بررسی تأثیر چند ترکیب فرار موجود در اسانس‌های گیاهی بر میزان تمایل LDL طبیعی و اکسید شده به گیرنده‌های مربوط در سطح سلول‌های آدرنال

غلامعلی نادری[1*]، صدیقه عسگری[2]، محسن آنی[3]، نضال صراف‌زادگان[4]، محمدرضا صفری[5]

۱- استادیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات قلب وعروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲- استادیار فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- استاد بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

٤- دانشیار قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

٥- فوق لیسانس بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

*آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی، مرکز تحقیقات قلب وعروق، ص.پ: ۱۱٤۸- ۸۱٤٦٥ تلفن: ٤٤٦۱۸۲٦- ٤٤٦۰۸۰۷ (۰۳۱۱) نمابر: ٤٤٥۹۰۲۳ (۰۳۱۱)

پست الکترونیک: Isfcarvasrc@hotmail.com

چکیده

تحقیقات متعدد و مختلف نشان داده است که غلظت بالای پلاسما و اکسیداسیون لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) نقش مهمی در آتروژنز دارد. تمایل LDL به گیرنده کلاسیکش در اثر اکسیداسیون کاهش می‌یابد و بیشتر به وسیله گیرنده رفتگر موجود در ماکروفاژها جذب می‌شود. در نتیجه سلول‌های کف مانند تشکیل می‌شوند که در افزایش لایه چربی زیر اندوتلیال عروق نقش عمده دارند. در این تحقیق اثر آنتی اکسیداتیو ۸ ترکیب فرار موجود در اسانس‌های گیاهی به نام‌های آنتول (Anethol)، اوژنول (Eugenol)، لیمونن (Limonene)، لینالول (Linalool)، پارا- سیمول (P-Cymol)، پولگون (Pulegone)، تیمول (Thymol) و ژرانیول (Geraniol) همچنین تأثیر آنها بر میزان تمایل LDL طبیعی و اکسیده (با CU^{++}) بر گیرنده‌اش در سلول‌های بافت آدرنال گوسفند در حضور LDL نشاندار با فلورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج آزمایش‌های فوق نشان می‌دهند که اوژنول و تیمول از خاصیت آنتی اکسیداتیو بالاتری برخوردار هستند و بیشترین اثر را نیز بر روی برداشت LDL (اکسیده و طبیعی) توسط سلول‌های آدرنال دارند. ترتیب اثر این ترکیبات برروی LDL اکسیده به صورت زیر:

پولگون < آنتول < لینالول < پارا- سیمول < ژرانیول < لیمونن < اوژنول ≥ تیمول

و بر روی LDL طبیعی به ترتیب زیر می‌باشد:

آنتول < پولگون < ژرانیول < لیمونن < پارا- سیمول < لینالول < تیمول ≥ اوژنول

بررسی انجام شده نشان می‌دهد که این ترکیبات به خصوص تیمول و اوژنول دارای اثر آنتی اکسیداتیو بوده و احتمالاً به خاطر دارا بودن خاصیت چربی دوستی (لیپوفیلیک) توانسته‌اند بر ذره LDL تأثیر گذارده و تمایل آن را به گیرنده‌اش تغییر دهند. لذا پس از تحقیقات بیشتر می‌توان از این ترکیبات جهت استفاده‌های بالینی به خصوص آترواسکلروز و کاهش کلسترول استفاده نمود.

