Archive of SID

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و دوم، شماره ۲، صفحه ۱۰۵ - ۹۰ (خرداد و تیر ۱۳۹۸)

Iran South Med J 2019; 22(2): 90-105

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی، فعالیت‌های مهارکنندگی آنزیم‌های آلفا آمیلازی و آلفا گلوکوزیدازی و اثرات آنتی اکسیدانتی جوشانده، دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی پونه‌سای البرزی (*Nepeta racemosa*)

محمدمهدی ضرابی (PhD)[۱*]، بهور اصغری (PhD)[۱**]، عمار مریم‌آبادی (PhD)[۲]، غلامحسین محبی (PhD)[۳]، سعید رشوند (PhD)[۴]

[۱] گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
[۲] بخش تحقیق و توسعه، شرکت شاخه زیتون لیان، بوشهر، ایران
[۳] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده‌ی علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۴] بخش جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، قزوین، ایران

(دریافت مقاله: ۹۷/۲/۱۰ - پذیرش مقاله: ۹۷/۱۱/۱۶)

چکیده

زمینه: گیاه پونه البرزی (*Nepeta racemosa*)، یکی از مهم‌ترین گیاهان متعلق به جنس پونه‌سا است که در طب سنتی استفاده‌های فراوانی از آن گزارش شده است. در این مطالعه، محتوای فیتوشیمیایی و پتانسیل‌های آنتی‌اکسیدانتی و ضد دیابتی جوشانده، دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: محتوای فنلی تام نمونه‌ها، از روش فولین- سیوکالتو، با اندکی تغییرات تعیین گردید. برای فعالیتهای آنتی‌اکسیدانی و محتوای ساپونینی عصاره‌ها، به ترتیب از روش‌های قدرت مهاری رادیکال‌های آزاد (DPPH) و وانیلین- سولفوریک اسید استفاده گردیدند. همچنین، میزان فعالیت مهارکنندگی آن‌ها بر روی دو آنزیم آلفا- آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز)، بر اساس روش استاندارد انجام گرفتند.

یافته‌ها: بررسی محتواهای فنلی و فلاونوئیدی نمونه‌ها نشان داد که جوشانده آن، به ترتیب با دارا بودن ۲۲۲/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم خشک عصاره و ۸۷/۸ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم خشک عصاره می‌باشد. در مورد محتوای ساپونینی، عصاره هیدروالکلی با مقدار ۴۱/۹ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم خشک عصاره، دارای بالاترین محتوا بود. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانتی گیاه با روش‌های DPPH و FRAP، پتانسیل بالای جوشانده را در مقایسه با نمونه‌های دیگر نشان داد. بررسی اثرات مهاری آن‌ها بر فعالیت دو آنزیم آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز، نشان دهنده قدرت بالاتر جوشانده گیاه و به ترتیب برابر ۹/۴۵ و ۳۳/۵۷ میکرومول معادل آکاربوز بر گرم خشک عصاره بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به این نتایج مشخص گردید که گیاه پونه البرزی دارای قدرت آنتی اکسیدانتی و ضد دیابتی بالایی است و میزان این خواص نسبت مستقیمی با مقدار محتوای فنلی و فلاونوئیدی آن دارد.

واژگان کلیدی: پونه البرزی، خصوصیات فیتوشیمیایی، اثرات آنتی اکسیدانی، مهارکننده آلفا آمیلاز، مهارکننده آلفا گلوکوزیداز

** گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

Email: asghari@eng.ikiu.ac.ir
*ORCID: 0000-0002-2024-3101
**ORCID: 0000-0001-6571-3069

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

مقدمه

دیابت، از مهم‌ترین و رایج‌ترین بیماری‌هایی است که شیوع و گسترش فراوانی در جهان یافته است که بر اساس پیش‌بینی‌های انجام گرفته، حدود ۶۴۲ میلیون نفر یعنی ۲ درصد از جمعیت بالغ دنیا به آن مبتلا هستند (۱). در سال ۲۰۱۱ حدود ۴/۵ میلیون نفر از بزرگسالان مبتلا به دیابت در ایران زندگی می‌کردند که بیش از یک چهارم این جمعیت نیز قبلاً تشخیص داده نشده بود. برآورد شده است که تا سال ۲۰۳۰، حدود ۹/۲ میلیون نفر از مردم ایران به دیابت مبتلا خواهند شد. این افزایش پیوسته و قابل توجه در شیوع دیابت، نشان دهنده بار بالای این بیماری در ایران است. (۲).

به طور کلی، از نظر وابستگی به انسولین، دیابت به دو نوع ۱ (دیابت وابسته به انسولین) و ۲ (دیابت غیروابسته به انسولین) تقسیم می‌شود. البته انواع دیگری از این بیماری، با توجه به نحوه ایجاد آن وجود دارد که از آن جمله می‌توان به دیابت بارداری اشاره نمود که طی حاملگی در ۲ تا ۴ درصد زنان رخ می‌دهد. مقاومت هورمونی به انسولین پس از وضع حمل، معمولاً برطرف می‌گردد (۳).

از مهم‌ترین عوارض حاد دیابت، می‌توان به کتواسیدوز دیابتی، سندرم هیپرگلیسمی هیپراسمولار و کندی بهبود زخم‌ها اشاره نمود. علاوه بر این، این بیماری دارای عوارض مزمنی چون رتینوپاتی، نوروپاتی و نفروپاتی نیز می‌باشد (۴ و ۵). دیابت نوع ۲، شایع‌ترین نوع دیابت است که حدود ۹۵-۹۰ درصد افراد دیابتی را شامل می‌شود. در این نوع دیابت سلول‌های بدن نسبت به انسولین موجود در خون مقاوم شده و به آن پاسخ مناسبی نمی‌دهند و از نشانه‌های آن، افزایش غیرطبیعی سطح قند خون پس از صرف غذا است.

مهارکننده‌های آلفا- گلوکوزیداز، دسته مهمی از داروهای ضد دیابت هستند که با کند کردن جذب گلوکز باعث کاهش سطح گلوکز خون می‌شوند. این ترکیبات، از طریق مهار فعالیت آلفا- گلوکوزیداز روده کوچک، تولید و جذب گلوکز از روده را به تأخیر می‌اندازند و بدین ترتیب از افزایش سطح قندخون، پس از وعده غذا جلوگیری می‌نمایند (۶). از داروهای سنتزی این گروه می‌توان به آکاربوز، میگلیتول و وگلیبوز (Voglibose) اشاره نمود. هر چند که این داروها غالباً، عوامل غیر اختصاصی هستند که موجب ایجاد عوارض جانبی خاصی نظیر ناراحتی‌های گوارشی، نفخ و اسهال می‌گردند (۷ و ۸). بنابراین، جستجو، در یافتن مهارکننده‌های جدید با عوارض کمتر و شکل مؤثرتر، در حال انجام است.

