دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم– شماره ۹۱
اسفند ۱۳۸۹

دریافت: ۸۹/۶/۲۷
آخرین اصلاح‌ها: ۸۹/۱۰/۲۵
پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۶

کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید و سمیت سلولی اسانس مرزه سهند

نویسندگان: مهدی داداش‌پور[۱]، ایرج رسولی[۲*]، محمدباقر رضایی[۳]، فاطمه سفیدکن[۳]، مسعود تقی‌زاده[٤]، شکیبا درویش علیپور آستانه[۵]

۱- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد میکروبیولوژی

۲- استاد میکروبیولوژی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد، تهران

۳- استاد شیمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران

٤- استادیار شیمی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد

۵- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد، تهران

* نویسنده مسئول: ایرج رسولی E-mial: rasooli@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: استفاده از گیاهان به عنوان آنتی‌اکسیدان در فراوری‌های غذایی، امیدی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. دربارهٔ خواص بیولوژیک اسانس مرزه سهند تاکنون مطالعه و بررسی نشده‌است.

مواد و روش‌ها: فعالیت کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید و سمی‌بودن سلولی اسانس های مرزه سهند و مرزه تجاری بررسی و مقایسه گردید.

نتایج: واکنش کلاتینگ وابسته به دوز و با IC_{50} برابر ۷۵۰ و ۱۹۰ میکروگرم به ترتیب در اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بود. قدرت رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید با IC_{50} برابر ۶ و ۱۹۵ میکروگرم اسانس به ترتیب در مرزه سهند و مرزه تجاری تعیین‌شد. فنل کل اسانس‌های بالا به ترتیب معادل ۸/۵۳±۱۷۰/۵ و۲/۲۴±۲۳/۸۳ میکروگرم گالیک اسید در هر میلی‌گرم نمونه تعیین‌شد. سمیت سلولی اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بر سلول‌های طبیعی انسان به صورت ۵۰ درصد غلظت ممانعت (IC_{50}) به‌ترتیب ۲۵۳/۶۶ µg و ۱۴۹۰ µg و این سمیت در خصوص سلول‌های سرطانی به‌ترتیب ۰/۱۹ µg و ۱/۰۹ µg بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی این‌گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصول‌های سمی نیتروژن واکنشگر بوده، مرزه می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خوب مستقیم NO و O_2^- را بزداید. با توجه با خاصیت کشندگی سلول‌های سرطانی اسانس با مقادیر کم اسانس می توان نتیجه‌گرفت که در مبارزه با سلول‌های سرطانی، اسانس مرزه بر به سلول‌های طبیعی آسیبی‌نمی‌رساند.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید، کلاتینگ، روغن‌های اسانسی، مرزه

