DOI: 10.48305/jims.v40.i669.0278

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۶۹/هفته‌ی اول تیر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۴/۷

تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschyi* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات

امیرمهدی صفاری[۱]، فوزیه زادهوش[۲]، افسانه یگدانه[۳]، علی حسینی شریف آباد[۴]، اردشیر طالبی[۵]، حسن صدرایی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: زرین گیاه (*Dracocephalum Kotschyi*)، یکی از گیاهان دارویی بومی ایران با خواص ضدالتهاب و ضداسپاسم می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات انجام شد.

روش‌ها: در این پژوهش، عصاره‌ی هیدروالکلی با روش ماسراسیون تهیه شد و محتوای ترکیبات فنولی عصاره با کمک روش فولین سیوکالتو ارزیابی گردید. پس از آن، عصاره به صورت اموسیون خوراکی به مدت ۳۰ روز، در ۳ دوز متفاوت (۲۰۰mg/kg، ۱۰۰ و ۵۰) برای ۳ گروه رات تجویز گردید، همچنین یک گروه شاهد و یک گروه حامل هم در نظر گرفته شد. پس از یک ماه تجویز عصاره و مشاهدات کیفی، از تمامی رات‌ها نمونه‌گیری خون، جهت اندازه‌گیری کمی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک انجام شد. بافت‌های کبد و کلیه‌ی هر موش در مطالعات بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه، مصرف خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه به مدت یک‌ماه، تغییر قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای بیوشیمیائی و هماتولوژیک ایجاد نکرد. دوز بالای زرین گیاه باعث افزایش اندکی در میزان برخی آنزیم‌های کبدی (AST، ALT وALP) و دوز ۵۰ mg/kg باعث افزایش کراتینین گردید. با این وجود، در بررسی میکروسکوپیک بافت‌های کبد و کلیه، آسیب بافتی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: مصرف کوتاه مدت خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه در دوزهای مورد استفاده، اثر سوء روی پارامترهای بیموشیمیائی و هماتولوژیک خون نداشت. با این وجود تا زمانی که اثرات طولانی‌مدت زرین گیاه روی عملکرد کبدی و کلیوی مشخص نشده است، مصرف آن در بیماران با نارسایی کبدی و کلیوی توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: زرین گیاه؛ تست‌های عملکرد کبدی؛ تست‌های عملکرد کلیه

ارجاع: صفاری امیرمهدی، زادهوش فوزیه، یگدانه افسانه، حسینی شریف آباد علی، طالبی اردشیر، صدرایی حسن. **تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی *Dracocephalum Kotschyi* روی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک رات.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۹): ۲۸۷-۲۷۸

مقدمه

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*)، گیاهی چند ساله از تیره‌ی نعناییان (Labiatae) است که بیشتر در مناطق سردسیر و مرتفع کوهستانی ایران می‌روید. در حال حاضر از محل‌های کشت این گیاه، روستای ایوانک در حوالی فریدونشهر می‌باشد (۱). این گیاه در گذشته بیشتر به عنوان طعم دهنده‌ی غذا مطرح بوده است ولی در مناطق بومی به عنوان داروی گیاهی هم مشهور است (۲). نمونه‌ی هرباریوم این گیاه با شماره‌ی ۱۵۱۹ در محل دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری می‌شود. در کتب طب سنتی و قدیمی‌تر، استفاده‌های طبی از زرین گیاه کمتر مورد بررسی قرار گرفته، بنابراین پتانسیل بالقوه‌ی آن ناشناخته باقی مانده است. با این وجود، معروف است که در مناطق رویش این گیاه، مردم به صورت سنتی از دم کرده‌ی زرین گیاه برای درمان روماتیسم و نفس تنگی استفاده می‌کنند. لازم به ذکر است اندام دارویی مورد استفاده‌ی این

۱- دانشجوی داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانشیار، گروه داروشناسی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، مرکز تحقیقات آب و الکترولیت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۶- دانشیار، گروه داروشناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: حسن صدرایی: دانشیار، گروه داروشناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir

گیاه در بیشتر منابع، اندام هوایی ذکر شده است (۳).

مطالعاتی که در سال‌های اخیر روی این گیاه انجام شده است نه تنها اثرات ضدالتهاب و ضداسپاسم این گیاه را تأیید کرده، بلکه سایر اثرات فارماکولوژی و تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی برای آن گزارش شده است (٤-۱۰). در مطالعاتی که پیرامون اثر زرین گیاه روی سیستم ایمنی انجام شده است، بیان شده که این گیاه دارای اثر ضدسرطانی در مدل‌های سلولی است (۱۱-۱۳).

مطالعات فارماکولوژیک انجام شده روی عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه نشان داده است که عصاره‌ی زرین گیاه حاوی ترکیباتی با اثر آنتی‌اسپاسم روی عضلات صاف است و انقباضات ایجاد شده در بافت‌های ایلئوم، رحم، مثانه و تراشه را مهار می‌کند (۵، ١٤-۱۷). تحقیقات مدرن فارماکولوژی، اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم زرین گیاه را تأیید کرده است. اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم زرین گیاه عمدتاً مربوط به ترکیبات فلانوئیدی موجود در عصاره‌ی گیاه است (۷، ۱۰، ۱۱، ١٤-١٦).

در تحقیقات قبلی، اثرات آنتی‌اسپاسم عصاره‌ی فلاونوئیدی زرین گیاه به همراه دو ماده‌ی اپی‌ژنین و لوتئولین بر روی انقباضات عضله‌ی صاف تراشه‌ی خرگوش بررسی گردیده و همگی آن‌ها اثر برونکودیلاتوری بهتری در مقایسه با آمینوفیلین از خود نشان داده‌اند (١٦). اپی‌ژنین و لوتئولین که احتمال می‌رود دو ماده‌ی اصلی مؤثره در این گیاه باشند موادی فلاونوئیدی هستند که در زرین گیاه با خواص ضدالتهابی و آنتی‌اسپاسم موجود می‌باشند (۱۸). علاوه بر این گزارش شده است که دو ماده‌ی مؤثره‌ی اپی‌ژنین و لوتئولین، اثر ضدالتهابی و ضدآسمی را در مدل حیوانی آسم از خود نشان داده‌اند (۱۹-۲۷). مطالعات دیگر دلالت بر اثرات ضدالتهابی و ضدفیبروز ریوی زرین گیاه در مدل حیوانی داشته است (۲۸).

با توجه به تحقیقات انجام شده می‌توان برخی خواص عصاره‌ی زرین گیاه را پیش‌بینی کرد. برای مثال عصاره‌ی زرین گیاه مهارکننده‌ی انقباضات عضلات صاف روده است (٤-٦، ١٤) و تجویز خوراکی عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه روی رات آزمایشگاهی میزان حرکت مواد غذایی حاوی چارکول را در طول روده کم کرده است که دلیلی بر اثرات آنتی‌اسپاسم آن در in vivo می‌باشد (٦، ١٥). این بیانگر آن است که عصاره‌ی زرین گیاه، بالقوه می‌تواند یبوست‌زا باشد. این اثر برای بیماران با سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر که اسهال در آن‌ها غالب است می‌تواند مفید باشد.

