بررسي اثر آنتي‌اكسيدان اسانس و عصاره گياه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) بر سلول‌هاي كبدي موش صحرايي

صديقه عسگري[1*]، غلامعلي نادري[2]، نصراله بشردوست[3]، زهره اطمينان[4]

۱- استاديار فارماكوگنوزي، مركز تحقيقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان
۲- استاديار بيوشيمي، مركز تحقيقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان
۳- دانشيار اپيدميولوژي و آمار حياتي، دانشكده بهداشت، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان
٤- داروساز، مركز تحقيقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان
*آدرس مكاتبه: دانشگاه علوم پزشكي اصفهان، مركز تحقيقات قلب و عروق
تلفن: ٤٤٦٠٧٨٧ (۰۳۱۱)، ٤٤٦٠٨٠٧ (۰۳۱۱) نمابر: ٤٤٥٩٠٢٣ (۰۳۱۱)
پست الكترونيك: Isfcarvasrc@hotmail.com

چكيده

راديكال‌هاي آزاد مولكول‌هاي فعال شده‌اي هستند كه ممكن است منشا داخلي يا خارجي داشته باشند. يكي از مهمترين اثرات تخريبي راديكال‌هاي آزاد شروع پراكسيداسيون ليپيد مي‌باشد كه به تخريب غشاي سلول منجر مي‌شود. پراكسيداسيون ليپيد باعث اختلال در سازمان‌بندي غشا و تغيير فعاليت آنزيم‌هاي وابسته به آن و پروتئين‌هاي ديگر مي‌شود كه همراه با آزاد كردن راديكال‌هاي هيدروپراكسيل وآلكوپراكسيل به‌صورت بالقوه براي سلول مضر مي‌باشد. در اين پروژه خواص آنتي‌اكسيدان اسانس و عصاره گياه بابونه و اسانس خالص آزولن مورد بررسي قرار گرفتند. جهت القا پراكسيداسيون ليپيد در سلول‌هاي كبدي از ترشيوبوتيل هيدروپراكساید (t-BH) استفاده شد و غلظت‌هاي مختلفي از اسانس و عصاره مورد نظر در مجاورت آنها قرار گرفتند. سپس ميزان مالون دي آلديد (MDA) توليد شده با روش اسپكتروفتومتريك در طول موج ٥٣٥ *nm* اندازه‌گيري شد. كاهش توليد MDA نشان دهنده مهار پراكسيداسيون ليپيد و خاصيت آنتي‌اكسيدان مي‌باشد. فعاليت آنزيم‌هاي لاكتات دهيدروژناز (LDH) و آسپارتات آمينو ترانسفراز (AST)، نيز در مجاورت تركيبات فوق مورد سنجش قرار گرفتند. اين آنزيم‌ها به عنوان شاخص‌هاي تعيين ميزان پراكسيداسيون ليپيد هستند و كاهش فعاليت آنها نمادي از قدرت مهاري اين تركيبات بر پراكسيداسيون ليپيد مي‌باشد. ميزان مهار در بالاترين غلظت به كار رفته شده در مورد اسانس بابونه (١٠ *µl/ml*) ٥٨ درصد، آزولن (٥٠ *µg/ml*) ٣٥/٤ درصد و عصاره بابونه (٥٠ *µg/ml*) ١٦ درصد بودند. خاصيت آنتي‌اكسيدان با افزايش غلظت افزايش داشت. نتايج حاصل از اندازه‌گيري توليد MDA و فعاليت آنزيم‌هاي AST و LDH ارتباط مستقيمي با يكديگر داشتند. نتايج حاصل بيانگر اثر آنتي‌اكسيدان گياه بابونه مي‌باشد و بنابراين مي‌توان با انجام تحقيقات گسترده به روش درون‌تني (*in vivo*) از اين گياه به منظور پيشگيري و يا درمان بيماري‌هاي مختلف كه پاتوژنز آنها فعال شدن راديكال‌هاي آزاد مي‌باشد و يا همچنين به عنوان ماده افزودني در صنايع غذايي استفاده نمود.

