

بررسی سمیت سلولی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاهان ادویه‌ای دارچین و زنجبیل با آزمون سمیت لارو میگوی آب شور

فریبا شریفی فر^{۱*}، محمدحسن مصحفی^۲، غلامرضا دهقان^۳، عالیه عامری^۴، فهیمه علیشاهی^۴

۱- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فارماسیوتکس، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فارماسیوتکس، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- استادیار، گروه فارماسیوتکس، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فارماسیوتکس، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- دکتر داروساز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

*آدرس مکاتبه: کرمان، صندوق پستی: ۴۹۳ - ۷۶۱۷۵، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده داروسازی

تلفن: ۳۲۰۵۰۰۱ (۰۳۴۱)، نمابر: ۳۲۰۵۰۰۳ (۰۳۴۱)

پست الکترونیک: fsharififar@kmu.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۷/۱۰/۲

تاریخ دریافت: ۸۶/۸/۲۶

چکیده

مقدمه: گیاهان زنجبیل^۱ و دارچین^۲ به عنوان ادویه دارای مصرف گسترده‌ای در رژیم غذایی ایرانیان می‌باشند. هدف: هدف این تحقیق بررسی سمیت سلولی اسانس و عصاره‌های مختلف این دو گیاه به روش آزمون کشندگی لارو میگوی آب شور^۳ می‌باشد.

روش بررسی: در ابتدا نام علمی گیاهان تهیه شده از بازار با آنالیز میکروسکوپی تایید شده، اسانس با روش هیدرودیستیلیشن و عصاره‌ها به ترتیب قطبیت با روش پرکولاسیون استخراج شدند. اثر کشندگی لارو میگوی آب شور فراکسیون‌ها با دو روش دیسک و محلول در غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در مقایسه با دی کرومات پتاسیم بررسی شد. هر نمونه سه مرتبه مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج به دست آمده با روش آماری **Probit Analysis** مورد آنالیز قرار گرفته است.

نتایج: عصاره کلروفرمی، اسانس و عصاره اتری دارچین (با LC_{50} به ترتیب برابر با $۱۲/۱ - ۶/۷$)، $۹/۲۱$ ($۸/۷ - ۱۲/۳$) و $۱۰/۰۵$ و $۱۸/۴۲$ ($۱۴/۴ - ۲۱/۳$) میکروگرم در میلی‌لیتر و اسانس، عصاره پترولئوم اتر، عصاره متانولی و کلروفرمی زنجبیل (با LC_{50} به ترتیب برابر با $۰/۰۳$ ($۰/۰۲ - ۰/۰۴$)، $۰/۰۳$ ($۲/۳ - ۶/۹$)، $۴/۰۳$ ($۴/۷ - ۱۲/۸$) و $۷/۹$ ($۱۴/۲ - ۸/۸۹$) میکروگرم در میلی‌لیتر دارای بیشترین سمیت بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: فراکسیون‌های هر دو گیاه دارای سمیت بالا می‌باشند و با توجه به سمیت عصاره آبی گیاه لازم است با انجام سایر آزمون‌ها در صورت تایید نتایج، در مورد محدودیت مصرف این دو ادویه توصیه‌های ایمنی صورت گیرد.

کل واژگان: آرتمیا، دارچین، زنجبیل، سمیت سلولی، سمیت لارو میگوی آب شور

¹ *Zingiber officinale* Rosc.

² *Cinnamomum zeylanicum* Blum.

³ Brine shrimp Lethality Assay



مقدمه

مطالعات کتابخانه‌ای وجود دارد. دارچین^۱، از خانواده Loraceae دارای خواص درمانی کارمیناتیو، ضد میکروب، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌دیابت، ضد ویروس هرپس و ضد اسپاسم می‌باشد [۸-۴]. گزارش‌هایی نیز از تورم سلول‌های کبدی، افزایش ضخامت لایه پوششی معده و ایجاد نفریت متعاقب مصرف درازمدت دارچین وجود دارد که به اسانس آن نسبت داده شده است [۹]. ریزم گیاه زنجبیل^۲ از خانواده Zingiberaceae بومی کشورهای هند، سیلان و چین بوده و دارای خاصیت کارمیناتیو، ضد اسپاسم، ضد تهوع، صفرآور، ضد قارچ، کاهش دهنده چربی خون، آنتی‌دیابتیک، ضد فشارخون و گشادکننده عروق می‌باشد [۱۵-۱۰]. گونه *Z. zerumbet* و *Z. cassumunar* از این جنس دارای سمیت سلولی قابل توجهی می‌باشند [۱۷، ۱۶].

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد استفاده: در این تحقیق، پوست دارچین و ریزم زنجبیل با توجه به اینکه در ایران رویش ندارند از منابع معتبر تهیه شدند.

بررسی فیتوشیمیایی مقدماتی گیاهان: پوست دارچین و ریزم زنجبیل از نظر وجود ترکیباتی مانند فلاونوئید، آلکالوئید، تانن و ساپونین مورد آزمایش قرار گرفتند [۱۸].

آنالیز میکروسکپی گیاهان: با توجه به اینکه این دو گیاه مورد آزمایش در ایران رویش ندارند و از کشورهای هندوستان و یا سیلان به ایران وارد می‌شود جهت اطمینان از گونه مورد آزمایش بعد از تهیه لام نمونه زیر میکروسکپ مورد بررسی قرار گرفته و با منابع مرجع مورد مقایسه قرار گرفتند [۱۹].

