

## بررسی میزان لکتین کل موجود در پیکره دارویش مستقر بر پایه انجیلی در فصل پاییز و زمستان

ساناز یوسفوند<sup>۱</sup>، فروش فتاحی<sup>۲\*</sup>، سید محسن حسینی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت مرتع (گروه مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران)

<sup>۲</sup>استادیار رشته گیاهان دارویی (گروه مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران)

<sup>۳</sup>استاد اکولوژی (گروه علوم و مهندسی جنگل، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران)

\*نویسنده مسئول: f.fattahi@modares.ac.ir

### چکیده

دارویش *Viscum album L.* یک گیاه نیمه انگل است که روی شاخه میزبان‌های مختلف رشد می‌کند و از طریق هاستوریوم آب و مواد غذایی مورد نیاز خود را از میزبان دریافت می‌کند. دارویش یک گیاه دارویی است که نقش عمده آن در بهبود و درمان سرطان به اثبات رسیده است. این گونه در ایران بر روی درختان مختلف از جمله گونه‌های اندمیک جنگل‌های هیرکانی می‌روید. هدف از این پژوهش، مقایسه میزان لکتین کل موجود در شاخ و برگ دارویش مستقر بر درخت انجیلی در فصل پاییز (مرحله میوه‌دهی) و زمستان (مرحله گل‌دهی) بود. در این تحقیق، نمونه‌های گیاهی از ۳ بوته دارویش مستقر بر هر پایه، سه پایه (۳ تکرار)، در شرایط مشابه اکولوژیکی واقع در جنگل کلرد آمل جنگل‌های هیرکانی مورد نمونه‌برداری قرار گرفتند، نمونه‌ها پس از عصاره‌گیری، برای آنالیز به دستگاه ELISA تزیق شدند. نتایج حاکی از آن بود که در این عصاره میزان لکتین کل در فصل پاییز ۰/۷۸ و در فصل زمستان ۰/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود، بیشترین میزان این ترکیب مربوط به دارویش فصل پاییز بود.

**واژه‌های کلیدی:** انجیلی، دارویش، ضدسرطان، لکتین، نیمه‌انگل

### مقدمه

قرن‌ها است که مردم از گیاهان برای اهداف پزشکی استفاده می‌کنند. در حقیقت استفاده از داروهای گیاهی به حدود ۵۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی در حال حاضر حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان به‌صورت سنتی و یا مدرن از ترکیبات گیاهی برای درمان استفاده می‌کنند به طوری که محققان داروهای قرن ۲۱ را در گیاهان جستجو می‌کنند و معتقدند که حلال مشکلات پزشکی آینده گیاهان می‌باشند (WHO, 2011؛ صدیقی و همکاران، ۱۳۸۳). دارویش‌ها عمدتاً در شاخه‌ها و به ندرت در تنه‌های گونه‌های چوبی رشد می‌کند و آب و مواد مغزی را از پیکره درخت میزبان جذب می‌کنند (Lech et al., 2020; Hosseini et al., 2007). دارویش *Viscum album L.* از خانواده Santalaceae، بوته‌ای نیمه انگل، همیشه سبز و پویا با قطر حدود ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متر بوده، که آب و عناصر ضروری خود شامل نیتروژن و یک بخش از غذای خود را از درخت میزبان و توسط یک اندام ریشه مانند به نام هاستوریوم<sup>۱</sup> جذب می‌کند (Ahmad et al., 2018; Gastauer et al., 2017; Bar-Sela, 2011; Christenson et al., 2003; Morgenstern, 2002; al., 2003). این گیاه از برگ‌های بیضی سبز چرمی، گل‌های کوچک با رنگ زرد که اغلب در اواخر زمستان باز می‌شوند و میوه‌های توتی سفید چسبناک که اواخر پاییز رسیده می‌شوند تشکیل شده است (Ahmad et al., 2018; Zuber, 2004). دارویش در طی قرن‌ها مورد توجه ویژه فرهنگ عامه و طب پزشکی قرار گرفت. استفاده از آن به عنوان یک داروی گیاهی به بقراط باز می‌گردد. در حال حاضر، عصاره‌های دارویش به صورت صنعتی تولید می‌شود و در داروهای مکمل جهت اقدامات کمکی در برابر تومورهای بدخیم استفاده می‌شود. (Bar-Sela et al., 2011; Bar-Sela et al., 2006; Bauer et al., 2005). بسیاری از اثرهای درمانی آن مانند ضدسرطان، ضددیابت، ضدفشار خون، درمان مشکلات معده (Khan et al., 2016)، القاکنندگی آپوپتوز<sup>۲</sup>،

