تاریخ چاپ: زمستان ۱۳۹۰

بررسی خواص ضد جهشی و ضد سرطانی تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب (اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید) با استفاده از تست ایمز

*صدیقه مهرابیان، حماسه خلیلی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
مهرداد هاشمی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران پزشکی

چکیده

تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه دارند. فعالیت ضد تکثیری تری ترپنوئیدها علیه سلول‌های سرطانی سینه، کبد و کولون اثبات شده است. اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید فراوان‌ترین تری‌ترپنوئید موجود در پوست سیب هستند. هدف از این پژوهش، تعیین خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی اورسولیک و اولئانولیک اسید در برابر مادهٔ جهش‌زای آزید سدیم با استفاده از میکروزوم و تست ایمز است. مواد استفاده شده در این پژوهش اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید به صورت پودر سفیدرنگ و محلول در استن هستند. باکتری مورد استفاده در این آزمون، سویه‌ای از سالمونلا تیفی موریوم (TA100) است که یک جهش انتخابی در اپرن هیستیدین خود دارد. همچنین با افزودن میکروزوم کبد موش اثر ضد سرطانی این دو ماده نیز تأیید شد. درصد بازدارندگی به‌دست آمده در حضور میکروزوم (s9) برای اورسولیک اسید ۸۳ درصد و برای اولئانولیک اسید ۷٦/٤ درصد بود. (در غیاب s9 این مقدار در اورسولیک اسید ۷۷/٦ درصد و برای اولئانولیک اسید ٦۹/۸ درصد است.) بنا بر این حضور مادهٔ ضد جهش اورسولیک و اولئانولیک اسید در کنار ماده جهش‌زا، مقدار جهش برگشتی را کاهش می‌دهد و از آن‌جا که بازدارندگی بیش از ٤۰ درصد به‌عنوان ضد جهش قوی شناخته می‌شود، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پوست سیب دارای تری‌ترپنوئیدهایی با خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی قوی است که این خاصیت در اورسولیک اسید نسبت به اولئانولیک اسید بیش‌تر است.

مقدمه

مقایسهٔ داده‌های به‌دست آمده از کشورهای مختلف، تفاوت زیادی را در نسبت شیوع بسیاری از انواع سرطان نشان می‌دهد. این امر سبب شده است که محققان امیدوار باشند که هر نوع سرطان به طور چشمگیری قابل پیش‌گیری باشد [۱]. در هر صورت هر تغییر در شیوهٔ زندگی یا آلودگی در کشورهای صنعتی ممکن است بر خطرات ابتلا به سرطان در آینده تأثیر گذار باشد. در حدود ۸۰ درصد از سرطان‌های انسانی احتمالاً به دلایل محیطی است [۲].

واژه‌های کلیدی: پوست سیب، سالمونلا تیفی موریوم، اولئانولیک اسید، اورسولیک اسید، خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی
دریافت ۸۹/۲/۱۸ پذیرش ۸۹/۸/۲٤
*نویسنده مسئول hamaseh_kh@yahoo.com

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

بررسی‌های اپیدمیک نشان داده‌اند که رژیم غذاایی نقش مهمی در پیش‌گیری از سرطان دارد. این بررسی‌ها پیشنهاد می‌کنند که افزایش مصرف غلات غنی از فیبر، سبزیجات و میوه‌ها و کاهش مصرف ترکیبات پرچرب و الکل در این امر مؤثر خواهند بود. رژیم غذایی انسان حاوی انواع گسترده‌ای از جهش‌زاها و سرطان‌زاهای طبیعی و بسیاری از ضد جهش‌ها و ضد سرطان‌زاهای طبیعی است. بسیاری از این جهش‌زاها و سرطان‌زاها ممکن است سبب تولید رادیکال اکسیژن شوند. رادیکال اکسیژن به‌نوبهٔ خود نقش مهمی در فرآیندهای تخریبی (آسیب DNA و جهش) ایفا می‌کنند که این فرآیندها ممکن است منجر به سرطان، ناراحتی‌های قلبی و پیری زودرس شوند [۳]، [۱۵].

آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی می‌توانند جنبهٔ مهمی از مکانیسم دفاعی بدن در برابر این فرآیندهای تخریبی باشند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها ضد سرطان هستند [٤].

