Archive of SID

مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی نوزدهم، شماره‌ی ۳، صفحه‌های ۱۶۹ ـ ۱۶۱ (مرداد ـ شهریور ۱۳۹۶)

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

مقاله‌ی پژوهشی

بررسی اثرات ضد دیابتی و ضد نوروپاتی عصاره‌ی هیدروالکلی گل زنگوله‌ای (*Onosma dichroanthum*) در مدل تجربی دیابت در موش سوری به وسیله استرپتوزوسین

مژگان نادری[۱]، دکتر عباسعلی دهپور[۱]، سعید یعقوبی بکلر[۲]، حامد فتحی[۳]، دکتر رامین عطایی[٤]

۱) گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران، ۲) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران، ۳) مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران، ٤) مرکز تحقیقات تالاسمی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** مرکز تحقیقات تالاسمی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران کد پستی ٤٨٤٧١٩٣٦٩٨، دکتر رامین عطایی؛ e-mail: raminataee1349@gmail.com

چکیده

مقدمه: بیماری دیابت اختلالی متابولیکی است که در آن ترشح انسولین یا حساسیت سلول‌های بدن به انسولین دچار اختلال می‌شود. *Onosma* یا گیاه زنگوله‌ای، گونه‌ای از گل گاو زبان در طب سنتی است که به دلیل خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانتی مورد استفاده قرار می‌گیرد این مطالعه با هدف بررسی خواص ضد دیابتی و ضد نوروپاتی و اکسیداتیو استرس، در مدل تجربی دیابت در موش سوری طراحی شد. مواد و روش‌ها: پس از جمع‌آوری گیاه *Onosma dichroanthum*، عصاره هیدروالکلی از اندام‌های هوایی و زیر زمینی آن تهیه و به صورت گاواژ (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به مدت ۳ هفته برای موش سوری تجویز شد و از داروی متفورمین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. پس از پایان دوره‌ی درمانی شاخص‌های قند و وزن و نوروپاتی (به روش صفحه داغ) در موش‌ها و شاخص‌های اکسیداتیو استرس در کبد و مغز موش‌ها تعیین شد. یافته‌ها: عصاره‌ی هیدروالکلی *Onosma d* باعث کاهش معنی‌دار قند خون، افزایش وزن، کاهش نوروپاتی (هایپوآلژزیا) و کاهش شاخص‌های اکسیداتیو استرس شد. در خصوص برخی از پارامترها مانند کاهش قند خون و پارامتر مالونیل دی آلدئید در کبد و مغز، اثر عصاره‌ی اندام زیرزمینی بیشتر و در برخی پارامترها مانند افزایش وزن و کاهش نوروپاتی و افزایش گلوتاتیون، تاثیر عصاره‌ی اندام‌های هوایی بهتر بود. نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان گیاه *Onosma dichroanthum* را به عنوان یک گیاه دارویی ضد دیابت معرفی کرد که با توجه به دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی موثر بر نوروپاتی‌های دیابتی، می‌تواند به عنوان یک رژیم دارویی مکمل مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *Onosma dichroanthum*، دیابت، نوروپاتی، اکسیداتیو استرس، متفورمین

دریافت مقاله: ۹۵/٦/۱۰ـ دریافت اصلاحیه: ۹٦/٤/۲۱ ـ پذیرش مقاله: ۹٦/٤/۲٤

مقدمه

دیابت یا بیماری قند، اختلالی متابولیکی (سوخت و سازی) است. در این بیماری توانایی تولید انسولین از بین می‌رود و یا سلول‌ها در برابر انسولین مقاوم شده‌اند و بنابراین انسولین نمی‌تواند عملکرد طبیعی خود را انجام دهد. در دیابت نوع دو مشخص شده است که عوامل ژنتیکی، چاقی و کم‌تحرکی نقش مهمی در ابتلای فرد دارند.[۱،۲] نوروپاتی شایع‌ترین عارضه‌ی علامت‌دار دیابت در درازمدت است. در ۵۰ درصد از بیماران بالای ۵۰ سال مبتلا به دیابت، شواهدی از نوروپاتی وجود دارد. این عارضه در دیابت نوع یک

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

دیررس بوده ولی در دیابت نوع دو عارضه‌ای زودرس است.[۳-۶]

با توجه به عوارض خطرناک داروهای مختلف در درمان دیابت از جمله انسولین، سولفونیل اوره‌ها[i]، بی‌گوانیدها[ii]، گلیتازون‌ها[iii]، به خصوص در دوزهای بالا، توجه به ترکیبات ترکیبات گیاهی به تنهایی و یا به همراه داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته و در برخی موارد نتایج درخشانی داشته است.[۲]

جنس *Onosma* از گونه‌های گیاه گل گاوزبان نماینده‌ی ۱۵۰ گونه‌ی شناخته شده در آسیا است.[۷-۱۰] این گیاه حاوی آلکانین، شیکونین، فلاونوئید، اسید فرولیک و اسید وانیلیک است که ممکن است مسئول خواص ضد التهابی، التیام زخم و ضد باکتری این گیاه باشند.[۱۱] یک بررسی نشان داد که این ترکیبات دارای اثرات قوی ضد التهابی و ضد درد هستند، اما برخلاف داروهای NSAIDS[iv]، اثر مخرب بر دستگاه گوارش ندارند.[۱۲] هم‌چنین از گونه‌های مختلف این جنس خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضد سرطانی مشاهده شده است.[۱۳-۱۵]

O.dichroanthum گونه‌ای است که در برخی مناطق معتدل و کوهستان می‌روید و در ایران نیز مشاهده و گزارشاتی از فعالیت ضد اسپاسم این گونه گزارش شده است.[۱۶] عصاره‌ی استونی ریشه‌های *O.dichroanthum* منجر به از بین رفتن رادیکال‌های آزاد در بافت‌های خونی و کبدی شده است.[۱۷-۲۲]

