مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن و اسفند ۱۳۹۹؛ دوره ۲۰ (شماره ۳)۱۶۶-۱۵۷

مقاله پژوهشی

مطالعه‌ی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه *Thymus Kotschyanus* و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ سرمی افراد سالم و دیابتی در شرایط آزمایشگاهی

سیده سمیه موسوی[۱]، فرانک هادی[۱]، فریده آذربانی[۱*]

چکیده

مقدمه: گونه‌های آویشن مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارند و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی را نشان می‌دهند. پاراکسوناز ۱ به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و لیپوپروتیین‌ها با چگالی پایین را در برابر اکسیداسیون محافظت می‌کند. هدف از این مطالعه ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی هیدروالکی آویشن و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز۱ سرمی افراد سالم و دیابتی است.

روش‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات موجود در عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه به‌ترتیب با استفاده از آزمون های مهار رادیکال آزاد DPPH و آنالیز طیف سنجی FTIR تعیین شد. فعالیت آنزیم پاراکسوناز۱ در ٤٠ فرد سالم و دیابتی با اندازه‌گیری میزان هیدرولیز سوبسترای پاراوکسون به P نیتروفنل و جذب در ٤٠٥ نانومتر انجام شد. نتایج با آزمون‌های دانکن و t مستقل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: مقدار IC50 (غلظت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH) برابر با ٤٧٧/٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. بررسی طیف FTIR وجود مولکول‌های زیستی حاوی گروه هیدروکسیل و حلقه‌ی آروماتیک را در عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه نشان داد. فعالیت آنزیم پاراکسوناز سرمی افراد سالم و دیابتی که به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض عصاره با غلظت mg/mL ۱ قرار گرفتند، به‌ترتیب ۳/۵۷ ± ٤٩/٩٥ و ۳/۲۵ ± ۵۱/۰۵ درصد افزایش یافت.

نتیجه گیری: گرچه تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنزیم سرمی افراد سالم و دیابتی در حضور و بدون حضور عصاره وجود نداشت، اما میزان فعال‌سازی آنزیم تحت تأثیر عصاره در افراد سالم و بیمار تفاوت معنی‌داری نداشت. عصاره‌ی گیاه، فعالیت آنزیم پاراکسوناز را احتمالاً به‌دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حضور ترکیبات فنلی افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: آویشن، دیابت، آنتی‌اکسیدانی، پاراکسوناز

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

***نشانی**: خرم آباد، کیلومتر ۵ اتوبان تهران، دانشگاه لرستان، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، کد پستی: ٦٨١٥١-٤٤٣١٦، صندوق پستی: ٤٦٥، تلفن: ٠٦٦-٣٣٢٣٠٩٥١، نمابر: ٠٦٦-٣٣١٢٠٦١٨، پست الکترونیک: azarbani.f@lu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۳ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۷**

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

مقدمه

بیماری دیابت شایع‌ترین اختلال غدد درون‌ریز و مشخصه‌ی اصلی آن افزایش قند خون است. مطالعات نشان داده‌اند، در بیماری دیابت تعادل بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و تولید رادیکال‌های آزاد از بین می‌رود. لذا، میزان رادیکال های آزاد نظیر گونه های فعال اکسیژن در بدن افزایش می‌یابند. گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند به DNA سلول آسیب رسانده و زمینه را برای بیماری‌های مزمن متعدد از جمله سرطان، دیابت و امراض قلبی – عروقی فراهم نمایند [۱]. همچنین رادیکال‌های آزاد فعالیت آنزیم پاراکسوناز را کاهش داده و سرعت اکسیداسیون LDL را افزایش می‌دهند. آنزیم PON1، آنزیم استراز وابسته به کلسیم بوده که حاوی ۳۵٤ اسیدآمینه و وزن مولکولی آن ٤۳–٤۷ کیلو دالتون است. این آنزیم در کبد سنتز می شود و پس از ترشح در سرم بر روی لیپو پروتئین پرچگال (HDL) قرار می‌گیرد. آنزیم PON1 دارای فعالیت های مختلفی از جمله ارگانوفسفاتازی، آریل استرازی و لاکتونازی است و انواع مختلفی از سوبستراها مانند ارگانو فسفات‌ها، عوامل اعصاب [1]، استرها و لاکتون های مختلف را هیدرولیز می‌نماید. این آنزیم دارای خواص آنتی اکسیدانی و آنتی آتروژنیک نیز هست و سبب حفاظت HDL و LDL از اکسیداسیون و تخریب زیستی لیپیدهای اکسید شده فعال بر روی لیپوپروتئین و درون سلول‌های شریانی می شود [۲]. HDL با کاهش تبدیل LDL به فرم اکسیده آن (OxLDL) و همچنین بازگرداندن فرم اکسید به حالت اولیه و کاهش اثر LDL اکسید شده نقش عمده‌ای در حفاظت فرد بر علیه بیماری قلبی عروقی دارد؛ این عمل HDL توسط آنزیم پاراکسوناز۱ همراه با آن صورت می‌گیرد [۳، ٤]. کاهش فعالیت PON1 سرم علاوه بر دیابت نوع دو [۵]. با بیماری آتروسکلروتیک [٦، ۷]. میوکارد ایسکمی و سکته [۸، ۹]، سندرم متابولیک [۱۰] و بیماری عروق کرونر [۱۱] نیز مرتبط است. گیاه آویشن با نام علمی *Thymus* Kotschyanus یکی از جنس‌های مهم خانواده‌ی نعنا و دارای ۲۱۵ گونه است [۱۲]. این گیاه طبق نظرات کنگره‌ی کمیسیون دارویی آلمان دارای وضعیت مثبت درمانی است و در تک نگاره کمیسیون متخصصین گیاهان دارویی اروپا و کمیسیون سازمان جهانی بهداشت دارای رتبه‌ی نخست درمانی است [۱۳]. گیاه آویشن و عصاره، اسانس روغنی و یا تیمول جدا سازی شده از آن در بسیاری از ترکیبات دارویی که به صورت تجاری و به شکل چای، قطره، دهان شویه و مرهم ضدعفونی کننده تهیه می شوند وجود دارند [۱٤]. Honari و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثربخشی عصاره‌ی این گیاه را در کاهش گلوکز سرم افراد دیابتی مطالعه و تأیید نمودند [۱۵]. عصاره‌ی این گیاه خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد پراکسیداسیون لیپیدی در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی شده را نشان داده است [۱٦]. لذا هدف این مطالعه بررسی و مقایسه‌ی میزان فعالیت پاراکسوناز در افراد دیابتی و سالم، ارزیابی ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی الکلی آویشن و سپس تأثیر آن بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز۱ سرمی افراد سالم و دیابتی است.

