بررسی اثر عصاره‌های مختلف دانه گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertn)، بر فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز در محیط برون‌تنی

حسن فلاح‌حسینی[۱]، بهور اصغری[۲]، ژینوس عسگرپناه[۳]، طاهره اقبالی زارچ[٤]*، علی بابایی زارچ[٥]

۱- استادیار پژوهش، گروه فارماکولوژی و طب کاربردی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۲- دانشجوی دکتری، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۳- استادیار، گروه فارماکوگنوزی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
٤- دانشجوی داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
٥- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید صدوقی، یزد
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان شریعتی، قلهک، خیابان یخچال، دانشکده داروسازی واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تلفن: ٥ - ٢٢٦٤٠٠٥١، نمابر: ٢٢٦٠٢٠٥٩
پست الکترونیک: eghbali.tahereh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/٤ **تاریخ تصویب:** ۹۰/۱۲/۱۲

چکیده

مقدمه: مهارکننده‌های آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز از تبدیل پلی‌ساکاریدهای غذا به منوساکاریدها یا همان قند ساده پیشگیری می‌کنند. مهار این دو آنزیم از جذب قندهای ساده از دستگاه گوارش و در نتیجه پیشگیری از افزایش گلوکز خون بعد از غذا مؤثر است.

هدف: در این مطالعه تأثیر فراکسیون‌های دانه گیاه خارمریم تهیه شده توسط حلال‌های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول بر مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز بررسی شد.

روش بررسی: از پودر دانه گیاه خارمریم توسط حلال‌های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول فراکسیون‌های مختلف تهیه شد. اثر بازدارندگی عصاره‌های به دست آمده بر فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز بررسی شد. در این آزمایش، غلظتی از هر عصاره که برای مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم‌ها مورد نیاز است (IC_{50})، به دست آمد و با مقدار موردنیاز از آکاربوز، به عنوان کنترل مثبت مقایسه شد.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره تام متانولی و فراکسیون‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی و متانولی دانه گیاه خارمریم اثر مهاری متفاوتی بر هر دو آنزیم آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز دارند. آنالیز آماری نشان داد که درصد مهاری عصاره متانولی تام دانه گیاه خارمریم بر هر دو آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز در مقایسه با دیگر فراکسیون‌ها قوی‌تر و قابل مقایسه با آکاربوز به عنوان کنترل مثبت است.

نتیجه‌گیری: عصاره تام متانولی دانه گیاه خارمریم اثر مهاری قوی‌تری نسبت به فراکسیون‌های متانولی، اتیل استاتی، هگزانی و کلروفرمی روی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز دارد.

گل‌واژگان: دیابت، خارمریم، آلفا آمیلاز، آلفا گلوکزیداز

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

مقدمه

دیابت یک بیماری مزمن شامل گروهی از اختلالات متابولیسمی است که با درجات متفاوتی از فقدان ترشح انسولین، مقاومت به انسولین، اختلال در ترشح انسولین بروز می‌کند و اولین مشخصه آن افزایش سطح گلوکز در خون است. متابولیسم تمام مواد غذایی اصلی در در بیماران دیابتی دگرگون می‌شود. مصرف سلولی گلوکز به طور فزاینده کم می‌شود و مصرف چربی‌ها و پروتئین‌ها افزایش می‌یابد [۱]. در ایالات متحده، دیابت قندی (DM) علت اصلی بیماری کلیوی در مرحله آخر (ESRD)، قطع غیرترومایی اندام تحتانی و نابینایی در بزرگسالان را به خود اختصاص می‌دهد [۲]. یکی از مهم‌ترین مراقبت‌های پزشکی بیماران دیابتی کنترل کردن افزایش سطح گلوکز خون بعد از غذا است [۳]. پلی‌ساکاریدها موجود در غذای مصرفی در مجاری گوارش هیدرولیز و تبدیل به منوساکاریدها یا قندهای ساده شده و جذب سیستم گردش خون و موجب افزایش سطح گلوکز خون بعد از غذا می‌شوند. آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز نقش مهمی در فرایند تبدیل پلی ساکاریدها به منوساکاریدهای قابل جذب و تبدیل به گلوکز ایفا می‌کنند. مهارکننده‌های این دو آنزیم موجب مهار یا کاهش تبدیل پلی‌ساکارید غذا به گلوکز می‌شوند. مهار این دو آنزیم مخصوصاً در بیماران دیابتی می‌تواند در جذب گلوکز از دستگاه گوارش و در نتیجه پیشگیری از افزایش سطح گلوکز خون بعد از غذا مؤثر باشد [٤،٥].