گیاهان دارویی از مهم‌ترین منابعی هستند که در این تلاش‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرند و تاکنون گزارش‌های متعددی در این زمینه منتشر شده است (۱۰-۸). جنس پونه‌سا[1]، از مهم‌ترین گیاهان متعلق به خانواده نعناعیان[2]، است که دارای بیش از ۳۰۰ گونه می‌باشد. حدود ۷۵ گونه از گیاهان این جنس، در ایران یافت می‌شوند که ۵۳ درصد آن‌ها بومی هستند (۱۱ و ۱۲). گونه‌های مختلف این جنس، گیاهانی معطر هستند که کاربردهای دارویی فراوانی از آن‌ها گزارش شده است که می‌توان به اثرات ضد دردی، تقویت حافظه، ضد اضطراب و ضد افسردگی، ضد سرفه، ضدعفونی‌کنندگی، ضد اسپاسم، مدر و تب بری اشاره نمود (۱۶-۱۳). بومیان، سالیان متمادی، دم‌کرده و جوشانده اندام هوایی گیاه *N. binaludensis*، جهت

[1] Nepeta
[2] Lamiacea

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

درمان بیماری‌هایی نظیر سرماخوردگی، روماتیسم، بیماری‌های عصبی و گوارشی و همچنین برای مقابله با افسردگی استفاده نموده‌اند (۱۷). دم‌کرده اندام هوایی گونه *N. crispa* نیز در طب سنتی، به عنوان آرام‌بخش، مقوی اعصاب، ملین، ضد نفخ و جهت مقابله با اختلالات تنفسی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸). همچنین، از عصاره‌ها و اسانس‌های گونه‌های مختلف این جنس، خواص بیولوژیکی متفاوت دیگری نظیر خواص آنتی اکسیدانتی، ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره‌کشی نیز گزارش شده است (۲۱-۱۸). همچنین، مطالعات مختلفی اثرات ضد دیابتی عصاره‌های استخراجی گونه‌های مختلف نعناعیان را نشان داده‌اند (۲۴-۲۲).

خواص بیولوژیکی مربوط به جانداران، ناشی از ترکیبات و متابولیت‌های موجود درآن‌هاست. بر اساس تحقیقات انجام گرفته در گونه‌های مختلف جنس پونه‌سا، حضور ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و ترپنوئیدها به اثبات رسیده است (۱۷، ۲۵ و ۲۶). نپتالاکتون‌ها[3]، دسته‌ای از ترکیبات مونوترپنی ایریدوئیدی[4] هستند که توسط گونه‌های جنس پونه‌سا تولید می‌گردند (۲۷). نپتا راسموسا[5]، از جمله گونه‌های بومی جنس پونه‌سا در ایران می‌باشد (شکل ۱).

شکل ۱) گیاه نپتا راسموسا

این گیاه که معروف به پونه‌سای البرزی است، دارای بوئی بسیار معطر بوده و در طب سنتی، جهت بهبود دردهای معده و سیستم گوارش، نفخ و عفونت‌ها کاربرد دارد (۲۸). بوی معطر این گیاه، می‌تواند مربوط به محتوای اسانسی آن باشد. گزارش‌هایی در زمینه تعیین اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس آن‌ها موجود است (۳۱-۲۹).

مطالعات زیادی در زمینه بررسی محتوای متابولیتی و خواص بیولوژیکی و دارویی گیاه نپتا راسموسا، در متون به چشم نمی‌خورد، لذا، هدف از انجام این مطالعه، بررسی محتوای فنلی، فلاونوئیدی و ساپونینی عصاره‌های مختلف این گیاه و بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانتی و ضد دیابتی آن‌هاست.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های گیاهی

اندام هوایی گیاه نپتا راسموسا، از رویشگاه طبیعی آن در استان قزوین، منطقه پیچبن، در ارتفاع ۳۰۰۰ متری از سطح دریا، در مرداد ماه ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید و پس از شناسایی دقیق گونه و خشک شدن آن در سایه، جهت تهیه جوشانده، دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی نگهداری گردید.

تهیه عصاره هیدروالکلی

جهت تهیه عصاره هیدروالکلی، از گیاه پونه البرزی، از روش خیساندن استفاده شد. به این ترتیب که ۳۰۰ میلی‌لیتر از محلول ۸۰ درصد حجمی اتانول به عنوان حلال استخراجی بر روی ۱۰ گرم از اندام هوایی این گیاه اضافه گردید و در یک ظرف در بسته، دور از نور

[3] *Neptalactones*
[4] iridoidi
[5] *Nepeta racemosa*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت و سپس، عصاره‌های به دست آمده صاف گردیدند. جهت اطمینان از استخراج کامل مواد مؤثره گیاه، این فرآیند، دو مرتبه بر روی باقیمانده اولین استخراج تکرار و عصاره‌های به دست آمده، با هم جمع گردید. حلال عصاره نهایی تحت فشار کاهش یافته و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط تبخیرکننده چرخان حذف گردید و سپس توسط یک فریزدرایر به صورت پودر لیوفیلیزه در آمد.

تهیه جوشانده و دم‌کرده گیاهی

برای تهیه جوشانده گیاه نپتا راسموسا، به ۵ گرم از این گیاه، حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. مخلوط حاصل بر روی حرارت قرار گرفت و پس از به جوش آمدن آب به مدت ۱۵ دقیقه گیاه در آب جوشانده شد. سپس مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه سرد و پس از آن، فیلتر گردید. همچنین، برای تهیه دم‌کرده این گیاه، مقدار ۵ گرم از نمونه گیاهی به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در نهایت محلول به دست آمده صاف گردید. جوشانده و دم‌کرده به دست آمده پس از تهیه، لیوفیلیزه گردیدند. عصاره‌ها، جوشانده و دم‌کرده تهیه شده، تا زمان انجام آنالیز، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی محتوای فیتوشیمیایی

تعیین محتوای فنلی تام

محتوای فنلی تام نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از روش فولین- سیوکالتو تعیین گردید (۳۲). در این روش، مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه در متانول با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و یا محلول گالیک اسید، به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد (V/V) واکنش‌گر فولین- سیوکالتو اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۶ دقیقه در تاریکی تکان داده شد و سپس ۸۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد سدیم کربنات به آن اضافه شد. پس از اینکه مخلوط حاصل به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق باقی ماند؛ جذب مخلوط در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. از محلول‌های با غلظت بین ۱ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید، برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. محتوای فنلی تام نمونه‌های تهیه شده، بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بیان گردید.

تعیین محتوای فلاونوئیدی تام

برای تعیین محتوای فلاونوئیدی تام، نمونه‌های تهیه شده از گیاه نپتا راسموسا، از روش رنگ‌سنجی، با استفاده از روش ماریجا (Marija) و همکاران، با اندکی تغییرات استفاده شد (۳۳). در این روش، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از محلول ۵ درصد آلومینیوم کلرید به ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه یا محلول استاندارد کوئرستین اضافه گردید و محلول حاصل، با افزودن ۶۰ میکرولیتر متانول رقیق گردید. در ادامه ۱۰ میکرولیتر از محلول ۰/۵ مولار پتاسیم استات نیز به محیط اضافه شد و حجم کل واکنش، با اضافه نمودن آب مقطر به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب محلول در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

تعیین محتوای ساپونینی تام

برای تعیین محتوای ساپونینی نمونه‌های تهیه شده، از روش وانیلین- سولفوریک اسید استفاده گردید (۳۴). در این روش، ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره‌ها با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، با محلول ۸ درصد وانیلین و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

سولفوریک اسید (۷۲ درصد) مخلوط گردید. محلول حاصل، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از کاهش دمای محلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در ۵۳۸ نانومتر خوانده شد. محتوای ساپونینی کل نمونه‌ها به صورت معادل میلی‌گرم کوئیلاجا بر گرم خشک عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری قدرت آنتی اکسیدانتی

اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال‌های DPPH

قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، توسط عصاره‌ها، با استفاده از روش رنگ‌سنجی مورد سنجش گرفت (۳۳). بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر از محلول نمونه با غلظت‌های متفاوت با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در متانول مخلوط گردید. جذب محلول حاصل پس از آنکه ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در فضای تاریک قرار گرفت، در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار} = \left(\frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}}\right) \times 100$$

در محلول شاهد، به جای نمونه، از حلال متانول استفاده گردید.

