بررسی اثرات سمیت سلولی دو گونه گیاهی از جنس گل ابریشم (*Caesalpinia*)

فرحناز خلیقی‌سیگارودی[1]*، عباس حاجی‌آخوندی[2]، مریم اهوازی[3]، میترا تقی‌زاده[4]، داراب یزدانی[5]، شهرام خلیقی‌سیگارودی[6]

۱- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
۲- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- مربی پژوهش، گروه کشت و توسعه و هرباریوم، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
٤- مربی پژوهش، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
٥- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
٦- استادیار، گروه احیاء مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
* آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان فخررازی، خیابان ژاندارمری شرقی، شماره ۱۷۲، طبقه سوم
صندوق‌پستی: ١٤٤٦ - ١٣١٤٥، تلفن و نمابر: ٦٦٩٧١١٩١ (٠٢١)
پست الکترونیک: khalighi@imp.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۲۱ **تاریخ تصویب:** ۸٦/۱۰/٤

چکیده

مقدمه: یکی از کاربردهای مهم گیاهان دارویی، استفاده آن‌ها به عنوان عوامل سیتوتوکسیک در درمان انواع بدخیمی‌ها و سرطان‌ها است. بررسی‌های مختلفی بر روی گونه‌های مختلف جنس گل ابریشم شامل بررسی اثرات ضدمیکروبی، ضدالتهابی و ضددردی، ضدتوموری، کاهندگی قندخون، سرکوب‌کنندگی ایمنی و آنتی‌اکسیدانی انجام شده است.

هدف: بررسی اثرات سمیت سلولی ابریشم مصری و دزدگیر از جنس گیاهی گل ابریشم.

روش بررسی: ابتدا گیاهان موردنظر از استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری و شناسایی شدند. سپس عصاره تام آن‌ها تهیه شد و آزمون تعیین LC_{50} با استفاده از لارو آرتمیا سالینا که یکی از آزمون‌های غربالی برای جداسازی ترکیب‌های فعال گیاهی است، بر روی آن‌ها صورت پذیرفت. به کمک این آزمون، بخش‌هایی از این گیاهان که دارای سمیت سلولی بالایی (LC_{50} زیر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) بودند، شناسایی و LC_{50} فراکسیون کلروفرمی آن‌ها نیز تعیین شد.

نتایج: در بین دو گیاه مورد آزمایش، گیاه ابریشم مصری دارای سمیت متوسط بود (LC_{50} بین ۳۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) در حالی‌که عصاره بخش‌های مختلف گیاه دزدگیر سمیت‌های متفاوتی از خود نشان دادند و بیشترین سمیت مربوط به عصاره متانولی غلاف میوه گیاه بود. فراکسیون کلروفرمی غلاف میوه گیاه دزدگیر سمیت پایین‌تری نسبت به عصاره متانولی آن از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری: غلاف میوه گیاه دزدگیر سمیت سلولی بالایی از خود نشان داد و می‌تواند به عنوان منبعی برای تهیه ترکیب‌های ضدسرطان جدید به حساب آید. البته انجام آزمون‌های پیشرفته‌تر با استفاده از رده‌های سلولی سرطانی برروی آن ضروری است.

گل‌واژگان: لارو آرتمیا سالینا، سمیت سلولی، لگومینوزه، ابریشم مصری، دزدگیر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

مقدمه

بررسی‌های سال‌های اخیر در مورد داروهای ضدسرطان باعث کشف بسیاری از مواد به طور مصنوعی یا طبیعی شده است. به وضوح می‌توان گفت که بهترین داروهای ضدسرطان، از گیاهان به دست آمده و اکثراً شامل موادی با مولکول‌های درشت و پیچیده است که سنتز قریب به اتفاق آن‌ها را مشکل می‌سازد. تحقیقات گسترده‌ای برای تعیین فرآورده‌های گیاهی که از نظر خاصیت ضدتوموری فعال هستند توسط انستیتو ملی سرطان (NCI) از سال ۱۹۵۷ آغاز شده است.

روش‌های بررسی سمیت سلولی پرهزینه است و نیاز به نظم ویژه، تکنیک‌های آسپتیک، تجهیزات ویژه، پرسنل تمام وقت و سرم حیوانی دارد. در برابر آن‌ها تست تعیین LC_{50} با استفاده از لارو آرتمیا سالینا[1] دارای مزایایی به این شرح است: ۱- قرابت‌های آرتمیا سالینا با سلول‌های پستانداران ۲- آزمون سریع، ساده و ارزان است ۳- استفاده از مقادیر کم مواد ٤- نتایج آماری به دلیل تعداد زیاد لاروها به واقعیت نزدیکتر است. به این دلایل NCI تست آرتمیا سالینا را نسبت به روش‌های دیگر برای غربال‌گری اولیه ترکیب‌های سیتوتوکسیک ارجح به شمار می‌آورد [۱،۲]. در این پژوهش نیز به دلیل مزایای گفته شده این آزمون، از این روش برای ارزیابی گیاهان استفاده شد.

