

## Protective Effects of *Eryngium caucasicum Trautv* Hydroalcoholic Extract on Tricyclazole Induced Hepatotoxicity in Mice

Esmail Fattahi <sup>1\*</sup>, Vahid Hemayatkah Jahromi <sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch Islamic Azad University, Amol, Iran.

2- Associate Professor, Department of Biology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Received: 26 Jul 2016, Accepted: 7 Sep 2016

### Abstract

**Background:** *Eryngium caucasicum Trautv* has antioxidant properties due to the presence of flavonoids and phenolic compounds. So, the present study was done to investigate the protective effects of *Eryngium caucasicum Trautv* extract on tricyclazole induced hepatotoxicity in mice.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 42 mice were divided into 6 groups including control, sham, tricyclazole (TCZ) and three experimental groups. The mice in the tricyclazole group, received 50 mg/kg TCZ via intraperitoneal injection and experimental groups 2, 3 and 4 received respectively 100, 200 and 400 mg/kg of extract via gavage for 4 weeks and 2 days per week. The sham group received only sterile water. At the end, serum levels of ALT, AST and ALP, serum concentration of albumin and total bilirubin were measured. Also, total phenolic compounds and flavonoids in the extract were measured. Data were analyzed by using ANOVA.

**Results:** Tricyclazole increased serum levels of aminotransferase, phosphatase alkaline and total bilirubin and decreased serum concentration of albumin. But, treatment with extract decreased liver enzymes and bilirubin and increased levels of albumin ( $p < 0.05$ ). Amount of total phenolic compounds and the flavonoids were measured 91.16 mg/gr gallic acid in extract and 84.48 mg/gr quercetin in extract, respectively.

**Conclusion:** The results demonstrated that *Eryngium caucasicum Trautv* extract due to the presence of high phenolic compounds has protective effects on tricyclazole induced hepatotoxicity.

**Keywords:** *Eryngium caucasicum trautv*, Hepato protective, Phenolic compounds, Tricyclazole.

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Email: fattahi@yahoo.com

## اثرات حفاظتی عصاره هیدرو الکلی زولنگ (*Eryngium caucasicum Trautv*) بر سمیت کبدی ناشی از تری سیکلازول در موش آزمایشگاهی

اسماعیل فتاحی<sup>۱\*</sup>، وحید حمایت خواه جهرمی<sup>۲</sup>

۱- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۶/۱۷

### چکیده

**زمینه و هدف:** گیاه زولنگ به واسطه وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد. از این رو، این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره زولنگ بر سمیت ناشی از سم تری سیکلازول در کبد موش آزمایشگاهی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه آزمایشگاهی، ۴۲ سر موش آزمایشگاهی به ۶ گروه مساوی کنترل، سم، تری سیکلازول و سه گروه آزمایشی تقسیم شدند. موش‌های گروه تری سیکلازول، سم را با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی و گروه‌های آزمایشی ۲ تا ۴ عصاره زولنگ را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دو بار در هفته به مدت ۴ هفته) به صورت گاواژ دریافت نمودند. گروه سم آب مقطر دریافت نمود. در پایان دوره، میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP و غلظت‌های آلبومین و بیلی‌روبین کل اندازه‌گیری شد. هم‌چنین، میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره زولنگ اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** تری سیکلازول میزان آمینوترانسفرازها، آلکالین فسفاتاز و بیلی‌روبین کل را افزایش داده و میزان آلبومین را کاهش داد ( $p < 0.05$ ). اما تیمار با عصاره زولنگ باعث کاهش آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین و افزایش آلبومین گردید ( $p < 0.05$ ). میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب ۹۱/۱۶ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و ۸۴/۴۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره اندازه‌گیری شد. **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که عصاره زولنگ به دلیل داشتن ترکیبات فنلی بالا دارای اثرات حفاظتی بر کبد در برابر سمیت ناشی از تری سیکلازول می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** زولنگ، حفاظت کبدی، ترکیبات فنلی، تری سیکلازول

\*نویسنده مسئول: ایران، آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه زیست شناسی

