Research Paper

The Therapeutic Effects Evaluation of Chamomile Plant Extract and Saffron Petals in Diabetic Rats and The Feasibility of Silver Nanoparticles Biosynthesis

Nafiseh Annabestani[1], Hamid Mollania[2], Nasrin Mollania[1*]

1. Master of Science in biochemistry, Hakim Sabzevari University, Faculty of Basic Sciences, Department of Biology, Sabzevar, Iran
2. PhD Student in Electrical Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Department of Electrical Engineering, Mashhad, Iran
3. Associate Professor of biochemistry, Hakim Sabzevari University, Faculty of Basic Sciences, Department of Biology, Sabzevar, Iran

Received: 2023/11/04 **Accepted:** 2023/12/19

Abstract

Introduction: Herbal medicine, which bears fewer adverse effects than chemical medications, is becoming more popular for the treatment of diabetes.

Materials and Methods: After measuring the antioxidant properties, the inhibition pattern between the extracts and the pancreatic α-amylase enzyme was determined. Diabetic mice were treated with herbal extracts and acarbose. The blood biochemical factors were then measured. The best extract examined the synthesis of silver nanoparticles (Ag-NPs).

Results: The extracts of saffron and chamomile petals showed an inhibitory effect on the α-amylase enzyme with a competitive and mixed pattern, respectively. FBS had a significant decrease in all treatment groups, and only in the group treated with an ultrasound-assisted aqueous extract of saffron petals did insulin levels increase significantly. The ALT enzyme decreased significantly in the presence of saffron extract. The reduction of the AST factor is significant only in chamomile extract. The results showed that for optimal synthesis of silver nanoparticles, values of temperature, pH, time, and silver nitrate salt concentration were 55°C, pH = 10, 4 hours, and 1.2 mM, respectively.

Conclusion: The plant extracts studies can efficiently lower the blood sugar levels, increase insulin production, and regulate liver enzymes in the blood. As a result, they have a good impact on diabetes treatment. These extracts outperform the chemical medication acarbose in terms of efficacy and have no negative effects on the liver. The saffron extract demonstrates the ability to synthesize Ag-NP, which is frequently employed in biomedical applications.

***Corresponding Author:** Nasrin Mollania
Address: Iran, Khorasan razavi, Sabzevari, Hakim Sabzevari University, Faculty of Basic Sciences, Department of Biology.
Tel: 09151360736
E-mail: n.mollania@hsu.ac.ir

Keywords: Type 2 diabetes, Crocus, Chamomile, Glycosylated hemoglobin, Insulin resistance

How to cite this article: Annabestani N., Mollania H., Mollania N.The Therapeutic Effects Evaluation of Chamomile Plant Extract and Saffron Petals in Diabetic Rats and The Feasibility of Silver Nanoparticles Biosynthesis, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2024; 30(6):768-784.

Copyright © 2024 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

Diabetes mellitus is a metabolic disorder in which patients either lose their ability to secrete insulin, or their body becomes resistant to insulin. In the long run, diabetes causes complications including retinopathy, neuropathy, nephropathy, and cerebrovascular disease. Although insulin injection and administration of blood glucose-lowering drugs are the main treatments for diabetes, long-term complications of these drugs highlight the need for drugs with fewer side effects. Researchers have studied the use of plant bioactive compounds for treating diabetes, infectious diseases, wounds, and cancer therapy. Inhibition of alpha-amylase and alpha-glucosidase in the gastrointestinal tract is one of the most common and effective mechanisms of action of drugs in controlling diabetes. As a result, inhibition of these enzymes, especially in diabetic patients, stops glucose absorption in the gastrointestinal tract and prevents the rise in glucose levels. Matricaria chamomilla L. and Crocus sativus contain various phytochemical compounds like phenol compounds, flavonoids, and anthocyanins, which exhibit useful effects such as anticancer, antihypertensive, and anti-diabetic properties.

Today, the emergence of nanotechnology and nanoparticle synthesis are offering many advances to mankind. Meanwhile, the green synthesis of nanoparticles by plants has received attention due to its environmental compatibility, non-toxicity, and low-cost production.

The investigation was conducted to evaluate the impact of the best extracts from Matricaria chamomilla L. and Crocus sativus on the activity of alpha-amylase. Additionally, the effect of these extracts was tested on STZ-induced diabetic rats by measuring several blood biochemical factors, such as fasting blood sugar, insulin, and liver enzyme levels. Additionally, the plant with the highest antioxidant content was used to evaluate silver nanoparticle biosynthesis.

Methodology

In this research, various plant extracts were prepared, and the antioxidant activity of both extracts was determined. The electron- or hydrogen-atom-donating ability of chamomile and saffron extracts were evaluated based on the scavenging activity of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals. The free radical inhibition percentage (I% or RSA%) of the extract was calculated using the following formula:

I%= (A 517nm control – A517 nm sample)/ A517 nm control * 100

The IC50 (the substrate concentration required to reduce the initial DPPH concentration by 50%) was calculated for each extract by plotting I% against the concentrations of each extract. Then, the obtained values were compared with the IC50 for BHT and gallic acid as the standards.

α-amylase inhibition was tested with a little change in the Bernfeld method. The α-amylase activity was determined in the presence and absence of plant extract. A blank mixture was used to correct the absorbance of the sample. In addition, the enzyme activity rate was measured using the control reaction in the absence of plant extracts. Moreover, for determining the type of enzyme inhibition, the Michaelis-Menten and Lineweaver-Burk curves were applied in the presence and absence of various extracts as inhibitors.

The 40 male mice weighing approximately 25-30 g were obtained from the Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, Tehran, and kept under standard lighting conditions at 22±2°C with enough food and water. All experiments were conducted according to the guidelines recommended by the American National Institutes of Health (NIH) for taking care of and using laboratory animals and in compliance with practical strategies in Iran. Male mice weighing approximately 25-30 g were used to achieve an animal model of diabetes. Diabetes was induced in the mice with a single-dose intraperitoneal injection of 200 mg/kg streptozotocin dissolved in sodium citrate (pH = 4-4.5).

The mice were randomly assigned to five groups. At the end of the treatment period, blood samples taken from the mice were poured into glass tubes and kept at room temperature for an hour. They were then centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes, and the obtained serum was separated and kept in a vial at -20°C until the experiments were carried out. Fasting blood sugar (FBS), ALT, and AST values were measured using Pars Azmoon Kits, and insulin levels were measured using the Insulin ELISA Kit. Cholesterol levels were measured with the Bionik kit, and the immunoturbidometry method was also used for the HBA1C test.

In order to biosynthesis Ag-NPs through the green synthesis method, the ultrasound-assisted aqueous extract of saffron petals was selected. Ultraviolet-visible spectra were recorded on a Photonix UV-Vis Array spectrophotometer, Model Ar 2015, Iran. The hydrodynamic particle size of Ag-NPs in an aqueous suspension was determined by measuring the dynamic light scattering (DLS).

The data were statistically analyzed by SPSS. An analysis of variance (ANOVA) was used to determine significant differences between the mean values for the groups.

Results

This study aimed to investigate the effects of the mentioned plant extracts on diabetes and their side effects, and to compare them with commonly used chemical drugs like acarbose in In-vitro and In-vivo conditions. Based on previous reports, by inhibiting the intestinal α-glucosidase, acarbose prevents the breaking down of oligosaccharides into glucose and thereby hinders the absorption of intestinal carbohydrates. Despite the widespread use of acarbose in the treatment of diabetes, this drug can cause liver damage in some patients. In traditional treatment, the pharmaceutical properties and secondary metabolites of plants depend on the environment in which the plants are grown, the type of solvent used in plant extraction, and the employed method.

Pancreatic α-amylase activity at different starch concentrations under normal conditions was measured, and then the activity was investigated by adding a known concentration of extracts as an inhibitor. Results showed that the ultrasound-assisted aqueous extraction of saffron and the brewing extract of chamomile interacted with enzymes through a competitive and mixed inhibition pattern, respectively.

In the in-vivo section, after the diabetic Mice's preparation and treatment, analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test demonstrated that there was a significant reduction before and after treatment in the mean FBS on both plant extracts and acarbose. However, the best FBS control was observed in mice treated with chamomile: FBS levels decreased from 557.8 in the positive group to 281 in the treatment group. Insulin was secreted by the pancreas and mainly played an important role in blood sugar control

Discussion

According to the results, the amount of insulin increased in all treatment groups compared to the diabetic group without treatment (i.e., positive control). However, only the saffron petal extract treatment showed a significant increase.

