مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره چهاردهم، شمارهٔ ۱، دی ۱۳۹۰، صفحه ۲۴-۱۹

اثر عصاره الکلی پوست نارنج بر میزان آنتی اکسیدان توتال، انسولین سرم و هیپرگلیسمی ناشی از آلوکسان در موش سفید آزمایشگاهی

مصطفی لکزائی(MSc)[۱]، مهدی پورامیر(PhD)[۲*]، علی اکبر مقدم نیا(PhD)[۳]، حامد میر(MSc)[۴]

۱- گروه علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند
۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی و گروه بیوشیمی - بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- گروه فارماکولوژی و فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴- دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۰/۱/۲۸، اصلاح: ۹۰/۴/۸، پذیرش: ۹۰/۶/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: نارنج به عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی شناخته می شود. اثر محافظتی برخی میوه های خانواده مرکبات در برابر خطر ابتلا به بعضی از بیماری های مزمن از جمله دیابت نشان داه شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و همچنین اثرات ضد افزایش قند خون عصاره الکلی پوست داخلی نارنج (مزوکارپ) در رت های هیپرگلیسمی شده بوسیله آلوکسان می باشد.

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۱۲۰ سر رت نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۵۰ گرم که به ۶ گروه ۲۰ تایی و دو زیر گروه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعته تقسیم شدند، انجام گردید. برای این کار ابتدا عصاره اتانولی پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج تهیه گردید و رت ها به مدت ۴ روز و در دو دوز متفاوت (۳۰۰mg/kg و۱۰۰) با این عصاره پیش درمانی شدند. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق آلوکسان به صورت تک دوز (۱۰۰mg/kg) و بصورت داخل صفاقی صورت گرفت. پس از ۲۴و ۴۸ ساعت از رتها خونگیری و سرم آنها جدا شد، سطح آنتی‌اکسیدانهای سرم با روش FRAP، سطح انسولین سرم با روش ELISA و غلظت گلوکز با استفاده از کیت گلوکز اندازه‌گیری و گروههای مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته ها: آنتی اکسیدان توتال ۲۴ ساعت پس از تزریق آلوکسان در گروهی که آلوکسان+ عصاره (۳۰۰mg/kg) دریافت کرده بود نسبت به گروه آلوکسان افزایش معنی داری داشت (p=۰/۰۰۰). شاخص گلوکز ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان در گروهی که آلوکسان+ عصاره(۳۰۰mg/kg) دریافت کرده بود نسبت به گروه آلوکسان افزایش معنی داری داشت (p=۰/۰۰۱). انسولین نیز در هر دو گروه ۲۴ و ۴۸ ساعته و در هر دو دوز ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن کاهش معنی داری نسبت به گروهی که فقط آلوکسان مصرف کرده بودند نشان داد (p<۰/۰۳).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره پوست نارنج با وجود افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم نه تنها سبب کاهش قند خون در رت های دیابتی نشد بلکه قند خون را در این حیوانات افزایش داده و سبب کاهش سطح انسولین نیز گردید.

واژه های کلیدی: نارنج، آلوکسان، انسولین، هیپرگلیسمی، آنتی اکسیدان.

مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیک مزمن است که مشکل اساسی در جهان به شمار می آید. این بیماری با کاهش مطلق یا نسبی ترشح و یا کاهش اثر انسولین، افزایش قند خون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین همراه است. دیابت و عوارض حاصل از آن باعث صرف هزینه ها و از طرف دیگر باعث از کار افتادن نیروهای انسانی می شود. مصرف گیاهان دارویی برای درمان دیابت به خصوص زمانی که داروهای رایج قادر به کنترل بیماری نیستند و بیمار نیاز به تجویز انسولین دارد، چشمگیر می باشد. (۱). یکی از مواردی که در دیابت تیپ یک و دو می تواند سبب عوارضی مثل بیماریهای قلبی، عروقی، عوارض عصبی، عوارض کلیوی و رتینوپاتی شود افزایش گونه های واکنشگر اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) می باشد که در نتیجه عدم توازن بین رادیکالهای آزاد اکسیژن و سدهای آنتی اکسیدانی بوجود می آید. این مواد شامل رادیکال های آزادی مثل سوپر اکسید، پروکسیل و هیدروکسیل می باشند که سبب صدمه زدن به سلول و عوارض حاصل از آن می شوند (۲). آنتی اکسیدانها با به دام انداختن این مواد و غیر فعال کردن آنها می توانند از این