Email: fattahy@yahoo.com

## مقدمه

طب سنتی برای بهبود و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹). داروهای گیاهی به دلیل مقرون به صرفه بودن، خطر کمتر و آثار درمانی مناسب جایگزین مواد دارویی شیمیایی و مصنوعی شده‌اند. ترکیبات فنی و فلاونوئیدها از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی در گیاهان هستند که اثرات درمانی بسیاری را به آنها نسبت داده‌اند که از آن جمله می‌توان به خواص ضد توموری، ضد اسپاسمی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی اشاره نمود. این ترکیبات در درمان و حفاظت از سلول‌های کبدی در برابر استرس اکسیداتیو مورد توجه می‌باشند. یکی از گیاهان دارویی که به طور گسترده از آن استفاده می‌شود گیاه زولنگ می‌باشد (۱۳-۱۰). گیاه زولنگ بومی مناطق شمال ایران با نام علمی (*Eryngium caucasicum Trautv*) یک گیاه دو یا چند ساله، علفی، مونوکارپیک و متعلق به خانواده چتریان است که از سالیان دور مورد توجه بومیان منطقه قرار گرفته است (۱۴، ۱۵). مردمان این مناطق در اوایل بهار این گیاه را قبل از مرحله گلدهی و زایشی جمع‌آوری کرده و به عنوان سبزی و طعم‌دهنده استفاده می‌کنند (۱۶). زولنگ از جمله گیاهان دارویی است که کاربردهای مختلفی دارد که از جمله آنها می‌توان به مصارف دارویی آن اشاره نمود. برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار این گیاه به واسطه‌ی وجود ترکیبات فنی و فلاونوئیدی، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، محرک قوی، ضد التهابی و اشتها آور می‌باشد. در طب سنتی از این گیاه برای بهبود بواسیر، تسکین‌دهنده بیماری‌های رماتیسمی و رفع التهابات، تسکین‌دهنده دل درد و تحلیل ورم‌ها، درمان سیاه سرفه، عفونت‌ها و از بین بردن سنگ کلیه استفاده می‌شود (۲۰-۱۷). مواد موثره اسانس و عصاره‌های گونه‌های مختلف جنس ارنجیوم شامل منوترین، پلی فنول و فلاونوئید، ساپونین‌ها، کومارین‌ها، تریپنوئیدها و استروئیدها می‌باشد (۲۱، ۲۲). مطالعات نشان داده است که نوع و میزان ترکیبات و مواد موثره موجود در اسانس و عصاره زولنگ تابع موقعیت جغرافیایی، تغییرات فصلی، فاز رویشی یا زایشی گیاه

تری سیکلازول با نام تجاری بیم یکی از قارچ کش‌های سیستمیک و متعلق به گروه تری آزول است که به طور گسترده در استان‌های شمالی کشور برای مبارزه با بیماری بلاست برنج استفاده می‌گردد. با توجه به نیمه عمر طولانی آن، اثرات زیان باری بر بدن انسان می‌گذارد (۳-۱). تری سیکلازول از آلاینده‌های محیطی است که می‌تواند از طریق آب، غذا و هوا وارد بدن گردد و در کبد تجزیه شود. اکثر متابولیت‌های آن از طریق کلیه از بدن دفع می‌شود ولی باقیمانده آن می‌تواند در بافت‌های بدن از قبیل کبد، کلیه، بیضه تجمع یافته و سبب مسمومیت، تغییرات بیوشیمیایی همانند آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و اثرات مخرب بافتی گردد. برخی از گزارشات حاکی از تاثیر تری سیکلازول بر آنزیم‌های کبدی و هپاتوسیت‌ها می‌باشد (۴). گرچه مکانیسم دقیق سم‌تری سیکلازول در بدن مشخص نشده است. ولی برخی از محققین پیشنهاد دادند که این ترکیب با تولید رادیکال‌های آزاد، اکسیژن‌های واکنش‌پذیر و پراکسیداسیون لیپیدها موجب اختلال در فعالیت فیزیولوژیک سلول‌ها و اختلال در متابولیسم لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات و در نتیجه القای مرگ سلولی می‌شوند (۵، ۶). کبد به عنوان بزرگ‌ترین غدد ضمیمه دستگاه گوارش در بسیاری از اعمال بیولوژیکی و متابولیکی منجمله در خنثی‌سازی مواد سمی، داروها و مواد مضر نقش دارد. در اکثر موارد سم‌زدایی و فعال‌سازی متابولیکی باعث ایجاد متابولیت‌های سمی می‌شود که موجب اختلالات فیزیولوژیک، آسیب‌های توکسیک، نکروز و بیماری‌های حاد در کبد می‌شود (۷، ۸). با توجه به عوارض زیان بار این سم در اثر تولید رادیکال‌های آزاد و القای استرس اکسیداتیو در کبد و مصرف گسترده آن در کشاورزی، راه‌های مختلفی برای مقابله با آثار تخریبی آن مورد توجه قرار گرفته است. یکی از روش‌ها، استفاده از داروهای گیاهی و مصرف مواد طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که در

### اندازه‌گیری فلاونوئید کل عصاره:

اندازه‌گیری فلاونوئیدها با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید و به روش اسپکتروفوتومتری بر حسب کوئرستین صورت پذیرفت. ۰/۵ سی سی عصاره رقیق شده به ۱/۵ سی سی متانول اضافه شد، سپس با ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید و ۱۰۰ میکرولیتر محلول پتاسیم استات به همراه ۲/۸ سی سی آب مخلوط گردید و بعد از گذشت نیم ساعت با دستگاه اسپکتروفوتومتر و با جذب ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد (۱۵). میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد.

### طراحی مطالعه

این مطالعه بر روی ۴۲ سر موش نر بالغ نژاد NMRI با میانگین وزنی  $35 \pm 3$  گرم و محدوده سنی ۱۰ الی ۱۲ هفته انجام شد. حیوانات از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور شمال کشور تهیه گردید. آزمایشات در دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت ا... آملی انجام شد. موش‌ها در شرایط دمایی  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت مناسب در قفسه‌های پلی‌کربنات شفاف و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی ( $n=7$ ) تقسیم شدند:

گروه کنترل: موش‌ها در این گروه هیچ گونه سم و عصاره‌ای دریافت نکردند.