به خصوص که در تحقیق دیگری، عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، اثر ضدالتهاب خوبی را علیه کولیت اولسروز ایجاد شده توسط اسیداستیک در حیوان آزمایشگاهی نشان داده است. در این مطالعه اثر ضدکولیت به فلاونوئید اپی‌ژنین موجود در عصاره‌ی زرین گیاه نسبت داده شده است (۷). علاوه بر این، نشان داده شده است که عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، اثرات ضداسهال خوبی دارد که قابل قیاس با لوپرامید است و در مدل حیوانی، اسهال ناشی از روغن کرچک و سولفات منیزیوم را مهار کرده است (٦).

در این مطالعه هم اثر ضداسهال عصاره‌ی زرین گیاه به ترکیبات فلانوئیدی آن از جمله اپی‌ژنین نسبت داده شده است (٦). مطالعات اخیر همچنین نشان داده است که عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، انقباضات مثانه‌ی ایزوله شده‌ی خرگوش را مهار می‌کند که خود شاهدی بر اثرات ضد اسپاسم عصاره‌ی این گیاه می‌باشد (۱۷).

در مطالعه‌ی دیگری روی حیوانات آزمایشگاهی، اثر کاهندگی چربی خون توسط عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه در مدل حیوانی هیپرلیپیدمی گزارش شده است (۲۹). همچنین بر اساس مطالعه‌ی جداگانه‌ای گزارش گردیده است که عصاره‌ی زرین گیاه در مدل حیوانی دیابت، قند خون را کاهش داده ولی روی حیوان سالم اثر نداشته است (۳۰).

اثرات ضدالتهابی عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، شباهت زیادی به اثرات ضدالتهابی گلوکورتیکوئیدها دارد. اگرچه تاکنون وجود ترکیبات کورتیکواستروئیدی در زرین گیاه گزارش نشده است. به نظر می‌رسد که حداقل، قسمتی از اثرات ضدالتهابی زرین گیاه در ارتباط با اثرات تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی آن باشد، زیرا با مهار سیستم ایمنی می‌تواند واکنش‌های التهابی ناشی از آن را مهار کند (۳۱). هرچند که مهار واکنش التهابی ناشی از سیستم ایمنی برای کنترل عارضه‌های التهابی مثل آسم مفید می‌باشد، ولی مهار سیستم ایمنی می‌تواند بیمار را مستعد عفونت کند. این گیاه در حال حاضر کاندید دارویی مناسبی برای استفاده در بازار دارویی بوده و در تحقیقات مورد استفاده می‌گیرد. زرین گیاه نه تنها به عنوان داروی گیاهی بلکه به عنوان طعم دهنده‌ی غذا هم به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی تاکنون اثرات توکسیک برای آن گزارش نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه، روی پارامترهای تعیین‌کننده‌ی عملکرد کبدی، کلیوی و هماتولوژی با انجام آزمایشات بیوشیمیایی و هماتولوژیکی جهت اطمینان از ایمن بودن مصرف آن می‌باشد.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی: اندام هوایی زرین گیاه، از مزرعه‌ی شرکت کشت پرتیکان (واقع در شاهان کوه روستای ایوانک فریدونشهر) در فصل گل‌دهی جمع‌آوری و در سایه خشک شد. زرین گیاه کشت شده در این مزرعه توسط آقای مهندس محمد اصفا از اداره‌ی منابع طبیعی استان اصفهان با نام علمی *Dracocephalum kotschyi* شناسایی شده است. اندام‌های هوایی گیاه به وسیله‌ی دستگاه آسیاب برقی، آسیاب گردید.

عصاره‌گیری به روش ماسراسیون با کمک اتانول ۷۰ درصد به شرح زیر آغاز شد (۳۲). ابتدا ۲/۱ کیلوگرم از پودر تهیه شده توسط آسیاب را درون ظرف دسیکاتور ریخته و به نسبت ۱:۸ به آن الکل ۷۰ درصد افزوده شد تا مرطوب گردد. به مدت دو ساعت درب ظرف بسته شد تا به خوبی خیس بخورد. سپس پودر خیس خورده را وارد قیف شیردار کرده و به آن الکل ۷۰ درصد افزوده شد، به گونه‌ای که کاملاً در الکل غوطه‌ور شود و سطح الکل از سطح عصاره، چند سانتی‌متر بالاتر باشد. در نهایت درب دستگاه به کمک فویل آلومینیومی کاملاً پوشانده شد. پس از آن به مدت سه روز فرصت داده شد تا عصاره به خوبی وارد الکل شود. در طی این مدت هر روز به عصاره سرکشی شد و پیوسته ظرف حاوی عصاره به آرامی تکان داده می‌شد.

پس از پایان سه روز، با باز کردن شیر دستگاه، عصاره‌ی حاصله به صورت کامل خارج گردید. سپس دوباره به ظرف حاوی عصاره‌ی الکل افزوده شد تا به طور کامل در الکل غوطه‌ور گردد و سایر مراحل مثل فرایند سه روزه‌ی قبل که در بالا ذکر شد، تکرار گردید. این فرایند سه روزه یک بار دیگر هم انجام شد و در نهایت تمام عصاره‌ی هیدروالکلی حاصله باهم مخلوط و کاملاً هم زده شد و سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ٤٠ درجه تغلیظ گردید. در این مرحله، بخشی از آب و الکل موجود در عصاره خارج شد و عصاره به خوبی تغلیظ گردید و بازده آن تعیین شد. در مرحله‌ی نهایی عصاره‌گیری، تعیین میزان محتوای ترکیبات فنولی عصاره و استانداردسازی عصاره با کمک روش فولین سیوکالتو انجام گرفت (۳۳).

مطالعات فارماکولوژی: در این آزمایش از تعداد ۵۰ رات بالغ نر با وزن بین ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم، از نژاد ویستار استفاده شد. این رات‌ها در لانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تولید شدند. این پژوهش با شناسه‌ی اخلاق IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.664 توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت. رات‌ها به صورت تصادفی به ۵ دسته‌ی ۱۰تایی که هر دسته شامل ۱۰ سر رات نر می‌باشد تقسیم‌بندی شدند. دسته‌ها با حروف لاتین A، B، C، D و E نام‌گذاری شدند. تمام رات‌ها به مدت ۳۰ روز، روزانه در ساعت مشخصی برای برخی علائم توکسیستی مثل وزن بدن، کرختی و تغییرات رنگ مو بررسی شده و سپس برای عملیات گاواژ آماده شدند. در طی این ۳۰ روز، حیوان در داخل قفس تمیز استاندارد موجود در لانه‌ی حیوانات، مناسب با اندازه‌ی حیوان که کف آن با پوشال پوشیده شده بود، نگهداری شد. رات‌ها دسترسی کامل به آب و غذا داشته و کاملاً قابل مشاهده بودند. در این پژوهش امکان فرار حیوان از قفس وجود نداشته و هنگام جابجایی حتی‌الامکان به حیوان آسیب و یا جراحت یا استرس وارد نشد. شرایط تنظیم دما و هوای تنفسی برای حیوان فراهم شد.