گل واژگان: لیپوپروتئین با چگالی کم، آنتی‌اکسیداتیو، آترواسکلروز، اسانس

مقدمه

در سال ۱۹۸۱ هندریکسون (Hendricson) وهمکارانش دریافتند که وقتی لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) به مدت ۱۲ تا ۱۸ ساعت با سلول‌های اندوتلیال انکوبه شود، یکسری تغییرات شیمیایی و فیزیکی بر روی LDL صورت می‌گیرد و باعث تشکیل فرم تغییر یافته‌ای از LDL می‌شود که نسبت به LDL طبیعی ۳ تا ۱۰ بار سریع‌تر و بیشتر جذب ماکروفاژها می‌گردد [۱]. همچنین نشان داده شد که LDL جدا شده از پلاسما در حضور یون فلزات واسط نظیر CU^{++} نیز تغییر می‌یابد. سپس معلوم گردید LDL تغییر یافته یا اکسید شده (oxidized LDL) دارای خصوصیات جدیدی است که شامل افزایش سرعت جذب توسط ماکروفاژها (از طریق مسیر وابسته به گیرنده خاصی به نام گیرنده رفتگر (scavenger) که در نهایت منجر به تشکیل سلول‌های کف مانند و تسهیل در تجمع لایه چربی در زیر اندوتلیال عروق می‌شود)، کاهش سرعت جذب توسط گیرنده‌های کلاسیک LDL، تغییر در ترکیب لیپیدی آن، کاهش مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع در LDL به سبب اکسیداسیون این مولکول‌ها، افزایش فرم اکسید شده کلسترول، تکه‌تکه شدن مولکول پروتئینی apoB100 و کاهش مقادیر اسید آمینه‌های پرولین (Pro) لیزین (Lys) و هیستیدین (His)، فعالیت کموتاکتیک برای مونوسیت‌های انسانی درحال گردش، سایتوتوکسیک بودن LDL تغییر یافته، تشکیل قطعاتی از زنجیره اسیدهای چرب نظیر مالون‌دی‌آلدیید (MDA) و ٤- هیدروکسی نونه‌نال (HNE)، اتصال کووالان آنها با قطعاتی از مولکول apoB100 و غیره [٤-١].

شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد اکسیداسیون LDL در دیواره عروق، عامل اصلی در پیدایش و توسعه آترواسکلروز می‌باشد. از جمله حضور کلسترول اکسیده، لیپیدهای اکسیده و محصولات حاصل از پراکسیداسیون LDL نظیر MDA و HNE در آسیب‌های آترواسکلروز در انسان و حیوان، همچنین LDL جدا شده از پلاک‌های آترواسکلروز در انسان و حیوان آزمایشگاهی، مشابه LDL است که در محیط آزمایشگاه *(in vitro)* اکسید شده است. آنتی بادی‌هایی که LDL اکسیده را می‌شناسند و با آنها واکنش می‌دهند در سرم بیماران مبتلا به عروق کرونر نیز به دست آمده است. همچنین نشان داده شده که رادیکال‌های آزاد به عنوان یک عامل مهم در پیشرفت و شاید آغاز بیماری آترواسکلروز شرکت دارند [٥ و ٦].

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهند که در اثر مصرف مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان مهار کننده پراکسیداسیون لیپید و حلال چربی (مثل ویتامینE) کاهش قابل ملاحظه‌ای در آسیب‌های آترواسکلروز دیده می‌شود [٥ و ٦]. لذا با توجه به تأثیر LDL اکسیده بر روی آتروژنز، لزوم مهار واکنش اکسیداسیون به شدت احساس می‌گردد. سال‌ها است که توجه محققین به شناسایی ترکیبات آنتی‌اکسیدان که مانع از اکسیداسیون شوند، بدون اینکه اثرات جانبی نگران کننده‌ای داشته باشند، معطوف شده است. به همین منظور، امروزه توجه بیشتری بر روی اسانس‌ها و فلاونوییدها به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان مبذول می‌شود. این ترکیبات از این جهت جالب هستند که دارای منشا گیاهی بوده و احتمال ایجاد اثرات جانبی و مسمومیت با آنها به خصوص در مقادیر کنترل شده کم است. این ترکیبات علاوه بر توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد که باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب موجود در LDL می‌شوند، قادر به شلاته کردن یون‌های فلزی که در واکنش‌های اکسیداسیون LDL مشارکت دارند، نیز هستند.

اسانس‌ها علاوه بر داشتن اثر آنتی اکسیداتیو به عنوان ترکیبات حلال چربی (مانند ویتامین E) قادر به ورود در ذرات LDL نیزخواهند بود.

