اکوفیزیولوژی و فیتوشیمی گیاهان دارویی و معطر
EPPMAPs

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت مهار فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز عصاره گیاه پنیرک و گل ختمی

نعیمه اسکندری [۱]، فاطمه قمری [۲*]، مریم مصلحی شاد [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران- ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران (نویسنده مسئول: fatemehghamari@pnu.ac.ir)

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: آذر ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش مقاله: بهمن ۱۴۰۱

نوع مقاله: علمی- پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

چکیده

گیاهان دارویی منابعی غنی از ترکیبات فعال زیستی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و در مواردی نیز با به تأخیرانداختن جذب گلوکز از طریق مهار آنزیم‌های تجزیه‌کننده کربوهیدرات، یک روش درمانی برای کاهش هیپرگلیسمی پس از صرف غذا می‌باشند. در این پژوهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز عصاره گیاه پنیرک و ختمی بررسی شد. عصاره گیاهان با روش خیساندن در اتانول تهیه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با روش مهار رادیکال آزاد ABTS و مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز در حضور سوبسترای پارا-نیتروفنول و غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) انجام شد. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت عصاره اتانولی پنیرک و ختمی قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد به‌طور معنی-داری ($p \leq 0.05$) افزایش یافت. مقادیر شاخص IC_{50} مهارکنندگی رادیکال آزاد برای عصاره اتانولی پنیرک و ختمی به‌ترتیب ۵۲/۹۰ و ۶۸/۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود، که نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره اتانولی پنیرک است. همچنین، با افزایش غلظت عصاره اتانولی پنیرک و ختمی قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز به صورت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) افزایش یافت. همچنین، قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره اتانولی پنیرک (IC_{50} = ۷۶/۱۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به-صورت قابل توجهی بیشتر از عصاره اتانولی ختمی (IC_{50} = ۳۰۴/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی پنیرک و ختمی با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز می‌توانند به‌عنوان جایگزین افزودنی‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: اثرات آنتی‌اکسیدانی، آلفاگلوکوزیداز، پنیرک، ختمی.

۱. مقدمه

با توجه به اثرات زیان‌بار نگهدارنده‌های سنتزی و داروهای شیمیایی بر بدن انسان، استفاده از ترکیبات طبیعی و پژوهش در زمینه معرفی منابع نوین به منظور تولید داروها و نگهدارنده‌های طبیعی یک ضرورت انکارناپذیر در صنایع غذایی و داروسازی است. با افزایش آگاهی مردم نسبت به سلامتی و خطر داروهای سنتزی، استفاده از گیاهان به عنوان جایگزین‌های داروهای شیمیایی موردتوجه قرار گرفته است (Altemimi et al., 2017; Gurib-Fakim et al., 2005). طی سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی مختلف به دلیل اثربخشی بالا، اثرات جانبی اندک و هزینه تهیه نسبتاً پایین برای درمان برخی از بیماری‌ها رو به رشد بوده است (Gupta et al., 2005; Willcox et al., 2021).

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن است که تخمین زده شده که ۳۰۰ میلیون نفر تا سال ۲۰۲۵ در معرض خطر ابتلا به آن قرار گیرد (Büyükbalci and El, 2008; Bamdad et al., 2006). بیماری دیابت شامل دو نوعِ دیابت نوع ۱ و دیابت نوع ۲ است. دیابت نوع ۱، مربوط به کمبود انسولین و ناشی از واکنش‌های آلرژیک در افراد حساس ژنتیکی است. حساسیت ژنتیکی این افراد سرانجام سبب تخریب سلول‌های بتا (سلول‌های تولید کننده انسولین) می‌شوند. ازاین‌رو، دیابت نوع ۱، دیابت وابسته به انسولین نامیده می‌شود. دیابت نوع ۲ که شایع‌ترین نوع دیابت است و تقریباً ۹۰ درصد از بیماران دیابتی را شامل می‌شود، به انسولین وابسته نیست. چاقی، بالا رفتن سن و عدم فعالیت‌های بدنی، علل عمده ابتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشند. هنگامی‌که غلظت گلوکز خون در حد معمول نباشد، عوارض حاد و مزمن برای فرد به همراه دارد (Ziegler and Filer, 1996). نوسانات قند خون در افراد سالم ناچیز است به‌طوری‌که از افزایش بسیار زیاد گلوکز پس از صرف غذا و کاهش شدید آن در حالت ناشتایی جلوگیری می‌شود. اولین نشانه ایجاد بیماری دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین می‌باشد (Lawag et al., 2012).

خطر دیگری که افراد مبتلا به دیابت را تهدید می‌کند، کاهش سطح آنتی‌اکسیدان پلاسما است (Facchini et al., 2000). کاهش سطح آنتی‌اکسیدان پلاسما اصلی‌ترین فاکتور ایجادکننده بیماری‌های قلبی عروقی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ است. اساسی‌ترین راه‌کار مقابله با دیابت نوع ۲ مدیریت وزن بدن و تغییر سبک زندگی با بهبود برنامه غذایی، کاهش وزن و افزایش فعالیت‌های فیزیکی است. درصورتی‌که این اقدامات کافی نباشند، داروهای خوراکی تجویزشده توسط پزشک باید مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات نشان داده است که علاوه بر درمان‌های پزشکی، بیماران همچنان نیازمند استفاده از درمان‌های رایج سنتی با استفاده از گیاهان می‌باشند (Thompson and Godin, 1995). امروزه به‌طور تقریبی ۱۲۰۰ گونه گیاهی در سراسر جهان با اثرات درمانی در برابر دیابت شناسایی شده است (Willcox et al., 2021). با این‌وجود اطلاعات چندانی در مورد اثرات ضد دیابتی گیاهان بومی پنیرک و گل ختمی موجود نیست. رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های ناپایدار با واکنش‌پذیری بسیار بالایی بوده که شامل انواع اکسیژن و نیتروژن فعال می‌باشند. این مولکول‌ها به اشکال متفاوتی ازجمله آنیون سوپر اکسید، هیدروکسیل، رادیکال‌های نیتریک اکسید و گونه‌های غیر رادیکالی مثل پراکسید هیدروژن دیده می‌شوند. اشکال مختلف اکسیژن فعال می‌توانند موجب آسیب به بدن و درنهایت ایجاد جهش در مولکول‌های DNA شوند. رادیکال‌های آزاد برای پایداری خود به سایر مولکول‌های بدن حمله کرده و سبب ایجاد آسیب سلولی و تشکیل رادیکال‌های آزاد دیگر می‌شوند (Foss et al., 2022). آنتی‌اکسیدان‌ها همچنین، به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان افزودنی برای محافظت در مقابل تخریب اکسیداتیو مواد غذایی بکار برده می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ازجمله بوتیل هیدروکسی آنیزول[1] بوتیل هیدروکسی تولوئن[2] و ترشیاری بوتیل‌هیدروکوئینون[3] به طور گسترده در صنایع غذایی

