مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱٤، ی ۱۳۹٤، ۸۵۲-۸٤۱

اثرات آنتی‌دیابتی و آنتی‌لیپید پراکسیداتیو عصاره هیدروالکلی گیاه تلخه (*Acroptilon repens*) در موش‌های صحرایی نر

فاطمه نهتانی[۱]، ایران پورابولی[۲]

دریافت مقاله: ۹۳/۱۲/۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۵/۱/۲۹ دریافت اصلاحیه از نویسنده ۹۴/۷/۱۱ پذیرش مقاله: ۹۴/۷/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: گزارش شده که گیاه تلخه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. لذا در این مطالعه تجربی، اثرات آنتی‌دیابتی و آنتی‌لیپید پراکسیداتیو عصاره این گیاه بررسی شد.

مواد و روش‌ها: با تزریق استرپتوزوتوسین به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی به موش‌های صحرایی نر، دیابت نوع I القا شد. ۷ روز بعد از تزریق، در حیوانات ناشتا خون‌گیری انجام شد و موش‌هایی که سطح سرمی گلوکز آنها بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بود، دیابتی محسوب و به سه گروه تقسیم و به ترتیب عصاره هیدروالکلی گیاه تلخه به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر را به روش گاواژ و انسولین به میزان ۴ واحد به صورت داخل عضلانی، به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. در دو گروه از موش‌های نرمال نیز تجویز ۱۴ روزه همان مقدار از عصاره و آب مقطر انجام شد. پس از طی دوره تیمار، سر حیوانات در حالت بیهوشی قطع و سطح سرمی گلوکز، تری گلیسریدها، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و کراتینین به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. همچنین، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص لیپید پراکسیداسیون درگلبول‌های قرمز تعیین شد..

یافته‌ها تجویز عصاره در موش‌های دیابتی به مدت ۱۴ روز، بر سطح سرمی گلوکز اثر معنی‌داری نداشت (p=۰/۹۱۰)، ولی سطح سرمی HDL را به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر افزایش داد (p=۰/۰۲۹) همچنین سطح سرمی کلسترول، تری‌گلیسرید، ALT، AST و کراتی‌نین (p=۰/۰۵) را نیز کاهش داد ولی تجویز عصاره در موش‌های نرمال اثری بر مقادیر سرمی فاکتورهای فوق نداشت همچنین تیمار موش‌های دیابتی با عصاره، میزان MDA را در گلبول‌های قرمز به طور معنی‌داری کاهش داد (p=۰/۰۰۲).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه تلخه دارای خاصیت آنتی‌لیپید پراکسیداتیو و آنتی‌هیپرلیپیدمی بارز می‌باشد و تجویز آن عوارض نامطلوب کلیوی و کبدی نداشت و البته کاربرد درمانی آن نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، گیاهان دارویی، مالون‌دی‌آلدهید، موش صحرایی

مقدمه

۱- کارشناس ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
تلفن: ۳۳۲۵۷۴۳۲-۰۳۴، دورنگار: ۳۳۲۵۷۴۳۲-۰۳۴، پست الکترونیکی: pourabolii@yahoo.com

دیابت ملیتوس نتیجه متابولیسم ناکارآمد کربوهیدرات‌ها در بدن، به علت کمبود نسبی انسولین یا اختلال در اثربخشی انسولین می‌باشد. این بیماری با تغییراتی که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها ایجاد می‌کند، باعث افزایش گلوکز، لیپیدها، تری‌گلیسریدها و کلسترول خون می‌شود [۲-۱]. همچنین، بافت‌هایی همچون کلیه را مختل می‌کند و افزایش سطح کراتی‌نین سرم نشان دهنده آسیب کلیوی و افزایش نفروپاتی در موش‌های صحرایی نر دیابتی است [۳]. دیابت ملیتوس و افزایش قند خون باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای زیستی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های مورد مطالعه در استرس اکسیداتیو است و یکی ازمحصولات ثانویه پراکسیداسیون لیپیدی، مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde; MDA) می‌باشد [۴].

