

## بررسی آزمایشگاهی آثار آنتی اکسیدانی، آنتی رادیکالی و آنتی دیابتیک و ممانعت از تشکیل محصولات نهایی حاصل گلیکیشن پیشرفته توسط دارچین

سید مهرداد کسائی<sup>۱\*</sup>، سیده نگین کسائی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران

<sup>۲</sup> دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

\* E-mail: kassaee2001@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۷

### چکیده

امروزه گیاهان دارویی به خاطر نقشی که در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها دارند، مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این مطالعه، ارزیابی آزمایشگاهی خواص آنتی‌اکسیدان و ضددیابتیک گیاه دارچین می‌باشد. عصاره‌ی آبی دارچین با روش خیساندن تهیه شد. غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره فراهم گشت. خواص فیتوشیمیایی دارچین با اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان، قدرت پاک‌کنندگی رادیکال، توانایی کلاته کردن فلز و اندازه‌گیری گروه‌های تیول معین شد. فعالیت آنتی‌دیابتیک نیز توسط توانایی مهار تشکیل فروکتوز آمین و محصولات پیشرفته حاصل از قندی شدن به ترتیب توسط اسپکتروفوتومتر و اسپکتروفلورومتر سنجیده شد. توانایی عصاره در فراگمانتاسیون آلبومین گلیکه با SDS-PAGE سنجیده شد. مقدار فنل و فلاونوئید توسط روش‌های استاندارد اندازه گرفته شد. داده‌ها با ANNOVA یکطرفه و با نرم‌افزار SPSS آنالیز شد. مقدار فنل دارچین  $31/34 \pm 1/83$  mg GAE/g و مقدار فلاونوئید آن  $19/89 \pm 1/37$  mg QE/g معین شد. در همه روش‌ها، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان و آنتی رادیکالی دارچین، به صورت وابسته به غلظت تایید شد. این گیاه دارای خاصیت آنتی‌دیابتیک است و تشکیل فروکتوز آمین و محصولات پیشرفته حاصل از گلیکیشن را کاهش می‌دهد و همچنین فراگمانتاسیون آلبومین گلیکه را مهار می‌کند. دارچین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتی بوده و می‌تواند از عوارض دیابت شیرین جلوگیری کند. بر اساس این خواص، می‌توانیم استفاده از این گیاه را در بیماران دیابتی پیشنهاد کنیم.

**کلیدواژه‌ها:** آنتی اکسیدان، دارچین، دیابت شیرین، گلیکیشن.

### مقدمه

غیره) از مهمترین منابع دارویی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها بوده اند [۷]. آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی مانند پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها از مهمترین عوامل محدود

گیاهان دارویی همواره به دلیل توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه (ترپنوئیدها، پلی‌فنل‌ها، آلکالوئید و

کلاته کننده‌ها با تشکیل کمپلکس با آهن و در واقع جلوگیری از واکنش آهن II با پراکسید هیدروژن، مانع تولید رادیکال هیدروکسیل می‌گردد [۱۲]. کاهش گروه‌های تیول نیز یکی از مارکرهای آسیب رادیکال-های آزاد می‌باشد [۶].

از آنجا که فروکتوز آمین از مهمترین عوامل ایجاد ضایعات عروقی می‌باشد، لذا کاهش آن یک روش درمانی برای به تأخیر انداختن ضایعات عروقی در افراد مبتلا به دیابت می‌باشد و توان جلوگیری از تولید فروکتوز آمین، می‌تواند به عنوان قدرت ضد دیابتی هر ترکیب محسوب گردد [۱۵].

تغییرات پروتئین‌ها توسط گلاسیکیشن غیر آنزیمی شامل یک سری از واکنش‌ها است که مجموعاً واکنش‌های مایلارد نامیده می‌شود و می‌تواند موجب آسیب‌های جدی به سلول یا بافت گردد. این تغییرات با بالا رفتن مزمن میزان قند خون اهمیت چشمگیری پیدا می‌کند [۴].

از آنجاییکه برخی گیاهان قادر به سنتز مواد موثر ثانوی و فعال، از جمله پلی فنل‌ها هستند و همچنین قدرت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و کلاته‌کنندگی فلزات را دارند [۲۲]، در سال‌های اخیر به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع انسان و دام مورد توجه قرار گرفته‌اند به همین دلیل است که انجام تحقیقات اتنوفارماکولوژیکی، فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی دیابتیک بر روی طعم دهنده‌های غذایی، سبزیجات و گیاهان در رژیم غذایی بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۳].