گل واژگان: آنتي‌اكسيدان، بابونه، راديكال‌هاي آزاد، پراكسيداسيون ليپيد، سلول‌هاي كبدي

مقدمه

راديكال‌هاي آزاد ملكول‌هاي فعال‌شده‌اي هستند كه در همه جا حضور دارند و عمدتاً از اكسيژن به دست مي‌آيند. اين مولكول‌ها به طور طبيعي در سلول‌هاي زنده توليد شده و محصولات آنها در حضور مولكول‌هاي گزنوبيوتيك و يا در شرايط پاتولوژيك افزايش پيدا مي‌كنند. راديكال‌هاي آزاد به دليل داشتن فعاليت بيش از حد روي اكثر مولكول‌هاي بيولوژيكي اثر مي‌گذارند [۱]. راديكال‌هاي آزاد طي مراحل بيوشيميايي (در طي متابوليسم طبيعي بدن) توليد مي‌شوند [۲ و ۳] و ممكن است منشا خارجي داشته باشند [۳]. به‌طور كلي منشا استرس اكسيداتيو مواد اگزوژن و آندوژن مي‌باشند [٤ و ٥]. در صورت توقف روندهاي كنترل، راديكال‌هاي آزاد مي‌توانند براي سلول و در نتيجه بافت بسيار مخرب باشند. به دنبال استرس اكسيداتيو تعادل بين پراكسيدان‌ها- آنتي‌اكسيدان‌ها به هم خورده و به نفع پراكسيدان‌ها تغيير مي‌يابد. راديكال‌هاي آزاد توانايي واكنش با زنجيرهاي جانبي اسيدهاي چرب غير اشباع داراي چند باند مضاعف Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) در ليپيدها، گروه‌هاي آمين پروتئين‌ها، بازها و نيز باقيمانده‌هاي قندي نوكلئوتيدها و اسيدهاي نوكلئيك را دارند. اين واكنش‌ها در پاتوژنز بسياري از بيماري‌ها خصوصاً آترواسكلروز نقش به سزايي دارند [۱ و ٦].

يكي از مهم‌ترين اثرات تخريبي راديكال‌هاي آزاد شروع پراكسيداسيون ليپيد مي‌باشد كه به تخريب غشاي سلول منجر مي‌شود. اسيدهاي چرب از تركيبات مهم غشاهاي بيولوژي هستند كه به عنوان قالب‌هاي ساختماني براي اجزاي مهم تشكيل دهنده غشا مانند فسفوليپيدها، گليكوليپيدها و تري‌آسيل گليسريدها مي‌باشند. اسيدهاي چرب به ويژه خواص مطلوبي در سياليت غشا دارند، اما اين مولكول‌هاي غير اشباع در مقابل حمله پراكسيدان‌ها بسيار آسيب‌پذير و حساس مي‌باشند. اكسيداسيون اسيدهاي چرب غير اشباع منجر به كاهش سياليت غشا و از بين رفتن ساختمان و عملكرد آن مي‌شود [۷]. تخريب پراكسيداتيو اسيدهاي چرب غير اشباع موجود در غشا در پاتوژنز بسياري از بيماري‌ها دخالت دارد. پراكسيداسيون ليپيد باعث اختلال در سازمان‌بندي غشا و تغيير فعاليت آنزيم‌هاي وابسته به آن و پروتئين‌هاي ديگر مي‌شود كه همراه با آزاد كردن راديكال‌هاي هيدروپراكسيل و آلكوپراكسيل به صورت بالقوه براي سلول سمي مي‌باشد [۸].

آنتي‌اكسيدان‌ها تركيباتي هستند كه در مقادير كم مي‌توانند غشاهاي سلولي و تركيبات مختلف موجود زنده را در مقابل اكسيدان‌ها حفظ كنند [٦]. تثبيت دوباره تعادل بين مواد پراكسيدان و آنتي‌اكسيدان به سلول اجازه مي‌دهد تا عمل فيزيولوژيك طبيعي خود را مجدداً به دست آورد [۹].

