

مهار آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی اندام‌های هوایی *Hypericum scabrum* L. و *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. ex Benth.

محمدعلی زارعی^{۱*} و زهرا نظارات^۲

*۱- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، پست الکترونیک: mazarei@uok.ac.ir

۲- کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۹

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۹

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۹

چکیده

دیابت در اثر نقص ارثی یا اکتسابی در ترشح انسولین و یا کاهش پاسخ اندام‌ها نسبت به انسولین ترشح شده ایجاد می‌شود. کنترل هیپرگلیسمی بعد از صرف غذا از طریق مهارکننده‌های آلفاگلوکوزیداز یک راهبرد مهم در مدیریت دیابت و کاهش عوارض مرتبط با بیماری است. براساس نتایج مطالعات قبلی عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاه *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. ex Benth. و *Hypericum scabrum* L. اثر مهاری قابل توجهی بر فعالیت آلفاگلوکوزیداز دارد. هدف از این پژوهش تعیین اندامی از گیاهان ذکر شده است که کانون فعالیت مهارکنندگی باشد. پس از تهیه عصاره متانولی از بخش‌های مختلف گیاهان، اثر مهاری تمامی عصاره‌ها در چندین غلظت مختلف، در طول موج ۴۰۵ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌خوان بررسی گردید. بیشترین میزان فعالیت مهاری آلفاگلوکوزیداز *S. suffruticosa* مربوط به غلظت ۱۶۰ mg/mL عصاره گل (۱۰۰٪ مهار و IC_{50} برابر با ۸/۹۱ mg/mL) و بیشترین میزان فعالیت مهاری *H. scabrum* مربوط به غلظت ۱۰ mg/mL عصاره گل (۹۶/۴۹٪ مهار و IC_{50} برابر با ۱/۰۴ mg/mL) و برگ (۸۶٪ مهار و IC_{50} برابر با ۳/۹۸ mg/mL) بود. مطابق نتایج حاصل از بررسی سنتتیک مهار آنزیمی، عصاره گل و برگ گیاه *S. suffruticosa* از الگوی مهار مرکب (غیررقابتی-نارقاتبی) و گل گیاه *H. scabrum* از الگوی مهار مرکب (رقابتی-غیررقابتی) پیروی می‌کنند. عصاره متانولی اندام‌های گل گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* دارای اثر مهاری قابل توجهی بر روی فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز است. در نتیجه منابع مناسبی برای استخراج ترکیب‌ها با خاصیت دارویی بالقوه برای کنترل سطح قند خون بعد از صرف غذا می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آلفاگلوکوزیداز، دیابت، مهار آنزیمی، *Hypericum scabrum* L. ex *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. Benth.

مقدمه

(al., 2006). چندین آنزیم آلفاگلوکوزیداز برای کاتالیز بیوندهای گلیکوزیدی اختصاص یافته‌اند که اختلاف آنها در شماره، موقعیت و آرایش فضایی گروه‌های هیدروکسیل در مولکول قند است. بنابراین، آلفا و بتا

آنزیم آلفاگلوکوزیداز (EC 3.2.1.20) یا مالتاز یک آنزیم کلیدی در هضم کربوهیدرات‌ها در انسان می‌باشد که باعث هیدرولیز پلی ساکاریدها می‌شود (de Melo et

(۲۰۰۶) با جداسازی بعضی از فلاونوئیدها مثل فلاون، فلاوانول و فلاوانون از گیاهان، مشخص کردند که گروه هیدروکسیل در این فلاونوئیدها تأثیر مهاری روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز دارد، به طوری که با افزایش گروه هیدروکسیل بر روی این ترکیبها میزان فعالیت مهاری افزایش می یابد. Bharatham و همکاران (۲۰۰۸) با جداسازی یک دسته جدید از مهارکننده های آلفاگلوکوزیداز به نام مشتقات شالکن سولفونامید و همچنین بررسی داکینگ مولکولی آنها، توانایی بالقوه این ترکیبها را در مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان دادند. Li و همکاران (۲۰۰۹) کوئرستین، ایزو کوئرستین و روتین را به عنوان مهارکننده های آنزیم آلفاگلوکوزیداز بکار بردند و گزارش کردند که توانایی کوئرستین در مهار آنزیم بیشتر از بقیه است. Choi و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده کردند که ایزوفلاونوئیدهای جدا شده از گیاهان خانواده حبوبات (Leguminosa) در محیط *In vitro* آنزیم آلفاگلوکوزیداز مخمری را مهار می نماید. Bachhawat و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت مهاری عصاره الکلی ۱۵ گیاه رایج در طب سنتی هند را بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که در بین این گیاهان، ریزوم گیاه *Picrohiza kurroa* و ریشه گیاه *Rubia cordifolia* دارای بیشترین تأثیر مهاری بر روی آنزیم است. Brindis و همکاران (۲۰۱۴) با نشان دادن مهار آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره آبی *Coriandrum sativum* و همچنین جدا کردن ترکیبهای فعال در این گیاه، اثبات کردند که این گیاه موجب کاهش هایپرگلیسمی در محیط *In vitro* می شود. Trinh و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی بعضی از گیاهان بومی ویتنام و فعالیت مهاری آنها بر آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان دادند که این گیاهان می توانند در درمان دیابت مؤثر باشند. Alam و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز و آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی گیاه *Clinacanthus natans* را در محیط *In vitro* بررسی کردند. Bukhari و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که

گلوکوزیدازها قادرند پیوندهای گلیکوزیدی را از انتهای غیراحیاکننده گلوکز تجزیه و به ترتیب آنومرهای آلفا و بتا تولید کنند (Shim *et al.*, 2003). آلفاگلوکوزیداز و آلفا آمیلاز آنزیم های کلیدی در مرحله نهایی هضم کربوهیدراتها هستند (Shinde *et al.*, 2008). آلفاگلوکوزیداز یک آنزیم وابسته به غشای اپی تلایوم روده کوچک است و نقش مهم فیزیولوژیک در هضم کربوهیدرات های رژیم غذایی دارد (Mostafa *et al.*, 2014). مهارکننده های آلفاگلوکوزیداز با مهار رقابتی گلوکوآمیلاز، سوکراز، مالتاز و ایزومالتاز در روده کوچک، هضم و جذب کربوهیدرات های پیچیده را به تأخیر می اندازند و باعث افزایش ناچیز در سطح گلوکز پلاسما بعد از صرف غذا در افراد دیابتی نوع II می شوند (Anis *et al.*, 2002). از مهارکننده های آلفاگلوکوزیداز می توان آکاربوز را نام برد که به عنوان دارو در رژیم درمانی بیماران دیابتی و یا همراه با داروهای کاهنده قند خون و یا انسولین استفاده می شود (Kawabata *et al.*, 2003). از این رو مهارکننده های آلفاگلوکوزیدازها می توانند آزادسازی گلوکز را از الیگوساکاریدها و دی ساکاریدهای حاصل از کربوهیدرات های پیچیده رژیم غذایی به تعویق انداخته و جذب گلوکز را به تأخیر بیندازند و سطح گلوکز را پس از غذا کاهش دهند (Gao *et al.*, 2007). بیش از ۴۰ سال از زمان کشف نوجیریمایسین (Nojirimycin)، مهارکننده کلاسیک آلفاگلوکوزیداز از محیط کشت گونه های استریتومایسس می گذرد. البته تاکنون بیش از ۱۰۰ مهارکننده آلفاگلوکوزیداز از گیاهان و میکروارگانیسم ها جداسازی شده اند که از میان آنها می توان به کاستانواسپرمان (Castano spermine)، سوانسونین (Swansonine)، تره هازولین (Trehazolin) و والیدامین (Validamin) اشاره کرد (Asano, 2003). در دهه های اخیر تلاش های گسترده ای برای دستیابی به مهارکننده های آنزیم آلفاگلوکوزیداز از منابع گیاهی انجام شده است که به بعضی از این موارد اشاره می شود. Tadera و همکاران