سیلی‌مارین یا عصاره تام دانه گیاه خارمریم از جمله ترکیبات گیاهی است که تأثیر آن در متابولیسم و کاهش سطح گلوکز خون در حیوانات آزمایشگاهی و در انسان گزارش شده است ولی در مورد مکانیسم و ترکیبات مسئول این اثر گزارش‌های متفاوتی منتشر شده است [۷،۸]. مکانیسم‌های احتمالی شامل کاهش مقاومت انسولینی در سلول‌ها، محافظت از سلول‌های لوزالمعده، مهار آنزیم آلدوز ردکتاز و در یک مطالعه دیگر هم بر خلاف گزارش شده است که سیلی‌مارین از آزادسازی انسولین از سلولهای لوزالمعده پیشگیری کرده است. ولی به هر حال این اثرات متنوع به دلیل ترکیبات متعدد موجود در عصاره این گیاه است [۹،۱۰].

گزارش شده است که مصرف عصاره گیاهان دارویی با خواص مهارکنندگی آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز همراه با غذا می‌توانند با مهار فعالیت این دو آنزیم در مجاری گوارش موجب کاهش جذب گلوکز موجود در غذا شوند [۱۱،۱۲،۱۳]. در این پژوهش بر آن شدیم تا تأثیر عصاره دانه گیاه خارمریم روی مهار آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز بررسی نماییم. یک روش ساده جهت تفکیک و شناسایی ترکیبات متعدد یک گیاه استفاده از حلال‌های قطبی و غیرقطبی است [١٤]. لذا در این پژوهش تأثیر عصاره‌های دانه گیاه خار مریم که توسط چندین حلال قطبی و غیرقطبی تهیه شده بود روی مهار آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز آزمایش شد.

مواد و روش‌ها

مواد: دی نیتروسالیسیلیک اسید، سدیم پتاسیم تارترات، آکاربوز، DMSO، نشاسته سیب‌زمینی، متانول، اتیل استات، کلروفرم، هگزان، کلرید سدیم، NaoH، فسفات سدیم از مواد مورد استفاده در این پژوهش بودند.

دانه گیاه خارمریم: دانه گیاه خارمریم در پاییز ۱۳۸۹ از کلکسیون پرورش گیاهان دارویی با کد ٤٥٣ ثبت شده در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در کرج جمع‌آوری و در سایه با درجه حرارت اتاق خشک شد.

عصاره‌گیری: دانه گیاه خارمریم خشک شده را پودر نموده و عمل عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون انجام گرفت. ابتدا یک تکه پنبه در انتهای دستگاه پرکولاتور قرار داده شد و سپس پودر دانه گیاه به طور یکنواخت در پرکولاتور ریخته شد. با وارد کردن فشار یکنواخت به سطح پرکولاتور دستگاه را پر از پودر کرده، یک تکه کاغذ صافی روی سطح پودر گذاشته و سپس روی آن یک شی سنگین قرار داده شد، تا در طی افزودن حلال یکنواختی پودر به هم نخورده و طی عمل پرکولاسیون

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

نیز با افزودن حلال اجازه ندهیم پرکولاتور از حلال مربوطه خشک شود. لازم به ذکر است در این بررسی از متانول جهت تهیه عصاره تام استفاده شد.