A small amount of ALT and AST is naturally present in the bloodstream. Abnormal levels of these enzymes in the blood could be one of the indicators of liver damage. ALT is considered a more specific and sensitive biomarker than AST for hepatocellular injury in mice, rats, and non-human primates (NHPs). In this study, the use of both plant extracts resulted in a significant decrease in the level of the ALT enzyme in the blood, but findings showed that saffron petals were more effective than chamomile in reducing ALT levels. Conversely, in the group that received acarbose treatment, the amount of the enzyme increased significantly compared to all other groups. In contrast, the level of AST enzyme was reduced in the treatment groups as compared to the positive control group. However, this reduction was significant only in the group treated with chamomile extract. These variations might be attributed to differences in the secondary metabolites and antioxidant properties of the two plants.

In addition, the saffron extract has shown potential for Ag-NPs biosynthesis. The results showed that for optimal synthesis of Ag-NPs, values of temperature, pH, time, and concentration of silver nitrate were 55 C, pH = 10, 4 h, and 1.2 mM, respectively.

Conclusion

Based on the present fidnigns, diabetic mice showed reduced blood sugar, increased insulin, and adjusted ALT and AST enzyme levels after treatment with ultrasound-assisted aqueous extract of saffron petals and brewing extract of chamomile. Results demonstrated that both extracts had a positive effect on diabetic treatment. The study findings generally suggest that saffron petals extract had the best controlling impact on insulin and ALT levels compared with chamomile and acarbose.

It has been found that saffron extract could be an effective ingredient for Ag-NPs biosynthesis due to its strong antioxidant properties. In addition to biomedicine and biotechnology, Ag-NPs are found to be effective in electrical engineering, biosensor synthesis, and battery production. To

Acknowledgment

All authors express their gratitude to Hakim Sabzevari University, which facilitated conducting this research.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

مقاله پژوهشی

ارزیابی تأثیرات درمانی عصاره گیاه بابونه و گلبرگ‌های زعفران در موش‌های دیابتی و امکان‌سنجی سنتز نانوذرات نقره

نفیسه عنابستانی[۱]، حمید ملانیا[۲]، نسرین ملانیا[۱*]

۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران
۲. دانشجوی دکتری مهندسی برق، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳. دانشیار بیوشیمی گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۸

* نویسندهٔ مسئول: نسرین ملانیا
نشانی: خراسان رضوی، سبزوار، دانشگاه حکیم سبزواری، فالحی گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه.
تلفن: ۰۹۱۵۱۳۶۰۷۳۶
رایانامه: n.mollania@hsu.ac.ir
شناسه ORCID: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۸۸۱۷-۶۰۵۶
شناسه ORCID نویسنده اول: ۰۰۰۰-۰۰۰۹-۵۵۳۴-۳۳۰۸

چکیده

زمینه و هدف: داروهای گیاهی، عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی دارند و در درمان دیابت که یک بیماری متابولیک مزمن است، محبوبیت بیشتری پیدا کرده‌اند.

مواد و روش‌ها: پس از اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی، الگوی بازداری بین عصاره‌ها و آنزیم آلفا- آمیلاز پانکراسی تعیین شد. موش‌های دیابتی با عصاره‌های گیاهی و آکاربوز تحت درمان قرار گرفتند. سپس فاکتورهای بیوشیمیایی خون اندازه‌گیری شد. سنتز نانوذرات نقره (Ag-NPs) توسط بهترین عصاره گیاهی بررسی شدند.

یافته‌ها: عصاره گلبرگ زعفران و بابونه اثر مهاری بر آنزیم α-آمیلاز با الگوی رقابتی و مخلوط نشان داد. FBS در تمامی گروه‌های تیمار کاهش داشت و تنها در گروه تیمارشده با عصاره آبی التراسونیک گلبرگ زعفران، انسولین به میزان معناداری افزایش می‌یابد. آنزیم ALT در حضور عصاره زعفران و فاکتور AST تنها در حضور عصاره بابونه، کاهش معناداری داشت. نتایج نشان داد که برای سنتز بهینه نانوذرات نقره، دما، pH، زمان و غلظت نمک نیترات نقره به‌ترتیب C55□، pH=10، ۴ ساعت و ۱.۲ میلی‌مولار می‌باشد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های گیاهی پیشنهادی می‌توانند سطح قند خون را کاهش دهند، تولید انسولین را افزایش دهند، آنزیم‌های کبدی را در خون تنظیم کنند و در درمان دیابت مؤثر باشند. این عصاره‌ها از نظر اثربخشی، بهتر از داروی شیمیایی آکاربوز هستند و تأثیر منفی بر کبد ندارند. عصاره زعفران، توانایی سنتز Ag-NP را نشان می‌دهد که اغلب در کاربردهای زیست پزشکی استفاده می‌شود.

کلیدواژه‌ها:
دیابت نوع ۲، زعفران، بابونه، هموگلوبین گلیکوزیله، مقاومت انسولین

۱. مقدمه

دیابت نوع ۱، از کمبود انسولین ناشی می‌شود و دیابت نوع دو، بیماری سبک زندگی نامیده می‌شود که با چاقی و فقدان فعالیت فیزیکی، مرتبط است. در این بیماری، مقاومت انسولین، زیاد و منجر به هایپرگلایسمی می‌شود [۱, ۲]. دیابت هفتمین علت مرگ‌ومیر در سراسر جهان است. تعداد بیماران دیابتی در جهان سال به سال افزایش دارد و میزان شیوع جهانی آن در سال ۹.۳ درصد بوده است [۳]. دیابت منجر به چندین بیماری همزمان مانند: بیماری‌های قلبی- عروقی، نارسایی مزمن کلیه، زخم‌های پوستی دیابتی، کوری و غیره می‌شود [۴]. طی دیابت نوع ۲، تولید رادیکال‌های آزاد بیشتر می‌شود و باعث تغییر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد و از طرف دیگر باعث افزایش در تولید آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) وآسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در اثر آسیب کبد می‌شود .[5]

Copyright © 2024 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

داروهای شیمیایی متنوعی مانند مهارکننده‌های شیمیایی آلفا آمیلاز برای پیشگیری و درمان دیابت وجود دارند [۶]. درمان دیابت با استفاده از داروهای شیمیایی اغلب با عوارض جانبی ازجمله واکنش‌های گوارشی، افزایش وزن بدن، نوسانات قند خون [۷، ۸]، خطر بیماری قلبی- عروقی [۹] همراه است و معمولاً در تصحیح بیوشیمیایی جدی، ناتوان است. بدین منظور می‌توان از مهارکننده‌های طبیعی که از گیاهان دارویی تهیه شده‌اند استفاده کرد[۱۰]

گیاهان، منبع غنی از ترکیبات ضددیابتی مانند فلاونوئیدها و آلکالوئیدها و ترکیبات فنولی و تانن هستند که با افزایش ترشح انسولین یا کاهش جذب گلوکز روده، بازده پانکراس را بهبود می‌بخشد [۱۱، ۱۲]. بیشتر گیاهان دارای فعالیت‌های ضددیابتی می‌توانند در دسته مهارکننده‌های طبیعی آلفاآمیلاز و آلفا گلوکوزیداز قرار گیرند[۱۳].

یافته‌ها نشان می‌دهد که گلبرگ زعفران (Crocus sativus) Saffron که به‌عنوان بخش دورریز گیاه مطرح است، خواص آنتی‌اکسیدانی فراوانی دارد و دارای تأثیرات محافظت کبدی، ضددرد، ضدافسردگی و کاهنده قند خون می‌باشد[۱۴].

بابونه chamomile (Matricaria chamomilla L) خواص ضد دیابتی دارد و می‌تواند ذخیره‌سازی گلیکون در کبد را افزایش دهد و از طرفی ممکن است با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم لیپوپروتئین کبد برای مهار لیپوژنز نقشی در کاهش چربی خون، محافظت کبد و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی داشته باشد[۱۵].

گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ثانویه ارزشمند، فقط در زیست پزشکی کاربرد ندارند. امروزه ظهور فناوری نانو و سنتز نانوذرات، پیشرفت‌های بسیاری را به ارمغان آورده است. در این میان، سنتز سبز نانوذرات توسط گیاهان دارای محتوای فنلی و آنتی‌اکسیدانی بالا به دلیل سازگاری با محیط زیست، سمی‌نبودن و تولید کم‌هزینه گسترش یافته است[۱۶].

