

## اثرات هیپوگلیسمیک عصاره الکلی برگ شاه‌توت (*Morus nigra* L.) در رت‌های سالم و دیابتی شده نر بالغ

شهربانو عریان<sup>۱</sup>، مریم عیدی<sup>۲\*</sup>، ابراهیم یزدی<sup>۳</sup>، اکرم عیدی<sup>۴</sup>، جلال صولتی<sup>۵</sup>

۱- استاد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

۲- استادیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین

۳- دکترای تخصصی سیتوژنتیک، شرکت دارویی ایران‌داروک، کرج

۴- استادیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

۵- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران

\* آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۶۱۷-۱۶۵۳۵، تلفن: ۷۷۲۴۴۸ (۰۲۱)، نمابر: ۲۷۰۵۸۳۶ (۰۲۱)

پست الکترونیکی: eidi@aiuvaramin.ac.ir

### چکیده

گیاه شاه‌توت (*Morus nigra* L.) یکی از عوامل درمانی طبیعی غیرتوکسیک می‌باشد که دارای اثرات درمانی بسیاری مانند کاهش‌دهنده فشارخون و دیورز است. در پژوهش حاضر، اثر تیمار خوراکی عصاره الکلی گیاه شاه‌توت بر سطح گلوکز و انسولین سرم حیوانات سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (با محدوده وزنی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تیمار عصاره (با دوز ۰/۰۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم) پس از ۱/۵ و ۳ ساعت موجب کاهش معنی‌داری در گلوکز سرم حیوانات دیابتی (با روش اندازه‌گیری گلوکز اکسیداز) می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهند که برگ گیاه شاه‌توت دارای ترکیباتی است که اثر هیپوگلیسمیک دارند، هر چند که مکانیسم عمل آنها در کاهش گلوکز سرم هنوز به‌درستی روشن نشده است.

کلواژگان: شاه‌توت، هیپوگلیسمی، استرپتوزوتوسین، رت



## مقدمه

بیماری دیابت در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران می‌باشد و فشار مالی موثری را به جامعه تحمیل می‌کند به‌طوری‌که در هند در حدود ۹۲ میلیون دلار در سال صرف هزینه درمان افراد مبتلا به دیابت می‌شود [۱]. تخمین زده شده است که در سال ۲۰۱۰ میلادی، تعداد کل بیماران دیابتی در سراسر دنیا به ۲۳۹ میلیون نفر برسد. مناطقی که بالاترین پتانسیل را برای ابتلا به بیماری دیابت دارند، آسیا و آفریقا می‌باشند که در سال ۲۰۱۰ میلادی، نسبت دیابت در این مناطق به دو تا سه برابر نسبت فعلی می‌رسد [۲]. روش‌های درمانی که در حال حاضر برای درمان دیابت غیر وابسته به انسولین (NIDDM) در دسترس هستند مانند تغییر رژیم غذایی و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی دارای محدودیت‌های خاص خودشان می‌باشند. گیاهان دارویی برای درمان دیابت قندی به‌طور وسیعی به‌ویژه در کشورهای آسیایی کاربرد دارند. سازمان بهداشت جهانی نیز در مورد استفاده از این گیاهان در این کشورها توصیه‌هایی را نموده است [۳]. بسیاری از گونه‌های گیاهی هستند که در طب سنتی ملل مختلف به‌واسطه خواص هیپوگلیسمیک‌شان برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴].

شاه‌توت (*Morus nigra* L. (Muraceae)) درختی به ارتفاع ۴ تا ۱۰ متر می‌باشد که شاخه‌هایی کوتاه و متعدد دارد. برگ‌های شاه‌توت به رنگ سبز تیره و دارای پهنکی قلبی شکل با تقسیمات نامنظم و دندان‌دار است. بخش‌های مورد استفاده درخت شاه‌توت از نظر دارویی شامل پوست ریشه، برگ و میوه می‌باشند [۵]. عصاره برگ گیاه دارای خواص درمانی زیادی است که می‌توان اثرات هیپوتانسو، دیورتیک و هیپوگلیسمیک این گیاه را نام برد [۶، ۷، ۸]. ولی اثر هیپوگلیسمیک گیاه *Morus nigra*

و نیز مکانیسم اثر آن در کاهش گلوکز خون هنوز به‌درستی روشن نشده است. در پژوهش حاضر، اثر عصاره الکلی برگ گیاه *Morus nigra* در کاهش گلوکز سرم و آزادسازی هورمون انسولین از پانکراس حیوانات سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

ماده گیاهی: برگ گیاه *Morus nigra* L. از منطقه کرج جمع‌آوری شد و 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 شد و توسط آسیاب مکانیکی به‌صورت پودر تبدیل گردید. پودر خشک در کیسه‌های نایلونی تا زمان آزمایش در فریزر یخچال نگهداری شد.