تست تعیین قدرت احیاءکنندگی یون فریک

ظرفیت احیاءکنندگی عصاره‌های گیاه پونه البرزی مطابق روش بهادری و همکاران، مورد بررسی قرار گرفت (۱۰). به‌طور خلاصه، ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات (۰/۲ مولار با pH برابر ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱ درصد پتاسیم فریک سیانید به محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت از عصاره‌ها اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از تری کلرو استیک اسید (۱۰ درصد) به آن اضافه، و به خوبی تکان داده شد. در نهایت ۲/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد فریک کلرید رقیق‌سازی گردید. جذب محلول نهایی پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۷۰۰ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج این آنالیز به صورت میزان جذب، ارائه گردید. میزان جذب بالاتر، نشان‌دهنده قدرت احیاءکنندگی بالاتر نمونه می‌باشد. در این آزمون، از آسکوربیک اسید به عنوان ماده رفرانس استفاده شد.

بررسی قدرت ضد دیابتی

در این تحقیق، قدرت ضددیابتی انواع فرآورده‌های به‌دست آمده از گیاه پونه البرزی، از طریق بررسی میزان فعالیت مهارکنندگی آن‌ها بر روی دو آنزیم دخیل در فرآیند هیدرولیز کربوهیدرات‌ها (آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز) مورد سنجش قرار گرفت.

آزمون مهار آنزیم آلفا-آمیلاز

برای انجام این آزمون، در مرحله اول ۵۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱۰ میکرولیتر از محلول آنزیم آلفا-آمیلاز با غلظت ۲۵ واحد بر میلی‌لیتر و ۱۵۰ میکرولیتر از محلول نشاسته ۱ درصد (w/v) با هم مخلوط شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول سود و سپس ۲۰ میکرولیتر نیز معرف DNS به واکنش اضافه گردید. معرف DNS شامل ۴/۴ میلی‌مولار از ۳،۵- دی‌نیتروسالیسیلیک اسید، ۱۰۶ میکرومولار از پتاسیم سدیم تارتارات و سود بود. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

شد. میزان فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در این تست از روی مقدار مالتوز تولید شده از هیدرولیز نشاسته محاسبه شد. بدین منظور، ابتدا منحنی کالیبراسیون جذب- غلظت مالتوز ترسیم و درصد مهار آنزیم آلفا- آمیلاز توسط معادلات زیر محاسبه گردید (۳۵):

$$\text{درصدواکنش} = (\frac{\text{مالتوز تولیدی در نمونه}}{\text{مالتوز تولیدی در کنترل}}) \times 100$$

$$\text{درصد مهار آنزیم} = 100 - \text{درصد واکنش}$$

آزمون مهار آنزیم آلفا- گلوکوزیداز

برای انجام این آزمون، در ابتدا، ۱۰ میکرولیتر از محلول نمونه مورد نظر، ۲۰ میکرولیتر از محلول آنزیم (۰/۵ واحد بر میلی‌لیتر) به همراه ۱۲۰ میکرولیتر از بافر فسفات با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار و pH=۶/۸، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد درون شیکرانکوباتور قرار گرفت. سپس واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر محلول سوبسترا پارا- نیتروفنیل-α-D-گلوکوپیرانوز (PNPG) به محیط آغاز شد. مخلوط واکنش دوباره به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس واکنش با اضافه کردن ۸۰ میکرولیتر از محلول ۰/۲ میلی‌مولار سدیم کربنات متوقف گردید. پس از این مرحله جذب نهایی محلول در ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای هر آزمون، یک واکنش کنترل منفی قرار داده شد که در آن به جای آنزیم آلفا-گلوکوزیداز، محلول بافر به مخلوط واکنش اضافه گردید. برای تعیین مقدار مهارکنندگی آنزیمی عصاره‌ها بر حسب میلی مول معادل آکاربوز، ابتدا منحنی استاندارد میزان مهارکنندگی آنزیم برای میلی‌مول‌های مختلف آکاربوز رسم و سپس با توجه به میزان مهارکنندگی عصاره‌ها، میزان میلی‌مول معادل آکاربوز آن مشخص گردید (۳۵).

یافته‌ها

نتایج مربوط به میزان محتوای فنلی، فلاونوئیدی و ساپونینی فرآورده‌های تهیه شده از گیاه پونه‌سای البرزی در جدول (۱)، آورده شده است. در مورد بیشترین مقدار محتوای فنلی تام، با مقدار ۲۲۲/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم خشک عصاره، مربوط به جوشانده این گیاه و کمترین محتوا با مقدار ۱۵۱/۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم خشک عصاره به دم‌کرده این گیاه بود. عصاره هیدروالکلی پونه البرزی نیز دارای محتوای فنلی بالایی برابر با ۱۹۱/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم خشک عصاره بود. در مورد محتوای فلاونوئیدی نیز همچنان جوشانده این گیاه با دارا بودن ۸۷/۸ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم خشک عصاره بیشترین مقدار را دارا بود. عصاره هیدروالکلی و دم‌کرده گیاه *N. racemose* به ترتیب با دارا بودن ۷۰/۳ و ۶۲/۱ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم خشک عصاره در رتبه‌های بعدی از نظر میزان محتوای فلاونوئیدی قرار داشتند. در این مطالعه، میزان محتوای ساپونینی فرآورده‌های حاصل از گیاه پونه‌سای البرزی نیز مورد سنجش قرار گرفت که عصاره‌ی هیدروالکلی با مقدار ۴۱/۹ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم خشک عصاره دارای بالاترین مقدار ساپونین بودند و جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه البرزی از نظر میزان محتوای ساپونینی در رتبه‌های بعد قرار دارند.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانتی نمونه‌ها

اندازه‌گیری پتانسیل مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

در این تحقیق، همچنین توانایی مهار و از بین بردن رادیکال‌های آزاد ۲، ۲-دی‌فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)، توسط عصاره هیدروالکلی، جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه البرزی نیز مورد بررسی قرار گرفت و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

نتایج به دست آمده به صورت IC_{50} گزارش گردید. IC_{50}، غلظتی از محلول ماده آنتی اکسیدانتی است که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را از بین ببرد. مسلماً هر چه نمونه‌ها، IC_{50} پائین‌تری داشته باشند از قدرت آنتی اکسیدانتی بالاتری برخوردارند. بر اساس نتایج به دست آمده، نمونه‌های مختلف تهیه شده از *N. racemosa* از نظر قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارای ترتیب مربوط به جوشانده، دم کرده، عصاره هیدروالکلی بودند. در این آزمون، ترکیب آسکوربیک اسید به عنوان ماده مرجع مورد استفاده قرار گرفت. IC_{50} به دست آمده برای این ترکیب برابر ۵۴/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که در مقایسه با نمونه‌های گیاهی توان بالاتری را نشان داد. جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه البرزی به ترتیب با مقادیر IC_{50} برابر با ۶۶/۵ و ۸۷/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر قدرت ضدرادیکالی نزدیکی به آسکوربیک اسید از خود نشان دادند. عصاره هیدروالکلی این گیاه نیز علی‌رغم دارا بودن IC_{50} بالاتر در مقایسه با سایر نمونه‌ها (۹۸/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از نظر قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در حد متوسطی قرار داشت.