برای تهیه فراکسیون‌ها ابتدا از حلال هگزان استفاده شد. پس از تهیه و جمع‌آوری عصاره‌ی هگزانی که ۹ روز به طول انجامید (در ۳ مرحله‌ی ۳ روزه)، دانه گیاه کاملاً از پرکولاتور خارج شد و در جریان هوای آزاد قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. سپس حلال بعدی که کلروفرم بود به دانه گیاه که هم‌اکنون به پرکولاتور انتقال داده شده بود اضافه شد و این کار به همین ترتیب تا حلال‌های بعدی (اتیل استات، متانول) ادامه پیدا کرد.

ترتیب حلال‌های مورد استفاده جهت تهیه‌ی فراکسیون‌های مورد نظر به شرح زیر بود:

هگزان ..... کلروفرم ..... اتیل استات ..... متانول

تغلیظ عصاره و فراکسیون‌ها: پس از جمع‌آوری عصاره و فراکسیون‌ها، آن را توسط دستگاه روتاری با درجه حرارت ۳۵ درجه تغلیظ کرده و با قرار دادن آنها در هوای آزاد، عصاره و فراکسیون‌ها بسته به میزان فرار بودن حلال بین ۱ الی ۱۵ روز کاملاً حلال خود را از دست داده و خشک شدند. عصاره تام و فراکسیون‌های دانه گیاه در ویال‌هایی که از قبل توزین شده بودند، ریخته شد و درب آنها را با آلومینیوم بسته و برای مرحله‌ی بعد، یعنی اندازه‌گیری میزان مهارکنندگی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز نگهداری شد.

روش کار

روش تست مهار آنزیم آلفا گلوکزیداز: با توجه به روش گزارش شده توسط McCue و همکارانش [۱۵] و با اندکی تغییر در آن، مهار آنزیم آلفا گلوکزیداز توسط عصاره‌های گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۶]. در بررسی اثر مهارکنندگی عصاره‌های گیاهان بر روی آنزیم آلفاگلوکزیداز، از ماده pNPG به عنوان سوبسترا استفاده شد که توسط آنزیم به پارا – نیتروفنول (زرد رنگ) و گلوکز هیدرولیز می‌شود. فعالیت آنزیمی با اندازه‌گیری میزان جذب پارا – نیتروفنول اندازه‌گیری شد. در صورتی که عصاره‌ی گیاهی دارای اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکزیداز باشد شاهد جذب پایین‌تری در مقایسه با کنترل (واکنش بدون مهارکننده) خواهیم بود.

مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر آلفا گلوکزیداز (۰/۲۵ unit/ml)، ۱۳۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ mM (pH 6.8) و ۱۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش در غلظت‌های مختلف بود. این مخلوط در میکروپلیت ۹۶ چاهکی تهیه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از خارج کردن پلیت از انکوباتور، واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از محلول 5 mM، pNPG آغاز شد. مخلوط واکنش مجدداً در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس با اضافه کردن ۸۰ میکرولیتر محلول سدیم‌کربنات ۰/۲ M واکنش متوقف شد. جذب محیط در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه microplate reader (BioTek XS2) خوانده شد. از مخلوط واکنش بدون عصاره‌ی گیاه به عنوان کنترل و مخلوط واکنش بدون آنزیم آلفا گلوکزیداز به عنوان بلانک استفاده شد. این آزمایش برای هر یک از غلظت‌ها سه مرتبه تکرار شد. درصد مهار آنزیم آلفا گلوکزیداز توسط نمونه‌ها با کمک فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصدمهار} = \left(\frac{\text{جذب کنترل} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \right) \times ۱۰۰$$