### آماده‌سازی عصاره

پودر حاصله از برگ گیاه شاه‌توت با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل در دستگاه سوکسله (Suxhlet) قرار داده شد. عصاره الکلی حاصله توسط دستگاه روتاری (Rotary) خشک گردید.

### حیوانات آزمایشگاهی

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

آماده‌سازی حیوانات دیابتی: استرپتوزوتوسین (Pharmacia & Upjohn, U.S.A.) بلافاصله پیش از انجام آزمایش در سالین استریل



تست Tukey از نظر آماری بررسی شد. ملاک استنتاج آماری  $p < 0/05$  بود.

## نتایج

نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که سطح گلوکز سرم در رت‌های دیابتی شده به‌طور معنی‌داری بالاتر از رت‌های سالم می‌باشد ( $p < 0/001$ ).

نمودار شماره ۲ نشان می‌دهد که عصاره برگ شاه‌توت در دوزهای ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم وزن رت تاثیر معنی‌داری را در سطح گلوکز سرم رت‌های سالم ایجاد نمی‌نماید ( $p < 0/05$ ).

نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد که عصاره برگ شاه‌توت در دوزهای ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ گرم بر کیلوگرم به‌طور معنی‌داری سطح گلوکز سرم را در رت‌های دیابتی شده کاهش می‌دهد که بیشترین تاثیر عصاره (۰/۵ گرم بر کیلوگرم) در ساعت ۳ پس از تیمار خوراکی آن می‌باشد ( $p < 0/001$ ). این دوز به‌عنوان دوز مناسب در اندازه‌گیری هورمون انسولین مورد استفاده قرار گرفت.

نمودار شماره ۴ نشان می‌دهد که عصاره برگ شاه‌توت در دوز ۰/۵ گرم بر کیلوگرم که موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز سرم می‌شود، تاثیر معنی‌داری بر سطح انسولین سرم رت‌های دیابتی شده ندارد ( $p < 0/05$ ).

## بحث

دیابت احتمالاً سریع‌ترین بیماری متابولیکی در حال رشد در دنیا می‌باشد و دانش نااهمگن بودن این بیماری برای یافتن روش‌های درمانی مناسب‌تر نیز رو به افزایش است [۱۰]. طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده‌ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. مطالعه گیاهان دارویی کلید طبیعی را برای بازکردن مشکلات درمانی این بیماری ارائه می‌نماید. گزارش‌های اندکی در مورد اثرات هیپوگلیسمیک

حل شده و به‌طور درون صفاقی در دوز (mg/kg, 70 i.p. تزریق شده و پس از مشاهده علائم دیابت (کاهش وزن، افزایش قندخون به میزان بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و پرنوشی)، حیوانات به ۸ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. تیمار خوراکی آب و عصاره توسط سرنگ در کمتر از یک دقیقه انجام شده است:

گروه ۱- رت‌های سالم که با آب مقطر تیمار شدند. گروه‌های ۲، ۳ و ۴- رت‌های سالم که عصاره الکی برگ شاه‌توت را با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. گروه ۵- رت‌های دیابتی شده که با آب مقطر تیمار شدند.

گروه‌های ۶، ۷ و ۸- رت‌های دیابتی شده که عصاره الکی برگ شاه‌توت را با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