اسانس‌گیری و تهیه عصاره‌های مختلف گیاه: برای تهیه اسانس از روش هیدرودیستیلشن با دستگاه کلونجر استفاده شد. مقدار ۱۰۰ گرم پودر گیاه خشک شده به دستگاه منتقل و به مدت ۴ ساعت اسانس‌گیری شد. عصاره‌گیری از گیاهان با سیستم حلال پترولئوم اتر، کلروفرم، دی اتیل اتر، متانول و آب

سرطان به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در جهان محسوب می‌شود و همه ساله منجر به مرگ بیش از ۶ میلیون نفر می‌شود [۱]. امروزه مبارزه با سرطان، به خصوص در مورد تومورهایی که رشد سریع دارند با توفیق نسبتاً خوبی همراه بوده است. درمان سرطان به دلیل محدودیت‌های بنیادی با مشکلات زیادی مواجه بوده است. به منظور دستیابی به ترکیبات دارای خاصیت ضدسرطان نیاز به یک سری آزمون‌های غربالگری^۱ می‌باشد. از سویی تحقیقات در زمینه دستیابی به ترکیبات ضدسرطان از منابع گیاهی هر روزه ابعاد گسترده‌تری پیدا می‌کند. کشف داروهایی مانند آلکالوئیدهای گیاه وینکا، یا دی‌ترین تاکسول از گیاه سرخدار و ... که در درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند انگیزه مضاعفی را جهت تحقیق در زمینه جستجوی داروهای ضدسرطان با منشای گیاهی ایجاد کرده است. در این مطالعات آزمون‌های سمیت سلولی یا سیتوتوکسیسیته به دلیل سرعت بخشیدن به روال تحقیق و صرف هزینه‌های کمتر جهت جستجوی ترکیبات سیتوتوکسیک استفاده می‌شود. یکی از معتبرترین این آزمون‌ها، آزمون سمیت میگوی آب شور یا سمیت لارو میگوی آب شور می‌باشد که توسط انستیتو ملی سرطان^۲ در آمریکا ارایه شده است. این آزمون با استفاده از لارو میگوی آب شور^۳، برای ارزیابی اولیه سمیت انواعی از عصاره‌های گیاهی، فلزات سنگین، حشره‌کش‌ها، افزودنی‌های مواد غذایی و یا ترکیبات دارویی به کار می‌رود [۲]. سمیت تعداد زیادی از گیاهان مختلف با این روش مورد ارزیابی قرار گرفته است که از جمله می‌توان به سیاه‌دانه، کتان، انیسون، گزنه و اسپند اشاره کرد [۳].

در این تحقیق دو گیاه دارویی دارچین و زنجبیل که به عنوان ادویه در برنامه غذایی مردم ایران به میزان گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند برای اولین بار با این آزمون از نظر سمیت سلولی مورد سنجش قرار گرفتند. گزارش‌هایی از سمیت سلولی گونه‌های دیگری از بعضی از این گیاهان در

¹ *Cinnamomum zeylanicum* Blume

² *Zingiber officinale* Rosc.

¹ Screening

² NCI

³ *Artemia salina*



معادل از حلال هر عصاره و به عنوان شاهد مثبت از دی کرومات پتاسیم استفاده شد [۲۰]. بعد از ۲۴ ساعت تعداد لاروهای زنده در هر لوله شمارش و ثبت شد. هر نمونه سه مرتبه مورد سنجش قرار گرفت و میانگین نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ گزارش شد.

در روش محلول برای عصاره‌های آلی از حلال DMSO و برای عصاره متانولی و آبی از آب به عنوان حلال استفاده شد. بعد از تهیه رقت‌های مناسب از هر عصاره (۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر)، ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره در لوله آزمایش وارد شده و بعد از به حجم رسانیدن با آب دریا، تعداد ۱۰ عدد لارو زنده به هر لوله اضافه شد. بقیه روش کار مشابه روش دیسک می‌باشد [۲].

محاسبات آماری

بعد از شمارش لاروهای زنده در دو روش و داشتن لاروهای کشته شده با استفاده از برنامه *probit analysis* که یکی از برنامه‌های تحت SPSS می‌باشد، LC_{50} عصاره‌ها با بازده اطمینان ۹۵ درصد محاسبه و با شاهد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی فیتوشیمیایی مقدماتی

نتایج حاصل از انجام آزمایش‌های فیتوشیمی بر روی دو نمونه گیاهی نشان داده است که هر دو گیاه دارای فلاونوئید، آلکالوئید و تانن و فاقد ساپونین می‌باشند.

نتایج حاصل از آنالیز میکروسکپی

آنالیز میکروسکپی نمونه‌های دارچین و زنجبیل به ترتیب مطابق بامونوگراف گیاهان *C. zeylanicum* و *Z. officinale* بوده است.

و به روش پرکولاسیون به ترتیب انجام گرفت تا مواد را با داشتن قطبیت مختلف بتوان از گیاه استخراج نمود. ۱۰۰ گرم از پودر هر گیاه در پرکولاتور ریخته و در درجه حرارت اتاق عصاره‌گیری شد. عصاره‌های به دست آمده با دستگاه تقطیر در خلأ تا حد خشک شدن تغلیظ و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. برای تهیه رقت‌های مورد آزمایش از روش سریالی استفاده شد و ابتدا رقت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم میلی‌لیتر از عصاره‌ها تهیه و مورد سنجش قرار گرفت. در مرحله دوم با توجه به نتایج به دست آمده، رقت‌های مابین رقت‌های موثر به دست آمده نیز مورد سنجش قرار گرفتند.