در این تحقیق روی دو گونه گیاهی از جنس گل ابریشم[2]، از خانواده لگومینوزه[3] بررسی شده است که عبارتند از:

۱) گیاه ابریشم مصری با نام علمی *Caesalpinia gilliesii* (Hook.) D. Dietr. [۳] که به صورت درختچه‌های ایستاده، با انشعابات گسترده، به طول ۲ تا ۳ متر است. ساقه‌های جوان پوشیده با کرک‌های ساده سفید و غده‌ای قهوه‌ای پایک‌دار متراکم و ساقه‌های مسن با پوست تنه‌ای قهوه‌ای روشن هستند. برگ‌ها متناوب، دو بار شانه‌ای، به طول ۷/۵ تا ۳۰ سانتی‌متر و تقریباً متقابل هستند. گل‌آذین خوشه‌ای تا خوشه - دیهیم، انتهایی و تنک است. گلبرگ‌ها به طول ۲ تا ٤ سانتی‌متر، زرد، واژتخم‌مرغی و ناخنک‌دار هستند. میوه به طول ٦ تا ۱۰ و عرض تقریباً ۲ سانتی‌متر، چرمی، خمیده، پوشیده با کرک‌های ساده و غده‌ای متراکم و دانه‌ها ٦ تا ۱۰ عدد و خاکستری - قهوه‌ای هستند [٤].

۲) گیاه دزدگیر یا بوت‌کش با نام علمی *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. و نام مترادف *C. bonducella* [۳] که به صورت درختچه‌ای، انبوه، به شدت خاردار و بالارونده است. ساقه‌ها متعدد، بسیار منشعب، کرک‌دار و دارای خارهای ریز نازک و محکم، با شاخه‌های آویخته هستند. برگ‌ها به طول تقریباً ۳۰ - ٤٥ سانتی‌متر، دو بار زوج شانه‌ای، با ٦ - ۸ زوج شانه متقابل به طول ۵ - ۱۵ سانتی‌متر هستند. گل‌ها کرم متمایل به زرد، مجتمع در خوشه‌هایی به طول ۱۵ - ۳۰ سانتی‌متر، انتهایی یا محوری و واقع در کنار برگ‌ها هستند. نیام (لگوم) متورم و قهوه‌ای رنگ به طول ۵ - ۷/۵ و با عرض ۳/۵ سانتی‌متر، پوشیده از خارهای متراکم و قوی گزنده، محتوی ۱ - ۲ دانه بزرگ است [۵].

تعدادی از بررسی‌های انجام شده روی جنس گل ابریشم

بررسی‌های مختلفی بر روی گونه‌های مختلف گل ابریشم انجام شده است، از آن جمله می‌توان به بررسی اثرات ضدمیکروبی بر روی گونه‌هایی شامل *Caesalpinia mimosoides*، *C. sappan*، *C. pyramidalis*، *C. pulcherrima* (ابریشم مصری آتشین)، *C. spinosa* و *C. benthamiana* [۱۵، ۱٤، ۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۹، ۸، ۷، ٦] اثرات ضدویروسی بر روی گونه *C. minax* [۱٦،۱۷]، اثرات ضدکرمی بر روی گونه *C. crista* [۱۸،۱۹] و اثرات ضدمالاریایی بر روی گونه *C. volkensii* [۲۰] اشاره نمود.

تاکنون ترکیب‌های مختلفی از گونه‌های جنس گل ابریشم جداسازی و شناسایی شده‌اند که عبارتند از: دی‌ترپن‌های جدید نوع کاسان و نورکاسان از ریشه، ساقه و دانه‌های گونه *C. crista* [۲۱،۲۲]، فلاونوییدها از گونه *C. pulcherrima* (ابریشم مصری آتشین) [۲۳] و چالکون‌ها از گونه *C. ferrea* [۲٤]. از دیگر اثراتی که در برخی گونه‌های این جنس گیاهی مشاهده شده است اثر مهارکنندگی آنزیم زانتین اکسیداز است که در درمان نقرس موثر بوده و در گونه *C sappan* ردیابی شده است [۲۵]. در گونه‌های

[1] *Artemia salina*
[2] *Caesalpinia*
[3] *Leguminosae*

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

ابریشم مصری آتشین[1] و *C. ferrea* اثرات ضدالتهابی و ضددردی مشاهده شده است [۲۶،۲۷]. اثرات ضدتوموری و قلبی – عروقی نیز در ترکیب‌های خالص شده از گونه *C. ferrea* گزارش شده است [۲۸،۲۹،۳۰].

اثرات کاهندگی قند خون با مکانیسم افزایش تولید فروکتوز-۶،۲- بیس فسفات در هپاتوسیت‌های موش صحرایی در گونه *C. sappan* مشاهده شده است [۳۱]. اثر القای شل‌کنندگی عضلانی از طریق فعال‌سازی نیتریک‌اکساید سنتاز در سلول‌های اندوتلیال و اثرات سرکوب‌کنندگی ایمنی و آنتی‌اکسیدانی نیز از این گونه گزارش شده است [۳۲،۳۳،۳۴]. اثرات آنتی‌اکسیدانی در دو گونه دیگر *C. benthamiana* و *C. digyna* نیز دیده شده است [۱۵،۳۵].

بررسی‌هایی که تاکنون بر روی گیاه دزدگیر با نام علمی *Caesalpinia bonduc* و نام مترادف *C. bonducella* انجام شده‌اند، بدین شرح هستند: طی تحقیقاتی ترکیب‌های دی‌ترپنی نوع کاسان از گیاه جدا شده است [۳۶،۳۷]. اثرات ضدباکتریایی و حشره‌کشی دانه‌های گیاه نیز بررسی شده است [۳۸،۳۹]. در گزارشی اشاره شده که عصاره برگ این گیاه می‌تواند باعث افزایش اثر انقباضی عضلات صاف رحم در موش صحرایی باردار شود [۴۰]. در گزارش‌های دیگر القای افزایش قدرت انقباضی عضلات اسکلتی و اثرات آداپتوژنیک در موش صحرایی برای این گونه ذکر شده است [۴۱،۴۲]. در چندین تحقیق متفاوت نیز اثرات کاهندگی قند و چربی خون موش صحرایی، در این گیاه به اثبات رسیده است [۴۳،۴۴،۴۵،۴۶].

