

Effect of Hydroalcoholic Extract of *Perovskia abrotanoides* on Glucose, Cholesterol and HDL Levels in Diabetic Rats

Ali Fereidouni¹,
Elaheh Sabbaghian²,
Ali Ghanbari³,
Farideh Shakeri moghaddam⁴,
Ali Khaleghian⁵

¹ BSc Student in Medical Laboratory Sciences, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

² MSc in Microbiology, Core Research Laboratory, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

³ Assistant Professor, Research Center of Physiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

⁴ MSc in Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received September 18, 2018 ; Accepted April 23, 2019)

Abstract

Background and purpose: Diabetes mellitus is a highly prevalent disease and there is a global interest in using traditional and herbal medicine in treatment of this disease and other diseases. This study aimed at comparing the effects of hydroalcoholic extract of *Perovskia abrotanoides* and Glibenclamide on serum glucose, HDL, and cholesterol levels in diabetic rates.

Materials and methods: In this experimental study, 70 male Wistar Rats (250-300 g) were divided into seven groups (n=10) and kept under similar conditions. Group I was considered as healthy control and Streptozotocin was used to induce diabetes in groups II-VII. All groups were provided with regular food and water. Group II was considered as diabetic untreated control, Group III was treated by Glibenclamide and groups IV-VII were treated by *P. abrotanoides* extract at different concentrations. All parameters (serum glucose, cholesterol, and HDL levels) were measured before the study, and at weeks one and four after the study.

Results: In groups IV-VII, *P. abrotanoides* extract significantly decreased serum glucose levels ($P<0.05$) and cholesterol ($P<0.01$) and increased HDL-C ($P<0.05$).

Conclusion: This study showed that *P. abrotanoides* extract has strong antidiabetic and antilipidemic effects and could be used as an effective drug in lowering glucose and lipid levels in Streptozotocin-induced diabetic rats.

Keywords: diabetes, *Perovskia abrotanoides*, antidiabetic, antilipidemic

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (175): 138-144 (Persian).

* Corresponding Author: Ali Khaleghian - Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
(E-mail: khaleghian.ali@gmail.com)

اثر عصاره هیدرو الکلی گیاه *Perovskia abrotanoides* بر میزان گلوکز خون، کلسترول و HDL در رت‌های دیابتی

علی فریدونی¹
الهه صباغیان²
علی قنبری³
فریده شاکری مقدم⁴
علی خالقیان⁵

چکیده

سابقه و هدف: باتوجه به شیوع بالای دیابت در جوامع و میل بشر به استفاده از طب سنتی در درمان بیماری‌ها، گیاهان متعددی تاکنون در درمان دیابت معرفی شده‌اند. این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی *Perovskia abrotanoides* بر میزان گلوکز، HDL و کلسترول موش‌های دیابتی در مقایسه با داروی گلی‌بن‌کلامید انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، 70 سر رت نر از نژاد ویستار با وزن 250 تا 300 گرم انتخاب و پس از تقسیم به 7 گروه مساوی، در شرایط یکسان نگهداری شدند. گروه اول به عنوان کنترل سالم در نظر گرفته شد، از استرپتوزوسین جهت ابتلا رت‌های گروه‌های 2 تا 7 به دیابت استفاده شد و همه‌ی رت‌ها با غذای معمول و آب تغذیه شدند. گروه 2 به عنوان کنترل بدون درمان، گروه 3 تحت درمان با گلی‌بن‌کلامید و گروه‌های 4 تا 7 تحت درمان با عصاره *P. abrotanoid* با غلظت‌های متفاوت در نظر گرفته شدند. تمامی پارامترها (میزان گلوکز، کلسترول و HDL سرم) در ابتدای مطالعه و پس از 1 تا 4 هفته اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که قند خون گروه‌های 4 تا 7 به میزان معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$)، همچنین مشخص شد عصاره‌ی *P. abrotanoid* سطح کلسترول تام را کاهش ($P < 0/01$) و سطح لیپوپروتئین با چگالی بالا را افزایش ($P < 0/05$) داده است.