[1] Butylated hydroxyanisole(BHA)
[2] Butylated hydroxytoluene(BHT)

استفاده می‌شوند، با این وجود، مطالعات انجام شده نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های BHA و BHT، می‌توانند سبب آسیب به کبد و ایجاد سرطان شوند (Gülçin et al., 2002). Doostmohammadi و همکاران (۲۰۱۱) اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی، استونی و کلرفرمی برگ پنیرک را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد عصاره‌های پنیرک دارای فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های سالمونلا تیفی‌موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و انتروکوکوس فکالیس است. Sabu و Kuttan (۲۰۰۲) ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی عصاره متانولی چند گیاه بومی[۴] هند را در محیط آزمایشگاه و بر روی موش مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیر قابل‌توجه عصاره گیاهان مورد بررسی در جلوگیری از تشکیل پراکسید و کاهش رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید در محیط آزمایشگاه بود. همچنین تیمار خوراکی عصاره گیاهان، سطح گلوکز خون را در موش‌های نرمال و دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش داد (Sabu and Kuttan., 2002). بنابراین توسعه و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مؤثر کمک شایانی به حفظ سلامت مصرف‌کنندگان می‌کند. پنیرک (*Malva neglecta*) و ختمی (*Althaea officinalis*) دو گیاه مربوط به خانواده مالواسه (Malvaceae) می‌باشند که در پژوهش‌های پیشین به خواص درمانی آن‌ها ازجمله در درمان سرما خوردگی، بیماری‌های تنفسی و ناراحتی‌های گوارشی اشاره شده است (MansourZadeh et al., 2014). بنابراین با توجه به داشتن ویژگی‌های دارویی، گیاه پنیرک و ختمی در این پژوهش ویژگی‌های ضد دیابتی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این دو گیاه مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

- تهیه عصاره اتانولی گل پنیرک و ختمی

به منظور تهیه عصاره گل گیاهان پنیرک قرمز و ختمی سمنانی پس از خشک شدن توسط آسیاب پودر شد. سپس عملیات استخراجِ ۱۰۰ گرم پودر با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به مدت یک شب تحت هم‌زنی صورت پذیرفت. به‌منظور جداسازی عصاره، مخلوط در دمای اتاق سانتریفیوژ و مایع فوقانی جدا و در یک ظرف مناسب جمع‌آوری شد. برای بهبود راندمان استخراج عملیات استخراج دو بار تکرار گردید. در نهایت حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده روتاری تبخیر شد (Sabu and Kuttan., 2002).

- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این پژوهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی گیاهان پنیرک و ختمی با استفاده از روش معادل ظرفیت آنتی اکسیدانی آسکوربیک اسید که بر مبنای کاهش رنگ رادیکال ABTS [۵] است، انجام شد. رادیکال ABTS با حل کردن در آب و در معرض پتاسیم پرسولفات طی مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت حاصل شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر بدون نمونه (A) و با حضور نمونه (غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) طی مدت ۵ دقیقه (B) به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (Thaipong et al., 2006). اندازه‌گیری درصد بازدارندگی نمونه‌ها از رابطه ۱ و از آسکوربیک اسید جهت ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد.

[3] Tertiary butylated hydroquinone(TBHQ)

[۴] گیاهان شامل *Terminalia chebula, Terminalia belerica, Emblica officinalis* بودند.

[5] 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

رابطه (۱) درصد بازدارندگی = [(A-B)/A] × ۱۰۰

- **آزمون مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز**

به منظور تعیین خاصیت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز به‌وسیله عصاره گیاهان مورد مطالعه از روش گزارش شده توسط Falah Hoseini و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد. در این روش سوبسترای pNPG توسط آنزیم آلفا گلوکوزیداز، به پارا-نیتروفنول (زرد رنگ) و گلوکز هیدرولیز می‌شود. فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری میزان جذب پارا-نیتروفنول تولید شده در محلول تعیین شد. در این آزمون درصورتی‌که عصاره‌های گیاهی دارای اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز باشند شاهد جذب پایین‌تری در مقایسه با کنترل (واکنش بدون عصاره) خواهیم بود.

برای انجام آزمون، مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر آلفا گلوکوزیداز (۰/۲۵ unit/mL)، ۱۳۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= ۶/۸) و ۱۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش در غلظت‌های مختلف (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود. این مخلوط در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از خارج کردن پلیت از انکوباتور، واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از محلول ۵ میلی‌مولار pNGB آغاز شد. مخلوط واکنش مجدداً در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. در نهایت با اضافه نمودن ۸۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات ۰/۲ مولار واکنش متوقف شد. سپس جذب محیط در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر[6] خوانده شد. از مخلوط واکنش بدون عصاره گیاهی به عنوان کنترل و مخلوط واکنش بدون آنزیم آلفا گلوکوزیداز به عنوان بلانک استفاده گردید. این آزمایش برای هر یک از غلظت‌ها در ۳ تکرار انجام شد. درصد مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز توسط نمونه‌ها با کمک رابطه ۲ محاسبه گردید. که در رابطه مذکور، A جذب نمونه کنترل و B جذب نمونه حاوی عصاره است.

رابطه (۲) درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز = [(A-B)/A] × ۱۰۰

- **تجزیه و تحلیل آماری**

ابتدا به بررسی توزیع نرمال داده ها پرداخته شد. با توجه اینکه سطح سنجش داده‌ها در سطح سنجش پارامتریک بود و با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه بین تیمارها از جداول تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید و برای مقایسه چندتایی میانگین‌ها از آزمون مقایسه میانگین دانکن و جهت مقایسه دوتایی از آزمون t-test مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ انجام شد.