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه

گیاه ابریشم مصری در اردیبهشت ماه ۱۳۸۵ از چابهار واقع در استان سیستان و بلوچستان و گیاه دزدگیر نیز در همان تاریخ از منطقه سرباز جمع‌آوری شدند. بعد از جمع‌آوری نمونه‌ها از آن‌ها نمونه هرباریومی تهیه شد که در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی نگهداری می‌شود. سپس نام علمی دقیق آن‌ها تایید شد. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری، در سایه خشک شدند (جدول شماره ۱).

آماده‌سازی نمونه گیاه

قسمت‌های هوایی گیاه ابریشم مصری شامل برگ، میوه و ساقه به صورت مخلوط با یکدیگر مورد ارزیابی قرار گرفتند. در مورد گیاه دزدگیر از آنجایی‌که گیاه به صورت درختچه‌ای بوده و بخش‌های مختلف آن شامل برگ، دانه و غلاف میوه به راحتی قابل تفکیک بودند، به این دلیل هر یک از قسمت‌های نامبرده شده گیاه به صورت جداگانه بررسی شدند.

گیاهان خشک شده توسط آسیاب برقی پودر شده و ۲۰ گرم از هر گیاه پس از توزین دقیق توسط ترازوی دیجیتالی، آماده عصاره‌گیری شد. برای عصاره‌گیری از دستگاه سوکسله و حلال متانول استفاده شد. عصاره حاصل با کاغذ صافی صاف شده و به کمک دستگاه تقطیر در خلاء عمل تغلیظ بر روی عصاره انجام شد. پس از تغلیظ، هر یک از عصاره‌ها توزین شده و درصد عصاره حاصل از گیاه خشک محاسبه شد (جدول شماره ۱). به این ترتیب عصاره‌های حاصل برای مراحل بعدی که انجام آزمون تعیین LC_{50} بر روی لارو آرتمیا سالینا است، آماده شد [۴۷].

تفریخ سیست‌های آرتمیا سالینا

برای انجام آزمایش ابتدا سیست‌های آرتمیا سالینا در آب محتوی ۳/۸ درصد نمک دریا در دمای ۲۲ تا ۲۹ درجه سانتی‌گراد، نور مناسب و هوادهی کافی کشت داده شدند. پس از مدت ۱۸ – ۱۶ ساعت درصد قابل توجهی از سیست‌ها تفریخ شدند. پس از جداسازی لاروهای زنده از پوسته سیست‌ها و گذشت ۲۴ ساعت دیگر (مجموعاً بعد از ۴۸ ساعت از زمان کشت دادن سیست‌ها) لاروها آماده انجام آزمایش شدند [۴۸].

تعیین LC_{50} با آرتمیا سالینا

در آزمایش تعیین LC_{50} بر روی لارو آرتمیا سالینا، ۲۰ میلی‌گرم از هر عصاره در ۴ میلی‌لیتر DMSO به عنوان کمک حلال، حل

[1] *C. pulcherrima*

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

جدول شماره ۱- محل جمع‌آوری و درصد وزنی - وزنی عصاره متانولی گیاهان آزمایش شده

ردیف	نام لاتین گیاه	نام فارسی گیاه	قسمت مورد استفاده	محل جمع‌آوری	درصد وزنی- وزنی عصاره متانولی
۱	*Caesalpinia gilliesii*	ابریشم مصری	برگ، میوه، ساقه	سیستان و بلوچستان، چابهار	۱۲
۲	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	غلاف میوه	سیستان‌وبلوچستان، منطقه سرباز	۱۶
۳	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	برگ	سیستان و بلوچستان، منطقه سرباز	۳۶/۵
٤	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	دانه	سیستان و بلوچستان، منطقه سرباز	۲۰

شده و برای اطمینان از خنثی بودن اثر حلال بر روی لاروها، در هر رقت شاهد DMSO هم مورد آزمایش قرار گرفت.

رقت‌هایی از عصاره‌های تهیه شده از نمونه‌های گیاهی در لوله‌های آزمایش آماده نموده و حجم آن‌ها با آب دریا به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و به هر لوله آزمایش ۱۰ لارو آرتمیا اضافه شد. در لوله‌های آزمایش کنترل منفی، آب دریا و در لوله‌های شاهد در هر رقت حلال DMSO به تنهایی اضافه شد [۱،۲،٤۹،۵۰،۵۱،۵۲]. هم‌چنین به عنوان کنترل مثبت از تیمول استفاده گردید [۵۳،۵٤]. بعد از ۲٤ ساعت تعداد لاروهای مرده در لوله‌های آزمایش بررسی شد. از روی شمارش لاروهای زنده مانده، میزان سمیت عصاره‌های آزمایش شده مشخص شدند. سپس درصد مرگ و میر طبق فرمول زیر محاسبه شده و با استفاده از نرم‌افزار Excel و با رسم نمودار غلظت در برابر میانگین درصد مرگ و میر سه تکرار در هر غلظت و به دست آوردن معادله خط برای هر نمونه گیاهی، LC_{50} آن نمونه به دست آمد. در هر مورد که نمودار خطی نبود از مبنای لگاریتمی برای به دست آوردن نمودار خطی استفاده شد. در مورد هر یک از نمونه‌های گیاهی حدود اطمینان ۹۵ درصد نیز محاسبه شد.

