Archive of SID

اثر هیپوگلیسمیک برگ تره خوراکی (*Allium porrum* L.) بر موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد NMRI سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

مریم عیدی[1*]، فاطمه سلیمانی[2]، سمیرا ابراهیمی[2]

۱- دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین

۲- کارشناس شیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین

*آدرس مکاتبه: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، صندوق‌پستی: ۶۱۷ - ۱۶۵۳۵

تلفن: ۷۷۰۶۸۷۹۳ (۰۲۱)، نمابر: ۷۷۰۶۸۷۹۴ (۰۲۱)

پست الکترونیک: maryameidi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۵/۶/۸ **تاریخ تصویب:** ۸۶/۴/۲۴

چکیده

مقدمه: در طب ایرانی شواهد بسیاری در مورد خواص درمانی تره خوراکی وجود دارد. این گیاه در درمان مشکلات هضم غذا، آتریواسکلروز، درد مفاصل، التهاب تنفسی و سنگ کلیه اثر دارد. اثر هیپولیپیدمیک این گیاه در خرگوش‌های دیابتی بررسی شده ولی اثر هیپوگلیسمیک آن هنوز مشخص نشده است.

هدف: در پژوهش حاضر، اثر هیپوگلیسمیک عصاره اتانلی برگ گیاه تره خوراکی (*Allium porrum* L. *Liliaceae*) بر موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد NMRI سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین بررسی شد.

روش بررسی: حیوانات توسط تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین (60 mg/kg, i.p.) دیابتی شدند. عصاره اتانلی گیاه در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز تیمار شدند. نمونه‌های خون از قلب حیوانات بعد از ۱۴ روز جمع‌آوری شد. گروه‌های کنترل سالم و دیابتی نرمال سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کردند. سطح گلوکز سرم به روش گلوکز اکسیداز و سطح انسولین سرم بروش رادیوایمونواسی اندازه‌گیری شدند.

نتایج: نتایج نشان دادند که عصاره اتانلی برگ تره موجب کاهش گلوکز سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین می‌گردد که این اثر در حیوانات سالم مشاهده نشد. هم‌چنین، عصاره اتانلی گیاه در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش موثر سطح انسولین سرم در موش‌های دیابتی می‌شود. LD_{50} عصاره اتانلی گیاه ۳۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شد.

نتیجه‌گیری: داده‌های تحقیق حاضر دلالت بر آن دارند که عصاره اتانلی برگ تره خوراکی دارای اثر هیپوگلیسمیک بر حیوانات دیابتی است و احتمالاً این اثر را با افزایش آزادسازی انسولین انجام می‌دهد.

گل‌واژگان: *Allium porrum*، برگ تره خوراکی، هیپوگلیسمیا، بیماری دیابت، موش آزمایشگاهی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت قندی نوعی بیماری متابولیکی است که به عنوان هیپرگلیسمیا شناخته می‌شود. با توجه به اثرات جانبی استفاده از انسولین و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی، علاقه رو به افزایشی در میان این دسته از بیماران در مورد استفاده از محصولات طبیعی واجد فعالیت ضددیابتی وجود دارد [۱،۲،۳]. تحقیقات فراوانی نشان داده‌اند که بیش از ۴۰۰ گونهٔ گیاهی دارای فعالیت هیپوگلیسمیک هستند و آزمایشگاه‌های متعددی مشغول جداسازی ترکیبات هیپوگلیسیک خوراکی گیاهی هستند [۴،۵،۶،۷،۸].

گیاه تره خوراکی[1] از گونهٔ وحشی *Allium ampeloprasum* منشا می‌گیرد که در پرتغال و شمال آفریقا می‌روید و تا ترکیه، ایران و تاجیکستان گسترش یافته است. تره یک گیاه برگ سبز خوراکی است که در سرتاسر ایران کشت داده می‌شود. گیاه تره در پخت غذا و نیز به صورت سبزی خوراکی مصرف می‌شود. برگ‌های تره دارای آنزیم‌های مالتاز، دکستریناز، انورتاز و امولسیون هستند. در طب ایرانی شواهد بسیاری در مورد خواص تره وجود دارد. این گیاه بر مشکلات هضمی، آتریواسکلوزیز، درد مفاصل، التهاب تنفسی و سنگ کلیه اثر دارد [۹]. اثرات هیپوگلیسمیک سایر گونه‌های جنس *Allium* از جمله سیر[2] و پیاز بررسی شده است [۱۰،۱۱،۱۲،۱۳]، ولی تاکنون اثر هیپوگلیسمیک گیاه تره خوراکی بررسی نشده و تنها تحقیقات اندکی در مورد اثر هیپولیپیدمیک این گیاه انجام گرفته است [۱۴،۱۵]. بنابراین، به منظور تعیین اثر هیپوگلیسمیک برگ گیاه تره خوراکی، در پژوهش حاضر اثر عصاره اتانلی گیاه بر سطح گلوکز و انسولین سرم در موش‌های آزمایشگاهی نژاد NMRI سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برگ گیاه تره خوراکی از فروشگاه سبزیجات خریداری شده (تابستان ۱۳۸۴) و در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین شناسایی شد. برگ‌های گیاه تمیز شده و در سایه و در حرارت ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شدند. سپس برگ‌های خشک شده با یک آسیاب مکانیکی پودر شده و پودر خشک شده در یک کیسهٔ نایلونی در فریزر تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد.

