

بررسی تأثیر عصاره هیدرو الکلی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) بر تعداد سلول‌های بتای پانکراس در رت‌های نژاد ویستار دیابتی شده

حمید محمدصادقی^۱، امیرحسین منصورآبادی^{۲*}، مریم موگویی^۲، محمدرضا نحوی نژاد^۲

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران.

۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران.

۳- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران.

۴- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران.

*نویسنده مسئول: امیرحسین منصورآبادی - پست الکترونیکی: a.mansourabadi.67@gmail.com

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری دیابت امروزه عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران است. کاکوتی کوهی گیاهی متعلق به تیره نعنا است که در طب سنتی ملل مختلف به واسطه خواص هیپوگلیسمیک برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر، تأثیر عصاره هیدرو الکلی کاکوتی کوهی بر تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای تعیین تعداد سلول‌های فعال بتای پانکراس، بعد از تیمار عصاره، حیوانات توسط دی‌اتیل‌تر، بی‌هوش و پانکراس آن‌ها خارج شد و پس از فیکس شدن در فرمالدئید چهار درصد، با استفاده از پارافین برای برش‌گیری آماده شدند. از نمونه‌های پانکراس، برش‌های سه میکرونی تهیه و تعداد سلول‌های بتای فعال با استفاده از کیت ایمونوسیتوشیمی بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار عصاره هیدرو الکلی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، موجب افزایش تعداد سلول‌های بتا با فعالیت ترشحی انسولین، در مقایسه با رت‌های دیابتی کنترل می‌شود. کاکوتی کوهی به‌طور مؤثری فعالیت سلول‌های بتا را در مقایسه با رت‌های دیابتی کنترل افزایش می‌دهد؛ بنابراین، کاکوتی کوهی با افزایش آزادسازی انسولین، موجب کاهش گلوکز سرم در حیوانات دیابتی می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری: عصاره هیدرو الکلی کاکوتی کوهی، دارای اثر هیپوگلیسمیک در رت‌های دیابتی شده به‌وسیله استرپتوزوتوسین باعث آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراس شده و احتمالاً کاربرد سنتی آن تأیید می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کاکوتی کوهی، جزایر لانگر هانس، دیابت، ایمونوسیتوشیمی.

مقدمه

صورت ادویه مصرف می‌گردد. کاسه این گیاه، بطول چهار تا شش میلیمتر، استوانه‌ای باریک، کرکینه پوش یا پوشید از کرک‌های ظریف بر هم خوابیده با دندانه‌های کوتاه، خطی، سرنیزه‌ای با رأس بهم آمده و لوله جام خارج شده از کاسه است. برگ این گیاه را در اواخر بهار برداشت و بصورت خشک و پودر شده مصرف می‌کنند. از جنس‌های مهم این تیره، نعناع، آویشن کوهی، اسطوخودوس، مرزنجوش و کاکوتی را می‌توان نام برد. کاکوتی کوهی گیاهی است علفی، یک ساله دارای ساقه کوتاه به ارتفاع ۱۵-۵ سانتی متر و برگ‌های نوک تیز و باریک که در اغلب نواحی ایران پراکندگی دارد (۶). این گیاه به حالت وحشی در مناطق وسیعی از ایران مانند نواحی مختلف از جمله البرز، غرب ایران، کرج، پل جاجرود، جنوب غربی تهران، دوشان تپه، شیراز، نواحی شمال ایران مثل منجیل، آذربایجان و تبریز اصفهان، خراسان، دامغان، سمنان، ازنا، قم، همدان، کرمان و ... می‌روید (۷). چهار گونه آن به نام‌های *Ziziphora persica*, *Ziziphora clinopodioides*, *Ziziphora tenuir*, *Ziziphora capitata*، در ایران وجود دارد (۶). علاوه بر ایران در ترکمنستان، افغانستان، آناتولی و آسیای مرکزی نیز می‌روید (۷ و ۶). از خواص درمانی این گیاه، خلط آور، بادشکن و مقوی معده است. در بعضی نواحی مخلوط گرد دانه آن با عسل، جهت درمان دیسانتری به کار می‌رود (۶). در مناطق مختلف از پودر خشک شده این گیاه به عنوان چاشنی بر روی ماست و لبنیات استفاده می‌شود (۸). همچنین در معالجه امراض معده و به عنوان ضد عفونی کننده برای رفع سرماخوردگی مورد استفاده دارد (۹). اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضد توموری داشته و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۶ درصد و غده سرطانی را تا ۴۷/۵ درصد کاهش