روش تست مهار آنزیم آلفا آمیلاز: تست مهار آنزیم آلفا آمیلاز با اندکی تغییر در روش میلر و با اندازه‌گیری میزان کاهش قدرت آزادسازی اولیگوساکارید از محلول نشاسته انجام شد [۱۷]. در این بررسی از میکروپلیت ۹۶ چاهکی استفاده شد که حجم کل مواد موجود در هر چاهک ۲۵۰ میکرولیتر بود. واکنش حاوی بافر فسفات ۱۰۰ mM (pH 6.8)، کلرید سدیم ۱۷ mM، ۱/۵ میلی‌گرم نشاسته محلول، ۵۰ میکرولیتر محلول مهارکننده در DMSO با غلظت‌های مختلف و ۱۰ میکرولیتر محلول آنزیم (۲۵ unit/ml) بود. پس از اینکه میکروپلیت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

داده شد، واکنش با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر سود (2N) و ۲۰ میکرولیتر معرف رنگی (۳ و ۵- دی‌نیترو سالیسیلیک اسید ٤/٤ µM، سدیم پتاسیم تارترات تتراهیدرات ۱۰٦ µM و سود ٤۰ µM) متوقف شد. سپس میکروپلیت به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. فعالیت آلفا آمیلاز با اندازه‌گیری جذب مخلوط در طول موج ٥٤۰ نانومتر با کمک دستگاه Microplate reader (BioTek XS2) مشخص شد. مخلوط بلانک برای تصحیح جذب نمونه مورد استفاده قرار گرفت که در آن آنزیم با محلول بافر جایگزین شده بود. همچنین با استفاده از واکنش کنترل که در آن DMSO جایگزین عصاره گیاهی شده بود، حداکثر فعالیت آنزیم تعیین شد.

میزان مالتوز تولید شده از فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با استفاده از منحنی کالیبراسیون مالتوز که در محدوده ۰ - ۰/۲۵ درصد (W/V) رسم شده بود، محاسبه شد. تمام آزمایش‌ها با سه مرتبه تکرار انجام شد و آکاربوز به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. درصد مهار آنزیم آلفا آمیلاز از طریق معادلات زیر محاسبه شد:

$$\text{واکنش٪} = \frac{\text{میانگین مالتوز در نمونه}}{\text{میانگین مالتوز در کنترل}} \times ۱۰۰$$

واکنش ٪ - ۱۰۰ = مهار ٪

IC_{50} آکاربوز به عنوان ماده استاندارد: برای به دست آوردن IC_{50} آکاربوز غلظت‌های مختلف از این ترکیب تهیه شد و میزان بازدارندگی هر کدام از این محلول‌ها بر اساس روش‌های فوق‌الذکر به دست آمد.

غلظت‌های به کاررفته به شرح زیر می‌باشند:

آنزیم آلفا آمیلاز: ۸۰ و ٤۰، ۲۰، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

آنزیم آلفا گلوکزیداز: ۱۰ و ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر

اثر مهارکنندگی عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف دانه گیاه خارمریم بر فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز: به منظور بررسی اثر مهاری عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف خارمریم بر فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز محدوده‌های غلظتی مختلفی از آنها ابتدا مورد ارزیابی قرار گرفت و در نهایت غلظت‌های مناسب از عصاره تام و فراکسیون‌های انتخاب شد.

در بررسی مربوط به آنزیم آلفا گلوکزیداز، غلظت‌های تهیه شده به شرح زیر می‌باشد:

عصاره‌ی تام متانولی: غلظت‌های ۱۰ و ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر

فراکسیون اتیل استات: غلظت‌های ۸۰ و ٤۰، ۲۰، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

فراکسیون کلروفرم: غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر

فراکسیون هگزان: غلظت‌های ۸۰ و ٤۰، ۲۰، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

فراکسیون متانول: غلظت‌های ۸۰ و ٤۰، ۲۰، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

اثر مهاری هر عصاره در هر غلظت با سه مرتبه تکرار اندازه‌گیری شد.