روش‌ها

تهیه‌ی نمونه و عصاره‌گیری

جهت انجام این مطالعه گیاه آویشن در اوایل خرداد ماه سال ۹٦ از بخش ویسیان شهرستان چگنی، استان لرستان جمع‌آوری و توسط آقای دکتر خدایاری متخصص سیستماتیک گیاهی تأیید گردید. سپس، گل و برگ گیاه در سایه خشک و آسیاب شد. برای تهیه‌ی عصاره‌ی هیدروالکلی، ۱۰ گرم از پودر خشک و آسیاب شده گیاه درون ارلن ریخته و تا جایی که پودر گیاه پوشانده شود محلول اتانول ۷۰٪ ریخته شد. درب ارلن با فویل یا پارافیلم بسته و به‌مدت سه روز در محل تاریک و دور از نور نگه‌داری شد. هر ۲٤ ساعت یکبار محلول صاف گردید و پودر گیاه مجدد درون ارلن ریخته و روی آن محلول اتانول ۷۰٪ اضافه شد. سپس محلول‌های صاف شده توسط دستگاه روتاری با دمای ۷۵ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت خلأ تغلیظ و در شیشه ساعت ریخته و به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ٤۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک گردید.

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رادیکال آزاد و پایدار دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) استفاده شد [۱۷]. به ۲۰۰ میکرولیتر

[1] nerve agents

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

عصاره با غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مقدار ٤ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۱۰-۵×٦ مولار) اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه نگه‌داری در اتاق تاریک، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و درصد مهار ر رادیکال DPPH (I%) با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

$$I\ \% = [(A_0-A_1)/A_0] \times 100$$

در این فرمول A_0 و A_1 به‌ترتیب نمایانگر میزان جذب نوری محلول DPPH بدون حضور عصاره به‌عنوان کنترل و در حضور عصاره است. از اتانول به‌عنوان شاهد و از اسیدآسکوربیک به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

تهیه‌ی سرم (منبع آنزیم)

نمونه خون از افراد سالم و دیابتی در آزمایشگاه گرفته و به لوله‌های آزمایش منتقل شد (جدول ۱). سپس در زمان کمتر از نیم‌ساعت، سرم نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور g ۳۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه از قسمت لخته خون جدا و تا انجام آزمایش مورد نظر در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

جدول۱- ویژگی‌های عمومی و پروفایل لیپیدی افراد مورد مطالعه

پارامترها	۲۰ فرد سالم	۲۰ بیمار دیابتی
سن (سال)	٤٦/۹۲ ± ۱۳/۷۲	۵۱/۷٦ ± ۱٤/۰۹
FBS (mg/dl)	۹۳/۵ ± ۹/۲۳	۱۸۵/۵ ± ٤۵/۵۱
HDL (mg/dl)	٤۳/٤٤ ± ۸/۰۱	۳۹/۹۱ ± ۸/۷۰
LDL (mg/dl)	۱۰۹/٤۱ ± ۲۸/۰۲	۱۳۷/٤٤ ± ٤۰/۵۷
TG (mg/dl)	۸۲/۳۱ ± ۳۰/۱۰	۱۹٤/٤٦ ± ۷۳/۳

داده‌ها به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند

اندازه‌گیری فعالیت پاراکسوناز ۱ در حضور/عدم حضور عصاره

با تغییر مختصری در روش ارایه شده توسط kural و همکاران [۱۸] میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز ۱ براساس اندازه‌گیری مقدار p- نیتروفنل توسط اسپکتروفتومتر تعیین گردید. از عصاره‌ی گیاه آویشن غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ سرم ۲۰ فرد سالم و ۲۰ فرد دیابتی مورد آزمایش قرار گرفت. جهت بررسی تأثیر عصاره‌ی گیاه بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱، از پاراکسون به‌عنوان سوبسترا استفاده شد که توسط آنزیم به پارانیتروفنل هیدرولیز می‌شود. به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم، ۷۲۵ میکرولیتر بافرتریس (Tris-HCL) (حاوی Tris-HCL ۱۰۰ میلی مولار و کلرید کلسیم ۲ میلی‌مولار با pH = ۸)، ۲۵ میکرولیتر سرم حاوی آنزیم پاراکسوناز ۱ و ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی گیاه در میکروتیوپ ریخته شد. با سه بار سرو ته کردن میکروتیوپ عصاره‌ی وآنزیم در تماس با هم قرار می‌گیرند. بعد از انکوبه کردن ۱۵ دقیقه ای در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) از هر نمونه ۲۰۰ میکرو لیتر در سه خانه میکروپلیت ۹٦ خانه‌ای ریخته و سپس به هر خانه ٦۰ میکرولیتر پاراکسون ٦ میلی مولار هم‌زمان اضافه گردید. به نمونه‌ی کنترل به جای عصاره،۵۰ میکرولیتر بافر تریس هیدروکلراید ۱۰۰میلی مولار اضافه شد. فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱، با اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در برابر کنترل در طول موج ٤۰۵ نانومتر با کمک دستگاه میکرو پلیت ریدر (بیوتک، آمریکا) مشخص شد. این آزمایش برای هر نمونه سه مرتبه تکرار شد. در پایان طبق رابطه‌ی زیر، میزان فعالیت سرمی آنزیم محاسبه گردید.

