



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران

پردیس بین الملل - دانشکده داروسازی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری عمومی داروسازی

عنوان :

بررسی اثر آنتی اکسیدانی و محافظت کبدی قارچ *Inonotus*

cuticularis

اساتید راهنما:

جناب آقای دکتر حمیدرضا منصف اصفهانی

جناب آقای دکتر امید سبزواری

نگارش:

مریم اعوانی

شهریور ۱۳۹۸

چکیده

قارچ های دارویی، در کنار گیاهان، از گذشته در درمان بیماری ها جایگاه مهمی داشته اند. یکی از جنس های شناخته شده ی قارچ ها با اثرات دارویی، جنس *Inonotus* می باشد که از بین گونه های آن، بر روی گونه *I. obliquus* (نام انگلیسی Chaga) مطالعات بیشتری انجام شده و اثرات مختلفی از جمله مهار رادیکال آزاد قوی و محافظت کبدی از آن گزارش شده است. در مطالعه حاضر به بررسی اثر محافظت کبدی یکی دیگر از گونه های دیگر این جنس (*I. cuticularis*) پرداخته شده که پیش از این مطالعات بسیار کمی بر روی آن انجام شده بوده است.

قارچ مورد نظر از جنگل های استان مازندران جمع آوری، خشک و توسط قارچ شناس مورد شناسایی قرار گرفت. پس از خرد کردن نمونه، عصاره متانولی به روش ماسیراسیون و عصاره آبی با جوشاندن نمونه باقی مانده از عصاره گیری اول به دست آمد. عصاره ها با استفاده از Rotary evaporator و آون خلاء خشک شدند و جهت بررسی اثر مهار رادیکال آزاد با استفاده از DPPH و بررسی اثر محافظت کبدی در حیوان آزمایشگاهی (موش صحرایی نر نژاد Wister) مورد استفاده قرار گرفتند.

پس از اندازه گیری میزان مهار رادیکال آزاد عصاره ها، حیوانات آزمایشگاهی تهیه و به شش گروه شش تایی تقسیم شدند. یک گروه تنها روغن زیتون (حلال سم تتراکلرید) و باقی گروه ها دوز یک میلی گرم بر کیلوگرم از تتراکلرید را به صورت داخل صفاقی (IP) دریافت کردند. به سه گروه، دوزهای مختلفی (۲۵۰،۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) از عصاره قوی تر قارچ از نظر آنتی اکسیدانی (عصاره آبی) به صورت خوراکی داده شد و یک گروه هم به عنوان گروه کنترل مثبت، دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیمارین را دریافت نمود. پس از ۷ روز متوالی، حیوانات پس از بیهوش شدن، معدوم و نمونه خون قلب و نمونه بافت کبد آن ها تهیه و برای بررسی هماتولوژیک و هیستوپاتولوژیک جدا شدند.

نتایج بررسی ها نشان داد که عصاره آبی قارچ با IC_{50} معادل ۲۶۲ میکروگرم بر میلی لیتر، نسبت به عصاره متانولی ($IC_{50} > mg/kg$) اثر آنتی اکسیدانی قوی تری را داراست و بررسی آنزیم های کبدی نشان داد که میزان آنزیم های AST، ALT و LDH در گروه های دریافت کننده عصاره با غلظت های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به میزان قابل توجهی کاهش یافته و در بررسی بافتی نیز، میزان آسیب وارده به سلول های کبدی را تا حد قابل توجهی کاهش دهد که این اثر تقریباً مشابه اثر گروه دریافت کننده سیلیمارین بوده است.

نتایج فوق نشان می دهد که با توجه به عدم خالص بودن ترکیب مورد مطالعه در قیاس با سیلیمارین، اثرات محافظت کبدی قابل توجهی از قارچ *Inonotus cuticularis* مشاهده

شده است که این اثر، می تواند در بررسی های دقیق تر جهت تعیین ترکیب یا دسته ترکیبات موثر در این زمینه و تحقیقات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *Inonotus cuticularis*، محافظت کبدی، آنتی اکسیدان، DPPH، قارچ دارویی، آنزیم کبدی، سیلیمارین

Abstract

Medicinal mushrooms, along with plants, have long been important in the treatment of diseases. One of the well-known genera of medicinal fungi is *Inonotus* genus, among which *I. obliquus* (common name: Chaga) have been more studied in this regard with various biological effects including strong free radical scavenging and hepatoprotection. In the present study, hepatoprotective effect of another species of this genus (*I. cuticularis*) was investigated.

The fungus was collected from forest of Mazandaran province (Iran), dried and identified by mycologist. After crushing the sample, methanol extract was obtained by maceration and aqueous extract by boiling the remaining sample. The extracts were dried using a Rotary evaporator and vacuum oven and utilized to evaluate the effect of free radical scavenging using DPPH and the hepatoprotective effect on experimental animal (Wister male rats).

After measuring the free radical scavenging activity of the extracts, the experimental animals were prepared and divided into six groups of six. One group received only olive oil (carbon tetrachloride solvent) and the remaining groups received a single dose of carbon tetrachloride, 1mg/kg, intraperitoneal (IP). Three groups received different doses (250,500 and 1000 mg/kg) of the more potent antioxidant (aqueous extract) of the fungal extract, orally, and one group received the dose of 100 mg/kg of silymarin as the positive control group. After seven consecutive days, animals were anesthetized and euthanized. and blood samples of the heart and the liver tissues were collected for hematological and histopathological examinations.

The results showed that the aqueous extract of the fungus exhibited the stronger scavenging activity ($IC_{50}=262 \mu\text{g/ml}$). The results for liver enzymes showed that the AST, ALT and LDH enzymes were significantly decreased in groups receiving extracts at concentration of 500 and 1000 mg/kg and tissue examination showed significantly reduced damage to the liver cells which was comparable to positive control group.

The above results indicate that the different effective doses of aqueous extract of *Inonotus cuticularis* compared to silymarin, maybe is due to the lack of purification of the extract. However, significant observed hepatoprotective effect of the extract makes the fungus deserved to be the case of more investigations to determine the effective component/components, or to be used in this field for subsequent research.

Key words: fungi, *Inonotus cuticularis*, medicinal mushrooms, hepatoprotective, antioxidation, DPPH, Silymarin.