گیاهان دارویی به طور سنتی و از مدت‌ها قبل در بسیاری از کشورها برای درمان دیابت استفاده می‌شوند. ارزانی، عوارض کمتر و اقبال عمومی برای استفاده از گیاهان دارویی نسبت به مواد دارویی شیمیایی باعث شده است تا در سال‌های اخیر مطالعات در مورد گیاهان دارویی با هدف به دست آوردن یک منبع طبیعی برای کاهش قند خون گسترش یابد [۵].

گیاه تلخه یا تلخه گیجه با نام علمی *Acroptilon repens* متعلق به خانواده Asteracea (خانواده کاسنی) می‌باشد. این گیاه علفی است و ساقه آن بسیار منشعب و دارای برگ‌های متراکم و گل‌های بنفش و صورتی راسی می‌باشد.

از نظر انتشار جغرافیایی، گیاه تلخه را می‌توان در مناطق نیمه خشک تا نیمه مرطوب ایران و نقاطی که کشت‌های آبی و یا غلات دیم یا بارندگی سالانه ۲۵۰ تا ۶۰۰ میلی‌متر وجود دارد و تقریباً در همه مناطق، مشاهده نمود و علاوه بر ایران در افغانستان، پاکستان، عراق و ترکمنستان نیز می‌روید [۶]. این گیاه، علف هرزی چند ساله است که در مزارع گندم و ذرت می‌روید و مزه‌ای تلخ به آرد آن می‌بخشد و از طریق بذر و ریزوم تکثیر می‌یابد. مشخص شده است که گیاه *A.repens* ترکیبات فیتوتوکسیک تولید می‌کند و با گیاهان دیگر رقابت می‌کند و گزارش شده است که عصاره ریشه *A.repens* مانع رشد گیاهان دیگر می‌شود [۷].

در یک مطالعه اثر عصاره این گیاه بر فشار خون و انقباض قلبی بررسی شد و نتایج نشان داد عمل بالا برنده فشار خون توسط عصاره لااقل تا حدی مربوط به آزاد سازی نوراپی نفرین از ذخایر داخل گرانولی و ذخایر متحرک سیتوپلاسمی آن قبل از سیناپس‌ها می‌باشد و انقباضات زودرس بطنی ایجاد شده توسط عصاره گیاه، به علت اثر بالا برنده فشار خون آن می‌باشد [۸].

در پژوهشی دیگر، از برگ و سرشاخه جوان *A.repens* جمع آوری شده در شهرستان شاهرود، اسانس و عصاره متانولی تهیه و توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-GC) (MSآنالیز شدند و نتایج نشان داد که در اسانس *A. repens*، آنتراسن و در عصاره متانولی آن، مورفینان ۴ و ۵ اپوکسی ۳ اُل به عنوان ترکیبات شیمیایی یافت می‌شوند. همچنین، معلوم شد که عصاره

متانولی *A.repens* دارای خاصیت ضد باکتری قوی می‌باشد [۹].

ترکیبات فعال جداسازی شده از بخش هوایی این گیاه، 7,8- benzoflavone naphthoflavon و ایزومر 5,6- beta- benzoflavone و naphthoflavone و نیز آلکالوئید 3- beta, 8- alpha- dihydroxy- 13- pyrrolidine [۱۰] و همچنین، Bis (2- ethylhexyl) phthalate و 2,4 Bis (1,1- dimethylethyl phenol) می‌باشند [۱۱]. چندین سزکوی ترپن لاکتون و فلاوون که دارای سمیت قابل توجهی هستند، از جنس *A. repens* جدا شده است [۱۳-۱۲]. ترکیب سمی به نام 7,8- benzoflavone در ریشه این گیاه شناسایی شده است. از این گیاه سسکویی‌ترپن لاکتونی آکروپتلین استخراج شده است [۱۴]. همچنین گیاه تلخه حاوی ماده رپین می‌باشد و رپین اثرات نوروتوکسیک و سیتوتوکسیک دارد [۱۶-۱۵].

