

تأثیر مراحل فنولوژیک گیاه دارویی *Achillea pachycephala* Rech.f. بر مهار گلائیکهشدن آلبومین در شرایط *in vitro*مهوش افشاری<sup>۱</sup>، مهدی رحیم‌ملک<sup>۱\*</sup> و مهران میراولیایی<sup>۲</sup><sup>۱</sup> ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات<sup>۲</sup> ایران، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۲۷

## چکیده

استفاده از گیاهان دارویی در مهار و درمان دیابت از طریق توقیف مکانیزم‌های تخریب زیست مولکول‌ها، موضوعی مهم در حیطه زیست پزشکی است. گیاه دارویی *Achillea* متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) است و از گذشته‌های دور به طور گسترده در طب سنتی استفاده می‌شود. گونه *A. pachycephala* یکی از گونه‌های ارزشمند بومادران است که به عنوان منبع غنی آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شود. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر مراحل مختلف فنولوژیک شامل پنج برگ، غنچه دهی، ۵۰٪ گلدهی و ۱۰۰٪ گلدهی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی عصاره متانولی گل‌های *A. pachycephala* بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از مدل سیستم آلفا و آلفا-دی فنیل-بتا-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و قدرت احیاکنندگی آهن (FTC) سنجش شد. میزان گلائیکه شدن آلبومین نیز براساس درجه قهوه‌ای شدن و پاسخ‌دهی معرف قرمز کنگو ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که خاصیت آنتی‌گلائیکشی گیاه در مرحله ۵۰٪ گلدهی بیشتر از سایر مراحل بود و بیشترین مقدار فنول تام، فلاونوئید تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در این مرحله مشاهده شد. نتایج همچنین نشان داد که بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌گلائیکشی ارتباط مستقیمی وجود دارد. احتمالاً *A. pachycephala* به واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی خود از گلائیکه شدن پروتئین جلوگیری می‌نماید و از این رو می‌تواند کاندید مناسبی در کاهش عوارض دیابت معرفی گردد.

واژه‌های کلیدی: خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌گلائیکشن، بومادران، مراحل فنولوژیک.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۱۳۳۴۸، پست الکترونیکی: mrahimmalek@cc.iut.ac.ir

## مقدمه

موجب ایجاد وضعیتی به نام استرس اکسیداتیو می‌شوند که در اثر برهم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد از یک سو و تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود (۲). گیاهان دارویی قادرند تحت استرس-های محیطی با سنتز مواد مؤثر ثانویه و فعال از جمله پلی‌فنول‌ها، در پیشگیری و درمان بیماری‌ها مؤثر واقع شوند. آن‌ها همچنین قدرت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و کلاته‌کنندگی فلزات را دارند (۳۲). شناسایی شاخص‌های کلیدی جهت انجام مطالعات فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و خواص

بسیاری از بیماری‌ها نظیر دیابت، سرطان، آترواسکلروز، آرتریت، اختلالات قلبی عروقی و همچنین صدمات فیزیکی و پیری، ارتباط اساسی با استرس اکسیداتیو دارند (۴). رادیکال‌های آزاد به دلیل داشتن الکترون آزاد، گونه‌هایی فعال و در نتیجه ناپایدار هستند. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شامل آنیون سوپراکسید، رادیکال-هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن به علت تمایل زیاد برای واکنش با سایر مولکول‌ها می‌توانند به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب برسانند (۴). این مولکول‌ها در غلظت‌های بالا

گیاه بومادران (*Achillea pachycephala* Rech.f.) از طول جغرافیایی ۵۳°۵۷' و عرض جغرافیایی ۳۶°۳۰' (استان گلستان) جمع آوری شد و با شماره نمونه (Voucher specimen number) ۱۲۳۳۴ در هرباریوم دانشگاه صنعتی اصفهان ثبت گردید. این آزمایش در محوطه کشت دانشگاه صنعتی اصفهان به اجرا درآمده است. عملیات کشت گونه-های بومادران در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار با تعداد ۸ بوته با فواصل ۲۰ سانتی متر و به صورت غیرجنسی (کلونی) در کرت‌هایی به ابعاد ۱×۲، در عمق ۱۰ سانتیمتری سطح خاک اجرا شد. بررسی‌ها و نمونه‌برداری-ها از ژنوتیپ *A. pachycephala* در چهار مرحله فنولوژیک (شامل پنج برگ، غنچه دهی، ۵۰٪ گلدهی و ۱۰۰٪ گلدهی) انجام گرفت.

**نحوه تهیه عصاره از برگ:** از ژنوتیپ *A. pachycephala* در چهار مرحله نمودی مقدار ۲/۵ گرم نمونه خشک تهیه و پس از قرار دادن در متانول ۸۰٪ عصاره‌گیری شد. عصاره-های تهیه شده فیلتر شده و با استفاده از روش پرکولاسیون، عصاره‌گیری و با روش تقطیر در خلأ تغلیظ گردیدند. عصاره‌های خشک شده تا زمان انجام آزمایش در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

**تعیین ترکیبات فنولی:** مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی بر اساس روش توحیدی و همکاران (۳۳) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره-های مختلف رقیق شده (۰/۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪) مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فولین سیوکالتیو ۱۰٪ افزوده شد و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در مقابل محلول کنترل متانول در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. هم‌زمان با انجام آزمایش، رقت‌های مختلف اسید تانیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار

