمان بیماری کاندیدیازیس کاربرد دارد [۲۰]. مطالعات نشان داده‌اند که اسانس *Lippa citrodora* دارای فلاونوئیدها، لینالول، لیمونن، کاریوفیلن اکساید به عنوان سزکوئی ترپن می‌باشد [۱۶، ۲۰]. استخراج عصاره متانولی *L. citrodora* با استفاده از انواع روش کروماتوگرافی (GC.HPLC, TLC.CC) نشان داد که گروهی از ترکیبات فلاونوتیدی در این گیاه وجود دارد که شامل Salvigen، enpafolin، Hispidolin، Cirsilol، diosmetin، Cismartin، duteolin می‌باشد [۲۰]. فلاونوئیدها - به عنوان جز اصلی در عصاره تام *L. citrodora*، دسته‌ای از ترکیبات فنولی گیاهی با

در انسان نیز دارای اثر بخشی سودمندی می‌باشد که مطالعات بالینی بیشتر برای تایید این نتایج باید انجام شود.

تشکر و قدردانی

مسائل اخلاقی این پژوهش زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفته، همچنین بخشی از این تحقیق مستخرج از طرح پژوهشی می‌باشد و از حمایت مالی و معنوی معاونت محترم پژوهشی واحد روده‌ن کمال تشکر را دارم.

منابع

- [1] Abdollahi M. 2003, Increasing intracellular CAMP and CGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology Pharmacology, 135, 331-336.
- [2] Abdollahi M, Chan TS, Subrahmanyam V, O'Brien PJ. 2003, Effects of phosphodiesterase 3,4,5 inhibitors on hepatocyte CAMP levels, glycogenolysis, glu mistery, 252: 205-211.
- [3] Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaiee A. 2004, Pesticides and oxidative stress. Medical Science Monitor Review 10: RA144-RA147.
- [4] Aghababaeian R. 2005, Protective effects of sildenafil and dipyridamol from lead-induced lipid peroxidation in perfused rat liver. International Journal of Pharmacology, 1: 157-160.
- [5] Ahnfelt-Ronne I, Nielsen OH. The anti-inflammatory moiety of sulfasalazine, 5aminosalicylic acid, is a radical scavenger. Agent and Actions. 1987; 21: 191-194.
- [6] Arnhold J. 2004, Properties, functions, and secretion of human Biochemistry. Myeloperoxidase, 69: 4-9.
- [7] Arnhold J. 2004, Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. 69(1); 4-9.

در پاتورنز آسیب روده ای مرتبط با IBD دارد [۹-۳۲، ۳۸]. در حقیقت آسیب مخاط روده در IBD، بیماری کرون و کولیت - اولسراتیو هم باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن می‌شود [۳۷-۶]. زیرا فعالیت MPO که آنزیم اصلی در تشکیل ترکیبات فعال اکسیژن و آسیب بافتی می‌باشد در مدل کولیت در مطالعه حاضر افزایش داشت. MPO همراه با NADPH اکسیداز در تشکیل ترکیبات فعال اکسیژن و اکسیداسیون مواد زیستی دخیل می‌باشند. این آنزیم نه تنها ترکیبات مسئول اکسیداسیون تولید می‌کند بلکه در تنظیم پاسخ به میکروارگانیسم‌های مهاجم نیز دخالت دارد [۳۹-۴۲]. همچنین اسانس و عصاره متانولی این گیاه دارای فعالیت ضد باکتری علیه چند سویه باکتری گرم مثبت و منفی بود که می‌توان فعالیت ضد باکتریال اسانس را به وجود تیمول و کارواکرول نسبت داد [۴۱]. بنابراین فعالیت ضد میکروبی *L.citrodolia* مکانیسم مثبت دیگری برای اثرات سودمند این گیاه در IBD بود. مشخص شده که تیمول باعث تخریب دیواره سلولی می‌گردد [۳۲، ۴۱].

جمع‌بندی

داده‌های این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه *L.citrodia* اثرات مثبتی روی مدل تجربی IBD داشت که این اثر را می‌توان به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد التهاب این گیاه نسبت داد. با توجه به شباهت کولیت القا شده با استیک اسید به کولیت اولسراتیو در انسان می‌توان نتیجه گرفت که عصاره *lippia citrodoria* در درمان کولیت اولسراتیو

