بررسی اثر حفاظتی چند گیاه دارویی از خانواده نعناعیان بر سمیت القاشده توسط پپتید بتاآمیلوییید در سلول‌های PC12

پروین بلالی[1]
ملیحه سودی[1*]
سودابه سعیدنیا[2]

۱- گروه سم‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه سم‌شناسی تلفن: ۸۲۸۸۴۵۴۹-۰۲۱
E-mail: soodi@modares.ac.ir

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۱/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۱۹

زمینه و هدف: تجمع بیش از حد پپتید بتاآمیلوییید که جزو اصلی پلاک‌های پیری در بیماری آلزایمر می‌باشد از طریق القای استرس اکسیداتیو باعث مرگ سلول‌های عصبی می‌شود و به همین دلیل عوامل آنتی‌اکسیدان در درمان بیماری استفاده می‌شوند. گیاهان دارویی از خانواده نعناعیان به‌طور گسترده در طب سنتی ایران استفاده می‌شوند. این گیاهان حاوی ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند و برای بعضی گیاهان این خانواده خاصیت نوروپروتکتیو گزارش شده است. در این مطالعه هفت گیاه از جنس‌های مریم گلی و مرزه انتخاب شدند و اثر حفاظتی آن‌ها بر سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلوییید در سلول‌های PC12 بررسی شد.

روش بررسی: عصاره‌گیری از سر شاخه‌های هوایی گیاهان به‌ترتیب با حلال‌های اتیل استات و متانول به روش پرکولاسیون در دمای اتاق انجام گرفت. سلول‌های PC12 با غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی در محیط کشت یک ساعت قبل از اضافه کردن پپتید بتاآمیلوییید انکوبه شدند و سمیت سلولی ۲۴ ساعت بعد از اضافه کردن پپتید بتاآمیلوییید به محیط کشت، به روش سنجش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: از بین عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه عصاره گیاهان مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*)، مریم گلی باغی (*Salvia officinalis*) و مریم گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) اثر حفاظتی چشم‌گیری در برابر سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلوییید نشان دادند ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: ترکیبات اصلی این عصاره‌ها شامل رزمارینیک اسید، نارینژنین، آپژنین و لوتئولین می‌باشد که می‌توانند در اثرات نوروپروتکتیو مشاهده شده نقش داشته باشند. با توجه به اثرات حفاظتی مشاهده شده در برابر پپتید بتاآمیلوییید، این گیاهان می‌توانند در درمان بیماری آلزایمر مورد توجه قرار گیرند.

کلمات کلیدی: آلزایمر، پپتید بتاآمیلوییید، سمیت عصبی، خانواده نعناعیان.

مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease) شایع‌ترین شکل زوال عقل در پیری می‌باشد. دو عامل اصلی این بیماری شامل تشکیل پلاک‌های پیری متشکل از پپتید بتاآمیلوییید و کلافه‌های نوروفیبریلار (Neurofibrillary tangles) متشکل از پروتیین‌های هیپرفسفریله تاو (Tau) می‌باشد. پپتید بتاآمیلوییید طی فرایند پروتئولیتیک از پروتیین پیش‌ساز خود موسوم به پروتیین پیش‌ساز بتاآمیلوییید (Amyloid Precursor Protein, APP) ساخته می‌شود.[1]

مکانیسم‌های سمیت بتاآمیلوییید شامل اکسیداتیو استرس، اختلال در اعمال میتوکندری، از بین رفتن سیناپس‌ها و تخریب گیرنده‌های نیکوتینی، آپوپتوز و واکنش‌های التهابی می‌باشد. اکسیداتیو استرس نقش بسیار مهمی در پیشبرد بیماری آلزایمر ایجاد می‌کند. تجمع بتاآمیلوییید در خارج سلول، باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

(Reactive Oxygen Species, ROS) می‌شود و این رادیکال‌ها با لیپیدها، پروتیین‌ها، DNA، RNA واکنش داده و باعث آسیب جدی به سلول می‌شوند.[۲و۳] یکی از راه‌کارها برای درمان بیماری آلزایمر به‌کار بردن ترکیبات آنتی‌اکسیدان است. این ترکیبات با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌توانند از پیشرفت بیماری جلوگیری نمایند.[۴] از آنجایی که بیماری آلزایمر یک بیماری پیچیده می‌باشد برای درمان نیاز به ترکیباتی است که از مسیرهای مختلف باعث بهبود بیماری شوند. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات مختلفی هستند که می‌توانند با چند مکانیسم مختلف بیماری‌های پیچیده را کنترل نمایند. به همین دلیل در سال‌های اخیر توجه زیادی به استفاده از گیاهان دارویی برای درمان این بیماری شده است.[۵]

خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*)، در طب سنتی ایران همواره مورد استفاده بوده‌اند. ۸۱ گونه از این خانواده در ایران استفاده دارویی دارند که بیش‌تر به‌عنوان تقویت کننده و برای درمان نفخ و سوءهاضمه و عفونت‌های میکروبی و قارچی بوده است.[۶] جنس *Salvia L*.با نام فارسی مریم گلی و جنس *Satureja L* با نام فارسی مرزه به خانواده لامیاسه تعلق دارند جنس مریم گلی ۵۸ گونه و جنس مرزه ۱۵ گونه در ایران دارند.