شکل و به صورت کپسول ۳ قسمتی هستند. زمان گلدهی این گیاهان طی ماه‌های ژوئیه-سپتامبر است. تحقیقات نشان می‌دهد که مقدار مواد مؤثره گل‌رایی دیهیمی به ارتفاع از سطح دریا بستگی دارد، به طوری که افزایش ارتفاع سبب کاهش مقدار فلاونوئیدهای گیاه می‌شود. این گیاه در هوای گرم و آفتابی از کمیت و کیفیت مناسب مواد مؤثره برخوردار است. اگرچه گل‌رایی دیهیمی تا حدودی قادر به تحمل خشکی است و در خاک‌های سبک شنی با رطوبت کم می‌روید، ولی در سطوح وسیع کشت باید تحت آبیاری مناسب قرار بگیرد. مقدار گلوکوزیدهای هایپیرین و روتین در این گیاه در شرایط خشک بیشتر از شرایط مرطوب است (Weckesser *et al.*, 2007). Zarei و Tahazadeh (۲۰۲۰) ضمن بررسی اثر مهاری عصاره متانولی ۳۲ گونه گیاهی بومی استان کردستان بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز، چهار گونه گیاهی با فعالیت مهاری بالای ۶۰٪ را معرفی نمودند، از جمله آنها می‌توان به وجود فعالیت مهاری بسیار بالایی در عصاره‌های *S. suffruticosa* و *H. scabrum* اشاره کرد. این مطالعه با اهداف زیر روی گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* انجام شد: ۱- تعیین اندامی از دو گیاه که دارای فعالیت مهارکنندگی بیشتری بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز باشد. ۲- مطالعه سنتیک مهار برای تعیین نوع مهار برای عصاره‌هایی که دارای درصد مهار بالا می‌باشند.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره متانولی اندام‌های گیاهان

در اواخر فصل بهار اندام‌های هوایی گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* از منطقه سارال استان کردستان (زیر حوزه فرهادآباد) جمع‌آوری شدند. هریک از این گیاهان در هر بار یوم مرکز تحقیقات کشاورزی استان کردستان ثبت شده و دارای شماره هر بار یوم (۵۰ برای *H. scabrum* و ۷۲ برای *S. suffruticosa*)

چندین نمونه از گیاهان ضد دیابت مالزی از طریق مه‌ار آنزیم آلفاگلوکوزیداز عمل می‌کنند. مریم‌گلی (*Salvia suffruticosa*) گیاهی است چند ساله و علفی، ریشه راست و دارای انشعابات فراوان ساقه راست و ارتفاع آن بین ۸۰-۵۰ سانتی‌متر می‌باشد. ساقه‌های جوان به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرک‌های انبوه و خاکستری رنگ است. با افزایش عمر گیاه، ساقه چوبی و رنگ آن قهوه‌ای می‌شود. برگ‌ها بلند و نیزه‌ای شکل می‌باشند. برگ‌های پایینی دارای دم‌برگ بلند هستند، در حالی که برگ‌های قسمت فوقانی ساقه دم‌برگ کوتاهی دارند. سطح فوقانی و تحتانی برگ‌ها پوشیده از کرک‌های ظریف می‌باشد. گل‌ها به رنگ بنفش متمایل به آبی، صورتی یا سفید و به صورت مجتمع در قسمت فوقانی ساقه‌ها روی چرخه‌های مخصوصی مشاهده می‌شوند. روی هر چرخه ۸-۵ گل وجود دارد. میوه فندقه و به رنگ قهوه‌ای روشن یا تیره است. قطر تاج گیاه حدود ۵۵ سانتی‌متر است. وزن هزاردانه ۵۵/۶۱ گرم و طول دوره جوانه‌زنی ۱۲ روز می‌باشد. این گیاه از راسته لب‌گلی‌ها (Lamiales) و تیره نعناعیان (Lamiaceae) است (Stace, 2010). این گیاه دارای یک روان‌گردان بسیار قوی به نام "سالوینورین" می‌باشد. کاشت سالویا فقط در زمین‌های خیلی خاص و مرغوب امکان‌پذیر است، به همین دلیل در شمال کشور به شدت در حال رواج است (Rustaie *et al.*, 2018).

گل‌رایی دیهیمی (*Hypericum scabrum*) گیاه علفی و چندساله است که بومی اروپا و غرب آسیا می‌باشد. این گیاه به عنوان گیاه دارویی در طب سنتی کاربرد دارد. ارتفاع آن ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر بوده و دارای ساقه‌ای چهارگوش، توخالی، بدون کرک و در پایه چوبی است. گل‌ها منظم، به پهنای ۲ تا ۳ سانتی‌متر، دارای پنج گلبرگ زرد رنگ و پنج کاسبرگ با حاشیه‌ای یک‌پارچه است. برگ‌ها متقابل، بدون دم‌برگ، بیضوی شکل با نوک گرد، بدون کرک و اغلب در حاشیه دارای نقاط سیاه رنگ حاوی فلاونوئید می‌باشند. میوه‌ها به رنگ قهوه‌ای، کروی

۱/۵ میلی لیتری تا زمان سنجش در فریزر ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Pistia-Brueggeman & Hollingsworth, 2003). در هنگام سنجش آنزیمی ابتدا پودر گیاهی با غلظت معین میلی گرم در میلی لیتر در متانول حل شد و از این محلول رقت‌های مورد نیاز توسط بافر اصلی تهیه گردید.

