جمهوری اسلامی ایران
وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

فصلنامهٔ پژوهشی
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

شماره پیاپی ۳۰ **جلد ۲۱ شمارهٔ ٤ سال ۱۳۸٤**

فهرست مطالب

بررسی برخی خصوصیات رویشگاهی گونه دارویی *Gontscharovia popovii* ٤۲۵
محمدامین سلطانی پور و رحمان اسدپور

اندازه‌گیری تانن در چهار ژنوتیپ بلوط *Quercus infectoria Olive.* و مصرف ٤۳۳
عباس صیامی، رضا حیدری، رسول پاکباز و محمد آقازاده

بررسی و تعیین ترکیبهای شیمیایی اسانس برگ *Eucalyptus stricklandii* Maiden و ٤٤۳
کامکار جایمند، محمد حسن عصاره، محمد باقر رضایی و محمد مهدی برازنده

بررسی ترکیبهای شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس گیاهان *Nepeta fissa* و ٤۵۳
فاطمه علیشاهی نورانی، فاطمه سفیدکن، مرتضی یوسف زادی، سمیه نعمتی و مریم خواجه پیری

اثر تاریخ کاشت بر عملکردهای کمی و کیفی گیاه *Foeniculum vulgare* ٤٦۵
رضا امیدبیگی، کریم صدرایی منجیلی و فاطمه سفید کن

شناسایی و بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس گیاه *Lepidium sativum* L. ٤۸۱
مهدی میرزا و مهردخت نجف پور نوایی

همزیستی میکوریز وزیکولار آربوسکولار در گیاهان دارویی پارک ملی تندوره ٤۸۹
صدیقه اسماعیل زاده، دکتر حسن زارع مایوان و دکتر فائزه قناتی

اثرات حفاظتی فلاونوئیدها در مقابل همولیز گلبولی ناشی از رادیکال‌های آزاد ۵۰۵
صدیقه عسگری، غلامعلی نادری و نازیلا عسکری

تعیین مناسبترین مدت سرمادهی و عمق کاشت بذر وشا *Dorema*... ..... ۵۱۷
بهناز علیجان پور ، پرویز باباخانلو، فرهاد آژیر و رضا حبیبی

اثرتنش آبی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گیاه ریحان... .. ۵۳۵
عباس حسنی

اثر ضد قارچی عصاره هیدرو الکلی گیاه *Echinophora Platyloba* DC. بر کاندیدا... ..... ۵٤۵
مجید آویژگان، مسعود حفیظی و مهدی سعادت

بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر میزان برخی از متابولیت‌های ثانویه ۵۵۳
رمضانعلی خاوری نژاد و اکرم اسدی

ISSN: 1735-0905

بسم‌الله الرحمن الرحیم

فصلنامهٔ پژوهشی **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**

- صاحب امتیاز: مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
- مدیر مسئول: عادل جلیلی (دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع)
- سردبیر: فاطمه سفیدکن (دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع)

- هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا)

پرویز اولیاء
دانشیار، دانشگاه شاهد

پرویز باباخانلو
استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

کامکار جایمند
استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

نادر حسن‌زاده
دانشیار، مرکز علوم تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی

محمدجواد رسایی
استاد، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

ایرج رسولی
دانشیار، دانشگاه شاهد

محمدباقر رضایی
دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

فاطمه سفیدکن
دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

محمدرضا شمس اردکانی
دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران

پیمان صالحی
استاد پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی

عباس صیامی
استادیار، دانشکده علوم پایه دانشگاه ارومیه

ابوالقاسم متین
استاد، سازمان تحقیقات و آموزش وزارت جهاد کشاورزی

فریبرز معطر
استاد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

مه‌لقا قربانلی
استاد، دانشگاه تربیت معلم

محبت علی نادری شهاب
دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

غلامرضا نبی
دانشیار، دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران

مدیر اجرایی و داخلی: کامکار جایمند استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
دبیر کمیته انتشارات مؤسسه: شاهرخ کریمی
شمارگان: ۱۰۰۰ جلد
ویراستار ادبی: هوشنگ فرخجسته
صفحه‌آرا: فاطمه عباسپور
ناظر فنی: شاهرخ کریمی
چاپ: معاصر

هیأت تحریریه، در رد، مختصر کردن و ویرایش مقالات مجاز است. همچنین مقالات ارسالی عودت داده نمی‌شود.
*** نقل مطالب و تصاویر نشریه با ذکر ماخذ بلامانع است.**

نحوهٔ اشتراک: تکمیل فرم اشتراک و ارسال آن به آدرس فصلنامه از طریق پست.
نشانی: تهران، کیلومتر ۵ آزاد راه تهران – کرج، خروجی پیکان‌شهر، انتهای ۲۰ متری دوم، بلوار مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، **فصلنامهٔ پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**
صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵، تلفن:۵-٤٤١٩٥٩٠١ نمابر: ٤٤١٩٥٩٠٧
پست الکترونیکی: ijmapr@rifr-ac.ir
بهاء: ۱۸۰۰۰ ریال

خلاصه انگلیسی مقاله‌های این مجله در سایت اینترنتی CABI Publishing به آدرس زیر قرار گرفته است:

www. Cabi - Publishing. org

بسمه تعالی

راهنمای نگارش مقاله

رعایت دستورالعمل زیر در نگارش مقاله‌های ارسالی ضروری است.

– مقاله‌های اصیل (Original) پژوهشی در یکی از زمینه‌های تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران که برای نخستین بار منتشر می‌شود جهت چاپ در مجله مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

– عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، سمت و آدرس کامل نویسنده (گان) در یک صفحهٔ جداگانه درج گردد.