تهیه عصاره اتانلی گیاه

برگ‌های خشک و پودر شده (در حدود ۶۰ گرم) با ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانل (۸۰ درصد) در دستگاه سوکسله به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره صاف شده و توسط دستگاه روتاری خشک شد.

حیوانات

موش‌های آزمایشگاهی ۲۵ –۲۰ گرم در قفس‌های تمیز با درجهٔ حرارت ۲۴ – ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰ – ۴۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی به آب و غذا داشتند.

آماده‌سازی حیوانات دیابتی

حیوانات توسط تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین دیابتی شدند (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). ۵ روز پس از تزریق، حیوانات با سطح گلوکز سرم بیش از ۱۸۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر برای آزمایش‌ها استفاده شدند. عصارهٔ الکلی برگ گیاه تره خوراکی به مدت ۱۴ روز به صورت درون‌صفاقی در ساعت ۱۰ – ۸ صبح به گروه‌های ۶ تایی حیوانات تزریق شد. حجم تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر بود. گروه‌های مورد بررسی عبارت بودند از:

۱ – گروه دست نخورده که هیچ‌گونه تیماری دریافت نکردند (n = ۶).

۲ – گروه کنترل سالم که به مدت ۱۴ روز تزریق سالین را دریافت کردند (n = ۶).

۳ – گروه کنترل دیابتی که به مدت ۱۴ روز تزریق سالین را دریافت کردند (n = ۶).

---

[1] *Allium porrum, Liliaceae*
[2] *Allium sativum* [3] *Allium cepa*

www.SID.ir

Archive of SID

۴، ۵، ۶ و ۷ ـ گروه‌های تجربی سالم که به مدت ۱۴ روز تزریق عصاره را در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند (n = ۶).

۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ ـ گروه‌های تجربی دیابتی که به مدت ۱۴ روز تزریق عصاره را در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند (n = ۶).

نمونه‌گیری خون

عصاره اتانلی تره به مدت ۱۴ روز در ساعت ۱۰ – ۸ صبح در غلظت‌های مختلف به روش درون‌صفاقی تزریق شدند. گروه‌های کنترل سالین را به عنوان حلال دریافت کردند. پس از طی ۱۴ روز، حیوانات بیهوش شده و خون‌گیری از قلب آن‌ها انجام گرفت. سطح گلوکز سرم به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. سطح انسولین سرم با استفاده از کیت و به روش رادیوایمونواسی اندازه‌گیری شد (Diasorin, Italy).

اندازه‌گیری LD_{50}

عصاره گیاه به روش درون صفاقی در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۳۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن به هر گروه ۱۰ تایی از حیوانات تزریق شدند. پس از ۷۲ ساعت غلظتی از عصاره که کشندهٔ ۵۰ درصد از حیوانات هر گروه بود به عنوان LD_{50} تعیین شد.

آنالیز آماری

همهٔ داده‌ها به صورت mean ± S.D. ارایه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ با استفاده از one-way ANOVA تعیین شد.