بیماری دیابت در حال حاضر عامل مهمی در ناتوانی و بستری شدن بیماران بوده و فشار مالی قابل توجهی را به جامعه تحمیل می‌کند، به طوری که در هند سالانه حدود ۹۲ میلیون دلار صرف هزینه درمان افراد مبتلا به دیابت می‌شود (۱). تخمین زده شده که در سال ۲۰۱۰ میلادی، تعداد کل بیماران دیابتی در سراسر دنیا به ۲۳۹ میلیون نفر برسد (۲). آسیا و آفریقا بالاترین پتانسیل را برای ابتلا به بیماری دیابت دارند، به طوری که نسبت دیابت در این مناطق به دو تا سه برابر سایر نواحی می‌رسد (۳). روش‌هایی که در حال حاضر برای درمان دیابت غیر وابسته به انسولین استفاده می‌شوند، مانند تغییر رژیم غذایی و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی، محدودیت‌های خاص خود را دارند. کاربرد گیاهان برای درمان دیابت قندی به طور وسیعی به ویژه در کشورهای آسیای میانه رایج است. سازمان بهداشت جهانی نیز در مورد استفاده از این گیاهان در این کشورها توصیه‌هایی را ارائه نموده است (۴). داروهای گیاهی طی قرن‌ها در درمان انواع مختلف بیماری‌ها کاربرد داشته‌اند و بیشتر افراد این شیوه درمانی را به عنوان روشی جایگزین یا مکمل در نظر می‌گیرند که به آنان کمک می‌کند تا وضعیت جسمی و روانی بهتری داشته باشند. مصرف داروهای گیاهی اغلب به عنوان شیوه‌ای طبیعی برای حفظ آرامش و رفع افسردگی و اضطراب و سایر بیماری‌ها و ناراحتی‌های جسمی و روانی به کار می‌رود. بسیاری از گونه‌های گیاهی، در طب سنتی ملل مختلف به واسطه خواص هیپوگلیسمیک‌شان برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵). کاکوتی کوهی با نام علمی *Ziziphora clinopodioides* Lam گیاهی است متعلق به جنس زیزیفورا و تیره نعناعیان که بخش‌های هوایی آن به

می دهد بسیاری از گونه‌های گیاهی هستند که در طب سنتی ملل مختلف به واسطه خواص هیپوگلیسمیک‌شان برای درمان دیابت قندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰). در ایران با وجود استفاده زیاد از گیاهان خانواده نعناع به عنوان طعم دهنده، تحقیقات گسترده‌ای پیرامون اثرات ضد دیابتی عصاره گیاه کاکوتی انجام نشده است. هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر عصاره *Ziziphora clinopodioides* Lam بر تعداد سلول‌های بتا پانکراس در رت های دیابتی است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی

گیاه *Ziziphora clinopodioides* Lam در بهار ۱۳۹۲ از روستای ده بالا استان یزد جمع‌آوری شد. پس از تمیز کردن، گیاه در سایه و در فور ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. جهت تهیه عصاره اتانولی برگ‌های خشک شده (حدود ۸۰ گرم) پس از خشک کردن، بوسیله آسیاب با حداکثر رطوبت ۱۰٪ به صورت پودر در آورده شد. سپس پودر حاصل از آن‌ها در ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد حل شده و بر روی اجاق ۴۵ درجه قرار گرفت. ۲ روز و هر روز ۳ بار محلول هم زده شد و در روز چهارم محلول رویی در ۳ مرحله با صافی های مختلف تا ۰.۲ میکرون صاف گردید. محلول صاف شده با استفاده از دستگاه خشک کن در خلاء (vacuu evaporator) در درجه حرارت ۴۰ درجه سانتیگراد آبیگری شد و عصاره بر جای مانده بوسیله دستگاه فریز درایر کاملاً خشک گردید. به منظور تهیه stock، پودر حاصل در DMSO حل گردید. موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، از انستیتو پاستور در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم، خریداری و در قفس‌های تمیز با درجه

حرارت ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد در آزمایشگاه نگهداری شدند. جهت آماده‌سازی حیوانات دیابتی استرپتوزوتوسین، بلافاصله پیش از انجام آزمایش، در سرم فیزیولوژیک استریل حل شد و به‌روش درون‌صفاقی (100 mg/kg, i.p.) به موش‌های صحرایی تزریق گردید. ۵ روز پس از تزریق، حیوانات برای انجام ادامه آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره گیاهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و سالیین به صورت تزریق درون‌صفاقی به مدت ۲۰ روز تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر بود. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر بود.