جدول ۱) میزان محتوای فیتوشیمیایی نمونه‌های مختلف به دست آمده از گیاه *N. racemosa*

نمونه	محتوای فنلی	محتوای فلاونوئیدی	محتوای ساپونینی	میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH
عصاره هیدروالکلی	۱۹۱/۸±۳/۸	۷۰/۳±۳/۱	۴۱/۹±۵/۸	۹۸/۶±۳/۵
جوشانده	۲۲۲/۸±۷/۹	۸۷/۸±۷/۷	۲۴/۳±۳/۵	۶۶/۵±۳/۴
دم کرده	۱۵۱/۱±۶/۴	۶۲/۱±۴/۹	۲۲/۱±۴/۲	۸۷/۹±۳/۲
آسکوربیک اسید	–	–	–	۵۴/۷±۴/۸

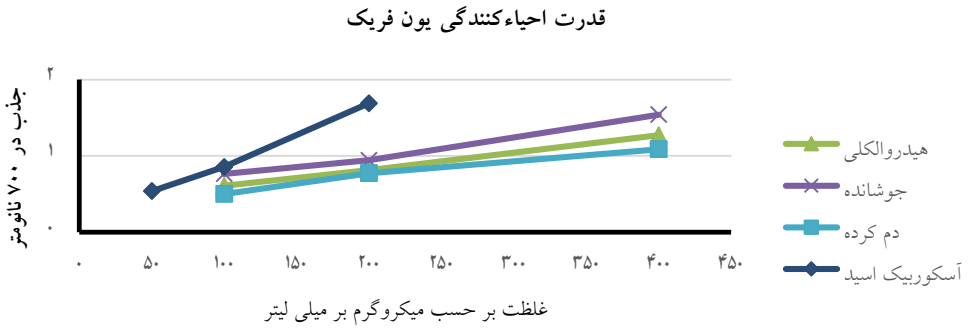
قدرت احیاءکنندگی یون فریک

با توجه به ارتباط بسیار نزدیک بین قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها و خاصیت آنتی اکسیدانتی آن‌ها، پتانسیل احیاءکنندگی اسانس، نمونه‌های تهیه شده از گیاه *N. racemosa* از طریق میزان تبدیل یون Fe^{3+} به Fe^{2+} مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به این تست در نمودار (۱)، نشان داده شده است. بر اساس این داده‌ها به وضوح دیده می‌شود که در همه فرآورده‌های به دست آمده با افزایش غلظت، قدرت احیاءکنندگی نمونه‌ها افزایش یافته است. مشابه با آنچه که در قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مشاهده می‌شود، جوشانده گیاه پونه البرزی از قدرت احیاءکنندگی بالاتری در مقایسه با سایر فرآورده‌ها برخوردار است؛ در حالی‌که در مقایسه با اسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت قدرت احیاءکنندگی جوشانده پائین‌تر است. قدرت احیاءکنندگی جوشانده در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر ۰/۷۶۳، ۰/۹۴۳ و ۱/۵۴ بود. این در حالی است که آسکوربیک اسید در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب قدرت احیاءکنندگی ۰/۸۵۳ و ۱/۶۹ را از خود نشان داد. در مورد دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی، باید ذکر کرد که این نمونه‌ها از قدرت احیاءکنندگی متوسط به بالایی برخوردار بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019



نمودار ۱) قدرت احیاءکنندگی یون فریک انواع فرآورده‌های گیاه پونه البرزی

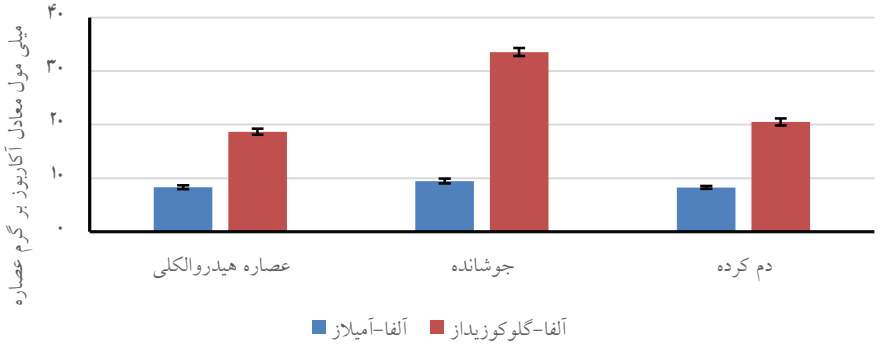
Fig 1) The ferric ion reducing power assay of different products of *Nepeta racemosa* plant.

عصاره هیدروالکلی گیاه *N. racemosa* که در مقایسه با دم‌کرده آن قدرت احیاءکنندگی بالاتری از خود نشان داد، به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقادیر جذب ۰/۶۱، ۰/۸۱ و ۱/۲۷ را ثبت نمود در حالی‌که دم‌کرده آن در غلظت‌های مشابه مقادیر جذب ۰/۵۰، ۰/۷۷ و ۱/۰۹ را نشان داد.

بررسی فعالیت مهارکنندگی آنزیمی

فعالیت مهارکنندگی آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز

بررسی اثر انواع فرآورده‌های به دست آمده از گیاه *N. racemosa* بر روی دو آنزیم آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز نشان داد که جوشانده این گیاه در مقایسه با بقیه نمونه‌ها دارای بالاترین اثر مهارکنندگی (به ترتیب برابر ۹/۴۵ و ۳۳/۵۷ میکرومول معادل آکاربوز بر گرم خشک عصاره) می‌باشد. عصاره هیدروالکلی و دم‌کرده این گیاه نیز قدرت خوبی در مهار فعالیت دو آنزیم آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز از خود نشان دادند. همان‌گونه که در نمودار (۲) نشان داده شده است؛ عصاره هیدروالکلی پونه البرزی با مقادیر ۸/۳۲ و ۱۸/۶۷ میکرومول معادل آکاربوز بر گرم خشک عصاره و دم‌کرده این گیاه نیز با مقادیر ۸/۲۷ و ۲۰/۵۱ میکرومول معادل آکاربوز بر گرم خشک عصاره به ترتیب فعالیت دو آنزیم آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز را مهار نموده‌اند.



نمودار ۲) اثر مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی، جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه‌سای البرزی بر روی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز

Fig 2) The inhibitory effects of hydroalcoholic, Decoction, and Infusion extracts of *Nepeta racemosa* plant on α-Amylase and α-Glucosidase enzymes.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

بحث

بر اساس مطالعات پیشین، تردیدی در اثرات مفید برخی ترکیبات طبیعی گیاهان، در بهبود و افزایش شاخص‌های سلامت انسان وجود ندارد. متابولیت‌هایی نظیر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ساپونینی از جمله مهم‌ترین مواد مؤثره گیاهی می‌باشند که ارزش فراوان دارویی و غذایی آن‌ها به اثبات رسیده است (۳۴). مطالعات فراوانی نشان می‌دهند که برخی ترکیبات طبیعی نظیر پلی‌فنل‌ها، خطر ابتلا به بیماری‌هایی نظیر ناهنجاری‌های عصبی، سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و دیابت را کاهش می‌دهند (۳۶ و ۳۷). با توجه به این موارد، بررسی محتوای متابولیتی فرآورده‌های مختلف به دست آمده از گیاهان دارویی می‌تواند در درک بهتر و یافتن بهینه‌ترین روش استفاده از آن‌ها کمک شایانی نماید (۳۸). عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های متفاوت یکی از مهم‌ترین روش‌های تهیه داروهای گیاهی در صنایع می‌باشد و تهیه جوشانده و دم‌کرده گیاهان نیز از مرسوم‌ترین روش‌های استفاده سنتی گیاهان مختلف دارویی است. در این تحقیق عصاره‌ی هیدروالکلی، جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه‌سای البرزی تهیه شد و میزان محتوای فنلی، فلاونوئیدی و ساپونینی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از جمله مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی هستند که به شکل گسترده‌ای در اکثر گونه‌های گیاهی یافت می‌شوند. این ترکیبات دارای انواع خواص بیولوژیکی و دارویی هستند و در بیشتر موارد میزان خواص فرآورده‌های تولید شده از گیاهان، ارتباط مستقیمی با مقدار این ترکیبات در آن فرآورده دارد (۳۹). بر اساس نتایج، با توجه به اینکه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارای ساختار شیمیایی حاوی حلقه‌های آروماتیک و گروه‌های هیدروکسیل هستند، اکثراً در حلال‌های قطبی نظیر آب و یا مخلوط آب و اتانول محلولیت بالاتری دارند و به همین دلیل، جوشانده، دم‌کرده و عصاره هیدروالکلی این گیاه دارای محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالایی بودند. این نتایج با مطالعات دیگری که بر روی انواع گیاهان انجام گرفته است مطابقت دارد. در مطالعات مارتینس (Martins) و همکاران بر روی دو گیاه تیموس ولگاریس[6] (۴۰) و اریگانیوم وولگار[7] (۴۱)، نشان داده شد که جوشانده و دم‌کرده این گیاهان، دارای محتوای فنلی و فلاونوئیدی بالایی هستند. ترکیبات ساپونینی نیز از جمله مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه هستند که ساختار آن‌ها شامل تری‌ترپنوئیدهایی است که دارای یک یا چند بخش گلیکوزیده می‌باشند. با توجه به همین ساختار، قطبیت این ترکیبات می‌تواند به شکلی باشد که محلولیت آن‌ها در مخلوط آب و اتانول به عنوان حلال، بیش از آب خالص باشد. همین امر می‌تواند از دلایل بالاتر بودن محتوای ساپونینی عصاره هیدروالکلی گیاه پونه البرزی در مقایسه با جوشانده و دم‌کرده به دست آمده از این گیاه باشد. خواص بیولوژیکی و دارویی ترکیبات ساپونینی، حاکی از اهمیت وجود آن‌ها در گیاهان است (۴۲).