مقدمه

مرزه تابستانی (*Satureja hortensis*) و مرزه زمستانی (*Satureja Montana*) دوگونه مهم و مشهور از جنس مرزه (*Satureja*) هستند که به عنوان گیاه آشپزخانه‌ای استفاده‌می‌شوند (۱). مرزه تابستانی گیاهی یک‌ساله و بومی اروپای‌جنوبی و آمریکای‌شمالی است. مرزه زمستانی، گیاهی همیشگی، پرطاقت، چوبی و بومی اروپا و شمال‌افریقاست. روغن‌های اسانسی مرزه زمستانی، شامل فنل‌های حاوی فنل‌ها، تیمول، کارواکرول ,*p*- سیمن، β-ترپینئول، لینالون، بورنئول و اسیدهای آلی مختلف است (۲،۱). گل‌های هر دوگونه، صورتی تا آبی-سفید هستند و جذب زنبورهای عسل را سبب‌می‌شوند. برگ‌های سبز و ساقه‌های هر دوگونه به صورت تازه خشک می‌شوند و به عنوان طعم‌دهنده در چاشنی، تاس‌کباب، غذاهای گوشتی، ماهی، مرغ، سوسیس و سبزیجات استفاده‌می‌شوند. مرزه تابستانی خوشبوتر و خوشمزه‌تر از مرزه زمستانی است؛ بنابراین مرزه زمستانی استفاده محدودی دارد. روغن‌های اسانسی حاصل از روش تقطیر ساقه و اولئورسین در صنایع غذایی استعمال‌می‌شوند. به‌علاوه روغن‌های اسانسی هر دوگونه، به‌تنهایی یا همراه با دیگر روغن‌های اسانسی در صنایع عطرسازی استفاده‌می‌شوند. مرزه تابستانی در مقام گیاهی دارویی، از لحاظ سنتی به عنوان یک محرک، اشتهاآور، داروی ضدنفخ، خلط‌آور، ضد-اسهال و داروی مقوی جنسی استفاده‌می‌شود (۲،۱)؛ مرزه زمستانی نیز روزانه در رژیم غذایی میلیون‌ها انسان، به‌ویژه مردم منطقه مدیترانه، وجوددارد و با توجه به دارابودن متابولیت‌های گیاهی- با ویژگی‌های آنتی-اکسیدانی- و حضور ترکیب‌های فنلی، فعالیت‌دارویی داشته و آثار مفیدی روی سلامتی دارد (۳-۵). از گونه‌های دیگر مرزه می‌توان *Satureja cuneifolia* Ten. و *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis استفاده‌های متنوع از گونه‌های مرزه و اسانس‌های آنها، مطالعه ترکیب گونه‌های مرزه در ایران نیز مورد توجه قرارگرفته‌است. در یک مطالعه جامع روی گونه‌های مرزه ایران، دوگونه *Satureja hortensis* L. و *Satureja montana* L. بررسی‌شده‌اند و ترکیب‌های اصلی روغن اسانسی *S. hortensis*، فنل‌ها، تیمول، کارواکرول، *p*-سیمین، β-کاریوپیلن، لینالون، کاریوفیلن و سایر ترپنوئیدها و روغن‌های اسانسی ستورجا مونتانا *Satureja montana* L.، فنل‌های حاوی فنل‌ها، تیمول، کارواکرول ,*p*- سیمن، β-ترپینئول، لینالون، بورنئول و اسیدهای آلی گزارش‌شده‌است (۲). ترکیب‌های شیمیایی در خواص بیولوژیک اسانس‌ها تأثیردارند. تحقیق‌های اخیر کشف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را از گیاهان نشان‌می‌دهد. استفاده از گونه‌ها و گیاهان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در فرایندهای غذایی، برای استفاده از آنها امیدی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. گزارش‌ها نشان‌می‌دهد که با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌گونه، مصرف آنها در مقام افزودنی‌های طبیعی افزایش‌یافته‌است (٦). در زمینه سمی‌بودن مزمن این ترکیب‌ها نظیر تراتوژنی، جهش‌زایی و سرطان‌زایی بالقوه نیز مقالات کمی وجود-دارد (۷). ترکیب‌های اصلی روغن‌های اسانسی ۸ جمعیت از مرزه سهند *S. sahandica* Bornm که به روش تقطیر با آب جداشده، با کروماتوگرافی گازی، طیف‌سنجی جرمی آنالیزشده‌اند، تیمول (۴۱,۷-۱۹,٦ درصد)، پارا سیمین (۵٤,۹-۳۲,۵ درصد) و γ- ترپینن (۱۲,۸-۱ درصد) بوده‌است (۸،۱)، ولی خواص بیولوژیک این گونه مطالعه‌نشده‌است. به‌رغم اینکه برخی از روغن‌های اسانسی دارای اندکی اثر سمی حاد هستند، استفاده از روغن‌های اسانسی در خیلی از کشورها تحت کنترل نیست. با توجه به گسترش مصرف فراورده‌های گیاهان دارویی در کشورمان لازم است که جوانب مختلف این محصول‌ها کاربردهای مفید و به‌احتمال

ضررهای آنها در سلامتی انسان موردتوجه‌قرارگیرد. به دلیل بومی‌بودن گونه مرزه سهند لازم است ابعاد مختلف بیولوژیکی آن بررسی‌شود. ازاین‌رو مطالعه حاضر طراحی‌شد و اسانس مرزه سهندی مطالعه و با اسانس مرزه تجاری مقایسه‌می‌شود.