تجویز دارو به رات: برای تهیه‌ی استوک اولیه، توین ۸۰ به میزان 1drop/ml به غلظت 20mg/ml عصاره افزوده شد. با توجه به وزن رات‌ها، برای هر رات روزانه حجم مصرفی از استوک را محاسبه کرده به صورت گاواژ برای رات تجویز گردید.

سه گروه ۱۰تایی رات (A، B و C) هر کدام به ترتیب دوز انتخابی از عصاره‌ی خشک زرین گیاه با دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg روزانه به مدت ۳۰ روز تجویز گردید. گروه D هم ۲ml از حامل عصاره که شامل آب و توین ۸۰ با غلظت 1drop/ml است را به صورت گاواژ دریافت کردند. رات‌های گروه E به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفته و هیچ ماده‌ی اضافه‌ای دریافت نکردند.

در روز سی و یکم، همه‌ی رات‌ها را به کمک ترازوهای موجود در آزمایشگاه وزن کرده و سپس حیوان بیهوش شده و پس از انجام فرایند خون‌گیری، رات کشته شد. خون‌گیری از رات به کمک لوله‌های مویینه انجام شد به این صورت که ابتدا لوله‌ی استاندارد را به گوشه‌ی خارجی چشم رات وارد کرده و با کمی چرخاندن پس از چند لحظه به آرامی به صورت قطره قطره خون از آن خارج شد. بعد از کالبدشکافی، کبد و کلیه‌ی حیوانات جداسازی شده و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید و سپس لاشه و سایر بافت‌های حیوان در درون کیسه‌ی پلاستیکی مناسب قرار داده شد و در سطل زباله مخصوص جمع‌آوری لاشه‌ی حیوانات گذاشته تا مطابق دستورالعمل به نحوی متقضی معدوم گردد.

آنالیز پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک بعد از ۳۰ روز مصرف روزانه‌ی عصاره در محل آزمایشگاه پاتوبیولوژی المهدی اصفهان انجام شد. بدین منظور ابتدا از محل آزمایشگاه لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA و لوله‌های آزمایش استریل شده را به تعداد رات‌ها تهیه کرده و پس از فرایند خون‌گیری از هر رات به میزان کافی درون هر یک از لوله‌ها از خون رات پر شد. در نهایت تمامی لوله‌ها با رعایت پروتکل‌های لازم به آزمایشگاه منتقل شدند. سایر مراحل این پژوهش در آزمایشگاه المهدی اصفهان پیگیری گردید. تست‌های کمی شامل پارامترهای مربوط به عملکرد کبدی، پارامترهای مربوط به عملکرد کلیوی، سطح سرمی برخی الکترولیت‌ها و قند خون با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و به کمک دستگاه Automatic analyzer 902 ساخت شرکت Hitachi و همچنین شمارش کامل سلول‌های خونی (CBC) به کمک دستگاه سل کانتر Sysmex مدل K-1000 انجام شده است. پارامترهای مربوط به کبد از جمله آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST (Aspartate transaminase، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT (Alanine transaminase، آلکالین فسفاتاز

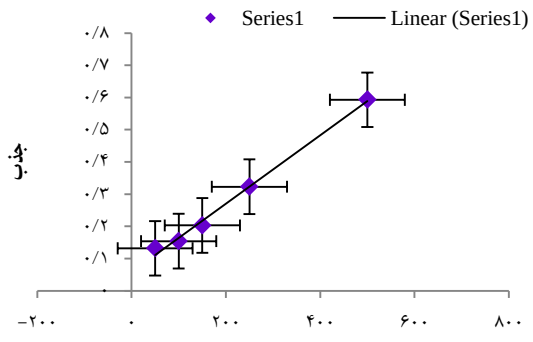
(Alkaline phosphatase) ALP و همچنین سطح سرمی بیلی‌روبین و اوریک اسید می‌باشد. پارامترهای مربوط به عملکرد کلیوی شامل سطح سرمی کراتینین و میزان نیتروژن اوره‌ی خون (Blood urea nitrogen) BUN است. الکترولیت‌هایی که بررسی شده‌اند شامل سطح سرمی سدیم، پتاسیم و کلسیم می‌باشد. نتایج آزمایشات فوق مورد تجزیه و تحلیل پاتولوژیست قرار گرفت.

برای آنالیز نمونه‌های بافتی، ابتدا تعدادی از نمونه‌های فوق برش‌هایی توسط دستگاه میکروتوم صورت گرفت و سپس فرایند رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین انجام گردید (۳٤). در نهایت نمونه‌های بافتی زیر نظر همکار پاتولوژیست بررسی شد.

آنالیز نتایج: در هر گروه، میانگین داده‌های مجموع ۱۰ رات محاسبه و نتایج کمی حاصل شده‌ی هر گروه از آزمایشات به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردید و در پایان نتایج حاصل از آزمایشات فوق جهت مقایسه‌ی بین گروه شاهد، گروه حامل و گروه‌هایی که دوزی از عصاره را دریافت کردند، مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آزمون آماری one-way ANOVA برای متغیرهای پارامتریک استفاده شد.

یافته‌ها

عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه پس از استحصال برای تعیین بازده‌ی عصاره مورد بررسی قرار گرفت. درصد بازده‌ی عصاره‌گیری (W/W) ۳۳/۳ درصد می‌باشد. مقادیر تام فنول محاسبه شده بر مبنای روش فولین سیوکالتو، به کمک نمودار استاندارد ترسیم شده بر اساس میزان جذب در غلظت‌های گالیک اسید (شکل ۱) بیانگر این است که عصاره شامل ۱۰۸ میلی‌گرم از ترکیبات فنولی در هر گرم عصاره بر مبنای گالیک اسید می‌باشد.



شکل ۱. منحنی استاندارد جذب گالیک اسید

پنج غلظت از گالیک اسید تهیه شده و جذب آن‌ها در طول موج ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شده است. با خواندن مقدار جذب محلول تهیه شده از عصاره نسبت میزان ترکیبات تام فنولی آن 108mg/g عصاره بر اساس گالیک اسید تعیین گردید.