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۶۷۱۵۴ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.
* مسئول مقاله:
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه بیوشیمی و بیوفیزیک، تلفن: ۵-۲۱۹۹۵۹۱-۰۱۱۱
e-mail: pouramir@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]

عوارض جلوگیری کنند. آنتی اکسیدانها به طریق آنزیمی و یا غیر آنزیمی می توانند رادیکالهای آزاد را از بین ببرند. آنزیمها شامل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و غیره می باشند و مواد غیر آنزیمی شامل ویتامینهای A،C، E و بعضی مواد دیگر موجود در گیاهان می باشد (۳). برای جلوگیری از دیابت و عوارض حاصل ازآن راههای مختلفی وجود دارد که یکی از این راهها استفاده از گیاهان دارویی می باشد. ۸۱ درصد از ۲۹۵ گیاهی که بصورت سنتی در درمان دیابت استفاده می شوند توانایی پایین آوردن قند خون را دارند. با توجه به عوارض کمتر و در دسترس بودن این گیاهان به نظر می رسد استفاده از آنها برای درمان و کنترل دیابت مفید باشد (۶-۴و۱).

نارنج با نام علمی Citrus Aurantium با نام های پرتقال ترش(Sour Orange) و یا پرتقال تلخ (Bitter Orange) نیز شناخته می شود. قسمت مورد استفاده درخت نارنج، برگ، گل، میوه و پوست خارجی آن می باشد. پوست نارنج دارای موسیلاژ و سه گلیکوزید به نام های هسپریدین یا هسپریدوزید، ایزوهسپریدین و اورانتیامارین و رزین است. اسانس پوست نارنج بوی مطبوعی دارد. این محصول جانبی در طب سنتی دارای اثرات متعددی نظیر کم کننده ترشحات معده، ضد خونریزی و صفرا بر می باشد (۷). تحقیقات نشان می دهد که میوه نارنج یک آمین آدرنرژیک (Synephrine) دارد که این آمین سبب کاهش وزن در افراد چاق می شود (۸). همچنین میوه این گیاه دارای اثر خلط آور است و برای درمان آکنه در طب سنتی چین استفاده می شود (۱۰و۹).

Satoh و همکاران با تحقیق بر روی سلول های سرطانی ثابت کردند که عصاره این میوه سبب کاهش رشد این سلول ها می شود (۱۱). نارنج علاوه بر دارا بودن موادی مانند نئوهسپریدین، نئواریوسیترین و هسپریدین مانند سایر مرکبات دارای نارنجین نیز می باشد و همچنین قسمت های مختلف آن حاوی آنتی اکسیدان های مختلف است. در تحقیق Bocco و همکاران که میزان تام ترکیبات فنولی شامل اسید کافئیک (caffeic acid)، کوماریک اسید (q-coumaric acid)، فرولیک اسید (ferulic acid) و اسید سیناپینیک (sinapinic acid) موجود در پوست نارنج را اندازه گیری کردند، مشخص شد پوست نارنج در هر گرم ماده خشک شده ۲/۹۵۶ میلی گرم ترکیبات فنولی دارد (۱۲).