سیب با نام علمی مالوس دومستیکا[۱] از خانواده گلسرخیان[۲]، میوهٔ درختی است با این نام که ۳ تا ۱۲ متر طول دارد. سیب علاوه بر آن‌که غنی از آنتی‌اکسیدان است، غنی از مواد غذایی نیز هست که این امر آن را انتخاب مناسبی برای رژیم غذایی روزانه می‌سازد [۵]. پلی‌فنول‌ها منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌های سیب هستند. کل محتوای فنولیک سیب بین ۱۱۰ تا ۳۵۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم سیب تازه است. تحقیقات نشان داده‌اند که پوست سیب نسبت به گوشت سیب خاصیت آنتی‌اکسیدان بیش‌تری دارد البته اکثر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در پوست و گوشت یکسان هستند، اما غلظت این مواد در پوست از گوشت بیش‌تر است. منبع دیگر آنتی‌اکسیدان‌های سیب تری‌ترپنوئیدها هستند که عمدتاً در پوست قرار دارند [۲۲]. پوست سیب حاوی مقدار چشم‌گیری تری‌ترپنوئیدهای لیپوفیل است که این تری‌ترپنوئیدها در لایهٔ کوتیکولی پوست سیب متمرکز شده‌اند. فراوان‌ترین آن‌ها اورسولیک اسید است که تا ۵۰ میکروگرم از یک سیب متوسط به دست می‌آید [٦].

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که خوردن سیب در کاهش سرطان به‌ویژه سرطان کولون و ریه، ناراحتی‌های قلبی عروقی، آسم، مشکلات تنفسی، دیابت و چاقی مؤثر بوده است [۷].

آزمون‌های ضد جهشی و ضد سرطانی به روش ایمز، ساده، سریع و ارزان بوده و حساسیت فراوانی نیز دارد. بر اساس نظر پروفسور ایمز بیش از ۷۰ درصد از مواد جهش‌زا، سرطان‌زا هستند [۸]، [۲]. باکتری سالمونلا تیفی موریوم (TA100) که در این آزمون مورد استفاده قرار می‌گیرد، جهشی در اپرن هیستیدین خود دارد که آن را وابسته به منبع هیستیدین خارجی می‌کند. این باکتری در حضور مادهٔ جهش‌زا به حالت وحشی خود باز می‌گردد [۹]. از سوی دیگر میکروزوم مورد استفاده در این آزمون (عصارهٔ کبد موش) حاوی آنزیم سیتوکروم P450 است که دارای خاصیت ضد سرطانی است. بنا بر این در صورتی که ترکیب آنتی‌اکسیدان مورد آزمایش با عمل ضد سرطانی سیتوکروم P450 هم‌پوشانی داشته باشد، می‌توان برای آن خاصیت ضد سرطانی در نظر گرفت [۹]، [۱۰].

۱. Mallus domestica ۲. Rosaceae

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

هدف اصلی این پژوهش، بررسی خواص ضد جهشی و ضد سرطانی تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب با ارزیابی توانایی مهار جهش در سالمونلا تیفی موریوم با استفاده از آزمون ایمز است.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب

تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب (اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید) به‌صورت پودر سفیدرنگ در بسته‌های ۱۰۰ میلی‌گرمی پلمپ شده، مستقیماً از شرکت سیگما خریداری شد. سپس مقدار ۱۰ میلی‌گرم از آن را در ۱میلی‌لیتر استن خالص (محصول شرکت مرک) حل و محلول ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حاصل را بررسی کردیم.

باکتری مورد استفاده

باکتری مورد استفاده سالمونلا تیفی موریوم سویه TA100 است که مستقیماً از پروفسور ایمز دریافت شد. این سویه به‌صورت دیسک ارسال گردید. دیسک مزبور وارد محیط نوترین براث شد و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت تا احیا شود. سپس بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت خطی داده شد. قبل از انجام آزمایش با استفاده از فیلدو پلاتین مقدار کمی از کلنی باکتری TA100 را وارد محیط نوترینت براث کردیم و در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار دادیم. باید توجه داشت که مدت زمان کشت شبانه نباید از ۱٦ ساعت تجاوز کند، که در محیط نوترینت براث کشت داده و از کشت شبانه آن برای انجام آزمون‌های تأیید سوش و نیز آزمون ایمز استفاده گردید. باید توجه داشت که مدت زمان کشت شبانه نباید از ۱٦ ساعت تجاوز کند [۸].