درمانی گیاهان دارویی در مهار رادیکال‌های آزاد، پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های شایع التهابی از جمله دیابت و کاهش عوارض آنها امری ضروری است. به همین دلیل مطالعات اتنوفارماکولوژیکی، فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی در بررسی خواص آنتی‌دیابتیک گیاهان دارویی مورد توجه ویژه محققین قرار دارد (۱۶). از طرفی، میزان و نوع مواد مؤثر موجود در گیاهان که عمدتاً متابولیت‌های ثانویه هستند، در طول دوره رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند. بنابراین، خواص دارویی گیاهان که وابسته به حضور متابولیت‌های ثانویه است، نیز ممکن است دچار تغییر شوند (۱۷). گیاه بومادران به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و خواص دارویی متنوع در طب سنتی و طب نوین کاربردهای فراوان دارد. نوزده گونه از این گیاه در ایران موجود است که برخی گونه‌های آن انحصاری هستند (۱). از مهم‌ترین گونه‌های آن می‌توان به *A. pachycephala* اشاره نمود (۳۵ و ۲۶). گزارش‌ها حکایت از خواص فارماکولوژیک بومادران، مشتمل بر خصوصیات ضد دیابت، ضد قارچ، ضد فشارخون، تب‌بری، ضد التهابی و تنظیم‌کننده سیستم گوارشی دارد. تاکنون گزارشی مبنی بر اثر مراحل مختلف نمودی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بررسی خاصیت آنتی‌گلایکیشن گیاه بومادران گزارش نشده است. همچنین به دلیل آنکه، میزان کل ترکیبات فنولیک و فلاونوئید اثر مهمی روی خواص دارویی این گیاه می‌گذارد، می‌توان بهترین مرحله فنولوژیک را برای افزایش میزان کل ترکیبات فنولیک و آنتی‌اکسیدان و سایر متابولیت‌های ثانویه بومادران تعیین نمود. بنابراین، با توجه به استفاده‌های فزاینده این گیاه در طب سنتی به‌عنوان کاهش‌دهنده قند خون، در این پژوهش قدرت آنتی‌گلایکیشن عصاره *A. pachycephala* و ارتباط آن با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، در مراحل مختلف فنولوژیک گیاه ارزیابی شده است.

## مواد و روشها

میلی‌لیتر از هر عصاره، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیم-کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل نمونه شاهد قرائت شد (کوئرتستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد). سپس میزان فلاونوئید بر اساس میزان میلی‌گرم کوئرتستین در گرم عصاره ثبت گردید (۲۸).

**تعیین درجه گلايکه شدن پروتئين براساس ميزان قهوه‌ای شدن نمونه:** طیف سنجی مرئی - فرابنفش روشی بسیار مناسب برای بررسی و مطالعه فرآیند قنددار شدن ماکرو-مولکول‌ها به شمار می‌آید. با مقایسه جذب نوری آلومین گلايکه بدون حضور و در حضور عصاره‌ها و متیل‌گلی-اکسال، میزان مهارکنندگی مشخص شد. در این آزمون، آلومین گاوی (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با قند متیل‌گلی-اکسال (۱۰ میلی‌مولار) و سدیم آزید (۰/۰۲٪) در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) انکوبه شد. نمونه کنترل منفی (آلومین)، کنترل مثبت (آلومین و متیل‌گلی‌اکسال)، نمونه‌ها (آلومین، متیل‌گلی‌اکسال و عصاره بومادران) به مدت سه روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. درجه قهوه‌ای شدن نمونه‌ها شامل پروتئین قنددار شده، نمونه پروتئین قنددار شده در حضور عصاره و نمونه کنترل پروتئین، هر کدام جداگانه در طول موج ۳۴۰ نانومتر بررسی شدند (۷).

**تعیین درجه گلايکه شدن پروتئين براساس روش قرمز کنگو:** قرمز کونگو، معرف اختصاصی صفحه‌های بتا است. میزان جذب نوری این ماده در ۵۳۰ نانومتر در اثر اتصال به ساختارهای بتا افزایش می‌یابد (۲۱). برای انجام این آزمون ۸۰ میکرولیتر نمونه با ۲۰ میکرولیتر معرف قرمز کنگو مخلوط و پس از ۵ دقیقه جذب آن در ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. برای آماده سازی معرف قرمز کنگو (۱۰۰ میکرومولار) ۰/۰۰۳ گرم قرمز کنگو در ۵ میلی‌لیتر اتانول

فنول کل هر عصاره بر حسب میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک محاسبه گردید.

**بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی به روش DPPH:** برای تعیین قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس روش سلامی و همکاران (۲۸) اندازه‌گیری گردید. برای بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره، از شاخص IC<sub>50</sub> استفاده شد. IC<sub>50</sub> بیان‌گر مقدار میلی‌گرمی از عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط باشد. برای محاسبه آن ابتدا نموداری از رابطه میان مقادیر غلظت عصاره و درصد DPPH باقی‌مانده رسم نموده و با توجه به نمودار حاصل و به صورت ترسیمی غلظتی از عصاره را که قادر است ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی کند، تعیین می‌شود. برای بررسی بهتر این فعالیت از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (Hydroxy Toluene Butylated) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

**بررسی قدرت احیاءکنندگی آهن:** برای تعیین قدرت احیاءکنندگی آهن، محلولی از ۱ میکروگرم عصاره در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH:۶/۵) و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول آبی یک درصد فری‌سیانید پتاسیم [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] مخلوط و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد اسید تری‌کلرواستیک به مخلوط اضافه شد. محلول به‌دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰×g سانتریفوژ شد. در نهایت، ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کلریدفریک (FeCl<sub>3</sub>) مخلوط و جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Hitachi F-2500) در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید (۱۱).

**اندازه‌گیری محتوی تام فلاونوئید:** محتوی تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه‌گیری شد. به نیم

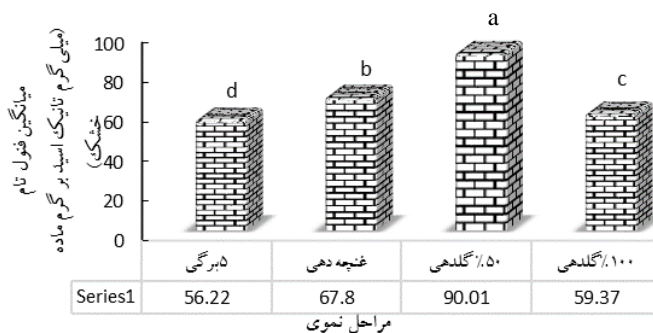
داری بین نمونه‌ها است ( $p \leq 0.05$ ). برای رسم شکل‌ها از نرم افزار Excel و Graph pad استفاده گردید.

### نتایج و بحث

ارزیابی‌ها مشخص نمود که مقدار فنول و فلاونوئید تام در طی مراحل رویشی به تدریج افزایش، در مرحله ۵۰٪ گلدهی به بیشترین میزان و در مرحله ۱۰۰٪ گلدهی با کاهش همراه بود. بیشترین میزان فنول و فلاونوئید تام در مرحله ۵۰٪ گلدهی، بترتیب برابر با ۹۰/۰۱ میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم ماده خشک (شکل ۱)، و ۱۲/۱۰ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک (شکل ۲)، مشاهده شد.