در بررسی مربوط به آنزیم آلفا آمیلاز، غلظت‌های تهیه شده عصاره تام متانولی و فراکسیون‌های اتیل استات، کلروفرم، هگزان و متانول به شرح زیر بودند:

غلظت‌های ۱۰۰ و ۷۵، ۵۰، ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر

اثر مهاری هر عصاره در هر غلظت با سه مرتبه تکرار اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش داده شده است. نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون One-Way Anova/ Tukey-test و با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism 5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

نتایج

نتایج مربوط به تأثیر عصاره تام و فراکسیون‌های دانه گیاه خارمریم بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که IC_{50} عصاره تام متانولی و فراکسیون‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی، و متانولی دانه گیاه خارمریم به ترتیب ۰/۷±۴۳/۱، ۸/۹۳±۱۶۲/۴۳، ۱۲/۳۶±۱۹۵/۵۷، ۰/۷±۶۵/۵، ۲/۶±۵۵/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای آنزیم آلفا آمیلاز است. به علاوه نتایج نشان داد که IC_{50} آکاربوز به عنوان کنترل مثبت بر آنزیم آلفا آمیلاز ۲/۰±۲۴/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. آنالیز آماری نشان داد که بیشترین مهار آنزیم آلفا آمیلاز توسط عصاره تام متانولی با کمترین غلظت و سپس فراکسیون‌های متانولی، اتیل استاتی، هگزانی و کلروفرمی در مقایسه با آکاربوز است.

نتایج مربوط به تأثیر عصاره تام و فراکسیون‌های دانه گیاه خارمریم بر فعالیت آنزیم آلفا گلوکزیداز در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که IC_{50} عصاره تام متانولی و فراکسیون‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی، و متانولی

جدول شماره ۱- میزان مهارکنندگی عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف دانه گیاه خارمریم بر آنزیم آلفا آمیلاز بر حسب میانگین ± انحراف معیار

نام عصاره	درصد مهار آنزیم آلفا آمیلاز	غلظت عصاره بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم	IC_{50} بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم
تام متانولی	۳۵/۴±۲/۳	۲۵	۴۳/۱±۰/۷*
	۵۱/۲±۱/۴	۵۰	
	۶۱/۴±۲/۱	۷۵	
	۸۴/۷±۲/۲	۱۰۰	
هگزان	۸/۸±۱/۵	۲۵	۱۶۲/۴۳±۸/۹۳***
	۲۲/۶±۲/۸	۵۰	
	۳۰/۳±۴/۱	۷۵	
	۴۱/۷±۳/۵	۱۰۰	
کلروفرم	۳/۶±۱/۳	۲۵	۱۹۵/۵۷±۱۲/۳۶***
	۲۱/۱±۲/۵	۵۰	
	۳۰/۳±۲/۲	۷۵	
	۳۳/۵±۰/۹	۱۰۰	
اتیل استات	۱۰/۱±۱/۷	۲۵	۶۵/۵±۰/۷***
	۴۲/۵±۲/۳	۵۰	
	۵۲/۰±۴/۳	۷۵	
	۶۸/۶±۳/۶	۱۰۰	
متانول	۲۱/۸±۲/۲	۲۵	۵۵/۳±۲/۶**
	۳۹/۱±۳/۳	۵۰	
	۶۱/۰±۳/۱	۷۵	
	۷۸/۲±۲/۳	۱۰۰	
آکاربوز	۳۰/۱±۱/۹	۱۰	۲۴/۹±۲/۰
	۴۰/۲±۲/۳	۲۰	
	۶۲/۴±۱/۹	۴۰	
	۷۹/۷±۳/۷	۸۰	

*دارای اختلاف معنی‌دار در مقایسه با کنترل (آکاربوز) ($p<0/05$) **دارای اختلاف معنی‌دار در مقایسه با کنترل (آکاربوز) ($p<0/01$)، ***دارای اختلاف معنی‌دار در مقایسه با کنترل (آکاربوز) ($p<0/001$).