دارچین با نام علمی *Cinnamomum verum* که تحت عنوان دارچین واقعی *True cinnamon* شناخته می‌شود، درختی از راسته‌ی لورالس (*Laurales*)، خانواده‌ی برگ‌بوها (*Lauraceae*) و از جنس

کننده‌ی آسیب‌ها و استرس‌های اکسیداتیو در بدن محسوب می‌شوند که با مهار رادیکال‌های آزاد نقش مهمی را در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند که برخی به تغییر شیوه زندگی، افزایش سن و خصوصاً افزایش ارتباط با تشکیل گونه‌های اکسیژنی واکنش‌گر (Reactive Oxygen Species: ROS) مربوطند. به همین دلیل استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در مواد غذایی و مخصوصاً گیاهان دارویی به عنوان مواد طبیعی آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان مورد توجه بیشتری قرار گرفته است [۱۳]. رادیکال‌های آزاد، به دلیل داشتن الکترون آزاد فعال، ناپایدارند. گونه‌های ROS شامل آنیون سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌باشد و تمایل به واکنش با سایر مولکول‌ها را دارند و از این جهت می‌توانند به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب برسانند [۲].

این مولکول‌ها در غلظت‌های بالا موجب ایجاد وضعیتی به نام «استرس اکسیداتیو» می‌گردند که به علت برهم خوردن تعادل بین میزان رادیکال‌های آزاد از یک طرف و توان سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌گردد [۲]. بیماری‌هایی مانند دیابت، سرطان، آترواسکلروز، آرتروز، اختلالات قلبی عروقی، صدمات فیزیکی و پیری، ارتباط اساسی با استرس اکسیداتیو دارند [۲۲].

مواد غذایی، حاوی فلزات واسطه بوده و یا در طول زمان فرایند تولید به آن آلوده می‌شوند. عناصر واسطه‌ی دو ظرفیتی نقش مهمی را به عنوان کاتالیزور در فرایندهای اکسیداتیو ایفا نموده و منجر به تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل و واکنش‌های تخریبی هیدروپراکساید می‌شوند. یکی از مکانیسم‌های فعالیت آنتی‌اکسیداتیو گیاهان، کلاته کردن فلزات انتقالی است.

عصاره آبی آن با استفاده از روش خیساندن برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی استخراج گردید. بدین صورت که پس از پودر کردن توسط هاون، ۵۰ گرم از آن با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط شد و سپس به مدت ۴۸ ساعت در حرارت اتاق بر روی شیکر shaker قرار داده شد. عصاره‌ی حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول به دست آمده در انکوباتور ۴۰ درجه تحت شرایط سترون خشک شد.

۲- روش اندازه‌گیری اثر ضدرادیکالی به روش DPPH  
بررسی اثر آنتی‌رادیکالی عصاره با استفاده از رادیکال پایدار DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl) مطابق با روش اولیوریا و همکاران با اندکی اصلاح انجام شد [۱۰]. دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل نوعی رادیکال آزاد پایدار است. ظرفیت عصاره در دادن هیدروژن برای پاک کردن DPPH، به عنوان میزان توانایی آنتی‌اکسیدان به کار می‌رود. ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار DPPH در متانول (کنترل) به ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره اضافه شده و پس از تکان دادن شدید، به مدت ۰/۵ ساعت در اتاق تاریک انکوبه گشت. سپس جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. از آنتی‌اکسیدان‌های BHT و اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد استفاده شد. اثر آنتی‌رادیکالی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{RSA\% (radical scavenging activity)} = 100 \times [(A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{Control}}]$$

$A_c$ : جذب کنترل؛  $A_s$ : جذب محلول حاوی عصاره یا استاندارد می‌باشد.

دارچین‌ها (Cinnamomum) می‌باشد. دارچین بومی سیلان و هندوستان می‌باشد [۱].

قسمت اعظم اسانس دارچین را آلدئید سینامیک (Aldehyde Cinnamique) یا سینامالدئید (Cinnamaldehyde) (۶۵ تا ۷۵ درصد) تشکیل می‌دهد. بعلاوه دارای ۴ درصد از فنل‌ها، به ویژه اوژینول همراه با فلاندرن، سافرول (به مقدار کم)، فورفورول و غیره است. ترکیبات شیمیایی فعال این گیاه سینامالدئید و اوژینول Eugenol می‌باشند [۱۱]. دارچین، مدت‌های مدیدی است که به عنوان ادویه و دارو به کار رفته اما اطلاعات زیادی در خصوص مکانیسم دقیق فارماکولوژیک آن در دست نیست. دارچین به صورت سنتی در مواردی همچون مسکن و تب‌بر در سرماخوردگی، سردرد، درد عضلانی، درد مفاصل و اختلال قاعدگی مصرف می‌شود. مطالعات زیادی روی دارچین صورت گرفته که نشان می‌دهد که این گیاه فعالیت‌های فارماکولوژیکی نظیر آنتی‌اکسیدان، ضد هیپرکلسترولمی، ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد دیابت، تب‌بر و مسکن و همچنین خاصیت ضد التهاب دارد [۱۶، ۱۱، ۱۹].

