

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^۴، شکبیا 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

۴- استادیار شیمی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد

۵- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد، تهران

E-mail: rasooli@shahed.ac.ir

* نویسنده مسئول: ایرج رسولی

چکیده

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

مواد و روش‌ها: فعالیت کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی نیتریک اکساید و سمی بودن سلولی اسانس‌های 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 تعیین شد. فنل کل اسانس‌های بالا به ترتیب معادل $170/5 \pm 8/53$ و $23/83 \pm 2/24$ میکروگرم گالیک اسید در هر میلی‌گرم نمونه تعیین شد. سمیت سلولی اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بر سلول‌های طبیعی انسان به صورت ۵۰ درصد غلظت ممانعت (IC_{50}) به ترتیب $253/66 \mu g$ و $1490 \mu g$ و این سمیت در خصوص سلول‌های سرطانی به ترتیب $0/19 \mu g$ و $1/09 \mu g$ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان‌دهنده ارزش غذایی این‌گونه گیاهان در پیشگیری از تشکیل محصول‌های سمی نیتروژن و 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 می‌توان نتیجه‌گرفت که در مبارزه با سلول‌های سرطانی، اسانس مرزه بر به سلول‌های طبیعی آسیبی نمی‌رساند.

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

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

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

مقدمه

مرزه تابستانی (*Satureja hortensis*) و مرزه زمستانی (*Satureja Montana*) دو گونه مهم و مشهور از جنس مرزه (*Satureja*) هستند که به عنوان گیاه آشپزخانه‌ای استفاده می‌شوند (۱). مرزه تابستانی گیاهی یک‌ساله و بومی اروپای جنوبی و آمریکای شمالی است. مرزه زمستانی، گیاهی همیشه‌گی، پربافت، چوبی و بومی اروپا و شمال آفریقا است. روغن‌های اسانسی مرزه زمستانی، شامل فنل‌های حاوی فنل‌ها، تیمول، کارواکرول β -سیمین، β -تریپنتول، لینالون، بورنتول و اسیدهای آلی مختلف است (۲،۱). گل‌های هر دو گونه، صورتی تا آبی-سفید هستند و جذب زنبورهای عسل را سبب می‌شوند. برگ‌های سبز و ساقه‌های هر دو گونه به صورت تازه خشک می‌شوند و به عنوان طعم‌دهنده در چاشنی، تاس‌کباب، غذاهای گوشتی، ماهی، مرغ، سوسیس و سبزیجات استفاده می‌شوند. 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 استعمال می‌شوند. به علاوه روغن‌های اسانسی هر دو گونه، به تنهایی یا همراه با دیگر روغن‌های اسانسی در صنایع عطرسازی استفاده می‌شوند. مرزه تابستانی در مقام گیاهی دارویی، از لحاظ سنتی به عنوان یک محرک، اشتها آور، داروی ضدنفخ، خلط‌آور، ضد-اسهال و داروی مقوی جنسی استفاده می‌شود (۲،۱)؛ مرزه زمستانی نیز روزانه در رژیم غذایی میلیون‌ها انسان، به ویژه مردم منطقه مدیترانه، وجود دارد و با توجه به دارابودن متابولیت‌های گیاهی- با ویژگی‌های آنتی-اکسیدانی- و حضور ترکیب‌های فنلی، فعالیت دارویی داشته و آثار مفیدی روی سلامتی دارد (۳-۵). از گونه‌های دیگر مرزه می‌توان *Satureja cuneifolia* Ten. و *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis را نام برد. به دلیل