گروه‌های مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند:

۱- گروه کنترل سالم که به‌روش درون‌صفاقی با سالیین تیمار شدند.

۲- گروه کنترل دیابتی که به‌روش درون‌صفاقی با سالیین تیمار شدند.

۳، ۴، ۵ و ۶ - گروه‌های دیابتی تجربی که عصاره گیاهی را با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌روش درون‌صفاقی دریافت نمودند.

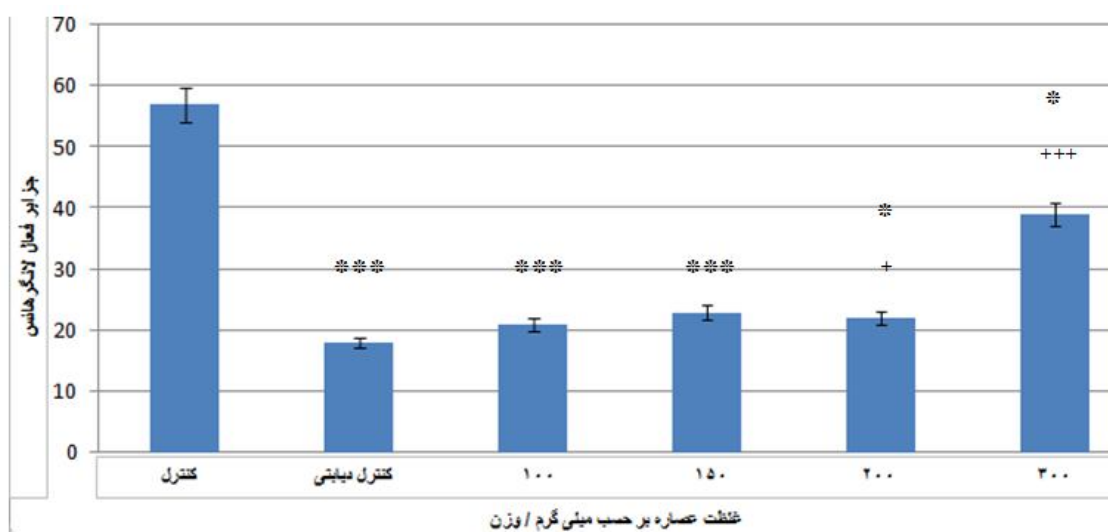
به منظور تعیین تعداد سلول بتای فعال پانکراس، پس از ۲۰ روز و خاتمه دوره آزمایش، حیوانات توسط دی‌اتیل‌اتر، بیهوش شدند. پانکراس حیوانات خارج شد و در بافر فرمالدئید ۴ درصد به‌مدت ۲۴ ساعت فیکس شد و به‌منظور برش‌گیری، در پارافین قرار گرفت. برش‌های ۳ میکرومتری برای تعیین تعداد

اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تعیین شد.

یافته‌ها

نتایج ایمونوسیتوشیمی نشان داد که تیمار استرپتوزوتوسین، موجب تخریب سلول‌های بتا در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌شود. از طرف دیگر، تیمار عصاره کاکوتی کوهی به مدت ۲۰ روز، موجب افزایش تعداد سلول‌های بتای رنگ‌آمیزی شده در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌گردد (نمودار ۱).

سلول‌های بتای پانکراس با استفاده از کیت ایمونوسیتوشیمی (DAKO, Germany) آماده شدند. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $\times 100$ مطالعه گردید و تعداد جزایر لانگرهانس (که بر اساس وجود انسولین در آن‌ها رنگ‌آمیزی شده‌اند) در ۳۰ میدان دید میکروسکوپی با ابژکتیف ۴ شمارش شدند. سپس نتایج به دست آمده از نمونه‌های تجربی با نتایج کنترل دیابتی و کنترل سالم، مقایسه آماری گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ ارائه شدند.



گروه‌های کنترل و سالم، سالیین را به‌عنوان حلال عصاره دریافت کردند. $p < 0.05$, $p < 0.001$ ، اختلاف از گروه کنترل سالم (Control) را نشان می‌دهد. $p < 0.05$ ، $p < 0.001$ ، اختلاف از گروه کنترل دیابتی را نشان می‌دهد.