سنجش اثرهای مهاری عصاره بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز

در این پروژه به منظور سنجش تأثیرات عصاره نمونه‌ها بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز از روش اصلاح شده پیستیا براگمن با مختصری تغییرات استفاده شد (Pistia-Brueggeman & Hollingsworth, 2003). تمامی سنجش‌ها در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی و در حجم نهایی ۱۵۰ μl و با استفاده از دستگاه میکروپلیت خوان Tekan (مدل Sunrise) و به ترتیب زیر انجام شد: ۶۰ μl از بافر فسفات (۵۰ mM، pH ۶/۸)، ۲۰ μl از عصاره و ۱۰ μl از محلول آنزیم آلفاگلوکوزیداز (۱ U/mL در بافر فسفات) به چاهک آزمایش افزوده شد. سپس برای مخلوط شدن کامل محتویات چاهک‌ها، میکروپلیت به مدت ۳ ثانیه در درون دستگاه میکروپلیت‌خوان هم‌زده شد و پس از ۵ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ μl از سوبسترای پارا-نیتروفنیل- α -گلوکوپیرانوزید (p-NPG) با غلظت ۱ mM به هر چاهک آزمایش افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، برای توقف واکنش، کربنات سدیم ۰/۱ مولار (۵۰ میکرولیتر) به آن اضافه شد. به منظور هم‌زمانی شروع واکنش‌ها، از سمپلر ۱۲ کاناله برای اضافه کردن سوبسترا و کربنات سدیم استفاده شد. سپس برای اندازه‌گیری میزان جذب، میکروپلیت به دستگاه میکروپلیت‌خوان منتقل شد. میزان جذب ۵ مرتبه با فواصل یک دقیقه‌ای و در طول موج ۴۰۵ nm قرائت شد. سنجش‌ها هر یک در

می‌باشند. پس از ثبت سیستماتیک در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم زیستی دانشگاه کردستان منتقل گردیدند. سپس اندام‌های هوایی هر دو گیاه شامل گل، برگ و ساقه از همدیگر تفکیک شدند. این اندام‌های تفکیک شده در شرایطی امن از نظر آلودگی میکروبی، قارچی و در سایه به مدت چندین روز به‌طور کامل خشک گردیدند. در این مدت روزی یک‌بار نمونه‌ها جابه‌جا شده و از لحاظ کیفیت روند خشک شدن کنترل شد.

پس از خشک شدن کامل اندام‌های گیاهی و همچنین بررسی کردن آنها از لحاظ آلودگی به خاک و یا سایر گیاهان، به وسیله قیچی باغبانی به قطعات کوچک‌تر خرد شدند و به وسیله آسیاب الکتریکی خانگی به صورت پودر کاملاً نرم درآمدند. پودرهای حاصل از گیاهان در ظروف پلاستیکی ۲۰۰ گرمی و درب‌دار در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. تاریخ آسیاب شدن نمونه، اسم گیاه و اندام آن بر روی ظرف حاوی پودرهای گیاهی برچسب شد. برای تهیه عصاره متانولی هر یک از اندام‌ها، مقدار ۲۰ گرم از پودر آنها توزین و درون یک ظرف شیشه‌ای تیره، مقدار ۲۰۰ mL حلال متانول به آن افزوده شد. این مخلوط به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری و در فواصل زمانی معینی هم‌زده شد، آنگاه توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شده و قسمت صاف شده برای بدست آوردن عصاره خالص مورد استفاده قرار گرفت. مایع صاف شده توسط دستگاه روتاری اوپراتور در ۶۸ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۵۰ دور در دقیقه (RPM) با توجه به میزان محلول صاف شده ۴۰ تا ۶۰ دقیقه تغلیظ شد. سپس عصاره تغلیظ شده بر روی شیشه ساعت به قطر ۱۵ cm پخش و در زیر هود تا خشک شدن کامل و تبخیر حلال متانول (که معمولاً ۴۸ تا ۷۰ ساعت طول می‌کشید) نگهداری گردید. پس از حصول اطمینان از خشک شدن عصاره‌ها، با استفاده از یک تیغ تمیز عصاره‌ها جمع‌آوری و در میکروتیوب‌های

محاسبه IC_{50} تمام مراحل بیان شده در قسمت قبل برای غلظت های مختلفی از عصاره متانولی گیاهان انجام شد و آنگاه برای هر غلظت درصد مهار میانگین محاسبه شد. با استفاده از رابطه خط نمودار تغییرات درصد مهار در مقابل تغییرات لگاریتم غلظت مهارکننده مقدار IC_{50} محاسبه گردید. فعالیت مهاری نسبی (RIA: Relative Inhibitory Activity) نشان دهنده نسبت IC_{50} آکاربوز (مهارکننده استاندارد) به IC_{50} مهارکننده مورد نظر (عصاره ها) می باشد. از فعالیت مهاری نسبی می توان برای مقایسه قدرت بازدارندگی مهارکننده های مختلف آلفاگلوکوزیداز استفاده نمود. برای محاسبه RIA از رابطه ۲ استفاده شد (Chang, 2009).

$$RIA = \frac{(IC_{50} \text{ مهارکننده استاندارد})}{(IC_{50} \text{ مهارکننده تست})} \quad \text{رابطه ۲}$$

تحلیل ستنیکی مهار برای عصاره ها

به منظور تعیین نوع مهار اعمال شده توسط عصاره ها، نمودار معکوس مضاعف لینویور- برک (Lineweaver-Burk) براساس واکنش آنزیمی در حضور غلظت های مختلف مهارکننده در پنج غلظت مختلف سوبسترا رسم شد. غلظت های تهیه شده سوبسترا براساس ضرایب تصحیح کننده لینویوربرک انتخاب و عملاً محلول های سوبسترا در پنج غلظت ۳/۱۱، ۲/۴۸، ۱/۲۴، ۰/۶۲۲ و ۰/۳۱۱ تهیه گردیدند. برای کنترل هر یک از غلظت های مهارکننده V_{max} و K_m واقعی و ظاهری تعیین شد و ثابت مهار K_i با استفاده از روابط مربوطه، در غلظت های مختلف مهارکننده محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل های آماری

داده ها و نتایج حاصل از آزمایش ها در این تحقیق، با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی و مقایسه میانگین عصاره های

سه تکرار انجام شد و چاهک بلانک حاوی تمام مواد چاهک آزمایش، به غیر از آنزیم (به جای آن مقدار ۱۰ μ l بافر اضافه شد) است. در تمامی سنجش ها از کنترل منفی و بلانک آن و همچنین کنترل مثبت و بلانک آن استفاده شد. در کنترل مثبت به جای عصاره از آکاربوز ۲ mM استفاده گردید.

