



اثرات هیپوگلیسمیک عصاره‌های کلروفرمی، اتانلی و هیدروالکلی دانه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در موش‌های صحرایی دیابتی شده نر بالغ

مریم عیدی*

دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ورامین

عبدالحسین روستائیان

استاد فیتوشیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

مهدی ابراهیمی

دانشجوی دکتری بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

محل انجام پژوهش: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۳

چکیده

شنبليله (*Trigonella foenum-gracum* L.) به‌عنوان یک گیاه طبی کاربرد دارد. دانه این گیاه برای اثرات ضدنفخ، تونیک و آنتی‌دیابتیک شناخته شده است. در این مطالعه، فعالیت عصاره‌های کلروفرمی، اتانلی و هیدروالکلی دانه شنبلیله در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوسین با استفاده از تیمارهای درون‌صفاقی (i.p.) عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تزریق درون‌صفاقی عصاره کلروفرمی دانه شنبلیله ۱/۵ ساعت پس از تزریق، اثر هیپوگلیسمیک تولید می‌کند، درحالی‌که عصاره‌های اتانلی و هیدروالکلی دانه این گیاه ۳ ساعت پس از تیمار، سطح گلوکز سرم را کاهش می‌دهد. عصاره‌های کلروفرمی و هیدروالکلی برای تعیین ساختارهای شیمیایی اجزای فعال، مورد بررسی بیشتر قرار دارند. حضور فعالیت هیپوگلیسمیک در عصاره‌های هیدروالکلی و اتانلی دلالت بر آن دارد که اجزای فعال در این گیاه، طبیعت قطبی دارند. همچنین، حضور فعالیت هیپوگلیسمیک در عصاره کلروفرمی احتمالاً دلیل بر وجود ترکیبات غیرقطبی دیگری است که سریع‌تر از ترکیبات موجود در عصاره‌های اتانلی و هیدروالکلی عمل می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی: دانه شنبلیله، هیپوگلیسمیا، دیابت، استرپتوزوسین، موش صحرایی

مقدمه

رویشی تازه شنبلیله سالها است به عنوان سبزی استفاده می‌شود. مواد مؤثره این گیاه، کاهش‌دهنده قند خون، ضدالتهاب و نرم‌کننده است. بخش‌های مورد استفاده گیاه شنبلیله از نظر دارویی شامل برگ و دانه است. در فارماکوپه‌های معتبر، از دانه‌های شنبلیله به عنوان دارو یادشده و خواص درمانی آن مورد تاکید قرار گرفته است.

شنبليله از گذشته‌های دور به عنوان گیاهی دارویی مورد استفاده قرار می‌گرفته است؛ به طوری که از پیکر

* مسؤؤل مکاتبات: دکتر مریم عیدی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، پست الکترونیکی:

maryeidi@yahoo.com

شناسایی تاکسونومیکی آن در هرباریوم دانشگاه تربیت معلم تهران، توسط آقای دکتر قهرمانی‌نژاد انجام گرفت. برگ‌های گیاه در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه، خشک و توسط آسیاب مکانیکی، به پودر تبدیل گردید. پودر خشک در کیسه‌های نایلونی تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری شد.

آماده‌سازی عصاره‌ها

برای تهیه عصاره‌های هیدروالکلی، اتانلی و کلروفومی، پودر حاصله به طور جداگانه به ترتیب با مخلوط آب و اتانل (به نسبت ۵۰:۵۰)، اتانل و کلروفوم مخلوط شد. پس از ۴۸ ساعت، مخلوط‌ها صاف و توسط دستگاه روتاری، خشک گردید.

حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های صحرایی بالغ نر (نژاد Wistar) با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور کرج، خریداری و در شرایط مناسب آزمایشگاه با درجه حرارت ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی هوا بین ۶۰-۴۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی مداوم به آب و غذا داشتند.

آماده‌سازی حیوانات دیابتی

استرپتوزوتوسین (Pharmacia & Upjohn, U.S.A.) پیش از تزریق در سالین استریل، حل و به طور درون صفاقی (۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) تزریق شد. پس از یک هفته و مشاهده علائم دیابت (کاهش وزن، افزایش قند خون به میزان بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و پرنوشی)، حیوانات به ۸ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. تیمار درون صفاقی عصاره‌ها توسط سرنگ انسولینی در کمتر از یک دقیقه انجام شده است:

گروه ۱: موش‌های صحرایی سالم که با سرم فیزیولوژیک تیمار شدند.