$$Death\% = (d_{test} - d_{control} / A_{control}) \times 100$$

(d_{test} = تعداد لاروهای مرده در هر لوله

$d_{control}$ = تعداد لاروهای مرده در لوله کنترل

$A_{control}$ = تعداد لاروهای زنده در لوله کنترل)

طبق مراجع قدیمی‌تر ترکیب‌های و عصاره‌هایی که LC_{50} زیر ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر داشتند سمی و سیتوتوکسیک درنظر گرفته می‌شدند [۱]. اما در مراجع جدیدتر LC_{50} زیر ۱۰۰ و حتی زیر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر [٤۸] سمی در نظر گرفته می‌شوند، به این دلیل در این بررسی در مورد نمونه‌های گیاهی که LC_{50} زیر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر داشتند و نسبت به سایر نمونه‌ها از سمیت بیشتری برخوردار بودند، عمل فراکسیونه کردن صورت پذیرفت و LC_{50} فراکسیون‌های آن‌ها نیز با استفاده از لارو آرتمیا سالینا تعیین شد.

روش فراکسیونه کردن عصاره‌ها

در مورد نمونه گیاهی که LC_{50} زیر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر داشت و نسبت به سایر نمونه‌ها از سمیت بیشتری برخوردار بود، عمل فراکسیونه کردن صورت پذیرفت. به این ترتیب که عصاره متانولی تغلیظ شده گیاه در آب حل شد، سپس به آن کلروفرم اضافه و به کمک دکانتور فراکسیون کلروفرمی از عصاره جدا شد، که این عمل سه بار تکرار شد تا موادی که قطبیت کمتری داشتند و در آب نامحلول بودند از سایر ترکیب‌های عصاره جدا شوند [٤۷]. پس از تهیه فراکسیون کلروفرمی از عصاره، LC_{50} آن نیز با استفاده از لارو آرتمیا سالینا تعیین شد و با عصاره اولیه مقایسه شد.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

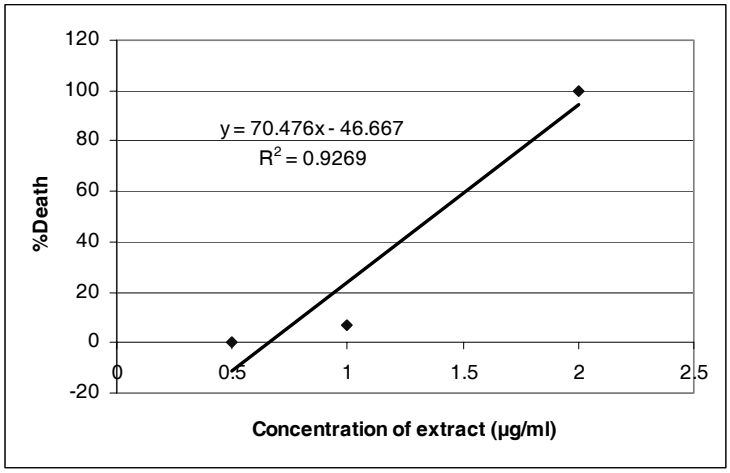
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

نتایج

در جدول شماره ۱ اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری و درصد وزنی – وزنی عصاره متانولی گیاهان آزمایش شده آمده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود درصد وزنی – وزنی عصاره متانولی حاصل از نمونه‌های مختلف گیاهی بین ۳۶/۵ – ۱۲ درصد متغیر است. نتایج کلی مربوط به انجام آزمون تعیین LC_{50} با استفاده از آرتمیا سالینا مربوط به استاندارد تیمول، عصاره‌های متانولی و فراکسیون کلروفرمی گیاه دزدگیر و گیاه ابریشم مصری در جدول شماره ۲ و نمودارهای شماره ۱ تا ٦ آورده شده است.

جدول شماره ۲– نتایج کلی تست لارو آرتمیا سالینا بر روی عصاره‌ها و فراکسیون‌های نمونه‌های گیاهی

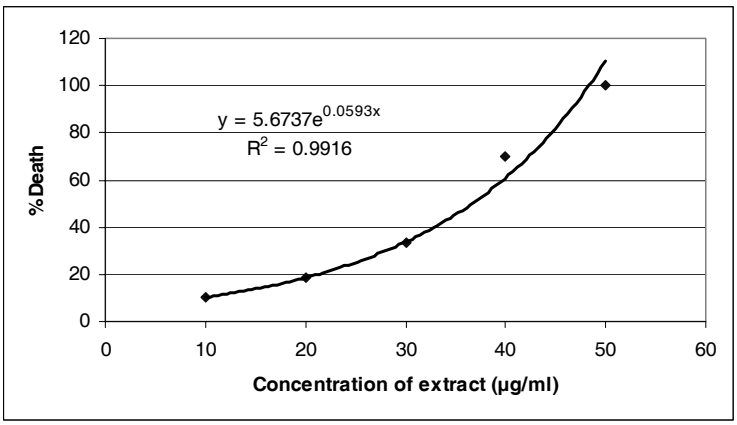
ردیف	نام لاتین گیاه	نام فارسی گیاه	قسمت مورد استفاده	عصاره یا فراکسیون	LC_{50} (µg/ml)	حدود اطمینان ۹۵ درصد
۱	Thymol	تیمول	–	–	۱/۳۷۲	۱/۳٦۷ – ۱/۳۷۷
۲	*Caesalpinia gilliesii*	ابریشم مصری	برگ، میوه، ساقه	عصاره متانولی	۳٦/٦۷	۳٦/۰۷ – ۳۷/۲۵
۳	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	غلاف میوه	عصاره متانولی	۲۵/۹۳	۲۵/٤۵ – ۲٦/٤۲
٤	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	برگ	عصاره متانولی	۳۳/۳۱	۳۲/۹۷ – ۳۳/۷۰
۵	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	دانه	عصاره متانولی	۱۱۰/٦۲	۱۰۹/۳۰ – ۱۱۱/۹٦
٦	*Caesalpinia bonduc*	دزدگیر، بوت‌کش	غلاف میوه	فراکسیون کلروفرمی	۱۰۰/۸۰	۹۹/۳۹ – ۱۰۲/۲٦



