

بررسی فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و اتنوفارماکولوژی گیاه دارویی *Melilotus officinalis* L. به عنوان ضد التهاب و التیام دهنده زخم دیابتی

آرش خاکی

دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۹۳/۱۸ : تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۲

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اتنوفارماکولوژیکی، فیتوشیمیایی و ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی سرشاخه‌های گلدار گیاه دارویی شاه افسر (*Melilotus officinalis* L.) در یکی از رویشگاه‌های طبیعی در استان گلستان انجام گرفت. سرشاخه‌های گلدار گیاه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری و هم‌زمان مهمترین اطلاعات طب سنتی در مورد اثرات دارویی و نحوه مصرف از مردم محلی نیز اخذ گردید. عصاره اتانولی گیاه با استفاده از روش ماسراسیون (خیساندن)، میزان فنل و فلاونوئید کل به روش اسپکتروفوتومتری، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نیز با استفاده از روش‌های RP, TAC, DPPH اندازه‌گیری و نتایج در سطح $P < 0/5$ ارزیابی شد. نتایج نشان داد که مردم محلی از جوشانده سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر به همراه گیاهان دارویی دیگر: موره، درمنه و براز مبل به عنوان ضد التهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس و رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرهم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی استفاده می‌کنند. نتایج فیتوشیمیایی نیز نشان داد که عصاره گیاه به دلیل پتانسیل بهینه در سنتز ترکیبات فنلی ($109/8 \pm 0/4$ mgQUE/g) و فلاونوئید کل ($82 \pm 0/2$ mgGAE/g) از بیشترین میزان عملکرد آنتی اکسیدانی مخصوصاً در روش DPPH با میزان $IC_{50} = 3/17 \pm 1/2$ mg/ml در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود. این یافته‌ها در تایید مصارف سنتی گیاه به عنوان ضد التهاب، آنتی اکسیدان، مرهم و ضد عفونی زخم‌ها قابل بحث است.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، اتنوفارماکولوژی، شاه افسر، فنل کل، فلاونوئید کل، استان گلستان.

مقدمه

از گذشته تاکنون گیاهان بومی، به دلیل امکان سنتز متابولیت‌های ثانویه (ترپنویدها، فنل‌ها و فلاونویدها) از اصلی‌ترین منابع غذایی و دارویی برای زندگی بشر بوده و هستند (قاسمی و همکاران، ۲۰۱۱). پلی‌فنول‌های گیاهی و فلاونویدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی و طبیعی از مهمترین عوامل محدودکننده آسیب‌های اکسیداتیوی در بدن محسوب می‌شوند که به وسیله غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد وقتی به لیپیدها و غذاهای حاوی لیپید اضافه می‌گردند، می‌توانند عمر مفید آنها را به وسیله به تاخیر انداختن فرآیند پراکسیداسیون لیپید افزایش دهند و با جلوگیری از تخریب مواد غذایی، نقش مهمی را در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های شایع امروزی که بیشتر مربوط به تغییر شیوه زندگی، افزایش سن و خصوصاً افزایش ارتباط به تشکیل گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر (ROS) و پراکسیداسیون لیپید مربوط است ایفا می‌کنند. به همین دلیل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مواد غذایی به عنوان مواد ضد سرطان مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (خاکی و همکاران، ۲۰۱۰).

گیاه دارویی اندارویی بومی به دلیل اینکه قادرند تحت استرس‌های محیطی مواد موثره دارویی بسازند، به عنوان قدرت سنتز مواد موثره در رویشگاه‌های طبیعی که علاوه بر سازگاری اکولوژیکی قادرند با سنتز مواد موثره ثانوی و فعال تحت استرس‌های محیطی در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر واقع شوند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع انسان و دام قرار گرفته‌اند (Kaneko et al., 2007) و از آنجایی که سرخ‌های کلیدی برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و بررسی خواص درمانی گیاهان دارویی بومی مبتنی بر نحوه استفاده سنتی از آن گیاهان است

(Mazandarani et al., 2011). از همین رو شناسایی، استخراج و تولید داروهای طبیعی و موثر، از عوامل مهمی هستند که طی چند سال اخیر، بسیار مورد توجه سازمان جهانی بهداشت (WHO) قرار گرفته است (Goleniowski, 2006).