گروه شم: در این گروه، حیوانات ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به ازای هر کیلوگرم وزن موش به صورت داخل صفاقی دو بار در هفته و به مدت ۴ هفته دریافت نمودند.

گروه آزمایشی ۱: به موش‌ها در این گروه سم‌تری سیکلازول با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دو بار در هفته به مدت ۴ هفته) به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

و بخش مورد مصرف می‌باشد (۲۲، ۲۳). با توجه به فراوانی بسیار زیاد و کاربرد آن به عنوان سبزی خوراکی و طعم دهنده مواد غذایی و همچنین تنوع مواد آنتی‌اکسیدانی به ویژه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در این گیاه، این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظت کبدی عصاره هیدروالکلی زولنگ بر سمیت ناشی از تری سیکلازول بر آنزیم‌های کبدی و غلظت‌های آلبومین و بیلی‌روبین در موش آزمایشگاهی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### جمع آوری گیاه و عصاره‌گیری:

در این مطالعه تجربی گیاه زولنگ از مناطق اطراف شهرستان ساری در فروردین ۹۴ جمع آوری گردید و توسط متخصص گیاه‌شناسی شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت. برگ گیاه به دور از نور مستقیم خورشید و در سایه خشک و سپس با آسیاب تبدیل به پودر شد. عصاره‌گیری توسط حلال متانول و به روش ماسراسیون انجام شد. در هر بار عصاره‌گیری ۶۰ گرم از پودر گیاه با ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال هیدروالکلی (۳۰ آب: ۷۰ متانول) مخلوط شد و پس از ۷۲ ساعت صاف گردید. سپس عصاره به دست آمده با دستگاه روتاری تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده در آون در دمای ۴۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و عصاره خشک به دست آمد. بازده عصاره گیاه زولنگ تقریباً ۹ درصد بوده است.

#### اندازه‌گیری ترکیبات فنلی تام عصاره:

میزان تام ترکیبات فنلی با روش فولین-سیوکالتو اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب ماکروگرم گالیک اسید در گرم عصاره بیان شد. بدین ترتیب ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره به غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را به ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین-سیوکالتو اضافه کرده و بعد از ۵ دقیقه به آن ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات اضافه گردید و جذب مخلوط بعد از گذشت ۲ ساعت با طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک خوانده شد (۱۵).

نتایج حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و برای بررسی اختلاف میانگین داده‌ها از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و برای تعیین معنی‌داری بین گروه‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. سپس نمودارها در نرم افزار Excel رسم شد. اختلافات در سطح  $p < 0/05$  معنی‌دار شناخته شدند.

### یافته‌ها

مقدار کل ترکیبات فنلی به روش فولین سیوکالتو و براساس معادله خط منحنی استاندارد اسید گالیک ( $Y=0/0058, R^2=0/9898$ ) و مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم و براساس منحنی استاندارد کوئرستین ( $Y=0/0064, R^2=0/9998$ ) محاسبه گردید (جدول ۱).

گروه آزمایشی ۲، ۳ و ۴: موش‌ها به ترتیب عصاره گیاه زولنگ را با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ به مدت ۴ هفته (۵ روز در هفته) و سم تری سیکلازول با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی (دو بار در هفته و به مدت ۴ هفته) دریافت نمودند.

حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق با اتر بیهوش شده و از قلب خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون جمع آوری شده با دور ۴۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم جدا گردید. سپس با استفاده از کیت‌های تجاری تهیه شده از شرکت پارس آزمون میزان آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلومین و بیلی روبین مورد سنجش قرار گرفت.

### آنالیز داده‌ها

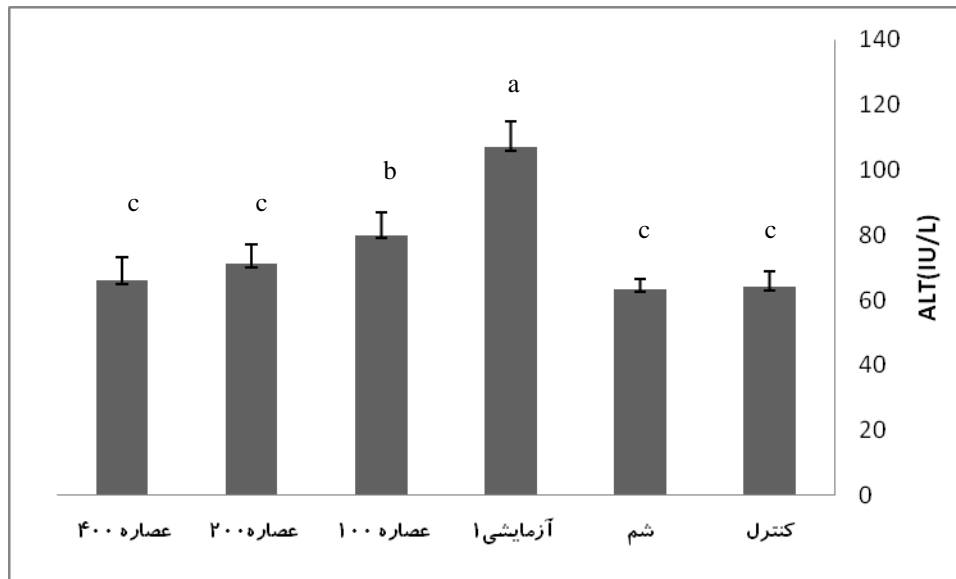
جدول ۱: مقدار کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه زولنگ