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

جدول شماره ۲- میزان مهارکنندگی عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف دانه گیاه خارمریم بر آنزیم آلفا گلوکزیداز بر حسب میانگین ± انحراف معیار

نام عصاره	درصد مهار آنزیم آلفا گلوکزیداز	غلظت عصاره بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم	IC_{50} بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم
تام متانولی	۱۶/۲±۱/۳۴	۱/۲۵	۳/۶±۰/۳
	۳۲/۱۳±۲/۱	۲/۵	
	۶۵/۹±۱/۶	۵	
	۸۸/۵۶ ±۲/۳۶	۱۰	
هگزان	۲۱±۳/۵	۱۰	۲۷/۸±۰/۹
	۴۰/۲۳±۲/۲	۲۰	
	۶۶/۵±۳/۴	۴۰	
	۷۸/۷±۲/۶	۸۰	
کلروفرم	۱۴/۷۳±۴/۹	۱۲/۵	۱۴۴/۴۶±۱۹/۶۷***
	۲۱/۶۳±۲/۹	۲۵	
	۳۳/۲۳±۳/۶	۵۰	
	۴۵/۷±۳	۱۰۰	
اتیل استات	۱۸/۴۶±۵/۲	۱۰	۲۷/۲±۱/۱
	۳۵/۷۳±۳/۲	۲۰	
	۶۲/۳۶±۳/۵	۴۰	
	۸۸/۸۶±۴/۴	۸۰	
متانول	۲۹/۴±۴/۵	۱۰	۱۸/۷ ±۲/۴
	۵۴/۶±۵/۷	۲۰	
	۷۱/۰۶±۳/۴	۴۰	
	۹۸/۶±۰/۴۷	۸۰	
آکاربوز	۱۱/۸±۱/۱	۱/۲۵	۸/۵±۰/۵
	۲۰/۹±۲/۵	۲/۵	
	۳۲/۴±۱/۸	۵	
	۵۸/۲±۱/۲	۱۰	

***دارای اختلاف معنی‌دار در مقایسه با کنترل (آکاربوز) ($p<۰/۰۰۱$)

دانه گیاه خارمریم به ترتیب ۳/۶±۰/۳، ۲۷/۸±۰/۹، ۱۴۴/۴۶±۱۹/۶۷، ۲۷/۲±۱/۱، ۱۸/۷±۲/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. به علاوه نتایج نشان داد که IC_{50} آکاربوز به عنوان کنترل مثبت برای آنزیم آلفا گلوکزیداز ۰/۵ ± ۸/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. آنالیز آماری حاکی از آن است که بیشترین مهار آنزیم آلفا آمیلاز توسط عصاره تام متانولی با کمترین غلظت و سپس فراکسیون‌های متانولی، **اتیل استاتی، هگزانی و کلروفرمی** در مقایسه با آکاربوز است.

بحث

اگرچه داروی گیاهی سیلی‌مارین به عنوان یک ماده محافظ کبدی شناخته شده است ولی مقالات متعددی حاکی از آن است که این داروی گیاهی در کاهش گلوکز خون بالا در مطالعات آزمایشگاهی و بالینی مؤثر است ولی مکانیسم اثر آن تاکنون دقیقاً مشخص نشده است [۱۸،۱۹]. یکی از مکانیسم‌های مهم در کاهش گلوکز خون بالا پیشگیری از تبدیل پلی ساکاریدهای خوراکی به منو ساکاریدها است. این

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

منوساکاریدها قندهای ساده قابل جذب به بدن هستند [۲۰]. آنزیم‌های آلفا گلوکزیداز و آلفا آمیلاز دو آنزیم مهم در مجاری گوارشی انسان هستند که با هیدرولیز کردن پلی ساکاریدهای خوراکی به منو ساکاریدها نقش مهمی در جذب قند غذایی دارند [۲۱].