آنتي‌اكسيدان‌ها با كم كردن اثر راديكال‌هاي آزاد در بيماري‌هايي مثل سرطان، پيري (با ايجاد پايداري ژنتيكي) [۱۱-۱۰ و ۱۳] تأثير گذاشته و علايم آسيب‌هاي مغزي [۸]، كاتاراكت، رتينوپاتي ديابت [۱] را كاهش مي‌دهند. به علاوه گزارش شده است كه آنتي‌اكسيدان‌ها در بهبودي آسيب‌هاي قلبي در انفاركتوس و آريتمي‌هاي قلبي مؤثربوده، ترومبوز شريان كرونر را كاهش مي‌دهند [۱٥] و اثر حفاظتي بر عليه HIV دارند [۱٦].

با توجه به گزارش‌هاي متعدد مبني بر اين كه تركيبات طبيعي از جمله اسانس‌ها و عصاره بعضي از گياهان داراي خاصيت آنتي‌اكسيدان مي‌باشند [۷، ۱۲ و ۱٤]، و نيز با توجه به اينكه اكثر تركيبات گياهي در مقايسه با تركيبات شيميايي در مقادير كنترل شده عوارض جانبي و سمي كمتري دارند، اثرات اسانس و عصاره بابونه و آزولن (بيشترين جز تشكيل دهنده اسانس بابونه) مورد بررسي قرار گرفتند. پراكسيداسيون ليپيدها به تغيير ساختمان غشاهاي سلولي منجر مي‌شود و فعاليت آنزيم‌هاي

متصل به غشا و يا درون سلولي و همچنين ساير پروتئين‌ها دچار تغيير مي‌شوند. ترشيوبوتيل هيدرواكسايد (t-BH) در سلول‌هاي كبدي تازه تهيه شده سبب اكسيداسيون اسيدهاي چرب غير اشباع غشا مي‌شود و پس از ايجاد مالون دي آلديد (MDA) و اختلال در غشا سبب نشت لاكتات دهيدروژناز (LDH) و آسپارتات آمينوترانسفراز (AST) مي‌گردد.

در اين تحقيق تاثير تركيبات طبيعي ذكر شده بر روي مهار اكسيداسيون سلول‌هاي كبدي و اثر آنها بر فعاليت آنزيم‌هاي LDH و AST و توليد MDA مورد بررسي قرار گرفتند.

مواد و روش كار

۱- حيوانات آزمايشگاهي مورد استفاده

در اين تحقيق از موش صحرايي نر (rat) واريته Albinus نژاد Wistar به وزن تقريبي ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم خريداري شده از انستيتو پاستور تهران استفاده شد.

۲- جمع‌آوري گياه مورد استفاده

در ارديبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۷۷ گل‌هاي بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) از باغ گياهان دارويي دانشگاه اصفهان جمع‌آوري و سپس در سايه و به كمك جريان هوا خشك گرديد. از گياه فوق نمونه هرباريومي تهيه شد و در بخش گياه شناسي گروه زيست شناسي دانشگاه اصفهان مورد شناسائي و تأييد قرار گرفت.

۳- استخراج اسانس

استخراج اسانس با استفاده از دستگاه اسانس‌گيري مدل BP انجام گرفت. ۵۰ گرم از پودر گياه مورد آزمايش داخل فلاسك تقطير قرار داده شد و سپس حرارت داده به گونه‌اي كه سرعت تقطير به ۲ تا ۳ ميلي‌ليتر در دقيقه رسيد. پس از تمام شدن زمان معين تقطير (حدود ٤ ساعت) حرارت قطع گرديد و پس از ۱۰ دقيقه اسانس حاصل جمع‌آوري و در دماي $-20^{\circ}C$ نگهداري شد [۱۷].

