فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی *Salvia aethiopis* L. در سیستم گردش خون موش صحرایی

مصطفی اسدبگی[۱]، رویا کرمیان[۲]*، پریسا حسنین[۳]، مسعود رنجبر[۴]، رامتین پاکزاد[۵]

۱. کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران ؛

۲. دانشیار رشته فیزیولوژی گیاهی ،گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

*مسئول مکاتبات (**E-mail: R-karamian@basu.ac.ir**)*

۳. استادیار رشته فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

۴. دانشیار رشته سیستماتیک گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

۵. کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

شناسه‌ی مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۸/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: فارماکوگنوزی-فارماکولوژی

کلید واژگان :

- *رادیکال آزاد DPPH*
- *فعالیت آنتی‌اکسیدانی*
- *موش صحرایی*
- *Salvia aethiopis*

چکیده

مقدمه و هدف: رادیکال‌های آزاد نقش مهمی را در گسترش آسیب‌های بافتی در بیماری‌های مختلف مانند سرطان، پیری، ضعف سیستم عصبی، مالاریا، تصلب شرائین و رخدادهای پاتولوژیکی بازی می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در ممانعت از پیشرفت این بیماری‌ها ایفاء می‌کنند. هدف از این مطالعه ارزیابی پتانسیل مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در سیستم گردش خون موش صحرایی توسط عصاره متانولی *Salvia aethiopis* است. این گیاه متعلق به جنس مریم گلی از تیره نعناعیان است که اغلب گونه‌های آن ارزش غذایی و دارویی دارند. مطالعات بیشتر پتانسیل این گونه گیاهی را به عنوان یک کاندید مناسب جهت کاربردهای دارویی و صنعتی آشکار می‌سازد.

روش تحقیق: بدین منظور تعداد ۱۰ سر موش صحرایی ماده بالغ به طور تصادفی با وزن حدود ۲۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب شده و سپس به طور مساوی و تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول موش‌های صحرایی ۰/۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH ($۳/۰\times۱۰^{-۴}$ مولار) دریافت کردند. گروه دوم موش‌های صحرایی ۱ میلی‌لیتر عصاره *Salvia aethiopis* (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به همراه ۰/۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH دریافت کردند و گروه سوم موش های صحرایی ۱ میلی‌لیتر اسید آسکوربیک را به جای عصاره گیاه به همراه ۰/۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH به عنوان کنترل مثبت دریافت کردند. تمام تزریق ها به صورت درون صفاقی انجام شد. پس از خون‌گیری از قلب حیوانات و جداسازی سرم، مقدار فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره *Salvia aethiopis* با در نظر گرفتن کاهش جذب قرائت شده به روش اسپکتروفتومتری ارزیابی شد.

نتایج و بحث: کاهش جذب برای رادیکال آزاد DPPH (۱/۸۵ نانومتر) در سرم خون موش‌ها در حضور اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت (۱/۰۷ نانومتر) و عصاره متانولی *Salvia aethiopis* به عنوان نمونه (۰/۷۸ نانومتر) حاکی از توانایی مثبت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره متانولی گونه مورد مطالعه در سیستم گردش خون موش صحرایی از اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان سنتزی است. در مجموع نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره *Salvia aethiopis*به‌دلیل دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب می‌تواند در مطالعات بالینی آتی مورد استفاده قرار گیرد.

