

بررسی فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و اتنوفارماکولوژی گیاه دارویی
Melilotus officinalis L. به عنوان ضد التهاب و التیام دهنده زخم دیابتی

آرش خاکی

دانشیار گروه پاتوبیولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۲

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اتنوفارماکولوژیکی، فیتوشیمیایی و ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی سرشاخه‌های گلدار گیاه دارویی شاه افسر (*Melilotus officinalis L.*) در یکی از رویشگاه‌های طبیعی در استان گلستان انجام گرفت. سرشاخه‌های گلدار گیاه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری و هم‌زمان مهمترین اطلاعات طب سنتی در مورد اثرات دارویی و نحوه مصرف از مردم محلی نیز اخذ گردید. عصاره اتانولی گیاه با استفاده از روش ماسراسیون (خیساندن)، میزان فنل و فلاونوئید کل به روش اسپکتروفوتومتری، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نیز با استفاده از روش‌های RP, TAC, DPPH اندازه‌گیری و نتایج در سطح $P < 0/5$ ارزیابی شد. نتایج نشان داد که مردم محلی از جوشانده سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر به همراه گیاهان دارویی دیگر: موره، درمنه و برازمل به عنوان ضد التهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس و رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرهم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی استفاده می‌کنند. نتایج فیتوشیمیایی نیز نشان داد که عصاره گیاه به دلیل پتانسیل بهینه در سنتز ترکیبات فنلی ($109/8 \pm 0/4$ mgQUE/g) و فلاونوئید کل ($82 \pm 0/2$ mgGAE/g) از بیشترین میزان عملکرد آنتی اکسیدانی مخصوصاً در روش DPPH با میزان $IC_{50} = 3/17 \pm 1/2$ mg/ml در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود. این یافته‌ها در تایید مصارف سنتی گیاه به عنوان ضد التهاب، آنتی اکسیدان، مرهم و ضد عفونی زخم‌ها قابل بحث است.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، اتنوفارماکولوژی، شاه افسر، فنل کل، فلاونوئید کل، استان گلستان.

مقدمه

از گذشته تاکنون گیاهان بومی، به دلیل امکان سنتز متابولیت‌های ثانویه (ترپنویدها، فنل‌ها و فلاونویدها) از اصلی‌ترین منابع غذایی و دارویی برای زندگی بشر بوده و هستند (قاسمی و همکاران، 2011). پلی‌فنول‌های گیاهی و فلاونویدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی و طبیعی از مهمترین عوامل محدودکننده آسیب‌های اکسیداتیوی در بدن محسوب می‌شوند که به‌وسیله غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد وقتی به لیپیدها و غذاهای حاوی لیپید اضافه می‌گردند، می‌توانند عمر مفید آنها را به وسیله به تاخیر انداختن فرآیند پراکسیداسیون لیپید افزایش دهند و با جلوگیری از تخریب مواد غذایی، نقش مهمی را در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های شایع امروزی که بیشتر مربوط به تغییر شیوه زندگی، افزایش سن و خصوصاً افزایش ارتباط به تشکیل گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر (ROS) و پراکسیداسیون لیپید مربوط است ایفا می‌کنند. به همین دلیل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مواد غذایی به عنوان مواد ضد سرطان مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (خاکی و همکاران، 2010).

گیاه دارویی اندارویی بومی به دلیل اینکه قادرند تحت استرس‌های محیطی مواد موثره دارویی بسازند، به‌عنوان قدرت سنتز مواد موثره در رویشگاه‌های طبیعی که علاوه بر سازگاری اکولوژیکی قادرند با سنتز مواد موثره ثانوی و فعال تحت استرس‌های محیطی در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر واقع شوند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع انسان و دام قرار گرفته‌اند (Kaneko et al., 2007) و از آنجایی که سرخ‌های کلیدی برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و بررسی خواص درمانی گیاهان دارویی بومی مبتنی بر نحوه استفاده سنتی از آن گیاهان است

(Mazandarani et al., 2011). از همین رو شناسایی، استخراج و تولید داروهای طبیعی و موثر، از عوامل مهمی هستند که طی چند سال اخیر، بسیار مورد توجه سازمان جهانی بهداشت (WHO) قرار گرفته است (Goleniowski, 2006).