گیاه شاه افسر (Melilot) با نام علمی *Melilotus officinalis* L. به معنای جذب کننده زنبور عسل، متعلق به تیره حبوبات (Fabaceae) گیاهی است علفی یکساله به طول ۳۰-۴۵ سانتی‌متر، که اغلب در هنگام گلدهی به ۱٫۲ تا ۱٫۸ نیز می‌رسد. با ساقه‌های باریک راست نرم و با انشعابات فراوان، برگ‌های سه برکچه‌ای متناوب و گل‌های زرد پروانه آسا در گل آذین خوشه‌ای معطر و میوه‌های نیام تک دانه‌ای که بومی نواحی بایر مدیترانه‌ای و علفزارهای آفتابگیر کنار جاده‌ای و در خاک‌های گچی، که در جذب زنبور عسل و حیوانات مخصوصاً اسب موثر است (Ghasemi et al., 2011). گلدهی در بهار و تابستان در خاک‌ها حاصلخیز مزارع، مقاوم به خشکی، در آمریکا، استرالیا، ایتالیا و بقیه کشورها و از جمله اینکه از گیاهان بومی و خودروی مزارع و علفزارهای آفتابگیر استان گلستان است که اغلب به صورت گونه مهاجم در حاشیه جاده‌ها، مزارع متروکه و سواحل شور پایین دست استان گلستان رویش دارد و مخصوصاً در فرهنگ سنتی مردم ترکمن منطقه از این گیاه به عنوان مقوی، مسکن، ضدالتهاب و ضد عفونی کننده قوی در التیام زخم‌های سوختگی و زخم پای دیابتی استفاده می‌شود.

لذا با توجه به اهمیت موضوع، پراکنش فراوان گیاه در منطقه و سپس سابقه دیرینه استفاده گیاه شاه افسر به عنوان مقوی ضدالتهاب و ضد عفونی کننده در درمان زخم پای بیماران دیابتی، این تحقیق با هدف فیتوشیمیایی، اتنوفارماکولوژی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های گلدار گیاه در یکی از رویشگاه‌های طبیعی آن در شهرستان گرگان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳ از یکی از علفزارهای آفتاب‌گیر و زمین‌های نیمه شور اطراف فرودگاه گرگان (ارتفاع ۱۵ متری از سطح دریا) جمع‌آوری، خشک و به‌منظور عملیات عصاره‌گیری در آزمایشگاه آماده گردید. همزمان با حضور در روستای محمدآباد و طی مصاحبه چهره به چهره با مردم محلی و مخصوصاً درمان‌گران محلی تلاش شد که اطلاعات سنتی در مورد اندام‌های مصرفی و عملکرد دارویی گیاه اخذ و ثبت گردد.

عصاره‌گیری (Arabshahi-Delouee et al., 2007): برای تهیه عصاره، مقدار ۴۵ گرم از پودر خشک گیاه را در ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد حل کرده و به‌مدت ۲۴ ساعت با دور ۲۵۰ تکان داده و بعد محلول را ۳ بار صاف نموده و سپس با استفاده از دستگاه روتاری (پمپ در خلأ) خشک می‌کنیم.

تعیین مقدار فنل کل (Purmorad et al., 2006): برای ارزیابی فنل کل از معرف فولین سیکالتو استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۷/۵ درصد) ترکیب و پس از نیم ساعت جذب هر یک از محلول‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتری (مدل UV; T90; UV/Vis Sepctrophotometer double beam: pG Instruments Ltd) در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد بر حسب اسید گالیک با غلظت‌های مختلف ترسیم و مقدار فنل کل میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و بیان شد.

تعیین مقدار فلاونوئید کل (Chang et al., 2002): اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل بر اساس رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره

۱/۵ میلی‌لیتر متانول (درصد ۸۰)، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. پس از گذشت نیم ساعت جذب محلول‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد نیز بر اساس غلظت‌های مختلف کوئرستین رسم شد و میزان فلاونوئید معادل میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و بیان شد.