هدف از پژوهش، در ابتدا تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه بابونه و گلبرگ زعفران، بررسی تأثیر این عصاره‌ها بر مهار آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. سپس برای تکمیل مطالعات، در بخش درون‌تنی، موش‌های دیابتی‌شده با داروی استرپتوزوتوسین (STZ)تهیه شدند و میزان اثربخشی عصاره‌های اولتراسونیک آبی گلبرگ زعفران و بابونه بر موش‌های دیابتی مطالعه شد. در نهایت از عصاره به‌دست‌آمده با بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی برای امکان‌سنجی سنتز نانوذرات نقره استفاده گردید .

۲. مواد و روش‌ها

تهیه و عصاره‌گیری گیاهان

گلبرگ زعفران از تربت حیدریه و گیاه بابونه از سبزوار جمع‌آوری شدند. در ابتدا به نسبت ۱ به ۱۵ (وزنی- حجمی) گیاه و حلال‌های مختلف مخلوط شدند و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۰ درجه درون دستگاه اولتراسونیک قرار داده شدند تا عصاره‌گیری انجام گردد .

بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران و بابونه

توانایی‌دهندگی الکترون یا اتم هیدرژن عصاره‌ها براساس میزان فعالیت جمع‌آوری رادیکال آزاد ۱و۱-دی فنیل -۲پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجیده شد [۱۷]. در ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۲۰,۴۰,۸۰,۱۶۰ ppm)و نیز آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی استاندارد BHT و گالیک اسید در حلال متانول تهیه شدند. روی چاهک‌های میکروپلیت، ۱۵۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های مختلف افزوده و مخلوط حاصل پس از ۳۰ دقیقه با دستگاه پلیت ریدر در طول موج 517 nm ثبت شد. در نمونه کنترل عصاره با ۱۵۰ میکرولیتر متانول جایگزین شد و سپس درصد مهار رادیکال‌های آزاد (%RSA) عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{(Radical Scavenging Ability)}\quad RSA(\%) = \left[\left(\frac{(A\,Control - Asample)}{(A\,Control)}\right)\times 100\right]$$

Acontrol: جذب محلول کنترل در ۵۱۷nm

Asample: جذب نمونه در ۵۱۷nm

با رسم منحنی ٪ I در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره مقدار IC۵۰ (غلظتی ازسوبسترا که برای کاهش DPPH به میزان ۵۰ درصد اولیه نیازاست) برای عصاره به‌دست آمد. سپس با محاسبه IC۵۰ برای BHT و گالیک اسید، به‌عنوان استاندارد و با استفاده از رابطه زیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل گالیک اسید (GEAC) بیان شدند.

$$IC_{50}\ GEAC_{(mgGA/g\ dw)} = IC_{50(galic\ acid)} / IC_{50(sample)} * 1000$$

بررسی مکانیسم مهار آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی به روش برون‌تنی

آزمون مهار آنزیم آلفا آمیلاز با اندکی تغییر در روش برنفلد [۱۸] انجام شد. در این بررسی از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان مهارکننده استفاده گردید. واکنش حاوی بافرتریس (pH: 7.4)، نشاسته ۱ درصد، محلول مهارکننده (عصاره گیاه) و آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی بود. پس از انجام واکنش در دمای ۳۷ °C، واکنش با افزودن محلول دی نیترو سالیسیلیک اسید (DNS) متوقف شد. محلول DNS در روش برنفلد، با محصول حاصل از فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز کمپلکس رنگی تولید می‌کند. میزان فعالیت آلفا آمیلاز پانکراسی با اندازه‌گیری جذب مخلوط در طول موج ۵۴۰ نانومتر با کمک دستگاه میکروپلیت ریدر مدل BioTek مشخص شد. مخلوط بلانک برای تصحیح جذب نمونه مورداستفاده قرار گرفت. در واکنش کنترل، بافر تریس جایگزین عصاره گیاهی شده بود و به‌عنوان ۱۰۰ درصد درنظر گرفته شد.

درصد مهار عصاره = ۱۰۰*(جذب کنترل/جذب نمونه-جذب کنترل)

در بخشی از تحقیق، الگوی مهار آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی با رسم منحنی‌های میکائیلیس- منتن و لینوربرک در حضور و فقدان عصاره گیاهی به‌عنوان مهارکننده به‌دست آمد.

دیابتی‌کردن موش مدل با استرپتوزوتوسین

در این مطالعه، ۴۰ عدد موش سوری نر با وزن تقریبی ۴۰ گرم استفاده شد. این جانوران از پژوهشگاه رویان تهران خریداری شدند. موش‌ها با تزریق درون صفاقی 100 mg/kg داروی استرپتوزوسین (STZ) به‌صورت تک‌دوز دیابتی گردیدند. ۳ روز تا یک هفته پس از تزریق، علائم دیابتی‌شدن (سطح گلوکز ناشتای خون بالای 240 mg/dl، پرادراری وکمبود وزن) را از خود نشان دادند.

این موش‌ها به‌صورت تصادفی، به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند و به مدت ۲۸ روز در شرایط تیمار قرار گرفتند. گروه‌ها شامل:

گروه کنترل منفی که دیابتی نشدند و داروئی نیز دریافت نکردند، گروه کنترل مثبت که دیابتی شدند و به‌عنوان داروی تیمار، فقط آب دریافت کردند،گروه دیابتی تیمارشده با آکاربوز که تیمار داروی آکاربوز با دوز 100 mg/kg را به‌صورت گاواژ دریافت کردند، گروه دیابتی تیمارشده با عصاره بابونه که تحت تیمار با عصاره اولتراسونیک آبی بابونه با دوز 160 mg/kg بودند و گروه دیابتی تیمارشده با گلبرگ زعفران که عصاره اولتراسونیک آبی گلبرگ زعفران با دوز 200 mg/kg را به‌صورت گاواژ دریافت کردند. پس از دوره تیمار، موش‌ها پس از ۸ ساعت قرارگرفتن در حالت ناشتا، با کلروفرم بیهوش شدند و پس از آن خونگیری از قلب، سرم تهیه و فاکتورهای بیوشیمیایی تعیین شدند. مقادیر گلوکز، SGOT و SGPT، با کیت‌های شرکت پارس آزمون، مقدار انسولین با کیت الایزا و مقادیر کلسترول با کیت Bionik اندازه‌گیری شد. برای آزمون HBA1C از روش ایمنوتوربیدومتری استفاده شد.

تجزیه‌و تحلیل آماری: آنالیز و محاسبات آماری با نرم‌افزار تجزیه‌وتحلیل آماری IBM SPSS 26 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Graphpad Prism 8 انجام شد. داده‌های حاصل، با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. اختلاف بین گروه‌ها در سطح $p<0.05$ معنادار درنظر گرفته شد.

سنتز نانودرات نقره

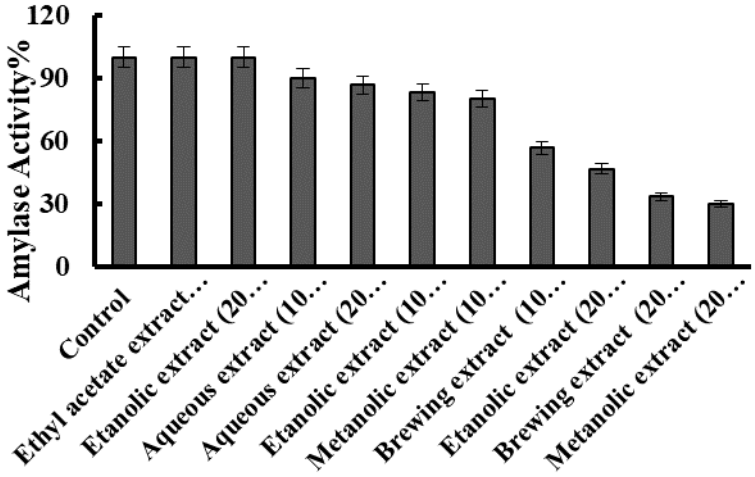
برای سنتز نانوذرات، ۰.۵ گرم از عصاره آبی التراسونیک پودری گلبرگ زعفران در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شد. pH عصاره، اسیدی و برابر ۵.۵ می‌باشد. پس از آن، مخلوط‌کردن استوک نیترات نقره با عصاره به‌نحوی صورت می‌گیرد که در نمونه نهایی، غلظت نمک ۱.۵ میلی‌مولار باشد. مخلوط واکنش در زمان و دمای مشخص در انکوباتور شیکردار با دور ۱۸۰RPM قرار می‌گیرد. تغییر رنگ محیط به قهوه‌ای تیره می‌تواند نشان‌دهنده سنتز نانوذرات نقره باشد. دما، pH، زمان و غلظت‌های متفاوت نمک نیترات نقره برای دست‌یابی به سنتز بالا و سایز کوچک بررسی شد. پس از آن، رسوب حاصل توسط سانتریفیوژ، جدا و دو بار با مخلوط آب و اتانول شسته و برای مطالعات آتی نگهداری می‌شود. وجود پیک شاخص در محدوده ۴۵۰ – ۴۰۰ نانومتر، مربوط به نانوذرات نقره است و می‌توان صحت سنتز نانوذرات را با اسپکتروسکوپی UV-Vis بررسی کرد. برای تعیین اندازه نانوذرات، سوسپانسیون نانوذرات تولیدی به کمک آنالیز مطالعات پراکندگی نور دینامیکی (DLS) آنالیز شد.