استفاده‌های متنوع از گونه‌های مرزه و اسانس‌های آنها، مطالعه ترکیب گونه‌های مرزه در ایران نیز مورد توجه قرار گرفته است. در یک مطالعه جامع روی گونه‌های مرزه ایران، دو گونه *Satureja hortensis* L. و *Satureja montana* L. بررسی شده‌اند و ترکیب‌های اصلی روغن اسانسی *hortensis* S.، فنل‌ها، تیمول، کارواکرول، β -سیمین، β -کاریوپیلن، لینالون، کاریوفیلن و سایر ترپنوئیدها و روغن‌های اسانسی ستورجا مونتانانا *Satureja montana* L.، فنل‌های حاوی فنل‌ها، تیمول، کارواکرول β -سیمین، β -تریپنتول، لینالون، بورنتول و اسیدهای آلی گزارش شده است (۲). ترکیب‌های شیمیایی در خواص بیولوژیک اسانس‌ها تأثیر دارند. تحقیق‌های اخیر کشف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را از گیاهان نشان می‌دهد. استفاده از گونه‌ها و گیاهان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در فرایندهای غذایی، برای استفاده از آنها امیدی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است. گزارش‌ها نشان می‌دهد که با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه، مصرف آنها در مقام افزودنی‌های طبیعی افزایش یافته است (۶). 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 *sahandica* Bornm. S. که به روش تقطیر با آب جدا شده، با کروماتوگرافی گازی، طیف‌سنجی جرمی آنالیز شده‌اند، تیمول (۷، ۴۱-۱۹،۶ درصد)، پارا سیمین (۹، ۵۴-۳۲،۵ درصد) و γ -تریپنتین (۸، ۱۲-۱ درصد) بوده است (۸، ۱)، ولی خواص بیولوژیک این گونه مطالعه نشده است. به رغم 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 فرآورده‌های گیاهان دارویی در کشورمان لازم است که جوانب مختلف این محصولات کاربردهای مفید و به احتمال

در شرایط نور معمولی اتاق نگهداری شده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محیط تاریک نگاه داشته می شود. پس-

از آن ۱ میلی لیتر محلول زیر به آن اضافه می شود:

Griess reagent (1 g/l *N*-(1-naphtyl)ethylenediamine and 10 g/l sulphanilamide dissolved in 20 ml/l aqueous H₃PO₄)

پس از ۴۰ دقیقه جذب در 546 nm اندازه گیری شده،

درصد ممانعت با فرمول زیر محاسبه می شود:

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

سنجش کلاتینگ یون فروس

Ferrous ion chelating (FIC) assay

FeSO₄ (2mM) و Ferrozine (5mM) تهیه و ۲۰

برابر رقیق شد. ۱ میلی لیتر از رقت های مختلف نمونه های

اسانس با ۱ میلی لیتر FeSO₄ رقیق شده مخلوط و سپس ۱

میلی لیتر فروزین رقیق اضافه گردید. لوله ها خوب

مخلوط شده، ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند.

جذب هریک در 562nm سنجیده شد. قدرت کلاته کردن

یون فروس هر نمونه به شرح زیر محاسبه شد:

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

تعیین سمیت سلولی اسانس

دو رده سلول سرطانی و سلول های تک هسته ای خون

محیطی با روش MTT مطالعه شدند (۱۱). در این روش

احیا [3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-

diphenyltetrazolium bromide] با دی هیدروژناز

میتوکندری ها به محصول آبی فرمازان انجام می شود که

نشان دهنده عملکرد طبیعی میتوکندری و حیات سلول

است (۱۲). پس از برداشت از فلاسک های کشت،

سلول ها به تعداد ۱×۱۰^۴ تا ۵×۱۰^۵ (بر اساس پروتکل

کشت هر سلول سرطانی) در پلیت های ۹۶ چاهکی

محتوی ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت در هر چاهک انکوبه

شدند. سلول ها برای چسبیدن ۲۴ ساعت زمان بردند و

پس از آن با رقت های مختلف اسانس به مدت ۴۸

ساعت مواجه شدند. ۲۰ میکرو لیتر از 5 mg/ml MTT در

ضرر های آنها در سلامتی انسان مورد توجه قرار گیرد. به

دلیل بومی بودن گونه مرزه سهند لازم است ابعاد مختلف

بیولوژیکی آن بررسی شود. از این رو مطالعه حاضر

طراحی شد و اسانس مرزه سهندی مطالعه و با اسانس

مرزه تجاری مقایسه می شود.

مواد و روش ها

اسانس مرزه

گیاه *Satureja sahendica* Bornm. در مؤسسه تحقیقات

جنگل ها و مراتع شناسایی و اسانس گیری شد. اسانس

تجاری مرزه از منابع تولیدی داخل کشور که در

داروخانه ها به فروخته می شود تهیه شد.

تعیین محتوای کل فنل Total phenolic content

(TPC)

با استفاده از روش *Kahkonen* و همکاران (۹) فنل

اسانس ها به شرح زیر سنجیده شد:

۳۰۰ میکرو لیتر از نمونه در لوله آزمایش ریخته شده،

۱/۵ میلی لیتر Folin-Ciocalteu's reagent (10x dilution)

و ۱/۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ ریخته شده، به مدت

۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شده و جذب در ۷۶۵ nm

سنجیده شد. فنل کل بر اساس معادل میلی گرم گالیک

اسید در هر ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد ($r = 0.0111x - 0.0$)

$r^2 = 0.9998$; $n = 0148$).