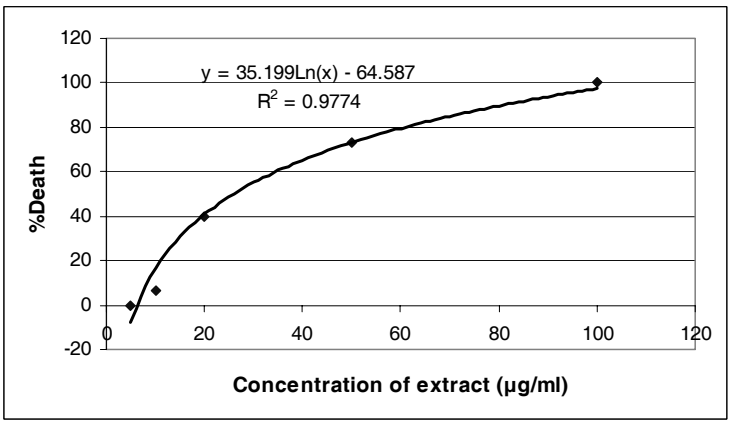
نمودار شماره ۱– نمودار غلظت – مرگ و میر تست آرتمیا سالینا برای استاندارد تیمول

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

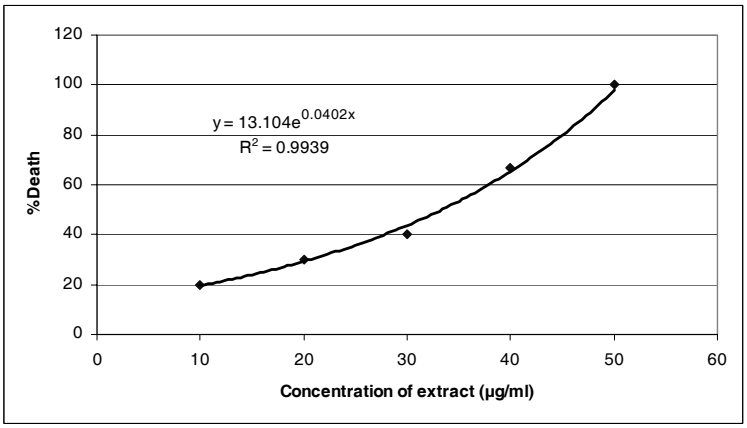
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]



نمودار شماره ۲- نمودار غلظت- مرگ و میر تست آرتمیا سالینا برای عصاره متانولی گیاه ابریشم مصری



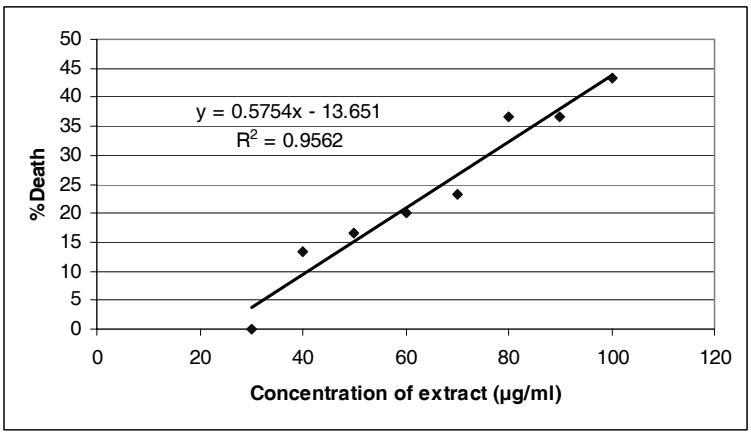
نمودار شماره۳- نمودار غلظت - مرگ و میر تست آرتمیا سالینا برای عصاره متانولی غلاف میوه گیاه دزدگیر



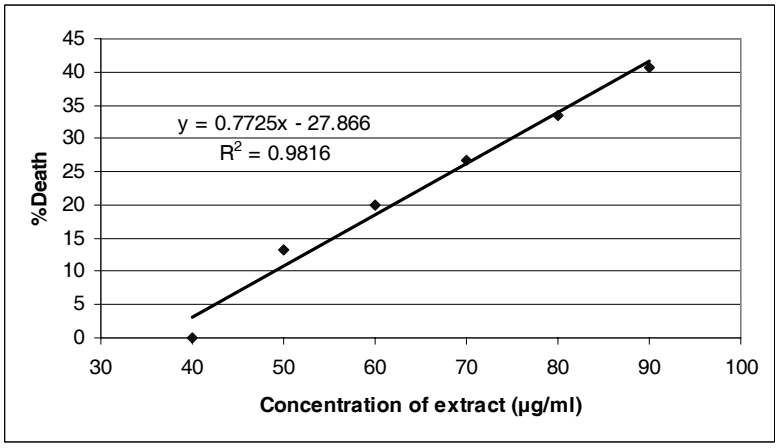
نمودار شماره ٤- نمودار غلظت - مرگ و میر تست آرتمیا سالینا برای عصاره متانولی برگ گیاه دزدگیر