* محیط‌های ذکر شده همگی محصول شرکت مرک هستند.

آزمون‌های تأیید سوش TA100

جهش UVrb

این آزمون، حساسیت به پرتو UV را در سوش مزبور تأیید می‌کند. برای این کار با استفاده از سواب استریل آغشته به محیط کشت تازه شبانه باکتری TA100، بر سطح پلیت نوترینت آگار کشت متراکم می‌دهیم و سپس نیمی از سطح پلیت را با فویل آلومینیومی می‌پوشانیم و پلیت را به مدت ٥ دقیقه در فاصلهٔ ۳۰ سانتی‌متری لامپ UV قرار می‌دهیم. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون، عدم رشد در قسمت اشعه دیده نشان دهندهٔ جهش UVrb است [۲].

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

تست R-Factor

در این آزمون، سوش TA100 برای وجود عامل مقاومت به آمپی‌سیلین آزمایش می‌شود. در این آزمون، ۰/۱ میلی‌لیتر از کشت تازه شبانه باکتری TA100را به ۲ میلی‌لیتر تاپ آگار ذوب و سرد شده اضافه کردیم و بر روی محیط نوترینت آگار پخش و بعد از بسته شدن محیط، دیسک‌های آمپی سیلین (10 mcg) بر روی محیط قرار گرفت. پس از ۲٤ ساعت گرماگذاری، عدم تشکیل هالهٔ مهار رشد در اطراف دیسک آمپی‌سیلین، مقاومت به آمپی‌سیلین و وجود عامل R را اثبات می‌کند [۲].

جهش Rfa

در این آزمون، سویهٔ TA100 از نظر مقاومت به کریستال ویوله ۰/۱ درصد بررسی شد. مراحل آن مانند آزمون قبل است؛ با این تفاوت که در این آزمون از دیسک آغشته به کریستال ویوله استفاده شد. مشاهدهٔ هالهٔ عدم رشد در اطراف دیسک پس از گرماگذاری، نشان‌گر عدم رشد سلول‌ها و وجود جهش Rfa است [۲].

تعیین قدرت جهش‌زایی تری ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100

این آزمون با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر کشت تازهٔ شبانهٔ TA100، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول هیستیدین بیوتین ۰/۵ mM (هردو محصول شرکت مرک)، ۰/۱ میلی‌لیتر ماده سرطان‌زا آزید سدیم ۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (محصول شرکت مرک) و ۰/۱ میلی‌لیتر از تری‌ترپنوئید مورد آزمایش (اورسولیک اسید یا اولئانولیک اسید ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) به لولهٔ محتوی ۳ میلی‌لیتر تاپ آگار صورت گرفت. محتویات لوله به‌طور یک‌نواخت بر روی محیط گلوکز آگار حداقل گسترده شده و پس از سفت شدن، به مدت ٤۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای هر آزمایش ۳ پلیت هم زمان کشت داده شد. کنترل منفی و مثبت هم در نظر گرفته شد. کنترل مثبت حاوی کشت شبانهٔ باکتری، محلول هیستیدین بیوتین و آزید سدیم است که نشان دهندهٔ تعداد کلنی برگشتی در حضور مادهٔ جهش‌زای آزید سدیم است. کنترل منفی در واقع تعداد جهش‌های خود به خودی در باکتری را نشان می‌دهد. پس از پایان دورهٔ انکوباسیون، تعداد کلنی‌ها شمرده شدند. کنترل منفی یک‌بار آب مقطر و یک‌بار استن در نظر گرفته شد. از آن‌جا که تعداد کلنی‌ها در شاهد منفی آب مقطر با شاهد منفی استن تقریباً برابر بود، یکی از آن‌ها به‌عنوان شاهد منفی در جدول آورده شده است.

لازم به ذکر است که هر ۰/۱ میلی‌لیتر از کشت تازهٔ شبانهٔ سوش سالمونلا تیفی موریوم TA100 حاوی $۱۰^{۴}$-$۱۰^{۳}$ عدد باکتری است.