Ravanshad و همکاران که اثر آب نارنج را در افراد دیابتی بر میزان قند خون بررسی نمودند، مشخص شد که این ماده سبب کاهش قند خون می شود (۱۰). اثرات آنتی اکسیدانی و اثرات ضد پراکسیداسیون لیپیدی پوست داخلی نارنج (مزوکارپ) توسط Goli و همکاران اثبات گردید (۱۳). در صنایع غذایی و مصارف خانگی پوست نارنج به عنوان یک محصول زاید دور ریخته می شود و مقدار زیادی محصول فرعی تولید می شود که باید به عنوان زباله دفن شود. این ماده شامل سطح بالایی از ترکیبات فنولی است که برای محیط زیست مضر می باشند. با این وجود اثرات مثبت آن بر سلامتی انسان و خاصیت آنتی اکسیدانی آنها ثابت شده است (۱۴). با توجه به این که گیاهان منابع غنی از آنتی اکسیدان می باشند و با توجه به تاکید بر استفاده از منابع گیاهی در پیشگیری و درمان دیابت و این مسئله که استان مازندران دارای منابع غنی گیاهی می باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر پیش درمانی عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج بر میزان آنتی اکسیدان توتال، انسولین سرم و هیپرگلیسمی ناشی از آلوکسان در Rat می باشد.

مواد و روشها

این مطالعه از نوع تجربی می باشد.

حیوانات آزمایشگاهی: موش سفید بزرگ آزمایشگاهی (رت) بالغ نر از نژاد wistar و با وزنی در حدود ۲۰۰-۱۵۰ گرم از حیوان خانه انستیتو پاستور تهران خریداری شد. تمام حیوانات در قفس های مخصوص و در حیوانخانه نگهداری شدند. حیوانات به مدت ۲ هفته و جهت تطابق با شرایط محیطی در حیوان خانه نگهداری شده و در این مدت از خوراک مخصوص رت و آب شهری تغذیه نمودند. تقسیم بندی گروهها براساس عصاره پوست نارنج و گروههای کنترل انجام پذیرفت. در مجموع ۶ گروه ۲۰ تایی و هر گروه به ۲ زیر گروه ۲۴و ۴۸ ساعته که هر کدام شامل ۱۰سر رت بودند، بطور تصادفی تقسیم شدند.

گروه ۱، فقط آلوکسان (۱۰۰mg/kg) دریافت کرد. گروه ۲ گروه شاهد بود که فقط آب مصرف کرد (۱/۵ سی سی)، گروه ۳، فقط عصاره (۱۰۰mg/kg)، گروه ۴، فقط عصاره (۳۰۰mg/kg)، گروه ۵ عصاره (۱۰۰mg/kg) به همراه آلوکسان (۱۰۰mg/kg)، گروه ۶ عصاره (۳۰۰mg/kg) به همراه آلوکسان (۱۰۰mg/kg) دریافت کرد.

رت ها سه روز پیش از تزریق آلوکسان و روزانه یکبار با مقادیر ذکر شده عصاره که در آب مقطر به حجم نهایی ۱/۵ سی سی حل شده بود پیش درمانی شده و چهارمین تجویز یک ساعت قبل از تزریق آلوکسان انجام شد. رت ها در گروه شاهد نیز ۱/۵ سی سی آب مقطر دریافت نمودند. روش تجویز آب مقطر و نمونه ها، روش tube feeding یا غذا دادن با لوله بود که به صورت تک دوز و روزانه با استفاده از سرنگ و لوله های مناسب حجم مورد نظر از عصاره خورانده شد. آلوکسان به صورت تک دوز و به صورت داخل صفاقی تزریق شد. به ترتیب ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان، از رت ها با بریدن سر خونگیری به عمل آمد، سرم آنها جدا شده و در ۷۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد.

عصاره گیری: نارنج از باغ های منطقه واجارگاه (رودسر) تهیه شد. ۴۰ گرم پودر پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج، در ۳۲۰ میلی لیتر اتانول (Merck آلمان) ۷۲ درصد مخلوط گردید و به مدت ۳ ساعت در بن ماری با دمای ۸۰ °C قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل در لوله های آزمایش ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. مایع رویی با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده و تفاله باقیمانده تحت شرایط ذکر شده مجدداً عصاره گیری شد. در مرحله بعد محلول های به دست آمده (حاصل از فیلتراسیون) با هم مخلوط شد و با استفاده از دستگاه rotary ovaporator (IKA-Werk) تغلیظ شد. ماده تغلیظ شده، در زیر هود و در دمای اتاق خشک گردید و سپس تا زمان مصرف در فریزر با دمای ۷۰- C° نگهداری شد.