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]



نمودار شماره ۵- نمودار غلظت - مرگ و میر تست آرتمیا سالینا برای عصاره متانولی دانه گیاه دزدگیر



نمودار شماره ٦- نمودارغلظت - مرگ‌ومیرتست آرتمیاسالینا برای‌فراکسیون کلروفرمی غلاف میوه گیاه دزدگیر

بحث و نتیجه‌گیری

در جدول شماره ۱ همان‌طور که ملاحظه می‌شود درصد وزنی - وزنی عصاره متانولی نسبت به پودر گیاه خشک شده، حاصل از نمونه‌های مختلف گیاهی بین ۳٦/۵ - ۱۲ درصد متغیر است، که با گونه گیاه و قسمت مورد استفاده گیاه ارتباط مستقیم دارد.

همان‌طورکه از جدول شماره ۲ برمی‌آید در مورد استاندارد تیمول میزان LC_{50} به دست آمده برابر با ۱/۳۷۲ میکروگرم در میلی‌لیتر است. LC_{50} به دست آمده برای گیاه ابریشم مصری برابر ۳٦/٦۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بود، که از آنجایی‌که بین ۳۰ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود سمیت متوسطی برای آن در نظر گرفته شد.

در مورد گیاه دزدگیر به دلیل درختچه‌ای بودن گیاه و قابلیت جدا کردن قسمت‌های مختلف آن از هم، عمل عصاره‌گیری و آزمون از سه بخش مختلف گیاه (غلاف میوه، برگ و دانه) انجام و ملاحظه شد که LC_{50} سه بخش آن با هم متفاوت بوده و به ترتیب برابر با ۲۵/۹۳، ۳۳/۳۱ و ۱۱۰/٦۲ میکروگرم در میلی‌لیتر هستند و دانه گیاه نسبت به دو بخش دیگر سمیت کمتری دارد. با توجه به LC_{50} برابر با ۳۳/۳۱ میکروگرم در میلی‌لیتری برگ گیاه نیز، سمیت متوسطی برای آن در نظر گرفته شد. از سوی دیگر نظر به این‌که LC_{50} غلاف میوه زیر ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود، فراکسیون کلروفرمی آن نیز تهیه شد و LC_{50} آن برابر ۱۰۰/۸ محاسبه گردید. که این خود بیانگر آن است که ترکیب‌های قطبی‌تر عصاره تام

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

متانولی غلاف میوه سمیت بیشتری نسبت به ترکیب‌های غیرقطبی‌تر فراکسیون کلروفرمی گیاه دارند [٤٨].

در مجموع با توجه به اطلاعات حاصل از این بررسی و با در نظر گرفتن این‌که غلاف میوه گیاه دزدگیر از بین نمونه‌های مورد آزمایش در این بررسی سیتوتوکسیسیته بیشتری از خود نشان داده است، احتمال آن‌که بتوان از این گیاه به عنوان منبعی برای تهیه ترکیب‌های ضدسرطان جدید استفاده نمود، بالا است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که آزمایش‌های تکمیلی بررسی اثرات سیتوتوکسیک با استفاده از رده‌های سلولی سرطانی بر روی غلاف میوه گیاه و ترکیب‌های خالص شده از این بخش گیاه برای رسیدن به این منظور انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهش و فناوری جهاددانشگاهی که حمایت مالی این طرح پژوهشی را تقبل نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE and McLaughlin JL. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982; 45: 31 - 4.

2. Awal MA, Nahar A, Hossain MS, Bari MA, Rahman M and Haque ME. Brine shrimp toxicity of leaf and seed extracts of *Cassia alata* Linn. and their antibacterial potency. *J. Med. Sci.* 2004; 4 (3): 188 - 93.

3. Mozaffarian V. *A dictionary of Iranian plant names*. Farhang Moaser. Iran. 1996, p: 89.

4. Ghahremaninejad F. *Flora of Iran: Caesalpiniaceae*. Research Institute of Forest and Rangelands. Iran. 2004, No. 45. pp: 10 - 1.

5. Gahreman A. *Flora of Iran in natural colors with text in Persian, English and French*. Research Institute of Forests and Rangeland. Iran. 1998, Vol. 21. No. 2526.

6. Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, Kilburn JD and Rakariyatham N. Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chem.* 2007; 100: 1044 – 8.

7. Lim MY, Jeon JH, Jeong EY, Lee CH and Lee HS. Antimicrobial activity of 5 - hydroxy-1, 4-naphthoquinone isolated from *Caesalpinia sappan* toward intestinal bacteria. *Food Chem.* 2007; 100: 1254 – 8.

8. Cruz MCS, Santos PO, Barbosa Jr. AM, de Melo DLFM, Alviano CS, Antoniolli AR, Alviano DS and Trindade RC. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 111 (2): 409 - 12.

9. Sudhakar M, Rao ChV, Rao PM, Raju DB and Venkateswarlu Y. Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. *Fitoterapia* 2006; 77: 378 – 80.