مواد و روش‌ها

اسانس مرزه

گیاه *Satureja sahendica* Bornm. در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع شناسایی و اسانس‌گیری‌شد. اسانس تجاری مرزه از منابع تولیدی داخل کشور که در داروخانه‌ها به فروخته می‌شود تهیه‌شد.

تعیین محتوای کل فنل Total phenolic content (TPC)

با استفاده از روش *Kahkonen* و *همکاران* (۹) فنل اسانس‌ها به شرح زیر سنجیده شد:

۳۰۰ میکرو لیتر از نمونه در لوله آزمایش ریخته‌شده، ۱/۵ میلی‌لیتر Folin–Ciocalteau's reagent (10x dilution) و ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ ریخته‌شده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرارداده‌شده و جذب در ۷٦٥ nm سنجیده شد. فنل کل بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر ۱۰۰ گرم نمونه بیان‌شد ($y = 0.0111x - 0.0148$; $r^2 = 0.9998$).

فعالیت رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید Nitric oxide radical scavenging

قدرت رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید اسانس‌ها با روش *مارکوکسی* و *همکارانش* (۱۹۹٤) انجام‌شد (۱۰). ۰٫۵ میلی‌لیتر رقت هر اسانس یا کنترل مثبت حل‌شده در KH_2PO_4–KOH (50 mmol/l, pH 7.4) با ۰٫۵ میلی‌لیتر محلول sodium nitroprusside (10 mmol/l) مخلوط می‌شود؛ این مخلوط به مدت ۲٫۵ ساعت در دمای 37 °C در شرایط نور معمولی اتاق نگهداری‌شده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محیط تاریک نگاه‌داشته‌می‌شود. پس‌ازآن ۱ میلی‌لیتر محلول زیر به آن اضافه می‌شود:

Griess reagent (1 g/l *N*-(1-naphtyl)ethylenediamine and 10 g/l sulphanilamide dissolved in 20 ml/l aqueous H_3PO_4)

پس از ٤۰ دقیقه جذب در 546 nm اندازه‌گیری‌شده، درصد ممانعت با فرمول زیر محاسبه‌می‌شود:

$$\text{Inhibition (\%)}=[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}]\times 100$$

سنجش کلاتینگ یون فروس Ferrous ion chelating (FIC) assay

FeSO4 (2mM) و Ferrozine (5mM) تهیه و ۲۰ برابر رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف نمونه‌های اسانس با ۱ میلی‌لیتر FeSO4 رقیق‌شده مخلوط و سپس ۱ میلی‌لیتر فروزین رقیق اضافه گردید. لوله‌ها خوب مخلوط شده، ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرارداده‌شدند. جذب هریک در 562nm سنجیده شد. قدرت کلاته‌کردن یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه‌شد:

$$\text{Chelating effect(\%)}=[1-(A_{sample}/A_{control})]\times 100$$

تعیین سمیت سلولی اسانس

دو رده سلول سرطانی و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی با روش MTT مطالعه‌شدند (۱۱) . در این روش احیا MTT [3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] با دی‌هیدروژناز میتوکندری‌ها به محصول آبی فرمازان انجام‌می‌شود که نشان‌دهنده عملکرد طبیعی میتوکندری و حیات سلول است (۱۲). پس از برداشت از فلاسک‌های کشت، سلول‌ها به تعداد 1×10^4 تا 5×10^5 (بر اساس پروتکل کشت هر سلول سرطانی) در پلیت‌های ۹٦ چاهکی محتوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت در هر چاهک انکوبه شدند. سلول‌ها برای چسبیدن ۲٤ ساعت زمان بردند و پس از آن با رقت‌های مختلف اسانس به مدت ٤۸ ساعت مواجه‌شدند. ۲۰ میکرولیتر از 5 mg/ml MTT در