استنتاج: نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌ی *P. abrotanoid* دارای اثرات آنتی‌دیابتیک و آنتی‌لیپیدمیک قوی در رت‌های دیابتی می‌باشد و داروی موثری برای پایین آوردن گلوکز و لیپیدهای پلاسما در رت‌های دیابتی القاء شده با استرپتوزوسین می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، *Perovskia abrotanoides*، آنتی‌دیابتیک، آنتی‌لیپیدمیک

مقدمه

بهداشت، چنانچه اقدامات موثری صورت نپذیرد در سال 2030، 9/5 درصد جمعیت کل ایران (حدود 7 میلیون نفر از این بیماری و پیامدهای آن رنج خواهند برد (2). بیماری دیابت عوارض طولانی مدتی نظیر: نفروپاتی،

دیابت ملیتوس بیماری مزمنی است که علی‌رغم درمان‌های دارویی و اختصاصی هنوز به عنوان مهم‌ترین اختلال متابولیکی و شایع‌ترین بیماری اندوکراین در انسان محسوب می‌شود (1). بر اساس برآورد سازمان جهانی

E-mail: khaleghian.ali@gmail.com

مؤلف مسئول: علی خالقیان - سمنان: 5 کیلومتر جاده دامغان، پردیس دانشگاه علوم پزشکی استان سمنان

1. دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

2. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، آزمایشگاه جامع تحقیقاتی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

3. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

4. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

5. استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: 1397/6/27 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1397/7/2 تاریخ تصویب: 1398/2/8

گیاه *Salvia militorrhiza* بر روی هموستاز گلوکز، لیپید و ترشح انسولین موثر است (14). با تکیه بر مطالبی که به آن اشاره شده است، ایده این مطالعه در شرایطی مطرح و بررسی شد که تا به حال و پیش از این مطالعه، اثرات عصاره این گیاه بر مهار چندین فاکتور موثر در پیدایش علائم دیابت، مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین بر آن شدیم تا اثر عصاره هیدروالکلی این گیاه را بر مجموعه‌ای از فاکتورهای قابل سنجش شامل: گلوکز، کلسترول، HDL و وزن بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، شناسایی و عصاره‌گیری گیاه

گیاه *P.abrotanoid* از ارتفاعات رضا آباد (شهمیرزاد) واقع در استان سمنان جمع‌آوری شد. جهت عصاره‌گیری به روش هیدروالکلی، 100 گرم از پودر اندام هوایی گیاه در کاغذ واتمن پیچانده، در مجاورت حلال انکوبه و در دستگاه استخراج سوکسله به مدت 12 تا 18 ساعت در دمای 40°C عصاره‌گیری شد. پس از تبخیر حلال عصاره خشک به صورت پودر درآمده و به وسیله نرمال سالین استریل جهت تهیه غلظت‌های مورد نیاز، مورد استفاده قرار گرفت (11، 15).

حیوانات مورد مطالعه

این مطالعه به صورت تجربی بر روی 70 سر موش صحرایی (رت) نر نژاد ویستار انجام گرفت. به منظور سازش با شرایط محیط جدید، پنج روز قبل از شروع مطالعه، حیوانات در قفس‌های تمیز با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 40 تا 60 درصد و دسترسی آزادانه به آب و غذا در حیوانخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی سمنان نگهداری شدند.

گروه‌های مورد مطالعه و القای دیابت تجربی

رت‌ها به صورت تصادفی به هفت گروه 10 تایی تقسیم شدند. جهت آماده‌سازی رت‌های دیابتی داروی

رتینوپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های قلبی - عروقی، هایپرگلیسمی، اختلالات لیپیدی، پیشرفت آترواسکلروز، تضعیف عملکرد دفاع آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه افزایش میزان واکنش‌های اکسیداتیو را سبب می‌شود (7-3). گلائیکه شدن غیر آنزیمی پروتئین‌ها به دنبال هایپرگلیسمی، سبب ایجاد ساختارهای شبه آمیلوئید و تغییرات ساختاری و عملکردی گلیکوپروتئین‌ها شده و خطر بروز آسیب‌های عصبی، کلیوی، کبدی و شبکه چشم در بیماران دیابتی افزایش می‌یابد (7). استرس اکسیداتیو، که به عنوان عدم تعادل در سیستم پرواکسیدان/آنتی‌اکسیدان مطرح می‌شود، سبب واکنش‌های سمی در سلول‌های اندوتلیال شده و مهم‌ترین عامل ایجادکننده آسیب‌های بافتی و اختلالات بیوشیمیایی در سلول‌های بدن بیمار دیابتی است (8). از آنجایی که آسیب ناشی از این بیماری جدی و تامل‌برانگیز است و استفاده طولانی مدت از داروهای شیمیایی هزینه‌بر بوده و عوارض جانبی متعددی در پی دارد، لزوم استفاده بهینه از گیاهان دارویی در جهت شناسایی مواد موثره و اثرات فارماکولوژیک آن‌ها به منظور تهیه مواد اولیه مورد نیاز داروهایی با عوارض جانبی کم‌تر و اثرات درمانی بهتر، به عنوان طب مکمل یا جایگزین مطرح شده است (9، 10).

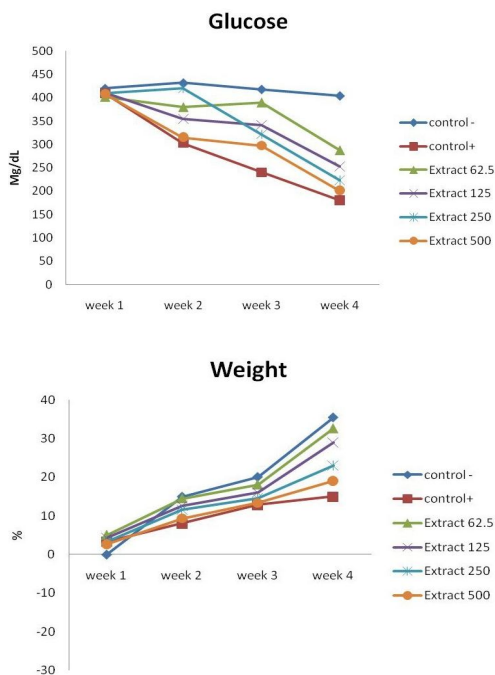
گیاه داروی *Perovskia abrotanoides* (برازمبل)

از خانواده لامیاسه¹ می‌باشد؛ که به صورت خودرو در نواحی مختلف ایران از جمله شمال، شرق و مناطق مرکزی می‌روید (11، 12). این گیاه دارای ترکیباتی همچون فلاونوئید، فنولیک و آنتوسیانین می‌باشد (13). تاکنون گزارشات علمی زیادی درباره این گیاه منتشر نشده است اما برخی از مطالعات حاکی از آن است که ترکیبات موجود در این گیاه دارای خواص ضد پلاسمودیوم، ضد لیشمانیا، تسکین‌دهنده درد، ضد التهاب، ضد سرطان، آنتی‌باکتریال، سیتوتوکسیک، آنتی‌اکسیدان و ضد دیابت می‌باشند (11، 12). نتایج بررسی‌ها نشان داده است که ماده‌ی Cryptotanshinone مستخرج از ریشه

1. Lamiaceae

یافته‌ها و بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره به موش‌های دیابتی منجر به هیپوگلیسمی شده است. با افزایش دوز نه تنها اثرات سمی و کشنده مشاهده نشد بلکه یافته‌ها حاکی از آن است که بین افزایش دوز تزریقی و کاهش میزان گلوکز خون ارتباط مستقیمی وجود دارد (نمودار شماره 1 و جدول شماره 1).