– مقاله در کاغذ A٤ تحت نرم‌افزار WORD، فونت لوتوس، سایز۱۲، با حاشیهٔ ۳ سانتیمتر از چهار طرف تایپ و در ۳ نسخه همراه با دیسکت یا از طریق پست الکترونیک ارسال شود.

– فاصلهٔ بین خطوط دو برابر در نظر گرفته شود.

– تا حد امکان از بکاربردن کلمات و اصطلاحات خارجی خودداری و در صورت نیاز با قید شماره به‌صورت پاورقی ارائه شود.

– جداول و اشکال باید دارای عنوان گویا بوده و هرگز به‌صورت دیگری در مقاله تکرار نشوند. ذکر منبع، واحد و مقیاس برای آنها ضروری است، عنوان جداول در بالا و عنوان اشکال در پایین ارائه می‌شوند. جداول و اشکال در صفحات مستقل و در انتهای مقاله ارائه شوند.

– نامهای علمی لاتینی به‌صورت ایتالیک تایپ شوند.

روش تدوین

– **عنوان مقاله:** باید مختصر، گویا و بیانگر محتوی مقاله باشد.

– **چکیده**: مجموعهٔ فشرده‌ای (حداکثر ۲۵۰ کلمه) از مقاله شامل تشریح مسئله، روش کار و نتایج بدست آمده است. از بکاربردن نامهای خلاصه شده و ارائه منبع، جدول و شکل در چکیده پرهیز شود.

– **واژه‌های کلیدی:** حداکثر ٦ واژه درباره موضوع مقاله ارائه شود.

– **مقدمه:** شرحی بر موضوع مورد بررسی شامل اهمیت، فرضیه، هدف و پیشینه تحقیق است.

– **مواد و روشها:** شامل مواد و وسایل بکاررفته، مشخصات منطقهٔ مورد مطالعه، شیوه اجرای پژوهش، طرح آماری، روشهای شناسایی و تجزیه داده‌هاست.

– **نتایج:** در این بخش تمامی یافته‌های کمی و کیفی با استفاده از جدول و شکل ارائه می‌گردند. از بحث و مقایسه با یافته‌های سایر تحقیقات اکیداً خودداری شود.

– **بحث:** شامل تحلیل و تفسیر یافته‌ها و مقایسه با نتایج سایر تحقیقات است. نقصها و پیشنهادها می‌توانند در صورت نیاز در این بخش ارائه شوند.

– **سپاسگزاری:** در صورت نیاز از کلیهٔ افراد و سازمانهای حمایت کنندهٔ تحقیق، تشکر گردد.

– **منابع مورد استفاده:**

فقط منابع استفاده شده در متن قید شوند. ابتدا منابع فارسی و سپس منابع خارجی ارائه شوند.

منابع به‌ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نویسنده مرتب و به‌صورت پیوسته شماره‌گذاری شوند.

- ارائه منبع در متن تنها با ذکر نام خانوادگی نویسنده و سال انتشار منبع صورت می‌گیرد. در منابع با بیشتر از دو نویسنده، نام نویسنده اول و کلمه ((همکاران)) یا ((.et al)) نوشته شود.

در صورتی که مقاله‌های منفرد و مشترک از یک نگارنده ارائه شوند، ابتدا مقاله‌های منفرد و سپس مقاله‌های مشترک به‌ترتیب حروف الفبای نام سایر نویسندگان مرتب شوند.

چنانچه نویسنده (گان) چند مقاله مشابه باشند، منابع برحسب سال انتشار از قدیم به جدید تنظیم شوند.

- از ذکر واژه‌های ((و همکاران)) یا ((.et al)) در فهرست منابع خودداری شود.

روش ارایهٔ منبع

۱- مقاله: نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده اول.، ... و نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده آخر.، سال انتشار. عنوان مقاله. نام کامل مجله، شمارهٔ جلد (شماره سری): شمارهٔ صفحات اول و آخر

مثال: سلاجقه، ع.، جعفری، م. و سرمدیان، ف.، ۱۳۸۱. مطالعه خاکشناسی منطقهٔ طالقان با روش ژئومرفولوژی. مجلهٔ منابع طبیعی ایران، ۵۵(۲): ۱۴۳ – ۱۲۳.

Wayne, P.M., Waering, P. and Bazzaz, F.A., 1993. Birch seedling responses to daily time courses of light in enyperimental forest gaps and shadehouses. *Journal of Ecology*, 74(5): 1500 – 1515.

۲- کتاب: نام خانوادگی، حرف اول نام.، ... نام خانوادگی، حرف اول نام نویسنده آخر.، سال انتشار. عنوان کامل کتاب. ناشر، محل انتشار، تعداد کامل صفحات.

مثال: طبایی عقدایی، س.ر. و جعفری مفیدآبادی، ع.، ۱۳۷۹. مقدمه‌ای بر اصلاح درختان جنگلی. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ۱۴۹ صفحه.

Jalili, A. and Jamzad, Z., 1999. Red Data Book of Iran. A Preliminary Survey of Endemic, Rare and Enudaugered Plants species in Iran. *Researech Institute of Forests and Rangelands (RIFR) Publication*, Tehran, 750 p.