در این تحقیق اثر آنتی اکسیداتیو ۸ نوع ترکیب فرار موجود در اسانس‌های گیاهی به نام‌های لیمونن، ژرانیول، اوژنول، آنتول، تیمول، پولگون، پارا- سیمول، لینالول و تأثیر آنها بر میزان تمایل LDL طبیعی و اکسیده (با CU^{++}) با گیرنده‌اش

در سلول‌های بافت آدرنال گوسفند در حضور این ترکیبات و با استفاده از LDL نشاندار شده با فلورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

فلورسئین ایزوتیوسیانات و پارا- سیمول از شرکت سیگما و لینالول، لیمونن، اوژنول، آنتول، تیمول و پولگون ازشرکت مرک تهیه گردید. LDL نیز با استفاده از اولتراسانتریفوژ جدا گردید [۷].

نشاندارکردن LDL با محلول فلورسئین ایزوتیوسیانات

فلورسئین ایزوتیوسیانات با داشتن گروه آنیونی در محیط قلیایی پایدار بوده و اغلب جهت اندازه‌گیری‌ها و واکنش‌های ایمونواسی (immunoassay) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب دارای شدت فلورسانس زیادی است. مقدار ۵ میلی‌گرم از پودرFITC در ۵۰ میلی‌لیتر بافر بی‌کربنات سدیم ۵۰mM با pH=۸/۵ حل شد. ۱۰میلی‌لیتر از محلول LDL آماده (۳/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را برداشته و به همان حجم (۱۰میلی‌لیتر) از محلول FITC تهیه شده، اضافه کرده و به مدت یک شب در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس فراکشن‌های ۲ میلی‌لیتری FITC-LDL نشاندار شده توسط ستون تهیه شده از سفادکس G-25 در بافر ذکر شده جدا گردید [۸ و ۹].

تهیه مامبران از بافت آدرنال گوسفند

ابتدا ۳۰ عدد غده آدرنال گوسفند تازه تهیه شده در محلول NaCl ۰/۱۵ مولار در داخل یخ قرار داده شد. سپس به سرعت توسط قیچی و اسکالپل به قطعات ریز تبدیل گردیدند و در بافر سرد شده A شامل: Trist-HCl ۲۰ میلی‌مولار، NaCl ۰/۱۵ مولار، $CaCl_2$ ۱ میلی‌مولار و PMSF (فنیل متیل سولفون فلورید) ۱ میلی‌مولار با pH=۸/۵ قرار داده شدند طوری که به ازای هر گرم بافت، ۵ میلی‌لیتر بافر وجود داشته باشد. پس از آن بافت‌های تهیه شده توسط دستگاه هموژنایزر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد هموژنیزه گردید و پس از عبور از mesh، محلول کلوییدی حاوی سلول‌های بافت آدرنال دارای گیرنده به‌دست آمد [۱۰].

تهیه غلظت‌های مختلف از ترکیبات فرار

محلول‌هایی از ترکیبات آنتول، اوژنول، ژرانیول، لیمونن، لینالول، پارا- سیمول، پولگون و تیمول به طور جداگانه و با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میکرومولار در حلال (دی‌متیل سولفون اکسید) تهیه شدند.

بررسی اثر ترکیبات فرار بر روی تمایل LDL طبیعی به گیرنده‌اش در سلول‌های بافت آدرنال گوسفند

۱- ابتدا به هر میلی‌لیتر از سلول LDL طبیعی (۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف ترکیبات تهیه شده اضافه و سپس در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگه داشته شدند. نمونه‌های تهیه شده در مدت زمان انکوباسیون دایماً به هم زده شدند. ۳ لوله به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود و فقط در داخل آنها LDL طبیعی (بدون حضور ترکیبات مذکور) وجود داشت.

۲- بر روی هر یک از نمونه‌های فوق یک میلی‌لیتر از محلول LDL نشاندار رقیق شده با بافر بی‌کربنات سدیم دارای pH=۸/۵ به نسبت ۱:۱۰ و یک میلی‌لیتر از محلول هموژنیزه حاوی سلول‌های آدرنال حاوی گیرنده LDL که با بافر A به نسبت ۱:۱۰ رقیق گردیده است، اضافه گردید. در سه لوله تنها یک میلی‌لیتر از محلول LDL نشاندار رقیق شده فوق و در سه لوله دیگر نیز فقط یک میلی‌لیتر از محلول هموژنیزه رقیق شده ریخته شد.

۳- نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوب به هم زده شدند.