آنالیزهای بیوشیمیایی: اندازه گیری گلوکز سرم

در این مطالعه تشخیص کمی گلوکز در سرم با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون انجام پذیرفت. در این بررسی از روش آنزیمی، کالریمتری (GOD-PAP) برای اندازه گیری تک نقطه ای با روش فتومتری استفاده شد. رنگ ایجاد شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenwey) و در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه گیری شده و در مقایسه با جذب نوری و غلظت استاندارد مقادیر گلوکز نمونه ها بدست آمد. تمام نمونه ها و استانداردها دوبار مورد آزمایش قرار گرفتند و میانگین این دو اندازه گیری در آنالیز داده ها مورد استفاده قرار گرفت.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]

اندازه گیری سطح آنتی اکسیدانهای توتال: این روش اولین بار توسط Benzie و Strain مورد استفاده قرار گرفت (۱۵). ۱/۵ml معرف آماده کار FRAP (شامل بافر استات، معرف TPTZ و محلول کلرور فریک به نسبت به ترتیب ۱:۱:۱۰) به تمام لوله های آزمایش اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر از نمونه و یا استانداردهای مختلف به لوله های مربوطه اضافه و به خوبی مخلوط گشته و مجدداً ۱۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد پس از طی این زمان شدت رنگ در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل بلانک (۱/۵ml محلول Frap و ۵۰ میکرولیتر آب مقطر) با دستگاه اسپکتروفتومتر مارک Jenway اندازه گیری شد. مقادیر جذب نوری بدست آمده با استفاده از منحنی استاندارد- که با کمک محلول سولفات آهن در غلظتهای µM ۱۰۰۰-۵۰۰-۲۵۰-۱۲۵ بعنوان استاندارد رسم شد - تبدیل به غلظت گردید. قابل ذکر است که تمام نمونه ها و استانداردها بصورت سه بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند و میانگین این سه اندازه گیری در آنالیز داده ها استفاده شد.

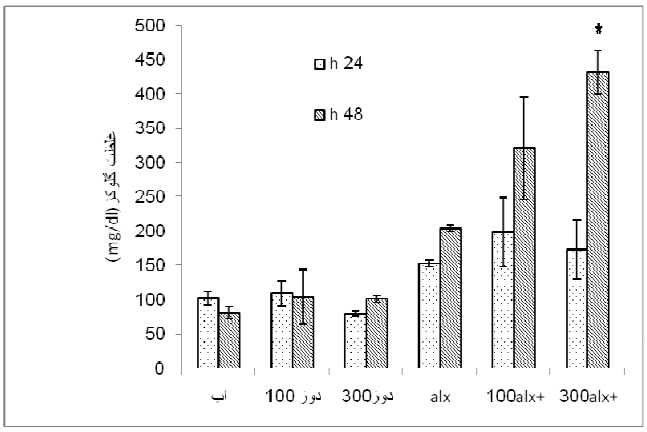
اندازه گیری انسولین سرم: سطح انسولین سرم با کیت فوق حساس Enzyme- linked immunosorbant assay (ultra sensetive ELISA) شرکت Mercodia (کشور سوئد) اندازه گیری شد. کیت الایزا انسولین Rat بر اساس تکنیک ساندویچ الایزا بود که دو آنتی بادی منوکلونال بر علیه بخش‌های آنتی ژنیک جداگانه در ملکول انسولین Rat می‌باشند. در طول انکوباسیون، انسولین موجود در سرم با آنتی‌بادی‌های آنتی‌انسولین کونژوگه شده با پراکسیداز و آنتی‌بادیهای ضد انسولین موجود در سطح چاهک های الایزا واکنش می‌دهد. میزان کونژوگه باند شده بوسیله واکنش با ۳، ۳′، ۵ و ۵′ تترامتیل بنزیدین (TMB) مورد شناسایی قرار گرفت. واکنش با اضافه کردن اسید متوقف شد تا نقطه پایانی رنگی مشخص گردد که توسط روش اسپکتروفتومتریک با دستگاه ELISA Reader. (AWARENESS مدل Stat – fax – 2100) مقادیر حاصله خوانده شد.

