

اثرات مهاری ساچوریا خوزستانیکا (*Satureja khozestanika*) بر اکسیداسیون LDL سرم

تحت اثر سولفات مس در محیط برون تنی

حسن احمدوند^۱، فرشید غضنفری^۲، رضا یاراحمدی^۳، مونا منکاوی^۳، رضوان وجدیان^۳

۱-دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲-کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۳-دانشجوی رشته علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره پانزدهم / شماره ۲ / بهار ۹۲ / ویژه نامه گیاهان دارویی

چکیده

دریافت مقاله: ۹۲/۱/۱۸، پذیرش مقاله: ۹۲/۳/۱۸

*** مقدمه:** اکسیداسیون لیپیدها و از جمله LDL نقش مهمی در ایجاد آترواسکلروز دارد. با استفاده از مواد آنتی اکسیدان در جیره غذایی مانند ویتامین E و اسانس گیاهانی مانند اسانس مرزه خوزستانی می توان از اکسیداسیون LDL جلوگیری و در نتیجه باعث جلوگیری از ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز شد. هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت های مختلف اسانس روغنی مرزه خوزستانی (ساچوریا خوزستانیکا) بر مهار بر اکسیداسیون LDL سرم در محیط برون تنی است.

*** مواد و روش:** از افراد سالم بعد از یک شب ناشتایی نمونه خون تهیه شد و LDL سرم جدا شده را در گروه های کنترل، اکسید شده با مس و اسانس روغنی مرزه خوزستانی با غلظت های (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و ویتامین E با غلظت ۱۰۰ میکرومولار به عنوان کنترل مثبت مطالعه شد. جهت بررسی اکسیداسیون LDL مقدار دی ان های کونزوگه، زمان تاخیری (Lag time) و MDA (مالون دی آلدئید) تشکیل شده اندازه گیری شد و اثرات غلظت های مختلف اسانس روغنی مرزه خوزستانی و ویتامین E بر مهار اکسیداسیون LDL سرم تحت اثر مس بررسی شد.

*** یافته ها:** نتایج بدست آمده نشان می دهد که اسانس روغنی مرزه خوزستانی باعث کاهش اکسیداسیون LDL سرم می شود، بطوری که میزان زمان تاخیری بر اساس غلظت اسانس روغنی مرزه خوزستانی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و ویتامین E با غلظت ۱۰۰ میکرومولار) به ترتیب ۳۳/۳۳، ۶۶/۶۶، ۱۰۰ و ۱۱۱/۱۱ درصد افزایش یافت. اثر مهاری اسانس روغنی مرزه خوزستانی بر اکسیداسیون LDL متناسب با غلظت (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) است.

*** بحث و نتیجه گیری:** نتایج بدست آمده نشان میدهد که اسانس روغنی مرزه خوزستانی باعث جلوگیری از اکسیداسیون LDL و این ترکیبات ممکن است اثرات مشابهی در شرایط درون تنی داشته باشد.

*** واژه های کلیدی:** اکسیداسیون LDL، اسانس روغنی ساچوریا خوزستانیکا.

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کیلومتر ۳ جاده خرم آباد - بروجرد، مجتمع دانشگاه علوم پزشکی

پست الکترونیک: hassan_a46@yahoo.com

مقدمه

اکسیداسیون LDL نقش مهمی در ایجاد آترواسکلروز دارد. استفاده از مواد اکسیدان در مواد غذایی باعث ایجاد LDL اکسید شده و این باعث ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز می شود (۱). وقتی LDL اکسید می شود، تمایل آن به رسپتور کاهش می یابد. جمع شدن LDL اکسیده در ماکروفاژها منجر به پیدایش سلول های کف آلود و تشکیل شدن آترواسکلروز می گردد. با استفاده از مواد آنتی اکسیدان مانند ویتامین E و گیاهان دارویی غنی از مواد آنتی اکسیدان مانند ساچوریاخوزستانیکا می توان از اکسیداسیون LDL جلوگیری و در نتیجه باعث جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز شد (۲).