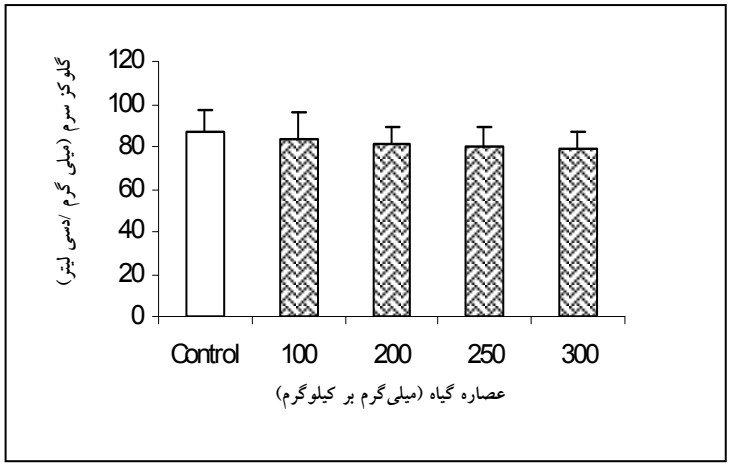
نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که تیمار عصاره اتانلی گیاه تره به مدت ۱۴ روز در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن اثر معنی‌داری بر سطح گلوکز موش‌های سالم ایجاد نمی‌کند (نمودار شمارهٔ ۱).

تیمار عصاره اتانلی گیاه تره در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز موجب کاهش معنی‌دار گلوکز سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین می‌شود ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار شمارهٔ ۲).

تیمار عصارهٔ اتانلی گیاه تره در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به عنوان غلظت مؤثر موجب افزایش انسولین سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین می‌شود ($p<۰/۰۱$) (نمودار شمارهٔ ۳).

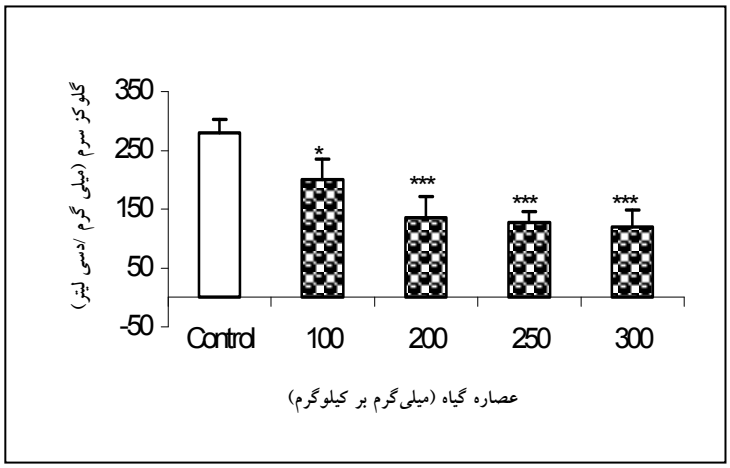
عصاره اتانلی برگ گیاه تره در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۳۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش درون صفاقی تزریق شد. LD_{50} برگ تره ۳۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شد (جدول شماره ۱).



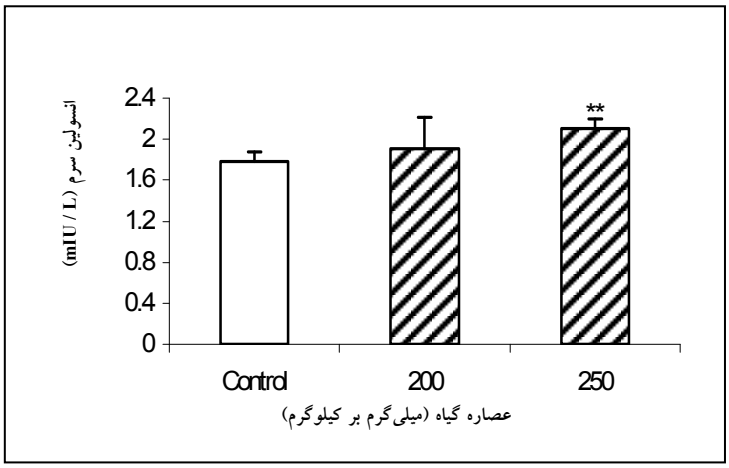
نمودار شماره ۱ – اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره الکلی تره خوراکی در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر گلوکز سرم در موش‌های ناشتای سالم. هر ستون **mean ± S.D.** را برای ۶ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کرده‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره ۲ – اثر تزریق درون صفاقی عصاره الکلی تره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر گلوکز سرم در موش‌های ناشتای دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. هر ستون mean ± S.D. را برای ۶ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل دیابتی، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کرده‌اند. p<۰/۰۵ * و p<۰/۰۰۱ * اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.**



نمودار شماره ۳ – اثر تزریق درون صفاقی عصاره الکلی تره در دوزهای ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سطح انسولین سرم در موش‌های ناشتای دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. هر ستون mean ± S.D. را برای ۶ موش نشان می‌دهد. گروه کنترل دیابتی، سالین را به عنوان حلال عصاره دریافت کرده‌اند. p<۰/۰۱ ** اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