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH^۱ (Arabshahi-Delouee et al., 2007): ۰/۱ گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با ۱۰۰ سی‌سی متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ را آماده می‌کنیم و در داخل لوله آزمایش ۳ سی‌سی از عصاره اندام‌های مختلف ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ریخته به اضافه یک سی‌سی محلول DPPH هم زده دور لوله‌ها را با فویل می‌بندیم تا نور به آنها نخورد لوله‌ها را ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و جذب را در ۵۱۷ نانومتر می‌خوانیم.

$$R = (AD - As / AD) * 100$$

AD: جذب DPPH رقیق شده با متانول به نسبت ۱:۱
AS: جذب هر یک از نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر
R طبق فرمول محاسبه و نمودار مربوط به هر عصاره جداگانه براساس غلظت و R رسم گردیده و معادله خط نمودارها بدست آمد و IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط (محاسبه گردید).

روش RP (Reducing power): Arabshahi-Delouee و همکاران (۲۰۰۷) مقدار ۰/۱ گرم از عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته، در بالن ژوژه ۱۰۰

3. 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

1. Absorbance of DPPH
2. Absorbance of sample

مراحل ساخت معرف TAC به شرح زیر می‌باشد:
 ۱۶ سی سی اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار را توسط آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی سی رسانده و توسط مگنت هم زده، در مرحله بعد ۲/۴۷ گرم آمونیوم مولیبدات و ۵/۲ گرم تری فسفات سدیم اضافه کرده، در این مرحله رنگ محلول زرد کم رنگ می‌باشد هم زدن را تا جایی ادامه می‌دهیم تا محلول کاملاً بی‌رنگ شود.

نتایج

نتایج نشان داد که مردم محلی از جوشانده سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر به‌همراه گیاهان دارویی دیگر مثل: موره، درمنه و برازمل به‌عنوان ضدالتهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس، هموروئید، رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرهم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی و اینکه از جوشانده دانه‌های این گیاه به‌عنوان قابض و ملین قوی در درمان نفخ و نارسایی‌های روده، یبوست و در تقویت سیستم گردش خون استفاده می‌شود. نتایج فیتوشیمیایی (جدول ۱) نیز نشان داد که عصاره گیاه به‌دلیل پتانسیل بهینه در سنتز ترکیبات فنلی ($1.09/8 \pm 0.4$ mgQUE/g) و فلاونوئید کل (82 ± 0.2 mgGAE/g) از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی مخصوصاً در روش DPPH. با میزان $IC_{50} = 3.17 \pm 1.2$ mg/ml در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود. این یافته‌ها در تایید مصارف سنتی گیاه به‌عنوان ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، مسکن درد، مرهم و ضد عفونی زخم‌ها و رفع التهابات مفصلی قابل بحث است.

سی سی با متانول خالص به حجم می‌رسانیم و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ ppm را تهیه می‌کنیم. ۱ سی سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را برداشته و در لوله‌های آزمایش مجزا ریخته، به هر کدام ۲/۵ سی سی بافر فسفات با PH:6.6 و ۲/۵ سی سی فروسیانید پتاسیم ۰/۰۱ مولار اضافه کرده، هم زده، درب لوله‌ها را بسته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن ماریبا دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم سپس به هر کدام ۲/۵ سی سی تری کلرو استیک اسید ۰/۱ مولار اضافه کرده و پس از بستن مجدد درب لوله‌ها در سانتی‌فیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۷۰۰ قرار داده پس از آن ۲/۵ سی سی آب مقطر و ۰/۵ سی سی کلرید آهن III اضافه کرده و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید.
 بافر فسفات: ۱۰ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات را با آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی سی رسانده و ۱۰ گرم تری سدیم هیدروژن فسفات به آن اضافه می‌کنیم.
 بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد.
 روش TAC (Total antioxidant capacity):
 Arabshahi-Delouee و همکاران (۲۰۰۷) مانند دو روش قبلی مقدار ۰,۱ گرم از عصاره را با متانول خالص به حجم ۱۰۰ رسانده و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ ppm را تهیه می‌کنیم. ۰/۳ سی سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را در لوله‌های مجزا ریخته و به هر کدام ۳ سی سی معرف TAC افزوده، درب لوله‌ها را با فویل بسته و به مدت یک ساعت و نیم در بن ماریبا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم، پس از برداشتن لوله‌ها از بن ماری و رسیدن دمای آن به محیط جذب نمونه‌ها را در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید.