علی‌رغم این اثرات مضر، *A. repens* دارای خاصیت ضد تب نیز می‌باشد [۱۷] و همچنین در گزارشی ذکر شده است که عصاره گیاه *A. repens* دارای اثر مهاری روی آنزیم آلفا گلوکوزیداز می‌باشد [۱۸]. لذا می‌تواند مانع جذب گلوکز از روده گردیده و در درمان دیابت و هیپر گلیسمی ناشی از آن مفید باشد. همچنین، در تست‌های *in vitro* عصاره تلخه خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد [۱۹] و تجویز این عصاره با دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نیم ساعت قبل از تست تحمل گلوکز در موش‌های نرمال، نشان داد که دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن در دقیقه نود از تست، باعث کاهش معنی‌داری در میزان سطح سرمی گلوکز موش‌های صحرایی می‌گردد [۱۹]. لذا در تکمیل مطالعه قبلی، اثر همین دوز (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از عصاره هیدروالکلی *A. repens* بر سطح سرمی گلوکز، لیپیدها و شاخص‌های عملکرد کلیه و کبد (ALT، AST و کراتی‌نین) در موش‌های دیابتی و نرمال همچنین، اثر عصاره بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی در موش‌های دیابتی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۲ انجام شد، از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. این موش‌های صحرایی در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در درجه حرارت ۲ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ درصد با دسترسی کامل به آب و غذا در حیوان خانه گروه زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان نگه‌داری شدند به طوری که و قوانین اخلاقی مربوط به نگه داری و کار با این حیوانات در آزمایشگاه رعایت شد.

برای تهیه عصاره، بخش‌های هوایی گیاه شامل گل، برگ و سرشاخه‌های *A. repens* در مهر ماه سال ۱۳۹۲ از منطقه بافت در استان کرمان جمع‌آوری گردید و توسط گیاه شناسان گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت. سپس این بخش‌ها خشک و توسط آسیاب الکتریکی پودر شد، حدود ۵۰ گرم از این پودر به مدت ۲۴ ساعت در متانول ۸۰ درصد خیسانده شد و سپس در قیف پرکولاسیون ریخته شد و عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام شد [۲۰].

حلال عصاره حاصله با دستگاه Rotary evaporator (مدل SB1100، ساخت شرکت Eyela در کشور ژاپن) حذف و در نهایت در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. این عصاره در آب مقطر با دوز مورد نظر تهیه و استفاده شد.

استرپتوزوتوسین (STZ) در بافر سیترات ۰/۰۱ ملار تازه تهیه شده حل شده و با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد. ۷ روز بعد، حیوانات ناشتا (۱۲ ساعت بی غذایی داشتند) با اتر به طور سطحی بیهوش و میزان قند خون با خونگیری از گوشه چشم [۲۱] توسط دستگاه گلوکومتر (مدل Accu check، ساخت شرکت Roch در کشور آلمان) اندازه گیری شد [۲۲]. افزایش قند خون به میزان بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر، نمایانگر ابتلای حیوانات به دیابت بود [۲۳].

موش‌های دیابتی در ۳ گروه ۶ تایی تقسیم و به این شرح تیمار شدند: ۱- موش‌های دیابتی که به مدت ۱۴ روز تحت گاواژ با عصاره هیدروالکلی گیاه تلخه به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (در حجم نیم میلی‌لیتر) قرار گرفتند، ۲- موش‌های دیابتی که روزانه ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱۴ روز به روش گاواژ دریافت نمودند، ۳- موش‌های دیابتی که به مدت ۱۴ روز به آنها انسولین به میزان روزانه ۴ واحد به صورت داخل عضلانی تزریق شد.

علاوه بر گروه‌های دیابتی، دو گروه موش‌های نرمال یا سالم هم در این مطالعه استفاده شدند شامل: ۱- موش‌های نرمال که تجویز ۱۴ روزه عصاره تلخه به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در آن‌ها صورت گرفت و ۲- موش‌های سالم که آب مقطر به همان حجم عصاره (۰/۵ میلی‌لیتر) به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. تعداد ۶ سر موش در هر گروه (۵ گروه) مطالعه شد.

بعد از پایان دوره ۱۴ روزه، در حالت ناشتا، حیوانات با گاز CO_2 بیهوش گردیده و سر آنها توسط گیوتین قطع، و از آنها خون‌گیری انجام گردید. سرم تمام نمونه‌های خون جمع آوری شده توسط سانتریفیوژ (مدل ۵۴۳۰، شرکت Eppendorf، کشور آلمان) با دور ۳۲۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه، جدا گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتی‌نین، ALT، AST وHDL نگه داری شد [۲۴]. اندازه گیری گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، کراتی‌نین، ALT، AST و HDL با کیت‌های مربوطه (شرکت پارس آزمون، ایران) به روش اسپکتروفتومتری با دستگاه اتوآنالیزور (مدل RA-1000، ساخت شرکت Technicon در کشور فرانسه) انجام شد.