٤- استخراج تركيبات پلي‌فنليك

۵۰ گرم پودر گياه خشك شده را در يك ارلن ۱۰۰۰ ميلي‌ليتر وارد كرده و به آن حدود ٤۰۰ ميلي‌ليتر اتانل ۷۰ درجه اضافه گرديد. پس از ۱۲ ساعت خيساندن، آن را صاف نموده و به تفاله باقيمانده ۳۰۰ ميلي‌ليتر اتانل ۷۰ درجه افزوده شد و به مدت ٦ ساعت بر روي دستگاه تكان دهنده قرار داده شد. پس از صاف كردن، حاصل صافي به دست آمده را به محلول استخراج شده قبلي اضافه نموده و توسط دستگاه تقطير در خلا به $\frac{1}{3}$ حجم اوليه رسانده شد. به كمك دكانتور و توسط كلروفرم (۵ مرتبه، هر بار به مقدار ۲۰ ميلي‌ليتر) مواد كم پلار مزاحم مثل كلروفيل، چربي‌ها و ترپن‌ها را از عصاره خارج نموده و نهايتاً لايه آبكي باقيمانده كه حاوي تركيبات پلي‌فنليك بود به كمك دستگاه تقطير در خلا خشك گرديد و جهت تحقيقات بعدي مورد استفاده قرار گرفت [۱۸].

۵- پرفيوژن كردن كبد و تهيه سلول‌هاي كبدي

در ابتدا موش‌هاي صحرايي توسط كلروفرم بيهوش شدند و سپس سلول‌هاي كبدي جدا گرديد [۱۹]. از آنجا كه جهت آزمايش‌ها بايد حداقل ۹۰ درصد سلول‌ها سالم باشند، سلول‌هاي به دست آمده توسط بافر انكوباسيون سه بار شسته شدند و شمارش گرديدند [۲۰]. در اين روش سوسپانسيون سلولي شامل تعداد $3-5\times10^{8}$ سلول و با قابليت حيات بيش از ۹۰ درصد حاصل شد. سپس سوسپانسيون سلولي به دست آمده توسط بافر انكوباسيون به نحو مناسب رقيق شد تا غلظت 10^{6} سلول در هر ميلي‌ليتر حاصل گرديد. اين محلول جهت آزمايش‌هاي بعدي روي يخ نگهداري گرديد.

٦- بررسي اثر آنتي‌اكسيدان اسانس بابونه

به منظور بررسي اثر آنتي‌اكسيدان اسانس بابونه ابتدا رقت‌هاي $\frac{1}{10}$، $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{20}$ از اسانس در ۱/۲ ميلي‌ليتر دي‌متيل سولفوكسيد (DMSO) تهيه شد. سپس از رقت‌هاي تهيه شده به لوله‌هاي آزمون (حاوي ۱/۹ ميلي‌ليتر سوسپانسيون سلولي تهيه شده) افزوده شدند. پس از آن ۲۰ ميكروليتر محلول t-BH به لوله‌هاي مذكور اضافه و به مدت ۳۰ دقيقه انكوبه گرديدند. ميزان جذب لوله‌هاي آزمون و شاهد در طول موج ۵۳۵ nm توسط دستگاه اسپكتروفتومتر شيمادزو اندازه‌گيري گرديد. همچنين ميزان آنزيم‌هاي LDH و AST با استفاده از كيت‌هاي مربوطه اندازه‌گيري شدند.

۷- بررسي اثر آنتي‌اكسيدان عصاره بابونه

در اين آزمايش ابتدا از عصاره بابونه غلظت ۱ mg/ml در DMSO تهيه و سپس رقت‌هاي $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{5}$ مقدار ۰/۲ ميلي‌ليتر از عصاره تهيه شدند. از رقت‌هاي تهيه شده به لوله‌هاي آزمون (حاوي ۱/۹ ميلي‌ليتر سوسپانسيون سلولي تهيه شده) افزوده شدند. پس از آن t-BH و ۳۰ دقيقه انكوباسيون ميزان پراكسيداسيون ليپيد اندازه‌گيري و درصد مهار محاسبه گرديد.

۸- بررسي اثر آنتي‌اكسيداني آزولن

در اين آزمايش چون اسانس كريستاليزه مي‌باشد، ابتدا غلظت ۱ mg/ml در DMSO تهيه و سپس رقت‌هاي $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{5}$ مقدار ۰/۲ ميلي‌ليتر از عصاره تهيه شدند و از رقت‌هاي تهيه شده به لوله‌هاي آزمون (حاوي ۱/۹ ميلي‌ليتر سوسپانسيون سلولي تهيه شده) افزوده شدند. پس از آن t-BH و ۳۰ دقيقه انكوباسيون ميزان پراكسيداسيون ليپيد اندازه‌گيري و درصد مهار محاسبه گرديد.