یکی از عمده مشکلاتی که بسیاری از بیماران مبتلا به امراض مزمن، نظیر دیابت با آن روبرو هستند استرس اکسیداتیو می‌باشد. در حقیقت، زمانی که میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، در بدن به حدی باشد که سیستم دفاعی بدن نتواند با آن مقابله کرده و رادیکال‌های آزاد تولید شده را از بین ببرد استرس اکسیداتیو به وجود آمده و رادیکال‌ها با صدمه به ترکیبات درونی چون پروتئین‌ها، لیپیدها و

[6] *Thymus vulgaris*
[7] *Origanium vulgar*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

نوکلئیک اسیدها باعث بروز مشکلات فراوانی در سلول می‌شوند. از طرف دیگر استرس اکسیداتیو، از عوامل بسیار مهم در صدمه به سلول‌های بتا و مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی است. به همین دلیل استفاده از ترکیبات و فرآورده‌های گیاهی دارای قدرت آنتی‌اکسیدانتی می‌تواند تعادل دوباره بین سیستم دفاعی و رادیکال‌های آزاد موجود در بدن را برقرار نماید و به این ترتیب استرس اکسیداتیو را با عوارض کمتری در مقایسه با آنتی اکسیدانت‌های سنتزی و شیمیایی در بیماران دیابتی از بین ببرد (۴۳ و ۴۴). در این مطالعه، با استفاده از دو روش DPPH و احیاء یون‌های Fe^{3+}، قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره هیدروالکلی، جوشانده و دم‌کرده گیاه *N. racemosa* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده به خوبی نشان‌دهنده پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی بالای فرآورده‌های مذکور بود. مسلماً این توانایی، می‌تواند نشأت گرفته از ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و ساپونین‌های موجود در این فرآورده‌ها باشد. بر طبق مطالعات انجام شده این ترکیبات با مکانیسم‌هایی چون انتقال اتم هیدروژن و انتقال تک الکترون می‌توانند موجب احیاء رادیکال‌های آزاد و یون‌های فلزی گردند (۳۹). بر طبق تحقیقات، گونه‌های مختلف جنس نپتا، از قدرت آنتی اکسیدانتی بالایی برخوردارند (۱۶ و ۱۷). صالحی و همکاران، پتانسیل آنتی اکسیدانتی عصاره متانولی و سه فراکشن کلروفرمی، بوتانولی و آبی از عصاره متانولی دو گونه نپتا بتونیسیفولیا[8] و نپتا ساکاراتا[9]، را با استفاده از روش‌های DPPH، ABTS و FRAP مورد سنجش قرار دادند و بر اساس نتایج به دست آمده، فراکشن بوتانولی از عصاره متانولی هر دو گونه، بالاترین قدرت آنتی اکسیدانتی را از خود نشان داد (۴۵). مایسلی (Miceli) و همکاران، در مطالعه خود بر روی عصاره متانولی گیاه نپتا سیبتورپی بنتام[10]، نشان دادند که اثر اکسیدانی این عصاره به ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تری‌ترپنوئیدهایی نظیر اورسولیک اسید آن مربوط می‌شود (۴۶). در مطالعه دیگری که توسط تپه و همکاران، بر روی اثر آنتی اکسیدانتی اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه نپتا فلاویدا[11]، با استفاده از دو روش DPPH و بتا- کاروتن لینولئیک اسید صورت گرفت، رابطه مستقیمی بین میزان محتوای فنلی عصاره‌ها و اثر آنتی‌اکسیدانتی آن‌ها مشاهده گردید (۱۳). مطالعه کوکسال (Köksal) و همکاران، قدرت آنتی اکسیدانتی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه نپتا تراکونیتیکا[12] به روش DPPH با استفاده از قدرت احیا کنندگی یون فریک (FRAP) و کوپریک (CUPRAC) نشان داد عصاره اتانولی دارای قدرت آنتی اکسیدانتی بیش از اسکوربیک اسید و عصاره آبی آن کمترین فعالیت را در روش CUPRAC داشت. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانتی در هر دو عصاره در روش FRAP کمتر از اسکوربیک اسید بود (۴۷). مطالعه سیگرمیس (Cigremis) و همکاران، بر روی اثرات آنتی اکسیدانتی و آنتی میکروبیال عصاره استونی نپتا میبری بنتام[13]، نشان از اثر آنتی اکسیدانتی عصاره در روش DPPH با IC_{50} برابر ۶۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشت (۴۸).

اودیگوزل (Adiguzel) و همکاران، با مطالعه بر روی فعالیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره متانولی و

[8] *Nepeta betonicifolia*
[9] *Nepeta saccharata*
[10] *Nepeta sibthorpii* Bentham
[11] *Nepeta flavida*
[12] *Nepeta trachonitica*
[13] *Nepeta meyeri* Betham

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

اسانس نپتا کاریا[14]، نشان دادند که عصاره متانولی دارای اثرات آنتی اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد. در این مطالعه، میزان IC_{50} در عصاره متانولی برابر ۱۷۱/۹۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود در حالی‌که در اسانس آن، هیچ اثر آنتی اکسیدانتی یافت نگردید (۴۹). در یک مطالعه مشابه دیگر بر روی اثر عصاره‌های مختلف نپتا کاتاریا، علی و همکاران، نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانتی عصاره‌های استخراجی توسط پترولیوم اتر، کلروفرم، اتیل استات، اتانول خالص و اتانول ۷۰ درصد، در روش DPPH وابسته به دوز افزایش پیدا نموده و در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان مهارکنندگی این عصاره‌ها به ترتیب ۴۰، ۳۸/۴۸، ۳۳/۲۹، ۳۰/۶۴ و ۷۲/۱۹ درصد گزارش گردیدند. همچنین در این مطالعه فعالیت‌های مهارکنندگی آلفا- آمیلازی و آلفا- گلوکوزیدازی این عصاره‌ها بررسی گردید. مهارکنندگی آلفا-آمیلازی تمام عصاره‌ها به استثنای اتانول ۷۰ درصد، دارای افزایش وابسته به دوز بوده و در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم به ترتیب برای عصاره‌های پترولیوم اتر، کلروفرم، اتیل استات و اتانول خالص برابر با ۳۷/۹۷، ۴۴/۵۹، ۴۳/۶۴ و ۳۸/۱۳ درصد بود، در حالی که بیشترین میزان مهار برای عصاره اتانولی ۷۰ درصد، در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به میزان ۹۴/۳۵ درصد به‌دست آمد. فعالیت آلفا- گلوکوزیدازی برای تمامی عصاره‌ها در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین میزان و به ترتیب دارای مقادیری برابر با ۴۰/۴۴، ۴۰/۵۵، ۳۲/۲۲، ۲۸/۹۵ و ۴۴/۴۱ بودند (۲۲). این نتایج با مطالعه نجیب و همکاران، مطابقت داشت (۵۰). در مطالعه‌ای دیگر، ارزیابی عصاره‌های مختلف بخش هوایی نپتا دیفلرسیانا[15]، توسط اورفالی (Orfali) و همکاران، نشان داد که عصاره بوتانولی این گیاه نسبت به عصاره‌های پترولیوم اتری، تتراکلرید کربنی و اتیل استاتی آن، دارای اثرات آنتی دیابتیک و آنتی اکسیدانی بیشتری بود (۵۱).