<sup>۱</sup>-Haustoria

<sup>۲</sup>- Apoptosis: مرگ برنامه ریزی شده سلول‌های توموری

محرك سیستم ایمنی (Lavastre *et al.*, 2004) و اثر سمیت سلولی (Ćebović *et al.*, 2008) به اثبات رسیده است. داروایش دارای طیف وسیعی از مواد فعال زیستی است، بعضی از اثرات دارویی آن ممکن است مربوط به حضور ترکیب لکتین باشد، لکتین‌ها پروتئین‌های متصل به قند هستند که به علت داشتن اثر آپوپتوز نقش اساسی در درمان سرطان را دارند (Kim *et al.*, 2017)؛ and (Hajtó *et al.*, 2005; Maletzki *et al.*, 2013; Nazaruk Orlikowski., 2016; Hosseini *et al.*, 2007). پارامترهای مختلفی مثل سرشت اکولوژیک گونه میزبان، دوره زندگی گیاهی داروایش و همچنین نوع اندام گیاه در تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات زیست فعال داروایش تأثیرگذار می‌باشند، لذا انتظار می‌رود که اثرات درمانی مواد مؤثره موجود در داروایش بسته به این عوامل متفاوت باشد (Barbasz *et al.*, 2012; Wójciak-Kosior *et al.*, 2017; Stefanucci *et al.*, 2020). به عنوان مثال گانیو و اولوواسون (۲۰۰۸) در تحقیقی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی داروایش مستقر بر میزبان‌های کاکائو و بادام را با هم مقایسه کردند، مشاهده شد که توانایی مهار رادیکال‌های آزاد داروایش مستقر بر میزبان کاکائو بیشتر از داروایش مستقر بر میزبان بادام بوده است. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Simona و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد، تفاوت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی داروایش در فصول مختلف و درختان میزبان مختلف مشخص شد. جنگل‌های هیرکانی ایران با مساحت حدود ۱/۹ میلیون هکتار در شمال ایران بر روی شیب‌های شمالی کوه‌های البرز و سواحل جنوبی دریای خزر واقع شده است، این جنگل‌ها یکی از قدیمی‌ترین و ارزشمندترین جنگل‌های ایران محسوب می‌گردد. درخت برگریزی مثل گونه انجیلی (*Parrotia persica* C.A.) از خانواده Hamamelidaceae از میزبان‌های داروایش در جنگل‌های هیرکانی ایران می‌باشد که اندمیک این جنگل‌ها است (Sefidi *et al.*, 2011; Parsakhoo and Jalilvand, 2009; Hosseini *et al.*, 2007). در این پژوهش تأثیر فصل برداشت بر کمیت ماده مؤثره دارویی لکتین موجود در داروایش مستقر بر میزبان انجیلی در مراحل گل‌دهی و میوه‌دهی در جنگل کلرد جنگل‌های هیرکانی ایران مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### منطقه مورد مطالعه

مواد گیاهی مورد نیاز این پژوهش از جنگل کلرد جنگل‌های هیرکانی ایران، شهرستان آمل در فصل پاییز و زمستان جمع‌آوری گردید. منطقه نمونه‌برداری در طول جغرافیای  $36^{\circ}16'11''$  عرض جغرافیای  $52^{\circ}21'13''$  ارتفاع ۱۱۰۰-۷۰۰ متر از سطح دریا، شیب ۲۰ تا ۴۰ درصد، جهت شرقی و میانگین بارش سالیانه ۹۵۰ میلی‌متر قرار دارد. این جنگل در موقعیت مرکزی جنگل‌های هیرکانی قرار دارد و دارای گونه‌های مختلف علفی، درختچه‌ای و درختی می‌باشد.