رنگ اسانس حاصل از سر شاخه‌هاي گلدار بابونه آبي رنگ و سبك‌تر از آب و ميانگين ميزان اسانس به دست آمده از گياه بابونه ml /۱۰۰g ۰/۹۳ و ميانگين ميزان عصاره بابونه g/۱۰۰g ۱۲/۸ مي‌باشد.

جدول ۱- تأثير اسانس بابونه بر ميزان مالون دي آلديد (MDA) توليد شده توسط ترشيوبوتيل هيدروپراكساید (t-BH)

حجم اسانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	MDA nm/10^6 cell		درصد مهار
	نمونه مورد آزمايش	كنترل	
۱۰	۲۲۱۸/۳* ± ۹/۸۶	۵۲۸۰/۰ ± ٤/١٤	۵۸/۰
۵	۲٤۸۷/٦* ± ۹/۱۳	٤۲۵۱/٦ ± ٦/۰۹	٤۱/۵
۲/۵	۱۹۹۲/۳* ± ۲/۲٦	۳۱۲۱/۳* ± ۳/۷٦	۳٦/۰

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه كنترل را نشان مي دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۲- تأثير اسانس بابونه بر آزاد شدن آنزيم‌هاي LDH و AST۲ در سلول‌هاي كبدي اكسيد شده با ترشيوبوتيل هيدروپراكساید (t-BH)

حجم اسانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	AST IU/10^{6}cell		درصد كاهش فعاليت آنزيم	LDH B-Bu/10^6 cell		درصد كاهش فعاليت آنزيم
	نمونه مورد آزمايش	كنترل		نمونه مورد آزمايش	كنترل	

۱۰	± ۸/۲ ۱۵۲۰*	± ۷/۷ ۲۰۱۰	-۲٤/۳	± ٤/۲ ۹۰۳*	± ۹/۳ ۱۳٤٦	-۳۲/۹
٥	۱۳۱۰* ± ¼	± ۹/۷ ۱٥۱٤	-۱۳/٤	± ۲/۸ ۸٦۰*	± ٥/٥ ۱۰۱۱	-۱٤/۹

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه کنترل را نشان مي‌دهد (P<۰/۰٥).

جدول ۳- تأثير عصاره بابونه بر ميزان مالون دي آلديد (MDA) ايجاد شده توسط ترشيوبوتيل هيدروپراکساید (t-BH)

حجم اسانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	MDA nm/10^6 cell		درصد مهار
	نمونه مورد آزمايش	کنترل	
٥۰	± ۱۳/٦۰ ۷۷۹/۳*	± ۱۳/۰۰ ۹۲۸/۰۰	۱٦/۰
۱۰	± ٤/۰٤ ۸۳۸/۳*	± ۱۰/۲٦ ۹۰۳/۰۰	۷/۲
٥	± ۱۰/۱٤ ۸٥۱/۰*	± ۱۷/۳۸ ۸۸۱/٦٦	۳/٤

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه کنترل را نشان مي‌دهد (P<۰/۰٥).

جدول ٤- تأثير عصاره بابونه بر آزاد شدن آنزيم‌هاي LDH وAST در سلول‌هاي کبدي اکسيد شده با ترشيوبوتيل هيدروپراکساید (t-BH)

حجم ا سانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	AST IU/10^{6}cell		درصد کاهش فعاليت آنزيم	LDH B-Bu/10^6 cell		درصد کاهش فعاليت آنزيم
	نمونه مورد آزمايش	کنترل		نمونه مورد آزمايش	کنترل	
٥۰	± ۱۲/۷ ۸۷۳*	± ۳۸/۲ ۱۰۷۷	-۱۸/۹	± ۱۹/۱ ۳٥۰۲*	± ۲۹/٦ ٤٤٦۱	-۲۱/٤
۱۰	± ٥۰/۹ ۸٤۰*	± ۱۹/۱ ۹۹۸	-۱٥/۸	± ۸/٤ ۳۲۳٦*	± ۱٦/۹ ۳۹٤۲	-۱۷/۹

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه کنترل را نشان مي‌دهد (P<۰/۰٥).