فعالیت رادیکال زدایی نیتریک اکساید

oxide radical scavenging

قدرت رادیکال زدایی نیتریک اکساید اسانس ها با

روش مارکوکسی و همکارانش (۱۹۹۴) انجام شد (۱۰).

۰,۵ میلی لیتر رقت هر اسانس یا کنترل مثبت حل شده در

محلول sodium nitroprusside (10 mmol/l) (pH 7.4) با ۰,۵ میلی لیتر

می شود؛ این مخلوط به مدت ۲,۵ ساعت در دمای 37 °C

غلظت ماده مانع رشد به میزان ۵۰ درصد (IC₅₀) است. همه تست‌ها به صورت سه‌بار تکرار انجام می‌شوند.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام یافته‌ها به صورت میانگین دست‌کم سه‌بار تکرار با احتساب انحراف معیار (± S.D.) تعیین گردید. تجزیه و تحلیل آماری با student's t-test انجام شد و اختلاف معنی دار با $p < 0.05$ تعریف گردید.

سالمین بافر فسفات (PBS) به هر چاهک اضافه شده، به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. محیط تخلیه شده، ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جذب شاهد (مواجه شده با ۰/۱٪ DMSO و نمونه‌های مواجه شده با اسانس در دستگاه الیزا ریدر با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده و ثبت شد. منحنی بقا (سلول‌های زنده) با توجه به سلول‌های انکوبه شده شاهد ترسیم و سیتوتوکسیسیته عبارت از

جدول شماره ۱: قدرت اسانس‌ها در کلاتینگ یون فروس

اسانس مرزه	مقدار اسانس (µg)	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
درصد کلاته کردن یون فروس	۱۳/۲۳±۰/۷۶	۳۳/۵۵±۱/۴	۴۳/۵۴±۰/۳۶	۵۷/۵۶±۰/۱۶	
اسانس مرزه تجاری	۶۲/۵	۲۵/۴۱±۰/۸۲	۴۰/۴۳±۱/۲	۶۰/۲۵±۴/۷	
EDTA	۷/۸	۱۵/۶۲	۳۱/۲۵	۶۲/۵	
درصد کلاته کردن یون فروس	۷۴/۶±۱	۷۹±۱/۲	۸۰/۲±۱/۲	۸۰/۷±۱/۲	

جدول شماره ۲: قدرت رادیکال زدایی نیتریک اکساید اسانس‌ها

اسانس مرزه سهند	مقدار اسانس (µg)	۰/۵	۱	۲	۴	۸
درصد رادیکال زدایی	۲/۲۷±۰/۲	۸/۲۲±۰/۹	۲۰/۲۵±۰/۵۱	۳۷/۴۲±۲	۶۴/۶۸±۰/۹	
اسانس مرزه تجاری	۱۵/۶۲±۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	
درصد رادیکال زدایی	۹/۷۲±۰/۶۸	۱۶/۶۱±۰/۷۵	۲۳/۳۷±۰/۷۵	۳۸/۹۱±۰/۶	۵۹/۵±۱/۴۶	

نتایج

معادل ۱۷۰/۵±۸/۵۳ و ۲۳/۸۳±۲/۲۴ میکروگرم گالیک-اسید در هر میلی‌گرم نمونه تعیین شد (جدول شماره ۳). مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد رادیکال زدایی درصد رادیکال زدایی نیتریک اکساید اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری به ترتیب ۶ و ۱۹۵ میکروگرم بود. مقدار اسانس لازم برای ۵۰ درصد کلاتینگ یون فروس با اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری به ترتیب ۷۵۰ و ۱۹۰ میکروگرم بود (جدول شماره ۳). سمی بودن سلولی رقت‌های مختلف اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بر سلول‌های طبیعی انسان به صورت ۵۰ درصد غلظت ممانعت (IC₅₀) به-ترتیب ۲۵۳/۶۶ µg و ۱۴۹۰ µg (جدول شماره ۴) و این