نام گیاه	میزان فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره)	فول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره)
زولنگ	۸۴/۴۸	۹۱/۱۶

### نتایج بیوشیمیایی

به گروه دریافت کننده تری سیکلازول کاهش معنی‌داری نشان داده است. اما سطح آنزیم ALT در گروه‌های آزمایشی ۳ و ۴ که عصاره را با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند کاهش بیشتری یافته بود و به حد کنترل رسید (شکل ۱).

مقایسه نتایج میانگین میزان فعالیت آنزیم ALT نشان می‌دهد که مقدار ALT در گروه دریافت کننده سم تری سیکلازول نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ( $p < 0/05$ ). هم‌چنین میزان این آنزیم در گروه‌های آزمایشی ۲-۴ که عصاره گیاه زولنگ را به ترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند نسبت

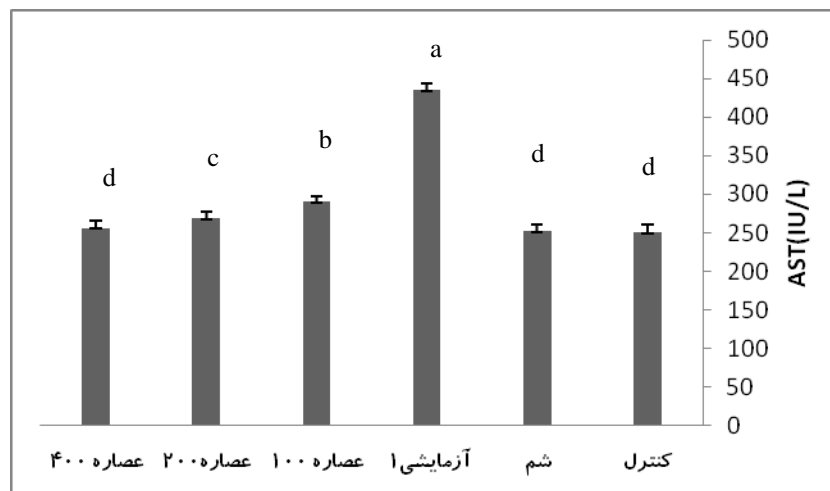


شکل ۱: مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم ALT در گروه‌های مختلف دریافت کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه‌های دریافت کننده سم تری سیکلازول (گروه آزمایشی ۱) و گروه کنترل. حروف مشابه بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد.

۲-۴ نسبت به گروه آزمایشی ۱ کاهش معنی‌داری نشان داده است ( $p < 0.05$ ). ولی سطح فعالیت این آنزیم در گروه آزمایشی ۳ که دریافت کننده ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره زولنگ بود در حد گروه کنترل مشاهده گردید (شکل ۲).

نتایج سنجش بیوشیمیایی نشان داد که فعالیت سرمی آنزیم AST متعاقب تزریق‌های داخل صفاقی دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تری سیکلازول نسبت به گروه کنترل افزایش چشم‌گیری یافته است ( $p < 0.05$ ) (شکل ۲). هم‌چنین میزان آنزیم AST در گروه‌های آزمایشی

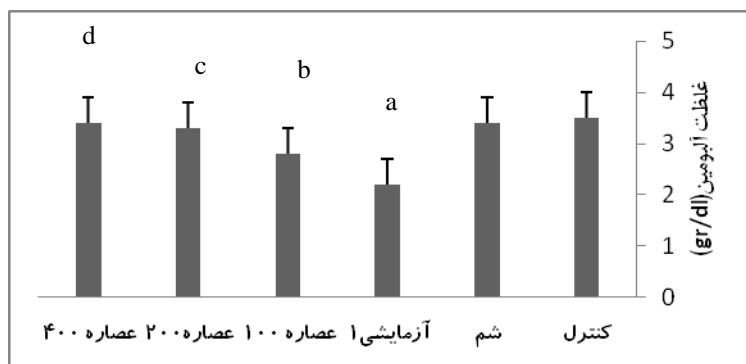
شکل ۲: مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم AST در گروه‌های مختلف دریافت کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه‌های دریافت کننده سم تری سیکلازول (گروه آزمایشی ۱) و گروه کنترل. حروف مشابه بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد.