$$\text{Activity}\ (\frac{IU}{L}) = \frac{\frac{OD}{min} \times Total\ Volum(\mu L)}{\varepsilon \times sample\ volum(\mu l) \times L}$$

ضریب خاموشی پاراکسون در ٤۰۵ نانومتر برابر $۰/۰۰۱۸۷\ \mu M^{-1} cm^{-1}$ است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

برای محاسبه‌ی درصد تغییرات فعالیت آنزیم نیز از رابطه‌ی زیر استفاده گردید که A_S، فعالیت نمونه‌ی حاوی عصاره و فعالیت کنترل، A_C است.

$$\text{Increase activity}(\%) = [\frac{(AS-AC)}{AC}] \times 100$$

تهیه‌ی طیف FTIR برای شناسایی مولکول‌های زیستی موجود در عصاره‌ی گیاه

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) برای شناسایی ترکیبات آلی موجود در عصاره‌ی الکلی آویشن انجام گردید. مقدار خیلی کمی از عصاره‌ی خشک کاملاً پودر شده را با نسبت ۱ به ۱۰۰ با برومید پتاسیم کاملاً خشک، مخلوط کرده و سپس مقداری از مخلوط را در قالب فلزی مخصوص ریخته و با دستگاه پرس هیدرولیک تحت فشار قرار داده تا به‌صورت قرصی شفاف درآید. قرص به‌دست آمده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر FTIR مدل adlhvbm 8400S در محدوده‌ی عدد موجی $4000 - 500\ cm^{-1}$ با حساسیت $4cm^{-1}$ مورد بررسی قرار گرفت.

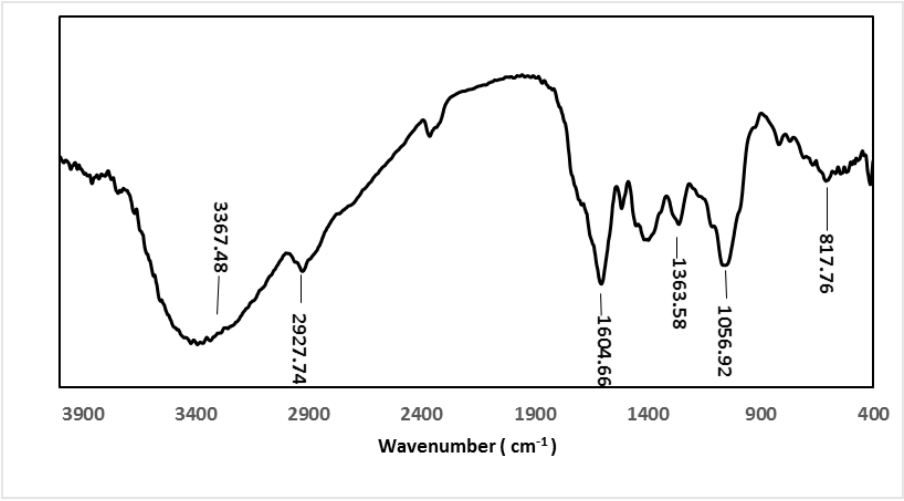
تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS.16 (IBM, USA) (آزمون دانکن) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون T-test مستقل استفاده شد. در نهایت نمودارها در برنامه‌ی Excel رسم شد.

یافته‌ها

طیف سنجی FTIR عصاره‌ی الکلی آویشن

پیک‌های اصلی حاصل از آنالیز طیف سنجی FTIR عصاره‌ی هیدرو الکلی آویشن در محدوده‌ی ۳۳۶۷، ۲۹۲۶، ۱۶۰۵ و ۱۰۵۷ cm^{-1} بودند، که با ارتعاش کششی O-H الکل‌ها و فنول‌ها یا H-N آمین‌ها و ارتعاش کششی C-C ترکیبات آروماتیک، ارتعاش کششی C=O گروه کربونیل و ارتعاش کششی C-O استرها مطابقت دارند. از نتایج چنین بر می‌آید که احتمالاً ترکیبات فنولی که حاوی گروه هیدروکسیل و کربونیل هستند در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی این گیاه نقش مؤثر داشته باشند (شکل ۱).



شکل ۱- طیف FTIR عصاره هیدروالکلی آویشن

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن

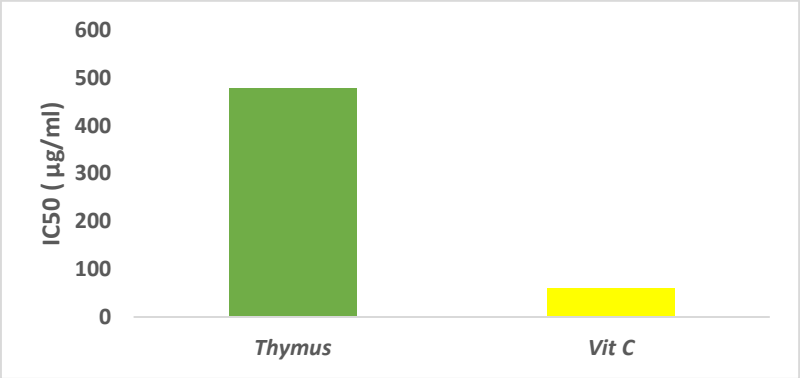
فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن در مقابل رادیکال‌های آزاد و پایدار DPPH اندازه‌گیری شد (شکل ۲). از ویتامین C به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