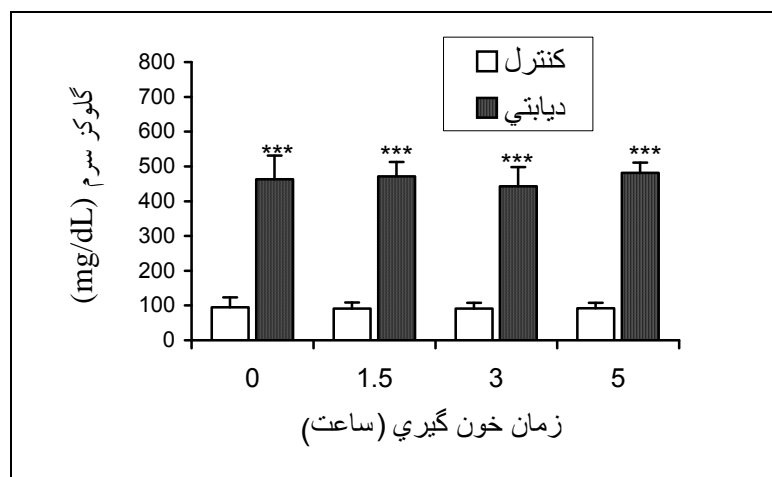
## جمع‌آوری نمونه‌های خون و اندازه‌گیری سطح گلوکز و هورمون انسولین سرم

حیوانات با استفاده از اتر بیهوش شدند و نمونه‌های خون از هر حیوان در ساعت صفر (قبل از تیمار خوراکی عصاره گیاه)، ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت بعد از تیمار به روش استون [۹] از سینوس رترواریتال گوشه داخلی چشم جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خون بلافاصله سانتریفوژ و سرم آنها جدا گشتند و میزان هورمون انسولین و گلوکز سرم در هر یک از آنها اندازه‌گیری شد. سطح گلوکز سرم به روش رنگ سنجی و با استفاده از کیت آنزیماتیک گلوکزاکسیداز (شرکت زیست شیمی، ایران) اندازه‌گیری شد. سطح هورمون انسولین به روش رادیوایمونواسی در بخش سنجش هورمون در انستیتو غدد و متابولیسم ایران اندازه‌گیری گردید.

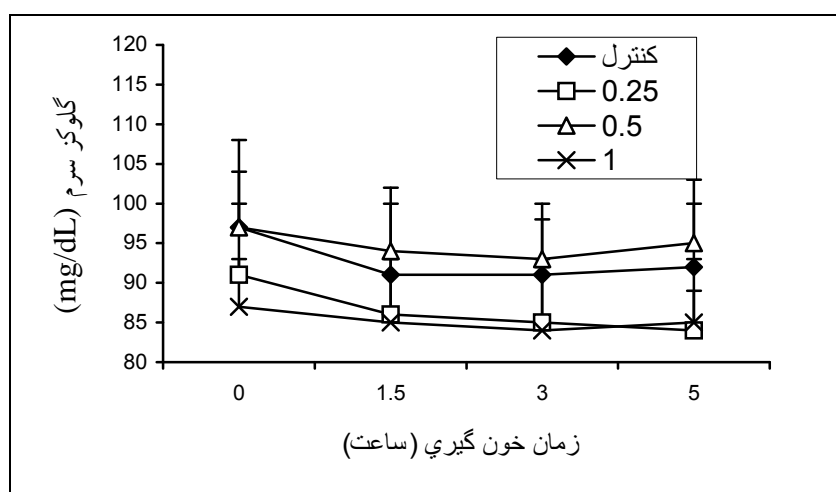
## آنالیز آماری داده‌ها

اثر تیمار خوراکی عصاره در همه تجربیات با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و





نمودار شماره ۱ - مقایسه گلوکز سرم در موش‌های سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. استرپتوزوتوسین با دوز ۷۰ mg/kg تزریق و مقایسه بین زمان صفر (قبل از تیمار آب مقطر) و زمان‌های ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت پس از تیمار در میوانات کنترل و دیابتی شده انجام شده است. میوانات کنترل و دیابتی تنها تیمار آب مقطر را دریافت کرده‌اند. هر ستون  $\text{mean} \pm \text{S.D.}$  را نشان می‌دهد.  $p < 0.001$ ؛ افتلاف سطح گلوکز سرم در گروه دیابتی را از زمان معادل با آن در گروه کنترل نشان می‌دهد.