۳. یافته‌ها

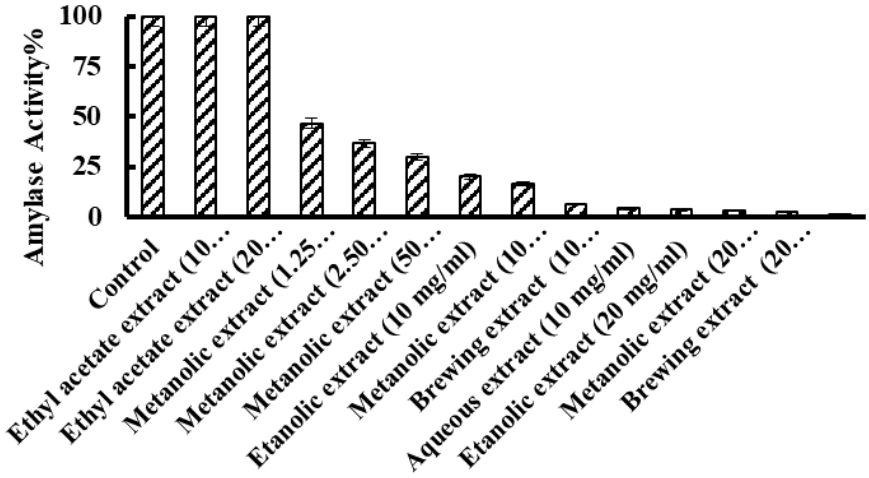
به‌منظور بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی در درمان دیابت و سنتز نانوذرات نقره، در این تحقیق عصاره‌های آبی به‌صورت دم‌آوری و با کمک امواج فراصوت و عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان تهیه شدند.

بررسی تأثیر مهاری عصاره‌های مختلف گیاهان بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز پانکراسی

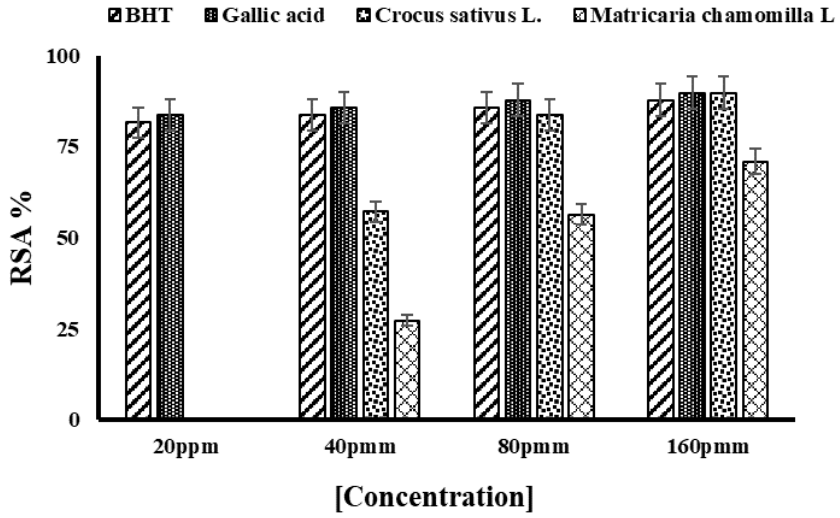
بر اساس نتایج می‌توان بیان کرد که دم‌کرده این گیاه در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش فعالیت آمیلاز پانکراسی به مقدار ۴۳/۳ و ۶۶/۷ درصد نسبت به حالت کنترل بدون حضور مهارکننده می‌شود. بیشترین تاثیر مربوط به عصاره دم‌آوری و هیدروالکلی متانولی التراسونیک ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که باعث کاهش تقریباً ۷۰ درصدی فعالیت آنزیم شده است (شکل الف۱). IC50 در حالت هیدروالکلی متانولی التراسونیک، عصاره دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی اتانولی به‌ترتیب ۱۲، ۱۴ و ۱۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. IC50 معیاری از قدرت یک ماده در مهار یک فعالیت زیستی یا بیوشیمیایی خاص است. IC50 معیاری کمی است که نشان می‌دهد چه مقدار از یک بازدارنده خاص (برای مثال عصاره گیاهی) در شرایط آزمایشگاهی، برای مهار، یک فعالیت آنزیمی خاص به اندازه ۵۰ درصد آن موردنیاز است.



الف



ب



ج

شکل ۱. (الف)، نمودار تأثیر مهاری عصاره‌های مختلف گیاهی بابونه(Matricaria chamomilla L.) بر آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی. (ب)، نمودار تأثیر مهاری عصاره‌های مختلف گلبرگ زعفران(Crocus sativus L.) بر آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی و (ج) بررسی درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین عصاره آبی التراسونیک زعفران، عصاره دم‌کرده گیاه بابونه، BHT و گالیک اسید.

کلیه عصاره‌های متانولی، اتانولی، آبی التراسونیک و حالت دم‌کرده عصاره گلبرگ زعفران در مهار آنزیم آلفا آمیلاز بیشترین تأثیر را نسبت به گیاه بابونه نشان داد به‌طوری که بر اساس شکل ۱ب در بیشتر عصاره‌ها نزدیک ۱۰۰ درصد فعالیت مهار شده است و فقط عصاره اتیل‌استاتی آن تأثیر مهاری نشان نداد. IC50 برای عصاره آبی التراسونیک ۱/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که از بقیه عصاره‌ها خاصیت مهاری بهتری ارائه می‌دهد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی دارای بیشترین تأثیر مهاری بر آنزیم آمیلاز پانکراسی

اثر آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش اندازه‌گیری میزان فعالیت گیرندگی رادیکال RSA)) به کمک ۲و۲دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل DPPH)) ارزیابی شد که نتایج آن در شکل ۱ج مشخص شده است. به‌منظور بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی، از فاکتور EC50 استفاده شد که بیان‌گر غلظتی از عصاره است که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه است. بر اساس نتایج جدول ۱ همان‌گونه که مشاهده شد توانایی مهار رادیکال‌های آزاد عصاره آبی التراسونیک گلبرگ زعفران۳۵ ppm)) در مقایسه با عصاره هیدروالکلی (متانولی) التراسونیک گیاه بابونه ۷۳.۳ ppm)) و عصاره دم‌کرده بابونه (69.5 ppm) بیشتر است.