گیاه شاه افسر (Melilot) با نام علمی *Melilotus officinalis* L. به معنای جذب کننده زنبور عسل، متعلق به تیره حبوبات (Fabaceae) گیاهی است علفی یکساله به طول 30-45 سانتی‌متر، که اغلب در هنگام گلدهی به 1.2 تا 1.8 نیز می‌رسد. با ساقه‌های باریک راست نرم و با انشعابات فراوان، برگ‌های سه برکچه‌ای متناوب و گل‌های زرد پروانه آسا در گل‌آذین خوشه‌ای معطر و میوه‌های نیام تک دانه‌ای که بومی نواحی بایر مدیترانه‌ای و علفزارهای آفتابگیر کنار جاده‌ای و در خاک‌های گچی، که در جذب زنبور عسل و حیوانات مخصوصاً اسب موثر است (Ghasemi et al., 2011). گلدهی در بهار و تابستان در خاک‌ها حاصلخیز مزارع، مقاوم به خشکی، در آمریکا، استرالیا، ایتالیا و بقیه کشورها و از جمله اینکه از گیاهان بومی و خودروی مزارع و علفزارهای آفتابگیر استان گلستان است که اغلب به‌صورت گونه مهاجم در حاشیه جاده‌ها، مزارع متروکه و سواحل شور پایین دست استان گلستان رویش دارد و مخصوصاً در فرهنگ سنتی مردم ترکمن منطقه از این گیاه به‌عنوان مقوی، مسکن، ضدالتهاب و ضدعفونی کننده قوی در التیام زخم‌های سوختگی و زخم پای دیابتی استفاده می‌شود.

لذا با توجه به اهمیت موضوع، پراکنش فراوان گیاه در منطقه و سپس سابقه دیرینه استفاده گیاه شاه افسر به‌عنوان مقوی ضدالتهاب و ضدعفونی کننده در درمان زخم پای بیماران دیابتی، این تحقیق با هدف فیتوشیمیایی، اتنوفارماکولوژی و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های گلدار گیاه در یکی از

رویشگاه‌های طبیعی آن در شهرستان گرگان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳ از یکی از علفزارهای آفتاب‌گیر و زمین‌های نیمه شور اطراف فرودگاه گرگان (ارتفاع ۱۵ متری از سطح دریا) جمع‌آوری، خشک و به‌منظور عملیات عصاره‌گیری در آزمایشگاه آماده گردید. همزمان با حضور در روستای محمدآباد و طی مصاحبه چهره به چهره با مردم محلی و مخصوصاً درمان‌گران محلی تلاش شد که اطلاعات سنتی در مورد اندام‌های مصرفی و عملکرد دارویی گیاه اخذ و ثبت گردد.

عصاره‌گیری (Arabshahi-Delouee et al., 2007): برای تهیه عصاره، مقدار 45 گرم از پودر خشک گیاه را در 300 میلی‌لیتر اتانول 80 درصد حل کرده و به مدت 24 ساعت با دور 250 تکان داده و بعد محلول را 3 بار صاف نموده و سپس با استفاده از دستگاه روتاری (پمپ در خلاء) خشک می‌کنیم.

تعیین مقدار فنل کل (Purmorad et al., 2006): برای ارزیابی فنل کل از معرف فولین سیکالتو استفاده شد. 0/1 میلی‌لیتر از عصاره با 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو و 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم (7/5 درصد) ترکیب و پس از نیم ساعت جذب هر یک از محلول‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتری (مدل UV; T90 + UV/Vis Sepctrophotometer double beam; pG Instruments Ltd) در طول موج 760 نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد بر حسب اسید گالیک با غلظت‌های مختلف ترسیم و مقدار فنل کل میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و بیان شد.

تعیین مقدار فلاونوئید کل (Chang et al., 2002): اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل بر اساس رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. به 0/5 میلی‌لیتر از عصاره

1/5 میلی‌لیتر متانول (درصد 80)، 0/1 میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم 1 درصد، 0/1 میلی‌لیتر استات پتاسیم و 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. پس از گذشت نیم ساعت جذب محلول‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 415 نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد نیز بر اساس غلظت‌های مختلف کوئرستین رسم شد و میزان فلاونوئید معادل میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و بیان شد.