پاتوژن آترواسکلروز پیچیده است، ولی شواهدی وجود دارد که نشان می دهد اکسیداسیون لیپیدها و LDL یکی از حوادث مهمی است که در تشکیل پلاک های آترواسکلروز نقش دارد. از طرفی آترواسکلروز، به عنوان یک بیماری التهابی نیز مطرح است و گفته می شود عوامل اکسیداتیو و عوامل التهاب زا بصورت سیکلی معیوب در ایجاد و توسعه آترواسکلروز نقش دارند (۳-۱). استفاده از مواد آنتی اکسیدان مانند ویتامین E و گیاهان دارویی غنی از مواد آنتی اکسیدان مانند ساچوریاخوزستانیکا می توان از اکسیداسیون LDL جلوگیری و در نتیجه باعث جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز شد (۲). امروزه شاهد تقاضای هر چه بیشتر بیماران و مردم در استفاده از گیاهان دارویی هستیم و از طرفی پزشکان و دانشمندان علاقمند به تجویز و تحقیق هر چه بیشتر از گیاهان دارویی و جایگزین کردن داروها و آنتی اکسیدان های طبیعی به جای داروهای شیمیایی و سنتزی هستند (۹-۴).

گیاهی که در این تحقیق استفاده شده با نام علمی "ساچوریا خوزستانیکا" (*Satureja khozestanika*) شناخته می شود که محل رویش طبیعی آن در استان های

خوزستان و لرستان است و در گویش محلی به نام "مرزه خوزستانی" شناخته می شود. مرزه که از گیاهان خانواده نعناع به شمار می رود دارای خواص ضد میکروبی و ضد التهابی و ضد درد است. مصرف مرزه موجب کاهش چربی خون می شود. گیاه مرزه خاصیت ضد انعقادی دارد و زمان انعقاد خون را طولانی تر می کند (۱۲-۱۰).

یکی از ترکیبات مهم موجود در مرزه کارواکرول است که دارای خواص آنتی اکسیدانی است. با توجه به خواص مفید مرزه در این مطالعه اثرات ساچوریاخوزستانیکا بر مهار اکسیداسیون LDL سرم در محیط برون تنی بررسی شده است.

مواد و روش ها

تهیه اسانس روغنی ساچوریا خوزستانیکا

مرزه خوزستانی از مزارع شهرستان خرم آباد در استان لرستان جمع آوری شد. قسمت های هوایی گیاه را در مرحله گل دهی جمع آوری و بعد از شستشو در سایه خشک شد و با استفاده از دستگاه سوکسله اسانس گیری شد (۰/۹٪).

مواد دی سدیم اتیلن دی آمین تتراسنتات (Na_2EDTA)، پتاسیم برمید، سدیم کلرید، دی سدیم هیدروژن فسفات (Na_2HPO_4) از شرکت سیگما خریداری شد و اسانس روغنی ساچوریا خوزستانیکا در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه شد.

نمونه گیری خون

نمونه های خون از افراد سالم گرفته شد سرم آنها با استفاده از سانتریفوژ (دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شد و برای جلوگیری از اکسیداسیون نمونه های سرم به آنها سدیم آزید با غلظت نهایی (۰/۰۶ wt/vol) اضافه شد.

جداسازی LDL

LDL سرم با روش ناپیوسته شیب غلظتی با استفاده از اولتراسانتریفوژ جداشد. دانسیته سرم با اضافه کردن برمید پتاسیم (۰/۳۶۵ g/ml) به ۱/۲۱ گرم بر میلی لیتر رسانده شد. به لوله های سانتریفوژ ۳/۵ میلی لیتر سدیم کلرید (mol/lit) ۰/۱۵۴ و ۱/۵ میلی لیتر از سرم های غلیظ شده اضافه شد و در اولتراسانتریفوژ بکمن L7-55 با دور rpm ۴۰۰۰۰ به مدت ۲/۵ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد سانتریفوژ گردید. بعد از سانتریفوژ یک لایه زرد رنگ که LDL است جدا شد. جدا شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد در بافر PBS اکسیژن زدایی شده حاوی سدیم آزید ۰/۰۱٪ و EDTA ۰/۰۱٪ دیالیز شد و در زمان دیالیز سه بار بافر تعویض شد (۱۳).

اکسیداسیون LDL

بعد از جداسازی LDL غلظت پروتئین آن اندازه گیری شد (۱۴) و جهت بررسی اکسیداسیون LDL غلظت آن با PBS ۱۰ میلی مولار و pH= ۷/۴ به ۱۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر رسید. بدنبال آن کنترل که حاوی LDL و نمونه حاوی سولفات مس ۱۰ میکرومولار فاقد عصاره و نمونه های حاوی سولفات مس ۱۰ میکرومولار و عصاره ساچوریاخوزستانیکا با غلظتهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر دسی لیتر تهیه شد. یک نمونه حاوی ویتامین E نیز با غلظت ۱۰۰ نانومولار تهیه شد و معادل حجم عصاره های استفاده شده حلال به نمونه کنترل و مس اضافه شد. تغییرات اکسیداتیو LDL با اندازه گیری جذب ماوراء بنفش محلول در ۲۳۴ نانومتر که نتیجه تشکیل و افزایش دی ان های کونژوگه است هر ۱۰ دقیقه یکبار به مدت ۳ ساعت انجام شد (۱۵).