جدول ۱. مقایسه EC50 عصاره عصاره آبی التراسونیک زعفران و بابونه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزیBHT و گالیک اسید

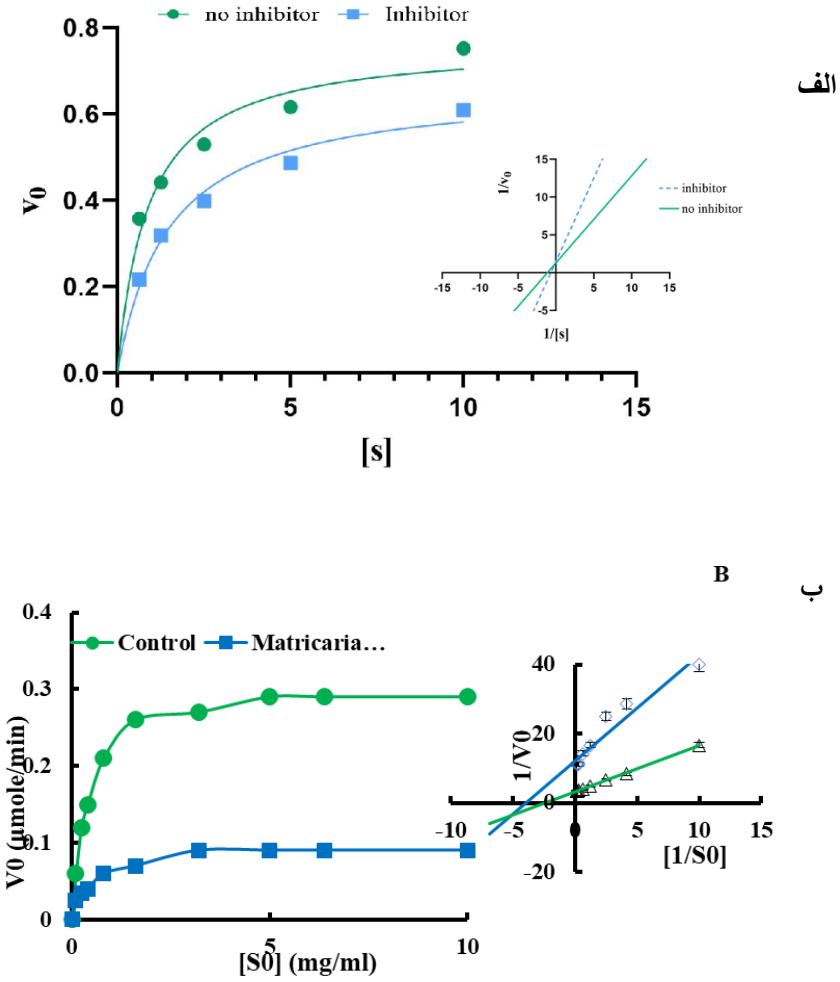
EC50 (ppm) DPPH	عصاره آبی التراسونیک گلبرگ زعفران	عصاره دمکرده گیاه بابونه	گالیک اسید	BHT
	۳۵ ± ۴/۱۹	72/5 ± ۴/۴۱	۲۳/۳ ± ۲/۸۱	۹/۶۸ ۲۳/۲±

$$GEAC(mg\ {}^{GA}\!/_{g}\ dw) = EC_{50}(galic\ acid)/EC_{50}(\text{Saffron}) * 1000 = (23/3/35) * 1000 = 665/7$$

$$GEAC(mg\ {}^{GA}\!/_{g}\ dw) = EC_{50}(galic\ acid)/EC_{50}(\text{Chamomile}) * 1000 = (23/3/69/5) * 1000 = 335/3$$

بر اساس نتایج خاصیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران و گیاه بابونه در شرایط عصاره‌گیری به‌کاررفته، بیشتر است. با توجه به تحقیقات قبلی، ترکیب عصاره گیاه با بلوغ و ترکیبات زمین زراعی، قابل تغییر است [۱۹]. علاوه بر این، غلظت کل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره را می‌توان با نوع روش استخراج تحت تأثیر قرار داد [۲۰].

بررسی مکانیسم الگوی مهار عصاره اولتراسونیک آبی گلبرگ زعفران و عصاره دم‌کرده بابونه در بخش دیگر تحقیق صورت گرفت. فعالیت آنزیم در غلظت‌های مختلف نشاسته، اندازه‌گیری شد. سپس با افزودن غلظت مشخصی از عصاره آبی التراسونیک گلبرگ زعفران (۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) فعالیت آنزیم بررسی شد و منحنی‌های میکائیلیس منتن و لینوربرک در حضور و فقدان عصاره به‌عنوان مهارکننده رسم شد. منحنی‌های میکائیلیس- منتن و لینوربرک مهار عصاره گلبرگ زعفران روی آنزیم آلفاآمیلاز پانکراسی در شکل الف۲ نشان داده شده‌است. با توجه به نمودار، مهارکننده عصاره گیاهی گلبرگ زعفران با آنزیم آلفاآمیلاز پانکراسی از طریق مکانیسم رقابتی میانکنش می‌دهد.



شکل ۲. (الف)، منحنی میکائیلیس- منتن و لینور-برک در حضور و فقدان عصاره گیاهی گلبرگ زعفران . (ب)، منحنی میکائیلیس- منتن و لینور-برک در حضور و فقدانعصاره گیاهی دم‌کرده بابونه

مکانیسم مهار عصاره دم‌کرده بابونه روی آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی در شکل ۲ب نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مهارکننده عصاره گیاهی با آنزیم آلفا آمیلاز پانکراسی از طریق مکانیسم مهار مخلوط واکنش می‌دهد.

نتایج مشخص کرد که در مقایسه دو گیاه موردمطالعه، گلبرگ زعفران، تأثیر مهاری بیشتری نسبت به گیاه بابونه در شرایط آزمایشگاهی به‌کاررفته، دارد. از طرفی در بین روش‌های عصاره‌گیری گلبرگ زعفران، روش اولتراسونیک با حلال آبی،

تأثیر بیشتری نسبت به دیگر روش‌ها بر مهار آنزیم آلفاآمیلاز پانکراسی از خود نشان می‌دهد بنابراین در بخش مطالعات جانوری و در موش مدل دیابتی، تأثیر این روش عصاره‌گیری بر موش‌های سوری بررسی خواهد شد.

مطالعات جانوری

بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون

در این پژوهش، فاکتورهای بیوشیمیایی متعددی مانند سطح قند خون ناشتا FBS))، سطح انسولین خون و سطح آنزیم‌های کبدی (ALT، AST وALP) توسط کیت‌های تشخیص طبی بررسی شدند. آزمون شاپیرو- ویلک و میزان چولگی و کشیدگی، نرمال‌بودن داده‌ها را تأیید کرد($P>0.05$)). در این مطالعه از آزمون یک‌طرفه ANOVA برای تحلیل داده‌ها و آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد.

مطابق شکل A3 مقدار قند خون ناشتا در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده (کنترل مثبت)، کاهش معناداری دارد. در این پژوهش، میزان قند خون ناشتای گروه‌های تیمارشده با عصاره‌های گیاهی نسبت به آکاربوز کاهش معناداری نداشت اما نسبت به گروه کنترل مثبت (گروه دیابتی‌شده بدون تیمار) کاهش معنادار را نشان داد.

با توجه به شکل B3 در گروه‌های تیمار موردآزمایش، میزان انسولین نسبت به گروه دیابتی‌شده بدون تیمار (کنترل مثبت) افزایش داشت اما تنها در یک گروه یعنی عصاره گلبرگ زعفران، این افزایش معنادار می‌باشد.

بررسی تغییرات آنزیم‌های ALT و AST

ALT به‌طور معمول در سلول‌های کبدی قرار دارند و بالارفتن سطح آنزیم‌ها در خون می‌تواند نشانه آسیب کبدی باشد. در گروه‌های تیمارشده با عصاره‌های گیاهی یعنی گیاه بابونه و گلبرگ زعفران، کاهش چشم‌گیری از سطح این آنزیم در خون مشاهده شد و هر دو کاهش نسبت به گروه دیابتی تیمارنشده به‌صورت معنادار می‌باشد اما در گروه تیمارشده با داروی شیمیایی یعنی آکاربوز، میزان این آنزیم افزایش داشت و افزایش آن به‌صورت معناداری نسبت به تمامی گروه‌ها و حتی گروه کنترل، مثبت می‌باشد (شکل C3). این افزایش می‌تواند دلیلی بر تأثیر آکاربوز بر عملکرد کبدی باشد. با توجه به نتایج، تأثیر کاهشی گلبرگ زعفران بر میزان ALT بیشتر از بابونه است و این تاثیر ممکن است به دلیل تفاوت در متابولیت‌های ثانویه دو گیاه و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها باشد.

به‌طور طبیعی مقدار کمی AST در جریان خون وجود دارد. سطوح غیرطبیعی این آنزیم نیز در خون می‌تواند یکی از نشان‌دهنده‌های آسیب کبدی باشد. نتایج در این قسمت نشان می‌دهد که سطح این آنزیم در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش مثبت داشته اما فقط در گروه عصاره بابونه این کاهش به‌صورت معنادار می‌باشد (شکل D3).