با توجه به استفاده‌های فزاینده این گیاه در تجربیات طب سنتی اغلب کشورها از جمله ایران، در این پژوهش خواص فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت آنتی‌گلیکیشن عصاره‌ی آبی پوست دارچین مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### ۱- روش تهیه‌ی عصاره

در این تحقیق پوست گیاه دارچین تهیه شد و پس از تایید اصالت توسط کارشناس هرباریوم، ابتدا شسته شد و به منظور انجام عملیات عصاره‌گیری، پودر و

### ۳- روش سنجش فعالیت کلاته کنندگی آهن II

در اندازه گیری قدرت کلاته کنندگی آهن به روش دینیز، به عصاره، محلول ۲ میلی مولار کلرید آهن II و محلول ۵ میلی مولار فروزین اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط، جذب مخلوط در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد. درصد مهار تشکیل کمپلکس آهن-فروزین یا قدرت شلاته کنندگی هر غلظت از عصاره با فرمول زیر معین شد. از EDTA به عنوان استاندارد استفاده گردید. گروه کنترل، محلول آهن-فروزین بود.

$$\text{Chelating activity\%} = 100 (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}$$

$A_c$  جذب کنترل؛  $A_s$  جذب محلول حاوی عصاره یا استاندارد بود [۱۲].

### ۶- روش سنجش مقدار تام فنل

مقادیر فنل تام عصاره به روش رنگ سنجی فولین و سیو-کالتیو Folin-Ciocalteu با اندکی تغییر اندازه گیری شد [۶]. بدین منظور ۱۰ میلی گرم از پودر عصاره را در ۱ میلی لیتر آب حل نمودیم. سپس ۱۰۰ میکرولیتر (حاوی ۱ میلی گرم) از آن را به ۲/۸ میلی لیتر آب و ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۰/۲٪ و ۰/۱ میلی لیتر فولین ۰/۵٪ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد و جذب آن را در ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. محتوای فنل تام در این روش، به صورت «معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره»، طبق معادله ی خطی منحنی استاندارد محاسبه شد.

بر اساس ساخت سریال رقت از اسید گالیک در رقت های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۶ و ۳/۱۲ میلی گرم در لیتر و قرائت جذب آن در اسپکتروفوتومتر، منحنی

### ۴- روش سنجش میزان گروه های تیول

برای اندازه گیری مقدار گروه های تیول، از روش رنگ سنجی DTNB (۲،۲ دی تیو نیتروبنزوئیک اسید) استفاده شد. DNTB با این گروه ها کمپلکس زرد رنگ ایجاد نموده که در طول موج ۴۱۲ نانومتر حداکثر جذب را داراست.

به منظور انجام این آزمایش در روش المان Ellmans، ۱۰ میکرولیتر از عصاره (حاوی ۱ میلی گرم) را با ۹۰ میکرولیتر از DTNB ۵ میلی مولار، ۱۰۰ میلی لیتر PBS، در pH=۷/۴ و در حرارت اتاق به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه نمودیم. سپس جذب محلول حاوی عصاره در ۴۱۲ نانومتر قرائت شد. سطح گروه های تیول توسط منحنی استاندارد L-سیستئین (۰/۵۰ تا ۰/۱۵ میلی مولار) بر اساس میلی مول سیستئین در میلی گرم عصاره، محاسبه گردید [۹ و ۱۰].

در ۳۷ درجه سانتی‌گراد) توسط غلظت‌های مختلف عصاره با استفاده از رنگ نیتروبلو تترازولیوم NBT (Nitro-Blue-Tetrazolium)، پس از دیالیز جهت خارج نمودن فروکتوز اضافی، اندازه‌گیری شد. بطور خلاصه ۱۰ میکرولیتر از محلول‌های گلیکوهی آلبومین، به صورت تنها و یا در حضور ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر (به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از عصاره، در ۹۰ میکرولیتر از ۰/۵ میلی-مولار NBT (در بافر کربنات ۰/۱ مولار با  $\text{pH}=10.4$ ) در حرارت ۳۷ درجه انکوبه شد. جذب ترکیب را پس از قرار دادن در پلیت الایزا، توسط دستگاه الایزا ریدر در ۵۳۰ نانومتر ثبت نمودیم. با مقایسه‌ی جذب نوری آلبومین گلیکوه بدون حضور و در حضور عصاره‌ها و آمینوگوانیدین (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به عنوان یک مهارکننده‌ی استاندارد، میزان مهارکنندگی مشخص شد [۱۵].