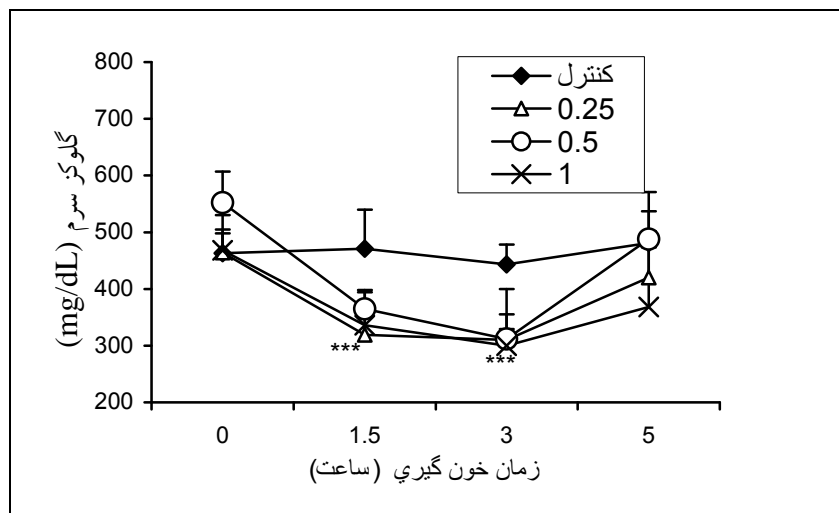


نمودار شماره ۲ - اثر تیمار فوراکی عصاره الکلی برگ شاه‌توت در رت‌های سالم. مقایسه بین زمان صفر (قبل از تیمار) و زمان‌های ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت پس از تیمار در هر گروه از میوانات کنترل و دیابتی انجام شده است. میوانات کنترل تیمار آب‌مقطر و میوانات تجربی عصاره الکلی شاه‌توت را در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر ستون  $\text{mean} \pm \text{S.D.}$  را نشان می‌دهد.

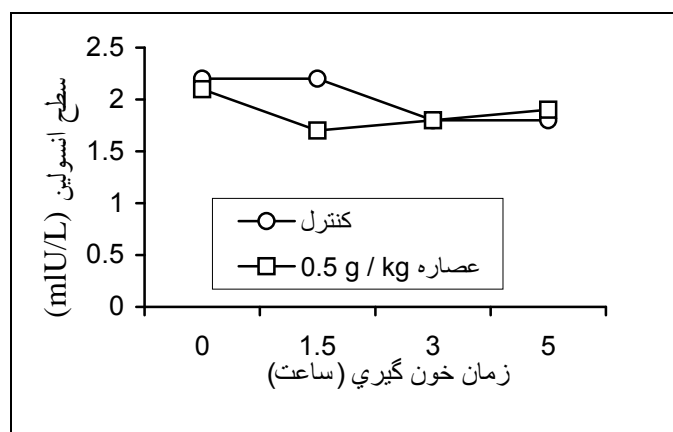
*Morus nigra* را بر سطح گلوکز و انسولین سرم در رت‌های سالم و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار دادیم.

عصاره برگ‌های گیاه *Morus nigra* در دسترس می‌باشد [۶۷، ۱۱]. به منظور روشن‌کردن گزارش‌های فوق، ما در پژوهش حاضر، اثر عصاره برگ گیاه





نمودار شماره ۳ - اثر تیمار فوراکی عصاره الکلی برگ شاه‌توت (غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم) بر سطح گلوکز سرم در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. مقایسه بین زمان صفر (قبل از تیمار) و زمان‌های ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ ساعت پس از تیمار در هر گروه از میوه‌ات کنترل و دیابتی انجام شده است. میوه‌ات کنترل آب مقطر و میوه‌ات تیمری عصاره الکلی شاه‌توت را در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر ستون mean  $\pm$  S.D. را نشان می‌دهد.  $p < 0.001$ ;  $p < 0.05$  \* افتلاف سطح گلوکز سرم را در هر زمان با زمان صفر در هر یک از گروه‌ها نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۴ - اثر تیمار فوراکی عصاره الکلی برگ شاه‌توت بر سطح انسولین سرم در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین. انسولین سرم در ساعت‌های ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ با سطح گلوکز سرم در ساعت صفر (قبل از تیمار فوراکی) مقایسه شده است. میوه‌ات کنترل آب مقطر و میوه‌ات تیمری عصاره الکلی شاه‌توت را در غلظت ۰/۵ گرم بر کیلوگرم دریافت کرده‌اند. هر ستون mean  $\pm$  S.D. را نشان می‌دهد.