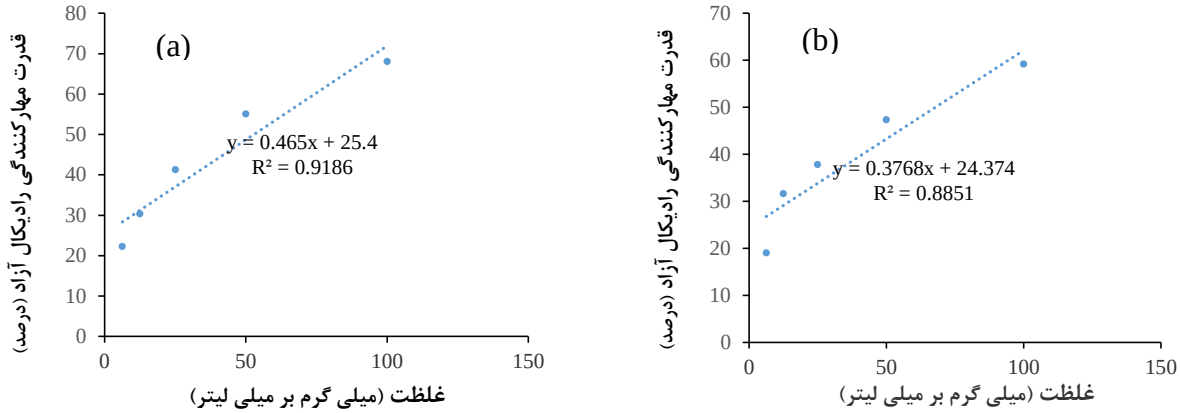
۳. نتایج و بحث

- **فعالیت آنتی‌اکسیدانی**

نتایج ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی در شکل۱ ارائه شده است. همانطور که قابل مشاهده است، با افزایش غلظت عصاره اتانولی پنیرک، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد به صورت معنی‌داری ($p \leq 0.05$)

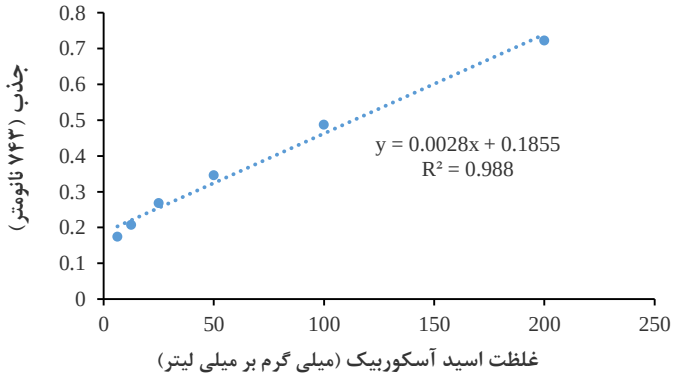
[6] Microplate reader

افزایش پیدا کرد به گونه‌ای که نمونه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (۶۸/۱ درصد) را دارا بود. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ختمی نیز نشان داد که به صورت مشابه با افزایش غلظت عصاره اتانولی ختمی درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد به گونه معنی‌داری ($p \leq 0.05$) افزایش پیدا کرده است و نمونه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با توانایی مهار ۵۹/۱۷ درصدی تولید رادیکال آزاد، بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد. به طور کلی نتایج نشان داد که در غلظت‌های مشابه، عصاره اتانولی پنیرک فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی ختمی دارد.



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف از عصاره الکلی Malva neglecta نمودار a و غلظت‌های مختلف عصاره الکلی Alathaea officinalis بر مهار رادیکال های آزاد ABTS

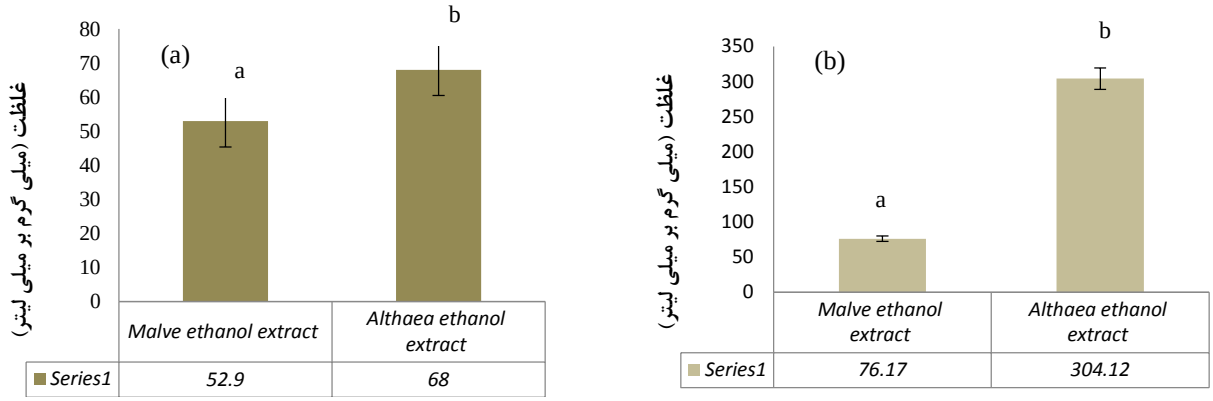
منحنی استاندارد اسکوربیک‌اسید به منظور محاسبه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی بر حسب اسکوربیک‌اسید در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل اسکوربیک‌اسید عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۳۹/۷۰ و ۶۹/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.



شکل ۲. نمودار استاندارد ظرفیت آنتی اکسیدانی اسکوربیک اسید

پس از به دست آوردن درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد، مقدار IC_{50} عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی نیز تعیین شد. IC_{50} بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود و مقدار آن از طریق رسم مقادیر مختلف RSA برحسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون به دست آمد (شکل ۳). میزان IC_{50} عصاره

اتانولی گیاه پنیرک و ختمی از روی معادله منحنی رگرسیون خطی محاسبه شد. نتایج نشان داد که IC_{50} عصاره اتانولی گیاه پنیرک (۵۲/۹۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به صورت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) کمتر از عصاره اتانولی ختمی (۶۸/۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود (شکل ۳). باید توجه داشت که در این شرایط هر چه مقدار IC_{50} کوچک‌تر باشد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر خواهد بود. بنابراین این نتایج بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره اتانولی گیاه پنیرک نسبت به ختمی بود.