- [8] Argyropoula C, Daferera D, Trantilis PA, Fasseas C, Plassiou M. 2007, Chemical composition of the essential oil from leave of *Lippia citriodora* H.B.K. *Biochemical systematic and Ecology*, 35: 831-837.
- [9] Barbosa DS, Ce cchini R, E 1, Kadri MZ, Rodriguez MA, Burini RC, Dichi I. Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplement with fish oil omega-3 fatty acids. *Nutrition journal*. 2003; 19: 837-842.
- [10] Barbosa FG, Lima MAS, Silveira ER. 2015, Total NMR assignments of new bifala vonrs from leaves of the Limonene carvon chemotype of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown. *Magnetic respond of Chemistry*, 4: 334-338.
- [11] Choupani M, Arabshahi Delouee S, Alami M. .2014, Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Lemon Verbena (*Lippia citriodora*) Leaves. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research effects of aethiop*, 2: 1340-1346.
- [12] Constantin M, Dabire, Remy K, Bationo, Adama Hema, Roger C. H, Nebie, Eloi Pale S. P. . 2015, Dhanabal3 and Mouhoussine Nacro, Total phenolics content, flavonoids profiling and antioxidant activity of *Lippia multiflora* leaves extracts from Burkina Faso. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5:28-33.
- [13] Cowan MM .1999, Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Reviews*, 12(4): 564-582.
- [14] D'O2dorico A., Bortolan S., Cardin R, D'Inca' R, Martines D, Ferronato A, Sturniolo GC. 2001, Reduced plasma antioxidant concentrations and increased oxidative DNA damage in inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 36: 1289-1294.
- [15] Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. 1995, Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 109: 1344-1367.
- [16] Hadjibabaie M., Rastkari N., Rezaie A., Abdollahi, M. 2005, The adverse drug reaction in the gastrointestinal tract: an overview. *International Journal of Pharmacology*, 1: 1-8.
- [17] Henebelle T, Sahpaz S, Dermant H, Joseph H. 2006, The essential oil of *Lippia alba* analysis of sample from French overseas department of review. *Chemistry of Biodiversity*, 3: 1116-1125.
- [18] Hirayama A, Nagase S, Ueda A, Ishizu T, Taru Y, Yoh K, Hirayama K, Kobayashi M, Koyama A. 2003. Oxidative stress during leukocyte absorption apheresis. *Journal of clinical Apheresis*; 18: 61-66.
- [19] Hong T, Jin GB, Cho S, Cyong JC. 2002, Evaluation of the anti-inflammatory effect of baicalein on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Planta Medica*, 68: 268-271.
- [20] Jahanshahi G, Motavasel V, Rezaie A, Hashtroudi AA, Daryani NE, Abdollahi M .2004. Alterations in antioxidant power and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in saliva of patients with inflammatory bowel diseases. *Digestive Diseases and Sciences*; 49: 1752-1757.
- [21] Jurjus AR, Khoury NN, Reimund JM. 2004, Animal models of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacology and Toxicology Methods*, 50: 81-92.
- [22] Jurjus AR, Khoury NN, Reimund JM. 2013, Animal models of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacology and Toxicology Methods*, 50: 81-92.
- [23] Kanof ME, Lake AM, Bayless TM. 1988, Decreased height velocity in children and adolescents before the diagnosis of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 95: 1523-1527.
- [24] Kirsner JB, Shorter R. 1982, Recent developments in "non-specific" inflammatory bowel disease. *New England Journal of Medicine*, 306: 775-785.
- [25] Kvietys PR, Inauen W., Bacon BR, Grisham MB. 1989, Xanthine oxidase-induced injury to endothelium: role of intracellular iron and hydroxyl radical. *Am J Physiol*, 257: 1640-1646.
- [26] Kvietys PR, Inauen W, Bacon BR, Grisham MB. 1989, Xanthine oxidase-induced injury to endothelium: role of intracellular iron and hydroxyl radical. *American Journal of Physiology*, 257(5); 1640-1646.
- [27] Lih-Brody L., Powell SR., Collier KP., Reddy GM., Cerchia R., Kahn E., Weissman G.S, Katz S., Floyd RA., McKinley MJ., Fisher SE., Mullin GE.

- 1996, Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences journal*, 41: 2078-2086.
- [28] MacPherson B, Pfeiffer CJ. 1976, Experimental colitis. *Digestion*, 14: 424-452.
- [29] Nakamura T, Okuyama E, Tsukada A, Yamazaki M, Satake M, Nishibe S, Deyama T, Moriya A, Maruno M, Nishimura H. 1997, Acteoside as the analgesic principle of cedron (*Lippia triphylla*) a Peruvian medical plant. *Chemical pharmaceutical Bulletin*, 45: 499-504.
- [30] Rezaie A., Taghavi B., Abdollahi M. 2005, Biologic Management of fistulizing Crohn's disease. *International Journal of Pharmacology*, 1(1);17-24.
- [31] Saiki T. .1998. Myeloperoxidase concentrations in the stool as a new parameter of inflammatory bowel disease, *Kurume Medical Journal*, 45: 69-73.
- [32] Sanchez de Medina F., Vera B., Galvez. J, Zarzuelo A. 2002, Effect of quercitrin on the early stages of hapten induced colonic inflammation in the rat. *Life Science*. 70, 3097-3108.
- [33] Sartoratto A, Mashado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. 2004, Composition and antimicrobial activity of essential oil from aromatic plants used in Brezil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(4): 1517-1520.
- [34] Schempp H., Toth A., Weiser D., Elstner EF. 2003, Antioxidative properties of Iberis amara extracts in biochemical model reactions. *Arzneimittelforschung*, 53(8): 568-577.
- [35] seddigh J, Maftoon F, Ziaie G. 2004, Herbal medicine, attitude in population of Tehran city. *Medical plants*, 4(14): 60-67.
- [36] Sharon P, Stenson WF. 1985, Metabolism of arachidonic acid in acetic acid colitis in rats. *Gastroenterology*, 88: 55-63.
- [37] Simmonds NJ., Rampton DS. 1993, Inflammatory bowel disease-a radical view. *Gut journal*; 34: 865-368
- [38] Simmonds NJ, Millar AD, Blake DR, Rampton DS. 1999, Antioxidant effects of aminosalicylates and potential new drugs for inflammatory bowel disease: assessment in cell free systems and inflamed human colorectal biopsies. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 13: 363-372.
- [39] smet P. 2005, Herbal medicine in Europe relaxing regulatory standards. *New England Journal of Medicine*, 35: 54-5.
- [40] Tuzun A., Erdil A., Inal V., Aydin A., Bagci S., Yesilova Z., Sayal A., Karaeren N., Dagalp K. 2000, Quercetin and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Biochemistry*, 35: 569-572.
- [41] Vasiliauskas EA. 1999, An open label pilot study of low dose thalidomide in chronically active, steroid dependent Crohn's disease. *Gastroenterology*, 117: 1278-1287.
- [42] Yamada T, Marschall S, Specian RD, Grisham MB. 1991, A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology*, 102: 1524-1534.