تهیهٔ عصارهٔ کبد موش برای آزمون ضد سرطان‌زایی

بسیاری از مواد برای بروز ویژگی‌های جهش‌زایی، باید از نظر متابولیک فعال شوند. بر این اساس، در این پژوهش ۵ موش سوری نر با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها به مدت ۱ شبانه روز دور از غذا نگه‌داری شدند تا میزان آنزیم سیتوکروم P450 در آن‌ها به بالاترین حد خود برسد. سپس با وسایل کاملاً استریل،

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

حیوان به روش قطع نخاع کشته و کبد آن خارج شد و با محلول پتاسیم/منیزیم ۱ مولار(محصول شرکت مرک) آن را شستشو داده شد و سپس با قیچی استریل خرد کرده شدو به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۹۰۰۰ سانتریفوژ گشت. آنگاه محلول شیری‌رنگ رویی ذخیره و در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. تمام مراحل در دمای ٤-۰ درجهٔ سانتی‌گراد و بر روی یخ انجام شد [۱۰].

تعیین قدرت ضد سرطان‌زایی تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100 و میکروزوم

همانند آزمون تعیین قدرت جهش‌زایی است با این تفاوت که به کنترل مثبت، کنترل منفی و نمونهٔ مورد آزمایش، ۰/۱ میلی‌لیتر S9 (عصارهٔ کبدی موش) افزوده شد. پس از ٤۸ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، کلنی‌ها شمرده شدند.

محاسبه درصد بازدارندگی

در صورتی که کلنی‌های برگشتی حداقل نصف کنترل مثبت شود، اثر ضد جهشی نمونه‌های آزمایشی تأیید می‌گردد. از آن‌جا که کنترل منفی نشان دهندهٔ تعداد جهش خود به خودی در باکتری‌ها است، برای محاسبهٔ درصد بازدارندگی این تعداد از تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل مثبت و پلیت‌های حاوی نمونه‌های آزمایشی کسر می‌گردد. در صورتی که جهش‌زایی آزید سدیم ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شود، درصد بازدارندگی نمونه‌های آزمایشی طبق این فرمول به‌دست می‌آید:

درصد بازدارندگی =۱-(T/ M)×۱۰۰

این فرمول را ONG و همکارانش در سال ۱۹۸٦ ارائه کردند که در آن T تعداد کلنی برگشتی در حضور مادهٔ جهش‌زا و M تعداد کلنی برگشتی کنترل مثبت است [۲۰].

تحلیل آماری

نتایج حاصل از آزمون با نرم افزار SPSSV.16 و به‌روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) تجزیه و تحلیل آماری شد.

نتایج

نتایج حاصل از تأیید ژنوتیپ سوش سالمونلا تیفی موریوم TA100 در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱. مشخصات ژنوتیپی سالمونلا تیفی موریوم سویه TA100

سویه مورد آزمایش	جهش Rfa	پلاسمید R-Factor	جهش UVrb
سالمونلاتیفی موریوم TA100	+	+	+

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی در حضور و عدم حضور S9 در تست ایمز نشان داد که در تست جهش‌زایی میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل مثبت برابر ٥٦٣ و میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل منفی (آب مقطر استریل + باکتری) برابر ٢٧ بود. در رابطه با اورسولیک اسید[1]، میانگین تعداد کلنی در غیاب S9 ١٤٥ کلنی و در نتیجه درصد بازدارندگی آن برابر با ٧٧/٦ درصد شد. این مقدار در رابطه با اولئانولیک اسید[2] ١٨٤ کلنی و درصد بازدارندگی آن برابر با ٦٩/٨ درصد بود. در تست سرطان‌زایی، میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل مثبت برابر ٦٠٠ و میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در کنترل منفی برابر با ٣٨ بود. میانگین تعداد کلنی‌های اورسولیک اسید در حضور S9 برابر با ١٣٨ کلنی و درصد بازدارندگی آن برابر با ٨٣ درصد بود. این مقدار در مورد اولئانولیک اسید ١٧٤ کلنی و ٧٦/٤ درصد بود. به‌طور کلی در صورتی که درصد بازدارندگی کم‌تر از ٢٥ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه منفی، در صورتی که بین ٢٥ تا ٤٠ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه متوسط و در صورتی که بیش از ٤٠ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه قوی تلقی می‌شود [١٩]. درصد بازدارندگی اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید در غیاب S9 به‌ترتیب ٧٧/٦ و ٦٩/٨ درصد بود که نشان می‌دهد این دو تری‌ترپنوئید موجود در پوست سیب خاصیت ضد جهشی قوی دارند. درصدهای به‌دست آمده از این دو ماده در حضور S9 (به ترتیب ٨٣ و ٧٦/٤ درصد) نیز خواص ضد سرطانی این دو ماده را علاوه بر خاصیت ضد جهشی آن‌ها اثبات می‌کند (جدول٢).