جدول ٥- تأثير آزولن بر ميزان مالون دي آلديد (MDA) ايجاد شده توسط ترشيوبوتيل هيدروپراکساید (t-BH)

حجم اسانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	MDA nm/10^6 cell		درصد مهار
	نمونه مورد آزمايش	کنترل	
٥۰	۸۷۷/٦* ±۹۳/۷	۱۳٥۹ ± ۹٥/٥	۳٥/٤
۱۰	± ۸۷/٥ ۹٤٥/۰*	۱۱۷۳± ۲۰/٤	۱۹/٤
٥	۱۰۱٦/٦* ±۷/٥	۱۲۲۷ ± ۳۳/۰	۱۷/۰

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه کنترل را نشان مي‌دهد (P<۰/۰٥).

جدول ٦- تأثير آزولن بر فعاليت آنزيم‌هاي LDH وAST در سلول‌هاي كبدي اكسيد شده با ترشيوبوتيل هيدروپراكساید (t-BH)

حجم اسانس در واحد حجم محيط تماس µl/ml	AST IU/10⁶cell		درصد كاهش فعاليت آنزيم	LDH B-Bu/10⁶ cell		درصد كاهش فعاليت آنزيم
	نمونه مورد آزمايش	كنترل		نمونه مورد آزمايش	كنترل	
٥٠	± ٣٩/٥ ١٢١٤*	± ١٩/٧ ١٤٢٨	-١٤/٩	* ± ٢/٧ ٣٥٣٧	± ١٥/٥ ٥٥٢٠	-٣٥/٩
١٠	± ٩/٨ ١١٩٧*	± ١٩/٧ ١٣٤٤	-١٠/٩	± ١/١ ٣٤٤٤*	± ٣٨/٢ ٤٩٨٠	-٣٠/٨

* سطح اختلاف معني دار نسبت به گروه كنترل را نشان مي‌دهد (P<٠/٠٥).

نتايج

در اين تحقيق تمامي آزمايش‌ها سه بار تكرار شده‌اند و نتايج حاصل ميانگين آزمايش‌هاي انجام شده مي‌باشند. علاوه بر آن تمامي آزمايش‌ها در مقابل كنترل كه فاقد ماده مورد آزمايش بوده انجام شده است. اختلاف ميانگين داده‌ها توسط t-test مورد آزمون قرار گرفت و P<٠/٠٥ به عنوان سطح معني‌دار در نظر گرفته شد.

شايان ذكر است در تمامي آزمايش‌هاي انجام شده اثرات اسانس، عصاره بابونه و آزولن به صورت وابسته به دوز بوده است. نتايج حاصل در جداول شماره ١ الي ٦ آمده‌اند.

بحث و نتيجه گيري

اسيدهاي چرب از تركيبات مهم غشاهاي بيولوژي هستند كه به استرس اكسيداتيو بسيار حساس مي‌باشند [٧]. پراكسيداسيون ليپيد باعث اختلال در سازمان بندي غشا، تغيير فعاليت آنزيم‌هاي وابسته به غشا و پروتئين‌هاي ديگر مي‌شود كه همراه با آزاد كردن راديكال‌هاي هيدروپراكسيل و آلكوپراكسيل به صورت بالقوه براي سلول سمي مي‌باشد [٨]. راديكال‌هاي آزاد و گونه‌هاي اكسيژن فعال باعث آسيب به سلول‌ها و بافت‌ها مي‌شوند و بيماري‌هاي مختلف از جمله بيماري‌هاي قلبي عروقي، آترواسكلروز، سرطان، آرتريت روماتويد، پيري زودرس و غيره مي‌شوند را تشديد مي‌نمايد.