آزمون سمیت لارو میگوی آب شور

تهیه لارو میگوی آب شور

تخم‌های خشک *Artemia salina* جهت تفریخ^۱ در آب دریای مصنوعی (محلول ۳/۵ درصد نمک دریا در آب) در دمای ۲۸ درجه قرار داده شد. تخم‌ها در آکواریوم و تحت نور شدید و هوادهی مداوم بعد از حدود ۲۴ - ۳۶ ساعت تفریخ شدند. لاروهای فعال با استفاده از خاصیت فوتوتروپیک آن‌ها از لاروهای غیرفعال و پوسته‌ها (که برای لارو سمی می‌باشند) جدا شدند [۲].

انجام آزمون

برای انجام آزمایش از دو روش دیسک و محلول استفاده شد. در روش دیسک از دیسک‌های کاغذی با قطر ۰/۵ سانتی‌متر و ضخامت یکسان استفاده شده و از هر یک از سه رقت ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به دیسک کاغذی اضافه و در لوله آزمایش قرار داده شد. بعد از اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر آب دریای با حرارت ۲۸ درجه به لوله، تعداد ۱۰ عدد لارو به هر لوله اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت تحت نور مناسب و در دمای ثابت ۲۸ درجه قرار داده شد. در لوله کنترل، دیسک حاوی حجم

¹ Hatching



نتایج حاصل از اسانس گیری

حاصل اسانس گیری از گیاه دارچین برابر ۱/۶۱ درصد می باشد. اسانس به دست آمده دارای بوی نافذ، رنگ زرد و دانسیته بیشتر از آب می باشد. درصد اسانس به دست آمده از ریزم زنجبیل، ۰/۶۷ درصد می باشد. این اسانس دانسیته کمتر از آب داشته و دارای بوی بسیار قوی می باشد (جدول شماره ۱).

نتایج حاصل از عصاره گیری

بیشترین درصد فراژ زئیکسیون های حاصل از عصاره گیری از گیاه دارچین را عصاره پتروئوم اتر (۱۷/۳۴ درصد) و عصاره متانولی (۱۴/۴۱ درصد) تشکیل می دهد. عصاره آبی گیاه ۸/۵۵ درصد گیاه اولیه را شامل می شود. بیشترین درصد عصاره حاصل از زنجبیل مربوط به عصاره متانولی (۱۳/۷۶ درصد) می باشد و بعد از عصاره اتری (۶/۹ درصد)، بقیه عصاره ها درصد جزئی از فراکسیون های گیاه را شامل می شوند (جدول شماره ۱).

نتایج حاصل از آزمون سمیت لارو میگوی آب شور گیاهان

دارچین و زنجبیل

نتایج آزمایش سمیت سلولی گیاهان به روش دیسک

نتایج آزمایش سمیت سلولی پوست دارچین

نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی عصاره های مختلف گیاه دارچین روی لارو آرتیمیا در نمودار شماره ۱ آمده است. مقایسه LC_{50} این فراکسیون ها نشان می دهد که عصاره متانولی گیاه دارچین با LC_{50} برابر (۷۷/۸۱ - ۳۹/۶۱) ۴۵/۱۶ میکروگرم در میلی لیتر دارای بیشترین سمیت سلولی روی لارو آرتیمیا بوده است و کمترین فعالیت مربوط به عصاره آبی این گیاه می باشد [$LC_{50} = (۸۲۵/۰۲ - ۴۲۱/۷) = ۴۹۳/۹۲$ میکروگرم در میلی لیتر] اسانس گیاه با این روش به دلیل

فراریت بالا قابل ارزیابی نمی باشد. در تمام آزمایش ها میزان مرگ و میر در لوله کنترل صفر بوده است.

نتایج سمیت سلولی ریزم زنجبیل

نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی عصاره های مختلف گیاه زنجبیل روی لارو آرتیمیا در نمودار شماره ۲ آمده است. مقایسه LC_{50} این فراکسیون ها نشان می دهد که عصاره متانولی و پتروئوم اتر زنجبیل با LC_{50} به ترتیب برابر با (۴۸/۰۰ - ۱۶/۵۰) و ۲۸/۳۱ و (۵۲/۸۹ - ۲۰/۰۲) میکروگرم در میلی لیتر دارای بیشترین سمیت سلولی روی لارو آرتیمیا بوده اند که در مقایسه با شاهد مثبت (دی کرومات پتاسیم) سمیت سلولی قابل توجهی می باشد ($LC_{50} = ۲۳/۲۹$ میکروگرم در میلی لیتر). عصاره آبی گیاه دارای کمترین سمیت می باشد. در تمام آزمایش ها میزان مرگ و میر در لوله کنترل صفر بوده است.