برادورست (Broadhurst) و همکاران، در مطالعه خود بر روی فعالیت بیولوژیکی شبه- انسولینی نپتا کاتاریا به روش نشاندار کردن مولکول‌های گلوکز، نشان دادند که رقیق سازی عصاره آمونیومی بیش این گیاه به بیش از دو برابر، فعالیت بیولوژیک آن را متوقف می‌نماید (۵۲). مطالعه صورت گرفته توسط دوی و سینگ (Devi and Singh)، بر روی عصاره متانولی گیاه نپتا هیندوستانا[16]، نشان داد که این عصاره اثر بازدارندگی در برابر دیابت القاء شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی ایجاد می‌نماید. در این مطالعه میزان قند خون در موش‌های صحرایی سالم (گروه شاهد) در روز اول برابر ۸۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و پس از ۲۸ روز به میانگین ۷۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسید. در موش‌های دیابتی میانگین قند خون در روز اول مقدار ۲۷۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به دست آمد که این مقدار در گروه کنترل مثبت پس از ۲۸ روز درمان با داروی گلی‌بنکلامید به ۹۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کاهش پیدا کرد. اثر عصاره‌های ۱۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرموزن بدن موش، میزان قند خون را در موش‌های القا شده دیابتی از ۲۶۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به ترتیب به مقادیر ۱۶۰، ۱۰۵ و ۱۱۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کاهش داد. میزان قند خون در موش‌های دیابتی که هیچ‌گونه درمانی دریافت نکردند، طی این مدت به ۳۱۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر افزایش یافته بود (۵۳).

این قدرت آنتی اکسیدانتی بالا در گونه‌های مختلف

[14] *Nepeta cataria*
[15] *Nepeta deflersiana*
[16] *Nepeta hindostana*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

جنس نپتا، این گیاهان را به کاندیداهای مناسبی جهت بررسی سایر پتانسیل‌های دارویی، نظیر قدرت ضددیابتی تبدیل می‌نماید. در حقیقت فرآورده‌های حاصل از این گیاهان علاوه بر اینکه می‌توانند منجر به کاهش سطح قند خون در بیماران دیابتی شوند، می‌توانند به شکل همزمان از وقوع استرس‌های اکسیداتیو در این بیماران جلوگیری نمایند. با توجه به این امر، در این تحقیق، اثرات ضد دیابتی عصاره هیدروالکلی، جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه البرزی از طریق بررسی اثر مهارکنندگی آن‌ها بر آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز که دو آنزیم اصلی دخیل در فرآیند هیدرولیز پلیمرهای تغذیه‌ای نظیر نشاسته می‌باشند؛ مورد بررسی قرار گرفت. در واقع، یکی از روش‌های کنترل سطح قند خون در افراد دیابتی به ویژه مبتلایان به دیابت نوع دو، مهار عملکرد این دو آنزیم است. آنچه با توجه به نتایج حاصل از تست‌های مهارکنندگی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز می‌توان مشاهده کرد قدرت ضد دیابتی بالاتر جوشانده این گیاه بر روی هر دو آنزیم در مقایسه با عصاره هیدروالکلی و دم‌کرده آن است که این امر را می‌توان به محتوای بالاتر فنلی و فلاونوئیدی آن ارتباط داد. گرچه برخی از مطالعات انجام گرفته بر روی اثر ضد دیابتی گیاهان دارویی، این خاصیت را به ترکیبات غیر قطبی آن‌ها مرتبط دانسته‌اند (۵۴)، اما در مقابل تحقیقات فراوانی نیز وجود دارند که ترکیبات فنلی نظیر فلاونوئیدها و تانن‌ها را مسئول خاصیت ضد دیابتی گیاهان معرفی نموده‌اند (۹، ۵۵ و ۵۶) که نتایج حاصل از این تحقیق را نیز می‌توان در این گروه قرار داد. در بررسی نتایج حاصل از بازداری دو آنزیم دخیل در ایجاد دیابت توسط فرآورده‌های به دست آمده از گیاه *N. racemosa* (شکل ۳)، به خوبی قابل مشاهده است که این فرآورده‌ها در مقایسه با آنزیم آلفا- آمیلاز، دادای قدرت بازداری بیشتری بر روی آنزیم آلفا- گلوکوزیداز بوده‌اند. ترکیباتی همچون آکاربوز که در اخیراً به عنوان مهارکننده‌های آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز استفاده می‌شوند، در برابر هر دو آنزیم، دارای اثر بازداری بالایی می‌باشند. اگر چه آن‌ها، عملکرد درمانی مؤثری از خود به نمایش گذاشته‌اند؛ اما به واسطه تخمیر باکتریایی کربوهیدرات‌های هضم نشده که در اثر کاهش بیش از حد عملکرد آنزیم آلفا- آمیلاز، در سیستم گوارشی باقی می‌مانند، مشکلات گوارشی نظیر نفخ را در مصرف‌کنندگان این داروها بسیار رایج نموده است. فرآیند تجزیه پلیمرهای کربوهیدراتی نظیر نشاسته در بدن به این شکل است که در مرحله اول توسط آنزیم آلفا- آمیلاز به دی‌ساکارید مالتوز تبدیل می‌شوند و سپس این ترکیب دو واحدی به وسیله آنزیم آلفا- گلوکوزیداز به گلوکز هیدرولیز می‌گردد. با توجه به این امر در صورتی که عملکرد آنزیم آلفا- آمیلاز بیش از حد مهار شود پلیمرهای کربوهیدراتی به طور کامل هضم نخواهند شد و بدین ترتیب مشکلات ذکر شده به وجود خواهد آمد. بنابراین، مهارکننده‌هایی با قدرت بازدارندگی بالا، بر آنزیم آلفا- گلوکوزیداز که دارای اثر متوسطی بر آلفا- آمیلاز باشند می‌توانند به حل این مشکل کمک نموده و به شکل مؤثرتری و با عوارض جانبی کمتری در مقابله با دیابت نوع دو مورد استفاده قرار گیرند (۵۵). همچنین، نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر، به خوبی نشان می‌دهد که همه نمونه‌های به دست آمده از گیاه پونه البرزی دارای این ویژگی خاص می‌باشند و اثر بازدارندگی آن‌ها بر روی آنزیم آلفا- گلوکوزیداز در همه موارد، دو برابر قوی‌تر از اثر مهارکنندگی بر روی آنزیم آلفا- آمیلاز است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج مطالعه، جوشانده و دم‌کرده گیاه پونه البرزی به خوبی می‌توانند توسط افراد دیابتی به ویژه مبتلایان به دیابت نوع دو، جهت کاهش قندخون بعد از غذا مورد استفاده قرار گیرند و عصاره هیدروالکلی این گیاه نیز پتانسیل خوبی برای تبدیل به داروی ضد دیابتی دارد که البته برای رسیدن به این هدف مسلماً انجام مطالعات حیوانی و آزمون‌های بالینی باید مدنظر قرار گیرد.