با توجه به اين حقيقت كه اين تركيبات به طور مداوم در سلول‌هاي زنده توليد مي‌شوند، وجود مكانيسم‌هاي دفاعي در برابر آنها ضروري است. آنتي‌اكسيدان‌ها سيستم‌هاي دفاعي هستند كه مي‌توانند به طور مستقيم يا غير مستقيم انسان را در مقابل آسيب‌هاي ناشي از اكسيدان‌ها حفظ كنند [٢١]. به علاوه مصرف آنتي‌اكسيدان‌ها در رژيم‌هاي غذايي و دارويي تعادل بين اكسيدان-پراكسيدان را ايجاد مي‌نمايد. علاوه بر آنتي‌اكسيدان‌هاي طبيعي مانند ويتامين E و بتاكاروتن، آنتي‌اكسيدان‌هاي صناعي مانند بوتيل هيدروكسي آنيزول (BHA) و بوتيل هيدروكسي تولوئن (BHT)، همچنين اسيد اوريك، سلنيم و بيلي‌روبين نيز مي‌توانند از تشكيل پراكسيد جلوگيري كنند. اما به علت ايجاد سميت و عوارض ناشي از مصرف، استفاده وسيع آنها مقدور نيست. آنتي‌اكسيدان‌هاي طبيعي با منشا گياهي خصوصاً گياهان خوراكي علاوه برداشتن عوارض كمتر، مي‌توانند در مقادير كم نيز موثر باشند.

در اين تحقيق به منظور شناخت تركيبات طبيعي داراي خاصيت آنتي‌اكسيدان و عوارض كمتر تأثير اسانس و عصاره بابونه و آزولن بر پراكسيداسيون ليپيد ايجاد شده در سلول‌هاي كبدي مورد بررسي قرار گرفتند. نتايج به دست آمده در اين تحقيق نشان مي‌دهند كه اسانس بابونه بيشترين اثر آنتي‌اكسيدان را در يك روش وابسته به دوز دارد، به طوري كه در بالاترين غلظت (١٠ µl/ml)، ٥٨ درصد پراكسيداسيون ليپيد را مهار كرد و فعاليت آنزيم‌هاي LDH وAST را نيز كاهش داد كه نتايج آزمايش MDA را تأييد مي‌كند.

عصاره بابونه نيز اثرات آنتي‌اکسيدان نشان داد، اما ميزان مهار در بالاترين غلظت (۵۰ µl/ml) ۱۶ درصد بود که در مقايسه با اسانس بابونه ميزان مهار کمتري نشان مي‌دهد. اين اثر مهاري در آزمايش بررسي فعاليت آنزيم‌ها نيز مشاهده شد.

آزولن بعد از اسانس بابونه، بيشترين اثر مهاري را بر پراکسيداسيون ليپيد نشان داد، به طوري که در بالاترين غلظت (۵۰ µl/ml)، ميزان مهار مشاهده شده ۳۵/۴ درصد بود. همچنين فعاليت آنزيم‌هاي AST و LDH نيز به مقدار [۲۳و ۲۴]. اثرات آنتي‌اکسيدان آنها مي‌توانند توجيه کننده اين خواص باشند. مکانيسم اثر اسانس‌ها و عصاره‌ها در مهار پراکسيداسيون ليپيد کاملاً مشخص نيست، اما ممکن است به دنبال عمل حفاظت‌کننده اين ترکيبات در شروع مرحله اکسيداسيون اسيدهاي زيادي کاهش داشتند و تأثير آزولن بر روي فعاليت آنزيم LDH نسبت به AST بيشتر بود. با توجه به اينکه آزولن يکي از ترکيباتي است که به مقدار زياد در اسانس بابونه موجود مي‌باشد [۲۲]، نتايج اين دو آزمايش يکديگر را تأييد مي‌کنند و مي‌توان گفت که احتمالاً اثرات آنتي‌اکسيدان اسانس بابونه به علت آزولن موجود در آن مي‌باشد.

از جمله خواص فارماکولوژيکي بابونه و آزولن، خاصيت ضد التهابي، اثر آرام بخش، تسريع بهبودي زخم‌ها و کاهش تحريکات پوستي مي‌باشند چرب غير اشباع باشد که با جلوگيري از توليد MDA و آزاد شدن آنزيم‌هاي LDH وAST باعث مهار پراکسيداسيون ليپيد شوند. البته لازم است مطالعات گسترده‌تر جهت يافتن مکانيسم عمل آنها انجام شوند.