۱. مقدمه

جنس مریم‌گلی (*Salvia* L.) از تیره نعناعیان (Lamiaceae) با حدود ۹۰۰ گونه گسترش وسیعی در سرتاسر دنیا دارد. مراکز اصلی تنوع این جنس نواحی مدیترانه‌ای آسیای مرکزی، آمریکا و جنوب آفریقاست (قهرمان، ۱۳۷۳). این جنس دارای ۵۸ گونه علفی و پایا در ایران است که ۱۷ گونه آن انحصاری است (مظفریان، ۱۳۸۲). گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی دارای خواص ضد-باکتریایی، ضدقارچی، ضدتوموری و ضدالتهابی هستند و در طب-سنتی جهت درمان سرماخوردگی، برونشیت، اختلالات گوارشی و سل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kelen & Tepe, 2008). فرآیند اکسیداسیون عامل اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در مواد غذایی، داروها و حتی موجودات زنده می‌باشد (Halliwell, 1994). رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیش از یک‌صد بیماری در انسان مانند آترواسکلروزیز، دیابت، آرتریت، کم‌خونی، صدمات جبران ناپذیر بافتی، آسیب به سیستم عصبی مرکزی، گاستریت و سرطان می-شوند (Cook & Samman, 1996; Kumpulainen & Salonen, 1999).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادرند اتواکسیداسیون را به تأخیر انداخته یا متوقف کنند (Bade & Farage, 1989). نقش آنتی‌اکسیدان‌ها پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد مازاد وحفاظت از سلول در برابر اثرات سمی آن‌ها و بهبود بیماری‌هاست (Pham-Hay *et al*., 2008). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه عمده طبیعی و سنتزی طبقه‌بندی می‌شوند (Bade & Farage, 1989). از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی معروفی که استفاده می‌شوند می‌توان از ترکیبات فنلی مانند هیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA)، هیدروکسی تولوئن بوتیله (BHT)، ترشیاری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و استرهای اسید گالیک مانند پروپیل گالات نام برد. آنتی‌اکسیدان‌های فنلی گیاهی متداول شامل توکوفرول‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، مشتقات سینامیک اسید، کالکون‌ها و دی-ترپن‌ها و اسیدهای فنلی می‌باشند (Pokorny *et al*., 2001). اگرچه آنتی اکسیدان‌های سنتزی در مقادیر کم استفاده می‌شوند، ولی دارای اثرات سمی و کارسینوژنیکی هستند. از آن‌جا که نمی-توان عوارض ناشی از مصرف طولانی مدت این ترکیبات را در انسان نادیده گرفت، نیاز به انواع آنتی‌اکسیدان‌های فاقد عوارض جانبی هم‌چنان احساس می‌شود. جستجو برای جایگزینی آنتی اکسیدان-های طبیعی به جای انواع سنتزی منجر به جداسازی آنتی‌اکسیدان های متعددی از منابع گیاهی مانند میوه‌جات، سبزیجات، گیاهان دارویی، ادویه‌جات، دانه‌های روغنی و دانه‌های غلات گردیده‌است (Bracco *et al*., 1981). آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی یک گروه ویژه از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به میزان هر یک از ترکیبات پلی‌فنلی بستگی دارد (Ames *et al*., 1993; Stadtman *et al*., 1992) این ترکیبات دارای اثرات جانبی کمتری هستند و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی، اساس کاربرد وسیع آن‌ها در داروسازی، پزشکی و درمان‌های طبیعی را تشکیل می‌دهد (Maxwell, 1995; Abiy *et al*., 2005). در بدن موجودات زنده آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند. هنگامی که یک آنتی‌اکسیدان در بدن رادیکال آزاد را از بین می-برد، این آنتی‌اکسیدان خود نابود می‌گردد. بنابراین منابع آنتی-اکسیدانی باید به طور مداوم در بدن بازسازی شوند (Pham-Huy *et al*., 2008). امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. به‌دلیل اهمیت دارویی فراوان ترکیبات موثر موجود در گیاهان جنس *Salvia* L.، مطالعات بسیاری بر روی ترکیبات مختلف موجود در اعضاء جنس *Salvia* و فعالیت‌های زیستی آن‌ها صورت گرفته است. تاکنون هیچ گونه مطالعه بالینی جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه *Salvia aethiopis* انجام نشده است. در این مطالعه قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در سیستم گردش خون موش‌صحرایی توسط عصاره متانولی گونه *S. aethiopis* برای نخستین بار به روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد گیاهی

گونه مورد مطالعه از زیستگاه طبیعی آن واقع در روستای سـقاواز از استان اردبیل جمع‌آوری شد و پس از شناسایی و تأیید سیستماتیک در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا (BASU) نگهداری گردید.

۲-۲. مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک (آلمان) و ۱و۱- دی‌فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما (آمریکا) با درصد خلوص بالا تهیه شد.

۲-۳. حیوانات مورد آزمایش

در این بررسی از موش‌های صحرایی ماده بالغ به طور تصادفی و با وزن حدود ۲۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی و طول شب و روز یکسان با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. به جهت ملاحظات اخلاقی، تمام آزمایش در بی-هوشی انجام شد.