جدول ۱- ارزیابی میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه شاه افسر در روش‌های مختلف (RP, TAC, DPPH)

Phytochemical test	Gorgan region (15m)			
	فعالیت آنتی‌اکسیدانی		IC50 in DPPH Mg/ml	فنل تام mgQUE/g
	IC50 in RP Mg/ml	IC50 in TAC Mg/ml		
	15.17±0.45	6.9±0.3	3.17±0.2	109.8±0.4

برخوردارند و علاوه بر پتانسیل سازش‌پذیری گیاه به استرس‌های اکولوژیکی (مخصوصاً پتانسیل دفاعی گیاه علیه علفخوار و پاتوژن‌ها)، ایجاد رنگ و طعم در گیاهان، جلب عوامل گرده‌افشان و پراکنش میوه، دارای اثرات مختلف دارویی بوده و از دیرباز در پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر بوده‌اند (Mazandarani *et al.*, 2010). اخیراً گزارش شده که اسیدهای فنلی موجود در میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی، نقش محافظتی بالقوه‌ای را در مقابل بیماری‌های تحت تاثیر تنش اکسیداتیو دارند (Zarghami *et al.*, 2011). در تایید موارد فوق نیز نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که کثرت میزان ترکیبات فنل و فلاونوئیدهای بالای عصاره گیاه نقش مهمی در عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن داشته است. همسو با یافته‌های این تحقیق، ارزیابی نتایج دیگران نیز حاکی از آن است که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اغلب گیاهان دارویی اساساً به ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی آن گیاهان مربوط است (Zarghami *et al.*, 2011) و در گونه‌های گیاهی مختلفی همبستگی بین مقدار ترکیب‌های فنلی (اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها) و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است. به‌عنوان مثال در گیاه هوا چوبه (*Onosma dichroanthum*) (Zarghami *et al.*, 2011a)، گیاه موره و گزنه (Mazandarani *et al.*, 2011b; Mehri *et al.*, 2012)، رزماری، مریم‌گلی، آویشن (Mahboubi *et al.*, 2012)، باریجه و پونه (Nabavi *et al.*, 2012)، به‌دلیل بالا بودن ترکیب‌های

بحث

درحال حاضر مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی علی‌رغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، به‌دلیل بروز عوارض جانبی از جمله امکان سرطان‌زایی و همچنین تمایل روزافزون مردم جهت پرهیز از مصرف، رو به کاهش گزارده است (Huda *et al.*, 2009) و از آنجایی که تولید بالای گونه‌های اکسیژن‌واکنش‌دهنده، موجب بروز استرس‌های اکسیداتیو و وقایع پاتولوژیکی نظیر سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و آلزایمر می‌شوند، پس شناسایی راه‌های موثر حذف ROS رادیکال‌ها و استرس‌های بیولوژیک، از طریق غذاها و داروهای آنتی‌اکسیدان بسیار ضروری است (Kanazawa *et al.*, 2009) و شواهد اپیدمی و لوژی حاکی از آن است که بین مصرف غذایی حاوی فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان و ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، دیابت و... ارتباط معکوس وجود دارد، و مشخصاً اینکه از گذشته‌های دور، گیاهان دارویی بومی در پیشگیری و درمان بیماری‌های گوناگون بکار برده شده‌اند و تحقیقات مختلف فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن گیاهان را عمدتاً به‌حضور ترکیبات ثانوی دارویی نسبت داده است (Ghasemi *et al.*, 2004; Banfi *et al.*, 2008; Nabavi *et al.*, 2010; *al.*, 2011).