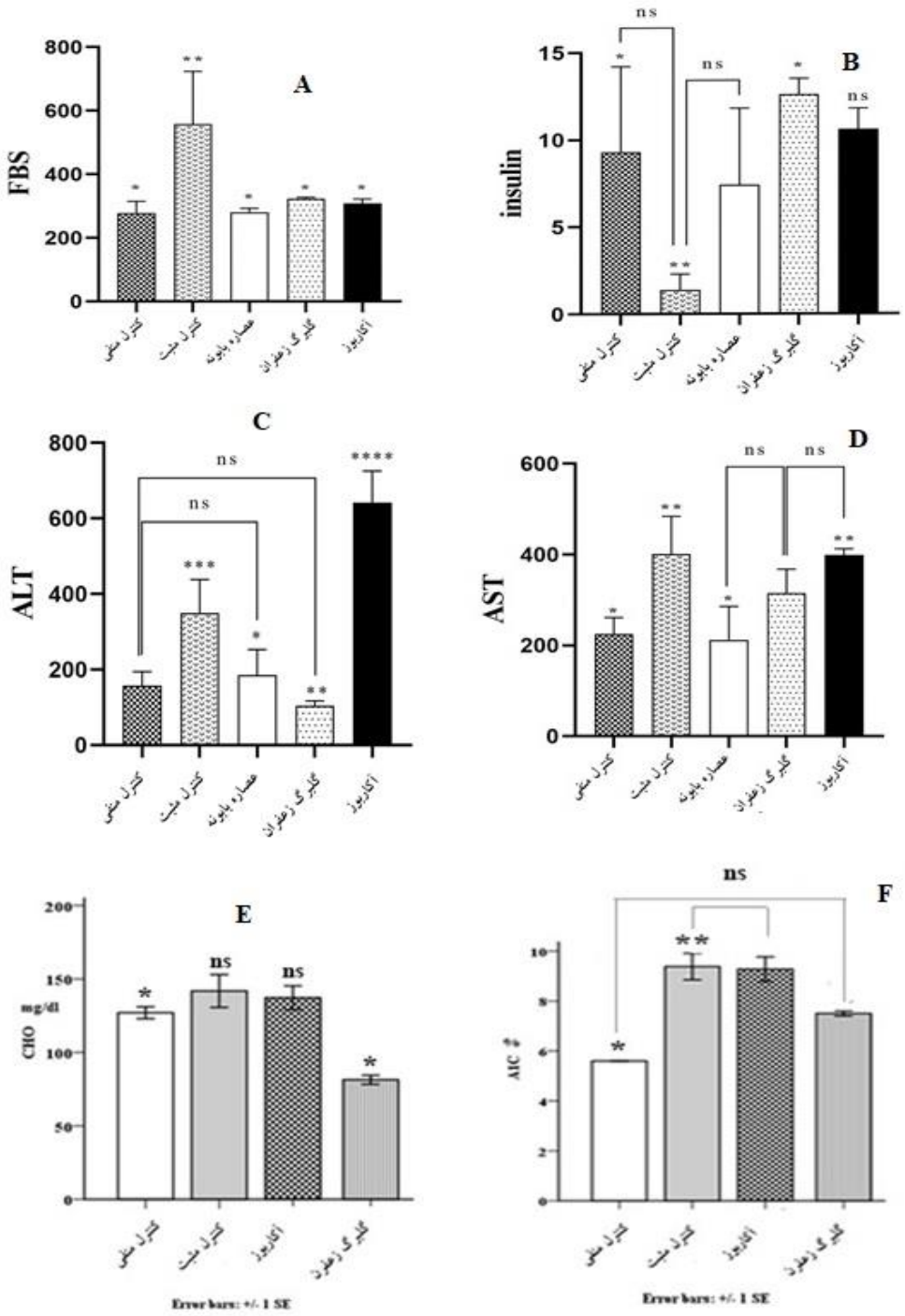
طبق آزمون ANOVA، داده‌ها در سطح احتمال یک درصد معنادار می‌باشند ($P<0.01$). نتایج آزمون Tukey میزان آنزیم ALT و AST جدول ۲ نشان داده شده‌است.

جدول ۲. بررسی میانگین فاکتورهای بیوشیمیایی پس از سپری‌شدن دوره تیمار

تیمارها	FBS	Insulin	ALT	AST
کنترل منفی	۲۷۸/۳ ± ۳۶/۶ ^{a}	۹/۳ ± ۵/۹ ^{a}	۱۵۷/۲ ±۳۶/۹ ^{a,b}	۲۲۵/۴ ±۳۵/۹ ^{a}
کنترل مثبت	۵۵۷/۸ ± ۱۶۶/۰ ^{b}	۱/۴ ±۰/۹ ^{b}	۳۵۰/۲ ±۸۷/۸ ^{c}	۴۰۱/۰ ±۸۳/۳ ^{b}
عصاره بابونه	۲۸۱/۰ ± ۱۲/۲ ^{a}	۷/۴ ± ۴/۴ ^{a,b}	۱۸۵/۰ ±۶۸/۱ ^{a}	۲۱۲/۲ ±۷۳/۴ ^{a}
گلبرگ زعفران	۳۲۳/۳ ±۴/۶ ^{a}	۱۲/۶ ±۰/۹ ^{a}	۱۰۴/۳ ±۱۲/۷ ^{b}	۳۱۴/۸+ ±۵۲/۷ ^{a,b}
آکاربوز	۳۰۸/۵ ± ۱۳/۷ ^{a}	۱۰/۶ ±۱/۲ ^{a,b}	۶۴۲/۵ ±۸۳/۴ ^{d}	۳۹۹/۳ ±۱۳/۵ ^{b}

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. وجود حداقل یک حرف لاتین مشابه در هر ستون، نشان‌دهنده نبود اختلاف معنادار در سطح اطمینان ۵ درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج شکل E3 و F3، به دلیل تاثیر بیشتر عصاره آبی گلبرگ زعفران، میزان کلسترول خون و هموگلوبین گلیکوزیله نیز تعیین شد و مشخص شد تیمار با این عصاره باعث کاهش سطح کلسترول می‌شود. میزان HBA1C در اثر تیمار با عصاره گلبرگ زعفران نسبت به گروه سالم فزایش داشت ولی میزان افزایش کمتر از زمان مصرف داروی آکاربوز است بنابراین این عصاره، تأثیر بهتری بر کنترل دیابت نسبت به آکاربوز دارد.