10.de Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Ana AEGS, Genet JP, Marquez B, Neuville L and Moreau N. Anti-bacterial activity of some Brazilian Medicinal Plants. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 105: 137 - 47.

11. Alanis AD, Calzada F, Cervantes JA, Torres J and Ceballos GM. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 100: 153 - 7.

12. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E and Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 99: 309 - 12.

13. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H and Higuti T. ILSMRs (intensifier of β-lactam-susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara [*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze]. *Phytomedicine* 2006; 13: 209 –12.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

14. Kim KJ, Yu HH, Jeong SI, Cha JD, Kim SM and You YO. Inhibitory effects of *Caesalpinia sappan* on growth and invasion of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 91: 81 – 7.

15. Dickson RA, Houghton PJ, Hylands PJ. Antibacterial and antioxidant cassane diterpenoids from *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochemistry* 2007; 68: 1436 – 41.

16. Jiang RW, But PPH, Ma SC, Ye WC, Chana SP and Mak TCW. Structure and antiviral properties of macrocaesalmin, a novel cassane furanoditerpenoid lactone from the seeds of *Caesalpinia minax* Hance. *Tetrahedron Lett.* 2002; 43: 2415 –8.

17. Jiang RW, Ma SC, He ZD, Huang XS, But PPH, Wang H, Chan SP, Ooi VEC, Xu HX and Mak TCW. Molecular structures and antiviral activities of naturally occurring and modified cassane furanoditerpenoids and friedelane triterpenoids from *Caesalpinia minax*. *Bioorgan. Med. Chem.* 2002; 10: 2161 – 70.

18. Hordegen P, Cabaret J, Hertzberg H, Langhans W and Maurer V. In vitro screening of six anthelmintic plant products against larval *Haemonchus contortus* with a modified methyl-thiazolyl-tetrazolium reduction assay. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 108: 85 – 9.

19. Jabbar A, Zaman MA, Iqbal Z, Yaseen M, Shamim A. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against trichostrongylid nematodes of sheep. *J. Ethnopharmacol* 2007; 114: 86 – 91.

20. Muregi FW, Ishih A, Miyase T, Suzuki T, Kino H, Amano T, Mkoji GM and Terada M. Antimalarial activity of methanolic extracts from plants used in Kenyan ethnomedicine and their interactions with chloroquine (CQ) against a CQ - tolerant rodent parasite, in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 111: 190 - 5.

21. Cheenpracha S, Srisuwan R, Karalai C, Ponglimanont C, Chantrapromma S, Chantrapromma K, Fun HK, Anjum S and Rahman A. New diterpenoids from stems and roots of *Caesalpinia crista*. *Tetrahedron* 2005; 61: 8656 – 62.

22. Banskota AH, Attamimi F, Usia T, Linn TZ, Tezuka Y, Kalauni SK and Kadota S. Novel norcassane-type diterpene from the seed kernels of *Caesalpinia crista*. *Tetrahedron Lett* 2003; 44: 6879 – 82.

23. Srinivas KVNS, Koteswara Rao Y, Mahender I, Das B, Rama Krishna KVS, Hara Kishore K and Murty USN. Flavanoids from *Caesalpinia pulcherrima*. *Phytochemistry* 2003; 63: 789 – 93.

24. Nozaki H, Hayashi K-i, Kido M, Kakumoto K, Ikeda S, Matsuura N, Tani H, Takaoka D, Iinuma M, Akao Y. Pauferrol A, a Novel Chalcone Trimer with a Cyclobutane Ring from *Caesalpinia ferrea* Mart exhibiting DNA Topoisomerase II Inhibition and Apoptosis-inducing Activity. *Tetrahedron Lett* 2007: doi: 10.1016/j.tetlet. 2007. 09. 130.

25. Nguyen MTT, Awale S, Tezuka Y, Tran QL and Kadota S. Neosappanone A, a xanthine oxidase (XO) inhibitory dimeric methanodibenzoxocinone with a new carbon skeleton from *Caesalpinia sappan*. *Tetrahedron Lett* 2004; 45: 8519 –22.

26. Rao YK, Fang SH and Tzeng YM. Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. *J. Ethnopharmacol*. 2005; 100: 249 –53.

27. Carvalho JCT, Teixeira JRM, Souza PJC, Bastos JK, Filho DDS and Sarti SJ. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. *J. Ethnopharmacol*. 1996; 53: 175 - 8.

28. Nakamuraa ES, Kurosakia F, Arisawa M, Mukainaka T, Okuda M, Tokuda H, Nishino H, Pastore Jr F. Cancer chemopreventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. *Cancer Lett* 2002; 177: 119 –24.

29. Nakamuraa ES, Kurosakia F, Arisawa M, Mukainaka T, Takayasu J, Okuda M, Tokuda H, Nishino H, Pastore Jr F. Cancer chemopreventive effects of a Brazilian folk medicine, Juca, on in

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

vivo two-stage skin carcinogenesis. *J. Ethnopharmacol*. 2002; 81: 135 - 7.

30. Menezes IAC, Moreira IJA, Carvalho AA, Antoniolli AR, Santos MRV. Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: Involvement of ATP-sensitive potassium channels. *Vasc. Pharmacol*. 2007; 47: 41 – 47.

31. You EJ, Khil LY, Kwak WJ, Won HS, Chae SH, Lee BH, Moon CK. Effects of brazilin on the production of fructose-2, 6-bisphosphate in rat hepatocytes. *J. Ethnopharmacol*. 2005; 97: 117 - 22.