٤- به هر یک از نمونه‌های فوق یک میلی‌لیتر بافر A اضافه گردید و سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

٥- میزان فلورسانت بخش‌های فوقانی محلول‌های حاصل از سانتریفوژ در دستگاه فلورومتر در طول موج‌های emission=515 nm و excitation=495 nm خوانده شد و هیستوگرام آنها رسم گردید.

بررسی اثر ترکیبات فرار بر روی تمایل LDL اکسیده به
گیرنده‌اش در سلول‌های بافت آدرنال گوسفند

۱- یک میلی‌لیتر از LDL طبیعی (۱۰۰میکروگرم در میلی‌لیتر) برداشته و به یک میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های تهیه شده از ترکیبات فرار اضافه گردید. سپس در سه غلظت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و در این مدت زمان، خوب به هم زده شد. در سه لوله شاهد فقط LDL طبیعی ریخته شد.

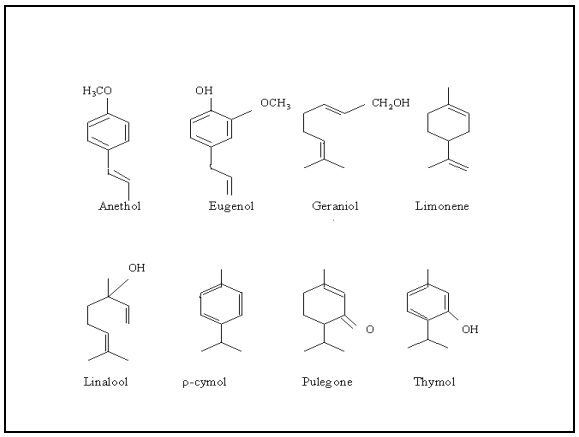
۲- سپس واکنش اکسیداسیون بر روی هر یک از محلول‌های LDL فوق توسط CU^{++} انجام گرفت (غلظت نهایی سولفات مس در هر محلول برابر ۱۰ میکرومولار گردید و به مدت سه ساعت در حرارت آزمایشگاه انکوبه شد).

۳- بر روی هر یک از نمونه‌ها یک میلی‌لیتر LDL نشاندار رقیق شده با بافر بی‌کربنات سدیم به نسبت ۱:۱۰ و یک میلی‌لیتر از محلول هموژنیزه حاوی سلول‌های آدرنال دارای گیرنده رقیق شده با بافر A به نسبت ۱:۱۰ اضافه گردید.

٤- همه نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوب به هم زده شدند.

٥- به هر یک از نمونه‌های فوق یک میلی‌لیتر از بافر A افزوده و به مدت ۲۰ دقیقه در دور ٤۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند.

٦- پس از آن میزان فلورسانت سطح هر یک از محلول‌های حاصل از سانتریفوژ در دستگاه فلورومتر در طول موج‌های excitation=495 nm و emission=515 nm خوانده شد و هیستوگرام آنها رسم گردید.



شکل ۱- فرمول ساختمانی ترکیبات طبیعی مورد استفاده

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف ترکیبات فرار بر تمایل LDL طبیعی و اکسید شده بر گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال

آنتول

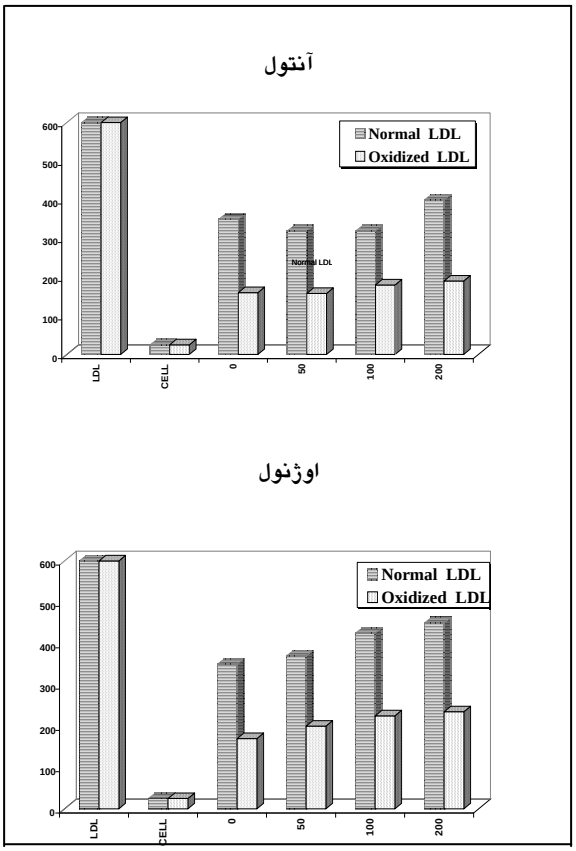
در غلظت‌های ٥۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میکرومولار به ترتیب ٥ و۷ درصد کاهش و ۱۲ درصد افزایش در تمایل LDL طبیعی و ۰، ۱۸ و ۲۳ درصد افزایش در تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال نشان داد (نمودار ۱).