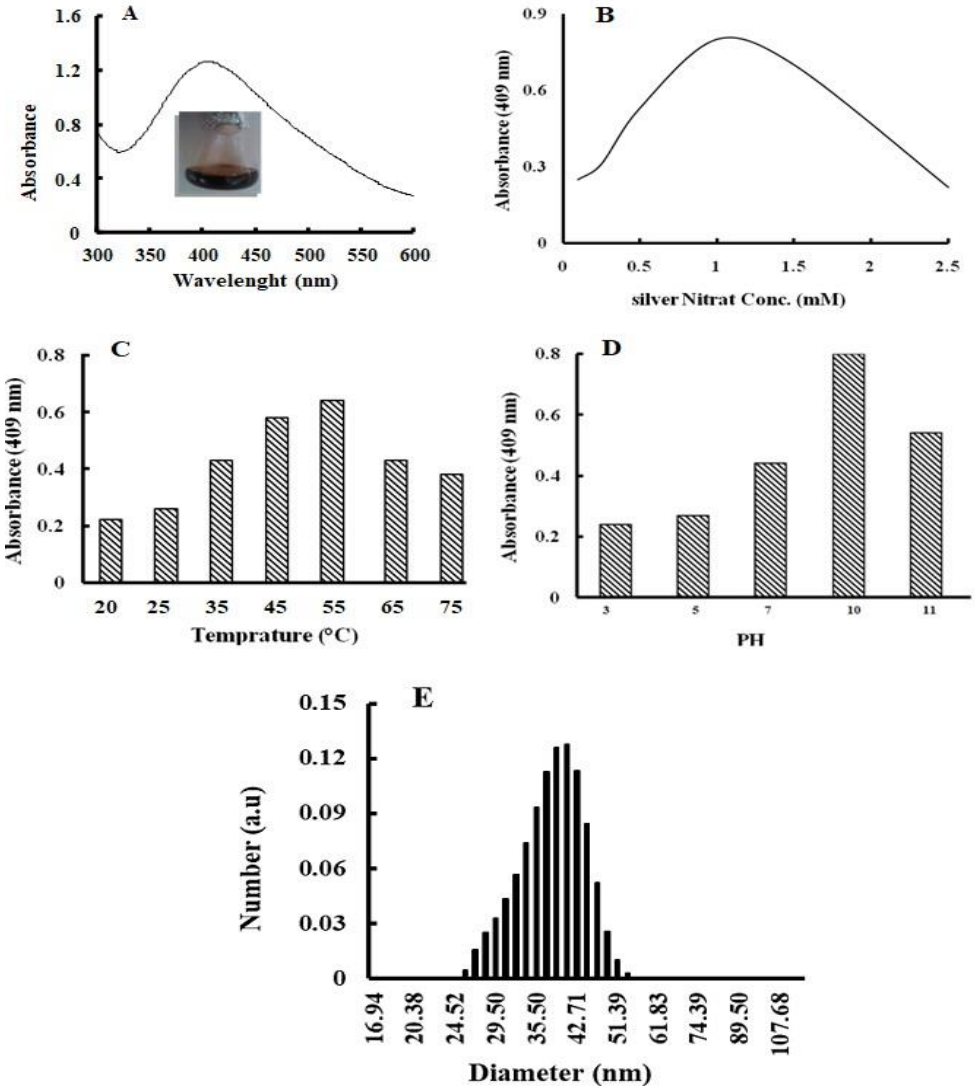


شکل ۳. (A) بررسی تغییرات قند خون ناشتا (FBS) در گروه‌های موش سوری دیابتی‌شده. (B) بررسی تغییرات انسولین در گروه‌ها. در گروه‌های موش سوری دیابتی‌شده. (C) بررسی تغییرات آنزیم ALT، (D) بررسی تغییرات آنزیم AST، (E) نمودار مقایسه کلسترول و HBA1C (F). *,** گروه‌های دارای حروف متفاوت با یکدیگر در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار دارند. گروه ns در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار نیستند.

مطالعات سنتز سبز نانوذرات نقره

پیک شاخص و بیشترین میزان جذب برای نانوذرات نقره در شرایط بهینه سنتز در ۴۰۹ نانومتر حاصل شد (شکل A4). بر اساس نتایج آزمایش‌ها بررسی پارامترهای تک‌متغیره اولیه، دما، pH، زمان و غلظت نمک نیترات نقره به‌ترتیب ۵۵ درجه سانتی‌گراد، pH=10، ۴ ساعت و ۱.۲ میلی‌مولار انتخاب شد.

پارامترهای تأثیرگذار بر سنتز نانوذره در شکل ۴ (B-D) نشان داده شده است. یکی از خصوصیات مهم در سنتز نانوذرات، اندازه آن می‌باشد. DLS یکی از روش‌های معمول تعیین اندازه نانوذرات است. نانوذرات تولیدی اندازه‌ای بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند. با توجه به شکل و پراکندگی اندازه نانوذرات، متوسط اندازه ذرات به روش DLS، برای نانوذرات نقره سنتزشده حدود ۴۰.۷۸ می‌باشد (شکل E 4).



شکل ۴. (A) پیک حاصل از جذب سنتز نانوذرات نقره به روش زیستی در ۴۰۹ نانومتر. (B-D) بررسی عوامل مختلف بر سنتز نانوذرات نقره. (E) نمودار آنالیز پراکندگی دینامیکی نانوذرات نقره.

٤. بحث و نتیجه‌گیری

دیابت نوع دو یا دیابت غیروابسته به انسولین، با مقاومت انسولین یا کمبود نسبی آن مشخص می‌شود. استرپتوزوتوسین یکی از عوامل شیمیایی رایج است که در صورت تجویز تزریقی در حیوانات آزمایشگاهی به‌طور انتخابی توسط سلول‌های بتای پانکراس تجزیه شده و باعث تخریب آن نیز می‌گردد (۲۱). تحقیقات مختلف درباره بیماری دیابت نشان می‌دهد که القای دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین باعث افزایش معنی‌دار در سطح سرمی گلوکز خون، آنزیم‌های شاخص کبدی، کلسترول و فاکتورهای کلیوی در موش‌های دیابتی نسبت به نرمال می‌شود؛ ضمناً سطوح سرمی انسولین را نیز کاهش می‌دهد [۲۳,۲۲].

مطالعات زیادی ترکیبات ضددیابتی در گلبرگ زعفران و بابونه را نشان می‌دهد. طبق تحقیقات انجام‌شده گلبرگ زعفران حاوی گلیکون فلاونول میریستین، کوارستین، کامپفرول و دو نوع آنتوسیانین به نام‌های دلفینیدین و پتونیدین می‌باشد [۲۴]. بنابراین گلبرگ زعفران به‌عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدان‌ها درنظر گرفته می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش غیرقابل‌انکاری در تعدیل دیابت و کاهش علائم آن ایفا می‌کنند [۲۵]. تحلیل‌های مختلف نشان داده که عصاره بابونه محتوی فالونوئیدهای آپیجنین، کریزین، لوتئولین و کورستین، کومارین‌هایی مثل امبلی فرون، موسیلاژ، پلی ساکاریدها، تاننها و چند نوع اسیدهای چرب است. نوع و درصد مواد موجود در عصاره‌ها بستگی به سیستم حلال به‌کاررفته و نوع عصاره‌گیری گیاهی دارد [۲۶].

در مطالعه‌ای عصاره گلبرگ زعفران به‌صورت خوراکی در ۲۸ روز داده شد. قند خون ناشتا، حجم ادرار و سطح نیتروژن خون BUN در موش کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر، تیمار با عصاره‌های آبی و اتانولی گلبرگ‌ها و کلاله‌های زعفران، باعث کاهش سطوح ALP، AST و ALT در موش‌های صحرایی گردید [۲۷]. از طرفی بر اساس مرور مقالات گذشته، عصاره متانولی برخی از گیاهان دارویی رایج در طب سنتی، پس از تیمار دو بار در روز به مدت ۵ روز متوالی نشان داد که برخی از این عصاره‌ها دارای خاصیت ضدهایپرگلیسمی هستند [۲۸].

در مطالعه حاضر نیز تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون طی دوره ۲۸ روزه تیمار، با گلبرگ زعفران اندازه‌گیری شد. نتایج آزمون ANOVA نشان داد که داده‌ها در سطح احتمال یک درصد معنادار هستند($P<0.01$). پس از آن، نتایج آزمون Tukey، نشان از کاهش معنادار قند خون ناشتا، در گروه‌های تیمارشده با عصاره‌های گیاهی نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده بود ($P<0.05$).

انسولین، مطابق آزمون Tukey تنها در گروه گلبرگ زعفران به‌صورت معناداری نسبت به گروه تیمارنشده افزایش داشت ($P<0.05$) و در گروه بابونه و آکاربوز این افزایش زیاد معنادار نبود. بنابراین عصاره گلبرگ زعفران نسبت به دیگر گروه‌ها برای افزایش انسولین، گزینه مناسب‌تری به‌نظر می‌رسد.

مطابق آزمون Tukey و در مقایسه بین گروه‌ها، سطح آنزیم ALT در گروه تیمارشده با گیاه بابونه و گلبرگ زعفران کاهش داشت و این کاهش در هر دو به‌صورت معنادار می‌باشد ($P<0.05$) اما در گروه تیمارشده با آکاربوز، میزان این آنزیم به‌صورت معناداری از بقیه گروه‌ها بیشتر بود ($P<0.05$). یکی از علل این اتفاق را می‌توان احتمال آسیب‌های کبدی ناشی از عوارض مصرف داروی آکاربوز درنظر گرفت.

AST طبق آزمون Tukey در تمامی گروه‌های تیمار نسبت به گروه دیابتی کاهش داشتند. در گروه تیمارشده با عصاره بابونه، این کاهش به‌صورت معنادار می‌باشد ($P<0.05$) ولی در گروه‌های گلبرگ زعفران کاهش کمتری مشاهده شد.

ALT یک نشانگر زیستی اختصاصی‌تر و حساس‌تر از AST برای آسیب سلولی کبدی در موش‌ها، رت‌ها و پستانداران غیرانسانی (NHPs) درنظر گرفته می‌شود. هر دو فعالیت آمینوترانسفراز در نتیجه سمیت کبدی افزایش می‌یابند ولی میزان افزایش ALT معمولاً بیشتر از AST است که تا حدی به دلیل مکان سیتوزولی و نیمه‌عمر طولانی‌تر ALT و نسبت بیشتر AST در میتوکندری است. میزان افزایش این دو آنزیم در سرم با تعداد سلول‌های کبدی آسیب‌دیده، مرتبط است ولی شدت یا برگشت‌پذیری بالقوه آسیب را نمی‌تواند نشان دهد.