ترکیب‌های ثانوی فنلی و فلاونوئیدی در اکثر اندام‌های گیاهان دارویی، مخصوصاً گیاهان بومی وجود دارند ولی ماهیت و غلظت آنها متفاوت بوده و باطبع از عملکردهای متفاوت بیولوژیکی نیز

میرگ‌ها در درمان واریس، التهاب و عفونت پای دیابتی قابل بحث است (Abdollahi *et al.*, 2008). ترکیبات فلاونوئیدی و کومارین‌های عصاره گیاه شاه افسر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان از تولید و عملکرد استرس‌های اکسیداتیو (NO) جلوگیری کرده و بنابراین می‌تواند در کاهش عوارض ناشی از دیابت مثل التهابات پوستی (Larijani *et al.*, 2008; Leidig *et al.*, 2001)، پوکی استخوان (Hemmat abadi *et al.*, 2010)، پیشگیری و درمان زخم پای دیابتی (ALTINDAG *et al.*, 2009; Banfi *et al.*, 2008; Hammada *et al.*, 2008) و درمان نوروپاتی دیابتی (Unger *et al.*, 2007) و تحریک تولید سلول‌های استخوانساز و در نهایت درمان پوکی استخوان موثر است (لاریجانی و همکاران ۲۰۰۸؛ Kanazanwa *et al.*, 2009).

در مدل حیوانی نیز مشخص گردید که فرآورده ترکیبی از عصاره گیاه شاه افسر با عصاره گزنه به‌دلیل کثرت اسیدهای فنلی، فلاونوئیدی، ویتانین K، کومارین، دی کومارین، آنتراکوئینون، کومارین‌های اسکولین و اسکولتین به‌عنوان ضدالتهاب قوی و محرک سیستم گردش خون و ایمنی می‌تواند در فرایند پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ و سرطان کولون در مدل موش موثر باشد (Mehri *et al.*, 2011; Leilei *et al.*, 2011; Farzamfar *et al.*, 2008; Kaneko *et al.*, 2011).

نتایج یافته‌های دیگران نیز نشان داده که استعمال خارجی عصاره گیاه به‌عنوان مسکن و ضد التهاب و ضد تورم در درمان التهابات مفصلی، دردهای روماتیسمی، ورم مفاصل، واریس، هموروئید، رفع التهابات سرطانی، زخم و سوختگی موثر است (Hasani ranjbar *et al.*, 2012; Farzamifar *et al.*, 2008).

پلی‌فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در مهار رادیکال آزاد DPPH نشان دادند و در آن رابطه نیز تحقیقات نشان داده که ترکیب‌های فلاونوئیدی و تربنی خواص درمانی، ضدباکتریایی، ضد قارچی، ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضدآلرژی، ضداسپاسم، آنتی‌اکسیدانی، تب بر و نیز آرام‌بخش دارند (Zarghami *et al.*, 2012). گزارش شده که مواد موثره ثانوی (تربنی، فنلها و فلاونوئیدها) موجود در اسانس و عصاره گیاهان دارویی بومی از جمله گیاه شاه افسراز مهم‌ترین فرآورده‌های ضد میکروبی، ضد قارچی، ضدانگلی، ضد درد و آنتی‌اکسیدانی معرفی شده اند که این موضوع همسو با نتایج این تحقیق در تایید و مستندسازی علمی مصارف سنتی این گیاه بسیار قابل توجه و بحث است (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010; Mazandarani *et al.*, 2011; Heshmatabadi *et al.*, 2010; Ebrahimi *et al.*, 2012).

همسو با یافته‌های اتنوفارماکولوژی این تحقیق، در طب سنتی اغلب کشورها از گیاه شاه افسر برای رفع التهابات پوست و مو، مسکن (سردرد، سنگینی سر و چشم، سردی دست و پا، خون دماغ، فروختگی صورت، رفع تهوع و میگرنی استفاده می‌شود و اینکه در مدل‌های *invivo* و *invitro* بیشتر علت آنرا به توانایی گیاه در سنتز ترکیب‌های پلی‌فنلی، کومارینی، دی کومارول، هیدروکوماریک اسید (melilotic)، اورتوکوماریک اسید، ملیلویتیک انهیدرید و لاکتون‌های گیاه نسبت داده‌اند (Forouzandae *et al.*, 2005; Farzamfar *et al.*, 2008; Kanazawa *et al.*, 2009).