در مشاهدات کیفی و روزانه، تغییر قابل مشاهده‌ای در رنگ پوست و موی رات‌ها مشاهده نشد. در طی مطالعه، علایمی در ارتباط با کرختی و بی‌حالی در حیوان دیده نشد. در طی سی روز آزمایش در بین رات‌هایی که دوز ۲۰۰mg/kg از عصاره را دریافت کرده بودند، علائم قابل مشاهده‌ای از یبوست در مقایسه با گروه‌های مورد و شاهد، مشاهده شد. علاوه بر این با دوز بالای عصاره، افزایشی در وزن رات‌ها مشاهده گردید. میانگین وزن رات‌ها در گروه حامل ۲g ± ۲۱۳ در گروهی که دوز ۵۰mg/kg از عصاره را دریافت کردند، ۲g ± ۲۱۵، در گروهی که دوز ۱۰۰mg/kg را دریافت کردند، ۲g ± ۲۳۳ و در گروهی که دوز ۲۰۰mg/kg از عصاره را دریافت کردند، میانگین وزن رات‌ها به ٤g ± ۲۵۲ افزایش یافته بود. در نتیجه در گروه‌های مورد بررسی، با افزایش دوز عصاره، افزایش وزن دیده شد.

پارامترهای بیوشیمیایی: آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین‌فسفاتاز (ALP) از آنزیم‌های شاخص کبدی هستند. زمانی که سلول‌های کبدی آسیب می‌بینند، این آنزیم‌ها وارد خون شده، افزایش غلظت آن‌ها را شاهد خواهیم بود. در میزان سرمی آنزیم AST که یکی از آنزیم‌های اصلی کبدی می‌باشد، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل و گروه شاهد مشاهده نشد، اما در گروه‌هایی که عصاره را دریافت کردند افزایشی در سطح سرمی این آنزیم در تمامی دوزهای دریافتی مشاهده گردید که این افزایش فقط در گروه‌هایی از رات که دوز ۱۰۰mg/kg از عصاره را دریافت نمودند، از لحاظ آماری دارای سطحی از معنی‌داری می‌باشد (جدول ۱).

ALT دیگر آنزیم کبدی است که بازهم تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های حامل و شاهد قابل مشاهده نبود، اما با افزایش دوز، سطح سرمی این آنزیم افزایش یافت، بنابراین در گروه‌هایی از رات‌ها که عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰mg/kg را دریافت نمودند، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار شد (جدول ۱).

فعالیت ALP، آنزیم دیگر کبدی، کاهش معنی‌داری در مقایسه بین گروه حامل، گروه دریافت‌کننده‌ی دوز ۵۰mg/kg و گروه شاهد (جدول ۱) نشان داد. غلظت اسید اوریک، تنها بین گروه حامل با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱) که می‌تواند ناشی از تویین موجود در حامل باشد و در سایر گروه‌ها با وجود افزایش میانگین گروه‌هایی که دوزی از عصاره‌ی زرین گیاه را دریافت کردند، اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بیلی‌روبین توتال دیگر پارامتر کبدی است که بین گروه حامل و سایر گروه‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱. اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه (*D. kostchyi*) بر پارامترهای بیوشیمیایی و خونی در گروه‌های مورد مطالعه

شاخص زیست پزشکی	گروه شاهد (بدون درمان)	گروه حامل	*D. kostchyi* (50mg/kg)	*D. kostchyi* (100mg/kg)	*D. kostchyi* (200mg/kg)
AST (U/L)	۲۱۳ ± ۲/۱	۱۹۲ ± ۱۱/۳	۲۶۳ ± ۳۹/۱	۲۴۳ ± ۱۵*	۲۱۸ ± ۴/۲
ALT (U/L)	۴۲/۲ ± ۴/۵	۴۰/۵ ± ۲/۷	۴۴/۲ ± ۶/۱	۵۹ ± ۴/۹۱**	۵۶/۷ ± ۴/۷**
ALP (U/L)	۳۰۵ ± ۲۳***	۱۷۴ ± ۱۶	۷۵/۸ ± ۸***	۱۳۹ ± ۱۳	۱۶۴ ± ۲۶
UA (mg/dL)	۶/۴ ± ۰/۳۵*	۴/۸۸ ± ۰/۲۵	۵/۵۹ ± ۰/۳۳	۵/۴۵ ± ۰/۳۴	۵/۴۷ ± ۰/۳۲
Bilirubin total (mg/dL)	۰/۳ ± ۰/۰۱	۰/۳۱ ± ۰/۰۰۴	۰/۳۱ ± ۰/۰۰۹	۰/۳۳ ± ۰/۰۰۸	۰/۳۱ ± ۰/۰۰۸
Cr (mg/dL)	۰/۴۱ ± ۰/۰۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۲۱	۰/۵۲ ± ۰/۰۲**	۰/۴۶ ± ۰/۰۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۱۵
BUN (mg/dL)	۲۷/۹ ± ۱/۲	۲۵/۶ ± ۰/۹۹	۲۹/۷ ± ۲/۳	۲۹/۳۳ ± ۰/۸۹	۲۶/۳ ± ۰/۴۹

عصاره‌ی هیدروالکلی و حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰ سر رات می‌باشد. اعداد به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده است و برای بررسی معنی‌دار بودن از آزمون آماری one-way ANOVA استفاده شده است. مقایسه آماری با گروه حامل انجام شده است (*: $P < ۰/۰۵$، **: $P < ۰/۰۱$، ***: $P < ۰/۰۰۱$).

AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; ALP: Alkaline phosphatase; UA: Uric acid; Cr: Creatinine; BUN: Blood urea nitrogen.

سنجش میزان کراتینین، یک پارامتری عملکرد کلیوی محسوب می‌شود و افزایش آن می‌تواند حاکی از نارسایی در عملکرد کلیوی باشد. در بررسی غلظت سرمی کراتینین، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد، اما در مقایسه‌ی گروه حامل با سایر گروه‌ها، تنها افزایش قابل توجهی در گروهی که دوز ۵۰mg/kg از عصاره را دریافت کردند مشاهده شد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). در غلظت میزان نیتروژن موجود در اوره‌ی خون (BUN)، دیگر پارامتر مربوط به عمکلرد کلیوی، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل و سایر گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۱).

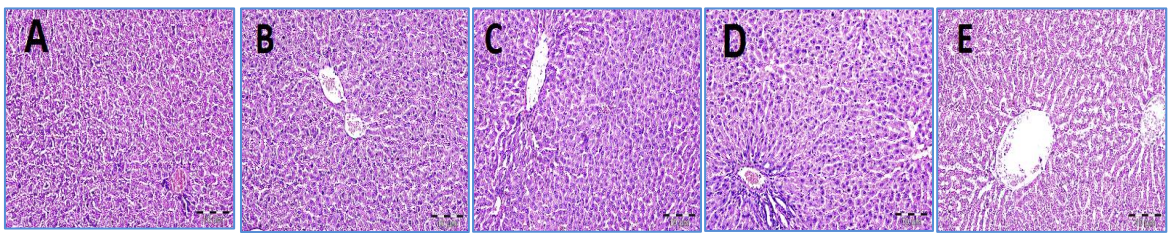
مطالعات بافت‌شناسی: بررسی میکروسکوپیک ساختار بافت های کبد و کلیه پس از سی روز، در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره و گروه‌های حامل و شاهد انجام گردید. در این بررسی، در سطح میکروسکوپیک، هیچ اثری از آسیب سلولی در بافت‌های کبد و کلیه مشاهده نشد (شکل ۲ و ۳).