این مقاله تحت حمایت جایی نیست.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Akbarzadeh S, Barghahi A, Rahbar A, et al. The effects of aqueous extract of stevia plant (*Stevia rebaudiana*) on serum concentration of vaspin and Angiopoietin-like Protein-3 in streptozotocin induced diabetic rats. Iran South Med J. 2015; 18 (2): 239-49.

2.Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, et al. Diabetes in Iran: Prospective Analysis from First Nationwide Diabetes Report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016). Sci Rep 2017;7(1):13461.

3.Gardner DG, Shoback DM. Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2007.

4.Pendsey S. Practical Management of Diabetes. 2th ed. New Delhi: Wiley-Blackwell, 2002.

5.Watkins PJ. ABC of Diabetes. 5th ed. London: BMJ publishing group, 2003.

6.Lebovitz HE. Alpha-glucosidase Inhibitors as Agents in the Treatment of Diabetes. Diabetes Rev 1998; 6: 132-45.

7.Cheng AY, Fantus IG. Oral Antihyperglycemic Rherapy for Type 2 Diabetes Mellitus. CMAJ 2005; 172 (2): 213-26.

8.Asghari B, Salehi P, Moridi Farimani M, et al. α-Glucosidase Inhibitors from Fruits of Rosa Canina L. Rec Nat Prod 2015; 9: 276-83.

9.Asghari B, Salehi P, Sonboli A, et al. Flavonoids from Salvia Chloroleuca with α-Amylase and α-glucosidase Inhibitory Effect. Iran J Pharm Res 2015; 14: 609-15.

10.Bahadori MB, Valizadeh H, Asghari B, et al. Chemical Composition and Antimicrobial, Cytotoxicity, Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of Salvia Spinosa L. J Funct Foods 2015; 18: 727-36.

11.Valimehr S, Sanjarian F, Sabouni F, et al. Anti-inflammatory Effects of Essential Oil, Aerial Parts and Hairy Roots Extracts of Nepeta Pogonosperma on Rat Brain Mixed Cells. RJP 2015; 2(4): 5-10.

12.Sonboli A, Saadat MH, Arman M, et al. Antibacterial Activity and Composition of the Essential Oil of Nepeta Hormozganica Jamzad from Iran. Nat Prod Res 2017; 31(23): 2806-9.

13.Tepe B, Daferera D, Tepe AS, et al. Antioxidant Activity of the Essential Oil and Various Extracts of Nepeta Flavida Hub.-Mor. from Turkey. Food Chem 2007; 103: 1358-64.

14.Kahkeshani N, Hadjiakhoondi A, Navidpour L, et al. Chemodiversity of Nepeta Menthoides Boiss. & Bohse. Essential Oil from Iran and Antimicrobial, Acetylcholinesterase Inhibitory and Cytotoxic Properties of 1,8-cineole Chemotype. Nat Prod Res 2017; 15: 1-4.

15.Mahmood H, Chaudhry MA, Masood Z, et al. A Mechanistic Evaluation of the Traditional Uses of Nepeta Ruderalis in Gastrointestinal and Airway Disorders. Pharm Biol 2017; 55(1): 1017-21

16.Köksal E, Tohma H, Kılıç Ö, et al. Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Nepeta Trachonitica: Analysis of Its Phenolic Compounds Using HPLC-MS/MS. Sci Pharm 2017; 85: 24.

17.Tundis R, Nadjafi F, Menichini F. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity and Antioxidant Properties of Nepeta Crassifolia Boiss & Buhse and Nepeta

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

Binaludensis Jamzad. Phytother Res 2013; 27(4): 572-80.
18.Ali T, Javan M, Sonboli A, et al. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of the Essential oil of Nepeta Crispa Willd. In Experimental Rat Models. Nat Prod Res 2012; 26: 1529-34.
19.Sonboli A, Salehi P, Yousefzadi M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential oil of Nepeta Crispa Willd from Iran. Z Naturforsch C 2004; 59: 653-6.
20.Süntar I, Nabavi SM, Barreca D, et al. Pharmacological and Chemical Features of Nepeta L. Genus: Its Importance as a Therapeutic Agent. 32(2): 185-98.
21.Emami SA, Yazdian-Robati R, Sadeghi M, et al. Inhibitory Effects of Different Fractions of Nepeta Satureioides on Melanin Synthesis Through Reducing Oxidative Stress. Res Pharm Sci 2017; 12: 160-7.
22.Aly HF, Ebrahim ME, Metawaa HM, et al. In Vitro and in Vivo Evaluation of the Antidiabetic Effect of Different Extracts of Nepeta Cataria in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. J Am Sci 2010; 6: 364-86.
23.Devi S, Singh Dahiya R. Antidiabetic Activity of Methanolic Extract of Nepeta Hindostana Herb in Streptozotocin Induced Diabetes in Rats. Int J Pharm Pharm Sci 2016; 8(7): 330-5.
24.Baharvand-Ahmadi B, Bahmani M, Tajeddini P, et al. An Ethno-medicinal Study of Medicinal Plants Used for the Treatment of Diabetes. J Nephropathol 2015; 5(1): 44-50.
25.Bourrel C, Perineau F, Michel G, et al. Catnip (Nepeta Cataria L.) Essential Oil: Analysis of Chemical Constituents, Bacteriostatic and Fungistatic Properties. J Ess Oil Res 1993; 5: 159-67.
26.Sattar A, Bankova V, Kujumgiev A, et al. Chemical Composition and Biological Activity of Leaf Exudates from Some Lamiaceae Plants. Pharmazie 1995; 50: 62-65.
27.Sherden NH, Lichman B, Caputi L, et al. Identification of Iridoid Synthases from Nepeta Species: Iridoid Cyclization Does Not Determine Nepetalactone Stereochemistry. Phytochemistry 2018; 145: 48-56.
28.Daryasari AP, Soleimani M, Ghorbani A, et al. Microwave-assisted Isolation of Essential Oils from Nepeta Crispa and N. Racemosa and Comparisons with the Conventional Method. Nat Prod Commun 2012 (11): 1511-4.
29.Baser KHC, Ozek T, Akgul A, et al. Composition of the Essential Oil of Nepeta Racemosa Lam. J Essent Oil Res 1993; 5: 215-17.
30.Rustaiyan A, Khosravi M, Larijany Ket al. Composition of the Essential Oil of Nepeta Racemosa Lam. J Essent Oil Res 2000; 12: 151-2.
31.Dabiri M, Sefidkon F. Chemical Composition of the Essential oil of Nepeta Racemosa Lam. from Iran. Flavour Fragr J 2003; 18(2): 157-8.
32.Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Meth Enzymol 1999; 299: 152-78.
33.Marija ML, Ivana NB, Dejan ZO, et al. Phytochemical Composition and Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activities of Juniperus Macrocarpa Sibth. et Sm. J Funct Foods 2014; 7: 257-68.
34.Aktumsek A, Zengin G, Guler GO, et al. Antioxidant Potentials and Anticholinesterase Activities of Methanolic and Aqueous Extracts of Three Endemic Centaurea L. Species. Food Chem Toxicol 2013; 55: 290-6.
35.Bahadori MB, Asghari B, Dinparast L, et al. Salvia Nemorosa L.: A Novel Source of Bioactive Agents with Functional Connections. LWT-Food Sci Technol 2017; 75: 42-50.
36.Chiva-Blanch G, Visioli F. Polyphenols and Health: Moving Beyond Antioxidants. J Berry Res 2012; 2: 63-71.
37.Chong MF, Macdonald R, Lovegrove JA. Fruit Polyphenols and CVD Risk: A Review of Human Intervention Studies. Br J Nutr 2010; 104 Suppl 3: S28-39.
38.Amarowicz R, Estrella I, Hernandez T, et al. Free Radical-scavenging Capacity, Antioxidant Activity, and Phenolic Composition of Green Lentil (Lens Culinaris). Food Chem 2010; 121: 705-11.
39.Craft BD, Kerrihard AL, Amarowicz R, et al. Phenol-based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for their Assessment. Compr Rev Food Sci Food Saf 2012; 11: 148-73.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

40.Martins N, Barros L, Santos-Buelga C, et al. Decoction, Infusion and Hydroalcoholic Extract of Cultivated Thyme: Antioxidant and Antibacterial Activities, and Phenolic Characterization. Food Chem 2015; 167: 131-7.