کاهش معنی‌داری یافته است ( $p < 0/05$ ). اما در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده عصاره با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به حد گروه کنترل رسید ( $p < 0/05$ ) (شکل ۳).

میانگین سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه آزمایشی ۱ در مقایسه با گروه کنترل افزایش چشمگیری داشته است ( $p < 0/05$ ). میزان ALP در گروه‌های آزمایشی ۲-۴ نسبت به گروه آزمایشی ۱ (دریافت‌کننده تری سیکلازول)

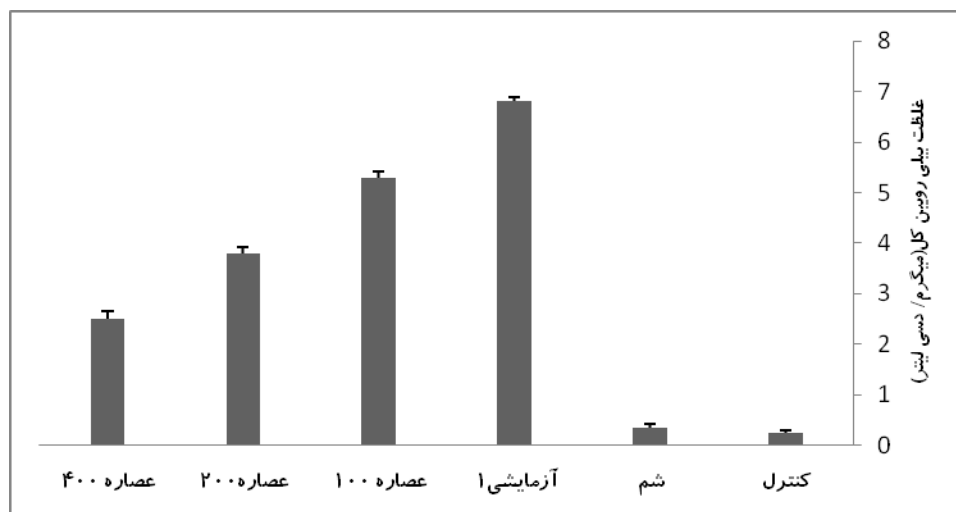
شکل ۳: مقایسه میانگین سطح سرمی آنزیم ALP در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده سم تری سیکلازول (گروه آزمایشی ۱) و گروه کنترل. حروف مشابه بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد.



گروه‌های آزمایشی ۲، ۳، ۴ (به ترتیب دریافت‌کننده عصاره با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه تری سیکلازول نشان داده است ( $p < 0/05$ ) (شکل ۴).

بررسی نتایج مربوط به میانگین آلومین کل نشان داد که میزان این پروتئین در گروه دریافت‌کننده سم تری سیکلازول با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته است ( $p < 0/05$ ). اما در

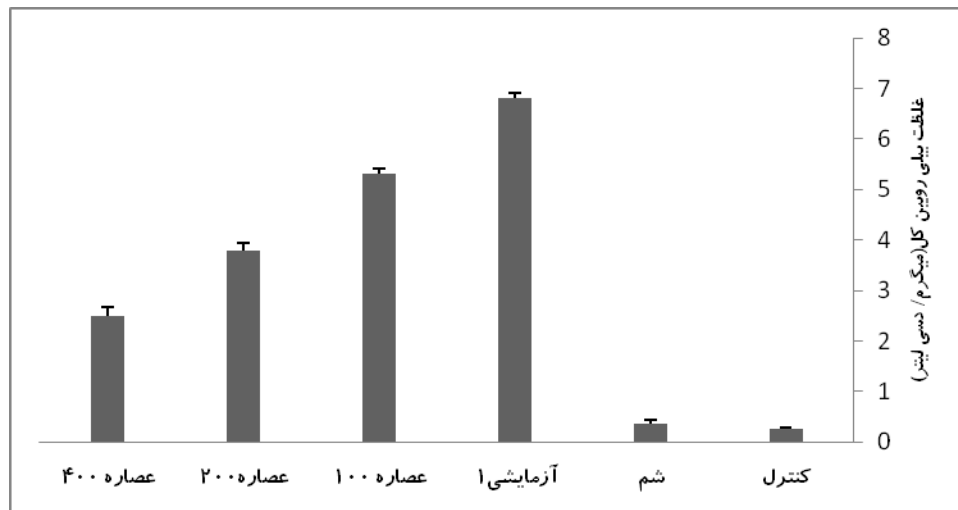
شکل ۴: مقایسه میانگین غلظت آلومین سرم در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده سم تری سیکلازول (گروه آزمایشی ۱) و گروه کنترل. حروف مشابه بیانگر عدم معنی‌داری بین گروه‌ها و حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد.



میلی گرم بر کیلوگرم) با اثر بر بیلی روبین تام باعث کاهش معنی داری نسبت گروه تری سیکلازول شده اند اما اثر عصاره بر میزان بیلی روبین در حد گروه کنترل مشاهده نگردید.