بحث

در حال حاضر روش‌های درمانی در دسترس برای بیماری دیابت قندی غیروابسته به انسولین از جمله اصلاح رژیم غذایی، عوامل هیپوگلیسمیک و انسولین دارای محدودیت‌های خاص خودشان هستند [۱۶]. بررسی طب گیاهی می‌تواند به در حل مشکل بیماری دیابت در آینده مفید باشد. استرپتوزوتوسین یک عامل ضد سرطان و آنتی‌بیوتیک است که با دژنراسیون و نکروز سلول‌های بتا پانکراس برای ایجاد بیماری دیابت در انواعی از حیوانات استفاده می‌شود [۱۷]. گیاه تره خوراکی[1] از خانواده *Liliaceae* است و به فراوانی در غذاهای ایرانی به عنوان یک جزء طعم‌دهنده استفاده می‌شود. تحقیقات بسیاری اثر گیاهان متعلق به جنس *Allium* مانند سیر و پیاز را بر بیماری دیابت گزارش نموده‌اند [۱۰،۱۱،۱۲]. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که تیمار خوراکی عصاره اتانلی

[1] *Allium porrum* L.

www.SID.ir

Archive of SID

گیاه سیر موجب کاهش سطح گلوکز، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، اوره، اسید اوریک، کراتی‌نین، آسپارتات آمینو ترانسفراز و الانین آمینو ترانسفراز و افزایش سطح انسولین در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین می‌شود [۱۳]. تحقیقات اندکی در مورد اثر هیپولیپیدمیک برگ گیاه تره وجود دارد [۱۴،۱۵] و تاکنون اثر هیپوگلیسمیک گیاه تره گزارش نشده است.

در تحقیق حاضر، عصاره اتانلی گیاه تره خوراکی با استفاده از دستگاه سوکسله به دست آمد. این عصاره دارای ترکیبات قطبی و نیمه‌قطبی محلول در اتانل است. نتایج مربوط به گلوکز سرم به طور واضحی نشان دادند که تیمار درون‌صفاقی عصاره اتانلی گیاه تره به مدت ۱۴ روز در غلظت‌های ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثر هیپوگلیسمیک موثری در حیوانات دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین در مقایسه با حیوانات کنترل دیابتی ایجاد می‌کند. تیمار درون‌صفاقی گیاه تره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز این اثر را در حیوانات سالم تجربی در مقایسه با حیوانات کنترل سالم نشان نداد. از طرف دیگر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار عصارهٔ اتانلی گیاه در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز موجب افزایش سطح انسولین سرم در حیوانات دیابتی می‌گردد.

پیشنهاد شده که اثر هیپوگلیسمیک گیاهان وابسته به وجود ترکیبات ساپونین‌ها و فلاونوییدها است [۱۸،۱۹،۲۰]. در تحقیقاتی که انجام شده ترکیبات ساپونین اسپیروستانول و گلیکوزیدی از گیاه تره جداسازی شده است. دو ترکیب spirostanol saponins در گیاه تره خوراکی گزارش شده است. این ترکیبات شامل:

(25R)-5a-spirostan-3*β*,6*β*-diol 3-*O*-{*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-D-xylopyranosyl-(1→3)]-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*β*-D-galactopyranoside}

و

(25*R*)-5a-spirostan-3 *β*,6 *β* -diol 3-*O*-{*O*- *β* -D-glucopyranosyl-(1→3)-*O*- *β*-D-glucopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-D-xylopyranosyl-(1→3)]-*O*-*β*- D-glucopyranosyl-(1→4)-*β*-D-galactopyranoside} می‌باشند (۲۱).

ترکیبات فلاونوییدی موجود در گیاه تره شامل ترکیبات زیر هستند:

kaempferol 3-*O*-[2-*O*-(*trans*-3-methoxy-4-hydroxycinnamoyl)- β-D-galactopyranosyl]-(1→4)-*O*- β-D-glucopyranoside

و

kaempferol 3-*O*-[2-*O*-(*trans*-3-methoxy-4-hydroxycinnamoyl)- β-D-glucopyranosyl]-(1→6)-*O*- β-D-glucopyranoside

که با استفاده از روش‌های اسپکتروسکوپی شناسایی شده‌اند [۲۲].