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH¹ (Arabshahi-Delouee et al., 2007): 0/1 گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با 100 سی‌سی متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های 12/5، 25، 50، 100، 250، 500، 750، 1000 را آماده می‌کنیم و در داخل لوله آزمایش 3 سی‌سی از عصاره اندام‌های مختلف 12/5، 25، 50، 100، 250، 500، 750، 1000 ریخته به اضافه یک سی‌سی محلول DPPH هم زده دور لوله‌ها را با فویل می‌بندیم تا نور به آنها نخورد لوله‌ها را 30 دقیقه در تاریکی قرار داده و جذب را در 517 نانومتر می‌خوانیم.

$$R = (AD - As / AD) * 100$$

AD: جذب DPPH رقیق شده با متانول به نسبت 1:1

AS: جذب هر یک از نمونه‌ها در 517 نانومتر

R طبق فرمول محاسبه و نمودار مربوط به هر عصاره جداگانه براساس غلظت و R رسم گردیده و معادله خط نمودارها بدست آمد و IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن 50 درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط (محاسبه گردید).

روش RP (Reducing power): Arabshahi-Delouee و همکاران (2007) مقدار 0/1 گرم از

1. Absorbance of DPPH
2. Absorbance of sample
3. 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

ماری و رسیدن دمای آن به محیط جذب نمونه‌ها را در طول موج 695 نانو متر قرائت گردید. مراحل ساخت معرف TAC به شرح زیر می‌باشد: 16 سی‌سی اسیدسولفوریک 0/6 مولار را توسط آب مقطر به حجم 500 سی‌سی رسانده و توسط مگنت هم زده، در مرحله بعد 2/47 گرم آمونیوم مولیبدات و 5/2 گرم تری فسفات سدیم اضافه کرده، در این مرحله رنگ محلول زرد کم رنگ می‌باشد هم زدن را تا جایی ادامه می‌دهیم تا محلول کاملاً بی‌رنگ شود.

نتایج

نتایج نشان داد که مردم محلی از جوشانده سرشاخه‌های گلدار گیاه شاه افسر به همراه گیاهان دارویی دیگر مثل: موره، درمنه و برازمل به‌عنوان ضدالتهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس، هموروئید، رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرهم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی و اینکه از جوشانده دانه‌های این گیاه به‌عنوان قابض و ملین قوی در درمان نفخ و نارسایی‌های روده، بیوست و در تقویت سیستم گردش خون استفاده می‌شود. نتایج فیتوشیمیایی (جدول 1) نیز نشان داد که عصاره گیاه به‌دلیل پتانسیل بهینه در سنتز ترکیبات فنلی ($10.9/8 \pm 0.4$ mgQUE/g) و فلاونوئید کل (82 ± 0.2 mgGAE/g) از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی مخصوصاً در روش DPPH. با میزان $IC_{50} = 3.17 \pm 1.2$ mg/ml در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار بود. این یافته‌ها در تایید مصارف سنتی گیاه به‌عنوان ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، مسکن درد، مرهم و ضد عفونی زخم‌ها و رفع التهابات مفصلی قابل بحث است.

عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته، در بالن ژوژه 100 سی‌سی با متانول خالص به حجم می‌رسانیم و از آن غلظت‌های 100، 250، 500، 750 ppm را تهیه می‌کنیم. 1 سی‌سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را برداشته و در لوله‌های آزمایش مجزا ریخته، به هر کدام 2/5 سی‌سی بافر فسفات با PH:6.6 و 2/5 سی‌سی فروسیانید پتاسیم 0/01 مولار اضافه کرده، هم زده، درب لوله‌ها را بسته و به مدت 30 دقیقه در بن ماریا دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم سپس به هر کدام 2/5 سی‌سی تری کلرو استیک اسید 0/1 مولار اضافه کرده و پس از بستن مجدد درب لوله‌ها در سانتریفیوژ به مدت 10 دقیقه با دور 1700 قرار داده پس از آن 2/5 سی‌سی آب مقطر و 0/5 سی‌سی کلرید آهن III اضافه کرده و جذب آن در طول موج 700 نانو متر قرائت گردید.