با توجه به اطلاعاتی که در خصوص خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانتی گیاه *Onosma* و هم‌چنین اثرات سرکوب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد گیاه *O.dichroanthum* وجود دارد، که از خواص مورد نظر برای داروهای گیاهی ضد دیابت و نوروپاتی دیابتی می‌باشد و نیز وفور این گونه‌ی گیاه در برخی از مناطق کوهستانی ایران، این تحقیق با هدف بررسی اثرات ضد دیابتی و ضد نوروپاتی و ضد استرس اکسیداتیو عصاره‌ی هیدروالکلی این گونه گیاهی و مقایسه با داروی متفورمین در یک مدل تجربی دیابت در موش سوری طراحی شد.

i -Solfonylurea
ii -Biguanide
iii -Glitazones
iv -Nonsteroidal Anti-Inflammatory drugs

مواد و روش‌ها

متفورمین از شرکت مهبان شیمی، استرپتوزوسین، آگار، اسید بوریک، بافرتریس و تیوباربیتوریک اسید از شرکت سیگما، آلمان تهیه شده EDTA، Mgcl2، الکل مطلق، گلوتاتیون، و DMSO از شرکت Merk، واتانول ۹۶ از شرکت نور زکریای رازی ایران خریداری گردید. نرمال سالین ۰/۹ درصد از داروسازی ثامن (ایران)، دستگاه اندازه‌گیری قند خون (Aquacheck، آلمان) و صفحه داغ[v] از از شرکت رسام الکترونیک تهیه شد.

گیاه گل زنگوله‌ایی (*Onosma dichroanthum*) در ارتفاعات تلمادره کیاسر ساری جمع‌آوری شد و نام جنس و گونه آن توسط فلور ایرانیکا و دکتر اسلامی، متخصص سیستماتیک، تایید شد.

روش عصاره‌گیری

برگ و ریشه گیاه پس از جمع آوری و آسیاب کردن، به روش پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. به این ترتیب که ۵۰ گرم پودر آسیاب شده با یک لیتر آب مخلوط شد و به مدت یک ساعت در فلاسک آب گرم با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس توسط سانتریوفیوژ با دور rcf[vi] ۱۶۹۹، بخش جامد از بخش مایع جدا شد و به ان اتانول ۷۵ درصد به منظور رسوب پلی ساکارید اضافه شد. سپس محلول مایع اتانول تحت خلاء فیلتر شد و از طریق کاغذ صافی به حذف پلی ساکارید و حلال، تحت فشار کاهش یافته اقدام شد. پس از تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی اتانول ۸۰ درصد توسط دستگاه پرکولاتور، این عصاره توسط DMSO ۱۰ درصد در آب مقطر به صورت سوسپانسیون درآورده شد و به صورت مایع مصرف گردید.[۲۳،۲۴]

مطالعات حیوانی

لازم به توضیح است تمام روش‌های کار برروی حیوانات آزمایشگاهی بر اساس پروتکل‌های مصوب کمیته اخلاق پژوهشی و با کد طرح و کد اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر (الف-۱۰۷۳۰۵۱۷۹۴۱۰۰۵) انجام شد. موش‌های سوری نر نژاد BULB/c در محدوده‌ی وزنی ۳۰-۲۵ گرم از مجتمع پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شدند و در درجه حرارت ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد با سیکل روشنایی-

v -Hot plate
vi-RCF (relative centrifugal force)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

خاموشی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند. آب و غذای استاندارد موش (پارس، ایران) همیشه، به جز در هنگام آزمایشات، در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. از هر حیوان نیز فقط یک بار استفاده شد. حیوانات در ۸ گروه ٦ تایی به طور تصادفی انتخاب شده، گروه‌بندی و مورد مطالعه قرار گرفتند.

پس از تقسیم‌بندی موش‌ها به ۸ گروه ٦ تایی، قند خون تمام گروه‌ها و میزان پاسخ‌دهی آن‌ها به Hot plate test اندازه‌گیری و ثبت شد. برای ایجاد دیابت در موش‌ها پس از ۸ ساعت ناشتایی موش‌ها، دوز تکی ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم استرپتوزوسین به طور داخل صفاقی تجویز شد و به مدت ٤۸ ساعت آب قند ۱۰ درصد در سیستم آبخوری به موش‌ها داده شد. سپس بعد از ۷ روز تغذیه و نگه‌داری موش‌ها در شرایط کاملا یکسان، قند خون ناشتای هر کدام از آن‌ها برای تایید دیابت اندازه‌گیری شد که قند خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر در حال ناشتا به عنوان علامت دیابت در موش‌ها شناخته شد.[۲۰]

گروه‌های مورد مطالعه

گروه یک (شاهد دیابتی): محلول ۱۰ درصد DMSO در آب مقطر روزانه نیم میلی‌لیتر از طریق گاواژ به مدت ۳ هفته تجویز شد.

گروه دوم (گروه شاهد مثبت): دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم داروی متفورمین (به صورت محلول در DMSO ۱۰ درصد) به مدت سه هفته دریافت کردند.

گروه سوم: دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره گیاه (قسمت هوایی) (به صورت محلول در DMSO ۱۰ درصد) به مدت سه هفته دریافت کردند.

گروه چهارم: دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره (ریشه) (به صورت محلول در DMSO ۱۰ درصد) به مدت سه هفته دریافت کردند.

گروه پنجم: دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره گیاه (قسمت هوایی)+دوز نیم میلی‌لیتر داروی متفورمین به مدت سه هفته دریافت کردند.

گروه ششم: دوز ۵۰ میلی‌گـرم/کیلوگرم عصاره (ریشه)+دوز نیم میلی‌لیتر داروی متفورمین به مدت سه هفته دریافت کردند.