بررسی فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ در سرم ۲۰ بیمار دیابتی و ۲۰ فرد نرمال تحت تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن

ابتدا تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی آویشن بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ سرمی یک فرد سالم سنجیده و نتایج در شکل ۳ نمایش داده شده است. چنانچه ملاحظه می‌شود فعالیت پاراکسونازی آنزیم با افزایش غلظت عصاره بیشتر شد، به‌طوری که در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت آنزیم ۲/۸۷ ± ۴۱/۲۱ ٪ نسبت به کنترل افزایش پیدا کرد. لذا در ادامه اثر

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصـــاره بر فعالیت آنزیم پاراکســـوناز ۱ ســـرم ۲۰ فرد ســـالم و ۲۰ فرد دیابتی ارزیابی و مقایســه گردید. مشـاهده شـد که عصـاره هیدروالکلی آویشـن باعث افزایش فعالیت آنزیم PON1 در افراد ســالم و دیابتی می شود (جدول‌های ۳ و ٤).



شکل ۲- محاسبه IC_{50} عصاره هیدروالکلی آویشن

در صد مهار رادیکال 1 mg/ml از عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن ۰/٦۳ ± ۸۰/٥٤ ٪ و IC_{50} آن برابر ۲۲/۸۹ ± ٤۷۷/٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (IC_{50} استاندارد ۹/۸ ± ٥۸/٥۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر).

شکل۳- درصد فعال‌سازی پاراکسوناز ۱ سرمی فرد سالم تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی آویشن

داده‌ها به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند.

جدول ۳- میانگین فعالیت آنزیم پاراکسوناز۱ سرمی ۲۰ فرد سالم و ۲۰ فرد دیابتی تحت تأثیر / بدون تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن

فعالیت آنزیم PON1 ($\mu m.\mu l^{-1}.min^{-1}$)	نمونه‌ها
۲٤۱/۹۲ ^{a}± ۱۰/۸٤	افراد نرمال (تحت تأثیر عصاره)
۱۲۱/۰۷ ^{c} ± ۷/۹۱	افراد نرمال (کنترل)
۲۲٥/٥۲ ^{b} ± ۱۰/۳۸	افراد دیابتی (تحت تأثیر عصاره)
۱۱۰/۳۷ ^{d}± ۸/۱۸	افراد دیابتی (کنترل)

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌داری و حروف یکسان نشان دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال $p< 0.05$ است. داده‌ها به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین و با سه تکرار نشان داده شده‌اند

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

جدول ۴- میانگین درصد فعال سازی آنزیم PON1 سرمی ۲۰ فرد سالم و ۲۰ فرد دیابتی تحت تأثیر عصاره‌ی هیدروالکی آویشن

درصد فعال سازی آنزیم PON1	نمونه‌ها
۴۹/۹۵ [a]± ۳/۵۷	افراد نرمال
۵۱/۰۵ [a]± ۳/۲۵	افراد دیابتی

نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ سرمی در افراد دیابتی و نرمال تفاوت معنی‌داری با هم دارند. به‌طوری که فعالیت آنزیم در افراد سالم بیشتر از افراد دیابتی است. همچنین فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ تحت تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن در افراد نرمال و دیابتی تفاوت معنی‌داری دارند، اما میزان فعال سازی آنزیم تحت تأثیر عصاره در دو نمونه‌ی تفاوت معنی‌داری نداشته است.

بحث و نتیجه‌گیری

آویشن گیاهی پُرکاربرد و سرشار از خواص آنتی‌اکسیدانی است، در مطالعات ۵۲/۵۵٪ اجزاء شناسایی شده موجود در اسانس آن مربوط به ترکیبات فنلی هستند. نقش کلیدی ترکیبات فنلی به‌عنوان حذف کننده‌های رادیکال آزاد در چندین مقاله گزارش شده است [۱۹-۲۱]. آنالیز فیتوشیمیایی گونه‌های آویشن حضور ترکیبات فنلی نظیر تیمول، کارواکرول، تیمونین، اسید کافئیک، اسید رزمارونیک، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و ساپونین را نشان داده است [۲۲]. در یک مطالعه ٤٥ ترکیب در اسانس آویشن کوهی لرستان شناسایی شد که عمده‌ترین آنها کارواکرول، تیمول و گاماترپنن اعلام شد [۲۳]. در یک تحقیق آویشن کرک‌آلود (*Thymus eriocalyx*) از ده زیستگاه متفاوت جمع‌آوری شد پس از بررسی اسانس مشخص شد که میزان تیمول از ۰/۱ تا ۵۷/۷ در صد متغیر است [٢٤]. دلیل اختلاف درصد ترکیبات می‌تواند مربوط به زمان برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، ارتفاع و عوامل دیگر باشد. در مطالعه‌ی حاضر نیز درصد تیمول و کارواکرول در عصاره کمتر (تیمول ۰/٤۲ ٪ و کارواکرول ۰/٦۲ ٪) از اسانس مشاهده شد (نتایج GC اسانس آورده نشده است). خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن در مقالات زیادی گزارش شده است ولی درصد مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌ی هیدروالکلی آن برآورد نشده است. در این پژوهش با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی آویشن لرستان با روش DPPH، مشاهده گردید که ۰/٦۳ ± ۸۰/٥٤ ٪ رادیکال‌های آزاد DPPH با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره مهار شد و IC_{50} آن برابر ۰/٤۷۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. Fazel و همکاران فعالیت آنتی رادیکالی اسانس‌های آویشن و مرزه را با روش DPPH ارزیابی و مقادیر IC_{50} اسانس‌ها را به‌ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش نمودند [۲۵]. بنابراین، نتایج حاصله نشان می‌دهد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بیشتر از اسانس بوده که احتمالاً به‌دلیل حضور ترکیبات فنلی زیاد در عصاره هیدروالکلی آویشن است. فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان در بیشتر اختلالات کاهش می‌یابد، لذا یافتن ترکیباتی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته باشند احتمالاً می توانند سبب افزایش فعالیت آن شود.