بافر فسفات: 10 گرم دی سدیم هیدروژن فسفات را با آب مقطر به حجم 500 سی‌سی رسانده و 10 گرم تری سدیم هیدروژن فسفات به آن اضافه می‌کنیم. بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد. روش TAC (Total antioxidant capacity): Arabshahi-Delouee و همکاران (2007) مانند دو روش قبلی مقدار 0.1 گرم از عصاره را با متانول خالص به حجم 100 رسانده و از آن غلظت‌های 100، 250، 500، 750 ppm را تهیه می‌کنیم. 0/3 سی‌سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را در لوله‌های مجزا ریخته و به هر کدام 3 سی‌سی معرف TAC افزوده، درب لوله‌ها را با فویل بسته و به مدت یک ساعت و نیم در بن ماریا دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم، پس از برداشتن لوله‌ها از بن

جدول 1- ارزیابی میزان ترکیبات فنلی، فلاونویدی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه شاه افسر در روش‌های مختلف (RP, TAC, DPPH)

Phytochemical test	Gorgan region (15m)			
	فعالیت آنتی‌اکسیدانی		فنل تام	فلاونوید تام mgQUE/g
	IC50 in RP Mg/ml	IC50 in TAC Mg/ml		
	15.17±0.45	6.9±0.3	3.17±0.2	109.8±0.4

بحث

بناطبع از عملکردهای متفاوت بیولوژیکی نیز برخوردارند و علاوه بر پتانسیل سازش‌پذیری گیاه به استرس‌های اکولوژیکی (مخصوصاً پتانسیل دفاعی گیاه علیه علفخوار و پاتوژن‌ها)، ایجاد رنگ و طعم در گیاهان، جلب عوامل گرده‌افشان و پراکنش میوه، دارای اثرات مختلف دارویی بوده و از دیرباز در پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر بوده‌اند (Mazandarani *et al.*, 2010). اخیراً گزارش شده که اسیدهای فنلی موجود در میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی، نقش محافظتی بالقوه‌ای را در مقابل بیماری‌های تحت تاثیر تنش اکسیداتیو دارند (Zarghami *et al.*, 2011). در تایید موارد فوق نیز نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که کثرت میزان ترکیبات فنل و فلاونویدهای بالای عصاره گیاه نقش مهمی در عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن داشته است.

همسو با یافته‌های این تحقیق، ارزیابی نتایج دیگران نیز حاکی از آن است که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اغلب گیاهان دارویی اساساً به ترکیب‌های فنلی و فلاونویدی آن گیاهان مربوط است (Zarghami *et al.*, 2011) و در گونه‌های گیاهی مختلفی همبستگی بین مقدار ترکیب‌های فنلی (اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها) و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است. به‌عنوان مثال در گیاه هوا چوبه (*Onosma dichroanthum*) (Zarghami *et al.*, 2011a)، گیاه مور و گزنه (Mazandarani *et al.*, 2011b; Mehri *et al.*, 2012b)، رزماری، مریم‌گلی،

درحال حاضر مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی علی‌رغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، به‌دلیل بروز عوارض جانبی از جمله امکان سرطان‌زایی و همچنین تمایل روز افزون مردم جهت پرهیز از مصرف، رو به کاهش گزارده است (Huda *et al.*, 2009) و از آنجایی که تولید بالای گونه‌های اکسیژن‌واکنش‌دهنده، موجب بروز استرس‌های اکسیداتیو و وقایع پاتولوژیکی نظیر سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و آلزایمر می‌شوند، پس شناسایی راه‌های موثر حذف ROS رادیکال‌ها و استرس‌های بیولوژیکی، از طریق غذاها و داروهای آنتی‌اکسیدان بسیار ضروری است (Kanazawa *et al.*, 2009) و شواهد اپیدمی و لوژی حاکی از آن است که بین مصرف غذایی حاوی فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان و ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، دیابت و... ارتباط معکوس وجود دارد، و مشخصاً اینکه از گذشته‌های دور، گیاهان دارویی بومی در پیشگیری و درمان بیماری‌های گوناگون بکار برده شده‌اند و تحقیقات مختلف فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن گیاهان را عمدتاً به‌حضور ترکیبات ثانوی دارویی نسبت داده است (Cai *et al.*, 2004; Banfi *et al.*, 2011; 2008; Nabavi *et al.*, Ghasemi *et al.*, 2010).