برای سنجش میزان لیپید پراکسیداسیون، در پایان دوره ۱۴ روزه، حدود ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری شد و پس از سانتریفیوژ (g ۳۰۰۰، ۱۵ دقیقه، ۴ درجه سآنتی‌گراد)، گلبول‌های قرمز جدا شد. سپس سه بار با بافر فسفات سالین این سلول‌ها شست و شو داده شدند و با H_2O_2 (۰/۴۴ مولار) همولیز گردیدند و یک سوسپانسیون ۵۰ درصد از سلول‌ها تهیه شد. سپس تری‌کلرو استیک اسید (TCA) اضافه گردید و پس از سانتریفیوژ (g ۱۵۰۰، ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد)، تیوباربیتوریک اسید یک درصد (TBA) اضافه و در

بن‌ماری (ساخت شرکت Labnet، کشور آمریکا) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و سپس سریعاً سرد گردید. جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک با طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با در نظر گرفتن ضریب جذب مولی مالون دی‌آلدئید، میزان MDA در گلبول‌های قرمز خون در گروه‌های مختلف محاسبه شد [۲۵].

نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید. داده‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شد. با توجه به مستقل بودن گروه‌ها و نرمال بودن توزیع داده‌ها بر اساس آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، مقایسه بین میانگین داده‌ها در گروه‌های مختلف توسط تحلیل واریانس یک طرفه(One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی TUKEY انجام و α=۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج نشان داد که تجویز عصاره با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز به موش‌های صحرایی دیابتی باعث تغییر معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر نشد (p=۰/۹۱۰). ولی تزریق انسولین به مدت ۱۴ روز باعث کاهش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر گردید (p=۰/۰۰۱). همچنین، تجویز عصاره و انسولین باعث کاهش معنی‌دار در سطح سرمی کلسترول و تری‌گلیسرید (p=۰/۰۰۲)، ALT (p=۰/۰۲۰)، AST (p=۰/۰۰۶) و کراتی‌نین (p=۰/۰۱۳) در موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر شد. در ضمن تجویز عصاره باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی HDL (p=۰/۰۲۹) در موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر گردید (جدول ۱).

در موش‌های صحرایی سالم دریافت کننده عصاره به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز، نسبت به موش‌های صحرایی سالم تیمار شده با آب مقطر، تغییر معنی‌داری در سطح سرمی فاکتورهای سرمی فوق، مشاهده نشد و تجویز عصاره هم در موش‌های صحرایی سالم و هم دیابتی سبب افزایش آنزیم‌های کبدی و یا کراتی‌نین سرم بعنوان مارکرهای عملکرد کبد و کلیه نگردید لذا اثر سمی بر این اندام‌ها نداشت (p>۰/۰۵) (جدول ۱).

مقایسه میزان MDA در سلول‌های قرمز خون در موش‌های صحرایی دیابتی با موش‌های صحرایی سالم نشان دهنده افزایش معنی‌دار MDA پس از ایجاد دیابت می‌باشد (p=۰/۰۰۶) و تجویز عصاره با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز باعث کاهش معنی‌داری (p=۰/۰۰۲) در میزان MDA در موش‌های دیابتی نسبت به گروه دیابتی دریافت کننده آب مقطر شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم و میزان مالون دی‌آلدهید در سلول‌های قرمز خون در گروه‌های مختلف موش‌های صحرایی نر