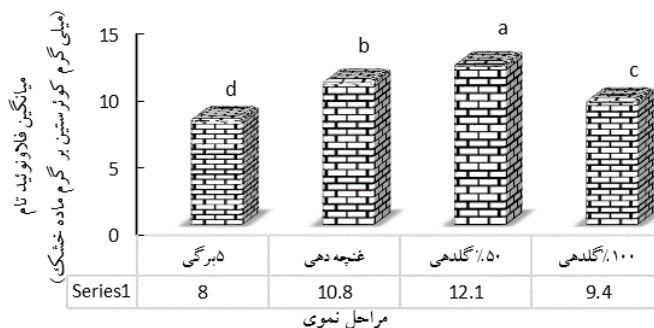
حل و سپس با محلول PBS به حجم نهایی ۵۰ میلی لیتر رسید و پس از فیلتر شدن در شیشه تاریک و در یخچال نگهداری شد.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** ارزیابی برای هرکدام از نمونه‌ها با سه تکرار انجام گردید و داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS, ver9.2 تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند. حروف غیر مشترک (d, c, b, a) بیانگر تفاوت معنی دار و حروف مشترک بیانگر عدم معنی



شکل ۱- تأثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان فنول تام در *A. pachycephala*

مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار) براساس آزمون LSD است. حروف غیر مشترک (d, c, b, a) بیانگر تفاوت معنی دار بین نمونه‌ها است ( $p \leq 0.05$ ).

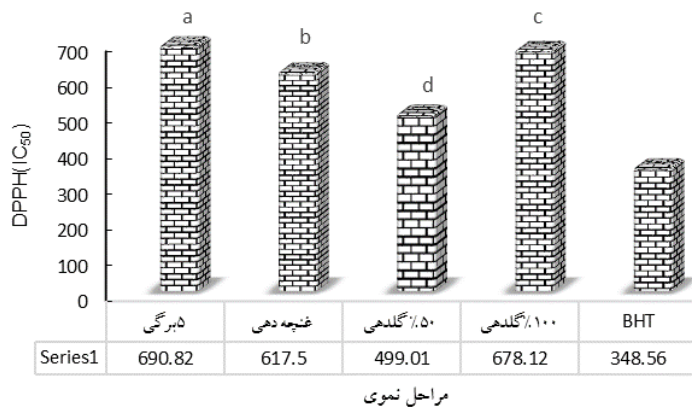


شکل ۲- تأثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان فلاونوئید تام در *A. pachycephala*

مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار) براساس آزمون LSD است. حروف غیر مشترک (d, c, b, a) بیانگر تفاوت معنی دار بین نمونه‌ها است ( $p \leq 0.05$ ).

این روش، در مرحله ۵۰٪ گلدهی کمترین میزان خود اکسیدانی متفاوتی را بروز دادند و شاخص IC<sub>50</sub> تا مرحله ۵۰٪ گلدهی کاهش و بعد از این مرحله میزان آن افزایش یافت (شکل ۳). درحقیقت ارزیابی درجه آنتی اکسیدانی به

عصاره‌های گیاهی در دوره‌های مختلف رشد، توانایی آنتی اکسیدانی متفاوتی را بروز دادند و شاخص IC<sub>50</sub> تا مرحله ۵۰٪ گلدهی کاهش و بعد از این مرحله میزان آن افزایش یافت (شکل ۳). درحقیقت ارزیابی درجه آنتی اکسیدانی به

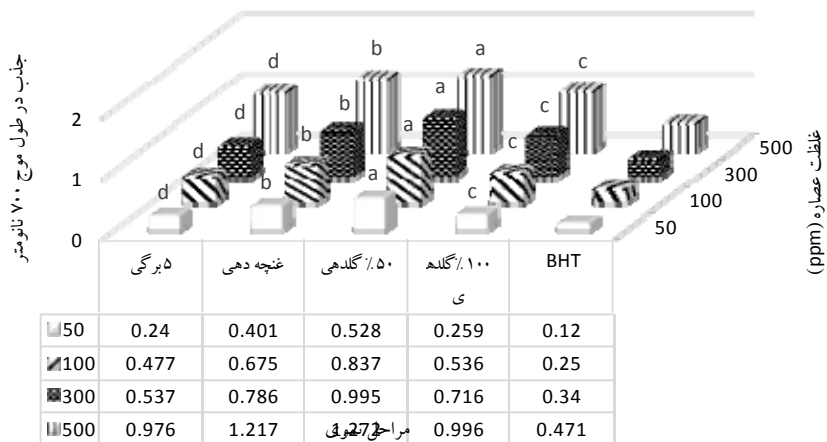


شکل ۳- تأثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH (IC<sub>50</sub>) در

*A. pachycephala* به عنوان استاندارد استفاده شده است. مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون LSD است. حروف غیر مشترک (d, c, b, a) بیانگر تفاوت معنی دار بین نمونه‌ها است (p ≤ 0.05).

مشاهده شد (شکل ۴). همه غلظت‌های عصاره نسبت به - اکسیدان سنتزی، خاصیت احیاکنندگی بیشتری از خود نشان دادند. غلظت‌های ۳۰۰ و ۵۰۰ ppm نسبت به غلظت- های دیگر قوی‌تر عمل کردند (شکل ۴).

نتایج حاکی از آن است که جذب نوری عصاره‌های ژنوتیپ گلستان (گونه *A. pachycephala*) در چهار غلظت متفاوت نیز تا مرحله ۵۰٪ گلدهی افزایش و پس از این مرحله میزان آن کاهش یافت. کمترین میزان جذب نوری عصاره‌ها در هر چهار غلظت، در مرحله پنج برگگی



شکل ۴- تأثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FTC (قدرت احیاکنندگی آهن) در چهار غلظت متفاوت در *A. pachycephala* به عنوان استاندارد استفاده شده است. مقایسه میانگین‌ها (میانگین سه تکرار ± انحراف معیار) براساس آزمون LSD است. حروف غیر مشترک (d, c, b, a) بیانگر تفاوت معنی دار بین نمونه‌ها است (p ≤ 0.05).