اوژنول

در غلظت‌های به کار رفته به ترتیب ۱۲، ۲۱ و ۲۹ درصد افزایش در تمایل LDL طبیعی و۱۷، ۳۸ و ٤۷ درصد افزایش در تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال نشان داد (نمودار ۱).

ژرانیول

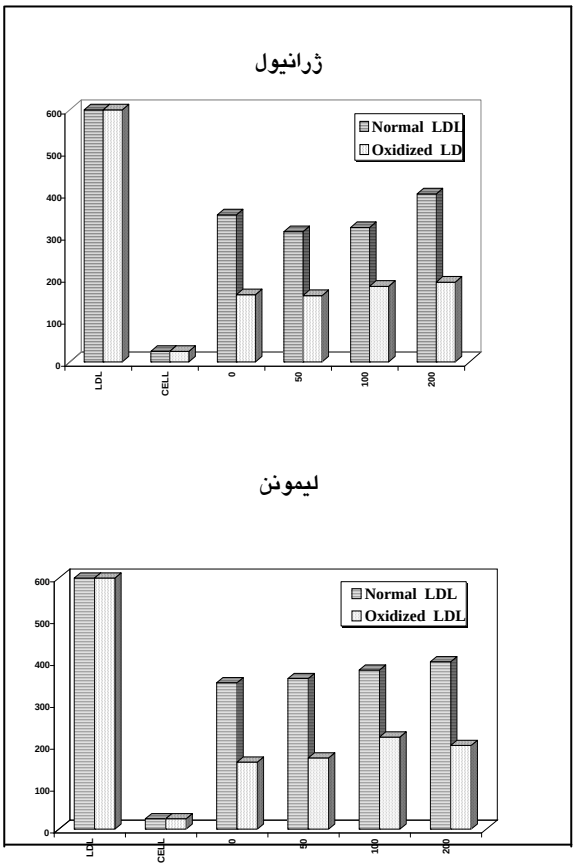
در غلظت‌های به کار رفته، به ترتیب ۵ و۱۲ درصد کاهش و ۱٤ درصد افزایش در تمایل LDL طبیعی نشان داد، در حالی که تأثیری بر تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف آنتول و اوژنول بر روی تمایل LDL طبیعی و اکسیده به گیرنده مربوط در بافت آدرنال در حضور LDL نشاندار شده با FITC، داده‌ها نمایانگر ۵ بار آزمایش است و هر داده به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد. $p<$ ۰/۰۵ معنی‌دار است.

لینالول

در غلظت‌های به کار رفته به ترتیب ۵، ۷ و ۲۵ درصد تمایل LDL طبیعی و ۰، ۱۸ و ۲۳ درصد تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال را افزایش داد (نمودار ۳).



نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف ژرانیول و لیمونن بر روی تمایل LDL طبیعی و اکسیده به گیرنده مربوط در بافت آدرنال در حضور LDL نشاندار شده با FITC، داده‌ها نمایانگر ۵ بار آزمایش است و هر داده به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد. $p<$ ۰/۰۵ معنی‌دار است.