ترکیبات موجود در گیاهان این خانواده به‌طور عمده شامل فلاونوییدها و ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشند[۷] و اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و مهار کننده کولین استرازی برای گیاهان این دو جنس گزارش شده است. هم‌چنین این گیاهان به‌طور سنتی در درمان اختلالات عصبی مثل افسردگی اضطراب و کم‌خوابی و افزایش حافظه استفاده می‌شوند.[۸و۶]

در این مطالعه گیاهان مریم گلی لبه‌دار (*Salvia limbata*) مریم گلی مرتفع یا مریم گلی بلند (*Salvia hypoleuca*) مریم گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) مریم گلی باغی یا مریم گلی دارویی (*Salvia officinalis*) مریم گلی ترکه‌ای یا مریم گلی هرز (*Salvia virgata*) از جنس مریم گلی (*Salvia*) و مرزه بختیاری (*Saturejabachtiarica*) و مرزه جنگلی یا مرزه سفید (*Saturejamutica*) از جنس مرزه (*Satureja*) انتخاب شدند و اثر حفاظتی آن‌ها بر سمیت القا شده توسط پپتید بتاآمیلوییید در سلول‌های PC 12 مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف این مطالعه شناسایی گیاهان دارویی موثر در درمان بیماری آلزایمر است.

روش بررسی

مطالعه حاضر یک مطالعه بنیادی- کاربردی می‌باشد که در سال ۱۳۸۹ در گروه سم‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. رده سلولی PC 12 از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. پپتید بتاآمیلوییید (Aβ) و 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) و Poly-D-lysin (PDL) از شرکت (Sigma Co., USA) تهیه شد و محیط کشت سلول (DMEM) سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum, FBS) و تریپسین از شرکت (GIBCO Co., USA) و حلاّل‌های مورد استفاده از شرکت (MERK Co., Germany) خریداری گردید.

روش عصاره‌گیری از گیاهان: گیاهان مورد مطالعه از نقاط مختلف محل رویش جمع‌آوری شدند. عصاره‌گیری از اندام‌های هوایی گیاهان جمع‌آوری شده، پس از خشک شدن، به روش پرکولاسیون انجام گرفت. ابتدا عصاره‌گیری با حلاّل اتیل استات و بعد با حلاّل متانول صورت گرفت. در هر مرحله بعد از گذشت هر ۲۴ ساعت مخلوط حلاّل و عصاره، صاف شده و حلاّل جدید به تفاله گیاه اضافه می‌شد، سپس عصاره‌های به‌دست آمده با دستگاه تقطیر دوار در خلاّ تغلیظ شده و بعد با دستگاه Freeze drier به‌طور کامل خشک شدند.

کشت سلول و نحوه تیمار سلول‌ها: سلول‌های PC12 در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد بین‌المللی و استرپتومایسین ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در فلاسک استریل کشت سلول کوت شده با PDL و در شرایط دمای ۳۷ °C و فشار۵٪ CO2 کشت داده شدند.

جهت بررسی اثر حفاظتی عصاره‌ها بر سمیت القا شده توسط بتاآمیلوییید، سلول‌ها با غلظت 10^4 سلول در هر چاهک پلیت‌های ۹۶ خانه کوت شده با PDL کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت پپتید بتاآمیلوییید با غلظت نهایی ۲µmol به محیط کشت اضافه گردید. محلول استوک پپتید بتاآمیلوییید با غلظت ۱mmol با حل کردن یک میلی‌گرم پودر پپتید در ۱ml آب مقطر استریل تهیه گردید. محلول استوک قبل از اضافه شدن به محیط به مدت سه روز در دمای ۳۷ °C انکوبه گردید تا فرم تجمع یافته آن تشکیل شود. در گروه‌های تیمار سلول‌ها یک ساعت قبل از اضافه کردن پپتید بتاآمیلوییید با عصاره‌ها