گروه ۲: موش‌های صحرایی دیابتی که با سرم فیزیولوژیک تیمار شدند.

در صنایع دارویی، از مواد مؤثره دانه‌های این گیاه، هورمون‌های جنسی، کورتیکوستروئیدها، ویتامین D و گلیکوزیدهای قلبی تهیه می‌شود. شنبلیله در سطح وسیعی در کشورهای مراکش، اتیوپی، تونس، مصر، الجزایر و هند کشت می‌شود (۱). این گیاه در نواحی مختلف ایران پرورش یافته و از سبزی‌های مفیدی است که در تهیه اغذیه مورد استفاده قرار می‌گیرد و بحالت خودرو، در نواحی مختلف آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان، (نزدیک بجنورد) و نواحی مرکزی ایران (سمنان و دامغان) نیز می‌روید (۲).

روش‌های مؤثر برای کنترل و جلوگیری از هیپرگلیسمیا برای درمان دیابت قندی اهمیت زیادی دارد (۳). گسترش رژیم‌های غذایی جدید و عوامل آنتی‌دیابتیک نو که یک محیط متابولیکی طبیعی را برقرار می‌کنند، مشکلات طولانی مدت مرتبط با دیابت را کاهش می‌دهند. در سرتاسر دنیا، تیمارهای گیاهان سنتی برای دیابت وجود دارند که دارای محصولات طبیعی مفید و قوی برای کنترل دیابت هستند (۴). بیش از ۸۰۰ گونه گیاهی برای درمان بیماری دیابت پیشنهاد شده که سازمان بهداشت جهانی نیز بعضی از آن‌ها را توصیه نموده است (۵). عصاره دانه شنبلیله دارای خواص درمانی زیادی است که از آن جمله می‌توان اثر افزایش دهنده وزن، ضد اولسر و هیپوگلیسمیک این گیاه را نام برد (۶). ولی ترکیب مؤثر در این گیاه برای درمان دیابت و نیز مکانیسم اثر آن در کاهش گلوکز خون هنوز به درستی روشن نشده است. در پژوهش حاضر، اثر عصاره‌های اتانلی، هیدروالکلی و کلروفومی دانه شنبلیله در کاهش گلوکز سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی

دانه گیاه شنبلیله *Trigonella foenum-graecum* L. از منطقه ورامین در مرداد ۱۳۸۲ جمع‌آوری شد و

سرم در هر یک از آنها اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز سرم به روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کیت آنزیماتیک (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری داده‌ها

اثر تزریق درون‌صفافی عصاره‌ها در همهٔ تجربیات با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و تست Tukey از نظر آماری بررسی شد. ملاک استنتاج آماری $p < 0.05$ بود.

نتایج

نمودار ۱ نشان می‌دهد که عصاره کلروفومی دانه شنبلیله در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش‌های صحرایی تاثیر معنی‌داری را در سطح گلوکز سرم موش‌های صحرایی دیابتی ۱/۵ ساعت پس از تیمار ایجاد می‌نماید ($p < 0.001$).

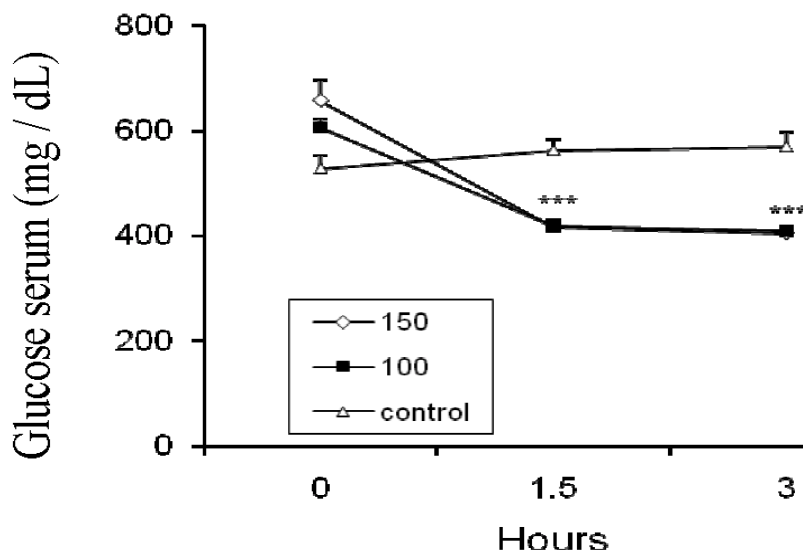
گروه‌های ۳ و ۴: موش‌های صحرایی دیابتی که عصاره کلروفومی دانهٔ شنبلیله را با دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