قدرت رقت‌های مختلف اسانس‌ها در کلاتینگ یون فروس تعیین شد و اسانس مرزه سهند تقریباً نصف قدرت اسانس تجاری را در کلاته کردن یون فروس داشت (جدول شماره ۱). قدرت اسانس‌ها به مراتب از قدرت EDTA کمتر بود (جدول شماره ۱). توانایی رادیکال زدایی نیتریک اکساید رقت‌های مختلف اسانس-ها نشان داد که ۴ میکروگرم اسانس مرزه سهند تقریباً معادل ۱۲۵ میکروگرم اسانس تجاری برای رادیکال-زدایی نیتریک اکساید قدرت دارد (جدول شماره ۲). فنل کل اسانس‌های مرزه سهند و مرزه تجاری به ترتیب

سمی بودن در خصوص سلول‌های سرطانی به ترتیب μg سلولی اسانس‌ها در تمام موارد از نظر آماری معنی‌دار $0/19$ و $1/09 \mu\text{g}$ (جدول شماره ۵) بود. تأثیر سمی بودن بود ($P < 0/05$).

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

اسانس	درصد رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید (مقدار اسانس)	IC50 (μg)	درصد کلاته کردن یون فروس (مقدار اسانس)	IC50 (μg)	محتوای فنلی ($\mu\text{g}/\text{mg}$ GAE)
مرزه سهند	$64/68 \pm 0/9$ ($8 \mu\text{g}/\text{ml}$)	۶	$57/56 \pm 0/16$ ($1000 \mu\text{g}/\text{ml}$)	۷۵۰	$170/5 \pm 8/53$
مرزه تجاری	$59/5 \pm 1/46$ ($250 \mu\text{g}/\text{ml}$)	۱۹۵	$60/25 \pm 4/7$ ($500 \mu\text{g}/\text{ml}$)	۱۹۰	$23/82 \pm 2/24$

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

رقت اسانس مرزه تجاری g/ml(μ)	درصد لنفوسیت- های زنده	درصد مرگ لنفوسیت‌ها	P	رقت اسانس مرزه سهند g/ml(μ)	درصد لنفوسیت‌های زنده	درصد مرگ لنفوسیت‌ها	P
شاهد	۱۰۰	۰		شاهد	۱۰۰	۰	
۵۰	۱۰۰	۰	$0/00004$	۲/۵	۶۱/۳۵	۳۸/۶۵	$0/000002$
۱۰۰	۸۶/۱۴	۱۳/۸۶	$0/00002$	۵۰	۵۸/۹۶	۴۱/۰۴	$0/000001$
۲۰۰	۵۴/۶۷	۴۵/۳۳	$0/00008$	۱۰۰	۵۵/۸۸	۴۴/۱۲	$0/00002$
۱۰۰۰	۵۱/۸۷	۴۸/۱۳	$0/00004$	۲۰۰	۵۲/۷۴	۴۷/۲۶	$0/000003$
۲۰۰۰	۴۶/۲۶	۵۳/۷۴	$0/00001$	۴۰۰	۴۴/۴۶	۵۵/۵۴	$0/000002$
IC ₅₀		۱۶۹۰ μg		IC ₅₀		۲۵۳/۶۶ μg	

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

رقت اسانس مرزه تجاری g/ml(μ)	درصد سلول‌های زنده Hela	درصد مرگ سلول‌های Hela	P	رقت اسانس مرزه سهند g/ml(μ)	درصد سلول- های زنده Hela	درصد مرگ سلول‌های Hela	P
شاهد	$100 \pm 0/19$	۰		شاهد	$100 \pm 0/19$	۰	
۱۰	$46/12 \pm 1/37$	۵۳/۸۸	$0/00004$	۰/۵	$53/04 \pm 0/8$	۴۶/۹۶	$0/00001$
۱	$54/50 \pm 6/86$	۴۵/۵۰	$0/00008$	۱	$55/78 \pm 1/6$	۴۴/۲۲	$0/00001$
۰/۵	$85/87 \pm 8/13$	۱۴/۱۳	$0/00044$	۲	$60/1 \pm 8/04$	۳۹/۹	$0/00008$
۰/۲۵	$96/89 \pm 2/28$	۳/۱۱	$0/00003$	۴	$62/06 \pm 9/7$	۳۷/۹۴	$0/00014$
۰/۱۲۵	$97/20 \pm 2/88$	۲/۸۰	$0/00004$	۱۰	$63/82 \pm 7/5$	۳۶/۱۸	$0/00005$
IC ₅₀		$1/09 \mu\text{g}$				$0/19 \mu\text{g}$	