داده ها با استفاده از آزمون ANOVA (Post Hoc Tukey) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج به صورت Mean±SEM گزارش و $p<۰/۰۵$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

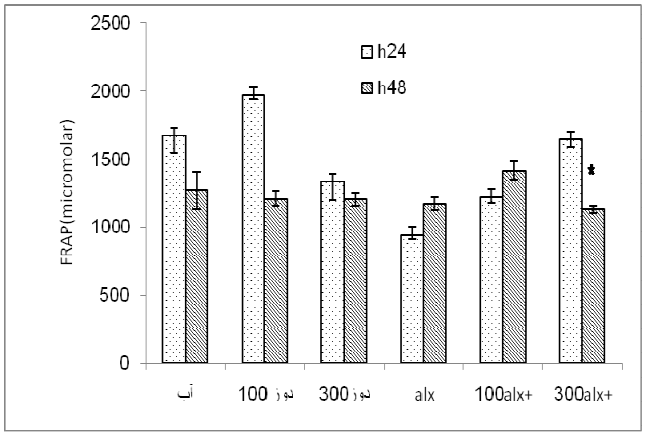
شاخص گلوکز: سطح گلوکز ۲۴ ساعت پس از تزریق آلوکسان در گروه هایی که آلوکسان به همراه عصاره دریافت کرده بودند نسبت به گروهی که فقط آلوکسان مصرف کرده بود، افزایش داشت اما این افزایش معنی دار نبود. شاخص گلوکز ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان در گروهی که آلوکسان+ عصاره (۳۰۰mg/kg) دریافت کرده بود نسبت به گروه آلوکسان افزایش معنی داری داشت ($p=۰/۰۰۱$). سطح گلوکز در گروههایی که فقط عصاره دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل که فقط آب دریافت کرده بود تغییری نشان نداد (نمودار ۱).

شاخص FRAP: FRAP ۲۴ ساعت پس از تزریق آلوکسان در گروهی که آلوکسان+ عصاره (۳۰۰mg/kg) دریافت کرده بود نسبت به گروه آلوکسان افزایش معنی داری داشت ($p=۰/۰۰۰$). مقادیر FRAP بدست آمده گروههای ۴۸ ساعته هیچگونه تغییر معنی داری را در گروههایی که آلوکسان به همراه عصاره دریافت می کردند نسبت به گروهی که فقط آلوکسان مصرف می کردند، نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۱. میانگین شاخص گلوکز(±SEM) بر حسب mg/dl در رتهای پیش درمانی شده با عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج، ۲۴و ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان(alx).

*: افزایش معنی دار نسبت به گروه alx ۴۸ ساعته ($p=۰/۰۰۱$)

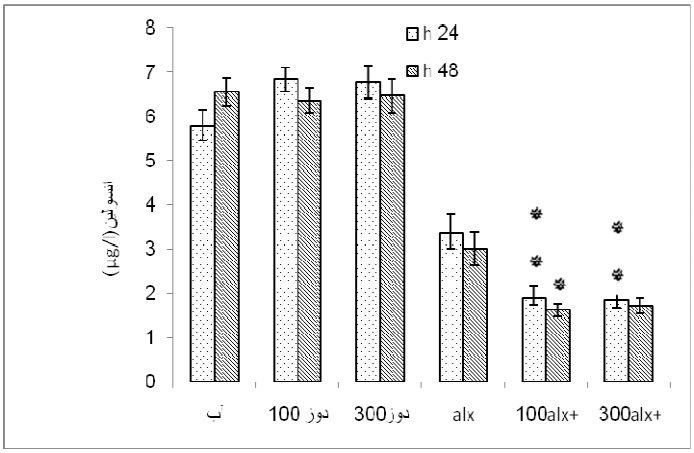


نمودار ۲. میانگین شاخص (±SEM) FRAP بر حسب µM در رت های پیش درمانی شده با عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج، ۲۴، ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان (alx)