سالین بافر فسفاته (PBS) به هر چاهک اضافه شده، به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. محیط تخلیه‌شده، ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جذب شاهد (مواجه‌شده با ۰/۱٪ DMSO و نمونه‌های مواجه‌شده با اسانس در دستگاه الایزاریدر با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده و ثبت‌شد. منحنی بقا (سلول‌های زنده) با توجه به سلول‌های انکوبه‌شده شاهد ترسیم و سیتوتوکسسیته عبارت از غلظت ماده مانع رشد به میزان ۵۰ درصد (IC_{50}) است. همه تست‌ها به صورت سه‌بار تکرار انجام‌می‌شوند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

تمام یافته‌ها به صورت میانگین دست‌کم سه‌بار تکرار با احتساب انحراف معیار (.S.D ±) تعیین‌گردید. تجزیه‌و-تحلیل آماری با student's t-test انجام‌شد و اختلاف معنی دار با $p < 0.05$ تعریف‌گردید.

جدول شماره ۱: قدرت اسانس‌ها در کلاتینگ یون فروس

اسانس مرزه	مقدار اسانس (µg)	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
	درصد کلاته‌کردن یون فروس	۱۳/۲۳±۰/۷٦	۳۳/۵۵±۱/٤	٤۳/۵٤±۰/۳٦	۵۷/۵٦±۰/۱٦
اسانس مرزه تجاری	مقدار اسانس (µg)	٦۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰
	درصد کلاته‌کردن یون فروس	۲۲/۵۳±۱/۷	۲۵/٤۱±۰/۸۲	٤۰/٤۳±۱/۲	٦۰/۲۵±٤/۷
EDTA	مقدار EDTA (µg)	۷/۸	۱۵/٦۲	۳۱/۲۵	٦۲/۵
	درصد کلاته‌کردن یون فروس	۷٤/٦±۱	۷۹±۱/۲	۸۰/۲±۱/۲	۸۰/۷±۱/۲

جدول شماره ۲: قدرت رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید اسانس‌ها

اسانس مرزه سهند	مقدار اسانس (µg)	۰/۵	۱	۲	٤	۸
	درصد رادیکال‌زدایی	۲/۲۷±۰/۲	۸/۲۲±۰/۹	۲۰/۲۵±۰/۵۱	۳۷/٤۲±۲	٦٤/٦۸±۰/۹
اسانس مرزه تجاری	مقدار اسانس (µg)	۱۵/٦۲۵	۳۱/۲۵	٦۲/۵	۱۲۵	۲۵۰
	درصد رادیکال‌زدایی	۹/۷۲±۰/٦۸	۱٦/٦۱±۰/۷۵	۲۳/۳۷±۰/۷۵	۳۸/۹۱±۰/٦	۵۹/۵±۱/٤٦

نتایج

قدرت رقت‌های مختلف اسانس‌ها در کلاتینگ یون فروس تعیین‌شد و اسانس مرزه سهند تقریبا نصف قدرت اسانس تجاری را در کلاته‌کردن یون فروس داشت (جدول شماره ۱). قدرت اسانس‌ها به مراتب از قدرت EDTA کمتر بود (جدول شماره ۱). توانایی رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید رقت‌های مختلف اسانس-ها نشان‌داد که ٤ میکروگرم اسانس مرزه سهند تقریبا معادل ۱۲۵ میکروگرم اسانس تجاری برای رادیکال-زدایی نیتریک اکساید قدرت‌دارد (جدول شماره ۲). فنل کل اسانس‌های مرزه سهند و مرزه تجاری به‌ترتیب معادل ۸/۵۳±۱۷۰/۵ و۲/۲٤±۲۳/۸۳ میکروگرم گالیک-اسید در هر میلی‌گرم نمونه تعیین‌شد (جدول شماره ۳). مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد رادیکال‌زدایی درصد رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری به‌ترتیب ٦ و ۱۹۵ میکروگرم بود. مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد کلاتینگ یون فروس با اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری به‌ترتیب ۷۵۰ و ۱۹۰ میکروگرم بود (جدول شماره ۳). سمی‌بودن سلولی رقت‌های مختلف اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بر سلول‌های طبیعی انسان به صورت ۵۰ درصد غلظت ممانعت (IC_{50}) به-ترتیب ۲۵۳/٦٦ µg و ۱٤۹۰ µg (جدول شماره ٤) و این