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

در طیف غلظتی ۲۰۰µg/ml–۰/۰۱ انکوبه شدند. غلظت‌های مورد نظر از عصاره‌های گیاهی از استوک ۲۰۰۰µg/ml عصاره‌های حل شده در بافر PBS تهیه گردید. عصاره‌هایی که در بافر PBS حل نمی‌شدند ابتدا محلول استوک عصاره در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) تهیه گردید و غلظت‌های مورد نظر با رقیق کردن محلول استوک با محیط کشت به‌دست آمد. غلظت نهایی DMSO در محیط ۰/۱٪ بود. میزان بقای سلول‌ها بعد از سپری شدن زمان انکوباسیون به‌وسیله اندازه‌گیری فورمازان تولید شده از احیای MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای بررسی اثر عصاره‌های مورد مطالعه میزان بقای سلول‌ها بعد از ۲۴ ساعت به روش سنجش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش به‌منظور تایید عدم سمیت عصاره‌ها در محدوده غلظتی مورد مطالعه بر روی سلول‌های PC12 انجام گرفت.[9]

اندازه‌گیری میزان بقای سلول‌ها به روش MTT: بعد از اتمام زمان انکوباسیون محیط کشت سلول‌ها با محیط تازه تهیه شده تعویض گردید و به هر خانه پلیت از محلول استوک MTT اضافه گردید به‌طوری که غلظت نهایی MTT در محیط کشت ۰/۵mg/ml باشد سپس پلیت‌ها به‌مدت چهار ساعت در انکوباتور انکوبه گردیدند. در مدت زمان انکوباسیون ترکیب MTT توسط سلول‌های زنده به ماده فورمازان احیا می‌شود که در محیط مائی غیر محلول است. بنابراین بعد از اتمام زمان انکوباسیون محیط رویی هر چاهک را به آرامی خارج کرده و به منظور حل کردن بلورهای فورمازان تولید شده به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید و بعد از حل شدن کامل بلورهای فورمازان، جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر (Bio Tech, USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر در برابر طول موج رفرانس ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 4 صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌های گروه‌های مورد مطالعه از تست آماری One- way ANOVA و Newman-Keuls Post test استفاده گردید. تمامی آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شده است و نتایج به صورت درصد کنترل بیان گردیده است.

یافته‌ها

اثر حفاظتی عصاره‌های مورد مطالعه بر سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلوییید در جدول- ۱ نشان داده شده است. انکوبه کردن سلول‌ها با پپتید بتاآمیلوییید به مدت ۲۴ ساعت تقریبا ۵۰٪ برای سلول‌ها سمیت داشته است. اثر حفاظتی ذکر شده در این جدول برای غلظت ۱۰۰µg/ml عصاره‌ها می‌باشد. پیش‌درمانی سلول‌ها با عصاره‌های *S.macrosiphon*، *S.officinallis* و *S.bachtiarica* به‌طور معنی‌داری باعث کاهش سمیت پپتید بتاآمیلوییید در این سلول‌ها شده است. در حالی که پیش‌درمانی سلول‌ها با عصاره‌های *S.limbata*، *S.virgata*، *S.mutica* و *S.hypoleuca* اثر حفاظتی معنی‌داری نداشته است و این عصاره‌ها نتوانستند از سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلوییید جلوگیری نمایند. این اثر در محدوده غلظتی ۲۰۰µg/ml–۰/۱ برای این عصاره‌ها مورد مطالعه قرار گرفت که در هیچ‌کدام از غلظت‌ها اثر حفاظتی مشاهده نشد. غلظت‌های بالاتر به‌علت این‌که اثر سمی بر روی سلول داشتند آزمایش نشدند.

در مورد عصاره *S.bachtiarica* غلظت‌های ۲۰۰µg/ml–۰/۰۰۱ آزمایش شد. اثر حفاظتی این عصاره از غلظت ۰/۰۱µg/ml شروع می‌شود و به‌صورت وابسته به دوز افزایش می‌یابد و بیش‌ترین اثر حفاظتی مربوط به غلظت ۲۰۰µg/ml می‌باشد (نمودار- ۱). اثر حفاظتی عصاره گیاه *S.officinalis* از غلظت ۰/۱µg/ml شروع می‌شود و به‌صورت وابسته به دوز افزایش می‌یابد و برای این عصاره