منابع

1. Emerit I and Chance B. *Free radicals and aging.* Brikhauser verlag basel. Boston Berlin. 1992;305

2. Halliwell B, Gutterridge J.M C. *Role of free radical and catalytic metal ions in human disease, An overview methods in Enzymology*, 1989; 186:1-85.

3. Ptyor W. Oxy-Radicals and related species; their formation, lifetimes, and reactions. *Ann. Rev. Physiol.* 1986; 48:657-70.

4. Delattre J and Rousselot D. Oxidative stress free radicals and aging. *Biotech. Lab international* 1998; 21-3.

5. Cross C, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, Mc Cord JM and Harman D. Oxygen radical and human disease, *Ann. Intern. Medi.* 1987; 107: 526-545.

6. Rice Evans CA, Burdon RM. *Free radical damage and its control*. Amsterdam Elseri 1994; 46-9, 113.

7. Haraguchi H. Saito T, Ishikawa H, Data H, Kataoka S, Tamura Y, Mizutani K. Antiperoxidative components in thymus vulgaris. *Planta Med.* 1996; 62:217- 21.

8. Joyeux M, Rolland A, Fleurentin J, Mortier F and Dorfman P. Tert–Butyl Hydroperoxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: A model for studying antihepatotoxic cruds drugs. *Planta Med.* 1990; 56:171.

9. Leung FY. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition, *J. Nutr. Biochem,* 1998; 9:304-7.

10. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MS, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten Gj, Frank JS, Demer LL, Edwards PA and Fogelman AM. The yin and yang of oxidation in the fatty streak. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996; 16(7): 831-42.

11. Martin A: Vitamin F protects human aortic endotelial cells from cytotoxic injwy induced by oxidized LDL in vitro. *J. Nutr. Biochem.* 1998; 9:201- 8.

12. Laning, H, Foster L, Chen C, Chance DS and Loo G. Grape extract inhibits lipid peroxidation of human low density lipoprotein. *Bio. Pharm. Bull.* 1995; 18(10): 1347- 51.

13. Ohrvall M. Nalsen C and Vessby B. Vitamin E improves the antioxidative capacity

but not the insulin sensitivity in elderly men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 1997; 7: 9-15.

14. Pulla Reddy CH A. and lokesh BR. studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid proxidation of rat liver microsomes. *Molecular and Cellular Biochem.* 1992; 111:117- 24.

15. Singh RB, Niaz MA, Rostogi SS and Rastogi S. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarciton. *The Am. J. Cardiol.* 1996; 77:232- 5.

16. , Edeas M, Khalfoun Y, Lazizi Y, Vergnes L, Labidalle S, Postaire E and Lindenbaum A. Effect of free radical scavengers lip osolubility on reduced release of antigen P24 from HIV infected monocytic cell line C. *R Seances soc-Biol. Sesfil.* 1995, 189(3): 367-73.

17. *British Pharmacopeia*, Hermajestys's stationaty office London, Vol: 2 Apendix XIEA. 1993; 137, 44, 139,145.

18. Markham KR. *Techniqes of Flavonoid identification.* Academic Press, London, 1982; 52-54, 86-93.

19. Suzangar M 1993; Dickson A. Biochemical studies on cells isolated from adult rat liver. *Exp. cel.l. Res.* 1970; 63: 353-64.

20. Cook JA and Mitchell JB. Viability measurments in mamalian cell system. *Ann. Biochem.* 1989; 179.

21. Vzsioli F and Galli C. Evaluating oxidation processes in relation to cardiovascular disease. A current review of oxidant antioxidant methodology. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 1997; 7: 459-66.

22. Leung AY and Foster S. *Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics*. Awiley Intetscience Publication John Mley and Sons. LNC New York. 1996; pp: 145.

23. Chevalier A. *The encyclopedia of medicinal plant.* London. 1996; pp: 54.

24. *The Merk Index, An encyclopedia of chemicals, drugs, and biological*. Merk Research Laboratories. Publication

25. 12th ed, USA. 1992; pp: 747.