از آنجایی‌که گیاه تره خوراکی دارای ترکیبات ساپونین‌ها و فلاونوییدها است، احتمالاً اثر هیپوگلیسمیک گیاه به واسطهٔ وجود این ترکیبات است. اگرچه تحقیقات بیشتری برای تعیین ترکیبات هیپوگلیسمیک فعال گیاه و شناسایی مکانیسم اثر آنها در کاهش گلوکز سرم در موش‌های دیابتی نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانلی برگ گیاه تره دارای اثر هیپوگلیسمیک در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین است و احتمالاً با افزایش آزادسازی انسولین از سلول‌های بتا پانکراس موجب کاهش سطح گلوکز سرم در حیوانات مورد آزمایش می‌شود.

تشکر و قدردانی

از باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین – پیشوا و آزمایشگاه آسیب‌شناسی بهار که در انجام پروژه حاضر نهایت همکاری را مبذول داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Holman, RR, Turner, RC. Oral agents and insulin in the treatment of NIDDM. In: Pickup J, Williams G, (Eds.). *Textbook of Diabetes*. Blackwell, Oxford, 1991, pp: 467 - 469.

2. Prout TE. In: Malaisse WJ, Pirat J, (Eds.). *Proceedings VIII Congress of International Diabetes Federation*. Expertal Medica, Amsterdam, 1974; pp: 162.

3. Kameswara Rao B, Giri R, Kesavulu MM, Apparao CH. Herbal medicine: In the management of diabetes mellitus. *Manphar Vaidhya Patrika*. 1997; 1: 33-35.

4. Mukherjee SK. Indigenous drugs in Diabetes mellitus. *Journal of the Diabetes Association Ind.* 1981; 21: 97-106.

5. Oliver-Bever B. Oral hypoglycemic action. Medicinal plants in Tropical West Africal. Cambridge University Press. London. 1986, pp: 245-267.

6. Ivorra MD, Paya M, Villar A. review of natural products and plants as potent antidiabetic drugs. *Jourhal of Ethnophamacology* 1989; 27: 243-276.

7. Atta Ur-Rahman, Zaman K. Medicinal plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 1989; 26: 1-55.

8. Rai MK. A review on some antidiabetic plants of India. *Ancient Science of Life* 1995; 14: 42-54.

9. Zargari A. Medicinal Plant. Vol. 4. Tehran University Press. Iran. 1997, pp: 59-64.

10. Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*). *Indian J. Exp. Biol*. 1996; 34: 634–640.

11. Elkayam A, Mirelman D, Peleg E. The effects of allicin on weight in fructose-induced hyperinsulinemic, hyperlipidemic, hypertensive rats. *Am. J. Hypertension* 2003; 16: 1053–1056.

12. Mathew PT, Augusti KT. Studies on the effect of allicin (diallyl disulphide-oxide) on alloxan diabetes: part Ihypoglycaemic action and enhancement of serum insulin effect and glycogen synthesis. *Indian J. Biochem. Biophys*. 1973; 10: 209 – 212.

13. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13: 624 - 629.

14. Movahedian A, sadeghi H, ghannadi A, Gharavi M, Azarpajooh S. Hypolipidemic activity of *Allium porrum* L. in cholesterol-fed rabbits. *J. Food Med*. 2006; 9: 98 - 101.

15. Movahedian A, Ghannadi A, Sadeghi H, Gharavi M, Azarpajhoh S. Study of leek (*Allium porrum*. L.) extract on cholesterol plasma levels in hyperlipidemic animals. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2004; 13 (Suppl): S103.

16. Vats V, Grover JK, Rathi SS. Evaluation of anti- hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Strigonella foenum-graecum* Linn, *Ocimum santum* Linn and *Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2002; 79: 95-100.

17. Merzouk H, Madani S, Chabane D. Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin. Sci*. 2000; 98: 21-30.

18. Tanaka O, Nagai Y, Shibata S. Pharmacological sequential trials for the fractionation of components with hypoglycemic activity in alloxan diabetic mice from ginseng radix. *J. pharmacobia-Dynamics* 1981; 4: 402.

19. Nakashima N, Kimura L, Kimura M. Isolation of pseudoprototimosaponin AIII from rhizomes of Anemarrhena asphodeloides and its hypoglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Nat. Prod.* 1993; 56: 345.

20. Marles RJ, Farnsworth N. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 1995; 2: 137–189.

21. Carotenuto A, Fattorusso E, Lanzotti V, Magno

www.SID.ir

Archive of SID

S. Spirostanol saponins of *Allium porrum* L. *Phytochemistry* 1999; 51: 1077-1082.
22. Fattorusso E, Lanzotti V, Taglialatela-Scafati O, Cicala C. The flavonoids of leek, *Allium porrum. Phytochemistry* 2001; 57: 565-569.

www.SID.ir