گروه‌های ۵ و ۶: موش‌های صحرایی دیابتی که عصاره اتانلی دانهٔ شنبلیله را با دوزهای ۲۰۰ و ۲۵۰ گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

گروه‌های ۷ و ۸: موش‌های صحرایی دیابتی که عصاره هیدروالکلی دانهٔ شنبلیله را با دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند.

جمع‌آوری نمونه‌های خون و اندازه‌گیری سطح گلوکز

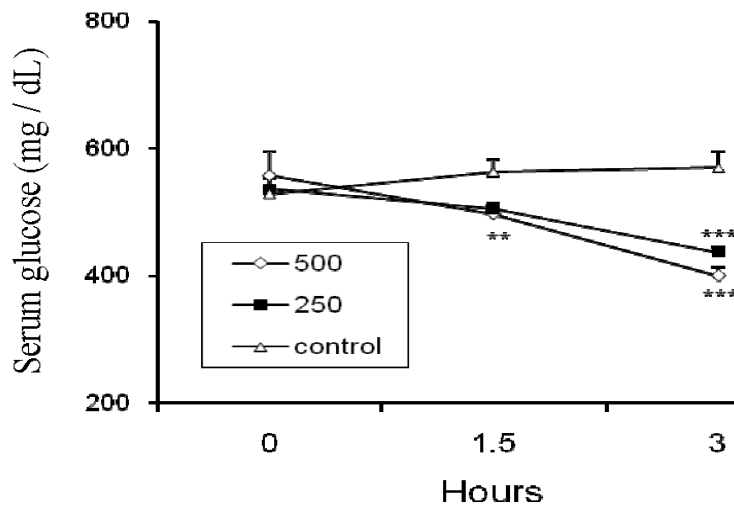
حیوانات با استفاده از اتر بیهوش شده و نمونه‌های خون از هر حیوان در ساعت صفر (قبل از تزریق درون‌صفافی عصاره‌های گیاه) و ۱/۵ و ۳ ساعت بعد از تیمار به روش استون (۷) از سینوس رترواریتال گوشه داخلی چشم حیوانات جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خون، سانتریفیوژ شده و پس از جداسازی سرم، میزان گلوکز



نمودار ۱ - اثر تزریق درون‌صفافی عصارهٔ کلروفومی دانهٔ شنبلیله در موش‌های صحرایی دیابتی. مقایسه بین زمان صفر (قبل از تزریق) و زمان‌های ۱/۵ و ۳ ساعت پس از تزریق در حیوانات دیابتی شدهٔ کنترل و تجربی انجام شده است. حیوانات دیابتی شدهٔ کنترل، تیمار روغن خوراکی (حلال عصارهٔ کلروفومی) و حیوانات دیابتی شدهٔ تجربی، عصارهٔ کلروفومی را در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر نقطه $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ *** اختلاف سطح گلوکز سرم را در هر زمان با زمان صفر در هر گروه نشان می‌دهد.

دیابتی شده کاهش می‌دهد که بیشترین تاثیر عصاره (۰/۵) گرم بر کیلوگرم) در ساعت ۳ پس از تیمار خوراکی آن است ($p < 0.05$).