گزارش شده که عصاره گیاه شاه افسر دارای ترکیبات کومارینی، فلاونوئیدهای (کامفرول، کوئرستین)، ساپونین‌های تری تربنی و تربنی‌های آنتی‌اکسیدان اسانس آن نیز دارای اثر ضدالتهابی و ضد عفونی‌کننده است که توجیه‌کننده نتایج این تحقیق به‌عنوان اثر ضدالتهابی گیاه در تقویت جداره

مدل‌های حیوانی و بالینی قرار گیرد تا بتوان به داروی موثر و کم خطر در پیشگیری و درمان عوارض ناشی از بیماری دیابت دست یافت، و در ضمن استانداردها و روش‌های استخراج و با فرمولاسیون ترکیبات دارویی بتوان به داروهای گیاهی با کمترین عوارض جانبی در پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع در منطقه پرداخت، لذا پیشنهاد می‌گردد مطالعات تکمیلی بیشتر بر روی ترکیبات پلی فنلی این گیاه به صورت تجربی-بالینی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان صورت بگیرد تا فرمولی جدید و نو ترکیب در درمان آسیب‌های عروقی ناشی از دیابت ابداع گردد.

منابع

1. Abdollahi M., Farzamfar B., Salari P., Khorram Khorshid, H.R., Larijani, B., Farhadi, M., and Madani, S.H. 2008. Evaluation of acute and sub-chronic toxicity of semelil (ANGIPARS™), a new phytotherapeutic drug for wound healing in rodents. *DARU*, 16(1):7-14.
2. Altindag, O., Erel, O., Soran, N., Celik, H., and Selek, S. 2008. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. *Rheumatol Int.*, 28:317-321.
3. Arabshahi-Delouee, S., and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem.*, 102(4):1233-1240.
4. Bahrami, A., Kamali, K., Ali-Asgharzadeh, A., Hosseini, P., Heshmat R., Khorram Khorram H.R., Gharibdoust, F., Madani, S.H., and Larijani, B. 2008. Clinical application of oral form of ANGIPARS™ and in combination with topical form as a new treatment for diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *DARU*. 16:41-48.
5. Banfi, G., Lorio, E., Corsi, M. 2008. Oxidative stress, free radicals and bone remodeling. *Clin Chem Lab Med.*, 46(11):1550-1555.
6. Bakhshayeshi, S., Madani, S.P., Hemmatabadi, R., Heshmat, M., and Larijani, B. 2011. Effects of Semelil (ANGIPARS™) on diabetic peripheral neuropathy: A randomized, double-blind Placebo-controlled clinical trial. *Daru J. of pharmaceutical Science*. 19(1): 65-70.

نورروپاتی دیابتیک یکی از معمولترین نارسایی‌های دیابتی است که ۲۵-۵۰ درصد بیماران دیابتی به آن مبتلا هستند و گزارش‌های علمی حاکی از آن است که فلاونوئیدهای کومارین و هیدروکسی کومارین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در درمان diabetic peripheral neuropathy مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bakhshayeshi *et al.*, Foruzandaei *et al.*, 2005). (2011).

در تحقیقی که توسط بخشایشی و همکاران ۲۰۱۱ روی ۴۹ بیمار دیابتی نوع ۲ انجام گرفت نشان دادند که داروی آنژی پارس مستخرج از گیاه شاه افسر بسیار موثر در درمان زخم و التهابات پوستی است (Masoompur *et al.*, 2008; Ebrahimi *et al.*, 2009). یعنی اینکه ترکیبات کومارین و فلاونوئیدهای موجود در عصاره گیاه شاه افسر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی در کاهش استرس‌های اکسیداتیو موثر است (Molina *et al.*, 2005 و Hemmat abadi *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری نهایی

همانطور که در این تحقیق به تفصیل در مورد اطلاعات فیتوشیمیایی، اتنوفارماکولوژی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه بحث شد، نشان داد که گیاه دارویی شاه افسر یکی از گونه‌های ارزشمند دارویی در استان گلستان است که اغلب در علفزارهای طبیعی و آفتابگیر استان گلستان از پراکنش بهینه‌ای برخوردار است و از گذشته‌های دور به‌عنوان به‌عنوان ضدالتهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس و رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرحم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی استفاده می‌کنند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که این گیاه و فراورده‌های مستخرج دارویی از آن می‌تواند به‌عنوان یک سرینج کلیدی در دستور کار انجام تحقیقات تکمیلی آزمایشگاهی و