نمودار شماره 1: اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه *P. abrotanoides* بر میزان گلوکز خون و وزن موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه در چهار هفته متمادی. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

وزن موش‌های تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل منفی تغییر معنی‌داری نداشته است. (نمودار شماره 1). تیمار با بالاترین دوز به‌خوبی روند افزایش وزن را مهار نموده و موش‌های این گروه نسبت به سایر گروه‌ها افزایش وزن چندانی نداشته و تغییر وزن آن‌ها در محدوده تغییرات وزن موش‌های گروه کنترل مثبت تیمار با گلی‌بن‌کلامید می‌باشد (جدول شماره 1).

استرپتوزوسین (STZ, Sigma Aldrich)، به میزان 60 mg/kg و به روش درون صفاقی تزریق شد. برای تایید دیابت، پس از 72 ساعت قند خون حیوانات با استفاده از گلوکومتر مورد سنجش قرار گرفت، رت‌های با غلظت گلوکز خون بالاتر از 250 mg/dl به‌عنوان مبتلا به دیابت در نظر گرفته شدند (16).

تیمار حیوانات و انجام مطالعه مداخله‌ای

شروع مداخلات یک روز پس از دیابتی شدن رت‌ها آغاز و تا سی روز ادامه داشت. هر 7 گروه به مدت 4 هفته علاوه بر دسترسی آزاد به آب و غذا، روزانه یک بار از طریق تزریق داخل صفاقی تحت مداخله درمانی به ترتیب زیر قرار گرفتند.

گروه اول (کنترل سالم): رت‌های غیر دیابتی و گروه دوم (کنترل منفی درمان): رت‌های دیابتی. هر دو گروه تیمار شده با نرمال سالین استریل.

گروه سوم (کنترل مثبت درمان با دارو): رت‌های دیابتی، تیمار شده با گلی‌بن‌کلامید با دوز 0/5 mg/kg وزن حیوان به‌صورت حل شده در یک میلی‌لیتر نرمال سالین استریل.

گروه چهارم تا هفتم (کنترل مثبت درمان با عصاره): رت‌های دیابتی، تیمار شده با عصاره گیاه به ترتیب با دوز 62/5، 125، 250 و 500 mg/kg وزن حیوان به‌صورت حل شده در یک میلی‌لیتر نرمال سالین استریل.

اندازه‌گیری فاکتورهای قابل سنجش

جهت بررسی اثرات عصاره گیاه، به مدت یک ماه هر هفته خون‌گیری از ناحیه دم صورت گرفت و فاکتورهای قابل سنجش در خون از طریق کیت‌های مخصوص اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری گلوکز خون از طریق دستگاه گلوکومتر صورت گرفت؛ میزان HDL-C و کلسترول تام به روش آنزیمی با استفاده از کیت (Enzymatic colorimetric, Zistchem Diagnostics Kit) و طبق پروتکل آن سنجش شد.

جدول شماره 1: مقایسه فاکتورهای قابل سنجش در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص	تیمار با نرمال سالیب استریل		تیمار با عصاره (µg/kg)				کنترل مثبت تیمار با گلی بن کلامید 0/5 mg/kg
	کنترل منفی درمان	کنترل سالم	500	250	125	62/5	
گلوکز (mg/dl)	418±1/92	142±2/58	305/25±2/97	344±1/23	340/25±3/47	365±1/01	283/25±1/92
*کلسترول (mg/dl)	380±4/24	90±1/41	234±16/26	299/66±13/43	362/33±7/77	375/66±5/65	240/33±3/53
*HDL (mg/dl)	35±4/24	45/66±2/82	47±0/70	41±1/41	39/66±1/41	37/33±2/82	42/33±3/53
**تغییرات وزن (gr)	% 35/5	% 0	% 19	% 23	% 29	% 32/7	% 15

* مقادیر نشان دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار برای گروه‌های با 10 سر موش صحرایی می‌باشد

