



دانشگاه علوم پزشکی و  
خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده داروسازی اردبیل

پایان نامه جهت دریافت درجه‌ی دکتری حرفه‌ای داروسازی

بررسی اثرات عصاره الکلی گیاه *Capparis spinosa* L. بر بقاء سلول‌های پانکراس موش  
صحرائی

اساتید راهنما:

دکتر سارا مصطفی لو

دکتر شهاب بهلولی

نگارش:

نگارش: محسن آزاد

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و  
خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده داروسازی اردبیل

پایان نامه جهت دریافت درجه‌ی دکتری حرفه‌ای داروسازی

بررسی اثرات عصاره الکلی گیاه *Capparis Spinosa L.* بر بقاء سلول‌های پانکراس موش  
صحرائی

اساتید راهنما:

دکتر سارا مصطفی لو

دکتر شهاب بهلولی

نگارش:

نگارش: محسن آزاد

استاد مشاور:

دکتر پرهام محمدی

## تقدیم

تقدیم به مادر عزیزتر از جانم

مادر، تک واژه‌ایست زیبا، مادر، عین زیباییست و البته که زیباتر

از زیبایی چیزی نیست

چشم‌سار مهربانی مادر است

تقدیم با بوسه بر دستان پدرم

پدر، می‌بخشد بی‌دریغ و دوست می‌دارد بی‌چشم‌داشت، زندگی

اگر زنده است، دلیل آن پدران‌اند

تقدیم به همسر فداکارم

به پاس قدردانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی

سرشار از سلامت و آرامش و آسایش برای من فراهم آورده

است.

## سپاسگزاری

به پاس کلام گهربار حضرت علی(ع) که می فرمایند "من علّمنی حرفاً فقد صیرنی عبداً"

از زحمات مجدّانه و دلسوزانه‌ی همه اساتید بزرگوارم، به خصوص استاد ازجمند و فرهیخته؛ سرکار خانم دکتر سارا مصطفی‌لو که در کمال سعه صدر و با حسن خلق و فروتنی، زحمت راهنمایی و همراهی این پایان نامه را برعهده گرفتند و هیچ گونه مساعدتی را در این ساحه از اینجانب دریغ ننمودند؛ کمال تشکر و امتنان را دارم.

امید است که نتیجه حاصله پاسخ‌گوی بخشی از زحمات این عزیزان باشد.

با تشکر از استاد گرانقدرم دکتر شهاب بهلولی  
با تشکر از استاد گرانقدرم دکتر پرهام محمدی

## چکیده فارسی

**مقدمه و هدف:** گیاهان از دیرباز برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند. گیاه *Capparis spinosa* L. (کبر) متعلق به خانواده Capparaceae از گیاهان مدیترانه‌ای می‌باشد و به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی مختلف از قبیل فنول‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها دارای اثرات فارماکولوژیکی متفاوتی است. یکی از اثرات گیاه *C. spinosa* در بیماری دیابت می‌باشد و بررسی‌هایی نیز برای اثبات این خواص گیاه صورت گرفته است. ترکیبات پلی‌فنولی این گیاه از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند. بطور سنتی بیماران دیابتی از غنچه‌های گل‌دار این گیاه به صورت خوراکی برای درمان دیابت استفاده می‌کنند. هدف این پژوهش بررسی اثر عصاره اتانولی غنچه گیاه *C. spinosa* بر بقاء سلولهای آیلت پانکراس می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** پس از جداسازی آیلت‌های پانکراس موش صحرایی، دوزهای لگاریتمی از عصاره اتانولی *C. spinosa* ( $10^0$ ،  $10^2$ ،  $10^3$ ،  $10^4$ ) به سلول‌های آیلت اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت انکوبه شدن،  $50 \mu\text{M}$  از محلول MTT ( $0.5 \text{ mg/ml}$ ) در ۳۷ درجه اضافه شد. بعد از ۴ ساعت در طول موج ۵۷۰ جذب نمونه را گرفته و بقاء سلول‌های آیلت مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین با استفاده از DCFH-DA اثر عصاره بر میزان گونه‌های فعال اکسیژن آیلت‌ها ارزیابی گردید.

**یافته‌ها:** نتایج تست MTT در سلول‌های آیلت پانکراس نشان داد که در حضور غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی غنچه *C. spinosa*، بقاء سلول‌های آیلت افزایش می‌یابد و در غلظت‌های  $10^3$  و  $10^4 \mu\text{g/ml}$  ( $P \text{ value} < 0/001$ ) بیشترین اثر دیده می‌شود. همچنین غلظت‌های لگاریتمی عصاره *C. spinosa* باعث کاهش ROS در آیلت‌ها گردید و در غلظت  $10^3$  کاهش ۳۷ درصد ( $P \text{ value} < 0/01$ ) و در غلظت  $10^4$  کاهش ۷۲ درصد ( $P \text{ value} < 0/001$ ) در میزان ROS مشاهده شد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌های پژوهش، نظر به اینکه یکی از دلایل ابتلا به دیابت تخریب سلول‌های آیلت پانکراس است، عصاره اتانولی *C. spinosa* می‌تواند جهت استفاده به عنوان پیشگیری و درمان دیابت مورد مطالعه و ارزیابی بیشتر قرار بگیرد.