7. Brandi, M.L. 2010. Bone health and diabetes, *Medicographia*, 32:364-369.
8. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157-2184.
9. Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10: 178-182.
11. Ebrahimi, M., Bakhshayeshi, S., Heshmat, R., Shahbazi, S., Aala, M., Peimani, M., Khushechin, G., Mohajeri Tehrani, M.R., Shojaeefard, A., Kamali, K., Azimaraghi, O., Larijani, B. 2009. Post marketing surveillance on safety and effectiveness of ANGIPARSTM in treatment of diabetic foot ulcers. *DARU*. 17:45-49.
12. Farzamfar, B., Minaie, B., Mobtaker, M., Salari, P., Khorasani, R., and Abdollahi, M. 2008. Effect of electromagnetic form of *Melilotus officinalis* extract on dermal wound healing in diabetic mice. *Pharmacology online*, 2:246-254.
13. Forouzandeh F., Aziz Ahari A., Abolhasani F., and Larijani B. 2005. Comparison of different screening tests for detecting diabetic foot neuropathy. *Acta Neurol Scand*. 112: 409-413.
14. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, M., Nabavi, F., Ebrahimzadeh, A., and Pourmand, F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. *Medicinal plant*, 1138-1133.
15. Goleniowski, M.E., Bongiovanni, G.A., Palacio, L., Nunez, C.O. and Cantero, J.J. 2006. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 107:324-341.
16. Hamada, Y., Fujii, H., and Fukagawa, M. 2009. Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. *Bone*, 45: 35-38.
17. Hasani-Ranjbar, S., Larijani, B., and Abdollahi, M. 2008. A systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. *Arch Med. Sci.*, 4(3):285-292.
18. Hasani-Ranjbar, S.H., Jouyandeh, Z., Qorbani, M., Hemmatabadi, M., and Larijani, B. 2012. The effect of seemly (angipars W) on bone resumption and bone formation markers in type 2 diabetic patients. *DARU. Journal of Pharmaceutical Sciences*.
19. Hemmatabadi, M., Abdollahi, M., Bakhshayeshi, S., Heshmat, R., Baeri, M., Azimaraghi, O., Larijani B. 2010. Benefits of angipars on oxidant-antioxidant balance in diabetic patients; a randomized, double-blind placebo controlled clinical trial. *DARU*, 17(1):50-55.
20. Huda-Faujan, N., Norriham, A., Norrakiah, A.S., and Babji A.S. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *Afr. J. Biotechnol.*, 8: 484-489.
21. Jamshidi, M., Ahmadiashtiani, H., Rezazadeh, Sh., Fathiazad, F., Mazandarani, M., and Khaki, A. 2010. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. *J. Med. Plants*, 9:177-183.
22. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A., Maleki, N.A., Khamnei, H.J., and Ahmadi, P. 2010. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytother Res.*, 24(9):1285-91.
23. Kaneko, T., Tahara, S., and Takabayashi, F. 2007. Inhibitory effect of natural coumarin compounds, esculetin and esculin, on oxidative DNA damage and formation of aberrant crypt foci and tumors induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rat colons. *Biol. Pharm Bull*, 30(11): 2052-2057.
24. Kanazawa I, Yamaguchi T, Masahiro Y, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T, 2009. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in Type 2 diabetes mellitus. *J. Clin Endocrinol. Metab*, 94(1):45-49.
25. Larijani, B., Heshmat, R., Bahrami, A., Delshad, H., Ranjbar Omrani, G., Mohammad, K., Heidarpour, R., Mohajeri Tehrani, M.R., Kamali, K., Farhadi, M., Gharibdoust, F., and Madani, S.H. 2008. Effects of intravenous semelil (ANGIPARSTM) on diabetic foot ulcers healing: a multicenter clinical trial. *DARU*. 6(1):35-40.
26. Larijani, B., and Hasani Ranjbar, S. 2008. Overview of diabetic foot; novel treatments in diabetic foot ulcer. *DARU*, 16 (supplement 1):1-6.
27. Leilei B, Luping Q, Lei L, Yanbin W, Ting H, Liming X, Qiaoyan Z, 2011. Anthraquinone compounds from *Morinda officinalis* inhibits osteoclastic bone resorption in vitro. *Chem. Biol. Interact*, 194:97-105.
28. Leidig-Bruckner, G., and Zeigler, R. 2001. Diabetes mellitus a risk factor for osteoporosis? *Exp. Clin Endocrinol Diabetes*, 109 (suppl. 2): s493-s514.