در طی بلوغ گیاهان، تغییرات فیتوشیمیایی بر فعالیت آنتی-اکسیدانی آن‌ها مؤثر است و کیفیت غذایی انواع مختلف میوه و سبزیجات را در زمان‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). اغلب، میزان فنول کل با رسیدگی کامل گیاه به طور پیوسته کاهش می‌یابد که این حقیقت با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. میزان فنول تام بعد از مرحله ۵۰٪ گلدهی روند نزولی نشان داد. احتمالاً در مرحله رویشی این گونه گیاهی، ترکیب‌های فنولی و یا سایر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی ناچیز می‌باشند و به تدریج تا رسیدن به مرحله گلدهی مقدار این ترکیبات به حداکثر خود می‌رسند و سپس در طی رسیدگی بذری دوباره کاهش می‌یابند (۲۳). علت افزایش تجمع ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در مرحله ۵۰٪ گلدهی را می‌توان مرتبط با سلول‌ها و بافت‌هایی مثل مزوفیل، اپیدرم و ضخامت کوتیکول، کلروپلاست، کرک و یا تغییرات مهم فیزیولوژیکی و ساختاری طی مراحل نمو دانست (۳۶).

همچنین این افزایش را می‌توان به همزمانی این مرحله با دمای معتدل هوا در اواسط بهار مرتبط دانست و با نزدیک شدن به تابستان و افزایش دمای هوا و رسیدن گیاه به بلوغ کامل میزان این ترکیبات مجدداً کاهش می‌یابند. این کاهش می‌تواند ناشی از تجزیه متابولیت‌های ثانویه به حد واسط-های متابولیت ساده اولیه باشد (۲۳). از دیگر دلایل، جلب حشرات گرده افشان و پیشگیری از تأثیر عوامل بیماری‌زا بر گیاه است. بسیاری از گیاهان متابولیت‌هایی نظیر ترپن‌ها، پپتیدها، فنول‌ها و هورمون‌ها را به عنوان یک استراتژی دفاعی علیه محرک‌های ایجاد شده توسط حیوانات یا حشرات سنتز می‌کنند (۱۴). میزان ترکیبات فنولی در اندام هوایی در مرحله گلدهی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این مرحله با مطالعات یسر و همکاران (۳۶)، و ماریا جردن و همکاران (۱۸)، در رزماری مطابقت داشت. در چندین گونه گیاهی نظیر *Oliveria decumbens* (۱۰)، *Origanum vulgare* (۲۴)، *Mentha pulegium* (۲۹)، *Sida cordifolia* (۳۴) و *Boerhavia diffusa* و *Hypericum* در طی بلوغ گیاهان، تغییرات فیتوشیمیایی بر فعالیت آنتی-اکسیدانی آن‌ها مؤثر است و کیفیت غذایی انواع مختلف میوه و سبزیجات را در زمان‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). اغلب، میزان فنول کل با رسیدگی کامل گیاه به طور پیوسته کاهش می‌یابد که این حقیقت با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. میزان فنول تام بعد از مرحله ۵۰٪ گلدهی روند نزولی نشان داد. احتمالاً در مرحله رویشی این گونه گیاهی، ترکیب‌های فنولی و یا سایر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی ناچیز می‌باشند و به تدریج تا رسیدن به مرحله گلدهی مقدار این ترکیبات به حداکثر خود می‌رسند و سپس در طی رسیدگی بذری دوباره کاهش می‌یابند (۲۳). علت افزایش تجمع ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در مرحله ۵۰٪ گلدهی را می‌توان مرتبط با سلول‌ها و بافت‌هایی مثل مزوفیل، اپیدرم و ضخامت کوتیکول، کلروپلاست، کرک و یا تغییرات مهم فیزیولوژیکی و ساختاری طی مراحل نمو دانست (۳۶). همچنین این افزایش را می‌توان به همزمانی این مرحله با دمای معتدل هوا در اواسط بهار مرتبط دانست و با نزدیک شدن به تابستان و افزایش دمای هوا و رسیدن گیاه به بلوغ کامل میزان این ترکیبات مجدداً کاهش می‌یابند. این کاهش می‌تواند ناشی از تجزیه متابولیت‌های ثانویه به حد واسط-های متابولیت ساده اولیه باشد (۲۳). از دیگر دلایل، جلب حشرات گرده افشان و پیشگیری از تأثیر عوامل بیماری‌زا بر گیاه است. بسیاری از گیاهان متابولیت‌هایی نظیر ترپن‌ها، پپتیدها، فنول‌ها و هورمون‌ها را به عنوان یک استراتژی دفاعی علیه محرک‌های ایجاد شده توسط حیوانات یا حشرات سنتز می‌کنند (۱۴). میزان ترکیبات فنولی در اندام هوایی در مرحله گلدهی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این مرحله با مطالعات یسر و همکاران (۳۶)، و ماریا جردن و همکاران (۱۸)، در رزماری مطابقت داشت. در چندین گونه گیاهی نظیر *Oliveria decumbens* (۱۰)، *Origanum vulgare* (۲۴)، *Mentha pulegium* (۲۹)، *Sida cordifolia* (۳۴) و *Boerhavia diffusa* و *Hypericum* در طی بلوغ گیاهان، تغییرات فیتوشیمیایی بر فعالیت آنتی-اکسیدانی آن‌ها مؤثر است و کیفیت غذایی انواع مختلف میوه و سبزیجات را در زمان‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). اغلب، میزان فنول کل با رسیدگی کامل گیاه به طور پیوسته کاهش می‌یابد که این حقیقت با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. میزان فنول تام بعد از مرحله ۵۰٪ گلدهی روند نزولی نشان داد. احتمالاً در مرحله رویشی این گونه گیاهی، ترکیب‌های فنولی و یا سایر ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی ناچیز می‌باشند و به تدریج تا رسیدن به مرحله گلدهی مقدار این ترکیبات به حداکثر خود می‌رسند و سپس در طی رسیدگی بذری دوباره کاهش می‌یابند (۲۳). علت افزایش تجمع ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در مرحله ۵۰٪ گلدهی را می‌توان مرتبط با سلول‌ها و بافت‌هایی مثل مزوفیل، اپیدرم و ضخامت کوتیکول، کلروپلاست، کرک و یا تغییرات مهم فیزیولوژیکی و ساختاری طی مراحل نمو دانست (۳۶).