فاکتورهای هماتولوژیک: فاکتورهایی همچون هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش سلول‌های خونی، ارزیابی جامعی از نحوه‌ی تأثیر دارو بر روی پروفایل خونی به دست می‌دهد. تمامی فاکتورها از جمله تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، میانگین حجم هموگلوبین (MCV)، میانگین مقدار هموگلوبین (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC)، تعداد پلاکت‌ها (PLT)، هموگلوبین (HGB) و درصد توزیع سلول‌های خونی (RDW) هیچ اختلاف معنی‌داری در بین گروه حامل و سایر گروه‌هایی که عصاره را دریافت کردند و گروه شاهد دیده نشد (جدول ۲).

قند و الکترولیت‌ها: در این پژوهش هیچ تغییر معنی‌داری بین قند خون ناشتای گروه حامل و گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده‌ی عصاره مشاهده نشد. در خصوص الکترولیت‌هایی همچون سدیم، کلسیم و پتاسیم در بین گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری بین گروه حامل با سایر گروه‌ها مشاهده نشد (جدول ۳).

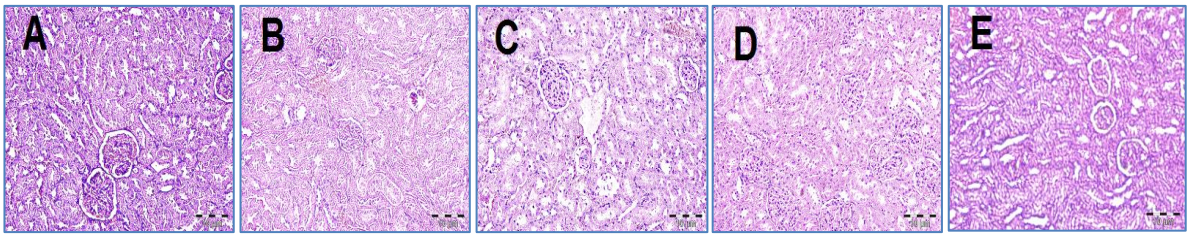
بحث

در مطالعه‌ی حاضر پس از ۳۰ روز تجویز عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه علاوه بر مشاهده‌ی برخی علائم کیفی، به صورت کمی برخی پارامترهای بیوشیمیایی، هماتولوژیک، الکترولیت‌ها و قند خون مورد بررسی قرار گرفته است.



شکل ۲. عکس میکروسکوپی بافت کبد رات پس از دریافت عصاره‌ی زرین گیاه (بزرگ‌نمایی تصویر ۲۰۰×).

گروه‌های A تا E، به مدت ۳۰ روز در پژوهش مورد تیمار قرار گرفتند و سپس بافت کبدی آن‌ها در مطالعات بافت‌شناسی استفاده گردید. گروه‌های A، B و C به ترتیب دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ mg/kg از عصاره را دریافت کرده‌اند. گروه‌های D و E هم به ترتیب گروه‌های حامل و شاهد می‌باشند. در این بررسی آسیب بافتی در سطح میکروسکوپیک مشاهده نشد. فرایند رنگ‌آمیزی با روش هماتوکسیلین- ائوزین انجام گردید.



شکل ۳. عکس میکروسکوپی بافت کلیه‌ی رات پس از دریافت عصاره‌ی زرین گیاه (بزرگ‌نمایی تصویر ۲۰۰×).

گروه‌های A تا E، به مدت ۳۰ روز در پژوهش مورد تیمار قرار گرفتند و سپس بافت کلیه‌ی آن‌ها در مطالعات بافت‌شناسی استفاده گردید. گروه‌های A، B و C به ترتیب دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ mg/kg از عصاره را دریافت کرده‌اند. گروه‌های D و E هم به ترتیب گروه‌های حامل و شاهد می‌باشند. در این بررسی آسیب بافتی در سطح میکروسکوپیک مشاهده نشد. فرایند رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین انجام گردید.

به صورت کیفی علائمی از یبوست در رات‌هایی که دوزی از عصاره را دریافت کردند مشاهده شد. عصاره‌ی زرین گیاه مهارکننده‌ی حرکات روده است و به همین سبب می‌تواند در رات‌ها سبب ایجاد یبوست شود (٤-٦، ١٤) که این مشاهدات با سایر داده‌های علمی مشابهت و همخوانی داشت (٦).

نبود علائمی مانند کرختی و بی‌حالی در رات‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره می‌تواند حاکی از این باشد که عصاره در دوزهای مورد استفاده، اثرات سداتیوی بر روی رات‌ها نداشته است.

در این پژوهش، افزایش معنی‌دار مشاهده شده در آنزیم‌های AST و ALT می‌تواند ناشی از متابولیسم کبدی ترکیبات موجود در عصاره و همچنین اثر آن بر عملکرد کبدی باشد. بدیهی است آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله محل نگهداری و غذای مصرفی رات‌ها، نژاد، تحرک و غیره قرار می‌گیرند (۳۵).

با توجه به نتایج این پژوهش نیاز است در تحقیقات بعدی میزان آنزیم‌های کبدی بیشتر مورد بررسی قرار گرفته ولی تجویز فرآورده‌های زرین گیاه در افراد دارای نارسایی کبدی، باید با احتیاط صورت گیرد.

ALP دیگر آنزیمی است که یکی از محل‌های تولید و آزادسازی آن به خون کبد می‌باشد (۳۵). در اندازه‌گیری این آنزیم در گروه حامل، کاهش معنی‌داری مشاهده شد. این کاهش را می‌توان به اثرات توپین ۸۰ بر پارامترهای کبدی نسبت داد (۳٦).

همچنین کاهش معنی‌دار این آنزیم در رات‌هایی که دوز ۵۰mg/kg از عصاره را دریافت کردند بازهم دلیل دیگری بر نیاز به بررسی بیشتر اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه بر آنزیم‌های کبدی می‌باشد. از آن‌جایی که از مواد مؤثره‌ی شناخته شده در عصاره‌ی زرین گیاه، فلاونوییدهای اپی‌ژنین و لوتئولین هستند (۱۸).

همچنین Hostetler و همکاران نشان داده‌اند که متابولیسم ناشی از فلاونوییدها می‌تواند اثراتی بر عمکلرد و پارامترهای کبدی از جمله آنزیم‌های کبدی داشته باشد (۳۷)، بنابراین می‌توان تغییر در آنزیم‌های کبدی را به متابولیسم این فلاونوییدها هم نسبت داد.