*: افزایش معنی دار نسبت به گروه alx ۲۴ ساعته ($p=۰/۰۰۰$)

غلظت انسولین سرم: مقادیر انسولین سرم در گروههای پیش‌درمانی شده با عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج در دو فاصله زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان کاهش یافت. این میانگین‌ها در ۲۴ ساعت به ترتیب در گروهی که آلوکسان به همراه دوز ۱۰۰ mg/kg و ۳۰۰ عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج را دریافت کردند ۰/۲۸±۱/۹، ۰/۱۸±۱/۸۶ و در مقابل گروه شاهد که فقط آلوکسان دریافت کردند، ۰/۲۸±۳/۳۸ بود (جدول ۳). اختلاف در این دو گروه معنی‌دار بود (به ترتیب $p=۰/۰۲۷$، $p=۰/۰۲۱$) در ۴۸ ساعت نیز سطح انسولین در گروهی که آلوکسان و عصاره (دوز ۱۰۰ mg/kg و ۳۰۰) دریافت کردند نسبت به گروه آلوکسان کمتر بود (به ترتیب $p=۰/۰۱۶$ ، $p=۰/۰۲۹$) (نمودار ۳).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]



نمودار ۳. میانگین شاخص انسولین (±SEM) بر حسب µg/l در رت های پیش درمانی شده با عصاره پوست داخلی (مزوکارپ) نارنج، ۲۴، ۴۸ ساعت پس از تزریق آلوکسان (alx).

**: کاهش معنی دار نسبت به گروه alx ۲۴ ساعته ($p<۰/۰۳$)

*: کاهش معنی دار نسبت به گروه alx ۴۸ ساعته ($p<۰/۰۳$)

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره پوست نارنج نه تنها سبب کاهش قند خون در رت های دیابتی نمی شود بلکه قند خون را در این حیوانات افزایش داده و سبب کاهش سطح انسولین می شود. در مطالعه Ravanshad و همکاران که بر روی بیماران دیابتی انجام شد، مشخص گردید تجویز آب نارنج به این بیماران سبب کاهش قند خون به میزان ۹ درصد می شود (۱۰). این نتایج با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مغایرت دارد. این مسئله می تواند به دلیل متفاوت بودن مواد موجود در مزوکارب نسبت به آب نارنج باشد. تحقیقات قبلی نشان داد که پوست نارنج دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد و قادر است از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کند (۱۳). در این تحقیق نیز عصاره پوست نارنج سبب افزایش میزان آنتی اکسیدان ها در رت های دیابتی شد. تحقیقات مختلف نشان داده اند که مرکبات حاوی مقادیر فراوان آنتی اکسیدان نظیر فلاوونوئید ها می باشند (۱۶).

پوست نارنج دارای موسیلاژ و سه گلیکوزید به نام های هسپریدین یا هسپریدوزید، ایزوهسپریدین و اورانتیامارین و رزین می باشد، همچنین مانند دیگر مرکبات حاوی نارنجین می باشد (۷). در تحقیقی که Punithavaithi و همکاران بر روی نارنجین و هسپریدین انجام دادند، مشخص کردند که این ترکیبات سبب کاهش قند خون در موش می شود. این محققین این مواد را به موشهایی که از نظر ژنتیکی دیابتی بودند تجویز و علاوه بر میزان گلوکز آنزیمهای کبدی دخیل در متابولیسم گلوکز نظیر گلوکینار و گلوکز ۶- فسفاتاز را اندازه گیری کردند. نارنجین و هسپریدین با تنظیم فعالیت این آنزیم ها سبب کاهش قند شدند. همچنین این مواد سبب افزایش سطح انسولین شدند (۱۸). Ali و همکاران نیز ثابت کردند که نارنجین به صورت وابسته به دوز سبب کاهش قند و افزایش میزان انسولین در رت های دیابتی شده بوسیله استروپتوزوسین می شود (۱۷). Punithavathi نیز نتایج مشابهی در مورد تجویز همزمان ویتامین C و نارنجین بدست آوردند (۱۸). با این وجود نتایج حاصل از این تحقیق با یافته های تحقیقات دیگر متفاوت است. از دلایل آن ممکن است استفاده از مزوکارپ، که مولکولهای مختلف و متفاوت دارد، در تحقیق حاضر و یا خواص پرواکسیدانی مخلوط فلاوونوئیدها باشد.