گروه‌ها متغیرها	سالم	سالم + عصاره (۳۰۰mg/kg)	دیابتی	دیابتی + عصاره (۳۰۰mg/kg)	دیابتی + انسولین
گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۷۹/۵۰±۵/۷۲	۱۰۵±۳/۱۷	۵۲۸/۷۵±۴۸/۶۸***	۵۶۱±۳۰/۵۳	۶۶±۴/۵۰
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۵۶/۲۵±۲/۴۹	۶۲/۴۰±۳/۲۱	۷۸/۵۰ ± ۵/۲۰*	۴۹/۲۵±۴/۵۱††	۴۲/۰۰±۷/۰۰††
تری گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۸۳/۷۵±۴/۰۲	۷۷/۲۰±۱۱/۸۸	۱۴۱/۰۰±۱۱/۸۸**	۸۵/۷۵±۸/۹۱††	۵۵/۵۰±۱۰/۵۰††
HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۵۲/۰۰±۲/۵۸	۴۹/۲۵±۴/۵۱	۲۹/۵۰ ± ۱/۰۴***	۳۹/۲۵±۰/۸۵†	۴۰/۰۰±۴/۰۰†
کراتی‌نین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۹۵±۰/۰۶	۰/۸۷±۰/۰۷	۱/۴۰ ± ۰/۱۰**	۰/۹۷±۰/۰۸†	۰/۷۳±۰/۰۶†††
(IU/L) AST	۱۴۳/۷۵±۷/۸۶	۲۵۶/۱۶±۹/۳۵	۲۳۳/۵۰±۱۶/۷۰***	۱۶۵/۰۰±۸/۸۹††	۱۵۴/۹۶±۱۳/۷۷††
(IU/L) ALT	۷۲/۴۰±۱۳/۴۶	۸۱/۲۰±۸/۱۸	۱۹۷/۵۰±۱۰/۸۱***	۱۳۷/۳۳±۱۵/۳۰†	۵۹/۵۰±۴/۵۰†††
مالون دی‌آلدهید (نانومول در میلی‌لیتر)	۲/۶۴±۰/۱۱	-	۴/۸۹ ± ۰/۵۸**	۲/۲۰±۰/۲۶††	-

نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده است (n=۶). HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا، ALT: آلانین آمینو ترانسفراز، AST: آسپارتات آمینوترانسفراز.
p<۰/۰۵ *, p<۰/۰۱ **و p<۰/۰۰۱ ***نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه سالم .
p<۰/۰۵ †، p<۰/۰۱ ††، p<۰/۰۰۱ ††† نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه دیابتی می‌باشد (آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مقایسات چندگانه TUKEY).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داده دیابت نوع I باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، ALT، AST و کراتی‌نین می‌شود و همچنین، باعث افزایش MDA در سلول‌های قرمز خون و کاهش معنی‌دار سطح سرمی HDL می‌شود.

تحقیقات نشان می‌دهد که القای دیابت با تزریق STZ باعث افزایش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید گردیده [۲۶] و میزان HDL کاهش می‌یابد [۲۷]. غلظت تری‌گلیسیرید در بیماران دیابتی به علت کاهش در فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز پلاسما، افزایش می‌یابد [۲].

تحقیقات نشان داده است که سطوح کراتینین در موش‌های صحرایی دیابتی با نفروپاتی، بیشتر از موش‌های صحرایی نرمال است [۲۸] و همچنین مشخص شده است که دیابت باعث پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش MDA می‌شود [۴] که همه این موارد با نتایج مطالعه اخیر همخوانی دارد.

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز ۱۴ روزه عصاره *A. repens* در موش‌های نرمال و دیابتی اثر معنی‌داری بر گلوکز خون نداشت در حالی که میزان کلسترول و تری‌گلیسرید، کراتینین و آنزیم‌های کبدی را در موش‌های دیابتی کاهش و HDL را افزایش داد. همچنین، عصاره میزان پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داد.

در مطالعات نشان داده شده است که تجویز عصاره *A. repens* به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نیم ساعت قبل از آزمون تحمل گلوکز در موش‌های نرمال، در دقیقه نود از آزمون تحمل گلوکز، باعث کاهش معنی‌داری در میزان سطح سرمی گلوکز موش‌های صحرایی می‌گردد. همچنین، در همان مطالعه با استفاده از تست‌های *in vitro* به منظور سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، با استفاده از روش‌های DPPH (1,1- diphenyl- 2- picrylhydrazyl) و FRAP (Ferric reducing antioxidant power) نشان داده شد که عصاره تلخه خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد [۱۹].