گروه هفتم: گروه شاهد که نرمال سالین دریافت کردند.

گروه هشتم: گروهی که فقط استرپتوزوسین دریافت کردند.

لازم به توضیح است، دوز عصاره براساس مطالعات پیشین،[۱۷] و تعیین شاخص LD50، یک دوز متوسط بود و دوز متفورمین نیز دوز درمانی متوسط در مدل حیوانی بر طبق مطالعات پیشین تعیین شد.[۱۷]

در پایان دوره‌ی درمانی، قند موش‌های کلیه گروه‌های درمانی پس از خون‌گیری از ورید دم توسط دستگاه گلوکومتر و وزن آن‌ها توسط ترازو و نوروپاتی آن‌ها توسط آزمون صفحه داغ توسط دستگاه اندازه‌گیری شد. برای بررسی شاخص‌های اکسیداتیو استرس، گلوتاتیون و مالونیل دی آلدئید[i] (MDA) بافتی مورد بررسی قرار گرفتند.. برای این منظور حیوانات پس از آزمایشات قند خون به وسیله گیوتین کشته شدند و کبد و مغز حیوان خارج شد. بررسی شاخص‌های اکسیداتیو استرس در کل بافت کبد و مغز انجام شد.

اندازه‌گیری میزان گلوتاتیون

برای این منظور، بافت‌های کبدی ابتدا با پنس و قیچی جدا و ۰/۱ گرم از آن با ترازو وزن و به لوله هموژنایزر انتقال داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول EDTA به آن اضافه شد و چند بار عمل هموژن کردن با پیستون انجام شد تا مخلوطی یکنواخت حاصل گردید. سپس محتویات لوله هموژنایزر به لوله سانتریفیوژ انتقال یافت، همچنین ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA دوباره به لوله هموژنایزر اضافه شد و پس از تکان دادن، محتویات آن به لوله سانتریفیوژ (در شرایط ٤ درجه) منتقل شد. در مرحله بعدی، به مرحله رویی سانتریفیوژ، ۱/۵ میلی‌لیتر ۱۰٪ TCA[ii] جهت رسوب پروتئین‌ها اضافه شد. پس از سانتریفوژ مجدد در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی به لوله آزمایش منتقل و به آن ۲/۵ میلی‌لیتر بافر (تریس ٤ مولار، pH 8,9) و ۰/۵ میلی‌لیتر -5,5' ,Ellman's reagent) (dithiobis-2nitro benzoic acid اضافه شد. سپس لوله به خوبی تکان داده شد تا رنگ زرد یکنواختی در لوله حاصل شد. در نهایت، جذب محلول حاصله در ٤۱۲ نانومتر خوانده شد و با مقایسه با منحنی استاندارد غلظت گلوتاتیون به دست آمد.[۲۱]

i -Glutathione and malonydealdehyde
ii - Trichloroacetic acid

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی

میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس روش تیوبابیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بدین‌ترتیب که به ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون بافتی، ۰/۱ میلی‌لیتر از معرف TBA (شامل HCl ۰/۰۵ نرمال، TCA ۱۵ درصد و TBA ۰/۳ نرمال) اضافه، به خوبی مخلوط و در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از سرد شدن ۰/۲ میلی‌لیتر .n- بوتانل اضافه و خوب تکان داده شد و سپس در ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و لایه n-بوتانول برای سنجش در طول موج ۵۳۲ nm جدا و مقدار TBARs از روی منحنی استاندارد محاسبه شد.[۱۷]

تعیین مقدار فلاونوئید (کوئرستین)

نیم میلی‌لیتر از محلول حاوی عصاره‌ی مورد نظر با ۱۵ میلی‌لیتر متانول و ۱۰۰ میکرولیتر از آلومنیوم کلراید ۱۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر از پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد.[۲۵]

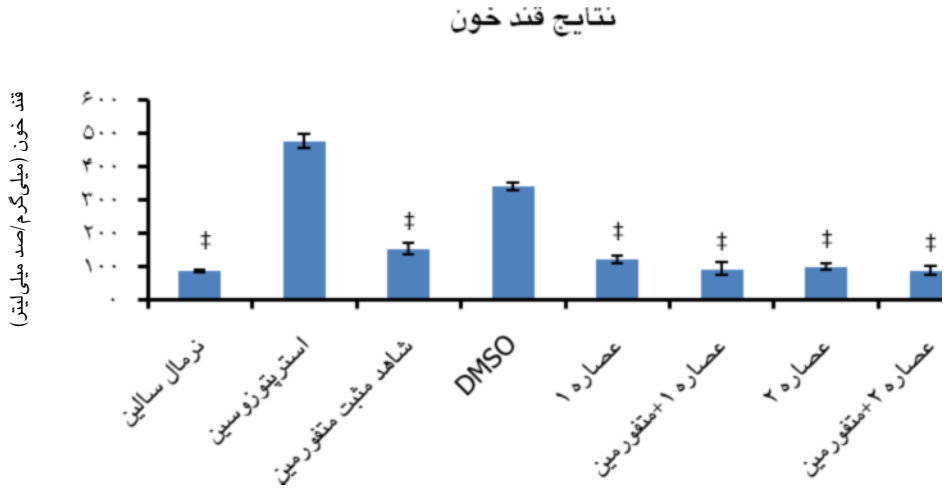
تعیین مقدار فنول (گالیک اسید)

نیم میلی‌لیتر از محلول حاوی عصاره‌ی مورد نظر با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین –سیوکالتیو مخلوط شد و بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷۵ گرم در لیتر سدیم کربنات اضافه شد. بعد از گذشت ۱۲۰ دقیقه جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد.[۲۵]

پس از انجام آزمون‌های آزمایشگاهی، تحلیل آماری با کمک نرم‌افزار SPSS ۲۱ انجام شد. برای این منظور، آزمون‌های آماری آنوای یک طرفه و پست توکی با حد معنی‌داری P<۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی و زیرزمینی *Onosma dichroanthum*، (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، باعث کاهش معنی‌دار قند خون در مقایسه با متفورمین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) شد و تاثیر عصاره‌ی اندام زیرزمینی قدری بیشتر از اندام هوایی بود؛ البته اثر هم‌افزایی معنی‌داری بین متفورمین و عصاره‌ها وجود نداشت (نمودار ۱).