در تحقیق حاضر نیز حضور ترکیبات فنلی و فلاونوییدها در عصاره و خاصیت بالای آنتی اکسیدانی آن تأیید شده است. آنزیم PON1 سرمی افراد سالم و دیابتی در شرایط آزمایشگاهی تحت تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن لرستان قرار گرفتند و در هر دو مورد افزایش فعالیت آنزیم به‌طور معنی‌داری دیده شد؛ به‌طوری که فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ سرمی در افراد سالم و افراد دیابتی به‌ترتیب که ۵۰ ٪ و ۵۱ ٪ افزایش یافته است، این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار بود و تقریباً به یک اندازه سبب افزایش فعالیت آنزیم در هر دو نمونه شده است.

تاکنون مطالعات گوناگونی بر روی اثر میوه‌های مختلف که مخلوطی از فلاونوئیدها، پلی فنل‌ها و ترکیبات مؤثر دیگر هستند بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز انجام شده است به‌عنوان مثال با خوراندن آب انار به موش‌های صحرایی با نقص apoE، فعالیت پاراکسونازی آنها ٤۳٪ فزایش یافته است [۲٦]. همین‌طور مصرف آب انارتوسط افراد سالم و افراد بیمار دیابتی نوع دو موجب افزایش میزان فعالیت سرمی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

آنزیم پاراکسوناز شده است [۲۸، ۲۷]. مصرف عصاره‌ی هیدروالکلی پوست انار که سرشار از ترکیبات پلی فنلی از جمله فلاونوئیدها هستند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی بر علیه اکسیداسیون LDL دارند و فعالیت آنزیم PON1 را افزایش می‌دهد [۲۹]. در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مصرف عصاره‌ی دانه‌ی انگور فعالیت سرمی آنزیم PON1 را افزایش داده است [۳۰]. همچنین مصرف آب زرشک در افراد دیابتی نیز سبب افزایش غلظت آنزیم PON1 شده است [۳۱]. به‌طور مشابه در تحقیقات دیگر فلاونوئیدهای مرکبات نیز میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز را به‌عنوان یک آنزیم آنتی اکسیدان افزایش دادند [۳۲]. همین‌طور طی تحقیقی نشان دادند که فلاونوئیدهای شراب موجب حفظ فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ می‌گردد [۳۳]. Rosenblat و همکاران طی تحقیقی تأثیر مثبت چای سبز بر روی میزان فعالیت سرمی آنزیم پاراکسوناز را گزارش کردند و پیشنهاد نمودند که آنتی اکسیدان‌های چای سبز می‌تواند فعالیت آنزیم را به‌طور قابل توجهی افزایش دهند [۳۴]. در مطالعه‌ای تأثیر چای یربا ماته (yerba mate)، چای سبز و چای سیب بر روی ۱۴۲ زن و مرد چاق مورد آزمایش قرار گرفت؛ نتایج نشان داد یربا ماته بیشترین تأثیر را روی فعالیت آنزیم پاراکسوناز دارد که احتمالاً به‌دلیل غلظت بالای پلی فنل‌ها و ساختار متفاوت آنها است؛ همین طور فعالیت آنتی اکسیدانتی آن هم بالاتر از چای سبز و حتی ویتامین C و E گزارش شده است [۳۷-۳۵]. تیمار سلول‌های Huh7 با سیب زمینی شیرین بنفش غنی از پلی فنل و آنتوسیانین سبب القا پروموتر PON1 می‌شود [۳۸]. در یک مطالعه روغن زیره‌ی سبز (*Cuminum cyminum*) سبب افزایش فعالیت پاراکسوناز ۱ در بیماران دیابتی شده است و حتی در مقایسه با ویتامین D اثرات مثبت تری بر روی بیماران دیابتی نشان داد [۳۹]. درتحقیق دیگری اثر دریافت پیاز قرمز برسطح اسیداوریک، پروفایل لیپیدی و فعالیت آنزیم پاراکسوناز سرمی در موش‌های صحرایی هیپراوریسمیک انجام گرفت و دریافتند که پیاز از طریق کاهش سطح اسیداوریک و افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان پاراکسوناز می‌تواند نقش مؤثری در کنترل هیپراوریسمی و افزایش توان آنتی اکسیدانی بدن در موش های صحرایی هیپراوریسمیک داشته باشد [۴۱، ۴۰]. مطالعه‌ی تغییرات فعالیت پاراکسوناز و آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز به دنبال تجویز عصاره‌ی آبی سیر در موش‌های صحرایی نشان داد که عصاره‌ی آبی سیر به‌دلیل توانایی افزایش فعالیت آنزیم PON1، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش قدرت آنتی اکسیدانی می تواند به‌عنوان یک ماده‌ی غذایی کاهش دهنده‌ی محصولات تنش اکسیداتیو مورد توجه قرار گیرد [۴۲]. اکثر این عصاره‌ها و ترکیبات ذکر شده غنی از پلی فنل‌ها نظیر فلاونویید هستند که میزان حذف رادیکال آزاد توسط آنها در مواردی حتی بیشتر از ویتامین C و E گزارش شده است [۴۳]. مطالعه های محدودی بر روی اثر فلاونوئیدهای خالص از جمله کوئرسیتین انجام گرفته است. کوئرستین به‌عنوان فلاونویید موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها سبب افزایش بیان ژن و میزان پروتئین PON1 در سلول‌های کشت شده‌ی کبدی انسان شده است. کوئرستین با تأثیر بر فعالیت Ahr (گیرنده آریل هیدروکربن[1]) و فاکتور رونویسی SP1 بیان ژن PON1 و میزان پروتئین آن را در کبد می‌افزاید [۴۴]؛ اما مصرف آن در رژیم غذایی موش‌ها به‌میزان کمتری سبب افزایش بیان ژن و پروتیین PON1 شده است؛ بنابراین در مطالعات *in vivo* مصرف این فلاونویید در رژیم غذایی موش‌ها به‌عنوان القاء کننده‌ی نسبتاً ضعیف‌تری برای PON1 کبدی آنها عمل می‌کند؛ دلیل این موضوع احتمالاً وجود تغییرات پس از ترجمه‌ای احتمالی در ژن PON1 است. زمانی که این ماده به‌عنوان مکمل غذایی البته در دوز و زمان کمتر به انسان خورانده شد تغییری در فعالیت پاراکسوناز مشاهده نشد. سازوکار متفاوت کوئرستین در موش و انسان دلیل این نتایج متفاوت است؛ در موش بیشتر آن به ایزورهامنتین ایزورهامنتین[2] متیله می‌شود که در مطالعات کشت سلولی نشان داده شده است نسبت به کوئرستین یک القا کننده‌ی قوی‌تری برای PON1 است. البته دلیل دیگر آن است که در این مطالعه افراد جوان و سالمی مورد آزمایش قرار گرفتند که میزان فعالیت آنزیم در آنها در سطح مناسبی بوده و با القا بالاتر نرفته است [۴۵]. رزوراترول یک پلی فنول است که بیشتر در انگور، شراب و آجیل یافت می‌شود، زمانی که به‌عنوان مکمل غذایی به افراد بیمار دیابتی داده شد فعالیت آنزیم PON1 در آنها افزایش یافت [۴۶]. رزوراترول بیان ژن PON1 را در کشت هپاتوسیت‌های