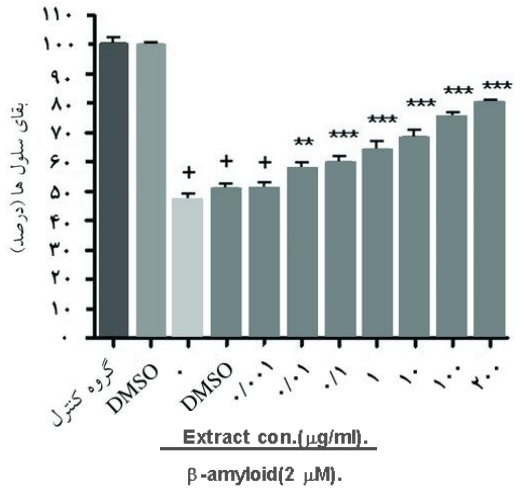
جدول- ۱: مقایسه اثر حفاظتی عصاره‌ها در غلظت ۱۰۰µg/ml در برابر سمیت بتاآمیلوییید

	درصد بقای سلول‌ها (Viability) (میانگین± خطای استاندارد از میانگین)
بتاآمیلوییید	۵۲/۷۷±۳/۹۷
Salvia macrosiphon	۷۳/۰۵±۴/۸***
Salvia officinallis L	۷۴/۹±۱/۷۲***
Saturejabachtiarica	۷۵/۶۱±۱/۴۸***
Saturejamutica	۶۰/۱۲±۲/۶۳*
Salvia virgata	۵۲/۵۱±۱/۶۷
Salvia limbata	۵۴/۴۷±۳/۲
Salvia hypoleuca	۵۲/۱۲±۱/۴۸

سلول‌های PC12 یک ساعت قبل از اضافه کردن بتاآمیلوییید (۲µM) با عصاره‌ها انکوبه شدند و میزان بقای سلولی ۲۴ ساعت بعد اندازه‌گیری شده است.

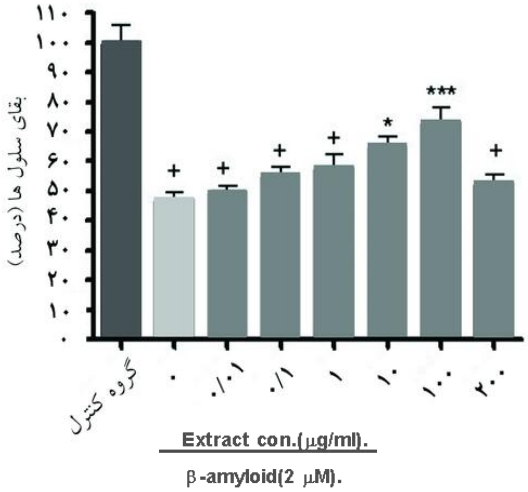
* اختلاف معنی‌دار با گروه بتاآمیلوییید را نشان می‌دهد (*** P<۰/۰۰۱، * P<۰/۰۵)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]



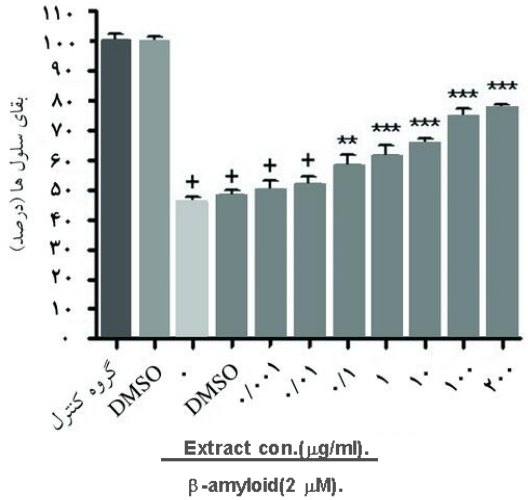
نمودار- ۱: اثر حفاظتی *Satureja bachtiarica* در برابر سمیت بتاآمیلوییید

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده است.
+ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵ +). * تفاوت معنی‌دار با گروه بتاآمیلوییید را نشان می‌دهد (*** P<۰/۰۰۱، ** P<۰/۰۱، * P<۰/۰۵)



نمودار- ۳: اثر حفاظتی *Salvia macrosiphon* در برابر سمیت بتاآمیلوییید

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده است.
+ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵ +). * تفاوت معنی‌دار با گروه بتاآمیلوییید را نشان می‌دهد (*** P<۰/۰۰۱، * P<۰/۰۵)



نمودار- ۲: اثر حفاظتی *Salvia officinalis* در برابر سمیت بتاآمیلوییید

نتایج به‌صورت میانگین± خطای استاندارد از میانگین نشان داده شده است.
+ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵ +). * تفاوت معنی‌دار با گروه بتاآمیلوییید را نشان می‌دهد (*** P<۰/۰۰۱، ** P<۰/۰۱، * P<۰/۰۵)

هم بیش‌ترین اثر حفاظتی مربوط به غلظت ۲۰۰µg/ml می‌باشد (نمودار- ۲). در *Salvia macrosiphoBoiss* غلظت‌های ۱۰۰µg/ml و ۱۰ اثر حفاظتی را نشان دادند در حالی‌که در غلظت بالاتر ۲۰۰µg/ml اثر حفاظتی مشاهده نمی‌شود (نمودار- ۳). در محدوده غلظتی که برای اثر حفاظتی عصاره‌ها انتخاب شده است هیچ‌کدام از عصاره‌ها اثر سمی بر روی سلول‌های PC12 نداشتند.