انسولین در حیواناتی که تیمار خوراکی عصاره را دریافت کرده‌اند، افزایش معنی‌داری را در ساعت سوم پس از تیمار عصاره (که گلوکز سرم در این زمان کاهش موثری یافته است) نشان نمی‌دهد و دلالت بر آن دارد که عصاره الکلی برگ شاه‌توت با

تیمار خوراکی عصاره الکلی برگ *Morus nigra* ۳ ساعت پس از تیمار، کاهش موثری را در غلظت گلوکز سرم حیوانات دیابتی شده ایجاد می‌نماید که این تاثیر در حیوانات سالم تیمار شده مشاهده نمی‌شود. از طرف دیگر سنجش هورمون



در نتیجه، این تحقیق دلالت بر آن دارد که تیمار خوراکی عصاره الکی برگ شاه‌توت دارای اثرات کاهش‌دهندهٔ گلوکز خون در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین است. این گیاه دارای پراکندگی وسیعی بوده و دسترسی اکثر مردم به آن نیز بسیار آسان می‌باشد. این پژوهش استفاده از این گیاه را پس از تکمیل آزمایش‌های کلینیکی کنترل شده برای اطمینان از عمل هیپوگلیسمیک و بی‌خطر بودن آن تایید می‌نماید.

### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم تهران و شرکت دارویی ایران‌داروک جهت تامین اعتبار تحقیق حاضر تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

اثر بر آزادسازی انسولین موجب کاهش گلوکز سرم نمی‌گردد و احتمالاً اثر آن از طریق مکانیسم ناشناختهٔ دیگری صورت می‌گیرد. استرپتوزوسین به‌طور انتخابی سلول‌های بتا جزایر پانکراس ترشح‌کنندهٔ انسولین را تخریب می‌نماید [۱۲]. گلوکز سرم حیواناتی که توسط استرپتوزوتوسین دیابتی شده و عصاره الکی شاه‌توت را دریافت کرده‌اند، به‌طور سریع کاهش می‌یابد. شایان ذکر است که تاکنون مطالعات دقیقی در این مورد انجام نشده است تا از این فرضیه حمایت نموده یا مکانیسم عمل ضد‌دیابتی گیاه شاه‌توت را مشخص کند. بنابراین، انجام تحقیقات بیشتر برای شناسایی اجزای فعال این بخش از گیاه و تعیین مکانیسم عمل آنها ضروری به‌نظر می‌رسد.

### منابع

1. Foster DW, Brawnwald E, Wilson J.D., Martin J.B., Fauci A.S., Kasper DL. Harrison's principles of internal Medicine, Diabetes mellitus In Isselbacher. McGraw Hill, USA, 1994; pp: 1979-81.
2. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations, Diabetes Care 20 (Suppl. 1). 1997; pp: S1-S70.
3. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Technical Report Series 646. Second report. World Health Organization, Geneva, 1980.
4. Oliver-Bever B, Zahnd GR. Plants with oral hypoglycaemic action. *Quarterly Journal of Crude Drug Res.* 1979; 17: 139-96.
5. زرگری علی، گیاهان دارویی. چاپ ششم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۷۵، جلد سوم، صفحات ۸-۹۷.
6. Kelkar SM, Bapat VA, Ganapati TR, Kaklij GS, Rao PS. Determination of hypoglycaemic activity in *Morus indica* (Mulberry) shoot cultures. *Curr Sci.* 1996; 71: 71-72.
7. Burman TK. Isolation and hypoglycaemic activity of glycoprotein Moran A from mulberry leaves. *Planta Med.* 1985; 71: 482-4.
8. Sastri BN. The wealth of India Raw materials. Council of Scientific and Industrial Research (CSIR). 1962; pp: 429-39.
9. Stone S. Methods for obtaining venous blood from the orbital sinus of the rat and mouse. *Sci.* 1954; 119: 100-110.
10. Baily CJ, Flatt PR. Antidiabetic drugs, new developments. *Indian Biotechnology.* 1986; 6: 139-42.
11. Andulla B, Suryakantham V, Strikanthi BL, Reddy GK. Effect of mulberry (*Morus indica* L.) therapy on plasma and erythrocyte membrane lipids in patients with type 2 diabetes. *Clinica Chimica Acta.* 2001; 314: 47-53.
12. Verspohl EJ. Recommended testing in diabetes research. *Planta Med.* 2002; 68: 581-90.