جهت ارزیابی کینتیک اکسیداسیون LDL منحنی جذب، جذب های بدست آمده، بر حسب زمان نمونه ها رسم

شد و با استفاده از منحنی رسم شده زمان تاخیری (Lag time) و غلظت پایانی دی ان های کونژوگه بعد از ۳ ساعت بدست آمد (با استفاده از ضریب مولی ۲۹۵۰۰ L/mol/cm). اندازه گیری مالون دی آلدئید تشکیل شده: براساس روش آست و برگ^۱ محصول پایانی پراکسیداسیون لیپید که مالون دی آلدئید است اندازه گیری شد. بعد از اضافه کردن املاح سولفات مس و عصاره ها به نمونه های LDL برای مدت ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اینکوبه شد و در پایان با اضافه کردن EDTA با غلظت پایانی ۲ میلی مولار واکنش اکسیداسیون متوقف شد. جذب نمونه ها در ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد و مقدار جذب های بدست آمده با استفاده از ضریب مولی به عنوان MDA تشکیل شده بر حسب nm/mg - LDL-protein گزارش شد (۱۶، ۱۷).

آنالیز آماری

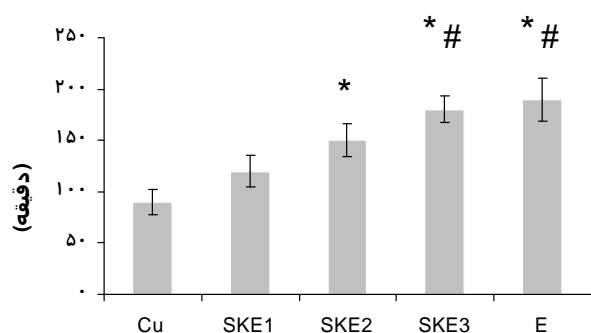
نتایج بدست آمده بصورت میانگین + انحراف معیار بیان شده اند. معنی دار بودن نتایج از نظر آماری و اختلاف بین گروه ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون من ویتنی ارزیابی شد.

یافته ها

ارزیابی نتایج بدست آمده نشان داد که ساچوریا خوزستانیکا بطور معنی داری اکسیداسیون LDL در محیط برون تنی کاهش می دهند (P<۰/۰۵). اثر ساچوریا خوزستانیکا بر مهار اکسیداسیون LDL با غلظت ساچوریا خوزستانیکا متناسب است (این وابستگی با غلظت خطی است).

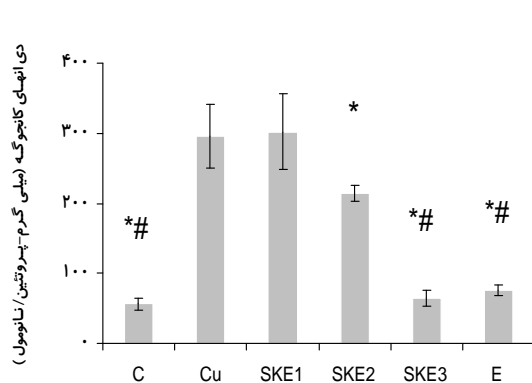
جهت بررسی کینتیک اکسیداسیون LDL، جذب های بدست آمده در ۲۳۴ نانومتر، بر حسب زمان رسم شد که در نمودار ۱ نشان داده شده است. در نمودار مذکور، ۳ قسمت مجزا دیده می شود. فاز تأخیری (Lag phase)، فاز توسعه