جدول٢. نتایج بررسی اثر ضد جهش‌زایی و ضد سرطانی تری‌ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب با استفاده از جهش برگشتی سالمونلا تیفی موریوم TA100

	تعداد کلنی سالمونلا تیفی موریوم TA100 درحضور میکروزوم (+S9)		تعداد کلنی سالمونلا تیفی موریوم TA100 (-S9)در غیاب میکروزوم	
نمونهٔ آزمایش شده	میانگین تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی	میانگین تعداد کلنی برگشتی	درصد بازدارندگی
کنترل مثبت	٦٠٠		٥٦٣	
کنترل منفی	٣٨		٢٧	
اورسولیک اسید	١٣٨	٨٣ درصد	١٤٥	٧٧/٦ درصد
اولئانولیک اسید	١٧٤	٧٦/٤ درصد	١٨٤	٦٩/٨درصد

بحث

جملهٔ معروف «خوردن روزانه یک سیب، انسان را از پزشک بی‌نیاز می‌سازد.» بیان‌گر خواص درمانی سیب است. تحقیقات نشان می‌دهند که خوردن سیب ممکن است خطر ابتلا به سرطان کولون، پروستات و ریه را کاهش دهد [١١].

در تحقیقی که مکین[3] در سال ٢٠٠٧ انجام داد مشخص شد که ترکیبات فنولی موجود در ضایعات سیب- که همان پوست و تفاله سیب است- در شرایط آزمایشگاهی بر روی سرطان کولون خاصیت ضد سرطانی داشته است [٧].

١. Ursolic acid ٢. Oleanolic acid ٣. M. J. Mccann

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

تری‌ترپنوئیدهای ۵ حلقه‌ای از جمله شایع‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که معمولاً در بخش‌های خارجی گیاه مانند کوتیکول، پوست میوه و پوست درخت متمرکز می‌شوند. اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید از جمله مهم‌ترین تری‌ترپنوئیدها هستند که به مقدار زیاد در پوست سیب، به‌ویژه پوست سیب قرمز وجود دارند [۱۷].

گرهوزر[۱] دانشمند آلمانی در سال ۲۰۰۸ در تحقیقی که بر روی سیب، آب سیب و فرآورده‌های حاصل از سیب مانند سرکه سیب انجام داد به این نتیجه رسید که پوست سیب حاوی تری‌ترپنوئیدهایی است که احتمالاً خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. البته وی بیش‌تر بر روی خاصیت سم‌زدایی سیب و آب سیب تأکید کرده بود که با تحقیق حاضر هم‌سویی دارد [۱۲].

در این پژوهش، تری ترپنوئیدهای موجود در پوست سیب (اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید) به‌منظور بررسی توانایی‌شان در مهار خاصیت ضد برگشتی سالمونلا تیفی موریوم ارزیابی شدند. بررسی نتایج ضد جهشی و ضد سرطانی این دو ماده با شاهد مثبت آزید سدیم، نشان دهندهٔ خاصیت ضد جهشی این دو ماده است. البته در بررسی انجام شده مشخص گردید که این خاصیت در اورسولیک اسید نسبت به اولئانولیک اسید بیش‌تر است. این بررسی با نتایج بررسی‌های انجام شده در طی سال‌های اخیر بر روی میوه‌ها و گیاهان مختلف هم‌سویی دارد [۱۳]، [۱٤]، [۱۵].

این بررسی با پژوهشی که بر روی عصارهٔ آبی گیاه زرشک زرافشان انجام شده و وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی در عصارهٔ آبی زرشک زرافشان را تأیید می‌کند، هم‌سویی دارد [۱۳].