شکل ۳. a: میزان IC_{50} مهار رادیکالهای آزاد عصاره‌های الکلی Malva neglecta و Althaea officinali
b: مهار آنزیم آلفا گلوکوسیداز توسط عصاره‌های الکلی Malva *neglecta* و Althaea officinali

آنچه که در نتایج این پژوهش مشاهده شد، افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی پنیرک و ختمی با افزایش غلظت بود که در غلظت‌های برابر قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی پنیرک بیشتر از عصاره اتانولی ختمی بود. نتایج نشان داد که میزان IC_{50} عصاره اتانولی پنیرک (۵۲/۹۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به صورت قابل توجهی کمتر از IC_{50} عصاره اتانولی ختمی (۶۸/۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) می‌باشد که این موضوع نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره پنیرک است، زیرا میزان IC_{50} رابطه عکسی با قدرت آنتی‌اکسیدانی دارد و مقدار کمتر آن نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر عصاره مورد بررسی است. میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل اسکوربیک اسید عصاره اتانولی پنیرک و ختمی به ترتیب ۳۹/۷۰ و ۶۹/۳۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. رادیکال‌های آزاد قادرند آسیب به مولکول‌های سامانه‌های بیولوژیک بدن وارد نمایند و باعث بروز بسیاری از بیماری‌ها در موجودات زنده و به ویژه انسان‌ها شوند (Ou et al., 2002). بخش عمده‌ای از این ترکیبات مضر در اثر اکسیداسیون مواد غذایی به خصوص چربی‌ها تولید می‌شوند که این مساله نه تنها سلامت مصرف کننده را به خطر می‌اندازد، بلکه کاهش کیفیت تغذیه‌ای و ایجاد طعم و بوی نامطبوع را نیز در این غذاها به همراه خواهد داشت (López-Pedrouso et al., 2022; Tepe et al., 2006). اثر زیان بخش رادیکال‌های آزاد را می‌توان توسط آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش داد چون این مواد باعث به دام انداختن و مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند و از این طریق باعث پیشگیری از بیماری‌های احتمالی ناشی از وجود و فعالیت آن‌ها خواهند شد. اگرچه امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی متعددی از جمله بوتیل هیدروکسی آنیزول، بوتیل هیدروکسی تولئون و ترشیاری بوتیل‌هیدروکوئینون و برخی مواد سنتزی دیگر در صنعت استفاده می‌شود اما به دلیل اثرات نامطلوب تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Shahsavari et al 2010; Yasoubi et al., 2007).

در سال‌های اخیر، تحقیقات زیادی در زمینه ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی صورت گرفته است. مواد موثره گیاهان دارویی نظیر ترکیبات فنولیک علاوه بر افزایش کیفیت مواد غذایی، از جمله دلایل رنگ، طعم و مزه بسیاری از این گیاهان هستند (Foss et al., 2022). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیشتر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنلی هستند. محتوای فنلی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته می‌باشند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوانی در گیاهان موجود می‌باشد و شناسایی تک‌تک آن‌ها کاری دشوار می‌باشد. بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با سنجش‌های متعدد ارزیابی می‌شود (Yazici et al., 2012). نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که گیاه پنیرک حاوی آنتوسیانین و موسیلاژ می‌باشند و تمام قسمت‌های این گیاه به خصوص گل آن، اثر نرم‌کنندگی بر مجاری تنفسی دارد که این اثر می‌تواند ناشی از میزان موسیلاژ بالای آن باشد (Bisset and Wichtl, 1994). قابل ذکر است که مطالعه‌های اخیر نشان داده که آنتوسیانین‌ها دارای دامنه گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیک از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت حذف رادیکال آزاد می‌باشند (Tsuda et al., 1994) و این موضوع می‌تواند دلیلی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گل پنیرک باشد. در تحقیقی، تاثیر آنتوسیانین‌های پنیرک بر لیپید و رادیکال‌های آزاد پلاسمایی در موش‌های صحرایی نوع آلبانیو مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد استفاده از این آنتوسیانین‌ها سبب کاهش کلسترول، میزان رادیکال‌های آزاد و ظرفیت پراکسیداسیون لیپیدها شده است. همچنین این مطالعه نشان داد که هنگامی که مقدار آنتوسیانین‌ها ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باشد، میزان حذف رادیکال‌های آزاد حدود ۱۸/۸۲ درصد خواهد بود. بنابراین، آنتوسیانین‌ها و در نتیجه گیاهان حاوی این ترکیبات نظیر پنیرک، یک نوع حذف کننده رادیکال آزاد و آنتی‌اکسیدان طبیعی می‌باشند و می‌توانند از تشکیل لخته‌های خون در رگ جلوگیری کرده و در نتیجه سبب کاهش بروز بیماری‌های قلبی عروقی شوند (Zhen-Yu et al, 2005).

فنل‌ها و ترکیبات فنلی به طور گسترده‌ای درمحصولات غذایی گیاهی یافت می‌شوند و تحقیقات نشان داده‌اند که این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحضه‌ای دارند. به طور کلی یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در ترکیبات گیاهی می‌باشند . با توجه به این واقعیت که عامل اصلی وجود خاصیت آنتی‌رادیکال در گیاهان دارویی، وجود ترکیبات فنلی در آن‌ها است (Tepe et al., 2006). Tahanejad و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که عصاره گیاه پنیرک حاوی ۴/۵ درصد ترکیبات فنولیک معادل گالیک اسید (GAE) بر پایه وزن خشک است. همچنین این محققین گزارش کردند که با افزایش غلظت عصاره، اثر آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد و شاخص IC_{50} را برای عصاره پنیرک ۰/۳۷±۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند. لازم به ذکر است که شاخص IC_{50} نسبت معکوسی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها یا عصاره‌ها دارد (Tahanejad et al., 2012). در ارتباط با عصاره اتانولی ختمی پژوهش‌های پیشین اثر ضد قارچی و کاهش سرفه ناشی از برونشیت در نتیجه استفاده از عصاره ختمی را گزارش کردند (Gallagher et al., 2003).

تحقیقات اندکی در ارتباط با خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره ختمی صورت گرفته است. در یکی از معدود پژوهش‌های انجام شده محققان گزارش کردند که عصاره اتانولی گل ختمی با توجه به ترکیبات فنولیک موجود در آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی است (Elmastas et al., 2004) که مطابق با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد به طوری که در این پژوهش عصاره اتانولی ختمی از پتانسیل خوبی به عنوان آنتی‌اکسیدانی طبیعی برخوردار بود. مطابق با این پژوهش طی سالیان گذشته مطالعات بسیاری بر روی قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف صورت گرفته است و این مطالعات از قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف خبر داده‌اند. در یکی از این پژوهش‌ها Fazel و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس آویشن و مرزه را با روش DPPH تعیین کرده و مقادیر IC_{50} اسانس‌های مورد مطالعه را به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند. در تحقیقی