محاسبه درصد مهار و IC_{50}

پس از پایان سنجش ها جذب پلیت خالی از جذب چاهک های متناظر و همچنین جذب بلانک چاهک های آزمایش از جذب چاهک های آزمایش کسر شد، در نتیجه جذب نهایی فقط حاصل فعالیت آنزیم است. برای کنترل منفی نیز به همین روش جذب نهایی محاسبه گردید. جذب های بدست آمده برای نمونه آزمایش و کنترل منفی در مقابل زمان ترسیم و از ناحیه خطی نمودارها برای محاسبه شیب خط مماس استفاده شد. برای تعیین میزان مهار، از رابطه ۱ استفاده شد. درصد مهار برای هر سه تکرار محاسبه و انحراف معیار (Standard deviation) نیز برای هر مورد محاسبه گردید. انحراف معیار (که با نماد σ نشان داده می شود) یکی از شاخص های پراکندگی است که نشان می دهد به طور میانگین داده ها چه مقدار از مقدار متوسط فاصله دارند. اگر انحراف معیار مجموعه ای از داده های نزدیک به صفر باشد، نشانه آن است که داده ها نزدیک به میانگین هستند و پراکندگی اندکی دارند؛ در حالی که انحراف معیار بزرگ بیانگر پراکندگی قابل توجه داده ها می باشد.

رابطه ۱

$$100 \times \frac{\text{شیب نمودار عصاره - شیب نمودار کنترل منفی}}{\text{شیب نمودار کنترل منفی}} = \text{درصد مهار}$$

IC_{50} شاخص قدرت مهارکنندگی و غلظتی از مهارکننده است که موجب ۵۰٪ مهار آنزیم می شود. برای

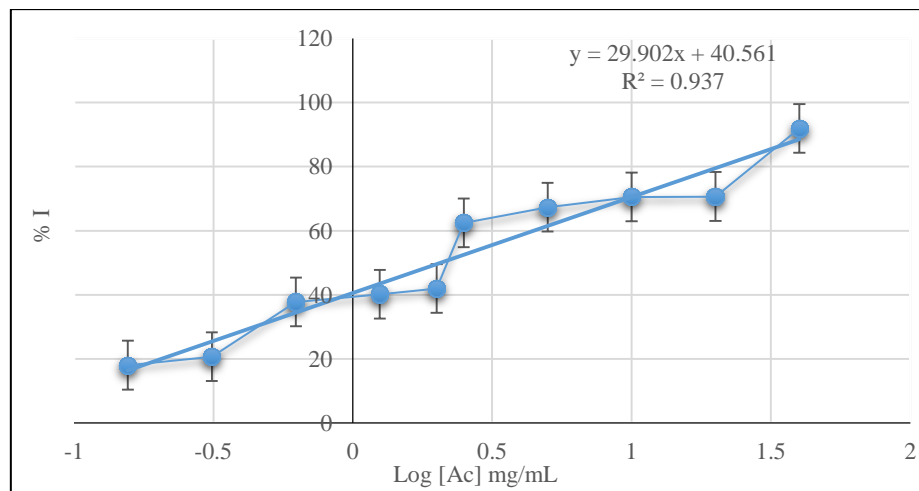
H. scabrum مربوط به غلظت ۱۰ mg/mL عصاره اندام‌های گل و برگ بود. ضمن اینکه ذکر این نکته ضروری است که برای گیاه *H. scabrum* در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ mg/mL مشاهده می‌شود که درصد مهار کاهش می‌یابد و بیشترین درصد مربوط به غلظت ۱۰ mg/mL می‌باشد. از آنجا که آکاربوز یکی از مهارکننده‌های رایج و معمولی برای مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز است، بنابراین برای مقایسه نتایج حاصل از عملکرد مهارکننده‌های جدید از آکاربوز استفاده می‌شود. سنجش فعالیت مهار آکاربوز در ۱۰ غلظت انجام شد و میزان درصد مهار برای هر غلظت محاسبه شد (شکل ۱). همچنین با استفاده از نمودار تغییرات درصد مهار علیه لگاریتم غلظت، IC_{50} آکاربوز محاسبه شد ($IC_{50} = 0.001 \text{ g/mL}$).

متانولی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده و تمام داده‌های حاصل از آزمایش با سه بار تکرار و مقدار آنها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد.

نتایج

سنجش درصد مهار برای عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاهان

درصد فعالیت مهار آلفاگلوکوزیداز مربوط به عصاره متانولی اندام‌های هوایی گیاهان، هر یک در ۹ غلظت در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. نتایج زیر نشان می‌دهد که در مورد گیاه *S. suffruticosa* بیشترین درصد مهار مربوط به غلظت ۱۶۰ mg/mL عصاره اندام گل این گیاه می‌باشد. همچنین بیشترین میزان فعالیت مهار گیاه



شکل ۱- تغییرات درصد مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز در مقابل غلظت‌های مختلف آکاربوز (Acarbose-AC/ Inhibition-I)

شد. نمودار درصد مهار علیه لگاریتم غلظت عصاره متانولی رسم شد و مقدار IC_{50} از روی آن محاسبه گردید. مقادیر IC_{50} و فعالیت مهار نسبی RIA به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ آمده است.

نتایج تعیین IC_{50} برای عصاره متانولی اندام‌های دارای درصد مهار بالا

برای تعیین مقدار IC_{50} اندام‌های دارای بیشترین درصد فعالیت مهار، از چندین غلظت عصاره استفاده

جدول ۱- درصد مهار آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی *S. suffruticosa*

		درصد مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره متانولی																اندام	اسم علمی گیاه	
		۰/۶۲۵		۱/۲۵		۲/۵		۵		۱۰		۲۰		۴۰		۸۰		۱۶۰		غلظت عصاره (mg/mL)
σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ^{**}	%I*	
۰/۰۲	۱۵/۷	۰/۰۰۳	۱۷/۷	۰/۰۳	۳۱	۰/۰۰۱	۴۷	۰/۰۰۲۱	۵۵	۰/۰۰۸۷	۸۴/۲	۰/۰۰۵۴	۹۰	۰/۰۰۰۶	۹۸	۰/۰۰۰۷	۱۰۰			گل
۰/۰۰۲	۵/۲۱	۰/۰۰۵	۷/۳۳	۰/۰۰۲	۱۰	۰/۰۰۱۲	۱۹	۰/۰۰۵	۲۴	۰/۰۰۴	۳۳	۰/۰۰۱	۶۰/۵	۰/۰۰۱	۷۲	۰/۰۰۱	۹۰			برگ
۰/۰۰۴	۲/۶	۰/۰۴	۵/۶	۰/۰۴	۸	۰/۰۱	۱۰	۰/۰۰۲	۱۶	۰/۰۴	۲۲	۰/۰۴	۳۸	۰/۰۲	۵۶	۰/۰۹	۶۸/۸۱			ساقه