بررسی‌های دیگری در مورد اثر ضد جهشی و ضد سرطانی میوهٔ انبه نیز انجام شده است که در این بررسی نیز از روش ایمز و سالمونلا تیفی موریوم TA100 استفاده شده است [۱٤].

در بررسی دیگری که بر روی لیموشیرین رسیده و نیمه‌رسیده به دو روش ایمز و کشت سلول انجام شده، خاصیت ضد سرطانی لیموشیرین نیمه‌رسیده در هر دو روش تأیید شد که با بررسی حاضر هم‌سویی دارد [۱۵].

در این بررسی از عصارهٔ کبد موش یا S9 نیز استفاده شد زیرا بسیاری از مواد ضد سرطانی تا زمانی که در یک فعالیت آنزیمی الکترودینامیک وارد نشوند غیرفعال می‌مانند و نمی‌توانند به DNA متصل شوند؛ از همین روی، چون باکتری (سالمونلا تیفی موریوم) فاقد این سیستم است از عصارهٔ کبد (S9) که حاوی سیستم فعال سیتوکروم P450 است برای فعال‌سازی این مواد استفاده می‌شود [۲۰]. با اضافه کردن S9، اثر ضد جهشی در مادهٔ ثابت می‌ماند یا افزایش پیدا می‌کند که در هر دو صورت نشان دهندهٔ اثر ضد سرطانی است. بدین معنا که ترکیب آنتی‌اکسیدان مورد آزمایش با عمل ضد سرطانی سیتوکروم P450 هم‌پوشانی دارد.[10] در این بررسی با افزودن این مادهٔ اثر ضد جهشی افزایش پیدا کرد که نشان دهندهٔ ضد سرطانی بودن آن نیز است.

۱. Gerhauser

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

در پژوهشی لیو[1] و همکاران بیان کردند که علاوه بر پلی‌فنول‌های موجود در سیب، تری‌ترپنوئیدهای جدا شده از پوست سیب نیز از تکثیر سلول‌های سرطان کبد (HepG2)، سلول‌های سرطان سینه (MCF-7) و سلول‌های سرطان کولون (CaCo-2) جلوگیری می‌کنند و ممکن است خاصیت ضد سرطانی سیب باشند [١٦]. که با بررسی انجام شده و مشاهده افزایش اثر ضد جهشی اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید در حضور میکروزوم (S9) هم سویی دارد.

در پژوهشی دیگر جی‌لی[2] و همکاران در سال ٢٠٠٢ اثرات اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید را بر روی ردهٔ سلولی HCT15 (سرطان کولون) بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این دو ماده خاصیت ضد توموری چشمگیری دارند. مکانیسم عمل در هر دو، مهار تکثیر سلول توموری در چرخهٔ سلولی بود. در این بررسی نیز اثر اورسولیک اسید بر روی سلول سرطانی از اولئانولیک اسید بیش‌تر بود که کاملاً با تحقیق حاضر هم‌سویی دارد [٢١].

همان‌گونه که در بخش نتایج نیز مطرح شد، اگر درصد بازدارندگی کم‌تر از ٢٥ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه منفی، در صورتی که بین ٢٥ تا ٤٠ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه متوسط و در صورتی که بالای ٤٠ درصد باشد، اثر ضد جهشی نمونه قوی تلقی می‌شود. [19] و از آنجا که در این بررسی درصد بازدارندگی هم برای اورسولیک اسید و هم برای اولئانولیک اسید بیش از ٤٠ درصد (چه در حضور میکروزوم و چه در غیاب آن) است می‌توان گفت که اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید با خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی خود، نقش مهمی را در خاصیت ضد سرطانی پوست سیب ایفا می‌کنند. البته این خاصیت در اورسولیک اسید نسبت به اولئانولیک اسید بیش‌تر است.

منابع

1. B. N. Ames, Oxidants, "Antioxidants and Degenerative Diseases,Division of Biochemistry And Molecular Biology", University of California, Berkeley, CA. PNAS, Vol. 90, No. 17 (1993) 7915 -7922.
2. B. N. Ames, "Detection Of Carcinogens As Mutagens: Bacterial Tester Strains With R-Factor Plasmids", Pro Nat. Acad Sci. USA, Vol. 72, No. 3 (1975) 979-983.
3. B.N. Ames, "Dietary Carcinogens And Anticarcinogens", Science, 221 (1984) 1256-1263.
4. A. Ghasemian, S. Mehrabian, A. Majd, "Peel Extracts of Two Iranian Cultivars of Pomegranate (*Punica granatum*) Have Antioxidant And Antimutagenic Activities", PJBS. 9 (7) (2006) 1402-1405.