۹- روش سنجش محصولات نهایی گلاکیشن پیشرفته نمونه‌های آلبومین گلیکوه تهیه شده در مرحله‌ی قبل (در حضور و عدم حضور عصاره در غلظت‌های ذکر شده و همچنین حضور آمینوگوانیدین) جهت سنجش میزان محصول نهایی پیشرفته گلاکیشن با روش اسپکتروفلورومتری مورد استفاده قرار گرفت [۵]. این آزمایش با استفاده از دستگاه فلورومتر Jasco FP-6200 و در طول موج‌های ۳۴۰ نانومتر و ۴۴۰ نانومتر به ترتیب برای تحریک و نشر انجام گردید.

۱۰- روش سنجش میزان مهار فراگمانتاسیون آلبومین ابتدا آلبومین را با فروکتوز (۲۰۰ میلی‌مولار) و در حضور یون مس (۱۰۰ میکرومولار) مخلوط نموده و پس از تیمار یک هفته‌ای در حضور آمینوگوانیدین و

استاندارد مربوطه را رسم نمودیم. با جذب قرائت شده از محلول حاوی عصاره، مقدار فنل آن تعیین گردید.

#### ۷- روش سنجش مقدار فلاونوئید

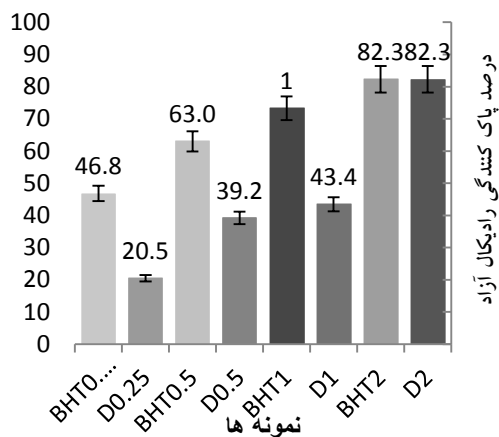
میزان فلاونوئیدها با توجه به روش Bahorun و همکاران تعیین شد. محتوای فلاونوئید تام با انتقال بر منحنی استاندارد کوئرستین به عنوان «معادل میلی‌گرم کوئرستین (Quercetin Equivalent, QE) در گرم-عصاره»، بیان می‌شود [۱۴].

بدین منظور ۱۰ میلی‌گرم از پودر عصاره را در ۵ میلی‌لیتر آب حل کرده و ۰/۵ میلی‌لیتر (۱ میلی‌گرم) از آن را برداشته و با اضافه کردن آن به ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ و ۱۰۰ میکرولیتر از  $\text{AlCl}_3$  ده درصد و ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب، ۴۰ دقیقه در حرارت ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه کرده و سپس جذب آن را در ۴۱۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت نمودیم. نتیجه بر اساس منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه گردید. منحنی استاندارد با قرائت جذب غلظت‌های سریالی کوئرستین ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲ و ۱/۵۶ میلی‌گرم در لیتر، حاصل می‌شود.

#### ۸- روش سنجش میزان مهار فروکتوزآمین

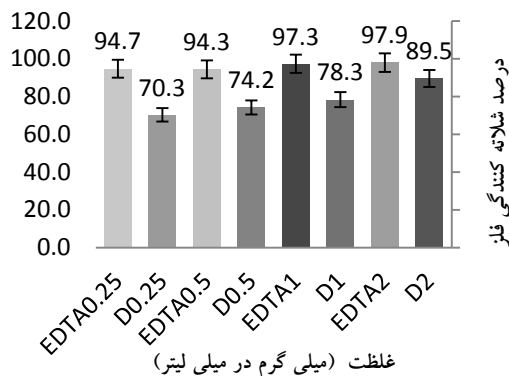
فروکتوزآمین یک محصول آمادوری حاصل از مجاورت قند و پروتئین است و نقش مهمی در ایجاد ضایعات عروقی دارد. لذا کاهش فروکتوزآمین یک روش درمانی برای به تأخیر انداختن ضایعات عروقی در افراد مبتلا به دیابت می‌باشد [۵].