نمودار ۱- اثر تزریق درون‌صفاقی عصاره الکلی کاکوتی کوهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های صحرایی سالم (Control)، کنترل دیابتی (Control-diabetic) و تجربی. هر ستون $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ را برای ۸ رت نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

مصرف محیطی گلوکز است (۱۷،۱۸). همچنین، بر اساس نتایج، تحقیقات گزارش کرده‌اند که عصاره کاکوتی کوهی موجب کاهش جذب گلوکز در روده می‌شود (۱۹،۲۰). Jurjani و همکاران در سال ۱۳۶۴ کاربرد معمول کاکوتی در درمان بیماری تنفسی را گزارش کردند (۲۱). تحقیقات Ghafari و همکارانش در سال ۱۳۶۲ نشان داد که کاکوتی کوهی، موجب مهار مکانیسم جذب مجدد توپول پراکسیمال گلوکز در کلیه و در نتیجه، باعث کاهش گلوکز خون می‌شود (۲۲).

Mahdavi و همکاران در سال ۱۳۸۹ گزارش نمودند که تیمار درون‌صفاقی عصاره کاکوتی کوهی به مدت ۴ هفته، بطور مؤثری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کبد و کلیه رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین را افزایش می‌دهد. این عصاره، مالون‌دی‌هیدرات را که یک مارکر لیپید است، به میزان قابل توجهی در رت‌های دیابتی کاهش و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدان توتال را در طرح غیروابسته به غلظت، افزایش می‌دهد (۲۳). بنابراین، عصاره کاکوتی کوهی دارای نقش محافظتی بر ضد آسیب اکسیداتیو در رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین است (۲۴). Konyaltoglu و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تیمار عصاره آبی کاکوتی کوهی به مدت ۲۱ روز، موجب اثر آنتی‌هیپرگلیسمیک وابسته به دوز در رت‌های دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین می‌گردد. یافته‌های آن‌ها اثرات مثبت کاکوتی کوهی را بر رت‌هایی که توسط استرپتوزوتوسین دچار اختلالاتی در پروفیل لیپوپروتئین ، وضعیت آنتی‌اکسیدان و تحمل گلوکز شده بودند، نشان داد ، پس، عصاره آبی کاکوتی کوهی ، در کنترل دیابت، اختلال در پروفیل لیپید و استرس اکسیداتیو با فعال‌نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پانکراسی مفید است (۲۵). Mehmood و

دیابت قندی، یک بیماری در حال افزایش در همه کشورهای است (۱۱). این بیماری دومین بیماری اندوکرینی کشور ما به‌شمار می‌آید (۱۲). شیوع بالای دیابت و مشکلات فردی و اجتماعی حاصل از آن و لزوم احیای طب سنتی و شناسایی اثرات آنتی‌دیابتیک گیاهان دارویی موجود در طبیعت که دارای آثار درمانی با ارزشی هستند، ما را بر آن داشت تا اثر آنتی‌دیابتیک کاکوتی کوهی و مکانیسم اثر آن را مورد مطالعه قرار دهیم. کاکوتی کوهی به‌طور معمول به عنوان نوعی ادویه کاربرد دارد. مطالعات بیشتری برای شناسایی شیمی این برگ‌ها باید انجام گیرد. کاکوتی کوهی در طب سنتی Unani و Ayurvedic برای درمان دیابت توصیف شده‌اند (۱۳،۱۴). نتایج آزمایش‌های ایمونوسیتوشیمی نشان داد که تیمار طولانی‌مدت عصاره هیدروالکلی (۸۰٪) کاکوتی کوهی به حیوانات دیابتی، موجب افزایش میزان انسولین در سلول‌های بتای پانکراس در مقایسه با رت‌های دیابتی کنترل می‌گردد. در توافق با نتایج حاضر، Ghafari و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تیمار عصاره هیدروالکلی (۵۰٪) کاکوتی کوهی موجب کاهش گلوکز سرم در رت‌های تیمار شده توسط آلوکسان می‌گردد (۱۵). این مطالعه برای اولین بار اثر آنتی‌هیپر گلیسمیک عصاره کاکوتی کوهی را گزارش می‌کند که یک داروی یونانی مورد استفاده توسط پزشکان یونانی برای درمان دیابت است (۱۵،۱۶). در تضاد با نتایج تحقیق حاضر، آن‌ها پیشنهاد نمودند که اثر کاکوتی کوهی، به سبب تقویت ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس نبوده و احتمالاً در دیابت غیروابسته به انسولین مؤثر است و احتمالاً به سبب افزایش