[1] Aryl hydrocarbon receptor

[2] Isorhamnetin

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

اولیه و در رده‌ی سلولی هپاتوما HuH 7 با القای فعالیت پروموتر ژن PON1 افزایش می‌دهد [٤٧]. در بیماران دیابتی مصرف اسیدایکوساپنتانویک سبب افزایش فعالیت PON1 شده است [٤٨]. این اسید چرب W_3 علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانتی دارای خواص ضد التهاب، آنتی ترومبوژنیک و آنتی آرتریو سکلروتیک نیز هست [٤٩–٥١]. همین‌طور تأثیر لیپوئیک اسید بر روی PON1 و PON3 در سلول‌های HepG2 مورد مطالعه قرار گرفته است؛ نتایج نشان داده است میزان بیان mRNA مربوط به PON1 و PON3 را به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌دهد؛ اما بیان پروتئین هر دو آنزیم را افزایش می دهد [٥٢]. بنابراین گیاهان و ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانتی بالا و سرشار از فلاوونوئیدها کاندیدای مناسبی برای افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز هستند. در مطالعه‌ی حاضر نیز فعالیت آنزیم PON1 سرمی افراد دیابتی در مقایسه با افراد سالم کمتر محاسبه شد. در مطالعات گذشته نیز کاهش معنی‌دار فعالیت سرمی (آریل استراز و پاراکسونازی) آنزیم PON1 در بیماران دیابتی نسبت به افراد سالم مشاهده شده است [٥٣–٥٥]. و کاهش چشم‌گیرغلظت PON1 در سرم افراد دیابتی نسبت به افراد سالم گزارش شده است [٥٦، ٤]. البته بعضی مطالعات دیگر تفاوت فاحشی را مشاهده نکردند [٥٨، ٥٧]. همچنین کاهش معنی‌دار فعالیت سرمی (آریل استراز و پاراکسونازی) آنزیم PON1 در بیماران دیابتی نسبت به افراد سالم مشاهده شده است [٥١–٥٣].

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مقایسه‌ی فعالیت PON1 سرمی افراد دیابتی و سالم نشان داد که فعالیت PON1 در افراد دیابتی نسبت به سالم کمتر است. همچنین، برای اولین بار تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آویشن بر فعالیت PON1 سرمی افراد دیابتی و سالم بررسی شد. عصاره می تواند فعالیت PON1 سرمی افراد دیابتی و سالم را نسبت به کنترل به طور معنی‌داری ($p<0/05$) افزایش دهد. این نتایج می‌تواند به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی و ترپنوئیدی موجود در عصاره‌ی گیاه باشد. با بررسی‌های بیشتر بر روی این عصاره، شناسایی دقیق‌ترکیبات آن و ارزیابی تأثیر این ترکیبات به‌صورت *in vivo* می توان از مواد مؤثره آن در درمان بیماری‌های مرتبط از جمله دیابت استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه لرستان که امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر می‌نمایند.