Gorinstein و همکاران اعلام کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داده شده به وسیله عصاره میوه مرکبات ممکن است به دلیل حضور فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و آسکوربیک اسید باشد. محققان دیگر در اجزاء غیر فرار عصاره متانولی پوست مرکبات، ترکیبات آنتی اکسیدانی فلاونوئیدی و فنولیکی را شناسایی کردند (۱۹). فلاونوئیدها ملکول هایی هستند که بسته به ساختار آنها دارای خصوصیات مختلفی می باشند. این ملکول ها تعداد زیادی گروه OH دارند که موقعیت این گروه ها بر خصوصیات این ملکول ها تاثیر مهمی دارد. بسته به جایگاه گروه های OH و همچنین ساختمان فضایی فلاوونوئیدها ، این ملکول ها هم می توانند به عنوان آنتی اکسیدان و هم به عنوان عامل پرواکسیدان عمل کنند و سبب اکسیداسیون ملکول های بیولوژیک شوند همچنین بعضی از مواد در شرایط مختلف دارای خصوصیات متفاوتی می باشند یعنی ماده ای که در یک شرایط ممکن است آنتی اکسیدان باشد، اگر محیط واکنش آن تغییر کند تبدیل به پرواکسیدان می شود (۲۰). با توجه به این مسائل احتمال می رود که این ترکیبات در رت های هیپرگلیسیمیک خاصیت پرواکسیدانی پیدا کرده و سبب تشدید علائم هیپرگلیسیمی شوند.

به نظر می‌رسد که عصاره اتانولی پوست نارنج بعلت بالا بودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اثر آنها بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی موجب افزایش سطح آنتی اکسیدان ها می شوند. ولی این آنتی اکسیدان ها ممکن است به عنوان پرواکسیدان عمل کنند و باعث حفاظت جزایر پانکراس از آسیب ناشی از آلوکسان نشوند.

تقدیر و تشکر

بدیوسیله از شورای پژوهشی و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی- مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل جهت تصویب و حمایت مالی از این تحقیق قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]

Effect of Alcoholic Extract of Sour Orange Peel on Total Antioxidant, Insulin Level and Hyperglycemia in Alloxanized Rats

M. Lakzaei (MSc) [1], M. Pouramir (PhD) [2*], A.A. Moghadamnia (PhD) [3], H. Mir (MSc) [4]

1. Laboratory Science Department, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
2. Cellular & Molecular Biology Research Center, Department of Biochemistry & Biophysics, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Department of Pharmacology & Physiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(1); Jan 2012

Received: Apr 17th 2011, Revised: Jun 29th 2011, Accepted: Sep 7th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Sour orange is known as an herbal plant in traditional medicine. Previous studies indicate a protective effect of citrus fruits or juices against risk of some chronic diseases such as diabetes. The aim of this study was to investigate the antioxidant and anti- hyperglycemic effects of alcoholic extract of sour orange peel in rats with alloxan induced hyperglycemia.

METHODS: In this experimental study, there were 120 Wistar rats weighing 150-200 gr that were divided into 6 groups (20 rats in each group) divided into two time groups (24 and 48 h). Ethanol extract of sour orange peel was prepared. Animals were pretreated for 4 days in 2 different doses 100 and 300 mg/kg. 100 mg/kg bw alloxan injected intraperitoneally. After 24, 48 h blood sample collected and glucose (via glucose kit), serum antioxidant levels (via FRAP) and serum insulin levels (via ELISA assay) were measured and the groups were compared.