*: میانگین درصد مهار؛ **: انحراف معیار

جدول ۲- درصد مهار آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی *H. scabrum*

		درصد مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط غلظت‌های مختلف عصاره متانولی																اندام	اسم علمی گیاه	
		۰/۰۳۹		۰/۰۷۸		۰/۱۵۶		۰/۳۱۲		۰/۶۲۵		۱/۲۵		۲/۵		۵		۱۰		غلظت عصاره (mg/mL)
σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ	%I	σ^{**}	%I*	
۰/۰۱	۳/۹	۰/۰۱۲	۱۰/۸	۰/۰۱۳	۱۲/۷	۰/۰۰۱۴	۳۰	۰/۰۸	۳۵	۰/۰۶	۵۲/۸۷	۰/۰۰۴۲	۶۴/۲۲	۰/۱۲۲	۸۶/۴۹	۰/۰۱۳	۱۰۰			گل
۰/۰۶	۲	۰/۰۵۴	۸/۸	۰/۰۶۶	۱۱/۳۸	۰/۰۲۵	۱۶	۰/۰۲۴	۳۷/۱۲	۰/۰۴۸	۴۹/۰۲	۰/۰۴۰	۵۱/۹۹	۰/۰۹۴	۷۳/۵۷	۰/۰۰۷۷	۸۱			برگ
۰/۰۲	۲	۰/۰۱	۱۰/۱	۰/۰۱۱	۱۸	۰/۰۱۳	۲۰	۰/۰۷۰	۲۷	۰/۰۱۳	۳۹	۰/۰۲۷	۴۸	۰/۰۰۹	۵۴	۰/۱۳	۶۳			ساقه

*: میانگین درصد مهار؛ **: انحراف معیار

جدول ۳- مقادیر IC_{50} برای عصاره متانولی اندام‌های دارای بالاترین درصد مهار

اسم علمی	اندام	$IC_{50}(mg/mL)$
<i>S. suffruticosa</i>	گل	۸/۹۱
	برگ	۲۷/۷۸
<i>H. scabrum</i>	گل	۱/۰۴
	برگ	۱/۹۸

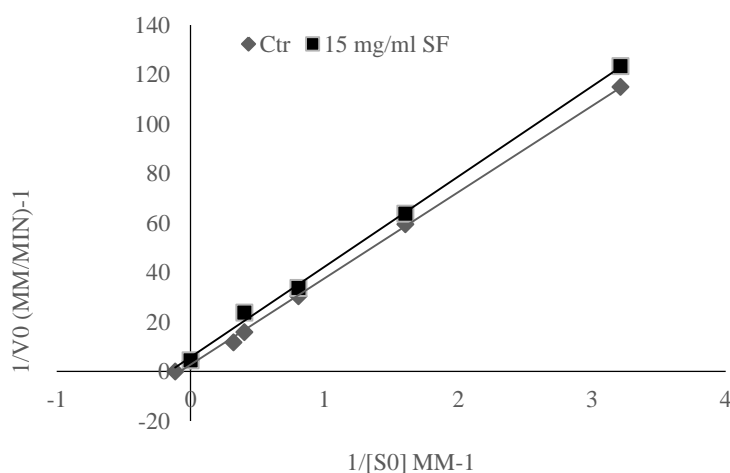
جدول ۴- مقادیر فعالیت مهار نسبی RIA برای عصاره متانولی اندام‌های دارای بالاترین درصد مهار آلفاگلوکوزیداز

اسم علمی	اندام	RIA
<i>S. suffruticosa</i>	گل	۰/۱
	برگ	۰/۰۳۲
<i>H. scabrum</i>	گل	۰/۸۵۷
	برگ	۰/۴۵

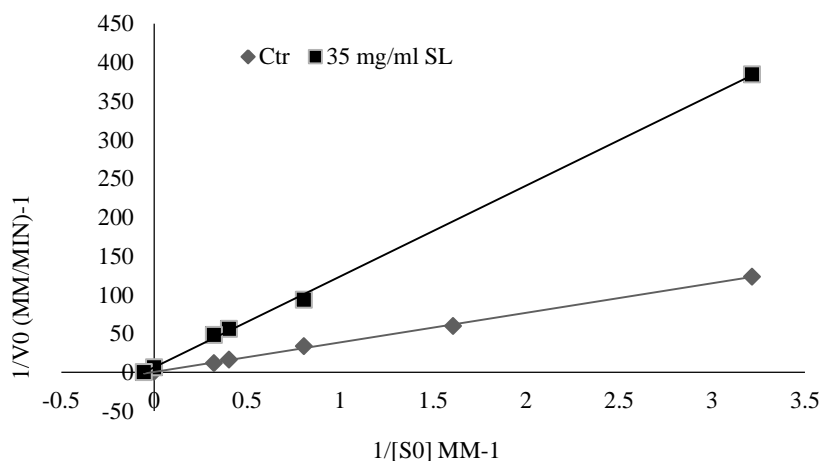
نتایج آنالیز سنتتیک مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز

نتایج حاصل از بررسی سنتتیکی عصاره‌های متانولی اندام‌های گل، برگ و ساقه هر دو گیاه بر روی فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز نشان داد که عصاره اندام گل هر دو گیاه دارای بیشترین درصد مهار است. به‌منظور تعیین نوع مهار،

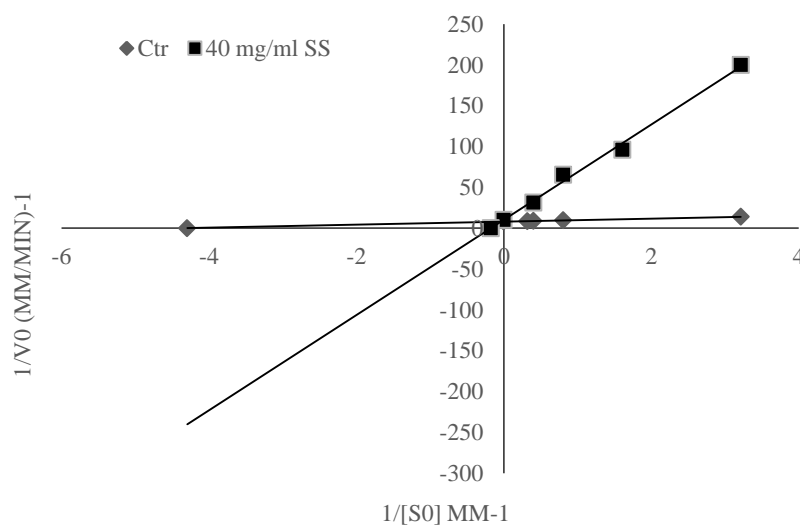
نمودار Lineweaver-Burk برای عصاره‌های متانولی هر یک از اندام‌های مختلف گیاهان ذکر شده رسم شد (شکل‌های ۲ تا ۷). گل *S. suffruticosa* دارای الگوی مهار مرکب (نارقاتبی-غیر رقابتی) و گل *H. scabrum* دارای الگوی مهار مرکب (رقابتی-غیر رقابتی) است.