سمی‌بودن در خصوص سلول‌های سرطانی به‌ترتیب µg ۰/۱۹ و µg ۱/۰۹ (جدول شماره ۵) بود. تأثیر سمی‌بودن سلولی اسانس‌ها در تمام موارد از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

جدول شماره ۳: فنل کل، فعالیت‌های رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید و کلاتینگ یون فروس اسانس‌های مرزه

محتوای فنلی (µg/mg GAE)	IC50 (µg)	درصد کلاته‌کردن یون فروس (مقدار اسانس)	IC50 (µg)	درصد رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید (مقدار اسانس)	اسانس
۱۷۰/۵±۸/۵۳	۷۵۰	۵۷/۵٦±۰/۱٦ (۱۰۰۰µg/ml)	٦	٦٤/٦٨±۰/۹ (۸µg/ml)	مرزه سهند
۲۳/۸۳±۲/۲٤	۱۹۰	٦۰/۲۵±٤/۷ (۵۰۰µg/ml)	۱۹۵	۵۹/۵±۱/٤٦ (۲۵۰µg/ml)	مرزه تجاری

جدول شماره ۴: سمی‌بودن سلولی رقت‌های مختلف اسانس بر سلول‌های طبیعی انسان

P	درصد مرگ لنفوسیت‌ها	درصد لنفوسیت‌های زنده	رقت اسانس مرزه سهند g/ml(µ)	P	درصد مرگ لنفوسیت‌ها	درصد لنفوسیت-های زنده	رقت اسانس مرزه تجاری g/ml(µ)
	۰	۱۰۰	شاهد		۰	۱۰۰	شاهد
۰/۰۰۰۰۰۲	۳۸/٦۵	٦۱/۳۵	۲/۵	۰/۰۰۰٤	۰	۱۰۰	۵۰
۰/۰۰۰۰۰۰۱	٤۱/۰٤	۵۸/۹٦	۵۰	۰/۰۰۰۰۲	۱۳/۸٦	۸٦/۱٤	۱۰۰
۰/۰۰۰۰۲	٤٤/۱۲	۵۵/۸۸	۱۰۰	۰/۰۰۸	٤۵/۳۳	۵٤/٦۷	۲۰۰
۰/۰۰۰۰۰۳	٤۷/۲٦	۵۲/۷٤	۲۰۰	۰/۰۰٤	٤۸/۱۳	۵۱/۸۷	۱۰۰۰
۰/۰۰۰۰۰۰۲	۵۵/۵٤	٤٤/٤٦	٤۰۰	۰/۰۱	۵۳/۷٤	٤٦/۲٦	۲۰۰۰
	۲۵۳/۶۶ µg		IC_{50}		۱۶۹۰ µg		IC_{50}