ترکیب‌های ثانوی فنلی و فلاونویدی در اکثر اندام‌های گیاهان دارویی، مخصوصاً گیاهان بومی وجود دارند ولی ماهیت و غلظت آنها متفاوت بوده و

ضد عفونی کننده است که توجیه کننده نتایج این تحقیق به عنوان اثر ضد التهابی گیاه در تقویت جداره مویرگها در درمان واریس، التهاب و عفونت پای دیابتی قابل بحث است (Abdollahi *et al.*, 2008.) ترکیبات فلاونوئیدی و کومارین‌های عصاره گیاه شاه افسر به عنوان آنتی‌اکسیدان از تولید و عملکرد استرس‌های اکسیداتیو (NO) جلوگیری کرده و بنابراین می‌تواند در کاهش عوارض ناشی از دیابت مثل التهابات پوستی (Larijani *et al.*, 2008; Leidig *et al.*, 2001)؛ پوکی استخوان (Hemmat abadi *et al.*, 2010)؛ پیشگیری و درمان زخم پای دیابتیک (ALTINDAG *et al.*, 2009; Banfi *et al.*, 2008;) (Hammada *et al.*, 2008) و درمان نوروپاتی دیابتی (Unger *et al.*, 2007) و تحریک تولید سلول‌های استخوانساز و در نهایت درمان پوکی استخوان موثر است (لاریجانی و همکاران 2008; Kanazanwa *et al.*, 2009) (Sheweita *et al.*, 2007).

در مدل حیوانی نیز مشخص گردید که فراورده ترکیبی از عصاره گیاه شاه افسر با عصاره گزنه به دلیل کثرت اسیدهای فنلی، فلاونوئیدی، ویتانین K، کومارین، دی کومارین، آنتراکوئینون، کومارین‌های اسکولین و اسکولتین به عنوان ضد التهاب قوی و محرک سیستم گردش خون و ایمنی می‌تواند در فرایند پیشگیری و درمان دیابت نوع 2 و سرطان کولون در مدل موش موثر باشد (Mehri *et al.*, 2011;) (Farzamfar *et al.*, 2008; Leilei *et al.*, 2011; Kaneko *et al.*, 2007; Hasani ranjbar *et al.*, 2012).

نتایج یافته‌های دیگران نیز نشان داده که استعمال خارجی عصاره گیاه به عنوان مسکن و ضد التهاب و ضد تورم در درمان التهابات مفصلی، دردهای روماتیسمی، ورم مفاصل، واریس، هموروئید، رفع التهابات سرطانی، زخم و سوختگی موثر است

آویشن (Mahboubi *et al.*, 2012)، باریجه و پونه (Nabavi *et al.*, 2012)، به دلیل بالا بودن ترکیب‌های پلی فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در مهار رادیکال آزاد DPPH نشان دادند و در آن رابطه نیز تحقیقات نشان داده که ترکیب‌های فلاونوئیدی و ترپنی خواص درمانی، ضدباکتریایی، ضد قارچی، ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد آلرژی، ضد اسپاسم، آنتی‌اکسیدانی، تب بر و نیز آرام‌بخش دارند (Zarghami *et al.*, 2012). گزارش شده که مواد موثره ثانوی (ترپنی، فنلها و فلاونوئیدها) موجود در اسانس و عصاره گیاهان دارویی بومی از جمله گیاه شاه افسراز مهم‌ترین فراورده‌های ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد انگلی، ضد دردی و آنتی‌اکسیدانی معرفی شده اند که این موضوع همسو با نتایج این تحقیق در تایید و مستندسازی علمی مصارف سنتی این گیاه بسیار قابل توجه و بحث است (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010; Mazandarani *et al.*, 2011; Heshmatabadi *et al.*, 2010; Ebrahimi *et al.*, 2012).

همسو با یافته‌های اتنوفارماکولوژی این تحقیق، در طب سنتی اغلب کشورها از گیاه شاه افسر برای رفع التهابات پوست و مو، مسکن (سردرد، سنگینی سر و چشم، سردی دست و پا، خون دماغ، آفروختگی صورت، رفع تهوع و میگرنی استفاده می‌شود و اینکه در مدل‌های *invivo* و *invitro* بیشتر علت آنرا به توانایی گیاه در سنتز ترکیب‌های پلی فنلی، کومارینی، دی کومارول، هیدروکوماریک اسید (melilotic)، اورتوکوماریک اسید، ملیلویتیک انهیدرید و لاکتون‌های گیاه نسبت داده‌اند (Forouzandae *et al.*, 2005;) (Farzamfar *et al.*, 2008; Kanazawa *et al.*, 2009).