دیگر Shahsavari و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرزی را بررسی و IC_{50} این اسانس را ۰/۰۴±۲/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه کردند. همچنین Ayoughi و همکاران (۲۰۰۹) میزان IC_{50} اسانس شوید و BHT (به عنوان کنترل مثبت) را به ترتیب ۱/۵۲±۲/۵۷ و ۰/۰۱±۰/۰۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش کردند. در یک مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های مختلف (هگزانی، دی‌کلرومتانی و فراکسیون‌های متانولی) گیاه *Nepeta flavida* بررسی شد. ارزش IC_{50} اسانس برابر با ۴۲/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در بین عصاره‌ها قوی‌ترین اثر مربوط به فراکسیون قطبی عصاره متانولی با ارزش IC_{50} برابر با ۶۳/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (Ayoughi et al., 2009). در تحقیقی روی *N. italica*، *N. cilicia* و *N. caesarea* مشخص شد که IC_{50} عصاره متانولی گیاه به ترتیب برابر با ۲۵/۵، ۳۳/۴ و ۳۹/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (Proestos et al., 2013). در مطالعه‌ای دیگر نیز بر روی *N. melissifolia* مقدار IC_{50} عصاره متانولی گیاه برابر با ۵/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (Yazici et al., 2012). در بررسی بر روی *N. crassifolia* و *N. binaludensis* مشخص شد که مقدار IC_{50} به دست آمده روش مهار رادیکال آزاد ABTS در مورد عصاره متانولی این گیاهان به ترتیب معادل ۱۳/۴ و ۵۸/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد آسکوربیک اسید معادل ۱/۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (Tundis et al., 2013).

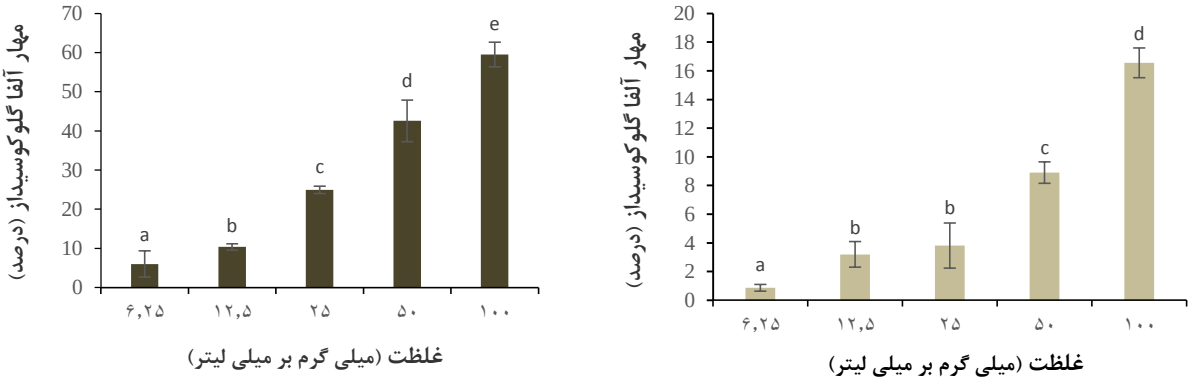
مطالعه Kanatt و همکاران (۲۰۰۷) در هندوستان روی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی *M. spicata* نشان داد که غلظت مهاری ۵۰٪ آن در تست مهار رادیکال‌های آزاد برابر با ۵/۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن برابر ۱۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در پژوهشی IC_{50} مهارکنندگی رادیکال آزاد اسانس و عصاره متانولی *M. longifolia* را با روش DPPH به ترتیب ۱۰۷۰۰ و ۷۴/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کردند. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و سایر پژوهش‌های ذکر شده و مقایسه IC_{50} عصاره پنیرک و ختمی با عصاره‌های ذکر شده، مشخص است که عصاره اتانولی پنیرک و ختمی فعالیت آنتی‌رادیکال خوبی دارند. به عبارت دیگر، این عصاره‌ها در مقایسه با سایر منابع آنتی‌اکسیدانی ذکر شده نیز از فعالیت آنتی‌رادیکالی نسبتا خوبی برخوردار هستند. با افزایش غلظت عصاره پنیرک و ختمی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش پیدا کرد که این امر می‌تواند ناشی از افزایش درصد مواد موثره از جمله افزایش فنول کل آن باشد. زیرا ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحضه‌ای هستند.

Unver و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول به این نتیجه رسیدند که رابطه مستقیمی بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه وجود دارد به طوری که گیاه *Mentha piperita* میزان فنول کل بالا (۴۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا (IC_{50} برابر با ۰/۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و گیاه *ovate Capparis* میزان فنول کل پایین (۱۸۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم) و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین (IC_{50} برابر با ۴/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از خود نشان دادند. همچنین Bamdad و همکاران (۲۰۰۶) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه را با دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کرده و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره مربوط به ترکیبات فنولی آن است.

- **مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز**

یافته‌های حاصل از بررسی قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پنیرک و ختمی، به ترتیب در شکل ۴ و ۵ قابل مشاهده می‌باشد. نتایج این بررسی حکایت از آن داشت که با افزایش غلظت عصاره اتانولی پنیرک درصد مهارکنندگی افزایش می‌یابد و این افزایش ایجاد شده در تمامی غلظت‌ها از نقطه نظر آماری معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). شایان

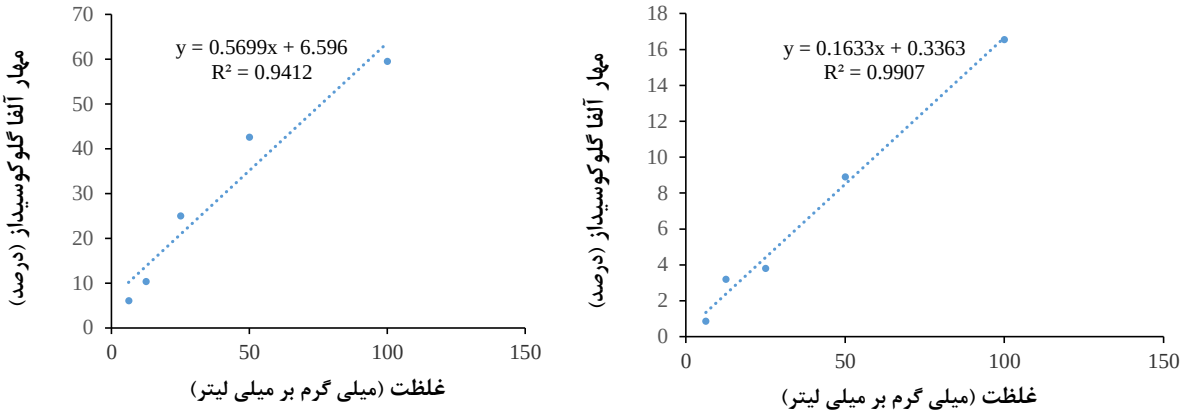
ذکر است که نمونه عصاره اتانولی پنیرک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیشترین قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز (۵۹/۵ درصد مهار کنندگی) را دارا بود. یافته‌های آماری (شکل ۱) نشان داد که به صورت مشابه با افزایش غلظت عصاره اتانولی ختمی قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز افزایش پیدا می‌کند که این افزایش تنها در ارتباط با تغییر غلظت از ۱۲/۵ به ۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از لحاظ آمای قابل چشم پوشی بود، اما در سایر غلظت‌ها از نقطه نظر آماری معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). لازم به ذکر است که نمونه عصاره اتانولی ختمی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با درصد مهارکنندگی ۱۶/۵۴، بیشترین قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز را به خود اختصاص داد. به مانند قدرت آنتی‌اکسیدانی، قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره اتانولی پنیرک بیشتر از عصاره اتانولی ختمی بود.