همان گونه که در شکل ۵ مشخص است سم تری سیکلازول میانگین بیلی روبین تام را نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داده است ( $p < 0.05$ ). گروه‌های دریافت کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰

شکل ۵: مقایسه میانگین غلظت بیلی روبین تام سرم در گروه‌های مختلف دریافت کننده عصاره گیاه زولنگ (با دوز های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه های دریافت کننده سم تری سیکلازول (گروه آزمایشی ۱) و گروه کنترل. حروف مشابه بیانگر عدم معنی داری بین گروهها و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری بین گروهها می باشد.



متابولیت‌های فعال تبدیل می‌شود، ولی باید در نظر داشت عملکرد کبد در تغییر و غیر فعال کردن این ترکیبات محدود می‌باشد. لذا در صورتی که با دوزهای حاد مواد سمی یا مدت طولانی در معرض مواد قرار گیرد ممکن است تولید رادیکال‌های آزاد نماید و بر ساختار و عملکرد بافت کبد اختلالاتی را ایجاد کند (۷، ۸). با توجه این نکته که کبد اعمال ویژه‌ای را انجام می‌دهد اختلال در عملکرد آن ضررهای جبران ناپذیری ایجاد خواهد لذا استفاده از ترکیباتی که بتواند کبد را در برابر آسیب‌های ناشی از مواد خارجی محافظت کند مورد اهمیت قرار گرفته است (۸).

آنزیم‌های ALT و AST و ALP به طور طبیعی در سیتوپلاسم سلول‌های کبد قرار داشته و یک آنزیم اختصاصی کبدی و معیار مناسبی برای آسیب‌های کبدی به شمار می‌آیند. این آنزیم‌ها با آسیب به سلول و نهایتاً نکرروز از

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه، افزایش معنی داری را در میزان آنزیم‌های AST، ALT و ALP و غلظت بیلی روبین کل در اثر تزریق درون صفاقی تری سیکلازول در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل نشان داد. هم‌چنین میزان غلظت آلبومین سرم در گروه تری سیکلازول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافته است. اما میزان آنزیم‌های کبدی و غلظت بیلی روبین کل در گروه‌های ۲-۴ که عصاره گیاه زولنگ را دریافت نمودند نسبت به گروه تری سیکلازول کاهش معنی داری نشان داده است. میزان غلظت آلبومین در گروه‌های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه تری سیکلازول افزایش معنی داری یافته است. خنثی سازی مواد سمی، داروها و مواد مضر یکی از مهم‌ترین اعمال کبد می‌باشد. گرچه سم تری سیکلازول در بافت کبد به



استرس ناشی از تری سیکلازول می‌باشد. مطالعات روشنایی و همکاران نشان می‌دهد که تری سیکلازول موجب هیپرپلازی مجرای صفراوی در کبد جنین موش‌های آزمایشگاهی می‌شود. لذا افزایش بیلی روبین کل در این مطالعه احتمال می‌رود در اثر هیپر پلازی مجرای صفراوی ایجاد شده باشد که نیاز به مطالعه بافت شناسی دارد که در این مطالعه بررسی نشده است. افزایش آنزیم‌ها و بیلی روبین در سرم موش‌های تیمار شده با تری سیکلازول نشان دهنده آسیب‌های وارده توسط تری سیکلازول می‌باشد. هم‌چنین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد غلظت پروتئین آلبومین در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده تری سیکلازول نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشته است اما در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) افزایش معناداری در مقایسه با گروه تری سیکلازول نشان داده است. از دیگر نتایج مطالعه حاضر می‌توان به مقدار فراوان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در برگ گیاه زولنگ اشاره نمود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاهی در درون سلول‌ها می‌توانند به عنوان دهنده‌های الکترونی عمل کرده و خاصیت احیاءکنندگی و آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دهند (۲۶). تحقیقات سلمانیان و همکاران (۲۱) نشان می‌دهد که عصاره متانولی گیاه زولنگ دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی می‌باشد. قدرت بالای احیاءکنندگی به علت وجود ترکیبات فنلی زیاد در عصاره گیاه زولنگ موجب کمک به اهدا الکترون و نهایتاً ختم واکنش‌های زنجیره‌ای خواهد شد (۱۵). میزان فنل و فلاونوئید زیاد در گیاه زولنگ در این مطالعه می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را توجیه نماید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که دریافت همزمان سم با عصاره زولنگ در دوزهای مختلف باعث جلوگیری از اثرات تخریبی تری سیکلازول در کبد می‌شود. ترکیبات فنلی دسته‌ای ترکیبات شیمیایی گیاهی هستند که اثرات درمانی و حفاظتی به آنها نسبت داده شده است و به عنوان آنتی‌اکسیدان شناخته شده به حساب می‌آید.