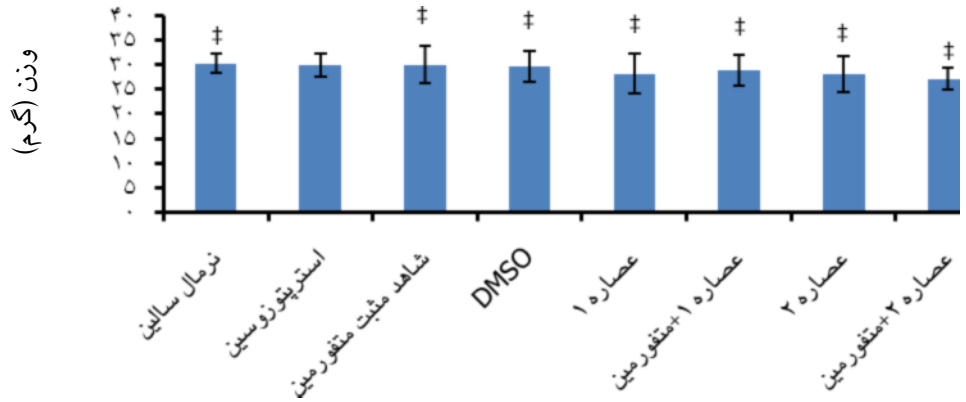
نمودار ۱- مقایسه‌ی میزان گلوکز خون بر حسب (میلی‌گرم/صد میلی‌لیتر) بین همه گروه‌ها با گروه STZ پس از دوره‌ی درمانی.

‡ P<۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (STZ)، عصاره ۱: عصاره هیدروالکلی اندام هوایی، عصاره ۲: عصاره هیدروالکلی اندام زیرزمینی، شاهد مثبت: متفورمین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم.

پس از القای دیابت، وزن موش‌ها نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت و تجویز متفورمین باعث افزایش معنی‌دار وزن شد. تجویز به تنهایی عصاره‌ی هیدروالکلی اندام هوایی باعث افزایش معنی‌دار در وزن شد که البته اثر هم‌افزایی بین عصاره و متفورمین مشاهده نشد (نمودار ۲).

www.SID.ir

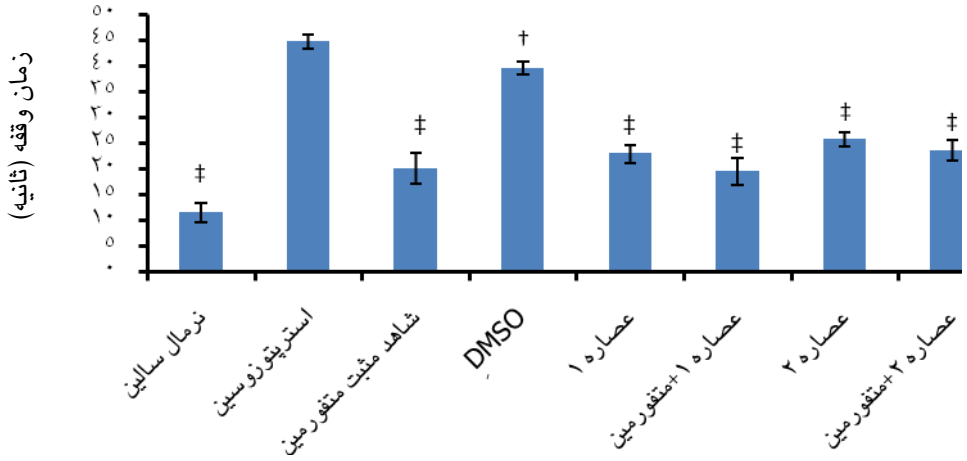
Archive of SID



نمودار۲- مقایسه‌ی میزان وزن موش بر حسب گرم بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره با گروه دریافت‌کننده متفورمین.

‡ اختلاف معنی‌دار$P<۰/۰۰۱$ مقایسه با گروه STZ (کنترل دیابتی)، عصاره ۱: عصاره هیدروالکلی اندام هوایی، عصاره ۲: عصاره هیدروالکلی اندام زیرزمینی، شاهد مثبت: متفورمین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم.

همزمان با اندازه‌گیری مداوم قند خون موش‌ها، پاسخ آن‌ها به محرک درد حرارتی توسط دستگاه هات پلیت اندازه‌گیری شد. در موش‌های دیابتی همان‌طور که انتظار می‌رفت، هایپوآلژزیا (وقفه زمانی در پاسخ به محرک حرارتی) مشاهده شد و در گروه‌های دریافت‌کننده متفورمین و عصاره‌ی اندام‌های هوایی و زیرزمینی، کاهش معنی‌دار هایپوآلژزیا مشاهده شد که قابل مقایسه با گروه متفورمین بود؛ اگرچه اثر هم‌افزایی بین گروه متفورمین و عصاره‌ها وجود نداشت. در اینجا نیز اثر عصاره هوایی موثرتر بود (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میزان نوروپاتی (هایپوآلژزیا) (زمان وقفـــه Sec) در گروه‌هـــای درمانی.

†اختلاف معنی‌دار: $P<۰/۰۱$، ‡اختلاف معنی‌دار $P<۰/۰۰۱$ مقایسه با گروه STZ (کنترل دیابتی). عصاره ۱: عصاره هیدروالکلی اندام هوایی، عصاره ۲: عصاره هیدروالکلی اندام زیرزمینی، شاهد مثبت: متفورمین ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم.