نتایج آزمایش های سمیت سلولی گیاهان به روش محلول

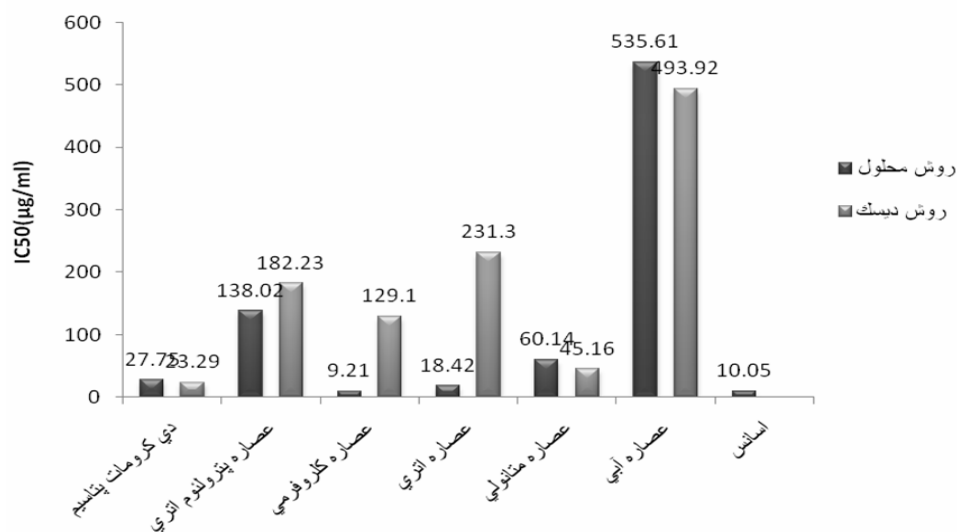
نتایج سمیت سلولی اسانس و عصاره های مختلف پوست دارچین

در روش محلول، بیشترین سمیت سلولی فراکسیون های گیاه به ترتیب مربوط به عصاره کلروفرمی، اسانس و عصاره اتری [LC_{50} برابر با (۱۲/۱۳ - ۶/۷۰) ۹/۲۱ و (۲۱/۳۶ - ۱۴/۳۵) ۱۸/۴۲ میکروگرم در میلی لیتر] می باشد که همه در مقایسه با دی کرومات پتاسیم ($LC_{50} = ۲۷/۷۵$ میکروگرم در میلی لیتر) دارای سمیت سلولی بیشتری می باشند (نمودار شماره ۱). کمترین سمیت در این روش مربوط به عصاره آبی گیاه می باشد [$LC_{50} = (۶۰۱/۹۴ - ۴۷۲/۳۵) = ۵۳۵/۶۱$ میکروگرم در میلی لیتر].

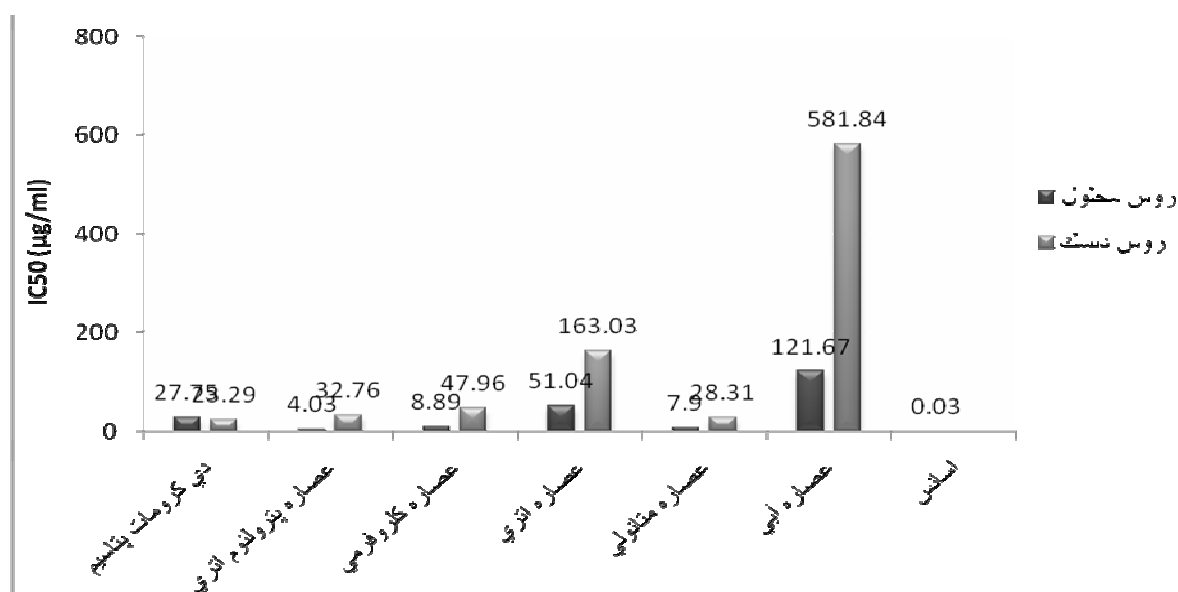
جدول شماره ۱- میزان درصد اسانس و عصاره های حاصل از پوست دارچین و ریزوم زنجبیل

شماره	نام گیاه	اسانس گیاه (v/w)	عصاره پتروئوم اتری (w/w)	عصاره کلروفرمی (w/w)	عصاره دی اتیل اتری (w/w)	عصاره متانولی (w/w)	عصاره آبی (w/w)
۱	دارچین	۱/۶	۱۷/۳۴	۳/۹۲	۲/۲	۱۴/۴۱	۸/۵۵
۲	زنجبیل	۰/۶۷	۱/۸۴	۱/۹۲	۶/۹	۱۳/۷۶	۱/۹۵