شکل ۲- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز

توسط عصاره متانولی گل *S. suffruticosa*



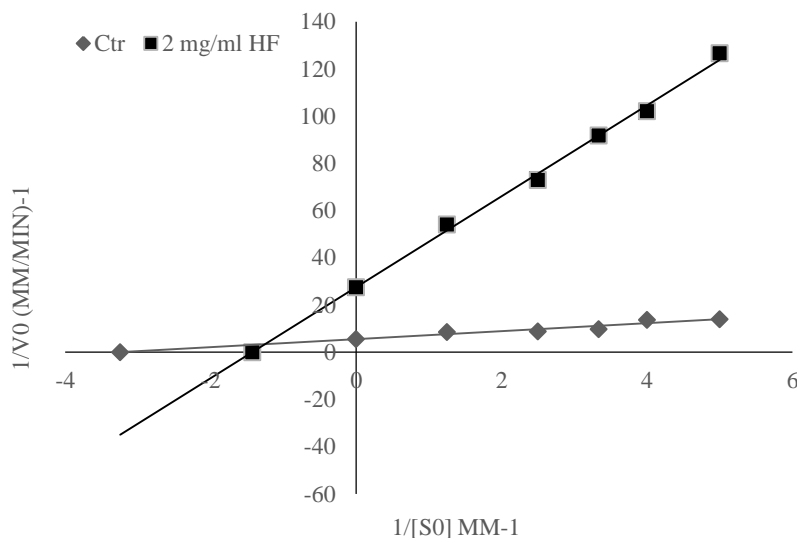
شکل ۳- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی برگ *S. suffruticosa*



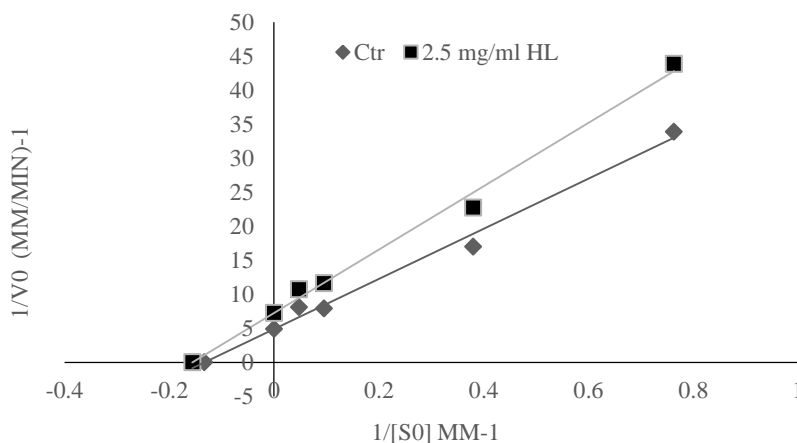
شکل ۴- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی ساقه *S. suffruticosa*

است. اختلاف هر یک از پارامترهای V_{max} و K_m واقعی (کنترل) و V_{max} و K_m ظاهری (عصاره مورد نظر به عنوان مهارکننده)، برای هر سه نمودار ذکرشده با استفاده از تجزیه وتحلیل آماری بررسی شد (در جدول‌های مربوطه مشاهده می‌شود).

تعیین پارامترهای سنتیک آنزیمی و تعیین نوع مهار نتایج محاسبه پارامترهای $(V_{max}^{app}, K_m^{app}, V_{max}, K_m)$ سنتیک آنزیمی برای آلفاگلوکوزیداز در حضور عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* مربوط به هر سه نمودار در جدول ۵ آمده



شکل ۵- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی گل *H. scabrum*



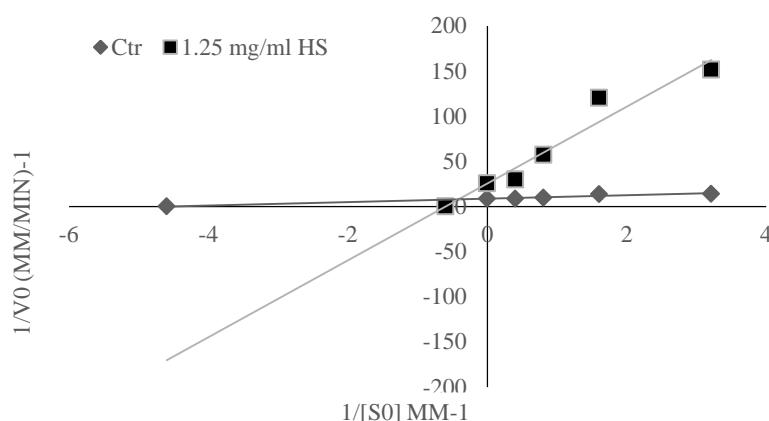
شکل ۶- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی برگ *H. scabrum*

برای مهارهای مرکب با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (جدول ۶). تعیین نوع مهارها به استناد شکل ظاهری نمودار Lineweaver-Burk و همچنین مقادیر K_i و K_I محاسبه شده، تشخیص داده شد، به طوری که مهارهای قید شده در جدول ۵ دارای بیشترین شواهد بودند. در مهار مرکب رقابتی-غیررقابتی (در نمودار Lineweaver-Burk

مقدار K_i غلظتی از مهار کننده است که به E (آنزیم) متصل می‌شود و پارامترهای سینتیکی را وابسته به نوع مهار تغییر می‌دهد. K_i نیز با استفاده از روابط زیر وابسته به نوع مهار محاسبه گردید. همچنین پارامتر K_I غلظتی از مهار کننده است که به کمپلکس ES (آنزیم-سوبسترا) متصل می‌شود و پارامترهای سینتیکی را وابسته به نوع مهار تغییر می‌دهد.

خطوط کنترل و مهارکننده یکدیگر را در ربع چهارم قطع می‌کنند. K_i کوچک‌تر از K_I است.