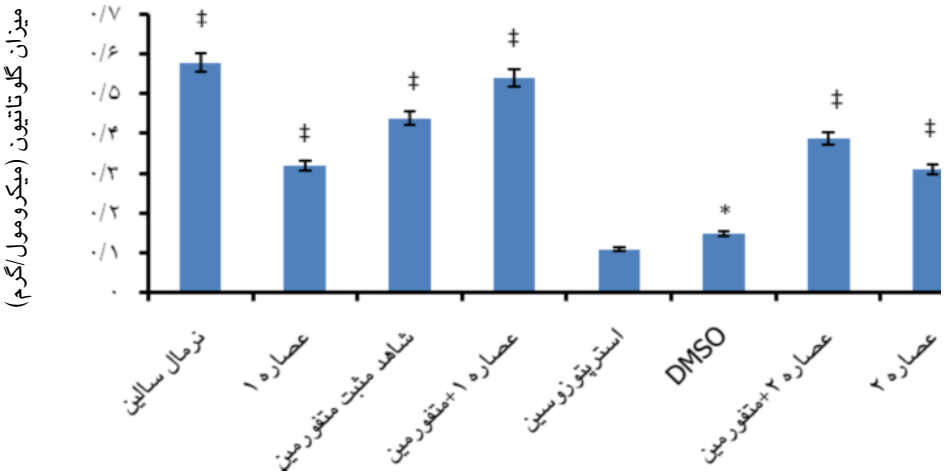
در موش‌های دیابتی، کاهش معنی‌دار در میزان گلوتاتیون در بافت‌های کبـــدی و مغـــزی مشاهـــده شد و متفورمین و عصاره‌های هیدروالکلی اندام هوایی و زیرزمینی باعث افزایش معنی‌دار در میزان گلوتایتون شد، که تاثیر عصاره اندام هوایی بیشتر از اندام زیرزمینی بود. اگرچه ترکیب عصاره و متفورمین باعث افزایش تاثیر در گلوتاتیون کبدی شد، اما این اثر هم‌افزایی معنی‌دار نبود (نمودار ٤).

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

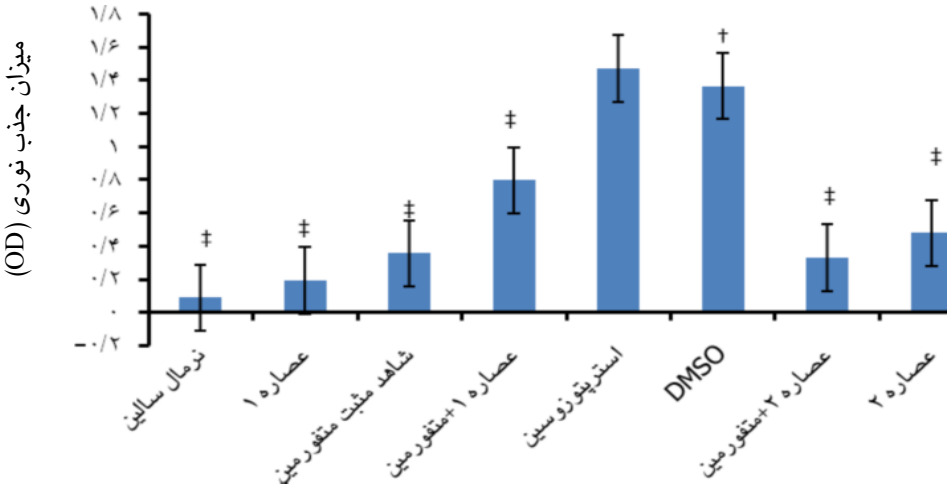
Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017



نمودار۴- مقایسه‌ی میزان گلوتاتیون کبد (میکرومول/گرم)در گروه‌های مورد مطالعه.

‡ P<۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (STZ)، † P<۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (STZ)، عصاره ۱: عصاره هیدروالکلی اندام هوایی، عصاره ۲: عصاره هیدروالکلی اندام زیرزمینی، شاهد مثبت: متفورمین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

در موش‌های دیابتی، افزایش معنی‌دار در میزان لیپیدپراکسیداسیون و MDA در بافت‌های کبدی و مغزی مشاهده شد که متفورمین و عصاره‌های هیدروالکلی اندام هوایی و زیرزمینی باعث کاهش معنی‌دار در میزان MDA شدند و تاثیر عصاره اندام زیرزمینی بیشتر از اندام هوایی بود. اگرچه ترکیب عصاره و متفورمین باعث افزایش تاثیر بر میزان MDA شد، اما این اثر هم‌افزایی معنی‌دار نبود (نمودار ۵).



نمودار ۵- مقایسه‌ی میزان مالونیل دی‌آلدئید کبد در گروه‌های مورد مطالعه.

‡ P<۰/۰۰۱ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (STZ)، † P<۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد دیابتی (STZ). عصاره ۱: عصاره هیدروالکلی اندام هوایی، عصاره ۲: عصاره هیدروالکلی اندام زیرزمینی، شاهد مثبت: متفورمین ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

محتوای ترکیبات فنلی به روش فولین سیو کالتیو[i] برابر ۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره و میزان محتوای تام فنلی موجود در قسمت ریشه گیاه برابر ۴۸ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره بود.

همچنین میزان محتوای تام فلاونوئیدی موجود در عصاره بر اساس نمودار کوئرسیتین[ii] در قسمت هوایی برابر ۳۲ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره و در قسمت ریشه ۱۹ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصار بود.

i - Folin–ciocalteu

ii- Quercetin

www.SID.ir

Archive of SID

در جدول ۱، تاثیر درمان‌های مختلف بر پارامترهای مختلف دیابت و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در مغز و کبد موش سوری آمده است.