**کلمات کلیدی:** آیلت‌های پانکراس، کبر، بقاء سلولی

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱ بیماری دیابت
۲	۲-۱ دیابت نوع ۱
۳	۳-۱ دیابت نوع ۲
۳	۴-۱ دیابت دوران حاملگی
۳	۵-۱ مشکلات دیابت
۴	۶-۱ دیابت در ایران
۴	۷-۱ نقش آیلتهای پانکراس در دیابت
۵	۸-۱ درمان دیابت
۵	۹-۱ نقش آنتی اکسیدانها در درمان دیابت
۷	۱۰-۱ اهمیت گیاهان در درمان دیابت
۷	۱۱-۱ معرفی گیاه <i>Capparis spinosa</i> L
۷	۱۲-۱ خصوصیات مورفولوژی گیاه <i>C. spinosa</i>
۱۰	۱۳-۱ استفاده سنتی از <i>C. spinosa</i>
۱۱	۱۴-۱ اثرات فارماکولوژیکی و سمیت <i>C. spinosa</i>
۱۱	۱۵-۱ بخشهای مورد استفاده <i>C. spinosa</i>
۱۲	۱۶-۱ ترکیبات فعال گیاه <i>C. spinosa</i>
۱۳	۱-۱۴-۱ فنولها
۱۳	۲-۱۴-۱ فلاونوئیدها
۱۴	۳-۱۴-۱ فلاونولها
۱۵	۱۷-۱ تحقیقات انجام شده بر اثرات ضد دیابتی <i>C. spinosa</i>
۱۷	۱۸-۱ هدف و انگیزه
۱۸	۱۹-۱ اهداف کلی
۱۸	۲۰-۱ اهداف اختصاصی
۱۸	۲۱-۱ فرضیات و سوالها

۱۹.....	فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها.....
۲۰.....	۱-۲. مواد شیمیایی.....
۲۱.....	۲-۲. وسایل آزمایشگاهی.....
۲۲.....	۳-۲. وسایل مصرفی.....
۲۳.....	۴-۲. دستگاه‌ها.....
۲۴.....	۵-۲. حیوانات آزمایشگاهی.....
۲۴.....	۶-۲. روش‌ها و آزمون‌های آماری.....
۲۴.....	۷-۲. جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه.....
۲۴.....	۸-۲. تهیه عصاره.....
۲۵.....	۹-۲. تعیین مقدار فنول‌ها.....
۲۵.....	۱۰-۲. رسم منحنی گالیک اسید.....
۲۵.....	۱۱-۲. تعیین مقدار فلاونوئیدها.....
۲۶.....	۱۲-۲. تعیین مقدار فلاونول‌ها و رسم منحنی استاندارد روتین.....
۲۶.....	۱۳-۲. استخراج آیلتهای پانکراس.....
۲۹.....	۱۴-۲. بررسی بقاء آیلتهای پانکراس با روش MTT.....
۳۰.....	۱۵-۲. سنجش رادیکال‌های آزاد با تست ROS.....
۳۱.....	۱۶-۲. اندازه‌گیری میزان پروتئین به روش بردفورد.....
۳۲.....	۱۷-۲. تهیه محلول بافر کربس.....
۳۳.....	۱۸-۲. تهیه بافر استخراج.....
۳۴.....	۱۹-۲. تهیه بافر واکنشگر.....
۳۴.....	۲۰-۲. تهیه محلول بردفورد.....
۳۵.....	۲۱-۲. فلوجارت تهیه عصاره گیاهی.....
۳۶.....	۲۲-۲. فلوجارت بررسی اثر عصاره روی بقاء آیلتهای پانکراس.....
۳۷.....	۲۳-۲. فلوجارت بررسی اثر عصاره بر میزان گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌های آیلتهای پانکراس.....
۳۸.....	فصل سوم: نتایج.....
۳۹.....	۱-۳. نتایج توزین عصاره.....
۴۰.....	۲-۳. منحنی استاندارد گالیک اسید.....
۴۲.....	۳-۳. منحنی استاندارد روتین.....
۴۴.....	۴-۳. مقدار کلی فنول.....
۴۵.....	۵-۳. مقدار فلاونوئید.....
۴۶.....	۶-۳. مقدار فلاونول.....
۴۷.....	۷-۳. مقایسه مقدار فنول، فلاونوئید و فلاونول.....



۴۸.....	بقاء سلول‌های آیلت پانکراس.....	۸-۳
۵۰.....	میزان گونه‌های فعال اکسیژن.....	۹-۳
۵۲.....	فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات.....	
۵۳.....	بحث.....	۱-۴
۵۴.....	نتیجه‌گیری.....	۲-۴
۵۵.....	محدودیت‌ها و مشکلات تحقیق.....	۳-۴
۵۵.....	پیشنهاد.....	۴-۴
۵۶.....	منابع و مآخذ.....	