گزارش شده که عصاره گیاه شاه افسر دارای ترکیبات کومارینی، فلاونوئیدهای (کامفرول، کوئرستین)، ساپونین‌های تری ترپنی و ترپنوئیدهای آنتی‌اکسیدان اسانس آن نیز دارای اثر ضد التهابی و

می‌کنند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که این گیاه و فراورده‌های مستخرج دارویی از آن می‌تواند به‌عنوان یک سرنخ کلیدی در دستور کار انجام تحقیقات تکمیلی آزمایشگاهی و مدل‌های حیوانی و بالینی قرار گیرد تا بتوان به داروی موثر و کم‌خطر در پیشگیری و درمان عوارض ناشی از بیماری دیابت دست یافت، و در ضمن استانداردسازی روش‌های استخراج و با فرمولاسیون ترکیبات دارویی بتوان به داروهای گیاهی با کمترین عوارض جانبی در پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع در منطقه پرداخت، لذا پیشنهاد می‌گردد مطالعات تکمیلی بیشتر بر روی ترکیبات پلی فنلی این گیاه به صورت تجربی-بالینی در حیوانات آزمایشگاهی و انسان صورت بگیرد تا فرمولی جدید و نو ترکیب در درمان آسیب‌های عروقی ناشی از دیابت ابداع گردد.

منابع

1. Abdollahi M., Farzamfar B., Salari P., Khorram Khorshid, H.R., Larijani, B., Farhadi, M., and Madani, S.H. 2008. Evaluation of acute and sub-chronic toxicity of semelil (ANGIPARSTM), a new phytotherapeutic drug for wound healing in rodents. *DARU*, 16(1):7-14.
 2. Altindag, O., Erel, O., Soran, N., Celik, H., and Selek, S. 2008. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. *Rheumatol Int.*, 28:317-321.
 3. Arabshahi-Delouee, S., and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem.*, 102(4):1233-1240.
 4. Bahrami, A., Kamali, K., Ali-Asgharzadeh, A., Hosseini, P., Heshmat R., Khorram Khorram H.R., Gharibdoust, F., Madani, S.H., and Larijani, B. 2008. Clinical application of oral form of ANGIPARSTM and in combination with topical form as a new treatment for diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *DARU*. 16:41-48.
 5. Banfi, G., Lorio, E., Corsi, M. 2008. Oxidative stress, free radicals and bone remodeling. *Clin Chem Lab Med.*, 46(11):1550-1555.
- Hasani ranjbar *et al.*, 2012; Farzamifar *et al.*,) (2008).
- نوروپاتی دیابتیک یکی از معمولترین نارسایی‌های دیابتی است که 25-50 درصد بیماران دیابتی به آن مبتلا هستند و گزارش‌های علمی حاکی از آن است که فلاونوئیدهای کومارین و هیدروکسی کومارین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی در درمان diabetic peripheral neuropathy مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bakhshayeshi *et al.*, Foruzandaeh *et al.*, 2005) (2011).
- در تحقیقی که توسط بخشایشی و همکاران 2011 روی 49 بیمار دیابتی نوع 2 انجام گرفت نشان دادند که داروی آنژی پارس مستخرج از گیاه شاه افسر بسیار موثر در درمان زخم و التهابات پوستی است (Masoompur *et al.*, 2008; Ebrahimi *et al.*,) (2009)، یعنی اینکه ترکیبات کومارین و فلاونوئیدهای موجود در عصاره گیاه شاه افسر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی در کاهش استرس‌های اکسیداتیو موثر است (Hemmat abadi *et* و Molina *et al.*, 2005) (al., 2010).