جدول ۱- مقایسه‌ی درمان‌های مختلف دارویی بر شاخص‌های دیابت و اکسیداتیو استرس در موش سوری، در مقایسه با گروه شاهد (نرمال سالین)

درمان / پارامتر	نرمال سالین	DMSO	استرپتوزوسین	متفورمین	عصاره ۱	عصاره۲	عصاره۱+متفورمین	عصاره ۲+متفورمین
قند خون میلی‌گرم/صد میلی‌لیتر	۹۰†	۳۲۰*	٤۸۰	۱٤۰†	۱۱۰†	۱۰۰†	۹۵†	۸۵†
نوروپاتی (ثانیه)	۱۱†	۳۸*	٤۵	۲۰†	۲۳†	۲٦†	۱۹†	۲۳†
وزن (گرم)	۳۷†	۳۰	۲٤	۳۲*	۳٤	۳۰	۳۲*	۳۱
مالونیل دی آلدئید کبدی (OD)	۰/۱‡	۱/۲۵	۱/۳۵	۰/۳‡	۰/۳‡	۰/٤۱†	۰/۹†	۰/۳۸‡
مالونیل دی آلدئید مغزی (OD)	۰/۱‡	۱/۳۵	۱/٤۵	۰/۳۵‡	۰/۳‡	۰/۵†	۰/۸†	۰/۳‡
گلوتاتیون کبدی (OD)	۰/۵۸†	۰/۱۳	۰/۱	۰/٤۳†	۰/۳۵†	۰/۳†	۰/۵۵†	۰/٤†
گلوتاتیون مغزی (OD)	۰/٦۵†	۰/۲	۰/۱۸	۰/٦۲†	۰/٤۲†	۰/٤۸†	۰/۵۹†	۰/۵۱†

*significant ،P<۰/۰۵ †P<۰/۰۱ ‡P<۰/۰۰۱

بحث

متفورمین داروی خط اول خوراکی برای بیماران دیابتی تیپ دو از گروه بی‌گوانیدها و منبع اولیه آن از گیاه *Gallega officinalis* است. متفورمین باعث کاهش هایپرگلیسمی از طریق مهار گلوکونئوژنز کبدی و همچنین بهبود سیگنالینگ و عملکرد انسولین در سلول‌ها می‌شود. اما مکانیسم دقیق آن کاملا مشخص نیست و شواهدی از افزایش فعالیت AMPK[iii] در صورت مصرف متفورمین وجود دارد. دارد. از عوارض مصرف متفورمین اسیدوز لاکتیک است که معمولاً در اثر نارسایی کلیه و مصرف دوزهای بالای متفورمین ایجاد می‌شود. که ممکن است خطرناک باشد و منجر به دردهای عضلانی و در مواردی منجر به کما می‌شود.[۱۸]

براساس نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، عصاره هیدروالکلی گیاه *O.dichroanthum* که تیره‌ای از گل گاوزبان یا (*onosma*) است، اثرات ضد دیابتی و ضد نوروپاتی در مدل دیابتی موش سوری دارد که با متفورمین قابل مقایسه است. این عصاره همچنین باعث کاهش اکسیداتیو استرس در بافت کبدی و مغزی موش شد، لیکن اثرات هم‌افزایی در کاهش قند خون و کاهش نوروپاتی بین متفورمین و عصاره اندام‌های هوایی و زیرزمینی مشاهده نشد. اگرچه در کاهش قند خون و کاهش لیپید پراکسیداسیون اثرات اندام‌های زیرزمینی اندکی بهتر بود، اما در بسیاری از شاخص‌ها، مانند افزایش وزن و کاهش نوروپاتی و افزایش گلوتاتیون، اثرات عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی بهتر بود. احتمال می‌رود اثرات عصاره‌ی اندام‌های هوایی این گیاه در کاهش قند خون و کاهش لیپیدپراکسیداسیون و افزایش گلوتاتیون ناشی از گالیک اسید و کوئرستین، به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانت و آنتی‌هایپوکسی، باشد همچنین ممکن است تاثیر عصاره‌ی اندام زیرزمینی در کاهش قند و نوروپاتی و افزایش گلوتاتیون (به عنوان یکی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو داخل سلولی) علاوه بر کوئرسیتین و گالیک اسید به دلیل عوامل دیگری از جمله عناصر معدنی مانند سلنیوم و روی دانست.[۱۹،۲۰]

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ توسط شفقی و همکارانش بر روی گیاه گل گاو زبان انجام شد، بررسی فیتوشیمیایی وجود فلاونوئیدها را در این گیاه نشان داد و پیشنهاد شد که این ترکیبات بتوانند با اتصال به گیرنده‌های بنزودیازپینی اثرات آرام‌بخشی مشابه بنزدیاپین‌ها را از خود بر جای گذارند. نتایج به دست آمده در این مطالعات همچنین نشان دادند که عصاره این گیاه دارای اثرات ضد تشنجی و آرام‌بخشی در موش سوری است.[۲۱]

از چندین گونه گیاهان خانواده‌ی *Boraginaceae*، به خصوص گل گاو زبان (*Borgo Officinalis*) و گونه ایرانی آن (*Echiun Amoenum*) از زمان‌های دور در طب سنتی ایران به عنوان آرام‌بخش استفاده شده است.[۲۲]