بر اساس مطالعات قبلی، میزان مهار تشکیل آلبومین گلیکوه (انکوباسیون مخلوط فروکتوز ۰/۲ مولار و آلبومین ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به مدت یک هفته



نمودار ۱: مقایسه قدرت پاک کنندگی رادیکال غلظت‌های مختلف

دارچین و BHT



نمودار ۲: مقایسه درصد شلاته کنندگی غلظت‌های مختلف دارچین

با EDTA

### ۱۳- نتایج روش سنجش میزان گروه‌های تیول

بر اساس روش مذکور، جذب نوری حاصل از اسپکتروفوتومتری غلظت‌های مختلف سیستمین به عنوان استاندارد، به ترتیب ۰/۰۵۴، ۰/۰۳۸، ۰/۰۲۰، ۰/۰۱۴، ۰/۰۰۹ و ۰/۰۰۷ به دست آمد.

بر اساس تطبیق مقادیر جذب نمونه با نمودار ترسیمی استاندارد با نرم‌افزار curve exp، میزان تیول دارچین، ۰/۰۷ ± ۰/۱۴۴ «معادل میلی مول سیستمین در هر گرم از عصاره» می‌باشد.

یا عصاره تهیه شده، ترکیب حاصل توسط روش الکتروفورز روی ژل پلی آکریل آمید (SDS-PAGE) مورد بررسی قرار گرفت. الگوی الکتروفورزی حاصل پس از رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو مورد آنالیز قرار گرفت.

### آنالیز آماری

در این بررسی نتایج حاصل با سه بار تکرار در مورد هر سنجش گزارش شده است و نمودارها پس از محاسبه میانگین و انحراف معیار ارائه شده‌اند. برای تعیین اختلاف یا عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون ANOVA و تست Dunnett توسط نرم افزار SPSS version 11 استفاده شد.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار نتایج در نظر گرفته شد.

### یافته‌های پژوهش:

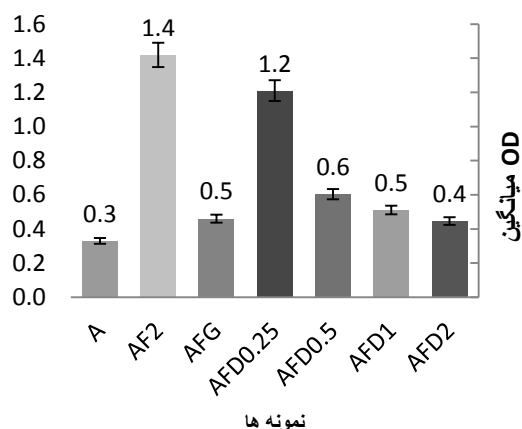
#### ۱۱- نتایج آزمایش سنجش مهار DPPH

در نمودار ۱ میزان قدرت پاک کنندگی کنندگی رادیکال پایدار DPPH، توسط BHT، و غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره نشان داده شده است. عصاره‌ی دارچین در غلظت‌های فوق الذکر به ترتیب  $20/49 \pm 0/89$ ،  $39/22 \pm 0/28$ ،  $43/45 \pm 0/86$  و  $82/27 \pm 0/51$  درصد قدرت پاک کنندگی DPPH را نشان داد.

#### ۱۲- نتایج سنجش فعالیت شلاته کنندگی آهن II

چنانچه در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، درصد شلاته کنندگی فلز، با افزایش غلظت دارچین افزایش می‌یابد و خصوصاً در دوز بالاتر، این افزایش چشمگیرتر است و با EDTA اختلاف کمتری دارد.

آمینوگوانیدین سبب کاهش ۶۷/۹۶ درصدی در میزان فروکتوزآمین شده است ( $p < 0/001$ ). دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره دارچین به ترتیب مهار ۱۶/۴، ۵۷/۹، ۶۴/۲ و ۶۸/۸ درصدی اعمال کردند (نمودار ۳).



نمودار ۳: مقایسه‌ی جذب‌های نوری محلول‌های حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره دارچین بر محلول آلبومین و فروکتوز. آمینوگوانیدین به عنوان استاندارد در نظر گرفته شده است. A: آلبومین AF2/ محلول آلبومین-فروکتوز ۲۰۰ میلی مولار / AFG: آلبومین، فروکتوز و آمینوگوانیدین. / D: دارچین.

۱۷- میزان ممانعت از محصولات نهایی حاصل گلیکیشن پیشرفته AGEs

دوزهای ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره‌ی دارچین، توانست AGEs را به ترتیب ۹، ۵۲/۸ و ۷۵/۲ درصد مهار کند ( $p < 0/001$ ). آمینوگوانیدین به عنوان یک مهارکننده‌ی استاندارد در این شرایط، مهار ۷۳/۰۸ درصدی نشان داد.