نمودار شماره ۱- نتایج مربوط به LC_{50} عصاره‌های مختلف پوست دارچین با آزمون سمیت لارو میگوی آب شور به روش دیسک و محلول



نمودار شماره ۲- نتایج مربوط به LC_{50} عصاره‌های مختلف ریزم زنجبیل با آزمون سمیت لارو میگوی آب شور به روش دیسک و محلول

میلی لیتر می باشد که همه فعال تر از شاهد مثبت دی کرومات نشان داده‌اند (نمودار شماره ۲). کمترین فعالیت مربوط به عصاره آبی می باشد $[LC_{50} = (165/56 - 165/56) / (165/56 - 165/56)]$ ۱۲۱/۶۷ میکروگرم در میلی لیتر.

نتایج سمیت سلولی اسانس و عصاره‌های مختلف ریزم زنجبیل همه فراکسیون‌های گیاه زنجبیل دارای سمیت سلولی قابل مقایسه با شاهد مثبت می باشند. بیشترین فعالیت مربوط به اسانس، عصاره‌های پتروئتوم اتري، متانول و کلروفومی گیاه با LC_{50} به ترتیب $(0/02 - 0/05)$ ، $0/03$ ، $(6/87 - 2/30)$ ، $4/03$ ، $(12/87 - 4/73)$ و $7/90$ و $(14/21 - 5/43)$ میکروگرم در



$LC_{50} = (0.05 - 0.02) / 0.03$ میکروگرم در میلی‌لیتر
(نمودار شماره ۴).

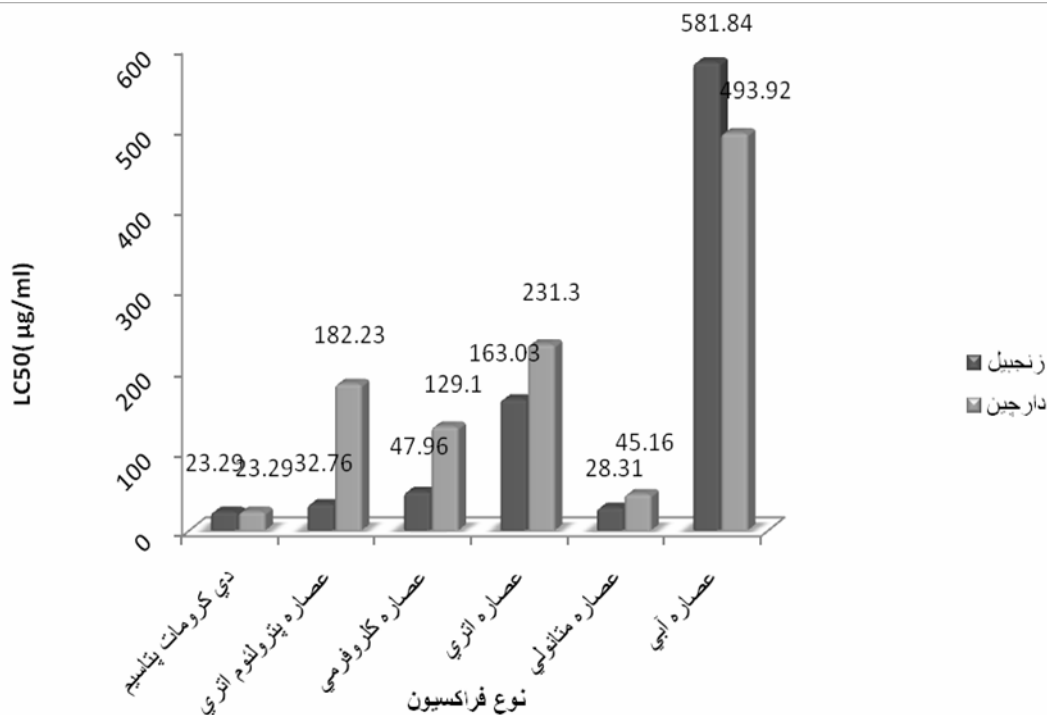
بحث و نتیجه‌گیری

دستیابی به ترکیبات ضدسرطان از منابع مختلف نیازمند انجام آزمون‌های غربالگری سمیت سلولی می‌باشد. یکی از معتبرترین آزمون‌ها برای سنجش این سمیت، آزمون سمیت لارو میگوی آب شور^۱ می‌باشد. در این آزمون توانایی مهار رشد یا کشتن سلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود. یکی از مزایای این روش آن است که اگر مواد فعال با هر مکانیسمی تشخیص داده شوند، تنها عواملی قابل ردیابی هستند که توانایی ورود به سلول را داشته باشند یا بتوانند دیواره سلولی را تخریب نمایند [۲].