داشت. بنابراین کاهش شاخص  $IC_{50}$  به معنای افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. دهقان و همکاران (۹) همبستگی مثبتی را بین ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی-اکسیدانی در مدل سیستم‌های مختلف نظیر آزمون قدرت احیاءکنندگی آهن مشاهده کردند که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی داشت. توحیدی و همکاران (۳۳) همبستگی منفی را بین ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مدل سیستم DPPH براساس شاخص  $IC_{50}$  مشاهده نمودند که با نتایج این پژوهش مطابقت نشان داد.

این مرحله مرتبط باشد و در مرحله ۱۰۰٪ گلدهی احتمالاً این ترکیبات ثانویه تجزیه شده و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. نتایج تجزیه و تحلیل همبستگی (جدول ۱) نشان داد که همبستگی مثبت و معنی داری بین محتوای فنول و فلاونوئید تام و همچنین سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FTC (در غلظت‌های مختلف) وجود دارد. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس شاخص  $IC_{50}$  در سطح احتمال ۵ درصد با محتوای فنول، فلاونوئید کل و میزان احیاءکنندگی آهن همبستگی منفی و معنی داری

جدول ۱- همبستگی بین پارامترهای مختلف اندازه گیری شده در مراحل مختلف نموی ژنوتیپ *A. pachycephala*

(۷)	(۶)	(۵)	(۴)	(۳)	(۲)	(۱)
۱	۰/۸۸۲۶*	۰/۹۵۶۵*	۰/۹۶۹۹*	-۰/۹۰۶۴*	۰/۹۴۸۲*	۰/۸۸۱۹* (غلظت ۵۰) FTC-۷
	۱	۰/۹۶۷۱*	۰/۹۳۷۱*	-۰/۹۴۱۱*	۰/۹۸۲۴*	۰/۹۴۳۹* (غلظت ۳۰۰) FTC-۶
		۱	۰/۹۹۵۰**	-۰/۹۸۳۸*	۰/۹۷۸۷*	۰/۹۷۶۱* (غلظت ۱۰۰) FTC-۵
			۱	-۰/۹۸۱۹*	۰/۹۶۰۸*	۰/۹۶۹۹* (غلظت ۵۰) FTC-۴
				۱	-۰/۹۳۱۲*	-۰/۹۹۸۲** IC <sub>50</sub> -۳
					۱	۰/۹۲۲۹* ۲-محتوای فلاونوئید
						۱ ۱-محتوای فنول

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

گلایکیشن، رنگ محلول آلبومین را بعد از سه روز به میزانی تغییر داد که با افزایش جذب در مقایسه با نمونه کنترل مشخص شد. نتایج حاصل از تست *Brownish* (قهوه‌ای شدن) نشان داد که در طی زمان انکوباسیون، جذب محلول‌های پروتئین آلبومین (شکل ۵، الف) در حضور عامل گلایک‌کننده متیل‌گلی‌اکسال در قیاس با نمونه‌های شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت و به سمت قهوه‌ای شدن پیش رفت که تغییر رنگ ایجاد شده نمایانگر روند گلایک‌شدن و تولید محصولات پیشرفته گلایک‌شدن بود. کاهش مقدار جذب در حضور عصاره بومادران در مقایسه با نمونه شاهد (آلبومین)، دلیل بر مهار

تأثیر عصاره گیاه بر میزان گلایک‌شدن آلبومین: طی واکنش میلارد نمونه‌های حاصل از گلایک‌شدن تغییر رنگ داده و با گذشت زمان به ترکیباتی با رنگ قهوه‌ای تبدیل می‌شوند. از این خاصیت می‌توان برای تعیین میزان گلایک‌شدن پروتئین‌ها و همچنین تأثیر عصاره بومادران بر آلبومین گلایک‌شده استفاده کرد (۱۹). در این پژوهش، نمونه‌های پروتئین آلبومین با متیل‌گلی‌اکسال (به عنوان عامل گلایک‌کننده) در حضور و عدم حضور عصاره بومادران به مدت سه روز متوالی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد.

شدن آلبومین و تشکیل ساختارهای بتا (تشکیل فیبرهای آمیلوئیدی) در آن باشد. از طرفی، مشاهدات مبتنی بر اثر مهارکنندگی عصاره در تشکیل ساختارهای بتا آمیلوئیدی را که با کاهش جذب قرمز کنگو مشخص شد، با درجه آنتی-اکسیدانی عصاره همسو بود. این همسوئی با مشاهدات آزمایش های قرمز کنگو و ارزیابی تغییرات خواص آنتی-اکسیدانی در طی مراحل مختلف فنولوژیک ژنوتیپ *A. pachycephala* در مرحله ۵۰٪ گلدهی به بیشترین میزان خود رسید و خاصیت آنتی گلاپیکشن نیز تا مرحله ۵۰٪ گلدهی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش و پس از این مرحله نمودی مجدداً کاهش یافت (شکل ۵، ب).

از آنجا که واکنش های غیرآنزیمی گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها در دیابت، عوارض مزمن ناشی از حضور ترکیبات اکسیدکننده (رادیکال‌های آزاد) را تشدید می‌کنند، بنابراین شناسایی گیاهان دارویی با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا در کاهش عوارض مذکور، بسیار مفید خواهد بود. از مجموع نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که عصاره هیدروالکلی بومادران اثر مهاری قابل ملاحظه‌ای بر گلاپیکشن پروتئین آلبومین داشته که از نقطه نظر مکانیسمی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها همسو بود. درحقیقت، عصاره با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در واکنش‌های گلی‌اکسیداسیون، اثر آنتی‌گلاپیکشن خود را اعمال می‌کند و بدین ترتیب یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت، یعنی گلاپیکشن پروتئین‌ها را می‌تواند مهار کند. در پژوهش‌های مختلف قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان با خواص آنتی گلاپیکشن آن‌ها بررسی و رابطه تنگاتنگی بین این دو خاصیت پیشنهاد شده است. یزدان پرست و همکاران (۳۵) دریافتند که رابطه مستقیمی بین میزان فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بومادران (*A. santolina*) و درجه آنتی گلاپیکشن گیاه وجود دارد. تفسیر ارائه شده در تحقیق حاضر، همچنین با یافته‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌گلاپیکشن ۲۳ گونه رازیانه و ارائه رابطه مستقیم بین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی