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره متانولی گیاهان *S.bachtiarica*, *S.macrosiphon*, *S.officinalis* از خانواده نعناعیان اثر چشمگیری در برابر سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلوییید دارند. این اثر در مورد عصاره گیاهان *S.officinalis, S.bachtiarica* وابسته به غلظت می‌باشد و با افزایش غلظت اثرات حفاظتی نیز افزایش می‌یابد. متاسفانه به‌علت عدم حلالیت غلظت‌های بالاتر از ۲۰۰µg/ml در محیط کشت این غلظت‌ها مورد آزمایش قرار نگرفت. در مورد عصاره گیاه *S.macrosiphon* حداکثر اثر حفاظتی در غلظت ۱۰۰µg/ml مشاهده شد و در غلظت‌های بالاتر اثر حفاظتی کم شده است. این عصاره در غلظت ۲۰۰µg/ml اثر سمی بر روی سلول‌های PC12 ندارد و اثر مشاهده شده به‌خاطر اثر سمی عصاره نمی‌باشد و موید این مطلب

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

است که اثر حفاظتی این عصاره وابسته به غلظت نمی‌باشد و در غلظت‌های بالاتر کاهش می‌یابد. چنین اثری در مورد اثر حفاظتی ترکیبات مهارکننده کولین استراز مثل دونپزیل و تاکرین در برابر سمیت پپتید بتاآمیلویید در کشت سلول گزارش شده است.[۱۰] گیاهان خانواده نعناعیان به‌خصوص دو جنس مریم گلی و مرزه استفاده دارویی متعددی دارند. ترکیبات اصلی این گیاهان ترکیبات پلی‌فنلی، فلاونوییدی و ترپنوییدی است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند.[۶] یکی از مسیرهای سمیت پپتید بتاآمیلویید در سلول‌های PC12 استرس اکسیداتیو است. این پپتید باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که در نهایت منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، اکسیداسیون پروتیین‌ها و آسیب‌های اکسیداتیو به DNA سلول می‌شود و از این طریق باعث القای مرگ سلول عصبی از طریق آپوپتوزیس یا نکروز می‌شود.[۳و۱۱]

مطالعات نشان می‌دهند که عوامل آنتی‌اکسیدان می‌توانند با کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پپتید بتاآمیلویید از مرگ سلول عصبی جلوگیری نمایند.[۴و۱۲] بنابراین بخشی از اثرات حفاظتی مشاهده شده در این مطالعه را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاهان نسبت داد. مطالعه‌ای که توسط Gohari انجام شده، نشان می‌دهد که عصاره متانولی گیاه *S.macrosiphon* اثر آنتی‌اکسیدانی زیادی دارد.[۱۳] ترکیبات اصلی موجود در عصاره متانولی این گیاه شامل اپیژنین-۷-O-گلوکوزید (apigenin-7-O-glucoside) و لوتئولین-۷-O-گلوکوزید (luteolin-7-O-golucoside) می‌باشند.[۱۴] آپیژنین جزو ترکیبات فلاونوییدی است که اثر آنتی‌اکسیدانی آن گزارش شده است. در سلول‌های نوروبلاستومای انسان (SH-SY5Y)، آپیژنین، کاسپاز- ۳ را غیر فعال کرده و باعث کاهش آپوپتوزیس ناشی از پراکسید هیدروژن می‌شود.[۱۵]