¹ BSL

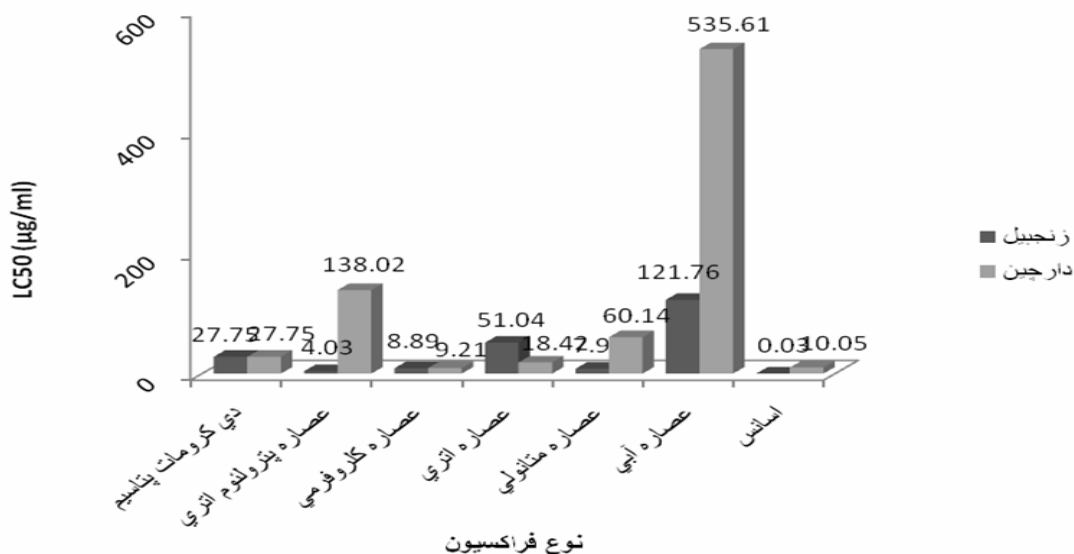
مقایسه سمیت سلولی فراکسیون‌های گیاهان زنجبیل و دارچین در آزمون سمیت لارو میگوی آب شور در روش دیسک
مقایسه LC_{50} فراکسیون‌های مختلف تهیه شده از دو گیاه زنجبیل و دارچین در آزمون سمیت لارو میگوی آب شور به روش دیسک نشان می‌دهد که همه فراکسیون‌های مورد مطالعه گیاه زنجبیل به جز عصاره آبی، دارای سمیت بیشتری نسبت به انواع آن در گیاه دارچین می‌باشند (نمودار شماره ۳).

مقایسه سمیت سلولی فراکسیون‌های گیاهان زنجبیل و دارچین در آزمون سمیت لارو میگوی آب شور در روش محلول
در روش محلول، به جز در مورد عصاره اتری، بقیه فراکسیون‌های گیاه زنجبیل سمیت بیشتری روی لارو آرتیمیا نشان داده‌اند. بیشترین سمیت سلولی بین فراکسیون‌های مورد مطالعه دو گیاه مربوط به اسانس زنجبیل می‌باشد



نمودار شماره ۳- مقایسه نتایج مربوط به LC_{50} فراکسیون‌های مختلف پوست دارچین و ریزوم زنجبیل با آزمون سمیت لارو میگوی آب شور به روش دیسک





نمودار شماره ۴- مقایسه نتایج مربوط به LC_{50} فراکسیون‌های مختلف پوست دارچین و ریزم زنجبیل با آزمون سمیت لارو میگوی آب شور به روش محلول

در این تحقیق دو گیاه ادویه‌ای پرمصرف، پوست دارچین و ریزم زنجبیل، برای اولین بار با روش سمیت لارو میگوی آب شور مورد سنجش قرار گرفته‌اند. به این منظور اسانس و عصاره‌هایی با قطبیت متفاوت با حلال‌های پتروئتوم اتر، کلروفورم، دی اتیل اتر، متانول و آب به ترتیب از این گیاهان تهیه شد و سمیت سلولی آن‌ها با استفاده از آزمون سمیت لارو میگوی آب شور با دو روش دیسک و محلول ارزیابی شد. نتایج به دست آمده با آزمون آماری Probit analysis مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل نشان می‌دهد که انجام آزمون با روش محلول نسبت به روش دیسک نتایج دقیق‌تری از فعالیت عصاره‌های غیرقطبی دست می‌دهد که احتمالاً به دلیل عدم حلالیت و توزیع مناسب عصاره‌ها و در نتیجه عدم ایجاد غلظت مناسب و یکنواخت از عصاره در نمونه مورد آزمایش می‌باشد که توانایی اثر بر ارگانسیم را به میزان چشمگیری کاهش داده و ایجاد پاسخ‌های غیردقیق می‌کند. این مشکل در روش محلول وجود ندارد. نتایج به دست آمده از بررسی فراکسیون‌ها در روش محلول نشان داده است که فراکسیون‌های مختلف گیاه دارچین همگی دارای سمیت قابل توجهی می‌باشند که بیشترین سمیت مربوط به اسانس، عصاره کلروفومی و اتری گیاه می‌باشد [LC_{50} برابر با