شکل ۴.میزان IC_{50} مهار آنزیم آلفا گلوکوسیداز a: غلظت های مختلف از عصاره الکلی Malva neglecta
b:عصاره الکلی Alathaea officinalis

- میزان IC_{50} مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره اتانولی پنیرک و ختمی

مقادیر IC_{50} از طریق آنالیز رگرسیون خطی به دست آمد. بدین منظور از روی معادله منحنی رگرسیون به دست آمده (شکل۵)، غلظتی از عصاره اتانولی گل پنیرک و ختمی که توانایی مهارکنندگی ۵۰ درصد فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز را دارا بودند، به دست آمد. نتایج نشان داد که میزان IC_{50} عصاره اتانولی پنیرک (۷۶/۱۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به صورت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) کمتر از IC_{50} عصاره اتانولی ختمی (۳۰۴/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) است که این موضوع نشان دهنده اثر بیشتر عصاره اتانولی پنیرک در مهارکنندگی فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد.



شکل ۵. میزان IC_{50} مهار آنزیم آلفاگلوکوسیداز عصاره های الکلی Malva neglecta و Althaea officinali

نتایج نشان داد که هر دو عصاره قابلیت مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز را دارا می‌باشند که در این میان IC_{50} مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز برای عصاره اتانولی پنیرک ۷۶/۱۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای عصاره اتانولی ختمی ۳۰۴/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که این موضوع نشان دهنده قدرت مهارکنندگی بالاتر عصاره اتانولی پنیرک بود. با توجه به اینکه از مهارکننده‌های آنزیم آلفاگلوکوزیداز به طور گسترده‌ای همراه با تزریق انسولین و یا به تنهایی به عنوان دارو برای درمان دیابت استفاده می‌شود؛ بنابراین عصاره پنیرک با قابلیت مهار این آنزیم می‌تواند در این راستا استفاده شود (O'Keefe and Bell, 2007; Shim et al, 2003). در گذشته از مهارکننده‌های متداول آنزیم آلفاگلوکوزیداز مانند آکاربوز و ووگلیبوز برای درمان دیابت استفاده شده است، اما از آنجایی که این مهارکننده‌ها دارای اثرات جانبی بسیاری از جمله اختلالات کبدی، نفخ، دردهای شکمی و استفراغ هستند تحقیقات برای یافتن دارویی با کمترین اثرات جانبی در حال انجام است (Bachhawat et al., 2011). در حال حاضر به عصاره-های طبیعی مهارکننده آلفاگلوکوزیداز به دلیل حداقل تاثیرات جانبی بر روی بدن توجهات بسیاری شده است (Kim et al, 2004). اخیراً مفید بودن برخی گیاهان دارویی برای درمان دیابت به صورت تجربی گزارش شده است. فعالیت آنتی هیپرگلیسمی این گیاهان به‌طور عمده ناشی از توانایی در ترمیم عملکرد بافت‌های پانکراتیک به‌وسیله افزایش ترشح انسولین یا ممانعت از جذب روده‌ای گلوکز و یا از طریق تسهیل متابولیت‌های فرآیندهای وابسته به انسولین است (Asano, 2003). گزارش شده است که بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی دارای فعالیت هیپرگلیسمی می‌باشند، با این‌وجود هنوز پژوهش و جستجو در زمینه یافتن داروهای جدید گیاهی برای درمان مؤثرتر دیابت مورد توجه پژوهشگران است.

به طورکلی اثر ضددیابتی خیلی از گیاهان را می‌توان ناشی از وجود ترکیباتی از جمله گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها در بافت‌های مختلف این گیاهان دانست (Chiba, 1994). در همین راستا نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره اتانولی پنیرک و ختمی پتانسیل خوبی در مهار فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارند. از آنجایی که گزارش شده است ترکیباتی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، با مهار گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن، سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسل (OH) موجب مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌شوند (Wang et al., 2014) و با توجه به این که Kim و همکاران (۲۰۰۴) پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها را به عنوان مهارکننده قوی آنزیم آلفاگلوکوزیداز معرفی کردند، می‌توان یکی از علل مهار این آنزیم توسط عصاره اتانولی گل پنیرک و ختمی را به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای پلی‌فنلی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت

داد. همچنین مطالعات نشان دادند که عصاره پنیرک و ختمی دارای عناصر دارویی مانند استرول‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، سروتونین، پلی‌فنول، فلاونوئید، تری‌ترپن‌ها و تانن‌ها می‌باشد (Malviya et al., 2010) و از طرفی Luo و همکاران (۲۰۰۸) اثر قابل توجه ساپونین‌ها بر مهار آلفاگلوکوزیداز را نشان داده بودند. پس می‌توان یکی دیگر از علل مهار این آنزیم توسط عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی را به محتوای ساپونین آن نسبت داد. بنابراین با توجه به مطالعات انجام شده که در فوق به آن‌ها اشاره شد، پلی‌فنل، فلاونوئیدها و همچنین ساپونین اثر مهاری قابل توجهی بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارند و به علت وجود این ترکیبات در گیاه پنیرک و ختمی انتظار می‌رود که این گیاهان اثر قابل توجهی بر این آنزیم داشته باشند و می‌توان یکی از مکانیسم-های اثر ضد دیابتی عصاره پنیرک و ختمی را با مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و کاهش قند خون بعد از مصرف غذا توجیه کرد. همچنین IC_{50} عصاره‌های عناب و گلپر جهت مهار رادیکال DPPH، به ترتیب ۷۲۱ و ۲۴۳ میکروگرم/میلی‌لیتر و محتوای پلی‌فنلی عصاره‌ها نیز به ترتیب ۳۶/۰۶ و ۶۸/۲ بر حسب میکروگرم معادل تانیک اسید در یک میلی‌گرم عصاره خام محاسبه گردید. در پژوهشی دیگر، اثرات ضددیابتی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره ۱۰ نوع چای را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد، گیاهان مورد آزمایش اثر ضد دیابتی از خود نشان ندادند. با این وجود، این گیاهان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی بودند (Büyükbalci and El, 2008).