بحث

در این مطالعه، فعالیت کلاتینگ یون فروس، رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید و سمیت سلولی اسانس‌های مرزه سهند بررسی گردید. زمینه تحقیقات جالبی پیرامون ترکیب‌های شیمیایی و ویژگی‌های بیولوژیک روغن‌های اسانسی مرزه وجود دارد. مطالعه مقالات نشان می‌دهد که تعداد کمی گزارش در خصوص خواص آنتی‌اکسیدانی مرزه وجود دارد و راجع به اسانس مرزه سهند و اسانس تجاری آن تاکنون مطالعه و بررسی نشده است. در مقالات دیگران خواص آنتی‌اکسیدانی *S. montana* مطالعه شده است (۱۴، ۱۳)؛ در این مطالعه، قدرت کلاتینگ یون فروس اسانس مرزه سهند تقریباً نصف قدرت اسانس تجاری بود (جدول شماره ۱). ROS/RNS (Reactive oxygen and nitrogen species) پیوسته در بدن انسان تولید می‌شوند و با آنزیم‌های طبیعی بدن مانند سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز کنترل می‌شوند. هنگامی که تولید ROS/RNS بیشتر شد، مواجهه با مواد اکسیدان خارجی یا فقدان ساختار دفاعی، آسیب به بیومولکول‌های 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 جلوگیری می‌کنند. آنها با واکنش با رادیکال‌های آزاد و کلاتینگ فلزهای کاتالیتیک و فعالیت در مقام ربایندگان اکسیژن در فرایند اکسیداسیون مداخله می‌کنند (۱۶). 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 کلاته کردن فلزها را دارند (۱۷). در بین فلزها، آهن به عنوان مهم‌ترین پرواکسیدان اکسیداسیون

لیپید به دلیل واکنشگری سریع شناخته شده است. حالت فروس آهن اکسیداسیون لیپید را با شکستن هیدروژن پراکسید و لیپید پراکسیدها از طریق واکنش فنتون [Fenton reaction ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$)] تسریع می‌کند؛ یون Fe^{3+} همچنین از پراکسیدها رادیکال‌ها را تولید می‌کند. 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 منجر شود. مواد کلاته‌کننده می‌توانند یون‌های فلزی را غیرفعال ساخته، به‌طور بالقوه از فرایندهای وابسته به فلز پیشگیری کند (۱۹). فعالیت کلاتینگ اسانس با سنجش فروزین (ferrozine) تعیین گردید (جدول شماره ۱). فروزین به‌طور کمی می‌تواند کمپلکس‌هایی را با Fe^{2+} تشکیل دهد. در حضور سایر مواد کلاته‌کننده، تشکیل کمپلکس مختل می‌گردد و رنگ قرمز کمپلکس کاهش می‌یابد. سنجش میزان کاهش رنگ، میزان فعالیت کلاتینگ یک کلاتور موجود هم‌زمان را نشان می‌دهد (۲۰). در این مطالعه، واکنش کلاتینگ وابسته به دوز (جدول شماره ۱) و با IC_{50} برابر ۷۵۰ و ۱۹۰ میکروگرم به ترتیب در اسانس مرزه سهند و مرزه تجاری بود (جدول شماره ۳). رادیکال‌زدایی نیتریک‌اکساید اسانس‌ها نشان داد که اسانس مرزه سهند دارای IC_{50} ۶ و ۱۹۵ میکروگرم اسانس به ترتیب 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 کلاته کردن آهن در آنزیم لیپوکسیژناز و در نهایت ممانعت از شروع واکنش پراکسیداسیون لیپید، انجام می‌دهند (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-

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 *Corioliolus 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.

ویژه قابلیت تیمول است که بر اساس گزارش سفیدکن و همکاران (۱) از ترکیب‌های اصلی مرزه سهندی، در پیشگیری از تشکیل محصولات سمی نیتروژن واکشنگر (ROS) بوده‌اند (۲۴،۲۳). 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 O_2^- و NO را بزدايد که این امر موید آنتی‌اکسیدان بودن 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 $253/66 \mu\text{g}$ و $1490 \mu\text{g}$ (جدول شماره ۴) و این سمیت در خصوص سلول‌های سرطانی به‌ترتیب $19/0 \mu\text{g}$ و $1/09 \mu\text{g}$ (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 ۴) 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 آسیبی نمی‌رساند.

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.

- 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.