مطالعات گذشته در خصوص گیاه onosma، اثرات ضد دیابتی آن را در موش‌ها نشان داده است. در مطالعه‌ای که در هند توسط نیراج کومار و همکارانش بر روی گونه *onosma hispidum* انجام گرفت، اثرات ضد دیابتی مشاهده شد.[۲۶،۲۷]

i - AMP-activated protein kinase

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

در مطالعه‌ای که توسط محمودی و همکارانش در سال ۹۴ در دانشگاه همدان انجام شد، عصاره هیدروالکلی گیاه گل گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum*) باعث کاهش سطح قند و لیپوپروتئین‌های پلاسمایی در مدل موش‌های دیابتی با استرپتوزوسین شد.[۲۸] در مطالعه‌ای توسط فتحی و همکارانش بر روی عصاره متانلی اندام گل گاوزبان (*Echium amoenum*)، مشخص شد که این عصاره به دلیل محتوای قابل توجه گالیک اسید و کوئرسیتین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و به دام اندازی رادیکال آزاد و محتوی فنلی قابل توجه است.[۲۹]

در مطالعه‌ی سارا فریادیان و همکارانش گزارش شد که عصاره آبی گل گاوزبان[i] باعث افزایش سطح سروتونین و دوپامین در مایع CSF در رت می‌شود.[۳۰]

مطالعه ما در راستای مطالعه‌ی نیراج کومار در هند و محمودی در ایران، اثرات آنتی‌دیابتی گونه *Onosma* را نشان داد و باتوجه به این که اثرات ضداکسیداتیو استرس در عصاره‌ی اندام‌های هوایی و زیرزمینی این گونه مشاهده شده، می‌تواند در راستای مطالعات فتحی و محمدی، مرتبط با سطح قابل توجه ترکیبات پلی‌فنلی (گالیک اسید) و فلاونوئیدی (کوئرسیتین) در گیاه گل گاو زبان باشد.

در این مطالعه، متفورمین با توجه به تاثیر آن بر روی دیابت باعث افزایش وزن شد، چرا که دیابت به دلیل کاهش انسولین و کاهش استفاده سلول‌ها از گلوکز باعث کاهش وزن می‌شود. هم‌چنین در این مطالعه، اثرات عصاره‌ی گیاهی در کاهش قند و افزایش وزن و کاهش نوروپاتی قابل مقایسه با متفورمین بود. هم‌چنین تاثیر اندام هوایی در بسیاری از شاخص‌ها بیشتر از اندام زیرزمینی بوده است. اگرچه تاثیر هم‌افزایی بین متفورمین و عصاره چندان مشهود نبود.

لازم به توضیح است که پارامترهای قند، وزن، نوروپاتی و استرس اکسیداتیو از آزمون‌های تجربی برای بررسی دیابت در مطالعات اولیه است؛ در مطالعات بعدی می‌توان پارامترهای تکمیلی را نیز بررسی کرد.

بنابراین، بر اساس این مطالعه می‌توان اثرات آنتی‌دیابتیک و آنتی‌نوروپاتی و آنتی‌اکسیداتیو استرس را برای گیاه *O.dichroanthum* پیشنهاد کرد و آن را به عنوان یک داروی کمکی در درمان دیابت و به خصوص پیشگیری از نوروپاتی‌های دیابتی معرفی کرد.

مطالعه ما برای اولین بار اثر آنتی‌دیابتیک و ضد نوروپاتی عصاره هیدروالکلی *O.dichroanthum* را نشان داده است هم‌چنین مشخص شده است که عصاره اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه باعث کاهش استرس اکسیداتیو در بافت‌های کبدی و مغزی موش سوری می‌شود و این ثرات قابل مقایسه با داروی ضد دیابتیک متفورمین هستند، اگرچه اثرات هم افزایی معنی‌دار با این دارو مشاهده نشد.

سپاسگزاری: بدین‌وسیله از زحمات جناب دکتر ابراهیم‌زاده از گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی علوم پزشکی مازندران که در رابطه با استخراج و تعیین مواد موثره گیاهی مساعدت فرمودند و جناب آقای علی زیار به دلیل همکاری در تحلیل آماری سپاسگزاری می‌شود.