1. Aust and Burge



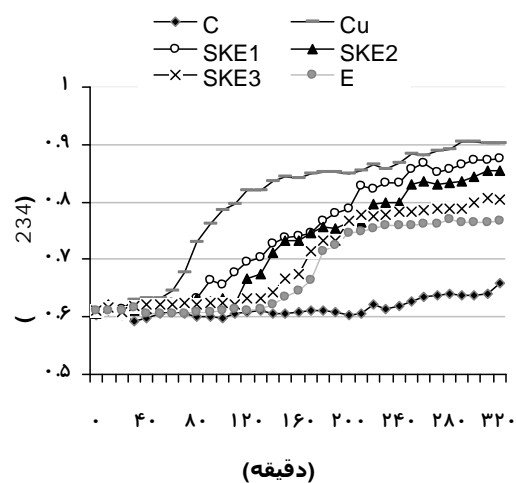
نمودار ۲. مقایسه زمان تاخیری اثر ساچوریا خوزستانیکیا بر مهاری اکسیداسیون LDL. هر نقطه میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش می باشد. علامت * نشان دهنده آن است که نسبت به مس معنی دار است و # نشان دهنده آن است که نسبت به SKE1 معنی دار است. علامت های اختصاری مشابه نمودار ۱ است.

تغییرات اکسیداتیو LDL از طریق اندازه گیری جذب ماوراء بنفش محلول در ۲۳۴ نانومتر بعد از ۳ ساعت بدست آمد و بر اساس آن غلظت پایانی دی ان های کونژوگه (با استفاده از ضریب مولی ۲۹۵۰۰ L/mol/cm) بدست آمد. نتایج بدست آمده در نمودار ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده اثر ساچوریا خوزستانیکیا معنی دار است.



نمودار ۳. مقایسه اثر ساچوریا خوزستانیکیا بر مهاری تشکیل دی ان کونژوگه ناشی از اکسیداسیون LDL. هر نقطه از میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش می باشد. علامت # نشان دهنده آن است که نسبت به مس و SKE1 معنی دار است. علامت های اختصاری مشابه نمودار ۱ است.

(propagation phase) که شدت اکسیداسیون LDL در این فاز افزایش می یابد و فاز خاتمه (decomposition) که اتمام اکسیداسیون LDL می باشد. با استفاده از نمودار ۱ زمان تأخیری (Lag time) ساچوریا خوزستانیکیا مربوطه بدست آمد و زمان تاخیری برای ساچوریا خوزستانیکیا مربوطه رسم شد. نتایج مربوط به زمان تاخیری بدست آمده در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.



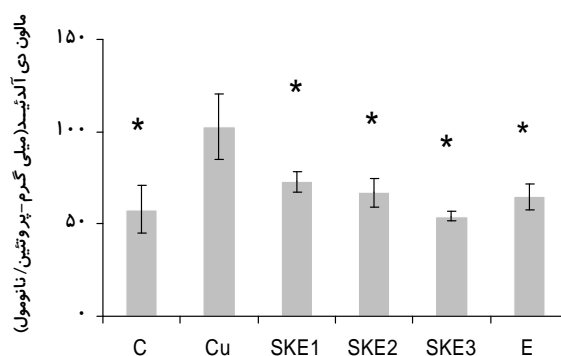
نمودار ۱. کینتیک اثر ساچوریا خوزستانیکیا بر مهاری اکسیداسیون LDL در محلول PBS ۱۰ میلی مولار، pH= ۷/۴ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت ۳ ساعت. هر نقطه میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش می باشد. n-LDL (C) ; Copper + n-LDL (Cu) ; n-LDL (SKE1) + ساچوریا خوزستانیکیا با غلظت (۵۰ μg/dl) ; n-LDL (SKE2) + ساچوریا خوزستانیکیا با غلظت (۱۰۰ μg/dl) ; n-LDL (SKE3) + ساچوریا خوزستانیکیا با غلظت (۲۰۰ μg/dl) ; Vit E + n-LDL (E) با غلظت (۱۰۰ μM).

بدست آمده در این مطالعه ساچوریا خوزستانیکیا مانند ویتامین E بطور معنی دار باعث کاهش دی ان های کونژوگه و مالون دی آلدئید شد. همچنین زمان تاخیری تحت اثر ساچوریا خوزستانیکیا افزایش یافت.