در مقایسه دو گروه تیمار با عصاره‌های گیاهی، بیشتر فاکتورها در گلبرگ زعفران تأثیرات بهتری را نسبت به بابونه و آکاربوز نشان دادند اما این تأثیرات در مورد سطح انسولین به‌صورت معنادارتری می‌باشد.

از طرفی عصاره‌های برگ گیاهان به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه فراوان، به‌عنوان یک منبع عالی و بی‌خطر برای سنتز نانوذرات فلزی و اکسید فلزی درنظر گرفته می‌شوند. نانوذرات نقره در حال حاضر نقش اساسی در زمینه‌های مختلف زیست، پزشکی و مهندسی پیدا کرده است [۲۹]. نانوذرات فلزی مانند نانوذرات نقره تولیدشده زیستی، در درمان دیابت و استفاده در فرمولاسیون پمادهای مناسب

برای درمان زخم دیابت به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی کاربرد دارند [۳۰].

تشکر و قدردانی

نویسندگان در این لحظه از دانشگاه حکیم سبزواری که ما را در انجام این تحقیق یاری رساند و این تحقیق را امکان‌پذیر ساخت، تشکر می‌کنند. بین نویسندگان در این مطالعه، تضاد منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

کمیته اخلاق دانشگاه حکیم سبزواری این مطالعه را با کد اخلاق IR.HSU.AEC.1401.014 تصویب کرده است.

سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در بخش گردآوری داده‌ها، آنالیزهای آماری و نگارش مقاله مشارکت فعال داشته‌اند.

حمایت مالی

این مطالعه بدون حمایت مالی صورت گرفته است

تضاد منافع

بین نویسندگان در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

References

[1]. Jafari-Sales A, Pashazadeh M. Antibacterial Effect of Methanolic Extract of Saffron Petal (Crocus sativus L.) on Some Standard Gram Positive and Gram Negative Pathogenic Bacteria In vitro. Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP). 2020;3(1):1-7. doi: 10.38093/cupmap.692879.

[2]. Hosseini A, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron (Crocus sativus) petal as a new pharmacological target: a review. Iran J Basic Med Sci. 2018;21(11):1091-9. doi: 10.22038/IJBMS.2018.31243.7529.

[3]. He Y, Al-Mureish A, Wu N. Nanotechnology in the Treatment of Diabetic Complications: A Comprehensive Narrative Review. J Diabetes Res. 2021;2021:6612063. doi: 10.1155/2021/6612063.

[4]. Saedi E, Gheini MR, Faiz F, Arami MA. Diabetes mellitus and cognitive impairments. World J Diabetes. 2016;7(17):412-22. doi: 10.4239/wjd.v7.i17.412.

[5]. Oguntibeju OO. Medicinal plants and their effects on diabetic wound healing. Vet World. 2019;12(5):653-63. doi: 10.14202/vetworld.2019.653-663.

[6]. Bastaki S S. Diabetes mellitus and its treatment. International Journal of Diabetes and Metabolism. 2005;13(3):111-34. doi: 10.1159/000497580.

[7]. Kashtoh H, Baek KH. Recent Updates on Phytoconstituent Alpha-Glucosidase Inhibitors: An Approach towards the Treatment of Type Two Diabetes. Plants (Basel). 2022;11(20):2722. doi: 10.3390/plants11202722.

[8]. Thule PM, Umpierrez G. Sulfonylureas: a new look at old therapy. Curr Diab Rep. 2014;14(4):473. doi: 10.1007/s11892-014-0473-5.

[9]. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, et al. PPARgamma signaling and metabolism: the good, the bad and the future. Nat Med. 2013;19(5):557-66. doi: 10.1038/nm.3159.

[10]. Jain C, Khatana S, Vijayvergia R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2019;10(2):494-504. doi: 10.13040/ijpsr.0975-8232.

[11]. Yedjou CG, Grigsby J, Mbemi A, Nelson D, Mildort B, Latinwo L, et al. The Management of Diabetes Mellitus Using Medicinal Plants and Vitamins. Int J Mol Sci. 2023;24(10):9085. doi: 10.3390/ijms24109085.

[12]. Diep T, Pook C, Yoo M. Phenolic and Anthocyanin Compounds and Antioxidant Activity of Tamarillo (Solanum betaceum Cav.). Antioxidants (Basel). 2020;9(2):169. doi: 10.3390/antiox9020169.

[13]. Hasanpour M, Iranshahy M, Iranshahi M. The application of metabolomics in investigating anti-diabetic activity of medicinal plants. Biomed Pharmacother. 2020;128:110263. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110263.

[14]. Yaribeygi H, Zare V, Butler AE, Barreto GE, Sahebkar A. Antidiabetic potential of saffron and its active constituents. J Cell Physiol. 2019;234(6):8610-7. doi: 10.1002/jcp.27843.

[15]. Sah A, Naseef PP, Kuruniyan MS, Jain GK, Zakir F, Aggarwal G. A Comprehensive Study of Therapeutic Applications of Chamomile. Pharmaceuticals (Basel). 2022;15(10):1284. doi: 10.3390/ph15101284.

[16]. Ivanisevic I. The Role of Silver Nanoparticles in Electrochemical Sensors for Aquatic Environmental Analysis. Sensors (Basel). 2023;23(7):3692. doi: 10.3390/s23073692.

[17]. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology. 1995;28(1):25-30. doi: 10.1016/s0023-6438(95)80008-5.

[18]. Bernfeld P. Amylases, α and β. 1955. doi: 10.1016/0076-6879(55)01021-5.

[19]. Sellami IH, Maamouri E, Chahed T, Wannes WA, Kchouk ME, Marzouk B. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (Origanum majorana L.). Industrial Crops and Products. 2009;30(3):395-402. doi: 10.1016/j.indcrop.2009.07.010.

[20]. Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera Lam.) leaves. J Agric Food Chem. 2003;51(8):2144-55. doi: 10.1021/jf020444+

[21]. Kottaisamy CPD, Raj DS, Prasanth Kumar V, Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. Lab Anim Res. 2021;37(1):23. doi: 10.1186/s42826-021-00101-4.

[22]. Alleman CJ, Westerhout KY, Hensen M, Chambers C, Stoker M, Long S, et al. Humanistic and economic burden of painful

diabetic peripheral neuropathy in Europe: A review of the literature. Diabetes Res Clin Pract. 2015;109(2):215-25. doi: 10.1016/j.diabres.2015.04.031.

[23]. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (Allium sativum L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine. 2006;13(9-10):624-9. doi: 10.1016/j.phymed.2005.09.010.

[24]. Bakshi RA, Sodhi NS, Wani IA, Khan ZS, Dhillon B, Gani A. Bioactive constituents of saffron plant: Extraction, encapsulation and their food and pharmaceutical applications. Applied Food Research. 2022;2(1):100076. doi: 10.1016/j.afres.2022.100076

[25]. Ahmadian Z, Niazmand R, Pourfarzad A. Microencapsulation of Saffron Petal Phenolic Extract: Their Characterization, In Vitro Gastrointestinal Digestion, and Storage Stability. J Food Sci. 2019;84(10):2745-57. doi: 10.1111/1750-3841.14807.

[26]. Mohaqiq Z, Moossavi M, Hemmati M, Kazemi T, Mehrpour O. Antioxidant Properties of Saffron Stigma and Petals: A Potential Therapeutic Approach for Insulin Resistance through an Insulin-Sensitizing Adipocytokine in High-Calorie Diet Rats. Int J Prev Med. 2020;11:184. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_275_19.

[27]. Alabdallah NM, Hasan MM. Plant-based green synthesis of silver nanoparticles and its effective role in abiotic stress tolerance in crop plants. Saudi J Biol Sci. 2021;28(10):5631-9. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.05.081.

[28]. Aslan M, Orhan N, Orhan DD, Ergun F. Hypoglycemic activity and antioxidant potential of some medicinal plants traditionally used in Turkey for diabetes. J Ethnopharmacol. 2010;128(2):384-9. doi: 10.1016/j.jep.2010.01.040.

[29]. Eren T, Atar N, Yola ML, Karimi-Maleh H, Çolak AT, Olgun A. Facile and green fabrication of silver nanoparticles on a polyoxometalate for Li-ion battery. Ionics. 2015;21(8):2193-9. doi: 10.1007/s11581-015-1409-z.

[30]. Bhardwaj G, Kaur R, Saini S, Kaur N, Singh N. Electrochemical and spectroscopic detection of insulin using AgNPs-decorated organic derivative. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2023;679:132511. doi: 10.1016/j.colsurfa.2023.132511.