مآخذ

1. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, and Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266(1–2): 37–56.
2. Grdic Rajkovic M, Rumora L, and Barisic K. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochem Medica* 2011; 21(2):122-30.
3. Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolysing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *J Biol Chem* 1946; 164: 271–89.
4. MacKness B, MacKness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, et al. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998; 139(2): 341–9.
5. Iborra RT, Ribeiro ICD, Neves MQTS, Charf AM, Lottenberg SA, Negrão CE, et al. Aerobic exercise training improves the role of high-density lipoprotein antioxidant and reduces plasma lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. *Scand J Med Sci Sport* 2008; 18(6): 742–50.
6. Nalcakan GR, Varol SR, Turgay F, Nalcakan M, Ozkol MZ, and Karamizrak SO. Effects of aerobic training on serum paraoxonase activity and its relationship with PON1-192 phenotypes in women. *J Sport Heal Sci* 2016; 5(4): 462–8.
7. Atli M. Serum paraoxonase activity and lipid hydroperoxide levels in adult football players after three days football tournament. *Afr Health Sci* 2013; 13(3): 565–70.
8. Gharakhanlou R, Afzalpour ME, Gaeini AA, and Rahnama N. Effects of Aerobic Exercises on the Serum Paraoxonase 1 / Arylesterase Activity and Lipid Profile in Non-Active Healthy Men. *Int J Sports Sci Engi* 2007; 1(2): 105-12.
9. Nounou HA, Deif MM, and Shalaby MA. Effect of flaxseed supplementation and exercise training on lipid

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

profile, oxidative stress and inflammation in rats with myocardial ischemia. *Lipids in health and disease* 2012; 11(1): 1-0.
10. Sang H, Yao S, Zhang L, Li X, Yang N, Zhao J, Zhao L, Si Y, Zhang Y, Lv X, and Xue Y. Walk-run training improves the anti-inflammation properties of high-density lipoprotein in patients with metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2015; 100(3): 870-9.
11. Otocka-Kmiecik A, Lewandowski M, Szkudlarek U, Nowak D, and Orlowska-Majdak M. Aerobic training modulates the effects of exercise-induced oxidative stress on PON1 activity: a preliminary study. *Sci World J* 2014; 2014: 230271.
12. Jamzad Z. Thymus and Satureja species of Iran . *publication of Research Institute of Forests and Rangelands*, Tehran, 2009; 171 [in Farsi].
13. Austin DF. Medicinal plants of the world. An illustrated scientific guide to important medicinal plants and their uses. *Econ. Bot* 2004; 58(3): 505-505.
14. Moghtader M. Antifungal effects of the essential oil from Thymus vulgaris L. and comparison with synthetic thymol on Aspergillus niger. *J. Yeast Fungal Res* 2012 Dec 31; 3(6): 83-88.
15. Honari N, Pouraboli I, and Gharbi S. Antihyperglycemic property and insulin secreting activity of hydroalcoholic shoot extract of Thymus caramanicus Jalas: A wild predominant source of food additive in folk medicine. *J. Funct Foods* 2018; 46: 128-35.
16. Honari N, and Pouraboli I. The effect of hydroalcoholic extract of Thymus caramanicus on serum testosterone and testis antioxidant enzymes levels in streptozotocin induced diabetic rats: An experimental study. *J. Rafsanjan Univ Med Sci* 2019; 10; 17(11): 1017-30.
17. Jiménez- Escrig A, Jiménez- Jiménez I, Sánchez- Moreno C, and Saura- Calixto F. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2, 2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl. *J Sci Food Agric* 2000; 80(11): 1686-90.
18. Kural BV, Örem C, Uydu HA, Alver A, and Örem A. The effects of lipid-lowering therapy on paraoxonase activities and their relationships with the oxidant–antioxidant system in patients with dyslipidemia. *Coron. Artery Dis* 2004; 15(5): 277-83.
19. Duenas M, Hernandez T, and Estrella I. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chem* 2006; 98(1): 95-103.
20. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, and Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food chem* 2006; 94(4): 550-7.
21. Thériault M, Caillet S, Kermasha S, and Lacroix M. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food chem* 2006; 98(3): 490-501.
22. Blumenthal M, Goldberg A, and Brinckmann J. Herbal medicine: Expanded commission E monographs. Integrative Medicine Communications. *Newton* 2000; 78–83.
23. Mohammadi A. Study of antifungal properties and chemical composition of essential oil of Thymus kotscuyanus Boiss & Hohen. *Iran J Plant Physiol Biochem* 2016; 1(2): 52-62.
24. Kalvandi R, Mirza M, Atri M, Hejazi MH, Jamzad Z, and Safikhani K. Introduction of seven new chemotypes of Thymus eriocalyx (Ronniger) Jalas in Iran based upon the variation of essential oil composition in different populations. *Iranian J Med Aromatic Plants* 2014; 30(1): 101-122.
25. Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M, and Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer savory and clove by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) method. *J Med Plants* 2007 May 10; 6(22): 54-63.
26. Shen WQ, Sun HY, and Wang QM MS. Advances in studies on bioactive constituents and pharmacological activities of chrysthemum morifolium Ramat. *J Tea* 2006; 23(3): 141–4.
27. Haghi G, and Hatami A. Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in plant materials by a newly developed isocratic high-performance liquid chromatography approach. *J agric food chem* 2010 Oct 27; 58(20): 10812-16.
28. Parsaeyan N, Mozaffari-Khosravi H, and Mozayan MR. Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord* 2012; 11(1): 11.
29. Singh RP, Chidambara Murthy KN, and Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem* 2002; 50(1): 81–6.
30. Kiyici A, Okudan N, Gökbel H, Belviranli M. The effect of grape seed extracts on serum paraoxonase activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food* 2010; 13(3): 725–8.
31. Lazavi F, Mirmiran P, Sohrab G, Nikpayam O, Angoorani P, and Hedayati M. The barberry juice effects on metabolic factors and oxidative stress in patients with type 2 diabetes: A randomized clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2018; 31: 170–4.
32. Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(7): 1134–45.
33. Fuhrman B, and Aviram M. Preservation of Paraoxonase Activity by Wine Flavonoids. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 957(1): 321–4.
34. Rosenblat M, Volkova N, Coleman R, Almagor Y, Aviram M. Antiatherogenicity of extra virgin olive oil and its enrichment with green tea polyphenols in the atherosclerotic apolipoprotein-E-deficient mice: enhanced macrophage cholesterol efflux. *J Nutr Biochem* 2008; 19(8): 514–23.
35. Balsan G, Pellanda LC, Sausen G, Galarraga T, Zaffari D, Pontin B, et al. Effect of yerba mate and green tea on paraoxonase and leptin levels in patients affected by overweight or obesity and dyslipidemia: A randomized clinical trial. *Nutr J* 2019; 18(1): 1–10.
36. Albert MA, Glynn RJ, and Ridker PM. Plasma