۳- کتاب یا مجموعه مقاله‌ای که هر فصل یا مقاله آن توسط یک یا چند نویسنده نوشته شده باشد: ارائه نام نویسنده (گان) فصل یا مقاله مطابق دستورالعمل بند ۲ (کتاب)، سال. عنوان فصل یا مقاله، صفحات اول و آخر. در (*In*): نام خانوادگی، حرف اول نام مؤلف اصلی کتاب.، (*.eds* یا *.ed*). عنوان کتاب. ناشر، محل انتشار، تعداد کامل صفحات.

مثال:

Agestam, E., 1995. Natural regeneration of beech in Sweden – Some results from a field trial. 117 – 124. In: Madsen. F., (ed.). Genetics and Silviculture of Beech. *Forskingscentret for Skov & Landskab*. 272 p.

خلاصه انگلیسی (*Abstract*): می‌تواند معادل چکیده فارسی و یا بیشتر از آن و شامل عنوان مقاله، نام خانوادگی، حرف اول نام، سمت و آدرس نویسنده (گان) و واژه‌های کلیدی حداکثر ٦ کلمه (*Key words*) بوده و در یک صفحهٔ جداگانه ارائه شود.

* جزئیات کاملتر روش نگارش در سایت اینترنتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع *www.rifr–ac.ir* قابل دسترس است.

فصلنامهٔ پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۱ شمارهٔ ٤ ، صفحهٔ ۵۰۵ – ۵۱۵ ، (۱۳۸٤)

اثرات حفاظتی فلاونوئیدها در مقابل همولیز گلبولی ناشی از رادیکال‌های آزاد

صدیقه عسگری[۱]، غلامعلی نادری[۱] و نازیلا عسکری[۲]

چکیده

فلاونوئیدها ترکیبهایی پلی‌فنولیکی هستند که در همه غذاها با سرچشمه گیاهی وجود دارند. آثار آنتی‌اکسیدانی آنها به اثبات رسیده است، به‌طوری که مصرف سبزیجات و گیاهان از بروز سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی نظیر آترواسکلروز جلوگیری می‌کند. از طرفی امروزه مصرف آنتی اکسیدان‌های سنتتیک به دلیل سمیت آنها محدود گشته است و توجه جوامع پزشکی به استفاده و یافتن آنتی اکسیدان‌های طبیعی معطوف گشته است. اثرات آنتی اکسیدانی یک ترکیب توسط روشهای مختلف مورد مطالعه قرار می‌گیرد یکی از آنها بررسی اثرات یک ترکیب بر حفاظت گلبول قرمز از همولیز می‌باشد. در این مطالعه اثرات فلاونوئیدهای کامفرول،کوئرستین، مورین، روتین بر همولیز گلبول‌های قرمز و تأثیر آنها بر ظرفیت SH- غشاء گلبول‌های قرمز به عنوان شاخص محافظت از غشاء مورد بررسی قرار گرفته است. در ابتدا محلول‌های فلاونوئیدی تهیه گردید. میزان همولیز گلبول‌های قرمز و نیزظرفیت SH- غشاء گلبول‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید جهت القاء پراکسیداسیون گلبول‌های قرمز از۲ و'۲ آزوبیس (۲ آمیدینو پروپان) دی‌هیدروکلرید (AAPH) استفاده شد. اثرهر فلاونوئید بر همولیز گلبول‌های قرمز خون درسه غلظت (۱۰ ، ۵ و ۰/۵) میکروگرم بر میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت. در مورد تأثیر بر میزان گروه‌های SH- تنها بالاترین غلظت یعنی ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر فلاونوئید استفاده گردید. در تمامی موارد خاصیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت، افزایش یافته است بیشترین تأثیر بر مهار همولیز گلبول قرمز را روتین به میزان ٤۲/۵ درصد داشته است همچنین کامفرول، روتین و مورین باعث حفاظت‌گروه‌های SH- به ترتیب به میزان ٦ درصد و ۲۳/۳ درصد و ۲٦/٤ درصد گردیده‌اند. نتایج حاصل نشان می‌دهد که می‌توان از فلاونوئیدهای مزبور و گیاهان حاوی آن به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان طبیعی در پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری‌هایی‌که پاتوژنز آن پراکسیداسیون لیپید باشد استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی : آنتی اکسیدان، روتین، کامفرول، کوئرستین، مورین، گلبول قرمز، ظرفیت SH-

---

[1] دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق
پست الکترونیکی: crc@mui.ac.ir
[2] Ms میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز تحقیقات قلب و عروق

مقدمه

فلاونوئیدها ترکیبهایی پلی‌فنولیکی هستند که در همه غذاها با سرچشمه گیاهی وجود دارند. فلاونوئیدها دارای اثرات مختلفی بر روی سیستم سلولی پستانداران هستند (Melzig، ۱۹۹۶) و در این رابطه اهمیت گروههای هیدروکسیل موجود در جایگاههای ۵ و ۷ حلقهٔ A هستهٔ فلاون ثابت شده است (Sanchez *et al*، ۱۹۹۶). آنها دارای اثراتی از قبیل خواص ضدالتهابی، ضد زخم، سیتوتوکسیک، خواص آنتی‌اکسیدانی، همچنین دارای اثرات مختلفی بر روی آنزیم‌ها هستند (Sanchez *et al*، ۱۹۹۶). فلاونوئیدها دارای اثرات بازدارنده بر روی عملکرد پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها و دارای اثرات محافظتی بر روی سلول‌های اندوتلیال هستند و به این ترتیب از اثرات متقابل بین دیوارهٔ رگ‌ها و خون که باعث شروع ترومبوز می‌شوند جلوگیری می‌کنند. این عمل را از طریق اثر بر روی عامل بافتی مونوسیت‌های انسان که خود از عوامل شروع کنندهٔ انعقاد خون است انجام می‌دهند (Herbert، ۱۹۹۶).