خطوط کنترل و مهارکننده یکدیگر را در ربع دوم قطع می‌کنند. K_i بزرگتر از K_I است و در مهار مرکب غیررقابتی - نارقابتی (در نمودار Lineweaver-Burk



شکل ۷- تغییرات $[V_0]^{-1}$ در مقابل $[S_0]^{-1}$ (نمودار معکوس مضاعف) برای تعیین نوع مهار آلفاگلوکوزیداز توسط عصاره متانولی ساقه *H. scabrum*

$$K'_m = K_m(1 + [I_0]/K_i) \quad \text{رابطه ۱-۳}$$

$$1/V'_{\max} = 1/V_{\max}(1 + [I_0]/K_i) \quad \text{رابطه ۲-۳}$$

$$1/K'_m = 1/K_m(1 + [I_0]/K_i) \quad \text{رابطه ۳-۳}$$

$$K_m = K'_m(1 + [I_0]/K_i)/(1 + [I_0]/K_I) \quad \text{رابطه ۴-۳}$$

بحث

میلی‌لیتر و IC_{50} عصاره اندام گل *H. scabrum* برابر $1/0.4$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین شاخص فعالیت مهاری نسبی (RIA) برای اندام گل *S. suffruticosa* برابر با $0/1$ و برای گل *H. scabrum* برابر با $0/857$ است. این شاخص از مقایسه توان مهاری عصاره‌ها با مهارکننده خالص استاندارد این آنزیم بدست می‌آید و برای مقایسه توان عصاره‌های مختلف استفاده می‌شود. از میان اندام‌های هوایی بیشترین مقدار RIA مربوط به گل *S. suffruticosa* و گل *H. scabrum* است و هرچه میزان شاخص RIA بیشتر باشد، نشان‌دهنده فعالیت مهاری بیشتری بر روی آنزیم است.

این مطالعه با هدف یافتن مکان اندامی فعالیت مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز در دو گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* انجام شد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش بیشترین میزان مهارکنندگی گیاه *S. suffruticosa* مربوط به غلظت 160 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی گل (100%) و بیشترین میزان فعالیت مهاری گیاه *H. scabrum* مربوط به غلظت 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی گل ($96/49\%$) بود. براساس مطالعات مربوط به محاسبه IC_{50} برای اندام‌های هوایی گیاهان مورد نظر، IC_{50} عصاره اندام گل *S. suffruticosa* $8/91$ میلی‌گرم بر

جدول ۵- مقادیر پارامترهای سنتیکی محاسبه شده برای اندام‌های هوایی عصاره متانولی دو گیاه در نمودار Lineweaver-Burk

اسم علمی	اندام	غلظت (mg/mL)	K_m (mM)	K_m^{app} (mM)	V_{max} (mM/min)	V_{max}^{app} (mM/min)	p-value V_{max}	p-value K_m
<i>S. suffruticosa</i>	گل	۱۵	۰/۵۴۱	۰/۸۱۲	۰/۱۴۰	۰/۱۰۹	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
	برگ	۳۵	۰/۲۵۰	۰/۰۹۰۹	۰/۱۲۱	۰/۰۲۰۴	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
	ساقه	۴۰	۰/۰۲۳۵	۰/۳۰۲	۰/۱۲۴	۰/۰۴۴	-	<۰/۰۰۱
<i>H. scabrum</i>	گل	۲	۰/۱۶۴	۰/۰۴۶۱	۰/۱۴۲	۰/۰۲۵۶	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
	برگ	۲/۵	۵/۳۷۹	۳/۸۸۲	۰/۰۱۶۸	۰/۱۲۲	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
	ساقه	۱/۲۵	۰/۵۴۱	۰/۱۲۶	۰/۱۴۰	۰/۰۳۴۳	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

جدول ۶- نوع مهار اعمال شده توسط اندام‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز و مقادیر K_I و K_i مربوطه

اسم علمی	اندام	نوع مهار	K_i (mM)	K_I (mM)
<i>S. suffruticosa</i>	گل	مرکب (نارقابتی-غیر رقابتی)	۱۶/۹۳	۵۲/۷۴
	برگ	مرکب (رقابتی-غیر رقابتی)	۰/۱۹۸	۰/۰۷۱۴
	ساقه	رقابتی	۲۲/۰۹	-
<i>H. scabrum</i>	گل	مرکب (رقابتی-غیر رقابتی)	۳/۶۳	۰/۴۴
	برگ	غیر رقابتی	۰/۰۰۱	-
	ساقه	مرکب (رقابتی-غیر رقابتی)	۱/۳۱	۰/۴

مطالعات بعدی از این عصاره‌ها با هدف شناسایی منابع بالقوه تهیه داروهای جدید و دارای عوارض پایین‌تر در جلوگیری از پیشرفت بیماری دیابت و درمان این بیماری استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- Alam, M.A., Zaidul, I., Ghafoor, K., Sahena, F., Hakim, M., Rafii, M., Abir, H.M., Bostanudin, M.F., Perumal, V. and Khatib, A., 2017. In vitro antioxidant and, α -glucosidase inhibitory activities and comprehensive metabolite profiling of methanol extract and its fractions from *Clinacanthus nutans*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 17(1): 181-190.
- Anis, E., Anis, I., Ahmed, S., Mustafa, G., Malik, A., Afza, N., Abdul hai, S.M., Shahzad-ul-hussan, S. and Choudhary, M.A., 2002. α -glucosidase inhibitory constituents from *Cuscuta reflexa*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 50(1): 112-114.
- Asano, N., 2003. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use. Glycobiology. 13(10): 93R-104R.
- Bachhawat, J., Shihabudeen, M. and Thirumurugan, K., 2011. Screening of fifteen Indian ayurvedic plants for α -glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(4): 267-274.
- Bharatham, K., Bharatham, N., Park, K.H. and Lee, K.W., 2008. Binding mode analyses and pharmacophore model development for sulfonamide chalcone derivatives, a new class of α -glucosidase inhibitors. Journal of Molecular Graphics and Modelling, 26(8): 1202-1212.
- Brindis, F., González-Andrade, M., González-Trujano, M., Estrada-Soto, S. and Villalobos-Molina, R., 2014. Postprandial glycaemia and inhibition of α -glucosidase activity by aqueous extract from *Coriandrum sativum*. Natural Product Research, 28(22): 2021-2025.
- Bukhari, D.A.M., Siddiqui, M.J., Shamsudin, S.H., Rahman, M.M. and So'ad, S.Z.M., 2017. α -Glucosidase inhibitory activity of selected Malaysian plants. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences, 9(3): 164-170.
- Chang, T.S., 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. International Journal of Molecular Sciences, 10: 2440-2475.
- Choi, C.W., Choi, Y.H., Cha, M.R., Yoo, D.S., Kim, Y.S., Yon, G.H., Hong, K.S., Kim, Y.H. and Ryu,