ترکیبات اصلی موجود در عصاره *S.officinalis* عبارتند از رزمارینیک اسید، کافییک اسید، فرولیک اسید که جزو ترکیبات فنلی می‌باشند و لوتئولین-۷-گلوکوزید و آپی‌ژنین-۷-گلوکوزید که جزو ترکیبات فلاونوییدی می‌باشند. ترکیب عمده در عصاره متانولی رزمارینیک اسید است.[۱۶] ترکیب اتیل‌استری فرولیک اسید اثر حفاظتی در برابر سمیت پپتید بتاآمیلویید در سلول‌های کشت داده شده هیپوکامپ داشته است که اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی خود را اعمال می‌کند.[۱۷] کافییک اسید سلول‌های PC12 را از اثرات سمی پپتید بتاآمیلویید از طریق کاهش کلسیم داخل سلولی و کاهش تشکیل پروتیین‌های تاو محافظت می‌کند.[۱۸] رزمارینیک اسید یک ترکیب فنلی ساده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این ترکیب خاصیت پاک‌سازی (Scavenger) رادیکال‌های اکسیژن و رادیکال بسیار فعال پروکسی نیتریت را دارد[۱۹] و در مطالعه صورت گرفته مشخص شده است که رزمارینیک اسید اثر محافظتی در برابر سمیت سلولی ناشی از پپتید بتاآمیلویید ایجاد می‌کند. رزمارینیک اسید از شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن فرایند لیپید پراکسیداسیون شکسته شدن DNA و فعال شدن کاسپاز- ۳ که به‌وسیله پپتید بتاآمیلویید در سلول‌های PC12 ایجاد می‌گردد جلوگیری می‌نماید هم‌چنین مانع هیپرفسفوریلاسیون پروتیین تاو می‌گردد.[۲۰] رزمارینیک اسید هم‌چنین قادر است آنزیم کولین استراز را مهار کند[۱۹] و از این طریق هم می‌تواند اثرات حفاظتی خود را اعمال کند و اثرات حفاظتی مهار کننده‌های آنزیم کولین استراز در سمیت ناشی از پپتید بتاآمیلویید شناخته شده است.[۱۰]

ترکیب اصلی در عصاره متانولی گیاه *S.bachtiarica* لوتئولین (Luteolin) نارینژنین (Naringenin) و رزمارینیک اسید می‌باشد.[۲۱] در مطالعات فارماکولوژیکی لوتئولین اثرات حفاظتی برای DNA در برابر H_2O_2 را داشته و اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد برای آن گزارش شده است.[۲۲] نتایجی که از کشت سلول‌های SH-SY5Y به‌دست آمده نشان داده است که لوتئولین باعث کاهش تولید و ترشح پپتید بتاآمیلویید، تصحیح عمل میتوکندری و کاهش عوامل پیش‌برنده آپوپتوزیس می‌شود. لوتئولین باعث کاهش تولید ROS در داخل سلول‌ها و افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) می‌شود.[۲۳] نارینژنین نیز اثرات نوروپروتکتیو قابل توجهی دارد و از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش کلسیم داخل سلولی از مرگ سلول‌های عصبی جلوگیری می‌کند.[۲۴] تجویز نارینژنین در مدل حیوانی پارکینسون باعث بهبود علایم می‌شود و از تخریب نورون‌های دوپامینرژیک جلوگیری می‌کند.[۲۵]

یکی دیگر از مکانیسم‌های سمیت پپتید بتاآمیلویید از طریق ایجاد التهاب می‌باشد. تزریق پپتید بتاآمیلویید در مغز حیوانات آزمایشگاهی باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی شدیدی می‌شود که با افزایش بیان آنزیم سیکلواکسیژناز۲ نیتریک اکساید سنتازو تولید اینترلوکین- ۱ همراه بوده است.[۲۶] گزارشاتی وجود دارد که بعضی عصاره‌های گیاهی و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

ترکیبات موثره آن‌ها از طریق مهار مکانیسم‌های التهابی القا شده توسط پپتید بتاآمیلوییید از سمیت آن جلوگیری می‌کنند.[۵] به‌طور مثال تزریق فرولیک اسید به‌مدت چهار هفته قبل از تزریق پپتید بتاآمیلوییید در ناحیه هیپوکامپ موش سوری پاسخ‌های التهابی ناشی از آن را مهار می‌کند.[۲۷] ترکیب Xylocozide G که ماده موثره یک گیاه دارویی مورد استفاده در طب سنتی چینی است از طریق کاهش بیان آنزیم سیکلواکسیژناز۲ و کاهش آزادسازی واسطه‌های التهابی شامل فاکتور نکروز دهنده توموری (TNFα) و اینترلوکین- ۱ و پروستاگلاندین E2 از سمیت پپتید بتاآمیلوییید جلوگیری می‌کند.[۲۸] اثرات ضدالتهابی برای گیاهان خانواده نعناعیان و ترکیبات موثره آن‌ها مثل رزمارینیک اسید گزارش شده است.[۶و۱۹]

بنابراین، این احتمال دور از ذهن نیست که گیاهان مورد مطالعه از طریق مهار مکانیسم‌های التهابی از سمیت پپتید بتاآمیلوییید جلوگیری می‌نمایند که نیاز به مطالعه بیش‌تر دارد. به‌طور کلی نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره متانولی گیاهان *S.bachtiarica*, *S.macrosiphon*, *S.officinalis* اثرات حفاظتی چشمگیری در سمیت عصبی ناشی از پپتید بتاآمیلوییید دارند.