در این تحقیق دو گیاه ادویه‌ای پرمصرف، پوست دارچین و ریزم زنجبیل، برای اولین بار با روش سمیت لارو میگوی آب شور مورد سنجش قرار گرفته‌اند. به این منظور اسانس و عصاره‌هایی با قطبیت متفاوت با حلال‌های پتروئتوم اتر، کلروفورم، دی اتیل اتر، متانول و آب به ترتیب از این گیاهان تهیه شد و سمیت سلولی آن‌ها با استفاده از آزمون سمیت لارو میگوی آب شور با دو روش دیسک و محلول ارزیابی شد. نتایج به دست آمده با آزمون آماری Probit analysis مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل نشان می‌دهد که انجام آزمون با روش محلول نسبت به روش دیسک نتایج دقیق‌تری از فعالیت عصاره‌های غیرقطبی دست می‌دهد که احتمالاً به دلیل عدم حلالیت و توزیع مناسب عصاره‌ها و در نتیجه عدم ایجاد غلظت مناسب و یکنواخت از عصاره در نمونه مورد آزمایش می‌باشد که توانایی اثر بر ارگانسیم را به میزان چشمگیری کاهش داده و ایجاد پاسخ‌های غیردقیق می‌کند. این مشکل در روش محلول وجود ندارد. نتایج به دست آمده از بررسی فراکسیون‌ها در روش محلول نشان داده است که فراکسیون‌های مختلف گیاه دارچین همگی دارای سمیت قابل توجهی می‌باشند که بیشترین سمیت مربوط به اسانس، عصاره کلروفومی و اتری گیاه می‌باشد [LC_{50} برابر با



آزمون باشد. از سمیت سلولی دارچین گزارشی در منابع وجود ندارد اما بررسی‌ها نشان می‌دهد که ترکیب اصلی اسانس این گیاه یعنی سینام آلدیدید دارای سمیت سلولی می‌باشد [۲۱]. گونه‌های دیگری از جنس *Cinnamomum* دارای سمیت می‌باشند [۲۶، ۲۷]. گزارش‌های مختلفی از سمیت و یا اثر محافظتی زنجبیل در منابع وجود دارد [۲۸، ۲۹]، اما تا به حال این گیاه با روش آزمون سمیت لارو میگوی آب شور مورد ارزیابی قرار نگرفته است. علاوه بر این در مورد سمیت سلولی اسانس زنجبیل و عصاره‌های مختلف دو گیاه گزارش جامعی وجود ندارد و این برای نخستین مرتبه است که اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه در یک آزمون واحد از نظر سمیت سلولی مورد بررسی قرار می‌گیرند. لذا با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، لازم است که سمیت سلولی این گیاهان با روش‌های دیگر نیز مورد سنجش قرار گیرد و در صورت تایید این پاسخ‌ها نسبت به ارایه توصیه‌های ایمنی و محدودیت مصرف این ادویه‌ها اقدام جدی صورت گیرد. ضمن این‌که با انجام جداسازی و خالص کردن فراکسیون‌های فعال در این آزمون امید است که بتوان به ترکیبات با سمیت سلولی فعال جدید دست پیدا کرد که این موارد نیز در دست اقدام می‌باشد.

وجود ترکیباتی مانند جینجرول وزینجیرن می‌تواند عامل سمیت سلولی باشد. گزارش‌هایی از اثرات ضدتومور جینجرول و زینجیرن موجود در اسانس گیاه در منابع وجود دارد [۲۴]. کمترین سمیت مربوط به عصاره‌های آبی گیاهان می‌باشد که این خود نشان می‌دهد که فراکسیون‌های غیرقطبی گیاه دارای سمیتی بیشتر از انواع غیرقطبی می‌باشند علی‌رغم این‌که عصاره‌های آبی این گیاهان دارای کمترین سمیت سلولی بوده‌اند، اما با توجه اینکه در این آزمون ترکیبات با LD₅₀ کمتر از ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، دارای سمیت سلولی محسوب می‌شوند، بنابراین باید اذعان کرد که حتی عصاره‌های آبی این گیاهان نیز دارای سمیت سلولی قابل توجهی می‌باشند. تعدادی از ترکیبات با سمیت سلولی طبیعی که با این روش مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند در جدول شماره ۲ ذکر شده است. در بعضی از منابع اشاره شده است که ترکیبات با LC₅₀ کمتر از ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان مواد دارای سمیت سلولی گزارش شده‌اند [۲۵]. با توجه به اینکه در مصرف معمول این گیاهان در رژیم غذایی، عملیات مقدماتی برای جداسازی فراکسیون‌های غیرقطبی این گیاهان انجام نمی‌شود و معمولاً استفاده از حرارت می‌تواند باعث افزایش استخراج ترکیبات مختلف گیاه شود، می‌توان پیش‌بینی کرد که سمیت سلولی این ادویه‌ها در فرم عصاره آبی بیش از مقدار گزارش شده در این

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از آزمون لارو میگوی آب شور فرآورده‌های طبیعی [۲]

فرآورده طبیعی	LC ₅₀ (µg/ml)
پودوفیلوتوکسین	۲/۴
بربرین کلرید	۲۲/۵
استرکین سولفات	۷۷/۵
دیژیتالین	۱۵۱
کینیدین سولفات	۲۱۵
افدرین سولفات	۲۱۵
استروفانتین	۲۱۵
آربوتین	۲۷۵
کافئین	۳۰۶
تیمول	۵۱۴
آتروپین سولفات	۶۸۶
سانتونین	۱۰۰۰>



تشکر و قدردانی

مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت مالی این مرکز اعلام می‌دارند.