۱۸- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر فراگمتاسیون ناشی از آلبومین گلیک

چنانچه مشاهده می‌شود، باند متراکم ناشی از آلبومین با اضافه شدن فروکتوز، فراگمانته شده است.

۱۴- میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدان دارچین

مطابق با روش مذکور، ظرفیت آنتی‌اکسیدان هر غلظت از عصاره‌ی دارچین ۱ بر اساس «میلی مول سولفات آهن در میلی گرم عصاره» محاسبه شد که نتایج حاصل جدول ۱ مشاهده می‌شود. طبق نتایج، با افزایش غلظت عصاره، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد.

جدول ۱: ظرفیت آنتی اکسیدان غلظت‌های مختلف عصاره‌ی دارچین

نمونه	ظرفیت آنتی اکسیدانی: میانگین $\pm$ انحراف معیار میانگین
دارچین ۰/۲۵	$0/258 \pm 0/04$
دارچین ۰/۵	$0/463 \pm 0/05$
دارچین ۱	$0/53 \pm 0/02$
دارچین ۲	$0/706 \pm 0/07$

۱۵- میزان فنل و فلاونوئید عصاره‌ی دارچین

به منظور اندازه‌گیری میزان فنل و فلاونوئید عصاره‌ی دارچین، مطابق روش کار، منحنی‌های استاندارد بر اساس به ترتیب اسیدگالیک و کوئرستین رسم شد و با انطباق جذب‌های حاصل از اسپکتروفوتومتری غلظت‌های مختلف عصاره‌ی دارچین، مقدار فنل آن،  $31/34 \pm 1/83$  میلی گرم اسید گالیک در هر گرم از عصاره و مقدار فلاونوئید آن،  $19/89 \pm 1/37$  میلی گرم کوئرستین در هر گرم از عصاره به دست آمد.

۱۶- میزان مهار فروکتوزآمین

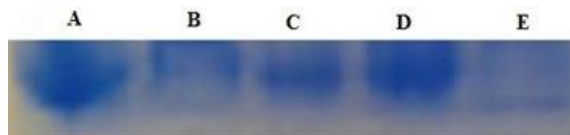
با استفاده از تست Dunnett مشاهده می‌شود میزان جذب آلبومین گلیک با فروکتوز ۲۰۰ میلی مولار در مقایسه با آلبومین غیرگلیک، افزایش معنی‌داری ( $p < 0/001$ ) داشته است (افزایش ۸۴/۸ درصدی).

احیاکنندگی یون فریک (FRAP) در پلاسما شد و لذا ظرفیت آنتی اکسیدان پلاسما افزایش یافت [۲۰]. در اندازه‌گیری خصلت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی آبی دارچین به روش FRAP، افزایش خصلت آنتی اکسیدانی وابسته به دوز مشاهده شد. این نتیجه، با نتیجه‌ی حاصل از مطالعه‌ی Jang و همکارانش که به روش HPLC انجام گرفته بود مشابه است [۸].

در سنجش درصد مهار فروکتوزآمین، میزان جذب نوری محلول آلبومین گلیکه شده با فروکتوز ۲۰۰ میلی مولار در مقایسه با آلبومین غیرگلیکه، افزایش معنی داری داشت (افزایش ۸۴/۸ درصدی). آمینوگوانیدین به عنوان یک مهارکننده استاندارد، سبب کاهش ۶۷/۹۶ درصدی در میزان فروکتوزآمین شده است. استفاده از دوز ۲ میلی گرم در میلی لیتری از عصاره‌ی دارچین، موجب کاهش ۶۸/۸ درصدی در جذب نوری محلول آلبومین گلیکه با فروکتوز ۲۰۰ میلی مولار شد. در مطالعه‌ی Preuss و همکارانش عصاره‌ی آبی دارچین توانست میزان فروکتوزآمین در گردش خون را کاهش دهد که در واقع به نحوی مشابه با نتایج حاصله از مطالعه‌ی حاضر می‌باشد [۱۸].

بر اساس نتایج حاصله، عصاره‌ی دارچین در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر، تشکیل این محصولات را به ترتیب ۵۹ و ۷۰/۵ درصد (در مقایسه با آمینوگوانیدین به عنوان مهارکننده‌ی استاندارد) کاهش داد. لذا در این غلظت‌ها دارای آثار آنتی دیابتی می‌باشد. در مطالعه‌ی که Peng و همکارانش انجام دادند، مشخص شد که آثار آنتی گلیکیشن دارچین به به‌دام انداختن گروه‌های واکنشگر کربونیل نیز مربوط است [۱۷].