جدول شماره ۵: سمی‌بودن سلولی رقت‌های مختلف اسانس بر سلول‌های سرطانی انسان

P	درصد مرگ سلول‌های Hela	درصد سلول-های زنده Hela	رقت اسانس مرزه سهند g/ml(µ)	P	درصد مرگ سلول‌های Hela	درصد سلول‌های زنده Hela	رقت اسانس مرزه تجاری g/ml(µ)
	۰	۱۰۰±۰/۱۹	شاهد		۰	۱۰۰±۰/۱۹	شاهد
۰/۰۰۰۱	٤٦/۹٦	۵۳/۰٤±۰/۸	۰/۵	۰/۰۰۰٤	۵۳/۸۸	٤٦/۱۲±۱/۳۷	۱۰
۰/۰۰۰۱	٤٤/۲۲	۵۵/۷۸±۱/٦	۱	۰/۰۰۸	٤۵/۵۰	۵٤/۵۰±٦/۸٦	۱
۰/۰۰۰۰۸	۳۹/۹	٦۰/۱±۸/۰٤	۲	۰/۰۰٤٤	۱٤/۱۳	۸۵/۸۷±۸/۱۳	۰/۵
۰/۰۰۰۱٤	۳۷/۹٤	٦۲/۰٦±۹/۷	٤	۰/۰۰۰۳	۳/۱۱	۹٦/۸۹±۲/۲۸	۰/۲۵
۰/۰۰۰۰۵	۳٦/۱۸	٦۳/۸۲±۷/۵	۱۰	۰/۰۰۰٤	۲/۸۰	۹۷/۲۰±۲/۸۸	۰/۱۲۵
	۰/۱۹ µg				۱/۰۹ µg		IC_{50}

بحث

در این مطالعه، فعالیت کلاتینگ یون فروس، رادیکال-زدایی نیتریک‌اکساید و سمیت سلولی اسانس‌های مرزه سهند بررسی‌گردید. زمینه تحقیقات جالبی پیرامون ترکیب‌های شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیک روغن‌های اسانسی مرزه وجوددارد. مطالعه مقالات نشان‌می‌دهد که تعداد کمی گزارش در خصوص خواص آنتی‌اکسیدانی مرزه وجوددارد و راجع‌به اسانس مرزه سهند و اسانس تجاری آن تاکنون مطالعه و بررسی‌نشده‌است. در مقالات دیگران خواص آنتی‌اکسیدانی S. montana مطالعه‌شده-است (۱۳،۱٤)؛ در این مطالعه، قدرت کلاتینگ یون فروس اسانس مرزه سهند تقریبا نصف قدرت اسانس تجاری بود (جدول شماره ۱).ROS/RNS (Reactive oxygen and nitrogen species) پیوسته در بدن انسان تولیدمی‌شوند و با آنزیم‌های طبیعی بدن مانند سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز کنترل‌می‌شوند. هنگامی‌که تولید ROS/RNS بیشتر شد، مواجهه با مواد اکسیدان خارجی یا فقدان ساختار دفاعی، آسیب به بیوملکول‌های ارزشمند مانند DNA و لیپیدها و پروتئین‌ها اجتناب‌ناپذیر است (۱۵). آنتی‌اکسیدان‌ها با پیشگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از ROS/RNS از بروز بیماری‌های خاصی، مانند سرطان و فرایند پیری جلوگیری‌می‌کنند. آنها با واکنش با رادیکال‌های آزاد و کلاتینگ فلزهای کاتالیتیک و فعالیت در مقام ربایندگان اکسیژن در فرایند اکسیداسیون مداخله می‌کنند (۱٦). تحقیق‌های اخیر اکنون در جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشأ گیاهی هستند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها بیشتر به دلیل خواص ردوکس (redox) آنهاست که به آنها امکان عملکرد به عنوان مواد احیاکننده و اهداکننده هیدروژن را داده، نیز آنها ظرفیت کلاته‌کردن فلزها را دارند (۱۷). در بین فلزها، آهن به عنوان مهم‌ترین پرواکسیدان اکسیداسیون لیپید به دلیل واکنشگری سریع شناخته‌شده‌است. حالت فروس آهن اکسیداسیون لیپید را با شکستن هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسیدها از طریق واکنش فنتون [Fenton reaction $(Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + {}^{\bullet}OH + {}^{-}OH)$] تسریع‌می‌کند؛ یون Fe^{3+} همچنین از پراکسیدها رادیکال‌ها را تولیدمی‌کند. هرچند در این واکنش، سرعت ده برابر کمتر از یون Fe^{2+} است (۱۸). تولید این رادیکال‌ها می‌تواند به پراکسیداسیون لیپید، تغییرهای پروتئینی و آسیب DNA منجرشود. مواد کلاته‌کننده می‌توانند یون-های فلزی را غیرفعال‌ساخته، به‌طور بالقوه از فرایندهای وابسته به فلز پیشگیری‌کند (۱۹). فعالیت کلاتینگ اسانس با سنجش فروزین (ferrozine) تعیین‌گردید (جدول شماره ۱). فروزین به‌طور کمی می‌تواند کمپلکس‌هایی را با Fe^{2+} تشکیل‌دهد. در حضور سایر مواد کلاته‌کننده، تشکیل کمپلکس مختل می‌گردد و رنگ قرمز کمپلکس کاهش‌می‌یابد. سنجش میزان کاهش رنگ، میزان فعالیت کلاتینگ یک کلاتور موجود هم‌زمان را نشان‌می‌دهد (۲۰). در این مطالعه، واکنش کلاتینگ وابسته به دوز (جدول شماره ۱) و با IC_{50} برابر ۷۵۰ و ۱۹۰ میکروگرم به‌ترتیب در اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بود (جدول شماره ۳). رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید اسانس‌ها نشان‌داد که اسانس مرزه سهند دارای IC_{50} ٦ و ۱۹۵ میکروگرم اسانس به‌ترتیب در مرزه سهند و مرزه تجاری بود (جدول شماره ۳). فنل‌ها و فلاونوئیدهای گیاهی ممانعت پراکسیداسیون لیپید را با فرونشانی رادیکال‌های پروکسی و احیا یا کلاته‌کردن آهن در آنزیم لیپوکسیژناز و درنهایت ممانعت از شروع واکنش پراکسیداسیون لیپید، انجام‌می‌دهند (۲۱). تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به توانایی زدودن رادیکال‌های پروکسی، رادیکال‌های آزاد، و رادیکال‌های هیدروکسی مربوط باشد (۲۲). نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی این گونه گیاهان به-