همکارانش در سال ۲۰۰۵ گزارش نمودند که عصاره کاکوتی کوهی با فعال نمودن رسپتورهای فعال شده تکثیر پراکسیزوم (Peroxisome proliferator-activated receptor (□)-PPAR) دارای عمل ضد دیابتی است. گالیک اسید موجود در این بخش از گیاه، ترکیب مهم و مؤثر این گیاه است (۲۶). طبق نتایج تحقیق حاضر، عصاره الکلی کاکوتی کوهی به صورت مؤثری، گلوکز سرم را در رت‌های دیابتی کاهش می‌دهد و مکانیسم اثر آن با افزایش آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراسی است. لذا می‌توان عصاره این گیاه را به عنوان داروی ضد دیابتی در نظر گرفت. هر چند تحقیق‌های بیوشیمیایی و فارماکولوژیکی بیشتری را باید برای استفاده از آن مدنظر قرار داد.

قدر دانی:

از دانشکده پزشکی، بخش ایمونولوژی و بخش فیزیولوژی به واسطه تأمین بودجه مالی تحقیق حاضر، کمال تشکر را داریم. همچنین از پرسنل محترم آزمایشگاه مرکزی یزد صمیمانه تشکر می‌نماییم.

The Effects of the Hydroalcoholic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam on Pancreatic Beta Cell Count in Diabetic Wistar Rats

Mohammad Sadeghi H¹, Mansourabadi A^{2*}, Moogooei M³, Nahvinejad M⁴

1. Physiology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
2. Immunology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
3. Immunology Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
4. Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Mansourabadi A., E-mail: a.mansourabadi.67@gmail.com

Abstract

Introduction: Diabetes is a major cause of patients' loss of ability and hospitalization. *Ziziphora clinopodioides* lam belongs to the Lamiaceae family and is widely used for the treatment of diabetes mellitus due to its hypoglycemic properties. In the present study, we aimed to evaluate the effects of the hydroalcoholic extracts of *Ziziphora clinopodioides* lam on active pancreatic beta cells in streptozotocin-diabetic rats.

Methodology: In order to determine the number of active pancreatic beta cells, the rats were anesthetized by diethyl ether after treatment with the extracts. The pancreas was removed from the rats and fixated in 4% formaldehyde; afterwards, the pancreas was prepared for sectioning, using paraffin. Three-micron sections were prepared from the samples, and the number of active beta cells was evaluated by an immunocytochemistry kit.

Results: The results showed that the hydroalcoholic extracts of *Ziziphora clinopodioides* lam (100, 150, 200 and 300 mg/kg) increased the number of beta cells and insulin secretion in diabetic rats, compared to control diabetic rats. In other words, this plant could effectively increase the activity of beta cells in diabetic rats, compared to control rats. Therefore, *Ziziphora clinopodioides* lam could reduce serum glucose level in diabetic animals by increasing insulin secretion.

Conclusion: According to the results, the hydroalcoholic extract of *Ziziphora clinopodioides* lam had hypoglycemic effects in streptozotocin-diabetic rats by stimulating insulin secretion from pancreatic beta cells. Therefore, based on the obtained findings, the traditional application of this plant may be confirmed.

Keywords: Beta Cells, Diabetes, *Ziziphora Clinopodioides* Lam, Streptozotocin, Rat.