لیمونن

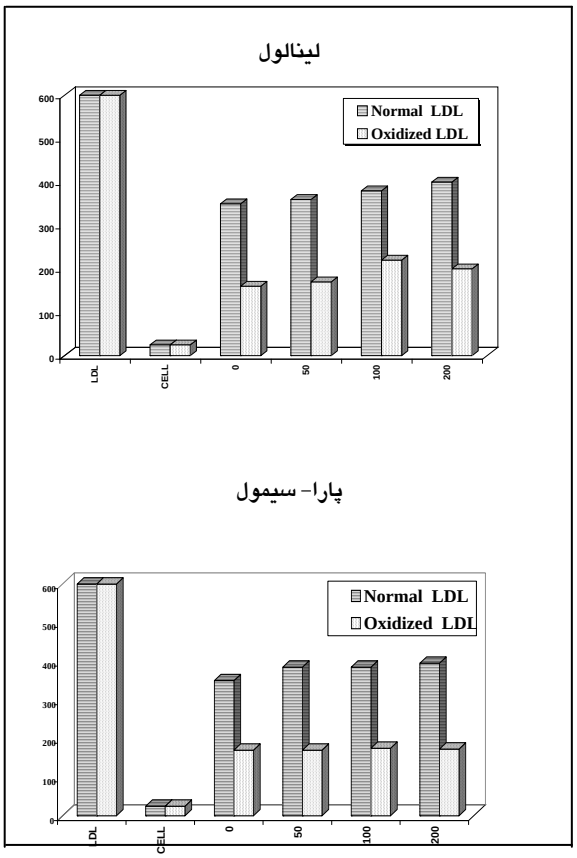
در غلظت‌های به کار برده شده، به ترتیب ٦، ۱۰ و ۱۷ درصد تمایل LDL طبیعی و ۱۲، ۳۲ و ۳۵ درصد تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال را افزایش داد (نمودار ۲).

پارا- سیمول

درغلظت‌های به کار برده شده، به ترتیب ۱۰، ۱٤ و ۲۲ درصد تمایل LDL طبیعی و ۰، ۱۸ و ۱۸ درصد تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال را افزایش داد (نمودار ۳).

پولگون

در غلظت‌های به کار رفته به ترتیب ۰، ۰ و ۱۸ درصد تمایل LDL طبیعی و ۰، ۳۲ و ۳۸ درصد تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال را افزایش داد (نمودار ٤).



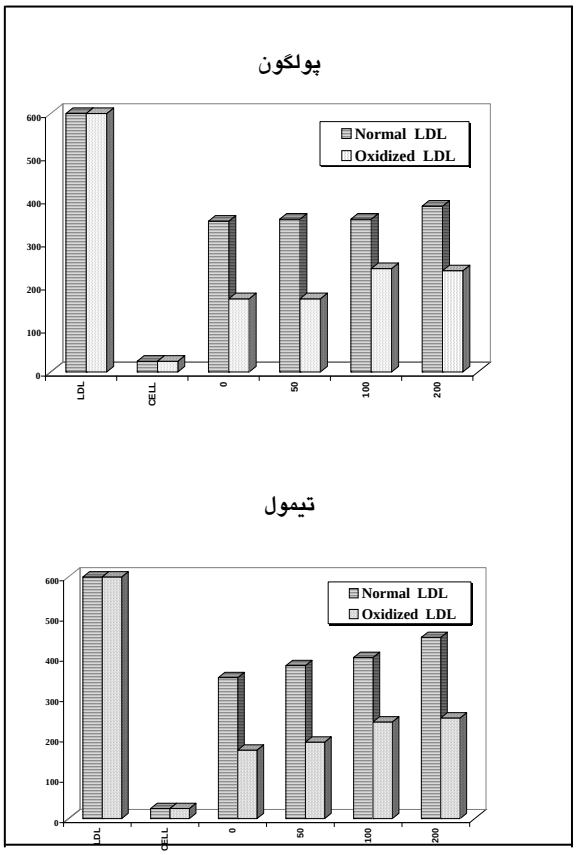
نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف لینالول و پارا- سیمول بر روی تمایل LDL طبیعی و اکسیده به گیرنده مربوط در بافت آدرنال در حضور LDL نشاندار شده با FITC، داده‌ها نمایانگر ۵ بار آزمایش است و هر داده به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد. ۰/۰۵ >p معنی دار است.