١. Liu ٢. Jieli

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

5. D. Potter, T. Eriksson, R. Evans, "Phylogeny and Classification of Rosaceae", Plant Systematic and Evolution, 266 (1-2) (2007) 5-43.

6. Jan Glinski, Keith Branly, "Pentacyclic Triterpenes", Pub. No., US (2001) /0029254 A1.

7. Mj. Mccann, "Anticancer Properties of Phenolics From Apple Waste on Colon Carcinogenesis In Vitro", Food And Chemical Toxicology Journal, Vol. 45, No. 7 (2007) 1224-1230.

8. B. N. Ames, "An Improved Bacterial Test System for Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens", Proc. Nat. Acad. Sci. Usa, Vol. 70, No. 3 (1973) 782-786.

9. M. Maron, B. N. Ames, "Revised Methods for The Salmonella Mutagenicity Test", Biochemistry Department, University of California, Motation Research/ Environmental Mutagenesis Journal, Vol. 113, No. 3-4 (2003) 25-173.

10. B. N. Ames, E. W. Durston, E. Yamasaki, D. F. Lee, "Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection", PNAS, Vol. 70, No. 8 (1973) 2281-2285.

11. A. T. Rabinovich, "Studies on Apple Peel Color Regulation", University of Minnesota (2007).

12. C. Gerhauser, "Cancer Chemopreventive Potential of Apples, Apple Juice and Apple Components", Division of Toxicology and Cancer Risk Factors, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany, Planta Med Journal, 74 (13) (2008) 1608-1624.

۱۳. احمد مجد، صدیقه مهرابیان، حمیدرضا مصطفایی، حمیده رحمانی، "بررسی اثر آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی عصاره آبی گیاه زرشک زرافشان *berberis integrrima*"، *فصلنامه تخصصی علوم زیستی دانشگاه آزاد زنجان* ۱ (۱) (۱۳۸۷) ۳۱-۳۸.

۱٤. صدیقه مهرابیان، "بررسی مهار توان زیستی سلول‌های سرطانی و خواص ضد جهشی برگشتی سالمونلا تیفی موریوم TA100 توسط عصاره متانولی میوه و آب میوه انبه *Magnifera indica*"، *فصلنامه تخصصی علوم زیستی دانشگاه آزاد زنجان*، ۱(۱) (۱۳۸۷)٦٤-٥٥

۱٥. ملیحه انتظاری، احمد مجد، فتح‌الله فلاحیان، صدیقه مهرابیان، مهرداد هاشمی،"بررسی خواص ضد جهشی و ضد سرطانی لیمو شیرین *Citrus Limon*"، *مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی*، ۱۸(۲) (۱۳۸۷)۹٦-۹۱.

16. J. Liu, "Oleanolic acid And Ursolic Acid: Research Perspectives", Vol. 100, No. 1-2 (2005) 92-94.

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]

17. J. Liu, "Pharmacology of Oleanolic Acid And Ursolic Acid", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 49, No. 2 (2004) 57-68.

18. L. Lengseth, "Oxidants, Antioxidants And Diseases Prevention", International Life Science Institute, Europe, ISBN: 0-944398-52-9 (1995) 1-32.

19. T. Ong, W. Mong, Jd. Stwart, H. E. Brockman, "Chlorophyllin: A Potent Antimutagen Against Environmental and Dietary Complex Mixure", Mutat Res.173 (1986) 111-115.

20. A. Hakura, H. Shimada, M. Nakajima, "Salmonella Human Sg Mutagenicity Test, A Collaborative Study With 5 & Compounds", Mutagenesis, 20 (2003) 217-228.

21. Jie Li, Wei-Jian Guo, Qing-Yaoyang, "Effects of Ursolic acid and Oleanolic Acid on Human Colon Carcinoma Cell Line HCT15", World Journal of Gastroenterology, 8 (3) (2002) 493-495.

22. Rui. Hui. Liu, "Health Benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals", American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 78, NO. 3 (2003) 517-520.

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-05-03]