نتیجه‌گیری نهایی

همانطور که در این تحقیق به تفصیل در مورد اطلاعات فیتوشیمیایی، اتنوفارماکولوژی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه بحث شد، نشان داد که گیاه دارویی شاه افسر یکی از گونه‌های ارزشمند دارویی در استان گلستان است که اغلب در علفزارهای طبیعی و آفتابگیر استان گلستان از پراکنش بهینه‌ای برخوردار است و از گذشته‌های دور به‌عنوان به‌عنوان ضدالتهاب قوی و مسکن در تقویت جداره مویرگ‌ها، درمان واریس و رفع التهاب و تسکین دردهای مفصلی، ورم مفاصل، مرحم زخم و تاول سوختگی و عفونت زخم پای بیماران دیابتی استفاده

- Larijani, B. 2012. The effect of seemly (angipars W) on bone resumption and bone formation markers in type 2 diabetic patients. DARU. Journal of Pharmaceutical Sciences.
19. Hemmatabadi, M., Abdollahi, M., Bakhshayeshi, S., Heshmat, R., Baeeri, M., Azimaraghi, O., Larijani B. 2010. Benefits of angipars on oxidant-antioxidant balance in diabetic patients; a randomized, double-blind placebo controlled clinical trial. DARU, 17(1):50-55.
 20. Huda-Faujan, N., Norriham, A., Norrakiah, A.S., and Babji A.S. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. Afr. J. Biotechnol., 8: 484-489.
 21. Jamshidi, M., Ahmadiashtiani, H., Rezazadeh, Sh., Fathizad, F., Mazandarani, M., and Khaki, A. 2010. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. J. Med. Plants, 9:177-183.
 22. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A., Maleki, N.A., Khamnei, H.J., and Ahmadi, P. 2010. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. Phytother Res., 24(9):1285-91.
 23. Kaneko, T., Tahara, S., and Takabayashi, F. 2007. Inhibitory effect of natural coumarin compounds, esculetin and esculin, on oxidative DNA damage and formation of aberrant crypt foci and tumors induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rat colons. Biol. Pharm Bull, 30(11): 2052-2057.
 24. Kanazawa I, Yamaguchi T, Masahiro Y, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T, 2009. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in Type 2 diabetes mellitus. J. Clin Endocrinol. Metab, 94(1):45-49.
 25. Larijani, B., Heshmat, R., Bahrami, A., Delshad, H., Ranjbar Omrani, G., Mohammad, K., Heidarpour, R., Mohajeri Tehrani, M.R., Kamali, K., Farhadi, M., Gharibdoust, F., and Madani, S.H. 2008. Effects of intravenous semelil (ANGIPARSTM) on diabetic foot ulcers healing: a multicenter clinical trial. DARU. 6(1):35-40.
 26. Larijani, B., and Hasani Ranjbar, S. 2008. Overview of diabetic foot; novel treatments in diabetic foot ulcer. DARU, 16 (supplement 1):1-6.
 27. Leilei B, Luping Q, Lei L, Yanbin W, Ting H, Liming X, Qiaoyan Z, 6. Bakhshayeshi, S., Madani, S.P., Hemmatabadi, R., Heshmat, M., and Larijani1, B. 2011. Effects of Semelil (ANGIPARSTM) on diabetic peripheral neuropathy: A randomized, double-blind Placebo-controlled clinical trial. Daru J. of pharmaceutical Science. 19(1): 65-70.
 7. Brandi, M.L. 2010. Bone health and diabetes, Medicographia, 32:364-369.
 8. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences, 74: 2157-2184.
 9. Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analysis, 10: 178-182.
 11. Ebrahimi, M., Bakhshayeshi, S., Heshmat, R., Shahbazi, S., Aala, M., Peimani, M., Khushechin, G., Mohajeri Tehrani, M.R., Shojaeefard, A., Kamali, K., Azimaraghi, O., Larijani, B. 2009. Post marketing surveillance on safety and effectiveness of ANGIPARSTM in treatment of diabetic foot ulcers. DARU. 17:45-49.
 12. Farzamfar, B., Minaie, B., Mobtaker, M., Salari, P., Khorasani, R., and Abdollahi, M. 2008. Effect of electromagnetic form of *Melilotus officinalis* extract on dermal wound healing in diabetic mice. Pharmacology online, 2:246-254.
 13. Forouzandeh F., Aziz Ahari A., Abolhasani F., and Larijani B. 2005. Comparison of different screening tests for detecting diabetic foot neuropathy. Acta Neurol Scand. 112: 409-413.
 14. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, M., Nabavi, F., Ebrahimzadeh, A., and Pourmand, F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Medicinal plant, 1138-1133.
 15. Goleniowski, M.E., Bongiovanni, G.A., Palacio, L., Nunez, C.O. and Cantero, J.J. 2006. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. Journal of Ethnopharmacology. 107:324-341.
 16. Hamada, Y., Fujii, H., and Fukagawa, M. 2009. Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. *Bone*, 45: 35-38.
 17. Hasani-Ranjbar, S., Larijani, B., and Abdollahi, M. 2008. A systematic review of Iranian medicinal plants useful in diabetes mellitus. Arch Med. Sci., 4(3):285-292.
 18. Hasani-Ranjbar, S.H., Jouyandeh, Z., Qorbani, M., Hemmatabadi, M., and