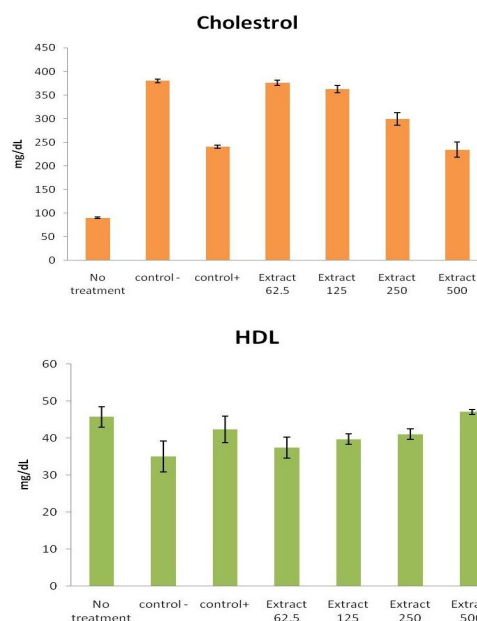
** کلیه اعداد بر حسب درصد افزایش وزن نسبت به وزن اولیه گزارش شده است.

بنابراین عصاره هیدروالکلی گیاه *P.abrotanoid* قادر است از طریق کاهش سطح کلسترول و افزایش سطح HDL شاخص‌های حیاتی را در رت‌های دیابتی افزایش دهد.

در مطالعه زارع و همکاران، نشان داده شد که قند خون در گروه‌های تحت درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه جاشیر نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری داشته است (17). در مطالعه حاضر نیز عصاره هیدروالکلی *P. abrotanoid* توانست قند خون را در رت‌های دیابتی کاهش دهد. در مطالعه فتحی مقدم و همکاران، میزان قند خون در اثر تیمار با عصاره آبی و هیدروالکلی برگ گیاه حرا نسبت به گروه شاهد به شکل معنی‌داری دچار کاهش شد و نیز وزن رت‌های تیمار شده نسبت به وزن اولیه افزایشی نداشت (18). در مطالعه حاضر نیز در اثر تیمار با عصاره در بالاترین غلظت، گلوکز خون نسبت به گروه تیمار نشده، به شکل معنی‌داری ($p < 0/05$) دچار کاهش شد. همچنین تغییرات وزن در گروه دریافت‌کننده بالاترین غلظت عصاره با گروه کنترل مثبت تفاوت ناچیزی داشت.

پیری و همکاران در بررسی اثر عصاره ترکیبی *Anethum* بر روی لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلاسما در رت‌های سالم و دیابتی که هر دو گروه با جیره غذایی چرب تغذیه شدند، بیان داشتند که عصاره آنتوم دارای اثرات آنتی‌لیپیدمیک قوی در رت‌های سالم که با جیره غذایی چرب تغذیه می‌کردند، می‌باشد ولی داروی موثری برای پایین آوردن لیپیدهای پلاسما در رت‌های دیابتی القا شده توسط استرپتوزوسین نیست (19). اما

همچنین کمترین دوز تزریق عصاره تاثیر مثبتی در کاهش کلسترول داشته و با افزایش دوز تزریق نه تنها اثرات سمی مشاهده نشد، بلکه میزان آن در گروه با دریافت دوز 500 µg/kg کم‌تر از گروه کنترل مثبت تیمار با گلی بن کلامید گزارش شد (نمودار شماره 2 و جدول شماره 1). در موش‌های دیابتی میزان HDL تحت تاثیر مداخله درمانی افزایش معنی‌داری داشت، به گونه‌ای که در گروه با دریافت دوز 500 µg/kg، میزان HDL از گروه کنترل مثبت تیمار با گلی بن کلامید و حتی کنترل سالم نیز بیش‌تر بوده است (نمودار شماره 2 و جدول شماره 1).



نمودار شماره 2: اثر تزریق داخل صفاقی مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه *P. abrotanoides* بر میزان کلسترول تام و HDL خون موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه در چهار هفته متمادی. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره طرح A-10-315-14 و کد اخلاق IR.SEMUMS.REC.1396.194 انجام شده است.

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره *P. abrotanoid* هم بر پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئینی و هم بر میزان قند خون و شاخص‌های حیاتی مثل وزن تاثیر گذار است.