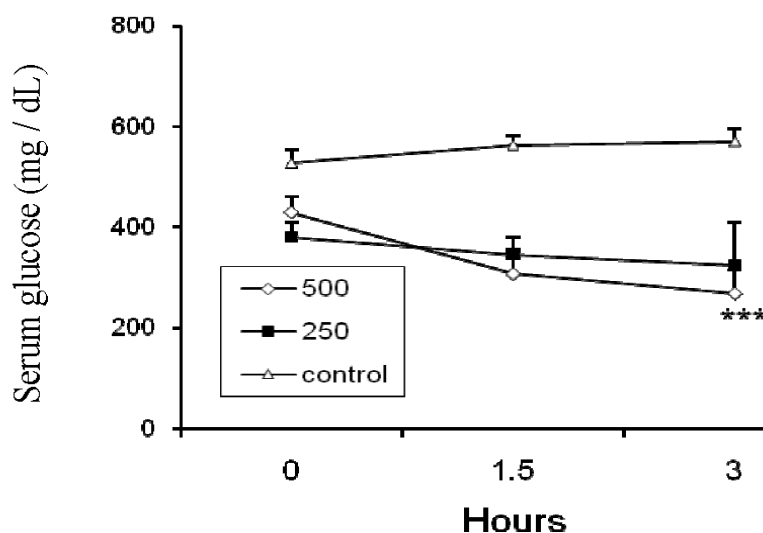
نمودار ۲ نشان می‌دهد که عصاره اتانلی دانه شنبلیله در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری سطح گلوکز سرم را در موش‌های صحرایی



نمودار ۲ - اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره اتانلی دانه شنبلیله در موش‌های صحرایی دیابتی. مقایسه بین زمان صفر (قبل از تیمار) و زمان‌های ۱/۵ و ۳ ساعت پس از تیمار در حیوانات دیابتی کنترل و تجربی انجام شده است. حیوانات دیابتی شده کنترل، تیمار سالین (حلال عصاره اتانلی) و حیوانات دیابتی شده تجربی، عصاره اتانلی را در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر نقطه $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ را نشان می‌دهد. $p < 0.01$ * , $p < 0.001$ *** اختلاف سطح گلوکز سرم را در هر زمان با زمان صفر در هر گروه نشان می‌دهد.

صحرایی دیابتی شده کاهش می‌دهد که بیشترین تاثیر عصاره (۰/۵) گرم بر کیلوگرم) در ساعت ۳ پس از تیمار خوراکی آن است ($p < 0.05$).

نمودار ۳ نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی دانه شنبلیله در دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری سطح گلوکز سرم را در موش‌های



نمودار ۳ - اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه شنبلیله در موش‌های صحرایی دیابتی. مقایسه بین زمان صفر (قبل از تیمار) و زمان‌های ۱/۵ و ۳ ساعت پس از تیمار در حیوانات دیابتی کنترل و تجربی انجام شده است. حیوانات دیابتی شده کنترل، تیمار سالین (حلال عصاره هیدروالکلی) و حیوانات دیابتی شده تجربی، عصاره هیدروالکلی را در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر نقطه $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ را نشان می‌دهد. $p < 0.001$ *** اختلاف سطح گلوکز سرم را در هر زمان با زمان صفر در هر گروه نشان می‌دهد.

بحث

تحقیقات بیشتر برای شناسایی اجزای فعال در این عصاره‌ها و تعیین مکانیسم عمل آن‌ها ضروری بوده و در حال انجام است.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین جهت تامین اعتبار تحقیق حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. همچنین، از پرسنل محترم مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات، به‌ویژه سرکار خانم بهین امیدی کارشناس محترم آزمایشگاه زیست جانوری که در انجام این پروژه ما را یاری دادند، قدردانی می‌شود.

منابع

- 1-Pillai, P.K.T., Nambiar, M.C. 1982. Central plantation crop research institute kasaragod. In: CK Atal and BM Kapur, cultivation and utilization of medicinal plants. Jammu-Tawi, India.
- ۲-زرگری، ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. چاپ هفتم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۷۶، جلد اول، ص ۶۴۲ - ۶۳۷.
- 3-Herman, W.H., Crofford, O.B. 1997. The relationship between diabetic control and complications. Pickup JC Williams G Eds. Textbook of diabetes 41:1-41. 11, Blackwell Scientific Oxford.
- 4-Bailey, C. J., Flatt, P. R. 1995. Development of antidiabetic drugs. Ioannides C. Flatt PR Eds. Drugs, diet and disease. Vol. 2, Mechanistic approaches to diabetes, Ellis