i-*amoenum Echium*

References

1. Shokri Gh, Fathi H, Jafari Sabet M, Nasri Nasrabadi N, Ataee R.Evaluation of anti-diabetic effects of hydroalcoholic extract of green tea and cinnamon on Streptozotocin-induced diabetic rats.Pharm Biomed Res 2015; 1: 20-9.
2. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2008; 31: 55-60.
3. Cimbiz A,Cakir O. Evaluation of balance and physical fitness in diabetic neuropathy patients. J Diabetes Complications 2005: 4160-93.
4. Pajoohi M; Shabannjad Khas Z, Mohajerani Tehrani M.Neuropathy and prevention.Journal of Tehran University of Medical Sciences 2008; 65: 1-6 [Farsi]
5. Alizadeh M. Harison basis of medical Sciences, endocrinology, Persian translate; Esharat Pub co 2002; 1: 165-220. [Farsi]
6. Heydari Safa. Peripheral algesic neuropathy or analgesic. Medical Novin Journal 2010; 375-83. [Farsi]
7. American Diabetes Association. Screening for type 2 diabetes. Diabetes Care 2004; 27: 11-4.
8. Reidl H. Onosma. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. In: Devis PH, editor.1978; 6: 326–76.
9. Nasir YJ, Onosma L. Flora of Pakistan. In: Nasir YJ, Alis I, editors. 1989; 191: 94–100.
10. Binzet R, Kandemir I, Orcan N. Palynological classification of Onosma L. (Boraginaceae) species from east Mediterranean region in Turkey. Acta Bot Croa 2010; 69: 259–74.
11. Stearn WT. The gender of the generic name Onosma (Boraginaceae) Taxon. 1993; 42: 679–81.
12. Mehrabian AR, Sheidai M, Noormohammadi Z, Asrei Y, Mozafarian V. Inter-simple sequence repeats (ISSR) and morphological diversity in Onosma L. (Boragina ceae) species in Iran. Afr J Biotechnol 2011; 10: 10831–38.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Teppner H, Onosma L. Mountain Flora of Greece. In: Tan K, Strid A, editors 1991; 2: 25-38.
14. Zhou L, Zheng G,Wang S, Gan F.Metabolic regulation of pigment formation of Onosma paniculatum cultured cells. Chin J Biotechnol 1992; 8: 263-68.
15. Kandemir A,Turkmen Z. The flora of Uzumlu-Sakaltutan (Erzincan-Gumuflhane) Turk J Bot 2008; 32: 265–304.
16. Lopez G. Notas Sorbre El Genero Onosma L. (Boraginaceae) En El Mediterraneo Occidental. An Jard Bot Madrid 1994; 52: 43–52.
17. Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Ziar A, Mohammadi H. Oxidative damage induced by retching; antiemetic and neuroprotective role of Sambucus ebulus L. Cell Biol Toxicol 2015; 31: 231-9.
18. Hongying An, Ling He. Current Understanding of Metformin Effect on the Control of Hyperglycemia in Diabetes. J Endocrinol 2016; 228: R97–106.
19. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmaco Rep 2005; 57: 90.
20. Parvarizi M. Study of combinational therapy of cinnamon on hypoglycemia induced by insulin in diabetic mice induced by streptozocin. Medical Journal of Tabriz University of medical Sciences 2014; 45: 115-19.
21. Shafaghi B, Naderi N, Tahmasb L, Kamalinejad M. Anxiolyic effect of echium amoenum L. in mice. Iran J. Pharmaceutical Res 2002; 1: 37-4 1.
22. Keshavarzi F, Azadbakht M, Amirghofran Z. Echium amoenum stimulate of lymphocyte proliferation and inhibit ofhumoral antibody synthesis. Irn J Med Sci 2000; 24.
23. Vazini H, Rahimi Esboei B, Abedian R, Ghorbani A, Fathi H. Comparing the Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosemary and Metronidazole in Treating Infection Caused by Giardia lamblia in Mice under In vivo Conditions. J Babol Univ Med Sci 2017; 19: 7-13.
24. Khalili M, Fathi H, Ebrahimzadeh M A. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of Crocus caspius, impact of extraction methods. Pak J Pharm Sci 2016; 29: 773-7.
25. Ghahreman A, Heydari J, Attar F, Hamzeh'ee BA. Floristic study of the southwestern slopes of Binaloud elevations (Iran: Khorassan Province) J Sci (JSUT) 2006; 32: 1-12.
26. Memariani F,Joharchi MR, Ejtehadi H, Emadzade K. Contributions to the flora and vegetation of Binalood Mountain range, NE Iran: Floristic and chorological studies in Fereizi region. Journal of Cell and Molecular Research 2009; 1: 1-18.
27. Zarghami Moghaddam P, Zolfaghari MR, Ghaemi EA. performance of root extract of onosma dichroanthum Boiss. On the burn wound healing in an animal model. Archives of clinical microbiology 2011.
28. Mahmoudi M, Shahidi S, Golmohammadi H, Mohammadi S. Journal of Zanjan University of Medical Sciences 2015; 23: 72-81.
29. Fathi H, Mohammadi HR. Determination of in vitro total phenolic,flavonoid contents and antioxidant capacity of the methanolic extract of Echium amoenum L. Complementary Medicine Journal 2016; 1: 1441-51.
30. Faryadian S, Sydmohammadi A, Khosravi A, Kashiri A, Faryadayan P, Abasi N. Aqueous Extract of Echium amoenum Elevate CSF Serotonin and Dopamine Level in Depression rat. Biomedical and Pharmacology Journal 2014; 7: 137-42.

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Original Article

Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir at 11:49 +0330 on Saturday November 18th 2017

Effects of the Anti-diabetic and Anti-neuropathy Effects of *Onosma* Dichroanthum in an Experimental Model of Diabetes by Streptozocin in Mice

Naderi M[1], Dehpour AA[1], Yaghubi Beklar S[2], Fathi H[3], Ataee R[4]

[1]Biology Department, Islamic Azad University Gaemshahr, [2]Student Committee, Pharmacy School, & [3]Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Hemoglobinopathy Institute, & [4]Thalassemia Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R. Iran,

e-mail: raminataee1349@gmail.com

Received: 31/08/2016 **Accepted**: 15/07/2017

Abstract

Introduction: Diabetes is a metabolic disease with hyperglycemia, decrease in insulin secretion or de-sensitization of peripheral cells to insulin. Onosma is a species of Boraginaceae which although it is used in traditional medicine for its anti-oxidant, anti-inflammatory and antibiotic properties, data on its anti-diabetic effects are limited. This research has been designed to assess its' anti-diabetc, anti-neuropathy and anti-oxidative stress effects in an in-vivo model of diabetes. Materials and Methods: Hydroalcoholic extract was prepared from over-ground organs, (shoots and leaves) and underground organs (roots), and administered by gavage (50 mg/kg) for 3 weeks to mice in a streptozocin induced diabetic model. After the treatment period, blood glucose, weight and neuropathy were determined and for positive control, metformin (50 mg/kg) was used. After removing the brain and liver of mice and homogenization of tissues, the MDA and Glutathione contents of the tissues have been assayed by a colorimetric method. Results: Results of this research show that hydroalcoholic extract of *Onosma d.* has anti-diabeti properties which have beneficial effects for some parameters such as hypoglycemia and reducing MDA, the effect of underground organs as roots extracts were better. However for increasing weight, diminishing neuropathy and increasing GSH contents, the effects of over-ground organs as leaves and shoots extracts were more significant. Conclusion: Results of this research indicate the anti-diabetic and anti-neuropathy properties of *Onosma dichroanthum* as a herbal medicine, related to its anti-oxidant abilities and limited side effects, can hence be used for treatment with other anti-diabetic drugs.

Keywords: *Onosma dichroanthum*, Diabetes, Neuropathy, Oxidative stress, GSH, MDA

www.SID.ir