29. Luminita, P.-M., Alina Elena, P., Pârvu, M., Taamas, M., Buia, R., and Puia M. 2002. Effects of melilotus officinalis on acute inflammation. *Phytother Res.*, 16:316-319.
30. Mehri A., Hasani Ranjbar S., Larijani, B., and Abdollahi, M. 2011. A systematic review of efficacy and safety of *Urtica dioica* in the treatment of diabetes. *Int. J. Pharmacol.*, 7(2):161-170.
31. Mazandarani, M., Makri, S., and Bajjan, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech. F. in Golestan province, North of Iran Iranian J. plant physiology. 2(2):381-388.
32. Mahboubi, M., Bokae, S., Dehdashti, H., and Feizabadi, M.M. 2012. Antimicrobial activity of *Mentha piperitae*, *Zhumeria majdae*, *Ziziphora tenuior* oils on ESBLs producing isolates of *Klebsiella pneumoniae*, *Biharean Biologist*. 6(1): 5-9.
33. Mazandarani, Zarghami Moghadam, Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012a. Effect of solvent type on TP and TF content and antioxidant activity in *Onosma dichroanthum* Boiss. in Golestan province, North of Iran. *Journal of Medicinal plant research*, 6(28): 4481-4488.
34. Masoompour, S.M., Bagheri, M.H., Borhani Haghighi, A., Novitsky, Y.A., Sadeghi, B., Gharibdoust, F., Larijani, B., and Ranjbar Omrani, G. 2008, Effect of ANGIPARSTM, a new herbal drug on diabetic foot ulcer: A phase 2 clinical study. *DARU*, 16:31-34.
35. Molina-Jiménez M.F., Sánchez-Reus M.I., Cascales M., Andrés D., and Benedí J. 2005. Effect of fraxetin on antioxidant defense and stress proteins in human neuroblastoma cell model of rotenone neurotoxicity. Comparative study with myricetin and N-acetylcysteine. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 15(209):214-225.
36. Mozafarian, V. 1996. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers, Tehran, 750p. (In Persian).
37. Pasco, J.A., Nicholson, G.C., Ng, F., Henry, M.J., and Williams, L.J., *et al.* 2008. Oxidative stress may be a common mechanism linking major depression and osteoporosis. *Acta Neuropsychiatr*, 20:112-116.
38. Pourmorad, F., Hosseini Mehr, S.J., and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
39. Rechinger, K.H. 1982. *Flora Iranica*. Akademische Druck-u. verlagsanstalt, Graz, Austria, Vol. 150.
40. Sheweita S.A., and Khoshhal K.I. 2007. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Curr Drug Metab.*, 8(5):519-525.
41. Unger, J., and Cole, B.E. 2007. Recognition and management of diabetic neuropathy. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 34:887-913.
42. WHO report, 2003. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing Geneva, Switzerland, (WHO/CDS/TB/2003.316).
43. Zarghami Moghaddam, P., Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., Mazandarani, M., Mansourian, A.R., and Taheri S.A. 2011. Negative performance of root extract of *Onosma dichroanthum* boiss. on the burn wound healing in an animal model. *Arch. Clin. Microbial.*, 2(5):3823/238.
44. Zarghami Moghaddam, P., Mazandarani, M., Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012. Antibacterial and antioxidant activity in root extract of *Onosma dichloroanthum* Boiss. in North of Iran. *African Journal of Microbiology research*. 6(8):1776-1781.
45. Ziegler D. 2008. Treatment of diabetic neuropathy and neuropathic pain. How far have we come? *Diabetes care*. 31: 255-261.