جدول ۲. اثر عصاره هیدروالکلی زرین گیاه (*D. kostchyi*) بر پارامترهای هماتولوژیکی (CBC) رات‌های مورد مطالعه

پارامترهای هماتولوژیک	Control (no treatment)	Vehicle treated	*D. kostchyi* (50mg/kg)	*D. kostchyi* (100mg/kg)	*D. kostchyi* (200mg/kg)
WBC (× 103 n/µL)	۴/۵ ± ۰/۴۷	۵/۹ ± ۰/۴۹	۶/۲۶ ± ۰/۸۷	۵/۷۵ ± ۰/۴۷	۶/۷۴ ± ۰/۹۹
RBC (× 106 n/µL)	۷/۸۸ ± ۰/۲۶	۷/۳ ± ۰/۱۷	۷/۷۲ ± ۰/۱۴	۷/۰۵ ± ۰/۱۲	۷/۷ ± ۰/۱۶
HGB (g/dL)	۱۵/۵۲ ± ۰/۴۴	۱۴/۷۱ ± ۰/۳۵	۱۵/۶۸ ± ۰/۳۲	۱۴/۱۷ ± ۰/۲۷	۱۵/۰۲ ± ۰/۲۶
HCT (%)	۴۲/۲ ± ۰/۸۱	۴۰/۰۷ ± ۰/۷۶	۴۱/۷۷ ± ۰/۸۲	۳۸ ± ۰/۶۶	۴۰/۵۲ ± ۰/۷۳
MCV (µm3)	۵۶/۰۲ ± ۰/۸۱	۵۳/۵± ۰/۸۳	۵۳/۴۳ ± ۰/۴۴	۵۳/۸۶ ± ۰/۵۵	۵۲/۶۵ ± ۰/۸۴
MCH (ρg)	۲۰/۰۸ ± ۰/۲	۱۹/۷۲ ± ۰/۲۶	۲۰/۳۳ ± ۰/۱۹	۲۰/۱ ± ۰/۲	۱۹/۵۲ ± ۰/۳۸
MCHC (g/dL)	۳۵/۸۹ ± ۰/۵۱	۳۶/۸۴ ± ۰/۱۵	۳۷/۶ ± ۰/۳۱	۳۷/۳ ± ۰/۲۴	۳۷/۱ ± ۰/۳۴
PLT (× 103 n/µL)	۷۰۷ ± ۸۱/۶	۶۰۴ ± ۵۷/۶	۶۶۱ ± ۷۱/۴	۷۳۲ ± ۶۸	۴۹۹ ± ۱۱۰
RDW (%)	۱۵/۵ ± ۰/۶	۱۵/۱۱ ± ۰/۵۴	۱۴/۴۶ ± ۰/۴۲	۱۴/۳۲ ± ۰/۲۷۳	۱۵/۰۴ ± ۰/۴

عصاره هیدروالکلی یا حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰سر رات می باشد. اعداد به صورت Mean±SEM بیان شده است. در مقایسه آماری تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و درمان وجود نداشت (one-way ANOVA).

CBC= complete blood count; WBC= white blood cells; RBC= red blood cells; HGB= hemoglobin; HCT= hematocrit; MCV= mean corpuscular volume; MCH= mean corpuscular hemoglobin; MCHC= mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT= platelet; RDW= red cell distribution width.

جدول ۳. اثر عصاره‌ی هیدروالکلی زرین گیاه (***D. kostchyi***) بر قند خون و الکترولیت‌ها در رات‌های مورد مطالعه

گلوکز و الکترولیت‌ها	گروه شاهد (بدون درمان)	گروه حامل	*D. kostchyi* (50mg/kg)	*D. kostchyi* (100mg/kg)	*D. kostchyi* (200mg/kg)
FBS (mg/dL)	۴ ± ۱۴/۹۲	۷۷ ± ۵/۲	۶۱/۸ ± ۸/۷	۵۹/۶ ± ۷	۸۲/۵ ± ۶/۴
Ca^{2+} (mg/dL)	۱۱/۲ ± ۰/۳۷	۱۰/۵ ± ۰/۲۳	۱۱ ± ۰/۱۴	۱۰/۹ ± ۰/۱	۱۰/۷ ± ۰/۱
K^{+} (mM)	۴/۱ ± ۰/۰۵	۴/۰۱ ± ۰/۰۵	۴/۱۶ ± ۰/۰۹	۴/۱۳ ± ۰/۰۷	۴/۱۳ ± ۰/۰۶
Na^{+} (mM)	۱۴۲ ± ۰/۹	۱۴۱ ± ۰/۹	۱۴۲± ۰/۷	۱۴۳± ۰/۷	۱۴۱ ± ۰/۸

عصاره‌ی هیدروالکلی یا حامل به مدت ۳۰ روز به صورت خوراکی برای رات تجویز شد. هر عدد شامل میانگین نتایج ۱۰ سر رات می باشد. اعداد به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شده است. در مقایسه‌ی آماری، تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و درمان وجود نداشت (one-way ANOVA) (FBS: Fasting blood sugar)

اسید اوریک هم از دیگر پارامترهایی است که مورد بررسی قرار گرفت. مجدداً کاهش معنی‌داری در گروه حامل نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که آن را می‌توان به اثرات تویین ۸۰ نسبت داد (۳۶).

در تحقیقاتی نشان داه شده که کراتینین و BUN دو پارامتر مربوط به عملکرد کلیوی هستند که افزایش در غلظت آن‌ها، نتایج قابل اعتماد از نحوه‌ی عملکرد کلیوی به دست می‌دهد. همچنین کراتینین از پروتئین‌هایی است که در عضلات تولید می‌شود (۳۸). افزایش معنی‌دار کراتینین در دوز ۵۰mg/kg می‌تواند ناشی از اثرات کلیوی این عصاره در این دوز خاص داشته باشد. همچنین با توجه به این که در این مطالعه با افزایش دوز، افزایش وزن را شاهد بودیم می‌توان افزایش کراتینین را به افزایش وزن هم نسبت داد. بنابراین در مطالعات آینده بررسی اثرات عصاره‌ی زرین گیاه بر عملکرد کلیوی مورد نیاز بوده و همچنین مصرف زرین گیاه برای افراد دارای مشکلات کلیوی و افراد دارای اضافه وزن باید با احتیاط صورت گیرد.

شمارش کامل خون که در اصطلاح به آن CBC گفته می‌شود، یک آزمایش خون معمول است که گلبول‌های سفید و قرمز خون، پلاکت‌ها و سطح هموگلوبین و سایر شاخص‌های خونی را اندازه می‌گیرد. تست CBC differential جزئیاتی در رابطه با گلوبول‌های سفید هم ارائه می‌دهد. این تست همچنین گلبول‌های قرمز را از نظر نرمال بودن، بررسی می‌کند. این آزمایش، قابلیت تشخیص آنمی و تضعیف سیستم ایمنی را دارد (۳۹). با توجه به این که در این پژوهش تغییر معنی‌داری در رابطه با این تست‌های هماتولوژیکی دیده نشد، می‌توان بیان کرد که عصاره‌ی زرین گیاه، اثرات و عوارضی ناخواسته بر پروفایل هماتولوژیکی سرم خون از جمله سیستم ایمنی ندارد.