در این پژوهش تأثیر عصاره‌های دانه گیاه سیلی‌مارین که توسط چندین حلال مختلف تهیه شده بود روی مهار آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز آزمایش شد. با توجه به آنکه آکاربوز به عنوان ماده کنترل مثبت در این آزمایش اثر مهاری قوی روی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز داشت هر عصاره یا فراکسیون مهارکننده این دو آنزیم که تفاوت کمتری نسبت به آکاربوز داشت مهارکننده قوی‌تر به حساب آمد.

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی تام دانه گیاه خارمریم اثر مهاری بالایی روی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز داشت که نسبت به اثر مهاری فراکسیون‌های متانولی، اتیل استاتی، هگزانی و کلروفرمی قوی‌تر بود. به علاوه این اثر قابل مقایسه با آکاربوز که یک داروی کاهنده سطح گلوکز خون است، بود.

دلیل مهار این دو آنزیم توسط عصاره متانولی دانه گیاه خارمریم هنوز مشخص نیست، ولی گزارش شده است که ترکیباتی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند با مهار رادیکال آزاد اکسیژن موجب مهار آنزیم آلفا گلوکزیداز می‌شوند [۲۲] عصاره دانه گیاه خارمریم دارای ترکیبات فلاونوئیدی با اثر آنتی‌اکسیدانی قوی است [۲۳،۲٤]. ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاهان در دو دسته قطبی و غیرقطبی تقسیم‌بندی می‌شوند که توسط حلال قطبی و غیرقطبی جداسازی می‌شوند [۱٤]. در این تحقیق با توجه به آنکه اثرات مهاری عصاره متانولی تام از دیگر حلال‌ها بیشتر بوده است احتمالاً ترکیبات قطبی موجود در این دانه بیشترین اثر روی مهار دو آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکزیداز داشته‌اند. این نتایج همسو با نتایج مطالعات قبلی است که نشان می‌دهد ترکیبات قطبی موجود در عصاره آبی دانه گیاه خارمریم موجب کاهش گلوکز خون در موش صحرایی دیابتی بدون اثر بر غلظت انسولین می‌شود [۲۵]. نتیجه‌گیری آنکه عصاره تام متانولی دانه گیاه خارمریم احتمالاً حاوی بیشترین ترکیباتی با خواص مهارکنندگی آنزیم آلفا آمیلاز و آنزیم آلفا گلوکزیداز است و احتمالاً مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آنزیم آلفا گلوکزیداز توسط عصاره دانه گیاه خارمریم حداقل یکی از مکانیسم‌های اثر این عصاره در کاهش سطح گلوکز خون است.

منابع

1. Kasper DL, Braunwald EAB, Fauci AS. Harrison's principles of internal medicine. 16th Edn. Mcgraw Hill Companes/Mcgraw-Hill. 2005, pp: 2152 - 80.

2. Reddy SS. Health outcomes in type 2 diabetes. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.* 2000; 113: 46 - 53.

3. Hanefeld M, Temelkova-Kurktschiev T. Control of post-prandial hyperglycemia: an essential part of good diabetes treatment and prevention of cardiovascular complications. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2002; 12 (2): 98 - 107.

4. Bernfeld P. Amylases, alpha and beta. In: Colowick SP, Kaplan NO. Methods in Enzymology, vol. 1. Academic Press, New York, 1955, pp: 149 - 58.

5. Rhabasa-Lhoret R, Chiasson JL. Alpha-glucosidase inhibitors (3rd ed.). In Defronzo R A, Ferrannini E, Keen H, Zimmet P. International textbook of diabetes mellitus (Vol. 1). UK: John Wiley, 2004.

6. Yee HS, Fong NT. A review of the safety and

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

efficacy of acarbose in diabetes mellitus. *Pharmacotherapy* 1996; 16 (5): 792 - 805.

7. Velussi M, Cernigoi AM. Long- term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *J. Hepatol*. 1997; 26: 871 - 9.

8. Lirussi F, Beccarello A, Zanette G, De Monte A, Donadon V, Velussi M, Crepaldi G. Silybin-beta-cyclodextrin in the treatment of patients with diabetes mellitus and alcoholic liver disease. Efficacy study of a new preparation of an anti-oxidant agent. *Diabetes Nutr. Metab*. 2002; 15 (4): 222 - 31.