41.Martins N, Barros L, Santos-Buelga C, et al. Decoction, Infusion and Hydroalcoholic Extract of Origanum Vulgare L.: Different Performances Regarding Bioactivity and Phenolic Compounds. Food Chem 2014; 158: 73-80.

42.Podolak I, Galanty A, Sobolewska D. Saponins as Cytotoxic Agents: A Review. Phytochem Rev 2010; 9(3): 425-74.

43.Shori AB. Screening of Antidiabetic and Antioxidant Activities of Medicinal Plants. J Integr Med 2015; 13(5): 297-305.

44.SongY, Manson JE, Buring JE, et al. Association of Dietary Flavonoids with Risk of Type 2 Diabetes, and Markers of Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Women: A Prospective Study and Cross Sectional Analysis. J Am Coll Nutr 2005; 24(5): 376-84.

45.Salehi P, Sonboli A, Khaligh P, et al. Essential Oil Composition and Antioxidant Activity of Different Extracts of Nepeta Betonicifolia C.A. Meyer and Nepeta Saccharata Bunge. Nat Prod 2012; 26: 736-43.

46.Miceli N, Taviano MF, Giuffrida D, et al. Anti-inflammatory Activity of Extract and Fractions from Nepeta Sibthorpii Bentham. J Ethnopharmacol 2005; 97: 261-66.

47.Köksal E, Tohma H, Kılıç Ö, et al. Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Nepeta Trachonitica: Analysis of Its Phenolic Compounds Using HPLC-MS/MS. Sci Pharm 2017; 85(2). pii: E24.

48.Cigremis Y, Ulukanli Z, Ilcim A, et al. In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Assays of Acetone Extracts from Nepeta Meyeri Bentham. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2010; 14(8): 661-8.

49.Adiguzel A, Ozer H, Sokmen M, et al. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extract of Nepeta Cataria. Pol J Microbiol 2009; 58(1): 69-76.

50.Naguib AM, Ebrahim ME, Aly HF, et al. Phytochemical Screening of Nepeta Cataria Extracts and Their in Vitro Inhibitory Effects on Free Radicals and Carbohydrate-Metabolising Enzymes. Nat Prod Res 2012; 26(23): 2196-8.

51.Orfali R, Siddiqui NA, Alam P, et al. Biological Evaluation of Different Extracts of Aerial Parts of Nepeta Deflersiana and Standardization of Active Extracts Using 8-Epi-7-Deoxyloganic Acid and Ursolic Acid by Validated HPTLC Method. Evid Based Complement Alternat Med 2018: 8790769.

52.Broadhurst CL, Polansky MM, Anderson RA. Insulin-like Biological Activity of Culinary and Medicinal Plant Aqueous Extracts in Vitro. J Agric Food Chem 2000; 48(3): 849-52.

53.Devi S, Singh R. Antidiabetic Activity of Methanolic Extract of Nepeta Hindostana Herb in Streptozotocin Induced Diabetes in Rats. Int J Pharm Pharm Sci 2016; 8(7): 330-5.

54.Yusoff N, Yam MF, Beh HK, et al. Antidiabetic and Antioxidant Activities of Nypa Fruticans Wurmb. Vinegar Sample from Malaysia. Asian Pac J Trop Med 2015; 8(8): 595-605.

55.Hua-Qiang D, Mei L, Feng Z, et al. Inhibitory Potential of Trilobatin from Lithocarpus Polystachyus Rehd Against α-glucosidase and α-amylase Linked to Type 2 Diabetes. Food Chem 2012; 130: 261-6.

56.Ochir S, Nishizawa M, Park BJ, et al. Inhibitory Effects of Rosa Gallica on the Digestive Enzymes. J Nat Med 2010; 64: 275-80.

www.SID.ir

Archive of SID

Iran South Med J 2019; 22(2): 90-105

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 11:30 +0430 on Saturday July 13th 2019

Original Article

Phytochemical Properties and Inhibitory and Antioxidant Effects of the Decoction, Infusion and Hydro-Alcoholic Extract of *Nepeta Racemosa* on α-Amylase and α-Glucosidase

MM. Zarrabi (PhD)[1*], B. Asghari (PhD)[1**], A. Maryamabadi (PhD)[2], GH. Mohebbi (PhD)[3], S. Rashvand (PhD)[4]

[1] Department of Plant Production and Breeding Engineering, school of Engineering and Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

[2] Research and development Department, Shakheh Zeytoon Lian Inspection Co, Bushehr, Iran

[3] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[4] Department of Forests and Rangeland, Qazvin Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qazvin, Iran

(Received 30 April, 2018 Accepted 5 Feb, 2019)

Abstract

Background: As an important plant belonging to the Nepeta genus, *Nepeta racemosa* has been reported to be widely used in traditional medicine. The present study was conducted to investigate the phytochemical content and antioxidant and antidiabetic potential of the decoction, infusion and hydro-alcoholic extract of this plant.

Materials and Methods: The total phenolic content of the samples was determined using a slightly- modified Folin–Ciocalteu method. The DPPH free radical scavenging method was used to evaluate the antioxidant activities, and the Vanillin-Sulphuric Acid Method for the saponin content of the extract. Moreover, their inhibitory effects on α-amylase and α-glucosidase were investigated based on standard methods.

Results: The phenolic content of the plant decoction was found to be 222.8 mg of gallic acid equivalent per gram of dried extract and its flavonoid content 87.8 mg of quercetin equivalent per gram of dried extract. The highest saponin content obtained was associated with the hydro-alcoholic extract of the plant with 41.9 mg of quillaja equivalent per gram of dried extract. The plant decoction also showed the highest potential compared to the other samples in terms of antioxidant properties investigated using the DPPH and FRAP methods. Furthermore, the plant decoction showed great potential in terms of its inhibitory effects on α-amylase with 9.45 µmol of acarbose equivalent per gram of dried extract, and α-glucosidase with 33.57 µmol of acarbose equivalent per gram of dried extract.

Conclusion: According to the results, *Nepeta racemosa* was found to exhibit high levels of antioxidant and antidiabetic abilities, which are directly proportional to its phenolic and flavonoid contents.

Keywords: *Nepeta racemosa*, phytochemical properties, antioxidant effects, α-Amylase Inhibitor, α-Glucosidase Inhibitor

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Zarrabi MM, Asghari B, Maryamabadi A, Mohebbi GH, Rashvand S. Phytochemical Properties and Inhibitory and Antioxidant Effects of the Decoction, Infusion and Hydro-Alcoholic Extract of Nepeta Racemosa on α-Amylase and α-Glucosidase. Iran South Med J 2019;22(2):90-105

Copyright © 2019 Zarrabi, et al This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*] *Address for correspondence:* Department of Plant Production and Breeding Engineering, school of Engineering and Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran. E.mail: asghari@eng.ikiu.ac.ir

*ORCID:0000-0002-2024-3101

**ORCID: 0000-0001-6571-3069

www.SID.ir