نتایج سایر تست‌ها، اطلاعات ارزشمندی را در اختیار ما قرار داد. میزان قند خون ناشتا (FBS)، کلسیم، سدیم و پتاسیم نیز سایر پارامترهای مورد بررسی بودند. الکترولیت و بالانس مایع (مثل سدیم، پتاسیم) وضعیت متابولیسم بدن را بررسی می‌کند و میزان اثرات عصاره بر سایر ارگان‌ها را به نمایش می‌گذارند (۴۰). در ارتباط با قند خون اگرچه در مطالعات قبلی حاکی از اثر عصاره بر رات‌های مبتلا به دیابت بوده است اما این پژوهش حاکی از آن بود که این عصاره در رات‌های سالم تأثیری بر قند خون ندارد. لذا مصرف آن در افراد مبتلا به دیابت ملیتوس، مشکل‌زا نیست. داده‌های این پژوهش مبنی بر عدم تأثیر عصاره روی قند خون در رات‌های سالم با مطالعات Eskandari و همکاران همخوانی داشت (۳۰).

همچنین نبود تغییرات معنی‌دار در الکیترولیت‌های سرمی نشان‌دهنده ی عدم عوارض این عصاره بر بالانس الکترولیت‌های بدن دارد. از آن‌جایی که پتاسیم یک الکترولیت درون زسلولی می‌باشد، این موضوع که میانگین تمامی گروه‌ها از نظر پتاسیم در دامنه‌ی نرمال پذیرفته شده برای رات‌ها (۳/۸۸ mM تا ۶/۱۱) قرار دارد و همچنین تغییر معنی‌داری هم بین گروه‌ها مشاهده نشده است، می‌توان نتیجه گرفت در مراحل خون‌گیری و انجام آزمایشات حیوانی همولیز و تخلیه‌ی سلول‌های خونی صورت نگرفته است و نشان از صحت سایر نتایج دارد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی تحقیقات فوق بیانگر این بود که عصاره‌ی زرین گیاه، اثرات ناخواسته و سوئی بر پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیک خون ندارد. توصیه می‌گردد که اثرات عصاره در دوزهای بالا بر روی عملکرد کبدی و کلیوی به صورت دقیق و اختصاصی مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با شناسه‌ی اخلاق IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.664 توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت.

References

1. Rechinger KH. Dracocephalum. In: Iranica F, Rechinger KH, editor. Akademische Druck-U. Austria: Verlagsanstalt Graz; 1986. p. 218-31.
2. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed M, Ghorbani A. *Labiatae* family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian J Pharm Res 2010; 4(2): 63-79.
3. Ghahreman A. Flora of Iran in natural colors. Tehran, Iran: Tehran University Publication; 1987. p. 432.
4. Sadraei H, Asghari G, Kasiri F. Antispasmodic effect of Dracocephalum kotschyi hydroalcoholic extract on rat ileum contraction. Res Pharm Sci 2015; 10: 446-52.
5. Sadraei H, Asghari G, Alinejad M. Comparison of antispasmodic effect of hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschyi Boiss. in rat uterus and ileum. Res Pharm Sci 2016; 11(4): 284-92.
6. Sadraei H, Asghari G, Shahverdi F. Antidiarrhoeal assessment of hydroalcoholic and hexane extracts of Dracocephalum kotschyi Boiss. and apigenin in mice. Res Pharm Sci 2016; 11(3): 200-9.
7. Sadraei H, Asghari G, Khanabadi M, Minaiyan M. Anti-inflammatory effect of apigenin and hydroalcoholic extract of Dracocephalum kotschyi on acetic acid-induced colitis in rats. Res Pharm Sci 2017; 12(4): 322-29.
8. Kalantar K, Gholijani N, Mousaei N, Yazdani M, Amirghofran Z. Investigation of Dracocephalum kotschyi plant extract on the effective inflammatory transcription factors and mediators in activated macrophages. Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem 2018; 17(1): 39-49.
9. Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi MH. Evaluation of the immunomodulatory effect of five herbal plants. J Ethanopharmacol 2000; 72: 167-72.
10. Faham N, Javidnia K, Bahmani M, Amirghofran Z. Calycopterin, an immune inhibitory compound from the extract of Dracocephalum kotschyi. Phytother Res 2008; 22(9): 1154-8.
11. Jahaniani F, Ebrahimi SA, Rahbar-Roshandel N, Mahmoudian M. Xanthomicrol is the main cytotoxic component of Dracocephalum kotschyi and a potential anti-cancer agent. Phytochemistry 2005; 66(13): 1581-92.
12. Talari M, Seydi E, Salimi A, Mohsenifar Z, Kamalinejad M, Pourahmad J. Dracocephalum: Novel anticancer plant acting on liver cancer cell mitochondria. Biomed Res Int 2014; 2014, 892170.
13. Mashak B, Hoseinzadeh M, Ehsanpour A, Ghanbaran AR, Vakili M. Evaluation of treatment response and side effects of Spinal-Z in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma: a double-blind randomized controlled trial. Jundishapur J Chronic Dis Care 2017; 6(3): e57870.
14. Sadraei H, Ghanadian M, Asghari G, Sekhavati N. Antispasmodic activity of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschyi extract, on rat ileum contraction. J Herbmed Pharmacol 2018; 7(2): 100-5.
15. Sadraei H, Ghanadian M, Moazeni S. Inhibitory effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschyi, and its components luteolin, apigenin and apigenin-4`-galactoside on intestinal transit in mice. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(1): 8-13.
16. Sadraei H, Ghanadian SM, Asghari G, Gavahian A. Bronchodilator effect of apigenin and luteolin, two components of Dracocephalum kotschyi on isolated rabbit trachea. J Herbmed Pharmacol 2019; 8(4): 281-6.
17. Sadraei H, Sajjadi SE, Tarafdar A. Antispasmodic effect of hydroalcoholic and flavonoids extracts of Dracocephalum kotschyi on rabbit bladder. J Herbmed Pharmacol 2020; 9(2): 147-52.
18. Gohari AR, Saeidnia S, Matsuo K, Uchiyama N, Yagura T, Ito M, et al. Flavonoid constituents of Dracocephalum kotschyi growing in Iran and their trypanocidal activity. J Nat Med 2003; 57(6): 250-2.
19. Li RR, Pang LL, Du Q, Shi Y, Dai WJ, Yin KS. Apigenin inhibits allergen-induced airway inflammation and switches immune response in a murine model of asthma. Immunopharmacol Immunotoxicol 2010; 32(3): 364-70.
20. Choi JR, Lee CM, Jung ID, Lee JS, Jeong YI, Chang JH, et al. Apigenin protects ovalbumin induced asthma through the regulation of GATA-3 gene. Int Immunopharmacol 2009; 9(7-8): 918-24.
21. Wojcik KA, Skoda M, Koczurkiewicz P, Sank M, Czyz J, Michalik M. Apigenin inhibits TGF-β1-induced fibroblast to myofibroblast transition in human lung fibroblast populations. Pharmacol Rep 2013; 65(1): 164-72.
22. Li LH, Lu B, Wu HK, Zhang H, Yao FF. Apigenin inhibits TGF-β1-induced proliferation and migration of airway smooth muscle cells. Int J Clin Exp Pathol 2015; 8(10): 12557-63.
23. Das M, Ram A, Ghosh B. Luteolin alleviates bronchoconstriction and airway hyperactivity in ovalbumin sensitized mice. Inflamm Res 2003; 52(3): 101-6.
24. Shen ML, Wang CH, Lin CH, Zhou N, Kao ST, Wu DC. Luteolin attenuates airway mucus overproduction via inhibition of the GABAergic system. Sci Rep 2016; 6: 32756.
25. Zhang GM, Gong GQ, Li LL, Yang LN, Wang Y. Effects of luteolin on the proliferation of rat lung fibroblasts. Chinese J Nat Med 2009; 7(4): 297-300.
26. Chen L, Zhao W. Apigenin protects against bleomycin induced lung fibrosis in rats. Exp Ther Med 2016; 11(1): 230-4.
27. Chen CY, Peng WH, Wu LC, Wu CC, Hsu SL. Luteolin ameliorates experimental lung fibrosis both in vivo and in vitro: implications for therapy of lung fibrosis. J Aagricul Food Chem 2010; 58(22): 11653-61.
28. Hosseini-Sharifabad A, Sadraei H, Hashemnia M, Sajjadi SE, Mirdamadi Z. Effect of hydroalcoholic and aqueous extracts of Dracocephalum kotschyi on bleomycin induced pulmonary fibrosis. J Herbmed Pharmacol 2021; 10(2): 204-17.
29. Sadjjadi SE, Movahaedian-Atar AM, Yekaian A. Antihyperlipidemic effect of hydroalcoholic extract, and polyphenolic fraction from Dracocephalum kotschyi Boiss. Pharm Acta Helv 1998; 73(3): 167-70.