تیمول

در غلظت‌های به کار برده شده، به ترتیب ١٤، ١٦ و ٢٥ درصد تمایل LDL طبیعی و ٢٠، ٣٥ و ٤٨ درصد تمایل LDL اکسید شده به گیرنده LDL در سطح سلول‌های آدرنال را افزایش داد (نمودار ٤).

بحث و نتیجه‌گیری

آترواسکلروز یکی از مهمترین بیماری‌ها است که ارتباط مستقیم با LDL و فرم‌های تغییر شکل یافته آن به ویژه اکسیداسیون این لیپوپروتئین دارد. علاوه بر اینکه تمایل LDL اکسید شده نسبت به گیرنده کلاسیک LDL کاهش می‌یابد، به دلیل تغییر بار



نمودار ۴- اثر غلظت‌های مختلف پولگون و تیمول بر روی تمایل LDL طبیعی و اکسیده به گیرنده مربوط در بافت آدرنال در حضور LDL نشاندار شده با FITC، داده‌ها نمایانگر ۵ بار آزمایش است و هر داده به صورت میانگین ± خطای معیار می‌باشد. ۰/۰۵ >p معنی دار است.

ایجاد شده بر روی مولکول پروتئینی apoB100 از LDL، می‌تواند به عنوان یک لیگاند مناسب برای گیرنده‌های رفتگر ماکروفاژها در ناحیه انتیما عروق خون عمل کند. در نتیجه توسط ماکروفاژها جذب

گردیده و سلول‌های کف مانند و لایه چربی را که از علایم آترواسکلروز هستند، ایجاد نماید.

با توجه به این مسأله که واکنش اکسیداسیون LDL در محیط آزمایشگاهی نیز انجام می‌گیرد و تشکیل LDL اکسیده با پیشرفت آترواسکلروز همراه است، به نظر می‌رسد آنتی اکسیدان‌هایی که بتوانند تغییرات اکسیداتیو لیپوپروتئین‌ها از جمله LDL را کاهش یا متوقف کنند در کاهش میزان پیشرفت این بیماری مؤثر باشند.

بررسی‌های مختلفی که تاکنون انجام گرفته، نشان می‌دهد که ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان نظیر ویتامین E که حلال چربی است و ویتامین C، دارای اثرات محافظتی بر علیه واکنش اکسیداسیون LDL می‌باشند. بنابراین با افزایش غلظت این ویتامین‌ها در بدن تا حدودی پیشرفت بیماری آترواسکلروز کاهش می‌یابد [۱۱، ۱۲].

از جمله ترکیباتی که امروزه توجه ویژه‌ای به آنها به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌شود، فلاونوییدها و روغن‌های فرار را می‌توان نام برد که دارای اثرات بیوشیمی وسیعی هستند. در این تحقیق تأثیر نفوذ ترکیبات فرار موجود در اسانس‌های گیاهی بر ذره LDL و میزان افزایش تمایل LDL به گیرنده‌اش و نیز میزان اثر آنتی‌اکسیداتیو آنها مورد بررسی قرار گرفتند.

همان طور که نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهند در میان ۸ ترکیب بررسی شده، تیمول و اوژنول دارای بیشترین اثر بر روی اتصال LDL اکسیده و طبیعی به گیرنده‌های LDL می‌باشند (در LDL طبیعی ۲۷ درصد و در LDL اکسیده ۴۹ درصد) (نمودار ۱). ترتیب اثر این ترکیبات بر روی میزان افزایش تمایل LDL طبیعی به گیرنده‌اش به صورت زیر است:

آنتول< پولگون< ژرانیول< لیمونن< پارا- سیمول< لینالول< تیمول≤ اوژنول

و این ترتیب بر روی افزایش تمایل LDL اکسیده به گیرنده‌اش به صورت زیر می‌باشد:

پولگون< آنتول< لینالول< پارا- سیمول< لیمونن< ژرانیول< اوژنول≤ تیمول

همانطورکه در شکل (۱) مشخص است دو ترکیب تیمول و اوژنول هر دو دارای ساختمان فنلی هستند و دارای بیشترین اثر در اتصال LDL به گیرنده‌اش می‌باشند و به نظر می‌رسد ساختمان این دو ترکیب در نتایج حاصله بسیار مؤثر باشد.