با استفاده از آمینوگوانیدین، این فراگمانتاسیون کاهش یافته و در واقع این ترکیب تا حد زیادی مانع از فراگمانتاسیون شده است. دارچین در غلظت بالاتر به خوبی توانایی ممانعت از فراگمانتاسیون را دارد.



شکل ۱: نمای الکتروفورز SDS-PAGE حاصل از تأثیر

آمینوگوانیدین و غلظت‌های مختلف دارچین بر فراگمانتاسیون آلبومین-فروکتوز. A: آلبومین، B: آلبومین-فروکتوز، C: آلبومین-فروکتوز + آمینوگوانیدین ۲mg/ml، D و E: آلبومین-فروکتوز + غلظت‌های ۲ و ۱۰ mg/mL از دارچین.

### بحث و نتیجه گیری:

بر اساس این پژوهش، قدرت پاک کنندگی رادیکال DPPH عصاره‌ی آبی دارچین به طور وابسته به دوز افزایش می‌یابد و درصد آن در دوز ۲ میلی گرم در میلی لیتر (۸۲/۲۷%) نیز به BHT (۸۲/۲۸%) نزدیک است.

افزایش قدرت کلاته کنندگی یون فرو، با افزایش غلظت عصاره‌ی دارچین (با استاندارد EDTA) افزایش یافت. این نتیجه با نتیجه‌ی حاصل از پژوهش [۲۱]. همخوانی دارد. مطالعه‌ی اخیر بر روی عصاره‌ی متانولی دارچین صورت گرفته بود.

در مطالعه‌ی حاضر، میزان گروه‌های تیول عصاره‌ی دارچین  $0.07 \pm 0.144$  معادل «میلی مول سیستئین در هر گرم از عصاره» بود که شاخص آنتی اکسیدان نمونه‌ها محسوب می‌شود. در مطالعه‌ی Roussel و همکاران، اضافه کردن دارچین به رژیم غذایی نمونه‌ی انسانی با نقص گلوکز ناشتا که دچار چاقی هستند، موجب افزایش میزان گروه‌های تیول و افزایش قدرت



- در بررسی اثر مهاری عصاره‌های آبی دارچین بر فراگماتاسیون پروتئین، چنانچه در الگوی الکتروفورزی مشخص است، عصاره دارچین مانع فراگماتاسیون آلبومین متعاقب تشکیل فروکتوزآمین شد. به عبارت دیگر مانع صدمات ناشی از این پدیده بر پروتئین‌ها شد و لذا قادر است از عوارض دیابت جلوگیری کند که این اثر در غلظت‌های بالاتر است و با نتایج پژوهش‌های [۲۳]. منطبق است. در این مطالعه، غلظت‌های مختلف قندهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی متفاوت مورد مطالعه قرار گرفت و بر عدم تأثیر آمینوگوانیدین بر مهاجرت آلبومین در غیاب قند و تأثیر آن بر مهاجرت آلبومین در حضور قند تأکید شده است. همچنین بر تأثیر بیشتر فروکتوز نسبت به گلوکز بر گلیکته شدن پروتئین‌ها تأکید دارد.
- بر اساس مطالعه‌ی حاضر دارچین دارای آثار آنتی اکسیدانی، آنتی رادیکالی و آنتی دیابتیک می‌باشد و می‌تواند با جلوگیری از تغییر ساختار پروتئین‌ها بدنبال گلاسیکیشن، مانع تولید ترکیباتی گردد که به علت تغییر ساختمان پروتئین‌های مربوطه، موجب عوارض دیابت می‌شوند.
- سپاسگزاری: از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان تشکر بعمل می‌آید.
- منابع:**
- [1] Abeysekera WPKM, Premakumara GAS, and Ratnasooriya In WD, 2013. In Vitro Antioxidant Properties of Leaf and Bark Extracts of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum Blume*). Tropical Agricultural Research, 24 (2), PP: 128 – 138
- [2] Arner E, Nordberg, 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biology and Medicine J, 31(11), PP: 1287-1312.
- [3] Asadi S, Sohrabi M, Zarei S, Ghyasvand T, Rezaei Farimani A, Goodarzi MT, 2014. Effects of Curcuma Longa and Cinnamon Aqueous Extracts on Serum Carbohydrates and Lipids Metabolism and Oxidative Status in High Fructose Fed Rats. International Research Journal of Biological Sciences, 3 (3), PP:78-82.
- [4] Bhattacharjee A, Chakraborti A, 2013. Inhibitory Effect of Piper Butle Linn. Leaf Extract on Protein Glycation Quantification and Characterization of the Antiglycation Component. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 50, PP:529-536
- [5] Caengprasath N, Ngamukote S, Mäkyne K, & Adisakwattana S. 2013. The Protective Effect of Pomelo Extract (*Citrus Grandis L Osbeck*) Against Fructose Mediated Protein Oxidation and Glycation. EXCLI Journal. 12, PP: 491-502.
- [6] Chaouche T, Haddouchi F, Ksouri R, Medini F, El-Haci I, Boucherit Z, et al. 2013. Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of phenolic extract of *Prasium majus L*. Free Radicals and Antioxidants. 3, PP:43-46.
- [7] Ghasemi K, Ghasemi Y, Ehteshamnia A, Nabavi F, Ebrahimzadeh A, Pourmand F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Medicinal plant. Medicinal Plant, 23, PP: 1133-1138.
- [8] Jang HD, Chang KS, Huang YS, Hsu CL, Lee SH, Su MS, 2007. Principal Phenolic Phytochemicals and Antioxidant Activities of Three Chinese Medicinal Plants. Food Chemistry, 103(3), PP:749–756.
- [9] Jariyapamornkoon N, Yibchok-anun S, Adisakwattana S. 2013. Inhibition of Advanced Glycation End Products by Red Grape Skin Extract and its Antioxidant Activity. BMC Complementary and Alternative Medicine, 13, PP: 171-175.
- [10] Kaviarasan S, Naik G, Gangabagirathi R, Anuradha C, Priyadarsini K. 2007. In vitro Studies on Antiradical and Antioxidant Activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Seeds. Food Chemistry, 103, PP:31–37.
- [11] Manosi D, Suvra M, Budhimanta M, Jayram H. 2013. Ethnobotany, Phytochemical and Pharmacological