سلول‌های کبدی رها می‌شوند و سطح آنها در پلاسما افزایش می‌یابد که نشانه آسیب سلول‌های کبد می‌باشد (۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تری سیکلازول باعث افزایش معنی‌داری در میزان آنزیم‌های ALT، AST و ALP نسبت به گروه کنترل می‌شود که با تحقیقات Vivek و همکاران (۲۴) و Magbooljan و همکاران (۲۵) مطابقت دارد. گزارشات محققان در خصوص اثر تری سیکلازول بر آنزیم ALP متفاوت می‌باشد. برخی از محققان بر این باورند که تری سیکلازول موجب کاهش سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز شده (۴، ۵) و عده‌ای دیگر اعتقاد دارند که این گونه سموم سبب افزایش این آنزیم می‌شوند (۲۴، ۲۵). در این مطالعه با افزایش آنزیم‌های ALT و AST که نشانه آسیب سلولی است این انتظار می‌رود که میزان آنزیم ALP نیز افزایش یابد. تفاوت در میزان ALP در این مطالعه با مطالعات دیگران ممکن است در نوع موجود، دوز به کار رفته، مدت زمان تزریق سم و مرحله رشد و نمو باشد. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص گردید که سم تری سیکلازول قادر به تخریب سلول‌های کبدی می‌باشد. محققین علت آن را ایجاد رادیکال‌های آزاد، افزایش تولید اکسیژن‌های واکنش‌پذیر و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی از طریق سم تری سیکلازول می‌دانند که رادیکال‌های آزاد با غشای سلول اتصال برقرار کرده و موجب تخریب غشای سلولی و نهایتاً مرگ سلولی می‌شود (۵، ۶). از دیگر نتایج این مطالعه کاهش معنی‌دار در میزان آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و مقدار بیلی روبین کل در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاه زولنگ با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دریافت‌کننده تری سیکلازول می‌باشد. کاهش میزان فعالیت آنزیم‌ها با افزایش دوز بیشتر نمایان بود. باید به این نکته توجه نمود که هر چه دوز عصاره افزایش می‌یابد میزان فعالیت آنزیم‌ها به گروه کنترل نزدیک‌تر شده و این امر نشان دهنده اثر محافظتی عصاره گیاه زولنگ بر کبد در برابر

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

### منابع

- 1- Fattahi E, Mosavi Moghaddam M, Khanbabaei R.A. Effects of Tricyclazole on changes of testosterone and testes structure in mice. *J Babol Univ Med Sci* 2015; 17(2): 43-49.
- 2-Padovani L, Capri E, Padovani C, Puglisi E, Trevisan M. Monitoring tricyclazole residues in rice paddy watersheds. *Chemosphere* 2006;62: 303-314.
- 3-Seul Ah Jeong, Shree Prasad Thapa, Hong Ryeol Park, Nam Geon Choi, Jang Hyun Hur. Distribution and Persistence of Tricyclazole in Agricultural Field Soils. *Bull Environ Contam Toxicol* 2012;89:1181-1185
- 4-Rowshanaie T, Sadoughi M, Fattahi E. Effects of Tricyclazole on tissue damages and enzyme Changes of liver in mice embryo. *J Babol Univ Med Sci* 2015;17(7):51-7
- 5-Sancho Encarna, Cristina Fernández-Vega, Ma José Villarroya, Enrique Andreu-Moliner, Ma Dolores Ferrando. Physiological effects of tricyclazole on zebrafish (Daniorerio) and post-exposure recovery. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 2009;150:25-32.
- 6-D. Bagchi, M. Bagchi, E.A. Hassoun and S.J. Stohs. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995; 104:129-140.
- 7-Ghany M, Jay HH. Approach to the Patient with Liver Disease. *Harrison's Principle of Internal Medicine*. 16th ed. New York: McGraw Hill 2005. PP.1808-16.
- 8-Talebanpour bayat Z, Aghababa H, Shojaei fard M. Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of *Apium Graveolens* on Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Sprague-Dawley male Rats. *Journal of*

با توجه به بالا بودن ترکیبات فنلی در عصاره گیاه زولنگ در این مطالعه می‌توان اثرات حفاظتی کبد در برابر سمیت ناشی از سم تری سیکلازول را به آن نسبت داد که با مطالعه سلمانیان و همکاران (۲۱) مطابقت دارد. کاهش آنزیم‌های کبدی مورد مطالعه در گروه‌های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه دریافت کننده سم تری سیکلازول بیانگر اثر حفاظتی این عصاره بر بافت کبد می‌باشد. زیرا افزایش آنزیم‌های کبدی نشان دهنده آسیب به غشای سلول‌های کبدی و متعاقب آن آزاد سازی آنزیم‌ها از سلول‌های کبدی به خون می‌باشد که در زمان استفاده از عصاره این تغییرات کمتر بوده است و میزان آنزیم‌ها نزدیک به گروه کنترل بوده است. باید در نظر داشت دوزهای بالاتر عصاره دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بیشتر بوده و این انتظار می‌رود تا دوزهای بالاتر دارای اثرات آنتی اکسیدانی بیشتری باشند که در این مطالعه نیز گروه‌هایی که دوز بالاتری از عصاره زولنگ را دریافت نمودند تغییرات بیوشیمیایی کمتر و اثرات حفاظتی بیشتری در کبد مشخص گردید. میزان مواد موثره در عصاره گیاهان تابع موقعیت جغرافیایی، تغییرات فصلی، بخش مورد استفاده، نحوه استخراج و نوع حلال به کار رفته می‌باشد. در این مطالعه از عصاره متانولی گیاه زولنگ استفاده گردید که به دلیل وجود ترکیبات پلی فنلی در عصاره آنها اثرات حفاظتی بیشتری در دوزهای بالاتر از خود نشان داده است.