در مطالعه‌ای که توسط Kim و همکاران (۲۰۰۴) صورت گرفت، اثر مهاری چند فلاونوئید از جمله Luteolin، Amentoflavone و Luteolin-7-o-glucoside بر روی آنزیم آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز بررسی شد که مشخص شد Luteolin در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، آنزیم آلفاگلوکوزیداز را با قدرتی بالا ولی کمتر از آکاربوز مهار می‌کرد. همچنین در یک مطالعه، اثر مهاری ترکیبات فنلی موجود در عصاره متانولی پوست دانه گیاه *Eleusine coracana* بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز پانکراس بررسی شد. این فنل‌ها شامل پلی‌فنل‌ها و اسیدهای فنلی بودند که اثر مهاری قوی علیه هر دو آنزیم نشان دادند و میزان IC_{50} به ترتیب برابر با ۱۶/۹ و ۲۳/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از مقدار فنل بود. این مطالعه پتانسیل درمانی محتوای فنلی این گیاه را در درمان هیپرگلیسمی بعد از غذا نشان داد (Malviya et al., 2010). پژوهشگران محتوای پلی‌فنلی عصاره متانولی گیاه گلپر و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را با تست DPPH اندازه‌گیری کردند که محتوای پلی‌فنلی حدود ۵۹/۶ میکروگرم گالیک اسید به ازای هر میلی‌گرم عصاره خام بود و IC_{50} تست DPPH برای این گیاه معادل ۴۳۸ میکروگرم/میلی‌لیتر گزارش شد. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و مقایسه IC_{50} مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز عصاره پنیرک و ختمی با عصاره‌های ذکر شده، مشخص است که عصاره اتانولی پنیرک و ختمی فعالیت ضد دیابتی نسبتا خوبی نسبت به سایر عصاره‌های ذکر شده دارند. بخش دیگری از نتایج این پژوهش حاکی از افزایش قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز با افزایش غلظت عصاره ختمی و پنیرک بود که این موضوع می‌تواند به دلیل افزایش مواد موثره عصاره با افزایش غلظت آن باشد که در تطابق با سایر پژوهش‌های انجام شده بود (Coruh et al., 2007).

۴. نتیجه‌گیری

قبل از استفاده از هر نوع گیاه دارویی به منظور اهداف ضد دیابتی و جایگزینی با نگهدارنده‌های سنتتیک لازم است قدرت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی این گیاهان در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد. در این پژوهش قدرت آنتی‌اکسیدانی و قدرت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی گیاه پنیرک و گل ختمی مورد بررسی قرا گرفت. به

طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره اتانولی گیاه پنیرک و ختمی دارای فعالیت آنتی آکسیدانی و مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشند، که در این میان عصاره اتانولی پنیرک در مهار رادیکال آزاد و آنزیم آلفاگلوکوزیداز موثرتر از عصاره اتانولی گل ختمی بود. مقایسه نتایج این پژوهش با سایر پژوهش‌های انجام شده نشان داد که عصاره اتانولی گیاه پنیرک و گل ختمی به نسبت سایر عصاره‌های گیاهان دارای پتانسیل مناسبی جهت مهار رادیکال آزاد و آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشند. نتایج حاصل بیانگر این موضوع بود که عصاره اتانولی پنیرک و ختمی با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌توانند به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی مورد استفاده قرار گیرند. هچنین با توجه به اثر مهاری این دو گیاه بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز، می-توان آن‌ها را به عنوان گیاهانی موثر در جهت بهبود حال بیماران دیابتی نوع ۲ پیشنهاد داد.

۵. منابع

Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G. and Lightfoot, D.A. 2017. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(42): 1-23. DOI: https://doi.org/10.3390/plants6040042

Asano, N. 2003. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use. *Glycobiology*, 13(10):93-104. DOI: https://doi.org/10.1093/glycob/cwg090

Ayoughi, F., Barzegar, M.O., Sahari, M.A. and Naghdi Badi, H. 2009. Antioxidant effect of dill (*Anethum graveolens* Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. *Journal of Medicinal Plants*. 2(30): 71-83.

Bachhawat, A., Shihabudeen, M.S. and Thirumurugan, K. 2011. Screening of fifteen Indian ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4):267-274.

Bamdad, F., Kadivar, M. and Keramat, J. 2006. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International journal of food science & technology*, 41: 20-27. DOI: https://doi.org/ 10.1111/j.1365-2621.2006.01238.x

Bisset, N.G. and Wichtl, M. 1994. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. *Medpharm GmbH Scientific Publishers*, Stuttgart, CRC Press, Boca Raton, 91-95.

Büyükbalci, A, El, SN. 2008. Determination of in vitro antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(1): 27-33. DOI: https://doi.org/10.1007/s11130-007-0065-5

Chiba, S. 1997. Molecular mechanism in α-glucosidase and glucoamylase. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 61(8): 1233-1239. DOI: https://doi.org/10.1271/bbb.61.1233

Coruh, N., Celep, A.S. and Özgökçe, F. 2007. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., Chaerophyllum macropodum Boiss. and Heracleum persicum Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food chemistry*, 100(3): 1237 - 1242. DOI: https:// doi.org/ 10.1016/j.foodchem.12.006

Doostmohammadi, M., Abdolahzade, P. and Alizadeh, H. 2011. Comparison of antibacterial activity of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Malva neglecta* Wallr. *The Journal of Medicinal Herbs*, 1: 59-67. (In Persian)

Elmastas, M., Ozturk, L., Gokce, I., Erenler, R. and Aboul Enein, H.Y. 2004. Determination of antioxidant activity of marshmallow flower (*Althaea officinalis* L.). *Analytical letters*, 37(9): 1859-1869. DOI: https:// doi.org/ 10.1081/AL-120039431

Facchini, F.S., Hua, N.W., Reaven, G.M. and Stoohs, R.A. 2000. Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? *Free Radical Biology and Medicine*, 29(12): 1302-1306. DOI: https://doi.org/ 10.1016/s0891-5849(00)00438-x

Fallah Huseini, H., Amini, M., Mohtashami, R., Ghamarchehre, M.E., Sadeqhi, Z., Kianbakht, S. and Fallah Huseini, A. 2013. Blood pressure lowering effect of Nigella sativa L. seed oil in healthy volunteers: A randomized, double blind, placebo controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*, 27(12): 1849-1853.