ویژه قابلیت تیمول است که بر اساس گزارش *سفیدکن و همکاران* (۱) از ترکیب‌های اصلی مرزه سهندی، در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی نیتروژن واکنشگر (ROS) بوده‌اند (۲۳،۲٤). افزایش سطح نیتریک‌اکساید در شرایط خاص اسپاسمی، مانند التهاب آلرژیک بینی، سندرم دیسترس تنفسی و آسم دیده‌می‌شود (۲۵). نتایج این تحقیق نشان‌می‌دهد که مرزه می‌تواند به‌طور مستقیم NO و O_2^- را بزداید که این امر موید آنتی‌اکسیدان‌بودن مرزه در حد بسیار خوب است. سمیت سلولی رقت‌های مختلف اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بر سلول‌های طبیعی انسان به صورت ۵۰ درصد غلظت ممانعت (IC_{50}) به‌ترتیب ۲۵۳/٦٦ µg و ۱٤۹۰ µg (جدول شماره ٤) و این سمیت در خصوص سلول‌های سرطانی به‌ترتیب µg ۰/۱۹ و ۱/۰۹ µg (جدول شماره ۵) بود. نتایج این مطالعه از دریچه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کموتراپی ضد-نئوپلاستی (anti-neoplastic chemotherapy) ارزش پیدا-می‌کنند که می‌تواند پایه تحقیق ارزشمند دیگری قرار-گیرد. نتایج نشان‌می‌دهد که اسانس مرزه باید پس از تعیین دوز مصرف‌شود. با توجه به تأثیر منفی مقدار کم اسانس مرزه سهند بر سلول‌های سالم خون محیطی (جدول شماره ٤) می‌توان به تأثیر خوراکی این اسانس توجه‌کرد و با توجه به خاصیت کشندگی سلول‌های سرطانی اسانس در مقادیر کم اسانس (جدول شماره ۵) می‌توان نتیجه‌گرفت که در مبارزه با سلول‌های سرطانی، اسانس مرزه به سلول‌های طبیعی آسیبی‌نمی‌رساند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که با تأمین هزینه‌های این طرح، امکان عملی‌شدن آن را فراهم آوردند اعلام‌می‌داریم.