از مهمترین اثراتی که‌در تحقیقات امروزی برای فلاونوئیدها قائل‌شده‌اند خواص آنتی‌اکسیدانی قوی آنها است (Herbert، ۱۹۹۶، Hertog، ۱۹۹۷، Horaguchi، ۱۹۹۶، Ishikawa، ۱۹۹۷، Katan، ۱۹۹۸ و Sanchez، ۱۹۹۶).

به این ترتیب فلاونوئیدها می‌توانند دارای آثار درمانی در رابطه با بیماری‌هایی که در اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید می‌شوند مانند آترواسکلروز کرونری، صدمات ایسکمی، دیابت ملیتوس، پروسه‌های پیری و سرطان باشند (Horaguchi، ۱۹۹۶). آنها با ممانعت از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش خطرات ابتلا به بیماری‌های ایسکمی قلبی (IHD) و آترواسکلروز کرونری می‌شوند (Ishikawa et *al*، ۱۹۹۷، Sanchez *et al*، ۱۹۹۶ و Katan *et al*، ۱۹۹۸)

غشای گلبول‌های قرمز دارای لیپیدهای غنی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد و نسبت به سایر بافت‌های بدن بیشتر در معرض اکسیژن و اثرات مخرب آن قرار

می‌گیرند. حمله پراکسیدان‌ها به غشای گلبول قرمز می‌تواند منجر به همولیز سلول گردد و علاوه برآن گلبول‌های قرمز حاوی هموگلوبین می‌باشند که یکی از قوی‌ترین کاتالیزورهایی است که قادر به شروع پراکسیداسیون لیپیدهاست.

مواد اکسید کننده علاوه بر پراکسیداسیون لیپیدها می‌توانند باعث اکسیداسیون گروههای SH- حیاتی در پروتئین‌ها و نیز غشاء گلبول قرمز شوند (Harinder، ۱۹۹۷). گروههای SH- پروتئین‌ها معمولاً بسیار فعال بوده و می‌توانند به عنوان یک هدف در استرس‌های اکسیداتیو محسوب شده و طی آن کاهش یابند که به دنبال کاهش گلوتاتیون اتفاق می‌افتد (Hiroyukr *et al*، ۱۹۹٦). گلوتاتیون دارای نقش حفاظتی مستقیم بر علیه اکسیداسیون پروتئین‌های غشاء و ثبات و پایداری آن است و وقتی سطح آن کاهش یابد، گروههای SH- غشا اکسید شده ثبات و پایداری غشا از بین می‌رود (Kitagawa، ۱۹۹٦).

مواد و روشها

۱- تهیه محلول‌های فلاونوئیدی

محلول‌های استوک (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) فلاونوئیدهای روتین، کوئرستین و کامفرول (تهیه شده ازکارخانه مرک) و مورین از (کارخانه سیگما) تهیه گشت و آنگاه غلظت‌های۲۰۰و۱۰۰و۱۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) از هرفلاونوئید به صورت جداگانه در دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) آماده شد.

۲ - آزمایشهای ***in vitro*** بر گلبول‌های قرمز

الف- تهیهٔ سوسپانسیون گلبولی: خون افراد داوطلب سالم در لولهٔ هپارینه جمع‌آوری و بعد اریتروسیت‌های آنها به وسیلهٔ سانتریفوژ از پلاسما جدا گشته، آنگاه سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. در طی آخرین مرحلهٔ شستشو سلول‌ها با

دور g×۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ داده شد تا سلول‌های پک شده ثابتی بدست آید (Koga *et al*، ۱۹۹۸).

ب- همولیزگلبول‌های قرمز: در ابتدا رقت‌های (۰/۲و۰/۱و۰/۰۱) میکروگرم بر میلی‌لیتر از فلاونوئید حل شده در DMSO تهیه و بعد آزمایشهای در دو گروه آزمون و شاهد انجام گردید در لولهٔ آزمون ۰/۱ میلی‌لیتر رقت‌های تهیه شده ریخته آنگاه به هر دو سری لوله ۰/۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (PBC) و ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون گلبولی اضافه شد. پس از مخلوط کردن با یک میلی‌لیتر AAPH [ازوبیس (۲ امیدینوپروپان) دی‌هیدروکلرید] (۲۵میلی‌مولار) لوله‌ها ۲ساعت انکوبه و بعد سانتریفوژ و جذب محلول فوقانی در۵۴۰ نانومترکه بیان‌گر میزان همولیز می‌باشد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر شیمادزو قرائت گردید (Genj-Tao *et al*، ۱۹۹۲).

۳- تعیین میزان گروههای SH – غشاء بر حسب میلی گرم پروتئین

پس از تهیه ممبران میزان اثرات محافظتی گروههای SH- توسط فلاونوئیدها در مجاورت و عدم مجاورت ماده تتراتیونات به‌عنوان مهار کننده گروههای SH-، به این ترتیب انجام گرفت که به میزان مشخصی از سوسپانسیون ممبران ۰/۲میلی‌لیتر فلاونوئید اضافه گردید و دوبار با دور RPM ۳۰۰۰ توسط سانتریفوژ و با بافرفسفات شستشو داده شد سپس به ممبران‌های شسته شده ماده تتراتیونات اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷° قرار داده شد. سپس برای اندازه‌گیری گروه‌های SH- حفاظت شده توسط فلاونوئید به ممبران‌ها سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪ (SDS) اضافه گردید و سپس از ماده ۵ و '۵ دی تیول بیس ۲ نیتروبنزوئیک اسید یک میلی‌مولار به‌عنوان ماده واکنش دهنده با گروههای SH- استفاده گردید و میزان جذب کمپلکس ایجاد شده بعد از انکوباسیون در۳۷° به مدت یک ساعت در مقابل استاندارد گلوتاتیون احیا (GSH) در

طول موج ٤١٢ نانومتر اندازه‌گیری گردید و سپس میزان ظرفیت SH- محاسبه گردید (Haest *et al*، ۱۹۷۸).