References

1. Krysiak R, Rudzki H, Okopień B. Diabetes and prediabetes in endocrine disorders. *Wiad Lek* 2012; 65(3): 187-198.
2. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrami A, et al. Diabetes in Iran: Prospective Analysis from First Nationwide Diabetes Report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016). *Scientific Reports* 2017; 7(1): 13461.
3. Pálsson R, Patel UD. Cardiovascular complications of diabetic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2014; 21(3): 273-280.
4. Sharma V, Joshi M, Vishnoi A. Interrelation of retinopathy with peripheral neuropathy in diabetes mellitus. *J Clin Ophthalmol Res* 2016; 4(2): 83-87.
5. Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2012; 12(1): 5-18.
6. Dixit AK, Dey R, Suresh A, Chaudhuri S, Panda AK, Mitra A, et al. The prevalence of dyslipidemia in patients with diabetes mellitus of ayurveda Hospital. *J Diabetes Metab Disord* 2014; 13(1): 58.
7. Chikezie PC, Ojiako OA, Ogbuji AC. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Integr Obesity Diabetes. J Biol Chem* 2015; 9(3): 92-109.
8. Sadi G, Kartal D, Güray T. Regulation of Glutathione S-Transferase Mu with type 1 diabetes and its regulation with antioxidants. *Turk J Biochem* 2013; 38(1): 106-114.
9. Shapiro K, Gong W. Natural products used for diabetes. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 2002; 42(2): 217-226.
10. Ríos JL, Francini F, Schinella GR. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Planta Medica* 2015; 81(12/13): 975-994.
11. Geryani MA, Mahdian D, Mousavi SH, Hosseini A. Cytotoxic and apoptogenic effects of *Perovskia abrotanoides* flower extract on MCF-7 and HeLa cell lines. *Avicenna J Phytomed* 2016; 6(4): 410-417.
12. Zaker A, Abrishamchi P, Asili J, Mousavi S, Rezaee A. Induction of callogenesis and rhizogenesis in *Perovskia abrotanoides* Karel., a little known medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research* 2013; 7: 3385-3392.
13. Mazandarani M, BEYK MM, Bayat H. Ethno pharmacology and investigation secondary metabolites of *Perovskia abrotanoides* Karel. in two natural regions, North of Iran. 2010; 4(4): 69-77 (Persian).
14. Kim EJ, Jung SN, Son KH, Kim SR, Ha TY, Park MG, et al. Antidiabetes and antiobesity effect of cryptotanshinone via activation of AMP-activated protein kinase. *Mol Pharmacol* 2007; 72(1): 62-72.
15. Eidi A, Eidi M, Givianrad M, Abaspour N. Hypolipidemic effects of alcoholic extract of

- eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) leaves on diabetic and non-diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders 2009; 8(1): 105-112 (Persian).
16. Yanardag R, Bolkent S, Tabakoglu-Oguz A, Ozsoy-Sacan O. Effects of *Petroselinum crispum* extract on pancreatic B cells and blood glucose of streptozotocin-induced diabetic rats. Biol Pharm Bull 2003; 26(8): 1206-1210.
 17. Mokhtari M, Mohammadi J. The effect of hydroalcoholic extracts of *Prangos ferulacea* on blood factors of kidney and liver functions in diabetic male wistar rats. J Fasa Univ Med Sci 2012; 2(3): 174-180 (Persian).
 18. Kamaei L, FathiMoghaddam H, Mokhtari M, Moghadamnia D. Effects of *Avicennia Marina* Leaf and Fruit Hydro Alcoholic Extract on Streptozotosin-Induced Diabetic Male Rats. AUMJ 2017; 6(1): 41-50 (Persian).
 19. Piri M, Shahin MS, Oryan S. The effects of *Anethum* on plasma lipid and lipoprotein in normal and diabetic rats fed high fat diets. J Shahrekord Univ Med Sci 2010; 11(4): 15-25 (Persian).