### برداشت گیاه داروایش

گیاهان داروایش در فصول پاییز و زمستان (مرحله میوه‌دهی و گل‌دهی) از درخت میزبان انجیلی برداشت شدند. ابتدا سه پایه (۳ تکرار) گونه میزبان که تقریباً در شرایط اکولوژیکی همسانی از لحاظ خاک، شیب، جهت و ارتفاع از سطح دریا بودند انتخاب شدند. پایه‌های میزبان به گونه‌ای انتخاب شدند که از نظر قطر، ارتفاع و مورفولوژیک یکسان بوده و از سایر استرس‌ها از قبیل آفات، امراض و حتی وجود دار دوست و پوسیدگی در تنه به دور باشند. سپس بر روی هر پایه سه بوته داروایش علامت‌گذاری شد. نمونه‌های داروایش از شاخه‌هایی که در وضعیت تاجی (وضعیت نورگیری و ارتفاع از سطح زمین) یکسانی بودند انتخاب شدند. شاخه‌ها از نظر قطر، طول و جهت قرارگیری نسبت به نور خورشید یکسان بودند. سپس در هر فصل برداشت، از هر بوته پنج شاخه که هر یک شامل سه رشد آخر داروایش بودند برداشت شدند (شکل ۱). نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از نمونه‌برداری به‌صورت جداگانه در فویل آلومینیومی پیچیده و بر روی یخ قرار داده شدند و بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انتقال یافتند. نمونه‌ها به مدت چند ثانیه در تانک ازت مایع قرار داده شده و نهایتاً تا زمان عصاره‌گیری در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.



شکل ۱: نمونه گیاهی برداشت شده.

### تهیه عصاره

#### خشک و پودر کردن نمونه

شاخ برگ داروایش به مدت ۷۲ ساعت در فریزدرایر گذاشته شده و کاملاً خشک شدند. سپس تمامی نمونه‌های هر مرحله با هم ترکیب شدند و با استفاده از هاون پودر شدند از هر نمونه پودر شده، ۳ تکرار به وزن ۰/۲ گرم جدا شد تا مورد سنجش شیمیایی قرار گیرند.

### استخراج لکتین

برای استخراج لکتین ۲۰۰ میلی‌گرم گیاه پودر شده با ۵ میلی‌لیتر بافر نمک فسفات<sup>۳</sup> (PBS) حل شد و یک شب در دمای ۴ درجه سانتیگراد باقی ماند. سپس به وسیله هموژنایزر مکانیکی حدود ۱ دقیقه همگن شد. نمونه‌ها در ۴۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و مایع رویی جدا شد. این عمل یکبار با اضافه کردن حلال جدید، ۵ میلی‌لیتر PBS و بار دیگر با اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر PBS به همراه ۱۸۱ میلی‌گرم گالاکتوز تکرار شد. عصاره‌ها باهم ترکیب شدند و حجم نهایی به مقدار ۱۵ میلی‌لیتر رسید. عصاره‌های لکتین تا زمان ارزیابی شیمیایی در فریزر و تحت دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس برای آنالیز به وسیله دستگاه ELISA به موسسه Hiscia کشور سوئیس ارسال شدند (Urech et al. 2006).

### تجزیه و تحلیل

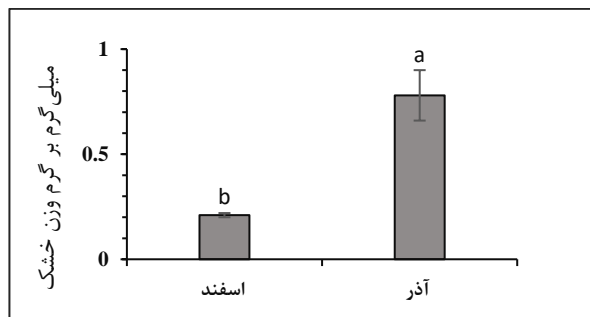
در این پژوهش داده‌های به دست آمده در نرم افزار اکسل به عنوان بانک اطلاعات ذخیره شد، برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SAS نسخه ۹.۴ استفاده شد.

### نتایج و بحث

طبق یافته‌ها، نتایج حاکی از آن بود که میان کمیت لکتین موجود در داروایش مستقر بر پایه انجیلی در دو فصل پاییز و زمستان اختلاف معنی دار وجود دارد ( $P < 0/01$ )، در این عصاره میزان لکتین در فصل پاییز و زمستان به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک پیکره رویشی داروایش بوده است که بیشترین مقدار لکتین مربوط به فصل پاییز بوده است (شکل ۲). این پژوهش نشان داد که عصاره داروایش حاوی لکتین می‌باشد که میزان آن‌ها با توجه به فصل برداشت متفاوت است هم راستا با نتایج این پژوهش، در مطالعه اورچ و همکاران (۲۰۰۶) حداکثر میزان لکتین مربوط در ماه دسامبر مشاهده شد. همچنین ÖnayUçar و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیقی دریافتند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با توجه به زمان برداشت و همچنین درخت میزبان متفاوت است

<sup>3</sup> - Phosphate buffered saline

با توجه به وجود این ترکیب ارزشمند در گیاه دارویش می‌توان از این گیاه به عنوان گونه ارزشمند دارویی در صنایع داروسازی استفاده کرد.