۲-۴. روش تهیه عصاره گیاهی

گونه جمع‌آوری شده از طبیعت در تاریکی و در دمای اتاق خشک شد. به منظور تهیه عصاره، ۲۵ گرم پودر گیاه خشک شده با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول به روش سوکسله عصاره‌گیری شد. آن‌گاه حلال عصاره تحت شرایط خلأ توسط دستگاه روتاری Lab Tech مدل Ev311 خارج شده و سپس خشک شد.

۲-۵. ارزیابی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره گیاه *S. aethiopis* در سیستم گردش خون موش‌صحرایی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. بدین منظور تعداد ۱۰ سر موش صحرایی ماده بالغ به طور تصادفی با وزن حدود ۲۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب شدند. موش‌ها در شرایط ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به غذا و آب به مدت یک هفته در حرارت۲۲ - ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای سازش با شرایط محیط آزمایشگاه در قفس نگه‌داری شدند و سپس به طور مساوی و تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول موش‌های صحرایی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH ($۳/۰\times۱۰^{-۴}$ مولار) دریافت کردند. گروه دوم موش‌های صحرایی ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاه (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH و گروه سوم موش‌های صحرایی اسید آسکوربیک را به جای عصاره گیاه به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH به عنوان شاهد مثبت دریافت کردند. تمام تزریق‌ها به صورت درون صفاقی انجام شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه از قلب حیوانات خون-گیری شد. برای جداسازی سرم، خون گرفته شده فوراً سانتریفوژ گردید و سپس میزان جذب سرم خون در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل UV/Visible Lambda 45 اندازه‌گیری شد. مقدار فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مربوط به عصاره گیاه در سیستم گردش‌خون موش-صحرایی با در نظر گرفتن کاهش مقدار جذب قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شد.

۲-۶. تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح تصادفی و در قالب سه تکرار انجام شد. رسم نمودارها و آنالیز داده‌ها بوسیله نرم افزار Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ انجام شد.

۳.نتایج و بحث

سرم خون دارای آنتی‌اکسیدان‌های متعددی است و موجودات زنده جهت مقابله و خنثی نمودن اثر رادیکال‌های آزاد، دارای سازوکارهای مختلفی از جمله سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. در این سیستم عواملی مانند آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز، ماکرومولکول‌هایی چون آلبومین، سرولوپلاسمین و فریتین و نیز مولکول‌های کوچکی از جمله β-کاروتن، یوبی‌کوئینول، α-توکوفرول، اسید اوریک و بیلی-روبین وجود دارند (Yu *et al.*, 1994). آنتی‌اکسـیدان‌های طبیعی

نقش مهمی را در کمـک به آنتی اکسیدان‌های درون‌زا جهت از بین بردن استرس اکسیـداتیو بازی می‌کنند. کمبود در میزان آنتی-اکسیدان‌ها، عاملی برای بروز برخی بیمـاری‌های مزمن وحاد می-باشد. به همین دلیل در این آزمون قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مورد مطالعه و اسید آسکوربیک (به عنوان شاهد مثبت)، در کنار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سرم خون به صورت مکمل جهت تقویت توان مهارکنندگی رادیکال DPPH مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان دهنده قدرت بالاتر عصاره *S. aethiopis* در مهارکنندگی رادیکال DPPH تزریق شده به سیستم گردش‌خون موش صحرایی نسبت به اسید آسکوربیک می‌باشد (جدول ۱). شکل‌های ۱ و ۲ کاهش جذب سرم خون را در حضور اسید آسکوربیک و عصاره گیاه نشان می‌هند. کاهش جذب در حضور عصاره گیاه قابل توجه است و بر اساس آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، میانگین جذب-های قرائت شده در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