جهت محاسبهٔ محتوای گروه SH- بر حسب میلی‌گرم پروتئین، غلظت پروتئین‌ها طبق روش شناسی ویژه تعیین گردید (Lowry *et al*، ۱۹۵۱).

٤ – نتایج بدست آمده از کلیهٔ آزمایشهای به صورت Mean±SD محاسبه و از طریق آزمون آماری T. Student test مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در مطالعهٔ حاضر جهت القاء پراکسیداسیون لیپید در غشا گلبول قرمز و ایجاد همولیز از AAPH استفاده گردید تا زمینهٔ ایجاد همولیز را فراهم کند. نتایج بدست آمده نشان داده است که میزان همولیز در لوله‌های آزمون حاوی کامفرول، کوئرستین، مورین، روتین مهارگشته و درصد مهار به صورت وابسته به دوز افزایش می‌یابد و در بالاترین غلظت یعنی ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب۲٦/۹، ۳۵/۵، ٤۰/۵ و ٤۲/۵ درصد همولیز گلبول‌های قرمز مهار شده است. اعداد بدست آمده در $p<۰/۰۵$ معنی دار تلقی گردید و در غلظت‌های پایین‌تر نیز مهار همولیز گلبول‌های قرمز دیده شد (جدول شماره۱).

همان‌طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است فلاونوئیدها به خوبی موجب افزایش ظرفیت SH- گردیده‌اند، به‌طوری‌که مورین و روتین دارای اثر قابل توجهی بوده‌اند. به طوری که می‌توان گفت مورین به میزان ۲٦/٤ درصد و روتین ۲۳/۳ درصد و کامفرول ۰/٦ درصد گروههای SH – را در مقابل تتراتیونات محافظت کرده‌اند.

جدول شماره ۱- میزان تأثیر فلاونوئیدها بر همولیز ایجاد شده در گلبول‌های قرمز توسط AAPH

نوع فلاونوئید	غلظت فلاونوئید در محیط تماس (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	درصد مهار همولیز
کامفرول	۱۰	۲۶/۹
	۵	۱۱/۲
	۰/۵	۰/۶
کوئرستین	۱۰	۳۵/۵
	۵	۱۶/۷
	۰/۵	۷/۱
مورین	۱۰	۴۰/۵
	۵	۲۸/۴
	۰/۵	۲۱/۱
روتین	۱۰	۴۲/۵
	۵	۳۴/۶
	۰/۵	۲۳/۴

در ابتدا رقت‌های مختلف فلاونوئید تهیه شده در DMSO در مجاورت گلبول‌های قرمز قرارگرفت و پس از افزودن AAPH و ۲ ساعت انکوباسیون میزان همولیز در غلظت نهایی (۱۰و ۵ و ۰/۵) ایجاد شده اندازه‌گیری و درصد مهار محاسبه گردید. اعداد بدست آمده در $p<0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

جدول شماره ۲- تأثیر فلاونوئیدهای مورد آزمایش برمیزان ظرفیت SH غشاء گلبول‌های قرمز

ترکیبهای مورد آزمایش	گروه‌های SH	
	SD (میکرومول بر میلی‌گرم)± protein	درصد نسبت به کنترل
کنترل (شاهد بدون تتراتیونات)	**۵۰۷±۲۲**	۱۰۰
تتراتیونات	۲۹٦±۱۵	۵۸/٤
تتراتیونات + مورین	٤۳۰±۱٤	۸٤/۸
تتراتیونات + کامفرول	۳۳۵±۱۵	٦٦/۱
تتراتیونات + کوئرستین	۲۹۵±۱۲	۵۸/۲
تتراتیونات+روتین	٤۱٤±۹	۸۱/۷

به منظور بررسی اثر فلاونوئیدهای مورد آزمایش بر ظرفیت SH- غشاء گلبول‌های قرمز تأثیر غلظت ۱۰µg/ml از هر فلاونوئید بر میزان ظرفیت SH- برحسب میلی‌گرم پروتئین در مقابل کنترل محاسبه گردید. آزمایشها به صورت چهارتایی انجام شده و میانگین در انجام محاسبات مورد استفاده قرارگرفته است. اعداد بدست آمده در $p<0.05$ معنی دار تلقی گردید.

بحث

در مطالعه حاضر در بررسی آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدهای خالص در مقابل ماده اکسیدکننده AAPH بیشترین درصد مهار همولیز مربوط به روتین می‌باشد که در بالاترین غلظت یعنی غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ٤۲/۵ درصد از همولیز گلبول‌های قرمز جلوگیری کرده است و با کاهش غلظت درصد مهار نیز کاهش یافته است. روتین قادر به جمع‌آوری رادیکال سوپراکساید O_2 و شلات کردن آهن می‌باشد.