هم اکنون مراکز تحقیقات زیادی در حال تولید، جداسازی و کاربرد انواع آنتی اکسیدان ها در مهار عوارض عروقی، سرمی و بافتی دیابت می باشند و امروزه توجه خاصی در اینگونه تحقیقات به آنتی اکسیدان های با منشأ طبیعی شده است. آنچه در قابلیت آنتی اکسیدان ها مهم است توانایی نفوذ آنها در غشاهای بیولوژیک و سرعت عمل آنها در مهار و خنثی کردن رادیکال های آزاد در کوتاه ترین زمان ممکن بعد از تولید رادیکال های آزاد است (۱۸، ۱۹). البته چنانچه یک آنتی اکسیدان بتواند خواص دیگری چون خواص ضد التهاب و کاهش چربی ها و نیز بتواند سیستم آنزیم های آنتی اکسیدانی بدن را فعال تر نماید از نظر تئوری مناسب تر خواهد بود. در حال حاضر مطالعات زیادی با استفاده از آنتی اکسیدان هایی چون آلفالیپوئیک اسید، عصاره چای سبز (کاتکین ها)، ویتامین C و ویتامین E و دیگر مواد چون عصاره های روغنی گیاهی در ارتباط با بیماری های مختلف مانند دیابت صورت گرفته است و اثرات مفید آنها در درمان و یا کاهش عوارض آن بیماری مشاهده شده است (۲۰، ۲۱).

بر اساس نتایج بدست آمده ساچوریا خوزستانیکیا یک حاوی ترکیبات با خواص آنتی اکسیدان قوی است هر چند تا کنون تحقیقات کمی در مورد ساچوریا خوزستانیکیا انجام شده است. با این وجود مطالعاتی اثر ساچوریا خوزستانیکیا در کاهش وزن و چربی و خاصیت ضد انعقادی را گزارش داده اند (۲۵-۲۲). در یک مطالعه که قبلاً توسط مؤلفین گزارش داده شده است نشان داده شده که مرزه خوزستانیکیا در درمان موش های صحرايي دیابتي مؤثر است همچنین مهمترین ترکیبات موجود

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در نمودار ۴ نشان داده شده است. براساس نتایج بدست آمده اثر غلظتهای مختلف ساچوریاخوزستانیکیا در کاهش مالون دی آلدئید تشکیل شده نسبت به نمونه حاوی سولفات مس فاقد ساچوریاخوزستانیکیا معنی دار است.



نمودار ۴. مقایسه اثر ساچوریاخوزستانیکیا بر مهار تشکیل MDA ناشی از اکسیداسیون LDL. هر نقطه از میانگین بدست آمده از ۳ آزمایش می باشد. علامت * نشان دهنده آن است که نسبت به مس و معنی دار است. علامت های اختصاری مشابه نمودار ۱ است.

بحث و نتیجه گیری

اکسیداسیون LDL در دیواره عروق بعنوان عامل اصلی در پیدایش و توسعه آترواسکلروز می باشد (۲). بر اساس مطالعات انجام شده در LDL افراد آترواسکلروزی، مقادیر کمتری مواد آنتی اکسیدان (نسبت به افراد سالم) وجود دارد (۳). در این مطالعه اثر آنتی اکسیدانی ساچوریا خوزستانیکیا در محیط برون تنی بررسی شده است. مس از طریق واکنش فنتون و هابرویس باعث ایجاد رادیکالهای آزاد می شود و احتمالاً از این طریق باعث اکسید شدن LDL می شود و بدنبال آن میزان لیپید پراکسیدها و دی ان های کونژوگه افزایش می یابد و میزان آنتی اکسیدان های موجود در ساختمان LDL مانند ویتامین E بدلیل تعامل با رادیکال های آزاد بوجود آمده توسط مس کاهش می یابد. بر اساس نتایج

بیشتر از آن به عنوان یک مکمل غذایی و یا حتی با بررسی بیشتر به عنوان دارو در کاهش ریسک مبتلا شدن به بیماری‌های قلبی و عروقی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و همچنین مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی به خاطر تصویب و تعیین اعتبار و فراهم نمودن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پروژه تحقیقاتی اعلام می‌نماید.

در اسانس مرزه خوزستانی عبارتند از کارواکرول، تانین‌ها، تری‌ترپنوییدها و فلاونوییدها که قبلاً توسط مؤلفین گزارش داده شده است. کارواکرول مهمترین جزء و بیشترین درصد اسانس مرزه خوزستانی است. بعلاوه محققین دیگر نشان دادند که کارواکرول دارای اثر حذف‌کنندگی رادیکال‌های پراکسیل است و همچنین دارای اثر آنتی‌اکسیدانی خوب و ضد‌التهابی است (۲۰، ۲۱).