32. Hu CM, Kang JJ, Lee CC, Li CH, Liao JW and Cheng YW. Induction of vasorelaxation through activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by brazilin. *Eur. J. Pharmacol.* 2003; 468: 37 – 45.

33. Ye M, Xie WD, Lei F, Meng Z, Zhao YN, Su H and Du LJ. Brazilein, an important immunosuppressive component from *Caesalpinia sappan* L. *Int. Immunopharmacol.* 2006; 6: 426 – 32.

34. Yingming P, Ying L, Hengshan W and Min L. Antioxidant activities of several Chinese medicine herbs. *Food Chem.* 2004; 88: 347 – 50.

35. Srinivasan R, Chandrasekar MJN, Nanjan MJ, Suresh B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 113: 284-91.

36. Peter SR, Tinto WF. Caesalpinin, a rearranged cassane furanoditerpene of *Caesalpinia bonducella*. *Tetrahedron Lett*. 1997; 38: 5767 - 70.

37. Peter S, Tinto WF, McLean S, Reynolds WF, Yu M. Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonducella*. *Phytochemistry* 1998; 47: 1153 - 5.

38. Saeed MA, Sabir AW. Antibacterial activity of *Caesalpinia bonducella* seeds. *Fitoterapia* 2001; 72: 807 - 9.

39. Bhattacharyya A, Rai S, Babu CR. A trypsin and chymotrypsin inhibitor from *Caesalpinia bonduc* seeds: Isolation, partial characterization and insecticidal properties. *Plant Physiol. Bioch.* 2007; 45: 169 - 77.

40. Datte JY, Traore A, Offoumou AM and Ziegler A. Effects of leaf extract of *Caesalpinia bonduc* (Caesalpiniaceae) on the contractile activity of uterine smooth muscle of pregnant rats. *J. Ethnopharmacol.* 1998; 60: 149 –55.

41. Datte JY, Yapo PA, Kouamé-Koffi GG, Kati-Coulibaly S, Amoikon KE and Offoumou AM. Leaf extract of *Caesalpinia bonduc* Roxb. (Caesalpiniaceae) induces an increase of contractile force in rat skeletal muscle in situ. *Phytomedicine* 2004; 11: 235 – 41.

42. Kannur DM, Hukkeri VI and Akki KS. Adaptogenic activity of *Caesalpinia bonduc* seed extracts in rats. *J. Ethnopharmacol*. 2006; 108: 327 – 31.

43. Sharma SR, Dwivedi SK and Swarup D. Hypoglycaemic, antihyperglycaemic and hypolipidemic activities of *Caesalpinia bonducella* seeds in rats. *J. Ethnopharmacol.* 1997; 58: 39 - 44.

44. Chakrabarti S, Biswas TK, Rokeya B, Ali L, Mosihuzzaman M, Nahar N, Azad Khan AK, Mukherjee B. Advanced studies on the hypoglycemic effect of *Caesalpinia bonducella* F. in type 1 and 2 diabetes in Long Evans rats. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84: 41 - 6.

45. Chakrabarti S, Biswas TK, Seal T, Rokeya B, Ali L, Azad Khan AK, Nahar N, Mosihuzzaman M, Mukherjee B. Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* F. in chronic type 2 diabetic model in Long-Evans rats and evaluation of insulin secretagogue property of its fractions on isolated islets. *J. Ethnopharmacol*. 2005; 97: 117 - 22.

46. Kannur DM, Hukkeri VI, Akki KS. Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* seed extracts in rats. *Fitoterapia* 2006; 77: 546 - 9.

47. Sokmen A. Antiviral and cytotoxic activities of extracts from the cell cultures and respective parts of some Turkish medicinal plants. *Turk J. Biol.* 2001; 25: 343 - 50.

48. Wanyoike GN, Chhabra SC, Lang'at-Thoruwa CC and Omarb SA. Brine shrimp toxicity and

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]

antiplasmodial activity of five Kenyan medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90: 129 - 33.

49. Moshi MJ and Mbwambo ZH. Some pharmacological properties of extracts of *Terminalia sericea* roots. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97: 43 – 7.

50. Anaga AO, Njoku CJ, Ekejiuba ES, Esiaka MN, Asuzu IU. Investigations of the methanolic leaf extract of *Costus afer*. Ker for pharmacological activities *in vitro* and *in vivo*. *Phytomedicine* 2004; 11: 242 - 8.

51. Santos Pimenta LP, Pinto GB, Takahashi JA, e Silva LGF, Boaventura MAD. Biological screening of annonaceous Brazilian medicinal plants using *Artemia salina* (brine shrimp test). *Phytomedicine* 2003; 10: 209 - 12.

52. Kanegusukuc M, Benassi JC, Pedrosa RC, Yunes RA, Filho VC, Maia AA, Souza MM, Monache FD and Niero R. Cytotoxic, hypoglycemic activity and phytochemical analysis of *Rubus imperialis* (rosaceae) *Z. Naturforsch.* 2002; 57c: 272 - 6.

53. Luna JS, Santos AF, Lima MRF, Omena MC, Mendonca FAC, Bieber LW and Sant'Ana AEG. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97: 199 – 206.

54. Alves TMA, Silva AF, Brandao M, Grandi TSM, Samina EFA, Junior AS and Zani CL. Biological screening of Brazilian Medicinal Plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2000; 95 (3): 367 - 73.

[Downloaded from jmp.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.25.8.4]