با توجه به IC_{50} کمتر و RIA بیشتر برای این دو اندام از دو گیاه، می‌توان این گونه برداشت نمود که ممکن است یک مهارکننده قوی در عصاره این اندام‌ها وجود داشته باشد، بنابراین می‌توان مطالعات بعدی را با در نظر گرفتن این موضوع بر روی یافتن ترکیب‌هایی با فعالیت مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز بیشتر بر روی این اندام‌ها از دو گیاه متمرکز نمود. روند تغییرات مقدار IC_{50} در اندام‌های مورد مطالعه این دو گیاه به شرح: $HF > HL > SF > SL$ و روند تغییرات شاخص RIA نیز در اندام‌های مورد مطالعه این دو گیاه به صورت $HF < HL < SF < SL$ می‌باشد. مطابق نتایج حاصل از بررسی‌های سنتتیک مه‌ار آنزیمی، با استفاده از رویکرد Lineweaver-Burk، عصاره متانولی اندام گل در هر دو گیاه الگوی مه‌ار مرکب را از خود نشان دادند. در الگوی مه‌ار آنزیمی مرکب نمودارهای رسم شده در غلظت‌های مختلف مهارکننده روی یک محور همدیگر را قطع نمی‌کنند و شیب خطوط نیز یکی نیست، در نتیجه مه‌ار مرکب نامیده می‌شود. با وجود این الگوی مه‌ار اطلاعات خاصی در مورد ماهیت مهارکننده به ما نمی‌دهد (Palmer & Bonner, 2008). بنابراین با توجه به نوع الگوی مه‌ار انتظار می‌رود که مهارکننده موجود در عصاره با تمایل متفاوت به آنزیم (E) و مجموعه آنزیم سوبسترا (ES) متصل شود. از آنجایی که نتایج مطالعات نشان می‌دهد که آکاربوز می‌تواند به‌عنوان مهارکننده رقابتی عمل کند (Weckesser et al., 2007). پس می‌توان استنباط کرد که شاید ویژگی‌ها و خواص عامل مؤثر موجود در این عصاره نیز تا حدودی شبیه آکاربوز باشد که می‌تواند به آنزیم متصل شود.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره متانولی اندام‌های گل هر دو گیاه *S. suffruticosa* و *H. scabrum* به‌صورت قابل توجهی دارای اثر مه‌اری بر روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد، همچنین با توجه به نتایج مطالعات سنتتیک مه‌ار آنزیمی می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً این عصاره‌ها دارای ترکیب‌هایی با عملکرد مشابه یکی از مهارکننده‌های شناخته شده آنزیم آلفاگلوکوزیداز باشند؛ بنابراین شاید بتوان در

- Safavi, M., Samadi, N., Sabourian, R. and Khanavi, M., 2018. Phytochemical constituents and biological activities of *Salvia suffruticosa*. *Research Journal of Pharmacognosy*, 5(2): 25-32.
- 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(2-3): 283-287.
- Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., Placido, J. and Zito, S.W., 2008. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research*, 343(7): 1278-1281.
- Stace, C.A., 2010. *New Flora of the British Isles*. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 1266p.
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K. and Matsuoka, T., 2006. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(2): 149-153.
- Trinh, B.T., Staerk, D. and Jäger, A.K., 2016. Screening for potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 186: 189-195.
- Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K. and Schempp, C.M., 2007. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14(7-8): 508-516.
- Zarei, M.A. and Tahazadeh, H., 2020. Alpha-glucosidase inhibitory activity in methanol extract of some plants from Kurdistan province. *Journal of Medicinal Plants*, 18(3): 291-296.
- S.Y., 2010. Yeast α -glucosidase inhibition by isoflavones from plants of Leguminosae as an in vitro alternative to acarbose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18): 9988-9993.
- de Melo, E.B., da Silveira Gomes, A. and Carvalho, I., 2006. α - and β -Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62(44): 10277-10302.
- Gao, H., Huang, Y.N., Xu, P.Y. and Kawabata, J., 2007. Inhibitory effect on α -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. *Food Chemistry*, 105(2): 628-634.
- Kawabata, J., Mizuhata, K., Sato, E., Nishioka, T., Aoyama, Y. and Kasai, T., 2003. 6-Hydroxyflavonoids as α -glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(2): 445-447.
- Li, Y.Q., Zhou, F.C., Gao, F., Bian, J.S. and Shan, F., 2009. Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of α -glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(24): 11463-11468.
- Mostafa, S., El Naby, A. and Zidan, E.W., 2014. Activity level of lactate dehydrogenase and β -glucosidase enzymes in the honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) with different feeding. *International Journal of Agricultural Technology*, 10(2): 483-491.
- Palmer, T. and Bonner, P.L., 2008. *Enzymes Biochemistry, Biotechnology and Clinical Chemistry*. Woodhead Publishing Limited, 433p.
- Pistia-Brueggeman, G. and Hollingsworth, R.I., 2003. The use of the o-nitrophenyl group as a protecting/activating group for 2-acetamido-2-deoxyglucose. *Carbohydrate Research*, 338(5): 455-458.
- Rustaie, A., Hadjiakhoondi, A., Akbarzadeh, T.,

***α*-glucosidase inhibition by methanol extract from aerial parts of *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. ex Benth. and *Hypericum scabrum* L.**

M.A. Zarei^{1*} and Z. Nezarat²

1*- Corresponding author, Department of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
E-mail: mazarei@uok.ac.ir

2- Department of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Received: June 2020

Revised: August 2020

Accepted: August 2020

Abstract

Controlling post-meal hyperglycemia with *α*-glucosidase inhibitors is an important strategy in the management of diabetes and the reduction of chronic complications associated with this disease. Based on the results of previous studies, the methanolic extracts of the shoots of *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. ex Benth. and *Hypericum scabrum* L. have significant inhibitory effects on *α*-glucosidase activity. In this study, to determine the plant parts of *S. suffruticosa* and *H. scabrum* with the highest *α*-glucosidase inhibitory effect, after preparing the methanolic extract from different organs of the plants, the inhibitory effect of all extracts in different concentrations was investigated at 405 nm wavelength using a microplate reader. The highest *α*-glucosidase inhibitory activity in *S. suffruticosa* was related to the concentration 160 mg.mL⁻¹ of the flower extract (100% inhibition and IC₅₀ = 8.91 mg.mL⁻¹), and the highest inhibitory activity of *H. scabrum* was related to the concentration 10 mg.mL⁻¹ of the flower (96.49% inhibition and IC₅₀ = 1.04 mg.mL⁻¹) and leaf extracts (86% inhibition and IC₅₀ = 3.98 mg.mL⁻¹). According to the results of the kinetic study of enzymatic inhibition, *S. suffruticosa* flower and leaf extracts follow a noncompetitive-uncompetitive mixed pattern of inhibition and *H. scabrum* flower extract follows the competitive-noncompetitive one. Methanolic extract of flowers in *S. suffruticosa* and *H. scabrum* had a significant inhibitory effect on the activity of *α*-glucosidase. So, the flowers of these species are good natural sources for extracting compounds with potent medicinal properties to control postprandial blood sugar levels.

Keywords: *α*-glucosidase, diabetes, enzymatic inhibition, *Hypericum scabrum* L., *Salvia suffruticosa* Montbr. & Auch. ex Benth.