References

1. American Diabetes Association. Clinical practice recommendations. *Diabetes Care*. 1997; 20 (1): 1-70.
2. Baily C. J, Flatt P. R. Antidiabetic drugs, new developments. *Indian Biotechnology* 6: 139-142.
3. Burman T. K. Isolation and hypoglycaemic activity of glycoprotein Moran A from mulberry. 1986 leaves. *Planta Med*. 1985; 71: 482-484.
4. Foster D. W, Diabetes mellitus. In: Isselbacher, K. J., Brawnwald, E., Wilson, J. D., Martin, J. B., Fauci, A. S., Kasper, D. L., (Eds.), *Harrison's Principales of Internal Medicine*. McGraw Hill United State, pp. 1979-1981.
5. Roig, J. T., 1974. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. *Ciencia y Técnica*, Havana, pp. 401-402.
6. Zargari A. Iranian medicinal plants. Tehran university press. Tehran. Iran. 1995; (4): 103- 104.
7. Baser K, Sezik E, Tumen G. Composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *J.Essential Oil. Res*. 1991; 3(4): 237-239.
8. Sajadi SE, Ghasemi Dehkordi N, Baloochi M. Volatile Constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Pajoohesh va Sazandeghi*. 2003; 8: 1-9.
9. Babakhanloo P, Mirza M, Sefidkan F, Barazandeh M. Chemical components of essential oil of *Ziziphora clinopodioides*. *Med. Plant. Res. J*. 1998; 2: 103- 114.
10. Jimenez, C. A., Rojas, N., López, A. M. Biological evaluation of Cuban plants (IV). *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 1979 ; 31: 29-35.
11. Seoane J, 1984. El folklor médico de Cuba. Provincia de Camaguey. *Ciencias Sociales*, Havana, pp. 29, 256, 285, 311, 412, 454, 629, 642.
12. Arseculeratne S. N, Gunatilaka A. A, Panabokke R. G, Studies of medicinal plants of Sri Lanka. Part 14: toxicity of some traditional medicinal herbs. *Journal of Ethnopharmacology*. 1985; 13: 323-335.
13. Hasani-Ranjbar S, Larijani B, Abdollahi M. A systematic review of the potential herbal sources of future drugs effective in oxidant-related diseases. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*. 2009; 8(1), 2-10.
14. Karimi I, Motamedi H. H. S, NASERI D, Shamspur T, Afzali D, Aghdam A. H. Chemical Composition and Hypolipidemic Effects of an Aromatic Water of *Ziziphora tenuior* L. in Cholesterol-fed Rabbits. *Journal of Applied Biological Sciences*. 2013; 7(3), 61-67.
15. Peña B. R, Martínez M. T. Inhibición de la hemaaglutinación de cepas de influenza A por un extracto liofilizado de granada BLBU. *Revista Cubana de Química XIII*. 2001; 395.
16. Radfar M, Abdollahi M. Pharmacotherapy in Endocrinology: Diabetes, Obesity, and Hy-per- lipidemia- Review Article. *Iranian Journal of Public Health*. 2014; 43(1), 49-63.
17. Huang T. H, HYang Q, Harada M, Li G. Q, Yamahara J, Roufogalis B. D, Li Y. Pomegranate flower extract diminishes cardiac fibrosis in Zucker diabetic fatty rats: modulation of cardiac endothelin-1 and nuclear factor-kappaB pathways. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2005; 46: 856-862.
18. Thomson I. S. I. Rastegarpanah M, Omidzohour N, Vahedi H, Malekzadeh R, Hashemian F, Safarnavadeh T , Abdollahi M. *International Journal of Pharmacology*. 2011; 7(4), 516-521.
19. Majoosi, A. I. A, Kamilussanah. Munshi Nawal Kishore, Lucknow 145 (Urdu translation).
20. Sharopov F. S, Setzer W. N. Chemical diversity of *Ziziphora clinopodioides*: composition of the essential oil of *Z. clinopodioides* from Tajikistan. *Natural product communications*. 2011; 6(5), 695-698.
21. Jurjani M I, 1878. *Zakheera-Khwarzam-Shahi*. Munshi Nawal Kishore, Lucknow, 540 (Urdu translation).
22. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghan G, Zamani M J, Nikfar S, Abdollahi M. Protection by *Ziziphora clinopoides* of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Human & experimental toxicology*. 2006; 25(6): 325-332.
23. Mahdavi M. (). Antimicrobial effects of *Ziziphora clinopodioides* extracts on *Salmonella typhi* Vi+ in vitro, in vivo and amp; amp; cell culture. *Clinical Biochemistry*. 2011; 44(13): S326.
24. Tian S, Shi Y, Zhou X, Ge L, Upur H. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. extracts. *Pharmacognosy magazine*. 2011; 7(25), 65.
25. Konyaltoglu S, Ozturk B, Meral G. E. Comparison of Chemical Compositions and Antioxidant Activities of the Essential Oils of Two *Ziziphora*. *Taxa from Anatolia. Pharmaceutical biology*. 2006; 44(2), 121-126.
26. Mehmood R. Phytochemical investigation of medicinally important croton sparsiflorus and ziziphora tenuior plants (Doctoral dissertation, University of Karachi): 2011.