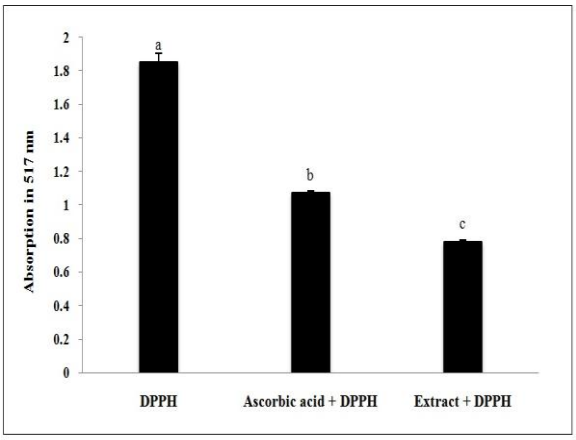
۴. نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق عصاره گونه *S. aethiopis* به موش‌صحرایی باعث کاهش قابل توجه سطح سرمی رادیکال آزاد DPPH در سیستم گردش خون موش می‌گردد و این کاهش نسبت به اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت و یک آنتی‌اکسیدان سنتزی قابل ملاحظه است. در صورت انجام مطالعات تکمیلی، بررسی اثرات جانبی و بهینه سازی مصرف عصاره گونه مورد مطالعه، می‌توان از آن به عنوان یک مکمل آنتی‌اکسیدانی استفاده نمود. ترکیبات این گیاه می‌توانند در آینده به عنوان منابعی امیدبخش جهت تامین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بکار روند.

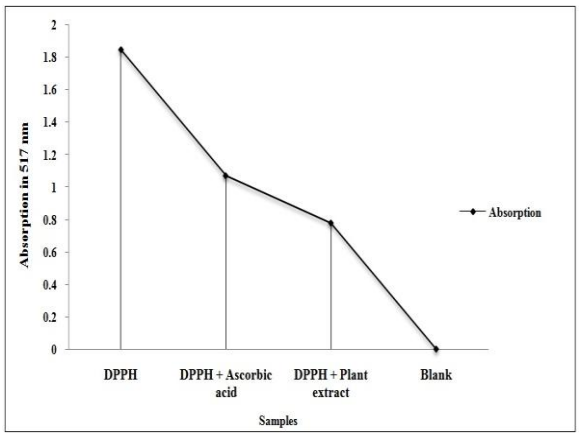
جدول ۱. فعالیت مهار رادیکال DPPH در سیستم گردش خون موش‌صحرایی توسط عصاره گونه *S. aethiopis*

تیمارها	مقادیر تزریق شده	میانگین مقدار جذب
DPPH	0.5 ml DPPH	۱/۸۵[a]
Ascorbic acid + DPPH	1 ml Ascorbic acid + 0.5 ml DPPH	۱/۰۷[b]
Plant extract + DPPH	1 ml plant extract + 0.5 ml DPPH	۰/۷۸[c]

*تفاوت میان اعداد واجد حروف یکسان در سطح ($p \leq 0.01$) معنی‌دار نیست.



شکل ۱. کاهش جذب رادیکال آزاد DPPH در حضور اسید آسکوربیک و عصاره *S. aethiopis*



شکل ۲. مقایسه پتانسیل مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط اسید آسکوربیک و عصاره گونه *S. aethiopis*

۵. منابع

قهرمان، ا.، ۱۳۷۳. کروموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). چاپ اول. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.

مظفریان، و. ۱۳۸۲. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران: لاتینی، انگلیسی، فارسی.چاپ سوم. فرهنگ معاصر.

Ames, B. M., Shigena, M. K. and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Science*. 90: 7915-7922.

Abiy, Y. Solomon, D. Jacob, O. M. Christine, C. B., Matthias, H. and Martin, G. P. 2005. Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burtii*. *Fitoterapia*. 96: 496-499.

Bade, A. Z. M. A. and Farage, R. S. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 66: 345-356.

Bracco, U., Loliger, J. and Virret, J. L. 1981. Production and use of natural antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 34: 686-690.

Cook, N. C. and Samman, S. 1996. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardio protective effects and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*. 7: 66-76.

Halliwell, B. 2000. The antioxidant paradox. *Lancet*. 355: 179-80.

Kelen, M. and Tepe, B. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology Journal*. 99: 4096-104.

Kumpulainen, J. T. and Salonen, J. T. 1999. Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease. *The Royal Society of Chemistry*. 3: 178-187.

Maxell, S. R. J. 1995. Prospects for the use of antioxidants therapies. *Drugs*. 49: 345-61.

Pham-Huy, L. H. and Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*. 4: 89-96.

Pokorny, J. Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in foods: practical applications, CRC Press.

Stadtman, E.R. 1992. Protein oxidation and aging. *Science*. 257: 1220-1224.

Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiolgical Reviews* 74: 139-162.