FINDINGS: Twenty four hours after alloxan injection rats who received 300 mg/kg/day showed a significant increase in total antioxidant content ($p=0.000$) and significant increase in glucose level after 48 hours ($p=0.001$). The administration of sour orange peel extract (100 and 300 mg/kg/day) decreased serum insulin level in alloxan-induced hyperglycemic rats at 24 and 48 hours after alloxan injection ($p<0.03$).

CONCLUSION: This study demonstrated that treatment with sour orange peel extract not only brought a significant increase insulin concentration but also decreased the insulin level and also increased glucose concentration in alloxanized rats.

KEY WORDS: *Sour orange, Alloxan, Insulin, Hyperglycemia, Antioxidant.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Department of Biochemistry & Biophysics, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
Tel: +98 111 2199591-5
E-mail:pouramir@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]

References

1.Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. Int J Epidemiol 1997;26(1):1-13.

2.Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007;39(1):44-84.

3.Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med 2006;27(1):1-93.

4. Shahaboddin ME, Pouramir M, Moghadamnia AA, Parsian H, Lakzaei M, Mir H. Pyrus biossieriana Buhse leaf extract: An antioxidant, antihyperglycaemic and antihyperlipidemic agent. Food Chem 2011;126(4):1730-3.

5.Shahaboddin ME, Pouramir M, Moghadamnia AA, Lakzaei M, Mirhashemi SM, Motallebi M. Antihyperglycemic and antioxidant activity of Viscum album extract. Afr J Pharm Pharmacol 2011;5(3):432-6.

6.Gholizade N, Khanbabapoor Z, Habibnejad F, Lakzaei M, Pouramir M. Effects of pyrus boissieriana buhse leaves extract on antihyperglycemic, antioxidant and antilipidproxidative in rats. J Babol Univ Med Sci 2009;11(4):7-12. [in Persian]

7.Zargari A. Medical plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Press 1990; 288-91. [in Persian]

8.Moro CO, Basile G. Obesity and medicinal plants. Fitoterapia 2000;71(Supplement 1):S73-82.

9.Huang YT, Wang GF, Chen CF, Chen CC, Hong CY, Yang MC. Fructus aurantii reduced portal pressure in portal hypertensive rats. Life Sci 1995;57(22):2011-20.

10.Ravan Shad S, Naserollah Zadeh J, Sovaid M, Setoudeh Maram E. Effect of sour orange (Citrus Aurantium L) juice consumption on blood Glucose and Lipid profile in diabetic patients with Dyslipidemia. J Guilan Univ Med Sci 2006;15(57):48-53. [in Persian]

11.Satoh Y, Tashiro S, Satoh M, Fujimoto Y, Xu JY, Ikekawa T. Studies on the bioactive constituents of Aurantii Fructus Immaturus. Yakugaku Zasshi 1996;116(3):244-50.

12.Bocco A, Cuvelier ME, Richard H, Berset C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. J Agric Food Chem 1998;46(6):2123-9.

13.Goli Z, Lakzaei M, Pouramir M. Antioxidant activity of sour orange peel extract and its effect on lipid oxidation in raw and cooked fish Hypophthalmichthys molitrix. Iran J Nutr Sci Food Technol 2010;5(2):19-26.

14.Kang HJ, Chawla SP, Jo C, Kwon JH, Byun MW. Studies on the development of functional powder from citrus peel. Bioresour Technol 2006;97(4):614-20.

15.Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996;239(1):70-6.

16.Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. Biosci Biotechnol Biochem 2006;70(1):178-92.

17.Ali MM, El Kader MA. The influence of naringin on the oxidative state of rats with streptozotocin-induced acute hyperglycaemia. Z Naturforsch C 2004;59(9-10):726-33.

18.Punithavathi VR, Anuthama R, Prince PS. Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. J Appl Toxicol 2008;28(6):806-13.

19.Gorinstein S, Cvikrova M, Machackova I, et al. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. Food Chem 2004;84(4):503-10.

20.Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radic Biol Med 1997;22(5):749-60.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.1.3.5]