30. Eskandari M, Mohammadi J, Delaviz H, Hosseini E. The effects of hydroalcoholic extract of Dracocephalum Kotschyi on blood glucose and lipid profile in diabetic rats. J Fasa Uni Med Sci 2016; 5(4): 526-33.
31. Sadraei H, Jafarian A, Asghari G, Poladsanj M. Evaluation of immunomodulatory effect of Dracocephalum kotschyi extract on immune system in animal model. Proceeding of the International Congress of Isfahan Biomedical Sciences. 26th September to1st October 2020; p. 216.
32. Singh J. Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. [Online]. 2007; Avilable from: URL: https://www.philadelphia.edu.jo/academics/s_telfah/uploads/method%20of%20extraction.pdf
33. Blainski A, Lopes GC, de Mello JCP. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from Limonium brasiliense L. Molecules 2013; 18(6): 6852-65.
34. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. CSH Protoc 2008; pdb.prot4986.
35. Kunutsor SK, Apekey TA, Seddoh D, Walley J. Liver enzymes and risk of all-cause mortality in general populations: a systematic review and meta-analysis. Int J Epidemiol 2014; 43(1): 187-201.
36. Ellis A, Crinis N, Webster L. Inhibition of etoposide elimination in the isolated perfused rat liver by Cremophor EL and Tween 80. Cancer Chemother Pharmacol 1996; 38(1): 81-7.
37. Hostetler GL, Ralston RA, Schwartz SJ. Flavones: Food sources, bioavailability, metabolism, and bioactivity. Adv Nutr 2017; 8(3): 423-35.
38. Hosten A. BUN and Creatinine. In: Walker H, Hall W, Hurst J, editors. Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations. 3rd ed. Boston, Massachusetts: Butterworths; 1990.
39. George-Gay B, Parker K. Understanding the complete blood count with differential. J Perianesth Nurs 2003; 18(2): 96-114.
40. Edelman IS, Leibman J. Anatomy of body water and electrolytes. Am J Med 1959; 27(2): 256-77.

DOI: *10.48305/jims.v40.i669.0278*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 669, 1st Week, July 2022**

Received: 19.12.2021 Accepted: 09.05.2022 Published: 28.06.2022

The Effect of Dracocephalum Kotschyi Hydroalcoholic Extract on Biochemical and Hematological Parameters in Rat

Amirmahdi Safary[1], Fouzieh Zadhoush[2], Afsaneh Yagdaneh[3], Ali Hosseini-Sharifabad[4], Ardeshir Talebi[5], Hassan Sadraei[6]

Original Article

Abstract

Background: *Dracocephalum kotschyi* is one of the native medicinal plants of Iran with anti-inflammatory and spasmolytic properties. The aim of this study was to investigate the effects of *D. kotschyi* hydroalcoholic extract on blood biochemical and hematological parameters in rat.

Methods: In this study, hydroalcoholic extract was prepared by maceration technique and its phenolic content was assessed by Folin-Ciocalteu method. The extract was then administered orally for 30 days (50, 100 & 200 mg/kg) in 3 different rat groups. A normal control group and vehicle treated group were also included for comparison. After a month of extract administration and qualitative observations, blood samples were taken from all the rats for quantitative determination of biochemical and hematological parameters. The liver and kidney sections were also prepared for microscopic pathological examination.

Findings: According to our findings, oral consumption of hydroalcoholic extract of *D. kotschyi* over a month induced no substantial changes in the measured biochemical and hematological parameters. The high dose of hydroalcoholic extract of *D. kotschyi* caused a slight increase in the amount of some liver enzymes (AST, ALT and ALP) and the dose of 50 mg/kg elevated creatinine levels. However, examination of liver and kidney sections showed no microscopic tissue damage.

Conclusion: Short term consumption of hydroalcoholic extract of *D. kotschyi* has no adverse effect on blood biochemical and hematological parameters. However, as long as the long term effect of the extract on liver and renal function is not fully understood, consumption of *D. kotschyi* in patients with hepatic or renal failure is not recommended.

Keywords: *Dracocephalum kotschyi*; Liver function tests; Kidney function tests

Citation: Safary A, Zadhoush F, Yagdaneh A, Hosseini-Sharifabad A, Talebi A, Sadraei H. **The Effect of Dracocephalum Kotschyi Hydroalcoholic Extract on Biochemical and Hematological Parameters in Rat.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(669): 278-87.

1- Pharmacy Student, School of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Water and Electrolytes Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Associate Professor Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hassan Sadraei, Associate Professor Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: sadraei@pharm.mui.ac.ir