نتایج نشان داد که ساچوریا خوزستانی‌کا بطور مؤثری باعث مهار اکسیداسیون LDL می‌شود و می‌توان با بررسی‌های

References

- Steinberg, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem.* 1997;272(34):20963-20966.
- Ani M, Moshtaghi AA, Ahmadvand H. Comparative Effects of Copper, Iron, Vanadium and Titanium on Low Density Lipoprotein Oxidation in vitro. *IBJ.* 2007;11(2):113-118.
- Ahmadvand H, Khosrowbeygi A, Ghasemi G. Inhibitory effect of *Allium ascalonicum* hydroalcoholic extract on low-density lipoprotein (LDL) oxidation induced by CuSO₄ in vitro. *J Med Plants Res.* 2011;5(6):1012-1017.
- Hamden K, Allouche N, Damak M, Elfeki A. Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. *Chem Biol Interact.* 2009;180(3):421-432.
- Aslan M, Orhan DD, Orhan N. A study of antidiabetic and antioxidant effects of *Helichrysum graveolens capitulum* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food.* 2007;10(2):396-400.
- Kamalakkannan N, Prince PS. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006;98(1):97-103.
- Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I, Wozniak LA. A review of natural and synthetic antioxidants important for health and longevity. *Curr Med Chem.* 2010;17(28):3262-3288.
- Zhang J, Yuan K, Zhou WL. Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of *Mimosa pudica* Linn. From southern China. *Pharmacogn Mag.* 2011;7(25):35-39.
- Vanzani P, Rossetto M, De Marco V. Wild mediterranean plants as traditional food: a valuable source of antioxidants. *J Food Sci.* 2011;76(1): 46-51.
- Abdollahi M, Salehnia A, Mortazavi SH, Ebrahimi M, Shafiee A, Fouladian A. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of *Satureja khuzestanica* in rat in vivo: a oxicopharmacological study. *Med Sci Monit.* 2003;9:331-335.
- Haeri S, Minaie B, Amin G, Nikfar S, Khorasani R, Esmaily H. Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. *Fitoterapia.* 2006;77:495-499.
- Skocibusic M, Bezic N. Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of two *Satureja* species essential oils. *Phytother Res.* 2004;18:967-970.
- Richard SC, Sunder RM, Robert RH, Alan C. Inhibition of LDL oxidation in vitro but not ex vivo by troglitazone. *Diabetes.* 1999;48:83-90.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72(1/2):248-254.

15. Khursheed PN, Enrique B. Maria AL, Charles SL. Oxidation of LDL in baboons is increased by alcohol and attenuated by polyenlphosphatidylcholine. *J Lipid Res.* 1999;40:983-987.
16. Seven A, Civelek S, Inci E, Inci F, Korkut N, Burccak G. Biochemical evaluation of oxidative stress in patients with laryngeal carcinoma. *Tuurk ORL Arflivi.* 1997;35(3-4):88-92.
17. Sheu LU, Chen PH, Tseng WC, Chen CY, Tsai LY, Huang YL. Spectrophotometric determination of a thiobarbituric acid-reactive substance in human hair. *Anal sci.* 2003;19:958-960.
18. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A, Farsam H. An anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of Satureja khuzistanica Jamzad extract. *J. Pharm Pharmaceut Sci.* 2005;8(1):102-106.
19. Kaliora AC, Dedoussis GV. Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacol Res.* 2007;56(2):99-109.
20. Tavafi M, Ahmadvand H, Tamjidipoor A. Satureja khozestanica essential oil ameliorates progression of diabetic nephropathy in uninephrectomized diabetic rats. *Tissue and Cell.* 2011;43(1):45-51.
21. Abdollahi M, Salehnia A, Mortazavi SH. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproduction stimulatory properties and safety of essential oil of Satureja khuzestanica in rat in vivo: a oxicopharmacological study. *Med Sci monit.* 2003;9:331-335.
22. Sanchez VR, Somoza B, Ortega T, Villar AM Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy Satureja obovata. *Planta Med.* 2005;62:272-274.
23. Cetojevic-Simin DD, Canadanovic-Brunet JM, Bogdanovic GM, Cetkovic GS, Tumbas VT, Djilas SM. Antioxidative and antiproliferative effects of Satureja montana L. extracts. *J BUON.* 2004;9:443-449.
24. Mosaffa F, Behravan J, Karimi G, Iranshahi M. Antigenotoxic effects of Satureja hortensis L. on rat lymphocytes exposed to oxidative stress. *Arch Pharm Res.* 2006;29:159-164.
25. Suarez A, Echandi MM, Ulate G, Ciccio JF. Pharmacological activity of the essential oil of Satureja viminea (Lamiaceae). *Rev Biol Trop.* 2003;51:247-252.