منابع

1- Sefidkon F, Jamzad Z, Mirza M: Chemical variation in the essential oil of Satureja sahendica from Iran. Food Chemistry. 2004; 88: 325-8.

2- Sefidkon F, Jamzad Z: Chemical composition of the essential oil of three Iranian Satureja species (S. mutica, S. macrantha and S. intermedia). Food Chemistry. 2005; 91: 1-4.

3- Bezic N, Skocibusic M, Dunkic V: Phytochemical composition and antimicrobial activity of Satureja montana L. and Satureja cuneifolia Ten. essential oils. Acta Bot Croat. 2005; 64: 313-22.

4- Skocibusic M, Bezic N: Chemical composition and antidiarrhoeal activities of winter savory (Satureja montana L). essential oil. Pharm Biol. 2003; 41: 622-6.

5- Zeghichi S, Kallithraka S, Simopoulos AP, Kypriotakis Z: Nutritional composition of selected wild plants in the diet of Crete. World Rev Nutr Diet. 2003; 91: 22-40.

6- Lindberg Madsen H, Bertelsen G: Spices as antioxidants. Trends in Food Science & Technology. 1995; 6: 271-7.

7- Yang Y, Huang CY, Peng SS, Li J: Carotenoid Analysis of Several Dark-Green Leafy Vegetables Associated with a Lower Risk of Cancers. Biomedical and Environmental Sciences. 1996; 9: 386-92.

8- Sefidkon F, Ahmadi S: Essential oil of Satureja khuzistanica Jamzad. J Essent Oil Res. 2000; 12: 427-8.

9- Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J Agric Food Chem. 1999; 47: 3954-62.

10- Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L: The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. Biochem biophys res commun. 1994; 201: 748-55.

11- Plumb JA, Milroy R, Kaye SB: Effects of the pH dependence of 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide-formazan absorption on chemosensitivity determined by a novel tetrazolium-based assay. Cancer Research. 1989; 49: 4435-40.

12- Lau CBS, Ho CY, Kim CF, Leung KN, Fung KP, Tse TF, Chan HHL, Chow MSS: Cytotoxic activities of Coriolus versicolor (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. Life Sciences. 2004; 75: 797-808.

13- Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, De Groot A, Evstatieva LN: Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. Phytochem Anal. 2002; 13: 8-17.

14- Radonic A, Milos M: Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from Satureja montana L. Free Radic Res. 2003; 37: 673-9.

15- Aruoma IO: Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease; 1998, pp 199-212.

16- Shahidi F, Wanasundara PK: Phenolic antioxidants. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992; 32: 67-103.

17- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB: The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radic Res. 1995; 22: 375-83.

18- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA: Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS LETT. 1996; 384: 240-2.

19- Finefrock AE, Bush AI, Doraiswamy PM: Current status of metals as therapeutic targets in Alzheimer's disease. J Am Geriatr Soc. 2003; 51: 1143-8.

20- Yamaguchi F, Ariga T, Yoshimura Y, Nakazawa H: Antioxidative and anti-glycation activity of garcinol from Garcinia indica fruit rind. J Agric Food Chem. 2000; 48: 180-5.

21- Torel J, Cillard J, Cillard P: Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. Phytochemistry. 1986; 25: 383-5.

22- Singh G, Marimuthu P, Murali HS, Bawa AS: Antioxidative and antibacterial potentials of essential oils and extracts isolated from various spice materials. Journal of Food Safety. 2005; 25: 130-45.

23- Cavar S, Maksimovic M, Solic ME, Jerkovic-Mujkic A, Besta R: Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two Satureja essential oils. Food Chemistry. 2008; 111: 648-53.

24- Prieto JM, Iacopini P, Cioni P, Chericoni S: In vitro activity of the essential oils of Origanum vulgare, Satureja montana and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. Food Chemistry. 2007; 104: 889-95.

25- Ashutosh K: Nitric oxide and asthma: A review. Curr Opin Pulm Med. 2000; 6: 21-5.