مطالعات در مورد واکنش‌های روتین با گلبول‌های قرمز ثابت کرده است که روتین نمی‌تواند از صدمات پریماکین نسبت به غشاء و در نتیجه همولیز سلول جلوگیری کند ولی می‌تواند به میزان زیادی از اکسیداسیون هموگلوبین و تبدیل آن به مت هموگلوبین جلوگیری بعمل آورد. البته مکانیسم عمل روتین و این‌که آیا قادر است با محصولات اکسیدان داخل سلولی واکنش دهد و در نتیجه از اکسید شدن هموگلوبین جلوگیری کند هنوز ثابت نشده است (Grinberg *et al*، ۱۹۹٤). همچنین روتین دارای خواص فارماکولوژیک متعدد از جمله کاهش شکنندگی و نفوذپذیری مویرگها، ضدالتهاب، جلوگیری از تشکیل تومور در پوست و محافظت بر علیه اشعه ایکس در موش است که همه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مطابقت دارد (Visioli، ۱۹۹۷). مطالعاتی که در مورد اثرات فلاونوئیدها انجام شده نشان داده است که کوئرستین با اثر ۵۲ درصد بیشترین تأثیر را بر روی مهار گلیکوزیلاسیون و روتین و کامفرول به ترتیب اثر ۳۷درصد و ۱۵درصد نشان دادند(عسگری و همکاران، ۱۳۸۲). از آنجا که مطالعات نشان داده‌اند این فلاونوئید در گلبولهای قرمز ذخیره می‌شود. داشتن چنین تأثیری حائز اهمیت است (Fiorani *et al*، ۲۰۰۳).

در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدهای خالص، مورین همولیز گلبول‌های قرمز را در بالاترین غلظت آزمایش شده (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ٤۰/۵ درصد مهار نموده است و با کاهش غلظت، درصد مهار نیز کاهش یافته است. در مطالعه‌ای که در مورد فلاونوئید خالص مورین در سال ۱۹۹۵ توسط گروهی از محققان انجام گرفته است، مشخص شده است که غلظت ۱۰۰µM آن توانسته است ۵۰ درصد از همولیز گلبول‌های قرمز جلوگیری کند (Horaguchi ، ۱۹۹٦) که در این آزمایش نیز این خاصیت اثبات می‌شود. فلاونوئید خالص کوئرستین میزان همولیز گلبول‌های قرمز را در بالاترین غلظت (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ۳۵/۵ درصد مهار کرد و به این ترتیب در ردهٔ سوم قرار گرفت و با کاهش غلظت درصد مهار نیز کاهش یافت. کوئرستین یکی از

فلاونوئیدهایی است که در بسیاری از منابع از آن به عنوان یک آنتی‌اکسیدان یاد شده است و از جمله خواص ممانعت از اکسیداسیون LDL و جلوگیری از بهم چسبیدن پلاکت‌ها که قدم اول در جلوگیری از تشکیل پلاک‌های آترواسکلروز و سکته قلبی است ذکر شده است (Horaguchi، ۱۹۹٦) که نتایج حاصل از آزمایش فوق به خوبی خاصیت آنتی‌آکسیدانی کوئرستین را تأئید می‌کند.

در بالاترین غلظت یعنی ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کامفرول ۲٦/۹ درصد پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه همولیز گلبول‌های قرمز را مهار کرده و با کاهش دوز فعالیت نیز کاهش یافته است. تحقیقات دیگر نیز نشان داده‌اند که مصرف خوراکی آنتی اکسیدانهای بیوفلاونوئیدی در حیوانات در پیشگیری از حملات استرس های اکسیداتیو در آسیب به اریتروستیها مؤثر بوده است (Allison *et al*، ۲۰۰۰). همچنین مطالعات قبلی نیز نشان داده است که همولیز ناشی از AAPH در اریتروستیهای به خوبی توسط آنتی اکسیدانهای طبیعی مهار می‌شود (Zon *et al*، ۲۰۰۱). در نتایج بدست آمده در این آزمایش در اکثر موارد رابطه مستقیمی بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت بکار رفته وجود دارد. با توجه به این‌که در غلظتهای بسیار کم نیز نتایج خوبی نشان داده شد می‌توان از این مواد برای موارد کلینیکی پس از انجام آزمایشهای *in vivo* و مطالعات سم‌شناسی استفاده نمود و این مزیت باعث به حداقل رساندن اثرات جانبی احتمالی در استفاده از آنها می‌گردد. همچنین گروههای SH- پروتئین‌ها عامل بسیار مهمی در ثبات و پایداری ساختمان غشاء و سلول می‌باشند. در استرس‌های اکسیداتیو این عامل با اکسید شدن و تشکیل باندهای دی‌سولفید باعث حفاظت دیگر ساختمان‌های سلولی در برابر رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Katan *et al*، ۱۹۹۸) و چنانچه ترکیبهای آنتی‌اکسیدان بتوانند گروههای SH- را در مقابل اکسید شدن حفاظت کنند، توانایی سلول را در مقابل استرس اکسیداتیو بالا برده و نتایج نشان داد که مورین، روتین، کامفرول و کوئرستین به ترتیب باعث افزایش گروههای SH- گردیدند. با توجه

به نتایجی که در این تحقیق و تحقیقات مشابه بر روی فلاونوئیدها بدست آمده مشخص گردیده است که این ترکیبها دارای عمل حفاظتی در مقابل آسیب‌های پراکسیداتیو غشاء بوده و ممکن است که بتوانند اثرات مفیدی در پیشگیری یا درمان بیماری‌هایی که پراکسیداسیون لیپید یک عامل مهم در آنها بشمار می‌رود اعمال کنند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که در زمینه یافتن ترکیبهایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی میزان تأثیر و مکانیسم عمل آنها مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

- عسگری، ص.، ۱۳۸۲. تأثیرگیاهان بابونه، بومادران و زالزالک بر افزایش مقاومت گلبول‌های قرمز و میزان SH در مقابل مواد اکسید کننده. فصلنامه گیاهان دارویی.