شکل ۲. میزان لکتین کل موجود در پیکره دارویش‌های مستقر بر پایه انجیلی در فصل پاییز و زمستان. هر ستون نشان دهنده میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد است، حروف متفاوت در شکل نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون LSD می‌باشد.

## منابع

- صدیقی، ژ.، مفتون، ف. و ضیایی، س. ع.، ۱۳۸۳. "طب گیاهی: آگاهی، بینش و عملکرد در جمعیت شهر تهران". ۶۷-۶۰.
- Ahmad, S., Mir, N. and Sultan, S. 2018. White-berry mistletoe (*Viscum album* L.): a hemiparasitic plant: occurrence and ethnobotanical use in Kashmir. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 1831-1833.
- Barbasz, A., Kreczmer, B., Rudolphi-Skórska, E. and Sieprawka, A. 2012. Biologically active substances in plant extracts from mistletoe (*Viscum album*) and trees: fir (*Abies alba* Mill.), pine (*Pinus sylvestris* L.) and yew (*Taxus baccata* L.). *Herba Polonica*, 58(1): 16-26.
- Bar-Sela, G. 2011. White-Berry Mistletoe (*Viscum album* L.) as Complementary Treatment in Cancer: does it help. *European Journal of Integrative Medicine*, 3(2): e55-e62.
- Bar-Sela, G., Gershony, A. and Haim, N., 2006. Mistletoe (*Viscum album*) Preparations: an Optional Drug for Cancer Patients. *Harefuah*, 145(1): 42-6.N
- Bauer, C., Opiel, T., Ruëff, F. and Przybilla, B. 2005. Anaphylaxis to viscotoxins of mistletoe (*Viscum album*) extracts. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 94(1): 86-89.
- Ćebović, T., Spasic, S. and Popovic, M. 2008. Cytotoxic Effects of the *Viscum Album* L. Extract on Ehrlich Tumour Cells in Vivo, *Phytotherapy Research*, 22(8): 1097-1103.
- Christenson, J.A., Young, D. and Olsen, M.W. 2003. True mistletoe, the University of Arizona, Publication AZ, Online at: <http://www.ag.arizona.edu/pubs/diseases/az>, 1308.Cocoa Tree (*Theobroma Cacao*), *International Journal of Herbs and Pharmacological Research*, 3(1): 24-29.
- Gastauer, M., Neto, M. and Alves, J. A. 2017. Updated Angiosperm Family Tree for Analyzing Phylogenetic Diversity and Community Structure. *Acta Botanica Brasilica*, 31(2): 191-198.
- Hajtó, T., Hostanska, K., Berki, T., Pálkás, L., Boldizsár, F. and Németh, P. 2005. Oncopharmacological perspectives of a plant lectin (*Viscum album agglutinin-I*): overview of recent results from in vitro experiments and in vivo animal models, and their possible relevance for clinical applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1): 59-67.
- Hosseini, S. M., Kartoolinejad, D., Mirmia, S. K., Tabibzadeh, Z., Akbarinia, M. and Shayanmehr, F. 2007. The effects of *Viscum album* L. on foliar weight and nutrients content of host trees in Caspian forests (Iran). *Polish Journal of Ecology*, 55(3): 579.
- Morgenstern, K. 2002. Mysterious Mistletoe. *Cancer*
- Kim, S., Kim, K.C. and Lee, C. 2017. Mistletoe (*Viscum album*) Extract Targets Axl to Suppress Cell Proliferation and Overcome Cisplatin-and Erlotinib-Resistance in non-Small Cell Lung Cancer Cells. *Phytomedicine*, 36: 183-193.