- Aspect of *Cinnamomum Zeylanicum* Blume. International Research Journal of Pharmacy, 4(4), PP: 58-63.
- [12] Mathew S, Abraham T. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. Food Chemistry, 94, PP: 520–528.
- [13] Mazandarani M, Makri S, Bajian G. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech F. in Golestan province, North of Iran. Iranian Journal Plant Physiology. 2(2): 381-388.
- [14] Meda, A., Lamien, C., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O, 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 91, PP: 571-577.
- [15] Meeprom A, Sompong W, Chan C, 2013. Adisakwattana S. Isoferulic Acid, a New Anti-Glycation Agent, Inhibits Fructose and Glucose-Mediated Protein Glycation in Vitro. Molecules, 18, PP: 6439-6454.
- [16] Pandey S, Pandey R, Singh R. 2014. Phytochemical Screening of Selected Medicinal Plant Cinnamon Zeylanicum bark extract, Area of research; Uttarakhand, India. International Journal of Scientific and Research Publications, 4(6), PP: 1-6.
- [17] Peng X, Cheng KW, Ma J, Chen B, Ho CT, Lo C, et al. 2013. Cinnamon Bark Proanthocyanidins as Reactive Carbonyl Scavengers To Prevent the Formation of Advanced Glycation Endproducts. J. Agric. Food Chem, 6, PP: 1907–1911.
- [18] Preuss H, Echard B, Polansky M, Anderson R. 2006. Whole Cinnamon and Aqueous Extracts Ameliorate Sucrose-Induced Blood Pressure Elevations in Spontaneously Hypertensive Rats. Journal of the American College of Nutrition, 25(2), PP: 144-150.
- [19] Ranasinghe P, Piger S, Premakumara G, Galappathy P, Constantine G, Katulanda P. 2013. Medicinal Properties of " True" Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. BMC Complementary & Alternative Medicine, 275(13), PP: 1-10.
- [20] Roussel AN, Hininger I, Benaraba R, Ziegenfuss TN, Anderson RA. 2009. Antioxidant Effects of a Cinnamon Extract in People with Impaired Fasting Glucose That Are Overweight or Obese. Journal of the American College of Nutrition, 28(1), PP: 16-21
- [21] Su L, Yin JJ, Charles D, Zhou K, Moore J, Yu, L. 2007. Total Phenolic Contents, Chelating Capacities, and Radical Scavenging Properties of Black Peppercorn, Nutmeg, Rosehip, Cinnamon and Oregano Leaf. Food Chemistry, 100(3), PP: 990–997.
- [22] Subhashini N, Thangathirupathi A, Lavanya N. 2011. Antioxidant Activity of *Trigonella Foenum Graecum* Using Various In Vitro And Ex Vivo Models. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(2), PP:96-102.
- [23] Wijetunge D, Perera H, 2014. A Novel in Vitro Method to Identify Protein Glycation Inhibitors. Asian Journal of Medical Sciences, 5(3), PP:15-21.