Genj-Tao, L., Tie-Mei, Z., Bao-en, W. and Ya-Wen W., 1992. Protective action of seven natural phenolic compounds against peroxidative damage to biomembranes, Biochemical Pharmacology, 43(2): 147-152.

- Grinberg, L.N., et al. 1994. Protective effects of rutin against hemoglobin oxidation, Biochem Pharma, 48(4): 643-9.
- Haest, C.W.M., Plasa, G., Kamp, D. and Deuticke, B., 1978. Spectrin as a stabilizer of the phospholipid asymmetry in the human erythrocyte membrane, Biochim Biophys Acta, 509: 21-23.
- Harinder, S.G., 1997. Antioxidant and disease prevention. CRC Press, Boca Raton New York., 1-4, 12-22, 26, 32, 38, 45, 54, 67-68, 115-117, 172.
- Herbert, J.M., 1996. Ability of different flavonoids to inhibit the procoagulant activity of adherent human monocytes, J. Natur. Prod., 59(3): 273-276.
- Hertog, M GI, 1997. Antioxidant flavonoids and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly study. Am J Clin Nutr 65: 1489-1494.
- Hiroyukr, H., Takashi, S., Harumi, I., Hideyuki, D., Shizuko, K. and Yukiyoshi, T., 1996. Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*, Planta Medica, 62: 217-220.
- Horaguchi, H., 1996. Antioxidative components in *Thymus vulgaris*, Planta Medica, 62: 217-221.

- Ishikawa T, 1997. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification, Am. J. Clin. Nutr., 66: 261-266.
- Katan, M.B., Hollman, P.C.H., 1998. Dietary flavonoids and cardiovascular disease, Nutr. Metab. Cardiovase Dis., 8: 1-4.
- Kitagawa, S., 1996. Inhibitory effects of catechol derivative on hydrophilic free radical initiator induced hemolysis on hemoglobin, Chem. Pharm. Bull., 44(5): 518-519.
- Koga, T., Moro, K. and Terao, Y., 1998. Protective effect of a vitamin E analog phosphatidylchromanol, against oxidative hemolysis of human erythrocytes, Lipid, 3(6): 589-595.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr Al Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent, Biol. Chem., 193: 265-275.
- Melzig, M.E., 1996. Inhibition of adenosine deaminase activity of aortic endothelial cells by selected flavonoids, Planta Medica, 62: 20-21.
- Sanchez de Rojas VR, 1996. Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy Satureja obovata. Planta Med 62: 282-294.
- Visioli, F., 1997. Evaluating oxidation processes in relation to cardiovascular disease: a current review of oxidant/antioxidant methodology, Nutr Metab Cardiovasc, 7: 459-66.
- Fiorani, M., Accorsi, A. and Cantoni, O., 2003. Human red blood cells as a natural flavonoid reservoir, Free Radic. Res., 37(12): 1331-8.
- Allison, R.W., Lassen, E.D., Burkhard, M.J. and Lappin, M.R., 2000,.Effect of a bioflavonoid dietary supplement on acetaminophen induced oxidative injury to feline erythrcyto, J. Am .Vet. Med. Assoc., 217 (8): 1157-61.
- Zon, C.G., Agar, N.S., Jones, G.L., 2001. Oxidative insult to human red blood cells induced by free radical AAPH and its inhibition by a commercial antioxidant mixture, Life Sci., 69(1): 75-86.

Vol. 21 No. (4), 505-515 (2006)

Protective Effect of Flavonoids, Against Red Blood Cell Hemolysis

S. Asgary[1], Gh. Naderi[2] and N. Askari[3]

Abstract

Flavonoids which are polyphenolic substances are found in different vegetable and fruits and they have anti-oxidant properties. Epidemiological studies showed that flavonoids reduce the prevalence of cardiovascular disease. On the other hand, the usage of synthetic antioxidants have been limited because of their toxicity and, there are different researches to find better natural antioxidants. This survey investigates the effect of some pure flavonoids such as kaempferol, quercetin, morin and rutin on red blood cell (RBC) hemolysis and their -SH capacity as membrane protection indicator.

The flavonoids solutions were prepared. Rate of RBC hemolysis and -SH capacity of cell membrane were determined by spectrophotometer. 2,2´azobis2 amidino propane dihydrechloride (AAPH) was used to induce RBC peroxidation. The effect of each flavonoids on RBC hemolysis was examined in 3 concentrations (0.15, 5, 10) µg/ml but for investigating the effect on -SH groups only the highest concentration (10 µg/ml) of each flavonoids were used. In all cases, the antioxidant activity was dose-dependent. Rutin showed the highest inhibitory effect on RBC hemolysis than other flavonoid, that was 42.5. Also kaempferol, rutin, morin protect -SH groups 6%, 23.3%, 26.4% respectively.

Results showed that flavonoids and plants contain flavonoids can be used as natural antioxidants for treatment and prevention of diseases which their pathogenesis are lipid peroxidation.

Key words: Antioxidant, rutin, kaempferol, quercetin, morin, RBC, -SH capacity.