- Lavastre, V., Cavalli, H., Rathe, C. and Girard, D. 2004 Anti-Inflammatory Effect of *Viscum album* Agglutinin-I (VAA-I): Induction of Apoptosis in Activated Neutrophils and Inhibition of Lipopolysaccharide-Induced Neutrophilic Inflammation in Vivo, *Clinical and Experimental Immunology*, 137(2): 272-278.
- Lech, P., Żółciak, A. and Hildebrand, R. 2020. Occurrence of European Mistletoe (*Viscum album* L.) on Forest Trees in Poland and Its Dynamics of Spread in the Period 2008–2018. *Forests*, 11(1): 83.
- Maletzki, C., Linnebacher, M., Savai, R. and Hobohm, U. 2013. Mistletoe Lectin has a Shiga Toxin-Like Structure and Should be Combined With other Toll-Like Receptor Ligands in Cancer Therapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 62(8): 1283-1292.
- Nazaruk, J. and Orlikowski, P. 2016. Phytochemical profile and therapeutic potential of *Viscum album* L. *Natural product research*, 30(4): 373-385.
- Oluwaseun, A.A. and Ganiyu, O. 2008. Antioxidant properties of methanolic extracts of mistletoes (*Viscum album*) from cocoa and cashew trees in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 7(17).
- ÖnayUçar, E., Karagöz, A. and Arda, N. 2006. Antioxidant activity of *Viscum album* ssp. *album*. *Fitoterapia*, 77(7-8), 556-560.
- Parsakhoo, A. and Jalilvand, H. 2009. Effects of iron wood (*Parrotia persica* CA Meyer) leaf litter on forest soil nutrients content. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 5(2): 244-249.
- Sefidi, K., Mohadjer, M.R.M., Etemad, V. and Copenheaver, C.A. 2011. Stand characteristics and distribution of a relict population of Persian ironwood (*Parrotia persica* CA Meyer) in northern Iran. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(5): 418-422.
- Simona, V., Rugina, D. and Socaciu, C. 2008. Antioxidant Activities Of *Viscum Album*'s Leaves From Various Host Trees. *Bull. UASVM Agric*, 65: 322-327.
- Stefanucci, A., Zengin, G., Llorent-Martinez, E. J., Dimmito, M. P., Della Valle, A., Pieretti, S. and Mollica, A. 2020. *Viscum album* L. homogenizer-assisted and ultrasound-assisted extracts as potential sources of bioactive compounds. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9): e13377.
- Urech, K., Schaller, G. and Jäggy, C. 2006. Viscotoxins, mistletoe lectins and their isoforms in mistletoe (*Viscum album* L.) extracts. *Arzneimittelforschung*, 56(06): 428-434.
- Vicaș, S. I., Rugină, D. and Socaciu, C. 2011. Comparative study about antioxidant activities of *Viscum album* from different host trees, harvested in different seasons, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11): 2237-2244.
- Wójciak-Kosior, M., Sowa, I., Pucek, K., Szymczak, G., Kocjan, R. and Luchowski, P. 2017. Evaluation of Seasonal Changes of Triterpenic Acid Contents in *Viscum Album* from Aifferent Host Trees, *Pharmaceutical biology*, 55(1): 1-4.
- World Health Organization (WHO), 2011. The world medicines situation 2011: traditional medicines, global situation issues and challenges. availableat: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18063en/s18063en.pdf>
- Zuber, D. 2004. Biological flora of central Europe: *Viscum album* L. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 199(3): 181-203.

## Evaluation of total lectin content of foliage European mistletoe (*Viscum album* L.) settled on ironwood (*Parrotia persica* C. A. Mey. L.) in autumn and winter

Sanaz Yousefvand<sup>1</sup>, Farnoosh Fattahi<sup>\*2</sup>, Seyed Mohsen Hosseini<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Master student in rangeland management (Department of Range Management, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran)

<sup>2</sup>Assistant Professor of Medicinal Plants (Department of Range Management, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran)

<sup>3</sup>Professor of Ecology (Department of Forest Science and Engineering, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran)

\*Corresponding Author: [f.fattahi@modares.ac.ir](mailto:f.fattahi@modares.ac.ir)

### Abstract

Mistletoe (*Viscum album* L.) is a hemi-parasitic plant that grows on the branches of various hosts and receives the water and nutrients it needs from the host through the hostorium. Mistletoe is a medicinal plant that has been proven to play a major role in the treatment and cure of cancer. In Iran, this species grows on various trees, including endemic species of Hyrcanian wars. The aim of this study was to compare the amount of total lectin in mistletoe foliage located on the *Parrotia persica* tree in autumn (fruiting stage) and winter (flowering stage). In this study, plant samples from 3 mistletoe plants located on each base, tripod (3 replications), were sampled in similar ecological conditions located in Kelerd Amol forest of Hyrcanian forests. After extraction, the samples were injected into ELISA for analysis. The results showed that the total lectin content in this extract was 0.79 mg / g in dry season in autumn and 0.21 mg / g dry weight in winter, the highest amount of this compound was related to autumn mistletoe.

**Keywords:** anti-cancer, hemi-parasite, lectin, mistletoe, *Parrotia persica*