- acetylcysteine. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 15(209):214-225.
36. Mozafarian, V. 1996. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers, Tehran, 750p. (In Persian).
37. Pasco, J.A., Nicholson, G.C., Ng, F., Henry, M.J., and Williams, L.J., *et al.* 2008. Oxidative stress may be a common mechanism linking major depression and osteoporosis. *Acta Neuropsychiatr.*, 20:112-116.
38. Pourmorad, F., Hosseini Mehr, S.J., and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
39. Rechinger, K.H. 1982. *Flora Iranica*. Akademische Druck-u. verlagsanstalt, Graz, Austria, Vol. 150.
40. Sheweita S.A., and Khoshhal K.I. 2007. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Curr Drug Metab.*, 8(5):519-525.
41. Unger, J., and Cole, B.E. 2007. Recognition and management of diabetic neuropathy. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 34:887-913.
42. WHO report, 2003. *Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing* Geneva, Switzerland, (WHO/CDS/TB/2003.316).
43. Zarghami Moghaddam, P., Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., Mazandarani, M., Mansourian, A.R., and Taheri S.A. 2011. Negative performance of root extract of *Onosma dichroanthum* Boiss. on the burn wound healing in an animal model. *Arch. Clin. Microbiol.*, 2(5):3823/238.
44. Zarghami Moghaddam, P., Mazandarani, M., Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012. Anti-bacterial and antioxidant activity in root extract of *Onosma dichroanthum* Boiss. in North of Iran. *African Journal of Microbiology research*. 6(8):1776-1781.
45. Ziegler D. 2008. Treatment of diabetic neuropathy and neuropathic pain. How far have we come? *Diabetes care*. 31: 255-261.
2011. Anthraquinone compounds from *Morinda officinalis* inhibits osteoclastic bone resorption in vitro. *Chem. Biol. Interact.*, 194:97-105.
28. Leidig-Bruckner, G., and Zeigler, R. 2001. Diabetes mellitus a risk factor for osteoporosis? *Exp. Clin Endocrinol Diabetes*, 109 (suppl. 2): s493-s514.
29. Luminita, P-M., Alina Elena, P., Pârvu, M., Taamas, M., Buia, R., and Puia M. 2002. Effects of melilotus officinalis on acute inflammation. *Phytother Res.*, 16:316-319.
30. Mehri A., Hasani Ranjbar S., Larijani, B., and Abdollahi, M. 2011. A systematic review of efficacy and safety of *Urtica dioica* in the treatment of diabetes. *Int. J. Pharmacol.*, 7(2):161-170.
31. Mazandarani, M., Makri, S., and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech. F. in Golestan province, North of Iran *Iranian J. plant physiology*. 2(2):381-388.
32. Mahboubi, M., Bokae, S., Dehdashti, H., and Feizabadi, M.M. 2012. Antimicrobial activity of *Mentha piperitae*, *Zhumeria majdae*, *Ziziphora tenuior* oils on ESBLs producing isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Biharean Biologist*. 6(1): 5-9.
33. Mazandarani, Zarghami Moghaddam, Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012a. Effect of solvent type on TP and TF content and antioxidant activity in *Onosma dichroanthum* Boiss. in Golestan province, North of Iran. *Journal of Medicinal plant research*, 6(28): 4481-4488.
34. Masoompour, S.M., Bagheri, M.H., Borhani Haghighi, A., Novitsky, Y.A., Sadeghi, B., Gharibdoust, F., Larijani, B., and Ranjbar Omrani, G. 2008. Effect of ANGIPARS™, a new herbal drug on diabetic foot ulcer: A phase 2 clinical study. *DARU*, 16:31-34.
35. Molina-Jiménez M.F., Sánchez-Reus M.I., Cascales M., Andrés D., and Benedí J. 2005. Effect of fraxetin on antioxidant defense and stress proteins in human neuroblastoma cell model of rotenone neurotoxicity. Comparative study with myricetin and N-