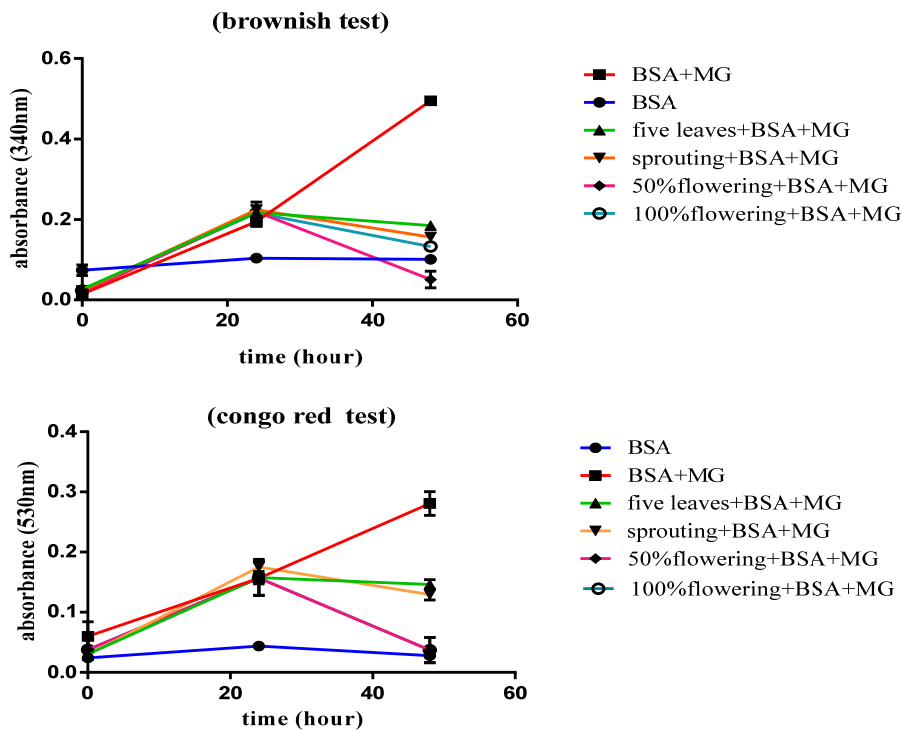
فرآیند گلاپیکشن است. کاهش قابل توجه گلاپیکشن آلبومین، حاکی از عملکرد عصاره در کاهش واکنش میلارد و مراحل اولیه گلاپیکشن پروتئین است. این بدان معنا است که عصاره بومادران از تغییر ساختارهای دوم آلبومین تحت فشار گلاپیکه شدن ممانعت کرده و این توانایی در *A. pachycephala* در مرحله ۵۰٪ گلدهی به حداکثر میزان خود رسید.

قرمز کنگو (CR) معرف اختصاصی شناسایی فیبرهای آمیلوئیدی و تشکیل توده‌های لخته مانند است (۶). افزایش جذب نوری این ماده در ۵۳۰ نانومتر می‌تواند ناشی از اتصال آن به ساختارهای بتا در پروتئین باشد. محققین نشان داده‌اند که معرف قرمز کنگو به ساختارهای آمیلوئیدی موجود در قسمت‌های بافتی اتصال پیدا می‌کند. این معرف رنگی، آزوسولفات‌دار متقارن با مرکز هیدروفوبیک (شامل یک گروه بی‌فنیل) است که بین گروه-های سولفات باردار قرار دارد. CR همچنین برای توصیف فیبرهای آمیلوئیدی در لوله آزمایش به کار می‌رود (۲۵). هرچند مکانیسم واکنش بین CR و فیبرهای آمیلوئیدی هنوز به خوبی توصیف نشده است، ولی پیشنهاد شده که برخورد فضائی بین مولکول رنگ و صفحات بتای فیبرهای آمیلوئیدی، باعث ایجاد اتصالات هیدروژنی، اندرکنش‌های هیدروفوبیکی و الکترواستاتیکی بین رنگ و فیبرهای آمیلوئیدی می‌شود. از آنجایی که ساختارهای بتا تشکیل شده در پروتئین های گلاپیکه شده، تمایل زیادی به معرف قرمز کنگو نشان می‌دهند (۶)، در نتیجه این معرف برای تشخیص ساختارهای Cross- $\beta$  در پروتئین قنددار شده مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در غیاب عصاره، یعنی نمونه آلبومین گلاپیکه شده با متیل‌گلی‌اکسال در قیاس با نمونه شاهد پروتئین، تشکیل ساختارهای بتا در پروتئین قنددار شده به طور معنی داری تشدید شد و به صورت افزایش جذب قابل مشاهده بود (شکل ۵، ب). همچنین کاهش معنی‌دار جذب در حضور عصاره می‌تواند دلیلی بر تأثیر مهارکنندگی عصاره در ممانعت از قنددار



گلایکیشن گیاه مطابق دارد (۲۸). مطالعات بر روی گونه های گیاه رازیانه نشان داده است که ترکیبات پلی فنولی با به دام اندازی رادیکال‌های آزاد، باعث فعالیت ضد گلایکیشنی این گیاه هستند (۲۸). در مریم گلی (*Salvia* و *sahendica*) (۳۱)، توت وحشی (*wild berry*) (۱۵) و *Houttuynia cordata* (۳۷) نیز چنین رابطه مستقیمی بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت آنتی‌گلایکیشن مشاهده شده است.