## فهرست علائم نشانه و اختصارات

**WHO:** World Health Organization

**ROS:** Reactive Oxygen Species

**IDF:** International Diabetes Federation

**UV:** Ultra Violet

**MTT:** 3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide

**BSA:** Bovine serum albumin

**DCFH-DA:** dichlorodihydrofluorescein diacetate

**BPA:** Bradford Protein assay

**JNK:** Janus Kinase

## فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۱۰.....	جدول ۱-۱- موارد استفاده از گیاه <i>C. spinosa</i> در زمان باستان.....
۲۰.....	جدول ۱-۲- مواد و حلال‌های مورد استفاده.....
۲۲.....	جدول ۲-۲- وسایل مصرفی مورد استفاده.....
۲۳.....	جدول ۳-۲- دستگاه‌های مورد استفاده.....
۳۳.....	جدول ۴-۲- مواد مورد استفاده در ساخت محلول بافر کربس.....
۳۳.....	جدول ۵-۲- <a href="#">مواد مورد استفاده در ساخت بافر استخراج</a> .....
۳۴.....	جدول ۶-۲- <a href="#">مواد مورد استفاده در ساخت بافر واکنشگر</a> .....
۳۹.....	جدول ۱-۳- وزن و درصد عصاره بخش‌های مختلف <i>C. spinosa</i> (w/w).....
۴۰.....	جدول ۲-۳- جذب ماده استاندارد گالیک اسید.....
۴۲.....	جدول ۳-۳- جذب ماده استاندارد روتین.....
۴۴.....	جدول ۴-۳- مقدار کلی فنول <i>C. spinosa</i> .....
۴۵.....	جدول ۵-۳- مقدار فلاونوئید <i>C. spinosa</i> .....
۴۶.....	جدول ۶-۳- مقدار فلاونول <i>C. spinosa</i> .....
۴۸.....	جدول ۷-۳- میزان بقاء سلول‌های آیلت در حضور غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی غنچه <i>C. spinosa</i> .....
	جدول ۸-۳- میزان گونه‌های فعال اکسیژن آیلت‌ها در حضور غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی غنچه
۵۰.....	<i>C. spinosa</i> .....

## فهرست نمودارها و عکس‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- نقش گونه‌های فعال اکسیژن در آسیب به سلول‌های آیلت پانکراس.....	۶
شکل ۱-۲- توزیع طبیعی گیاه <i>C. spinosa</i> در نقاط مختلف جهان.....	۸
شکل ۱-۳- اندام‌های مختلف گیاه <i>C. spinosa</i> .....	۹
شکل ۱-۴- ترکیبات اصلی فعال گیاه <i>C. spinosa</i> و مکانیسم اثرات ضد دیابتی آنها.....	۱۲
شکل ۱-۵- ساختار فنولیک اسیدها(هیدروکسی بنزوئیک و سینامیک اسیدها).....	۱۳
شکل ۱-۶- اسکلت اصلی ترکیبات فلاونوئیدی.....	۱۴
شکل ۱-۷- ساختار فلاونول.....	۱۵
شکل ۱-۲- بافت خرد شده پانکراس جهت جداسازی آیلت‌ها.....	۲۷
شکل ۲-۲- نمونه میکروسکوپی آیلت پانکراس.....	۲۸
شکل ۲-۳- سلول‌های پانکراس باد کرده بعد از تزریق بافر کربس.....	۲۸
شکل ۲-۴- آیلت‌ها به‌مراه غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی <i>C. spinosa</i> در پلیت ۹۶ خانه‌ای.....	۲۹
شکل ۲-۵- ویال‌های حاوی سلول‌های جزایر لانگرهانس داخل حمام آب.....	۳۱
شکل ۲-۶- فلوجارت تهیه عصاره اتانولی و متانولی <i>C. spinosa</i> .....	۳۵
شکل ۲-۷- بررسی اثر عصاره اتانولی <i>C. spinosa</i> روی بقاء آیلت‌های پانکراس.....	۳۶
شکل ۲-۸- فلوجارت بررسی اثر عصاره اتانولی <i>C. spinosa</i> بر میزان ROS در سلول‌های آیلت پانکراس.....	۳۷
شکل ۳-۱- منحنی استاندارد گالیک اسید.....	۴۱
شکل ۳-۲- منحنی استاندارد روتین.....	۴۳
شکل ۳-۳- نمودار مقایسه‌ای مقدار فنول، فلاونوئید و فلاونول عصاره اتانولی و متانولی بخش‌های مختلف <i>C. spinosa</i> .....	۴۷

شکل ۳-۴- نمودار میزان بقاء سلول‌های آیلت در غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی *C. spinosa*..... ۴۹

شکل ۳-۵- نمودار میزان گونه‌های فعال اکسیژن آیلت‌ها در غلظت‌های لگاریتمی عصاره اتانولی

.....*C. spinosa* ۵۱