گزارش شده است که آلکالوئیدهای مستخرج از گیاهان خاصیت هیپوگلیسمیک داشته و این خاصیت به دلیل توانایی آنها در مهار آلفاگلوکوزیداز و کاهش انتقال گلوکز از اپیتلیوم روده است [۲۹]. در گزارشی ذکر شده است که عصاره گیاه *A. repens* دارای اثر مهاری روی آنزیم آلفا گلوکوزیداز می‌باشد [۱۸] اما نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تجویز ۱۴ روزه این عصاره با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اثر معنی‌داری بر سطح سرمی گلوکز خون نداشت که ممکن است به علت اثر ضعیف عصاره این گیاه در مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز باشد.

مشاهده شده است که ترکیبات فنلی قادر به کاهش محتوای لیپیدهای پلاسما به غیر از HDL هستند [۳۰]. ضمناً ترکیبات فلاوونی اثرات مهاری بر استرس اکسیداتیو دارند [۳۱]، لذا این عصاره در بافت کلیه و کبد موش‌های دیابتی با کاهش استرس اکسیداتیو سبب بهبود شاخص‌های عملکردی این اندام‌ها گردیده است. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد فلاونوئیدها باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند [۳۴-۳۲]. این ترکیبات، به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در برابر رادیکال‌های آزاد و همچنین، جاذب رادیکال‌های آزاد توصیف شده‌اند و این فعالیت آنها، به توانایی آنها در دادن اتم هیدروژن نسبت داده شده است [۳۵]. وجود فلاونوئیدها در این عصاره، می‌تواند توجیه گر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌لیپید پراکسیداتیو آن باشد. پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات بعدی، بررسی بافت شناسی بر روی بافت‌های کبد، کلیه و حتی بافت بیضه پس از تجویز این عصاره گیاهی صورت گیرد. البته استفاده از عصاره این گیاه برای مقاصد درمانی نیاز به مطالعات تکمیلی‌و همه جانبه دارد.

نتیجه‌گیری

بنابر نتایج این مطالعه، تجویز ۱۴ روزه عصاره هیدروالکلی گیاه تلخه در موش‌های دیابتی، اثر

هیپوگلیسمیک نداشت ولی دارای خاصیت آنتی‌هیپرلیپیدمی و آنتی‌لیپیدپراکسیداتیو بارزی بود. همچنین، تجویز این عصاره در این مدت، سبب عوارض نامطلوب کبدی و یا کلیوی نشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از آقای دکتر سید منصور میر تاج الدینی و آقای سعید سلطانی‌نژاد برای همکاری در شناسایی و جمع‌آوری گیاه قدردانی نمایند.

References

[1] Mamdouh M, Meki MA. Oxidative stress in streptozotocin–induced diabetic rats: Effect of Garlic oil and melatonin. *Comp Biochem Phys A* 2003; 135(4): 539-47.

[2] Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S. Antihypoglycemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernels on streptozotocin–induced diabetes in rats. *Food Chem Toxicol* 2005; 43(9): 1433-9.

[3] Makino H, Tanaka I, Mukoyama M, Sugawara A, Mori K, Muro S, et al. Prevention of diabetic nephropathy in rats by prostaglandin E receptor EP1-selective antagonist. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(7): 1757-65.

[4] Nwanjo HU, Okafor MC, Oze GO. Anti-lipid peroxidative Activity of *Gongronema latifolium* in streptozotocin–induced diabetic rats. *Niger J Physiol Sci* 2006; 21(1-2): 61-5.

[5] Upendra-Rao M, Sreenivasulu M, Chengaiah B, Jaganmohan K, Madhusudhana C. Herbal Medicines for Diabetes Mellitus: A Review. *Inter J Pharm Tech Res* 2010; 2(3): 1883-92.

[6] Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian plant names, Iran, Tehran, Farhange Moaser, Fifth edn., 2007. p. 13. [Farsi]

[7] Musiyaka VK, Gvozdyak IN, Kalinin FL, Mel'nichuk YuP, Kamenchuk OP, Petasyuk NV, et al. Plant growth inhibitors in extracts from roots and callus tissues of Acroptilon picris. *Fiziologiya I Biokhimiya Kul'turnykhRastenij* 1993; 25(4): 368-75.