این گیاهان حاوی ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوییدی می‌باشند که با مکانیسم‌های مختلف از جمله کاهش استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس از مرگ سلولی ناشی از پپتید بتاآمیلوییید جلوگیری می‌کنند و اثر حفاظتی مشاهده شده برای این گیاهان را می‌توان به این ترکیبات نسبت داد. البته از نقش سایر ترکیبات موجود در این گیاهان که مطالعه‌ای بر روی آن‌ها انجام نشده و نقش مکانیسم‌های دیگر مانند مهار مسیرهای التهابی و هم‌چنین از احتمال اثر تجمعی این ترکیبات نمی‌توان چشم‌پوشی کرد که نیاز به مطالعات بیش‌تر دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که گیاهان *S.bachtiarica*, *S.macrosiphon*, *S.officinalis* می‌توانند در درمان بیماری آلزایمر مورد توجه قرار گیرند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "اثر حفاظتی عصاره متانولی استخراج شده از چند گونه Salvia و Satureja بر سمیت القا شده توسط پپتید β–آمیلوییید بر سلول‌های PC12" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۰ با کد ۶۸۰۸۵/۵۲ می‌باشد که با حمایت دانشگاه تربیت مدرس اجرا شده است، هم‌چنین این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "مطالعه اثر تعداد بیست عصاره گیاهی مختلف از گیاهان دارویی در بهبود بیماری آلزایمر" به کد ۹۱۰۸ می‌باشد که با حمایت مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

References

1. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006:29;368(9533):387-403.
2. Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R. Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Free Radic Biol Med* 2007;43(5):658-77.
3. Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Muñoz FJ, Ruiz F, Leighton F, et al. The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 2000;62(6):633-48.
4. Ono K, Hamaguchi T, Naiki H, Yamada M. Anti-amyloidogenic effects of antioxidants: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762(6):575-86.
5. Anekonda TS, Reddy PH. Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease? *Brain Res Brain Res Rev* 2005;50(2):361-76.
6. Naghibi F., Mosaddegh M., MohammadiMotamed M., Ghorbani A.Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iran J Pharm Res (IJPR)* 2005;2:63-79.
7. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Press; 1994. [Persian]
8. Adams M, Gmünder F, Hamburger M. Plants traditionally used in age related brain disorders: a survey of ethnobotanical literature. *J Ethnopharmacol* 2007;113(3):363-81.
9. Ge YS, Teng WY, Zhang CD. Protective effect of cyclophilin A against Alzheimer's amyloid beta-peptide (25-35)-induced oxidative stress in PC12 cells. *Chin Med J (Engl)* 2009;122(6):716-24.
10. Svensson AL, Nordberg A. Tacrine and donepezil attenuate the neurotoxic effect of A beta(25-35) in rat PC12 cells. *Neuroreport* 1998;9(7):1519-22.
11. Butterfield DA, Drake J, Pocernich C, Castegna A. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. *Trends Mol Med* 2001;7(12):548-54.
12. Aliev G, Obrenovich ME, Reddy VP, Shenk JC, Moreira PI, Nunomura A, et al. Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice. *Mini Rev Med Chem* 2008;8(13):1395-406.
13. Gohari AR, Hajimehdipoor H, Saeidnia S, Ajani Y, Hadjiakhoondi A. Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP Assay. *J Med Plants* 2011;10(37):54-60.
14. Gohari AR, Ebrahimi H, Saeidnia S, Foruzani M, Ebrahimi P, Ajani Y. Flavones and flavone glycosides from Salvia macrosiphon Boiss. *Iran J Pharm Res (IJPR)* 2011;10(2):247-51.
15. Kang SS, Lee JY, Choi YK, Kim GS, Han BH. Neuroprotective effects of flavones on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y neuroblostoma cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14(9):2261-