1 Ph.D, Associate Professor of Pharmacognosy, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences; Address: Isfahan University of Medical Sciences; P. O Box: 81465-1148, Isfahan, Iran; Tel: +98-311-3359090, 3359696; Fax: +98-311-3373435; E-mail: s_asgari@crc.mui.ac.ir

2 Ph.D, Associate Professor of Biochemistry, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences

3 M.S of Microbiology, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences

In the Name of God

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

Director in chief: Adel Jalili
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Chief editor: Fatemeh Sefidkon
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Editorial Board:

Parviz Babakhanloo
MS.c., Research Institute of Forests and Rangelands

Nader Hassanzadeh
Ph.D., Research Institute and Disease

Abolghassem Matin
Ph.D., Agricultural Research Education and Extension Organization

Mohabat – Ali Naderi – Shahab
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Iraj Rasooli
Ph.D., Shahed University

Parviz Owlia
Ph.D., Shahed University

Peyman Salehi
Ph.D., Shahid Beheshti University

Mohammad Reza Shams Ardecani
Ph.D., Faculty of Pharmacy, University of Medical Science, Tehran

Mahlagha Ghorbanli
Ph.D., Tarbiat Moallem University

Kamkar Jaimand
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Fariborz Moatar
Ph.D., Faculty of Pharmacy, University of Medical Science, Isfahan

Mohammad Javad Rasaee
Ph.D., Tarbiat Moddares University

Gholam Reza Nabi
Ph.D., University of Tehran

Mohammad Bagher Rezaee
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Fatemeh Sefidkon
Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands

Abbas Siami
Ph.D., University of Uromieh

Technical editor: Kamkar Jaimand
(Ph.D., Research Institute of Forests and Rangelands)

Editorial office:

Research Institute of Forests and Rangelands
P.O. Box 13185-116,Tehran, Iran.
Tel: +98 21 44195901-5 Fax: +98 21 44195907
Email: ijmapr@rifr-ac.ir

Abstracts are avilable on CABI Publishing:

www. Cabi - Publishing. org

فـــرم اشتـراک فصلنامهٔ پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

جهت اشتراک کافی است فرم اشتراک زیر را تکمیل و به همراه اصل فیش بانکی حق اشتراک قابل واریز در کلیه شعب (همنام) در ایران، به شماره حساب جاری ۱۴۳۴/۲۱ نزد بانک مرکزی وجوه درآمد مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع شعبه خزانه واریز نمایید و به نشانی دفتر مجله در تهران ارسال دارید.

نام و نام خانوادگی:

مدت اشتراک: **تاریخ شروع اشتراک:**

تلفن: **شغل:** **میزان تحصیلات:**

نشانی:

کد پستی: **صندوق پستی:**

توضیحات:.....

امضاء

حق اشتراک یکساله ۷۲۰۰۰ ریال

تهران، کیلومتر ۵ آزاد راه تهران - کرج، خروجی پیکانشهر، انتهای خیابان ۲۰ متری دوم،

بلوار مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

تهران، صندوق پستی: ۱۱۶-۱۳۱۸۵ پست الکترونیکی: ijmapr@rifr-ac.ir

تلفن: ۵-۴۴۱۹۵۹۰۱ نمابر: ۴۴۱۹۵۹۰۷

Islamic Republic of Iran
Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research and Education Organization
Research Institute of Forests and Rangelands

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants

Vol. 21 No.(4), 2006

Contents

Study of Some Ecological characteristics of *Gontscharovia popovii* (B. fedtsch. & Gontsch.) Boriss. in Hormozgan Province 598
M. Soltanipoor and R. Asadpoor
Determination of Tannin contents of four Genotype of *Quercus infectoria* Olive. and use of the Gall Powder in Wound Healing 597
A. Siami, R. Heidari, R. Pakbaz and M. Aghazade
Volatile Oil Constituents of *Eucalyptus stricklandii* Maiden and *Eucalyptus erythrocory* F. Muell 596
K. Jaimand, M.H. Assareh, M.B. Rezaee and M.M. Brazandeh
Investigation of Chemical Compositions and Anti-Microbial Effects of Essential Oils of *Salvia chloroleuca* Rech. f. & Aell. and *Nepeta fissa* C. A. Mey. 595
F. Alishahi-Noorani, F. Sefidkon, M. Yoosefzadi, S. Neamati and M.Khajeh-piri
Effect of Sowing Dates in the Productivity of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) CV. soroksari 594
R. Omidbaigi, K. Sadrai Menjili and F. Sefidkon
Essential Oil Composition of *Lepidium sativum* L. 593
M. Mirza and M. Najafpour Navaei
Study of Mycorrhizal Distribution of Medicinal Plants in Tandoureh National Park 592
S. Esmaeilzadeh, H. Zare-maivan and F. Ghanati
Protective Effect of Flavonoids, Against Red Blood Cell Hemolysis *591*
S. Asgary, Gh. Naderi and N. Askari
Determination of the Best Prechilling Treatment Period and Sowing Depth for Seeds of *Dorema Ammoniacum* D. Don. in Natural Condition *590*
B. Alijanpoor, P. Babakhanlu, F. Azhir and R. Habibi
Effect of PEG Induced Water Stress on Seed Germination Characteristics of Basil (*Ocimum basilicum* L.) 589
A. Hassani
Anti-Fungal Effect of Hydroalcoholic Extract of *Echinophora playloba* DC. on *Candida albicans* 588
M. Avijgan, M. Saadat and I. karimi
The Effect of Salicylic Acid on Some of the Secondary Metabolites (Saponins and Anthocynins) and Induction of Antimicrobial Resistance in the Medicinal Plant *Bellis perennis* L. 587
R. Khavari-nejad and A. Asadi

ISSN: 1735-0905