گلایکیشن گیاه مطابق دارد (۲۸). مطالعات بر روی گونه های گیاه رازیانه نشان داده است که ترکیبات پلی فنولی با به دام اندازی رادیکال‌های آزاد، باعث فعالیت ضد گلایکیشنی این گیاه هستند (۲۸). در مریم گلی (*Salvia*



شکل ۵- الف) طیف سنجی مرئی- فرابنفش در طول موج ۳۴۰ نانومتر و ب) طیف سنجی ۵۳۰ نانومتر در حضور معرف کنگورمز نمونه‌های آلبومین کنترل، آلبومین گلایک شده با متیل گلی‌اکسال و آلبومین گلایک شده در حضور *A. pachycephala* در مراحل مختلف فنولوژیک

ارزیابی درجه گلایکیشن در شرایط آزمایشگاهی، مشاهده گردید که عصاره هیدروالکلی بومادران بعنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان، تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار فرآیند گلایکیشن آلبومین دارد. از طرفی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌گلایکیشن عصاره همسو با یکدیگر عمل نموده و در نتیجه خاصیت آنتی‌گلایکیشن نمونه‌های حاوی عصاره با فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در ارتباط هستند. مقایسه ویژگی آنتی‌گلایکیشنی مراحل مختلف نمونه‌برداری نشان داد همانگونه که خاصیت آنتی‌اکسیدانی در طی مراحل فنولوژیکی متغیر است و در مرحله ۵۰٪ گلدهی به بیشترین میزان خود می‌رسد، خاصیت آنتی‌گلایکیشن نیز تا ۵۰٪ گلدهی بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش و پس از این

### نتیجه گیری

بالا بودن قند خون به عنوان اصلی‌ترین عامل در شروع و پیش‌روی عوارض دیابت معرفی شده است. غلظت بالا و پیوسته قند خون منجر به گلایک شده شدن غیر آنزیمی و غیر قابل کنترل تمامی ماکرومولکول‌های حیاتی شامل پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. پروتئین‌های گلایک شده نقشی اساسی در تشدید عوارض دیابت ایفا می‌کنند. در این راستا یافتن مهارکننده‌هایی با منشأ طبیعی برای ممانعت از فرآیند گلایکیشن ماکرومولکول‌ها با هدف کاهش این عوارض، ضروری نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر، با استفاده از روش‌های

## سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه صنعتی اصفهان برای فراهم آوردن هزینه‌های پژوهش قدردانی می‌گردد.

مرحله نمودی مجدداً کاهش می‌یابد. با توجه به این که گیاه بومادران در طب سنتی و گیاهان دارویی بسیار مورد توجه است، زمان برداشت مناسب برای بهره‌وری بیشتر به عنوان روش مکمل در پیشگیری از بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و به ویژه جلوگیری از عوارض و خیم دیابت از اهمیت بالایی برخوردار است.

## منابع

- ۱- ضابط، م، افشاری، ف. ۱۳۹۴. تجزیه و تحلیل کاربوتینی زئونتیپهای بومادران با استفاده از روشهای آماری چند متغیره. *مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)*. ۲۸(۳): ۳۸۳-۳۷۱.
- ۲- منتشلو، ج، دلجو، ع، پیری، خ. ۱۳۹۶. بررسی میزان فنول و فلاونوئیدها و فعالیت آنی اکسیدانی عصاره های اتانولی، متانولی،
3. Ayan, A. K., Yanar, P., Cirak, C., & Bilgener, M. 2007. Morphogenetic and diurnal variation of total phenols in some *Hypericum* species from Turkey during their phenological cycles, *Bangladesh Journal of Botany*. 36, 39-46.
4. Bains, Y., & Gugliucci, A. 2016. *Ilex paraguariensis* and its main component chlorogenic acid inhibit fructose formation of advanced glycation endproducts with amino acids at conditions compatible with those in the digestive system, *Fitoterapia*. 117, 6-10.
5. Ben Farhat, M., Jordan, M. J., Chaouch-Hamada, R., Landoulsi, A., & Sotomayor, J. A. 2015. Changes in phenolic profiling and antioxidant capacity of *Salvia aegyptiaca* L. by-products during three phenological stages, *Journal of Food Science and Technology*. 63, 791-797.
6. Bouma, B., Kroon-Batenburg, L., Wu, Y., Brunjes, B., Posthuma, G., & Kranenburg, O. 2003. Glycation induces formation of amyloid cross-b structure in albumin, *Journal of Biological Chemistry*. 278, 41619-41810.
7. Btissam, R., Rajae, R., Amina, A., Brigitte, V., & Mohamed, N. H. I. R. I. 2015. In vitro study of anti-glycation and radical scavenging activities of the essential oils of three plants from Morocco: *Origanum compactum*, *Rosmarinus officinalis* and *Pelargonium asperum*. *Pharmacognosy Journal*. 7, 124-135.
8. Chen, Y., Zhu, Z., Guo, Q., Zhang, L., & Zhang, X. 2012. Variation in concentrations of major bioactive compounds in *Prunella vulgaris* L. related to plant parts and phenological stages. *Biological Research*. 45, 171-175.
9. Dehghan, G., Torbati, S., Mohammadian, R., Movafeghi, A., & Talebpour, A. H. 2018. Essential Oil Composition, Total Phenol and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of *Salvia sahendica* at Different Developmental Stages. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21(4), 1030-1040.
10. Esmaili, H., Karami, A., & Maggi, F. 2018. Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) at different phenological stages. *Journal of cleaner production*. 198, 91-95.
11. Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H. & Talebi, M. 2013. Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic *Achillea* species. *Industrial Crops and Products*. 50, 154-158.
12. Ghasemi Pirbalouti, A., Firoznejhad, M., Craker, L., & Akbarzadeh, M. 2013. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23, 861-869.
13. Gonçalves, S., Gomes, D., Costa, P., & Romano, A. 2013. The phenolic content and antioxidant activity of infusions from Mediterranean medicinal plants. *Industrial Crops and Products*. 43, 465-471.
14. Guajardo, J., Gastaldi, B., González, S., & Nagahama, N. 2018. Variability of phenolic compounds at different phenological stages in two populations of *Valeriana carnosa* Sm.