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

4.
16. Shekarchi M, Hajimehdipoor H, Saeidnia S, Gohari AR, Hamedani MP. Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacogn Mag* 2012;8(29):37-41.
17. Sultana R, Ravagna A, Mohmmad-Abdul H, Calabrese V, Butterfield DA. Ferulic acid ethyl ester protects neurons against amyloid beta- peptide(1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: relationship to antioxidant activity. *J Neurochem* 2005;92(4):749-58.
18. Sul D, Kim HS, Lee D, Joo SS, Hwang KW, Park SY. Protective effect of caffeic acid against beta-amyloid-induced neurotoxicity by the inhibition of calcium influx and tau phosphorylation. *Life Sci* 2009;84(9-10):257-62.
19. Petersen M, Simmonds MSJ. Molecules of interest rosmarinic acid. *Phytochem* 2003;62:121-5.
20. Iuvone T, De Filippis D, Esposito G, D'Amico A, Izzo AA. The spice sage and its active ingredient rosmarinic acid protect PC12 cells from amyloid-beta peptide-induced neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;317(3):1143-9.
21. Gohari A, Davood A, Saeidnia S, Khodabakhsh A. Phytochemical Investigation of Satureja Bachtiarica. [Thesis] Tehran: Islamic Azad University of Tehran,1388-1389. [Persian].
22. Cheng HY, Hsieh MT, Tsai FS, Wu CR, Chiu CS, Lee MM, et al. Neuroprotective effect of luteolin on amyloid beta protein (25-35)-induced toxicity in cultured rat cortical neurons. *Phytother Res* 2010;24 Suppl 1:S102-8.
23. Liu R, Meng F, Zhang L, Liu A, Qin H, Lan X, et al. Luteolin isolated from the medicinal plant Elsholtzia rugulosa (Labiatae) prevents copper-mediated toxicity in β-amyloid precursor protein Swedish mutation overexpressing SH-SY5Y cells. *Molecules* 2011;16(3):2084-96.
24. Braidy N, Grant R, Adams S, Guillemin GJ. Neuroprotective effects of naturally occurring polyphenols on quinolinic acid-induced excitotoxicity in human neurons. *FEBS J* 2010;277(2):368-82.
25. Zbarsky V, Datla KP, Parkar S, Rai DK, Aruoma OI, Dexter DT. Neuroprotective properties of the natural phenolic antioxidants curcumin and naringenin but not quercetin and fisetin in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Free Radic Res* 2005;39(10):1119-25.
26. Giovannini MG, Scali C, Prosperi C, Bellucci A, Vannucchi MG, Rosi S, et al. Beta-amyloid-induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: involvement of the p38MAPK pathway. *Neurobiol Dis* 2002;11(2):257-74.
27. Cho JY, Kim HS, Kim DH, Yan JJ, Suh HW, Song DK. Inhibitory effects of long-term administration of ferulic acid on astrocyte activation induced by intracerebroventricular injection of beta-amyloid peptide (1-42) in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29(6):901-7.
28. Yu Y, Zhou L, Sun M, Zhou T, Zhong K, Wang H, et al. Xylocoside G reduces amyloid-β induced neurotoxicity by inhibiting NF-κB signaling pathway in neuronal cells. *J Alzheimers Dis* 2012;30(2):263-75.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]

TUMJ Tehran University Medical Journal, October 2012; Vol. 70, No. 7: 402-409 Original Article

Protective effects of some medicinal plants from Lamiaceae family against beta-amyloid induced toxicity in PC12 cell

Parvine Balali M.Sc.[1]
Maliheh Soodi Ph.D.[1*]
Soodabeh Saeidnia Ph.D.[2]

1- Department of Toxicology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2- Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Toxicology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Al-Ahmad High way, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-82884549
E-mail: soodi@modares.ac.ir

Abstract

Received: January 29, 2012 Accepted: July 09, 2012

Background: Excessive accumulation of beta-amyliod peptide (Aβ), the major component of senile plaques in Alzheimer's disease (AD), causes neuronal cell death through induction of oxidative stress. Therefore, antioxidants may be of use in the treatment of AD. The medicinal plants from the *Lamiaceae* family have been widely used in Iranian traditional medicine. These plants contain compounds with antioxidant activity and some species in this family have been reported to have neuroprotective properties. In the present study, methanolic extract of seven plants from *salvia* and *satureja* species were evaluated for their protective effects against beta-amyloid induced neurotoxicity.

Methods: Aerial parts of the plants were extracted with ethyl acetate and methanol, respectively, by percolation at room temperature and subsequently, methanolic extracts of the plants were prepared. PC12 cells were incubated with different concentrations of the extracts in culture medium 1h prior to incubation with Aβ. Cell toxicity was assessed 24h after addition of Aβ by MTT assay.

Results: *Satureja bachtiarica, Salvia officinalis* and *Salvia macrosiphon* methanolic extracts exhibited high protective effects against Aβ induced toxicity ($P<0.001$). Protective effects of *Satureja bachtiarica* and *Salvia officinalis* were dose-dependent.

Conclusion: The main constituents of these extracts are polyphenolic and flavonoid compounds such as rosmarinic acid, naringenin, apigenin and luteolin which have antioxidant properties and may have a role in neuroprotection. Based on neuroprotective effect of these plants against Aβ induced toxicity, we recommend greater attention to their use in the treatment of Alzheimer disease.

Keywords: alzheimer, β-amyloid, *Lamiaceae* family, neurotoxicity.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-13]