9. Zhong H. Effects of silybin on red blood cell sorbitol and nerve conduction velocity in diabetic patients. *Xi Yi Jie He Za Zhi* 1993; 13 (12): 725 - 6.

10. Soto CP, Perez BL, Favari LP, Reyes JL. Prevention of alloxan-induced diabetes mellitus in the rat by silymarin. *Comparative Pharmacology & Toxicology* 1998; 119: 125 - 9.

11. Hasenah A, Houghton PJ, Soumyanath A. α-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *phyllanthus amarus*. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 107 (3): 449 – 55.

12. Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi-far F, Mirtajaddini M. The Inhibitory Effect of Some Iranian Plants Extracts on the Alpha Glucosidase. *Iran J. Basic Med. Sci*. 2008; 11 (1): 1 - 9.

13. Geethalakshmi R, Sarada DVL, Marimuthu P, Ramasamy K. α-Amylase Inhibitory Activity of *Trianthema decandra* L. *Int. J. Biotechnol. Biochem.* 2010; 6 (3): 369 - 76.

14. Macias FA, Simonet AM, Galindo JCG, Castellano D. Natural products as allelo chemicals. Bioactive phenolics and polar compounds from melilotus messanensis. *Phytochem.* 1999; 50: 35 - 46.

15. McCue P, Kwon YI, Shetty K. Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin I-converting enzyme potential of selected foods. *J. Food Biochem*. 2005; 29: 278 - 94.

16. Ganiyu O, Adedayo O, Ademiluy I, Yetunde M. Faloye. Effect of combination on the antioxidant and inhibitory properties of tropical pepper varieties against ***α***-amylase and ***α***-glucosidase activities *In Vitro*. *J. Medicinal Food* 2011; 14 (10): 1152 - 8.

17. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chem.* 1959; 31: 426 - 8.

18. Schuppan D, Jia J, Brinkhaus B, Hahn E. Herbal Products for liver disease: a therapeutic challenge for the new millennium. *Hepatology* 1999; 3: 1099 - 104.

19. Huseini HF, Larijani B, Heshmat R, Fakhrzad H. The efficacy of *silybum marianum* (L.) Gaertn. (Silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytother. Res.* 2006; 20 (12): 1036 - 9.

20. Frati Munari AC, Benitez PW, Raul Ariza AC, Casarrubias M. Lowering glycemic index of food by acarbose and plantago psyllium mucilage. *Arch. Med. Res.* 1998; 29 (2):137 - 41.

21. Kurahashi M, Inomata K. Amylase secretion by paratoid glands and pancreas of diabetic rats during feeding. *Am. J. Physiol*. 1988; 254: 878 - 82.

22. Jo SH, Ka EH, Lee HS, Apostolidis E, Jang HD, Kwon YI. Comparison of antioxidant potential and rat intestinal α-glucosidases inhibitory activities of quercetin, rutin, and isoquercetin. *Int. J. Applied Res. Natural Products* 2010; 2 (4): 52 - 60.

23. Skottova N, Krecman V, Simanek V. Activities of silymarin and its flavonolignans upon low density lipoprotein oxidizability in vitro.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]

Phytother. Res. 1999; 13: 535 - 7.

24. Jacob S, Lehmann R, Rett K, Häring HU. Oxidative stress and insulin action: a role for antioxidants. In: Packer L, Rösen P, Tritschler, HJ, King GL. Antioxidants in Diabetes Management. Marcel Dekker. New York. 2000, pp: 319 - 38.

25. Maghrani M, Zeggwagh NA, Lemhadri A, El Amraoui M, Michel JB, Eddouks M. Study of the hypoglycaemic activity of fraxinus excelsior and *silybum marianum* in an animal model of type 1 diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 91 (2-3): 309 - 16.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.41.32.8]