- (Valerianoideae, Caprifoliaceae) in Patagonia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*. 17(4), 381-393.
15. Harris, C. S., Cuerrier, A., Lamont, E., Haddad, P. S., Arnasun, T. J., Bennet, S. A. L., & Jones, T. 2014. Investigating wild berries as a dietary approach to reducing the formation of advanced glycation endproducts: Chemical correlates of in vitro antiglycation activity. *Plant Foods for Human Nutrition*. 69, 71-77.
  16. Jafaria, A.A., Miroliaei, M., Angelovac, V.T., Emamzadeha, R., Djukicd, M.M., Djuricd A., & Saso, L. 2016. Antioxidant activity and protective role on protein glycation of synthetic aminocoumarins, *Electronic Journal of Biotechnology*. 24, 43-48.
  17. Jamali, C.A., Kasrati, A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D. & Abbad, A. 2013. Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus* Ball). *Industrial Crops and Products*. 49, 366-372.
  18. Jordan, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Loran, S., & Sotomayor, J. A. 2013. Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and its polyphenolic extract. *Industrial Crops and Products*. 48, 144-152.
  19. Khazaei, M. R, Bakhti, M., & Habibi-Rezaei, M. 2010. Nicotine reduces the cytotoxic effect of glycated proteins on microglial cells. *Neurochemical Research*. 35, 548-58.
  20. Mazandarani, M., Makri, S., & Bajian, G. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech F. in golestan province, north of Iran. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 2, 381-388.
  21. Miroliaei, M., Khazaei, S., Moshkelgosha, S., & Shirvani, M. 2011. Inhibitory effects of Lemon balm (*Melissa officinalis*, L.) extract on the formation of advanced glycation end products. *Food Chemistry*. 129, 267-271.
  22. Moghaddam, M., Khaleghi Miran, S. N., & Mehdizadeh, L. 2018. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Fumaria vaillantii* extract at three phenological stages assayed by various methods. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. 5(1), 105-114.
  23. Moghaddam, M., Pirbalouti, A. G., Mehdizadeh, L., & Pirmoradi, M. R. 2015. Changes in composition and essential oil yield of *Ocimum ciliatum* at different phenological stages. *European Food Research and Technology*. 240, 199-204.
  24. Morshedloo, M. R., Mumivand, H., Craker, L. E., & Maggi, F. 2018. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils in *Origanum vulgare* subsp. gracile at different phenological stages and plant parts. *Journal of Food Processing and Preservation*. 42(2), e13516.
  25. Pennathur, S., & Heinecke, J. W. 2007. Mechanisms for oxidative stress in diabetic cardiovascular disease. *Antioxidants & Redox Signaling*. 9, 955-969.
  26. Pirbalouti, A. G., Hamed, B., Malekpoor, F., Rahimi E., & Nasrinejhad, R. 2011. Inhibitory activity of Iranian endemic medicinal plants against *Vibrio para-haemolyticus* and *Vibrio harveyi*, *Journal of Medicinal Plants Research*. 5, 7049-7053.
  27. Pretti, I. R., da Luz, A. C., Jamal, C. M., & Batitucci, M. D. C. P. 2018. Variation of biochemical and antioxidant activity with respect to the phenological stage of *Tithonia diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) populations. *Industrial Crops and Products*. 121, 241-249.
  28. Salami, M., Rahimmalek, M., & Ehtemam, M. H. 2016. Inhibitory effect of different fennel (*Foeniculum vulgare*) samples and their phenolic compounds on formation of advanced glycation products and comparison of antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*. 213, 196-205.
  29. Salem, N., Sriti, J., Bachrouch, O., Msaada, K., Khammassi, S., Hammami, M., Selmi, S., Boushah, E., Ouertani, M., Hachani, N., & Abderraba, M. 2018. Phenological stage effect on phenolic composition and repellent potential of *Mentha pulegium* against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 8(4), 207-216.
  30. Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Aidi Wannes, W., Kchouk, M. E., & Marzouk, I. 2009. Effect of the growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products*. 30, 395-402.
  31. Shaerzadeh, F., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Ansari, N., Asadi, S., Tusi, S. K., Sonboli, A., Ghahremanzamaneh, M., & Khodaghohi, F. 2011. Antioxidant and antiglycating activities of

- Salvia sahendica* and its protective effect against oxidative stress in neuron-like PC12 cells. *Journal of Natural Medicines*. 65, 455-465.
32. Subhashini, N., Thangathirupathi, A., & Lavanya, N. 2011. Antioxidant activity of *Trigonella foenum graecum* using various *in vitro* and *ex vivo* models. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3, 96-102.
33. Tohidi, B., Rahimmalek M., & Arzani, A. 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chemistry*, 220, 153-161.
34. Verma, V., & Kasera, P. K. 2007. Variations in secondary metabolites in some arid zone medicinal plants in relation to season and plant growth. *Indian Journal of Plant Physiology*. 12, 203-206.
35. Yazdanparast, R., Ardestani, A., & Jamshidi, S. 2007. Experimental diabetes treated with *Achillea santolina* next term: Effect on pancreatic oxidative parameters. *J. Ethnopharmacology*. 30, 13-18.
36. Yosr, Z., Hnia, C., Rim, T., & Mohamed, B. 2013. Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. *typicus* Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*. 43, 412-419.
37. Yoon, S. R., & Shim, S. M. 2015. Inhibitory effect of polyphenols in *Houttuynia cordata* on advanced glycation end-products (AGEs) by trapping methylglyoxal. *LWT- Food Science and Technology*. 61, 58-163.

## Influence of different phenological stage of *Achillea pachycephala* Rech.f. on albumin glycation inhibition, an *in vitro* study

Afshari M.<sup>1</sup>, Rahimmalek M.<sup>1</sup> and Miroliaei M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

### Abstract

From biomedicine point of view, the application of medicinal plants to prevent and treat diabetes via intervention in biomolecule degradation mechanisms, is an important issue. *Achillea* L. belongs to Asteraceae family and have traditional properties with different applications in folk medicine. *A. pachycephala* is one of the valuable species of *Achillea* which has been considered as a rich source of antioxidants. The present study aimed to investigate the effect of various phenological stages including five leaves appearance, sprouting, 50% and 100% flowering on antiglycative and antioxidant activity of *A. pachycephala* flowers extract. Antioxidant activity were evaluated based on 1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH) and reducing power (FTC) methods. The inhibitory effect of the extracts was determined in albumin glycation model using Congo red binding and brown staining assays. The results showed that the extracts collected at 50% flowering stage had the highest antiglycative potential, the highest amounts of total phenols, total flavonoids and antioxidant activities. Besides, a direct correlation between antioxidant and anti-glycative activity was suggested. Most likely, *A. pachycephala* prevents albumin glycation originating from its strong antioxidant properties, therefore it can be considered as a good candidate for reducing complications of diabetes.

**Key words:** antioxidant activity, antiglycation, *Achillea*, phenological stages.