[8] Sayah F. Cardiovascular effects of *Acroptilon repens* (Compositae) on dog and rat. MD thesis, Shiraz University of Medical Sciences, 1954. [Farsi]

[9] Yousefi A. Preparation of essence and plant extract from *Datura stramonium* and *Acroptilon repens* and their active phytochemical constituents. MSc thesis, Payam Noor University of Tehran, 2010. [Farsi]

[10] Zhan ZJ, Hou XR. Sesquiterpenoid alkaloid from *Acroptilon repens*. Taylor & Francis Online 2008; 22(3): 222-6.

[11] Nadaf M, Nasrabadi M, Halimi M, Yazdani Z, Javanshir A, Ramazani S, et al. Identification of Non-Polar Chemical Compounds *Acroptilon repens* Growing in Iran by GC-MS. *Middle-East J Sci Res* 2013; 17(5): 590-2.

[12] Mallabaev A, Saitbaeva IM, Sidyakin GP. Components of *Acroptilon repens*. *Khim Prir Soedin* 1982; 18(1): 117.

[13] Stevens KL. Sesquiterpene lactones from *Centaurea repens*. *Phytochemistry* 1982; 21(5): 1093-8.

[14] Evstratova RI, Kiseleva EY, Sheichenko VI, Rybalko KS. The structure of acroptilin, a sesquiterpene lactone from *Acroptilon repens*. *Chem Nat Compd* 1971; 7(3): 262-4.

[15] Stermitz FR, Bais HP, Foderaro TA, Vivanco JM. 7,8-Benzoflavone: a phytotoxin from root exudates of invasive Russian knapweed. *Phytochemistry* 2003; 64(2): 493-7.

[16] Tunalier Z, Candan NT, Demirci B, Baser, KHC. The essential oil composition of *Acroptilon repens* (L.) DC of Turkish origin. *Flavour Frag J* 2006; 21(3): 462-4.

[17] Pino JA, Mesa J, Munoz Y, Marti MP, Marbot R. Volatile components from mango *(Mangifera indica* L.*)* cultivars. *J Agric Food Chem* 2005; 53(6): 2213-23.

[18] Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi-far F, Mirtajaddini M. The inhibitory effect of some Iranian plants extracts on the Alpha Glucosidase. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 11(1): 1-9.

[19] Khooshebast Elham. Evaluate antioxidant, antidiabetic, and antiapoptotic activities of the methanolic extract of *Sophora alopecuroides*, MSc thesis, Shahid Bahonar University of Kerman, 2012. pp. 46-67. [Farsi]

[20] Chattopadhyay RR. Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract: Part V. *J Ethnopharmacol* 1999; 67(3): 373-6.

[21] Raza H, Prabu SK, Robin MA, Avadhani NG. Elevated mitochondrial cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase A4-4 in streptozotocin-induced diabetic rats: tissue-

specific variations and roles in oxidative stress. *Diabetes* 2004; 53(1): 185-94.

[22] Ghys T, Goedhuys W, Spincemaille K, Gorus F, Gerlo E. Plasma –equivalent glucose at the point of care: evaluation Of Roche Accu-Check Inform® and Abbott Precision PCx® glucose meters. *Clin Chim Acta* 2007; 386 (1,2): 63-8.

[23] Tsvetkov P, Popov A, Petrischev N, Denisova N, Shamtsyan M. Study of antidiabetic and cholesterol lowering effects of submerge mycellia of higher basidiomycetes. *J Biotechnol* 2008; 136: S721-2.

[24] Noor A, Gunasekaran A, Manickam S. Antidiabetic activity of Aloe vera and histology of organs in Streptozotocin induced diabetic rats. *Current Sci* 2008; 94(8): 1070-6.

[25] Stocks J, Dormandy TL. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Hematol* 1971; 20(1): 95-111.

[26] Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13(9-10): 624-9.

[27] Rathman W, Williamson DF, Gunter EW, Byers T. Regulation of serum uric acid to mortality ischemic heart disease. *Am J Epidemiol* 1995; 141(7): 637-44.

[28] Sun SZ, Wang Y, Li Q, Tian YJ, Liu MH, Yu YH. Effects of benazepril on renal function and kidney expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in diabetic rats. *Chin Med J* 2006; 119(10): 814-21.