Fazel, M., Omidbeygi, M., Barzegar, M. and Naghdi Badi, H. 2007. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer savory and clove by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) method. *Journal of Medicinal Plants*, 2(22): 54-63.

Foss, K., Przybyłowicz, E. and Sawicki, T. 2022. Antioxidant Activity and Profile of Phenolic Compounds in Selected Herbal Plants. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(3): 383–389. DOI: https://doi.org/ 10.1007/s11130-022-00989-w.

Gallagher, A., Flatt, P., Duffy, G. and Abdel-Wahab, Y. 2003. The effects of traditional antidiabetic plants on in vitro glucose diffusion. *Nutrition research*, 23(3): 413-24. DOI: https://doi.org/ 10.1016/S0271-5317(02)00533-X

Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ. and Aslan, A. 2002. Determination of antioxidant activity of lichen Cetraria islandica (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*. 79(3): 325-9. DOI: https://doi.org/ 10.1016/s0378-8741(01)00396-8

Gupta, R.K., Kesari, A.N., Watal, G., Murthy, P., Chandra, R. and Maithal, K. 2005. Hypoglycaemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of Annona squamosa (L.) in experimental animal. *Current Science*, 88(8): 1244-54.

Gurib-Fakim, A., Subratty, H., Narod, F., Govinden-Soulange, J. and Mahomoodally, F. 2005. Biological activity from indigenous medicinal plants of Mauritius. *Pure and applied chemistry*, 77(1): 41-51. DOI: https://doi.org/10.1351/pac200577010041

Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*. 100(2): 451-8. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.066

Kim, Y.M., Wang, M.H. and Rhee, H.I. 2004. A novel α-glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydrate research*, 339(3): 715-717. DOI: https://doi.org/10.1016/j.carres.2003.11.005

Lawag, I.L., Aguinaldo, A.M., Naheed, S. and Mosihuzzaman, M. 2012. α-Glucosidase inhibitory activity of selected Philippine plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 144(1): 217-2019. DOI: https://doi.org/ 10.1016/ j.jep. 2012. 08.019

López-Pedrouso, M., Lorenzo, J.M. and Franco, D. 2022. Advances in natural antioxidants for food improvement. *Antioxidants*. 11(9): 2-5. DOI: https://doi.org/10.3390/antiox11091825

Luo, J.G., Ma, L. and Kong, L.Y. 2008. New triterpenoid saponins with strong α-glucosidase inhibitory activity from the roots of Gypsophila oldhamiana. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(6): 2912-2920. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.bmc.2007.12.053

Malviya, N., Jain, S. and Malviya, S. 2010. Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(2): 113-118.

MansourZadeh, S., Salari, S., boujarpour, M., Sari, M. and Ghorbanpour Najafabadi, M. 2014. Effects of various levels of *Mallvasylvesteris* extract on performance, carcass characteristics and some immune and blood parameters of broiler chickens. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 106: 3-12.

O'Keefe, J.H. and Bell, D.S. 2007. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *The American Journal of Cardiology*, 100(5): 899-904. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.amjcard.2007.03.107

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. and Deemer, E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11): 3122-3128. DOI: https://doi.org/ 10.1021/jf0116606

Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O.K., Zoumpoulakis, P. and Sinanoglou, V.J. 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*, 2(1): 11-22. DOI: https://doi.org/ 10.3390/antiox2010011

Sabu, M. and Kuttan, R. 2002. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2): 155-60. DOI: https://doi.org/ 10.1016/s0378-8741(02)00034-x

Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of Bunium persicum. *Plant foods for human nutrition*, 63(4): 183-188. DOI: https://doi.org/10.1007/s11130-008-0091-y

Shim, Y.J., Doo, H.K., Ahn, S.Y., Kim, Y.S., Seong, J.K., Park, I.S. and Min, B.H. 2003. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of Rhus chinensis on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. *Journal of ethnopharmacology*, 85(2): 283-7. DOI: https://doi.org/ 10.1016/s0378-8741(02)00370-7

Tahanejad, M., Barzegar, M. and Naghdi, H. 2012. Evaluation of antiradical activity of extracts of mallow (*Malva sylvestris* L.) and its application in the oil system. *Journal of Medicinal Plants*, 2(42): 86-97. DOI: https://doi.org/20.1001.1.2717204.2012.11.42.7.5

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A. and Sokmen, A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey. *Food Chemistry*, 95(2): 200-204. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j. foodchem. 2004. 12.031

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7): 669-675.

Thompson, K. and Godin, D. 1995. Micronutrients and antioxidants in the progression of diabetes. *Nutrition Research*. 15(9): 1377-410.

Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Choi, S.W., Kawakishi, S. and Osawa, T. 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-. beta.-D-glucoside and cyanidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(11): 2407-2410. DOI: https://doi.org/10.1021/jf00047a009

Tundis, R., Nadjafi, F. and Menichini, F. 2013. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity and Antioxidant Properties of Nepeta crassifolia Boiss & Buhse and Nepeta binaludensis Jamzad. *Phytotherapy Research*. 27(4): 572-80. DOI: https://doi.org/ 10.1002/ptr.4757

Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M.M. and Akbulut, M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Applied Sciences Journal*. 6(3): 373-377.

Wang, S., Fang, M., Ma. Y.L. and Zhang, Y.Q. 2014. Preparation of the branch bark ethanol extract in mulberry Morus alba, its antioxidation, and antihyperglycemic activity in vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 22: 1-7. DOI: https://doi.org/ 10.1155/2014/569652

Willcox, M.L., Elugbaju, C., Al-Anbaki, M., Lown, M. and Graz, B. 2021. Effectiveness of Medicinal Plants for Glycaemic Control in Type 2 Diabetes: An Overview of Meta-Analyses of Clinical Trials. *Front Pharmacol*, 12: 1-13. DOI: https://doi.org/10.3389/fphar.2021.777561

Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Azizi, M.H. 2007. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. Journal of Agricultural Science and Technology. 9: 35-42. DOI: https://doi.org/20.1001.1.16807073.2007.9.1.3.8

Yazici, S.O., Ozmen, I., Celikoglu, U., Ozcelik, H. and Genc, H. 2012. In vitro antioxidant activities of extracts from some Nepeta species. *International Journal of Health and Nutrition*, 3(1): 8-12.

Zhen-Yu, W. 2005. Impact of anthocyanin fromMalva sylvestris on plasma lipids and free radical. *Journal of Forestry Research*, 16(3):228-32 DOI: https://doi.org/10.1007/BF02856821

Ziegler, E. and Filer, L. 1996. International Life Sciences Institute-Nutrition Foundation. Present knowledge in nutrition. Washington, DC: ILSI Press.