بیماری دیابت در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران بوده و فشار مالی مؤثری را به جامعه تحمیل می‌کند (۸). روش‌های درمانی مانند تغییر رژیم غذایی و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی که در حال حاضر برای درمان دیابت غیر وابسته به انسولین استفاده می‌شوند، محدودیت‌های خاص خود را دارند. گیاهان دارویی برای درمان دیابت قندی، دارای کاربرد گسترده‌ای به‌ویژه در کشورهای آسیایی هستند. طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده‌ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. مطالعه گیاهان دارویی، کلید طبیعی را برای باز کردن مشکلات درمانی این بیماری ارائه می‌نماید. گزارش‌هایی در مورد اثرات هیپوگلیسمیک عصاره دانه شنبلیله وجود دارد (۹، ۱۰، ۱۱). ولی ساختار شیمیایی ترکیب مؤثر و نیز مکانیسم اثر آن هنوز به‌درستی روشن نشده است. گزارش شده است که اثرات مفید این گیاه در درمان دیابت با سیستم گلیکوزیلاز مرتبط است که در متابولیسم گلوکز و فرایندهای متابولیسم رادیکال‌های آزاد، دخالت دارند (۱۲). در پژوهش حاضر، اثر عصاره‌های هیدروالکلی، اتانلی و کلروفومی دانه شنبلیله به‌منظور تعیین قطبیت ترکیب مؤثر در گیاه بر سطح گلوکز در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفته است.

تیمار درون‌صفافی عصاره کلروفومی دانه شنبلیله، ۱/۵ ساعت پس از اعمال، کاهش مؤثری را در غلظت گلوکز سرم حیوانات دیابتی شده ایجاد می‌نماید. در حالی که تیمار درون‌صفافی عصاره‌های اتانلی و هیدروالکلی، ۳ ساعت پس از اعمال، موجب کاهش در سطح گلوکز سرم می‌شود. نتایج این پژوهش دلالت بر قدرت و سرعت تاثیر بیشتر ترکیبات موجود در عصاره کلروفومی در مقایسه با عصاره‌های اتانلی و هیدروالکلی دارند. شایان ذکر است که تاکنون مطالعات دقیق و جامعی در این مورد انجام نشده است تا از این فرضیه حمایت نموده یا مکانیسم عمل ضد دیابتی دانه شنبلیله را مشخص کند. بنابراین، انجام

- normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 58:149-55.
- 10- Fazli, F.R.Y. 1968. Hardman R. The spice, fenugreek: its commercial varieties of seed as a source of diosgenin. *Tropical Science* 10:66-78.
- 11- Vats, V., Grover, J.K., Rathi, S.S. 2002. Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum*, *Ocimum sanctum* and *Pterocarpus marsupium* in normal and alloxanized diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79:95-100.
- 12- Choudhary, D., Chandra, D., Choudhary, S., Kale, R.K. 2001. Modulation of glyoxalase, glutathione S-transferase and antioxidant enzymes in the liver, spleen and erythrocytes of mice by dietary administration of fenugreek seeds. *Food and Chemical Toxicology* 39:989-97.
- Horwood Ltd. Chichester, pp. 279-326.
- 5- WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second report. Technical Report Series 646. World Health Organization, Geneva, 1980.
- ۶- امیدبیگی، رضا. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات طراحان نشر. ۱۳۷۶، جلد دوم، ص ۲۸۰-۲۷۵.
- 7- Stone, S. 1954. Methods for obtaining venous blood from the orbital sinus of the rat and mouse. *Sci* 119:100-10.
- 8- Foster, D.W. 1994. Diabetes mellitus. In: Isselbacher, K.J., Brawnwald, E., Wilson, J.D., Martin, J.B., Fauci, A.S., Kasper. D.L., (Eds.), *Harrison's Principales of Internal Medicine*. McGraw Hill, United State, pp: 1979-1981.
- 9- Abdel-Barry, J.A., Abdel-Hassan, I. A., Al-Hakiem, M.H. H. 1997. Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in