ترکیبات فنلی گیاهی معمولاً دارای اثرات آنتی اکسیداتیو برای واکنش‌های اکسیداسیون در محیط آزمایشگاهی می‌باشند که باعث جمع‌آوری رادیکال‌های پراکسید می‌شوند. همچنین بر طبق یافته‌های ارنست فرانکل (Ernest Frankel) و همکارانش، ترکیبات فنلی گیاهی توانایی واکنش مستقیم با برخی از گروه‌های فعال اکسیژن (نظیر HOCL ,OH) را داشته و مانع از اکسیداسیون LDL می‌شوند [۱۳، ۱۴].

علاوه بر آن در طی مطالعاتی که توسط دو گروه از محققین در سال ۱۹۹۵ انجام گرفت، مشخص گردید که تیمول موجود در گیاه آویشن دارای اثر آنتی اکسیداتیو بر روی واکنش اکسیداسیون LDL است که همه این موارد مؤید نتایج حاصل از این پروژه می‌باشد [۱۵].

در این تحقیق همچنین نشان داده شد که ترکیبات مورد مطالعه بر افزایش تمایل LDL طبیعی و اکسید شده به گیرنده‌های مربوط مؤثر هستند و به احتمال زیاد چربی دوست بودن این ترکیبات سبب گردیده تا بتوانند در ذرات LDL نفوذ کرده و ساختمان فضایی آنرا طوری تغییر دهند که تمایل ذرات به گیرنده مربوط افزایش یابد که در این میان تیمول و اوژنول بیشترین تأثیر را دارا می‌باشند.

با تحقیقات بیشتر در آینده شاید بتوان از این ترکیبات برای مهار واکنش‌های اکسیداتیو و یا کاهش کلسترول خون استفاده نمود.

منابع

1. Jialal I and Deraraj S. Low-density lipopotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin. Chem.* 1996; 42(4): 498- 506.

2. Wetztum JL and Steinberg D. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherosclerosis: *J. Clin. Invest.* 1991; 88:1785-91.

3. Kuzugu M, Yamada K, Hayashi L and Franki T. Role of lipoprotein-copper complex in copper catalyzed-peroxidation of LDL. *Biochem. Biophys. Acta.* 1992; 1123:334-41.

4. Thomas CE and Jockson R. Lipid hydroperoxide involvement in copper-dependent and independent oxidation of low-density lipoproteins. *J. Pharmacol. Exper. Ther*. 1990; 2456:1182-8.

5. Suzuki H and Hang-Bil. A role for macrophage receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature.* 1997; 386:292-6.

6. Yla-Herttuala S and Palinski W. Evidence for the presence of oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest*. 1989; 248:1086-96.

7. Havel RJ, Eder HA and Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest*. 1955; 34: 1345-53.

8. Feurstein DL and Sellek RE. The chemical stability of fluoresein under normal fluorometric condition. *J. Sanit. Eng. Div. Am. Soc*. 1965; 89:1.

9. Kronick MN and Little WA. Fluorescent immunoassay employing total reflection for activation. *J. Immunol. Method*. 1975; 8: 250.

10. Schneider WJ, Goldstein JL and Brown MS. Purification of the LDL receptor. *Methods Enzymol*. 1985; 109:406- 17.

11. Restsky KL and frei B. Vitamin C prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human LDL. *Biochem. Biophys. Acta*. 1995; 1257:279-87.

12. Esterbauer H, Dieber RM, Striegl G and Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of LDL. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53(suppl): 3145-95.

13. Frankel EN, Kanner JB, Parks E and Kinsella JE. Inhibition of oxidation of human LDL by phenolic substances. *Lencet*. 1993; 341:454-9.

14. Rankin SM, Whalleg CV, Hoult JRS and Jessup W. The modification of LDL by the flavonoids myricetin and gossypetin. *Biochem. Pharmacol*. 1993; 45:67-75.

15. Davct K. Study of the antioxidative activity of natural polyphenolic using a model chain reaction oxidation. *Zdrawookhr. Kaz.* 1995; 2: 40.