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمان می‌باشد که بدین وسیله نویسندگان

منابع

1. Abdullaef FI, Rivera Luna R, Roitenburd Belacortu V and Espinosa Aguirre J. Pattern of childhood cancer mortality in Mexico. *Arch. Med. Res.* 2000; 31: 526 - 31.
2. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen, LB, Nicholas DE and Mclaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982; 45: 31 - 4.
3. Sokmen A. Antiviral and cytotoxicity activities of extracts from the cell cultures and respective parts of some Turkish medicinal plants. *Turk J. Biol.* 2001; 25: 343 - 50.
4. Senhaji O, Faid M, Kalalou I . Inactivation of Escherichia coli O157:H7 by essential oil from *Cinnamomum zeylanicum*. *Braz J Infect Dis.* 2007; 11: 234 - 6.
5. Verspohl EJ, Bauer K, Neddermann E. Antidiabetic effect of *Cinnamomum cassia* and *Cinnamomum zeylanicum* in vivo and in vitro. *Phytother Res.* 2005; 19: 203 - 6.
6. Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. *J Agric Food Chem.* 2003; 16: 4344 - 8.
7. Ranasinghe L, Jayawardena B, Abeywickrama K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Lett Appl Microbiol.* 2002; 35 (3): 208 - 11.
8. Angmor JE, Dicks DM, Evans WC, Santra DK. Studies on *Cinnamomum zeylanicum*. *Planta Med.* 1972; 21 (4): 416 - 20.
9. Shah AH, Al-Shareef AH, Ageel AM, Qureshi S. Toxicity studies in mice of common spices, *Cinnamomum zeylanicum* bark and *Piper longum* fruits. *Plant Foods Hum Nutr.* 1998; 52 (3): 231 - 9.
10. Al-Amin ZM, Thomson M, Al-Qattan KK, Peltonen-Shalaby R and Ali M, Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats, *Br. J. Nutr.* 2006; 96: 660 – 6.
11. Boone SA and Shields KM, Treating pregnancy-related nausea and vomiting with ginger, *Ann. Pharmacother.* 2005; 39: 1710 – 3.
12. Chaiyakunapruk N, Kitikannakorn N, Nathisuwan S, Leeprakobboon Kand Leelasattagool C, The efficacy of ginger for the prevention of postoperative nausea and vomiting: a meta-analysis, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006; 194: 95 – 9.
13. Chrubasik S, Pittler MH and Roufogalis BD, *Zingiberis immer*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles, *Phytomedicine* 2005; 12: 684 – 701.
14. Ficker C, Smith ML, Akpagana K, Gbeassor M, Zhang J, Durst, Assabgui R and Arnason JT, Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger, *Phytother. Res.* 2003; 17: 897 – 902.
15. Ghayur MN and Gilani AH, Ginger lowers blood pressure through blockade of voltage-dependent calcium channels, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2005; 45: 74 – 80.
16. Huang GC, Chien TY, Chen LG, Wang CC. Antitumor effects of zerumbone from *Zingiber zerumbet* in P-388D1 cells in vitro and in vivo. *Planta Med.* 2005; 71 (3): 219 - 24.



17. Han AR, Min HY, Windono T, Jeohn GH, Jang DS, Lee SK, Seo EK. A new cytotoxic phenylbutenoid dimer from the rhizomes of *Zingiber cassumunar*. *Planta Med.* 2004; 70 (11): 1095 - 7.
18. Trease GE, Evans WC. Pharmacognosy. Bailliere Tindall Press, London. 2001.
19. Samsam-Shariat H. Drug analysis by chromatography and microscopy. Roosbehan Pub., Tehran. 2003, pp: 172, 186.
20. Sam TW, Colegate SM and Molyneux RJ. Bioactive natural products, CRC Press Inc, USA. 1993, pp: 441 - 2.
21. Swales NJ and Caldwell J. Studies on trans-cinnamaldehyde II: Mechanisms of cytotoxicity in rat isolated hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 1996; 10: 37 - 42.
22. Kim JS, Lee SI, Park HW, Yang JH, Shin TY, Cytotoxic components from the dried rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. *Arch. Pharm. Res.*, 2008; 31: 415 - 8.
23. Wei QY, Ma J-P, Cai YJ, Yang L and Liu Z-L. Cytotoxic and apoptotic activities of diarylheptanoids and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 102: 177 - 84.
24. Chrubasic S, Pittler MH, Roufogalis BD. Zingiberis rhizome: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profile. *Phytomedicine* 2005; 12: 684 - 701.
25. Wanyoike GN, Chhabra CC, Lang'at-Thoruwa CC and Omar SA. Brine shrimp toxicity and antiplasmodial activity of five Kenyan medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90: 129 - 33.
26. Rao YK, Fang SH and Tzeng YM, Evaluation of the anti-inflammatory and anti-proliferation tumoral cells activities of *Androea camphorata*, *Cordyceps sinensis*, and *Cinnamomum osmophloeum* bark extracts. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 114 (1): 78 - 85.
27. Horgen FD, Edrada RA, Reyes G, Agcaoili F, Madulid DA, Wongpanich V, Angerhofer CK, Pezzuto JM, Soejarto DD and Farnsworth NR. Biological screening of rain forest plot trees from Palawan Island (Philippines). *Phytomedicine* 2001; 8: 71 - 81.
28. Wei QY, Ma JP, Cai YJ, Yang L and Liu ZL, Cytotoxic and apoptotic activities of diarylheptanoids and gingerol-related compounds from the rhizome of Chinese ginger. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 102 (2): 177 - 84.
29. Amin A, Hamza AA. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J. Androl.* 2006; 8 (5): 607 - 12.