[29] Pan GY, Huang ZJ, Wang GJ, Fawcett JP, Liu XD, Zhao XC, et al. The antihyperglycemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption. *Planta Med* 2003; 69(7): 632-6.

[30] Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Drzewiecki J, Jastrzębski Z, Tapia MS, et al. Red Star Ruby (Sunrise) and blond qualities of Jaffa grapefruits and their influence on plasma lipid levels and plasma antioxidant activity in rats fed with cholesterol-containing and cholesterol-free diets. *Life Sci* 2005; 77(19): 2384-97.

[31] Khaki AA, Khaki A, Nouri M, Ahmadi-Ashtiani HR, Rastegar H, Rezazadeh S, *et al*. Evaluation of quercetin on liver apoptosis in streptozotocin induced diabetic rat. *J Med Plants* 2009; 8(5): 70-8.

[32] Chebil L, Humeau C, Falcimaigne A, Engasser J, Ghoul M. Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochem* 2006; 41(11): 2237-51.

[33] Tsuchiya H. Structure-dependent membrane interaction of flavonoids associated with their bioactivity. *Food Chem* 2010; 120(4): 1089-96.

[34] Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C. Serial review: Flavonoids and isoflavonones (Phytoestrogens): Absorption, Metabolism and Bioactivity. *Free Radical Bio Med* 2004; 36(7): 838-49.

[35] Pal RS, Ariharasivakumar G, Girhepunjhe K, Upadhay A. In-vitro antioxidative activity of phenolic and flavonoids compounds extracted from seeds of *Abrus precatorius*. *Int J Pharm Pharm Sci* 2009; 1(2): 136-40.

Antidiabetic and Anti-lipid Peroxidative Effects of Hydroalcoholic Extract of *Acroptilon repens* in Male Rats

F. Nohtani[1], I. Pouraboli[2]

Received: 22/02/2015 Sent for Revision: 18/04/2015 Received Revised Manuscript: 03/10/2015 Accepted: 17/10/2015

Background and Objective: *Acroptilon repens* has antioxidant properties, so in this experimental study, the antidiabetic and anti-lipid peroxidative properties of its extract were investigated.

Materials and Methods: Type I diabetes was induced in male rats by the injection of 60 mg/kg, i.p, of streptozotocin. After one week, diabetes was confirmed in rats if fasting blood glucose level was above 250 mg/dl. Diabetic rats were divided into 3 groups received 300 mg/kg extract, distilled water (0.5 mL) by gavage and 4 U/Rat, i.m. of insulin for 14 days, respectively. Two groups of normal rats also received the same dose of extract and distilled water individually for 14 days. After treatments, rats were sacrificed and serum levels of total cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein (HDL), creatinine, aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT) were evaluated by spectrophotometry. Also, red blood cell samples (RBCs) were used for determination of malondialdehyde (MDA) level as lipid peroxidation marker.

Results: Administration of *A. repens* extract in diabetic rats for 14 days had no significant antihyperglycemic effect (p=0.910), but decreased serum levels of triglycerides, cholesterol, ALT, AST, creatinine and increased HDL level (p=0.05) also, MDA level in diabetic rats treated with extract significantly decreased (p=0.002) in comparison with diabetic ones. There was no difference in serum levels of the above factors in normal animals treated with the extract in comparison with normal control rats.

Conclusion: Hydroalcoholic extract of *A. repens* exerted antihyperlipidemic and anti-lipid peroxidative properties in diabetic rats with no adverse effects on liver and kidney function indicators. However, administration of this extract for remedy purposes need more studies.

Key words: Diabetes mellitus, Medicinal plants, Malondialdehyde, Rat

Funding: This study was partially funded by Shahid Bahonar University of Kerman.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Shahid Bahonar University of Kerman approved the study.

How to cite this article: Nohtani F, Pouraboli I. Antidiabetic and Anti-lipid Peroxidative Effects of Hydroalcoholic Extract of *Acroptilon repens* in male Rats. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2016; 14(10): 841-52. [Farsi]

1- MS Student, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2- Associate Prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran (Corresponding Author) Tel: (034) 33257432, Fax: (034) 33257432, E-mail: pourabolii@yahoo.com