### نتیجه گیری

گیاه زولنگ به دلیل وجود مقادیر زیاد ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارای خواص آنتی اکسیدانی و حفاظتی بسیار مناسبی بر کبد می‌باشد. لذا با توجه به بومی بودن این گیاه و همچنین خطرات ناشی از مصرف آنتی اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان‌ها، لازم است تا مطالعات بیشتری انجام گردد تا بتوان از این گیاه به عنوان چاشنی یا افزودنی‌های طبیعی و کم خطر در صنعت غذا و همچنین جهت محافظت در برابر ترکیبات توکسیکی استفاده کرد.

- Fasa University of Medical Sciences 2015;15(1):102-110[in Persian]
- 9- Goleniowski M.E, Bongiovanni G.A, Palacio L, Nunez C.O, Cantero J.J. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 2006;107:324-341.
- 10- Amaral JS, Seabra RS, Andrade PB, Valentao P, Pereira JA, Ferreres F. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia*L.) leaves. *Food Chem* 2004; 88(3): 373-79.
- 11-Rice-evans CA. Flavonoids and o flavones: absorption, metabolism, and bioactivity. *Free radical Biol and Med* 2004; 36(7):827-8.
- 12-Ayatollahi H, Abbasali O, Kasebi M. Hepatic protection Effects of plant *Silybum marianum* liver toxicity induced by carbon tetrachloride in mice. *Journal of University of Medical Sciences of Gorgan* 2007; 4: 56. (In Persian)
- 13-Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 2002; 177: 67-80.
- 14-Sun T, Xu Z, Wu CT, Janes M, Prinyawiwatkul W, No H.K. Antioxidant Activities of Different Colored Sweet Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science* 2007;72: 98-102.
- 15-Nabavi S.M, Nabavi S.F, Ebrahimzadeh M.A, Eslami B. In Vitro Antioxidant Activity of *Pyrus Boissieriana*, *Diospyros Lotus*, *Eryngium Caucasicum* and *Froriepia Subpinnata*. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2009; 8 (2):139-150.[In Persian]
- 16-Khoshbakht K, Hammer K, Pistrick K. *Eryngium caucasicum* Trautv cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran). *Genetic Resources and Crop Evolution* 2007;54(2): 445-8.
- 17-Flamini G, Tebano M, Cion P.L. Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscany, Italy). *Food Chemistry* 2007;107(2): 671-674.
- 18-Akhani H. Notes on the flora of Iran 4: Two new records and a synopsis of new data on Iranian Cruciferae since *Flora Iranica*. *Candollea* 2003; 58: 369-385
- 19-Adel M, Safari R, Nematollahi A, Ghiasi M, Nafian Dehkordi I. Evaluation of anti-fungal activity of essential oils of *Eryngium campestre*, *Cuminum cyminum*, *Pimpinella affinis* and *Allium sativum* on *Fusarium solani* isolated from ornamental aquarium fish. *Journal of Applied Ichthyological Research* 2015; 2 (4):23-32[in Persian].
- 20-Wang P, Su Z, Yuan W, Deng G, Li SH. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (piaceae). *Pharmaceutical Crops* 2012; 3: 99-120.
- 21- Salmanian S, Sadeghi Mahoonak A, Jamson M, Tabatabaee Amid B. Identification and quantification of phenolic acids, radical scavenging activity and ferric reducing power of *Eryngium caucasicum* Trautv. ethanolic and methanolic extracts. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology* 2013;2(2):193-204.[in Persian]
- 22-Palá-Pául J, Pérez-Alonso M.J, Velasco-Negueruela A, Varadé J, Villa A.M, Sanz J et.al. Analysis of the essential oil composition from the different parts of *Eryngium glaciale* Boiss from Spain. *Journal of Chromatography A* 2005;1094: 179-182.
- 23-Hashemabadi D, Kaviani B. Seasonal and geographical variations in the essential oils of *Eryngium caucasicum* Trautv growing in Iran. *American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Science* 2010;8(2): 212-215.

24- Vivek S, Indumathi S.P, Radha T. Ecological Risk Assesment of the Fungicide Tricyclazole(75%) on *Ophiocephalus leucopunctatus* (Sykes,1839) with Respect to Hepatic Enzymes and Pathological Anamolies. Research Journal of Agriculture & Biological Sciences.2009; 5(4): p445.

25-Magbooljan Noornissabegum R. Liver or hepatic enzyme activity in

fresh water fish *Oreochromis mossambicus* exposed to tricyclazole fungicide. The Journal of Toxicology and Health. 2013;103:300-305.

26- Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC and Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. Toxicology 2002; 177: 67-80.