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

concentration of C-reactive protein and the calculated Framingham Coronary Heart Disease Risk Score. *Circulation* 2003; 108(2): 161–5.
37. Bastos DHM, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya ACHF, Cunha IBS, Carvalho PO, and et al. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (Ilex paraguariensis) and green tea (Camelia sinensis) extracts. *Molecules* 2007; 12(3): 423–32.
38. Esatbeyoglu T, Rodríguez-Werner M, Schlösser A, Winterhalter P, and Rimbach G. Fractionation, enzyme inhibitory and cellular antioxidant activity of bioactives from purple sweet potato (Ipomoea batatas). *Food Chem* 2017; 221: 447–56.
39. Keihan GS, Gharib MH, Momeni A, Hemati Z, Sedighin R. A comparison between the effect of cuminum cyminum and vitamin E on the level of leptin, paraoxonase 1, HbA1c and oxidized LDL in diabetic patients. *Int J Mol Cell Med* 2016; 5(4): 229–35.
40. Gomaa EZ. Antimicrobial, antioxidant and antitumor activities of silver nanoparticles synthesized by Allium cepa extract: A green approach. *J Genet Eng Biotechnol* 2017; 15(1): 49–57.
41. Jaiswal N, and Rizvi SI. Onion extract (Allium cepa L.), quercetin and catechin up-regulate paraoxonase 1 activity with concomitant protection against low-density lipoprotein oxidation in male Wistar rats subjected to oxidative stress. *J Sci Food Agric* 2014; 94(13): 2752–7.
42. Rashtchizadeh N, Ghorbanihaghjo A , Momeni MMM, Ghoran, M. G. and Hashemzadeh J. Effects of aqueous garlic extract on paraoxonase and arylesterase activity in rats. *Urmia Med J* 2010; 21(2): 260–6.
43. .Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Tran MX, and Stohs SJ. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 95(2): 179–89.
44. Gouédard C, Barouki R, and Morel Y. Dietary Polyphenols Increase Paraoxonase 1 Gene Expression by an Aryl Hydrocarbon Receptor-Dependent Mechanism. *Mol Cell Biol* 2004; 24(12): 5209–22.
45. Boesch-Saadatmandi C, Egert S, Schrader C, Coumoul X, Barouki R, Muller MJ, and et al. Effect of quercetin on paraoxonase 1 activity - studies in cultured cells, mice and humans. *J Physiol Pharmacol* 2010; 61(1): 99–105.
46. Tabatabaie M, Abdollahi S, Salehi-Abargouei A, Clark CCT, Karimi-Nazari E, Fallahzadeh H, et al. The effect of resveratrol supplementation on serum levels of asymmetric de-methyl-arginine and paraoxonase 1 activity in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind controlled trial. *Phyther Res* 2020; 34(8): 2023–31.
47. Gouédard C, Barouki R, Morel Y. Induction of the paraoxonase-1 gene expression by resveratrol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(12): 2378–83.
48. Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao C, Kumar EG, and Harinarayan CV. Effect of omega3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Met* 2002 ; 28(1): 20-6.
49. Figueras M, Olivan M, Busquets S, López-Soriano FJ, and Argilés JM. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: Improvement of the inflammatory status. *Obesity* 2011; 19(2): 362–9.
50. Nomura S, Kanazawa S, and Fukuhara S. Effects of eicosapentaenoic acid on platelet activation markers and cell adhesion molecules in hyperlipidemic patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2003; 17(3): 153–9.
51. Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita T, Tamura Y, et al. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis* 1983; 46(3): 321–31.
52. Ozgun E, Ozgun GS, Gokmen SS, Esklocak S, Sut N, Aklncl M, et al. Effect of Lipoic Acid on Serum Paraoxonase-1 and Paraoxonase-3 Protein Levels and Activities in Diabetic Rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2019 ;127(6) :377–84.
53. Inoue M, Suehiro T, Nakamura T, Ikeda Y, Kumon Y, Hashimoto K. Serum arylesterase/diazoxonase activity and genetic polymorphisms in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2000; 49(11): 1400–5.
54. Letellier C, Durou MR, Jouanolle AM, Le Gall JY, Poirier JY, Ruelland A. Serum paraoxonase activity and paraoxonase gene polymorphism in type 2 diabetic patients with or without vascular complications. *Diabetes Metab* 2002; 28(4 I): 297–304.
55. Juretić D, Motejlkova A, Kunović B, Rekić B, Flegar-Meštrić Z, Vujić L, et al. Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. *Acta Pharm* 2006; 56(1): 59–68.
56. Boemi M, Leviev I, Sirolla C, Pieri C, Marra M, and James RW. Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to non-diabetic, first degree relatives; influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis* 2001; 155(1): 229–35.
57. Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, and Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(11): 1812–8.
58. She ZG, Zheng W, Wei YS, Chen HZ, Wang AB, Li HL, et al. Human paraoxonase gene cluster transgenic overexpression represses atherogenesis and promotes atherosclerotic plaque stability in ApoE-Null Mice. *Circ Res* 2009; 104(10): 1160–8.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]

IN VITRO EVALUATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY OF THYMUS KOTSCHYANUS HYDRO-ALCOHOLIC EXTRACTS AND ITS EFFECT ON SERUM PARAOXONASE 1 ACTIVITY IN DIABETIC AND HEALTHY PERSONS

Seyedeh Somayeh Mousavi[1], Faranak Hadi[1], Farideh Azarbani[1]*

1. *Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran*

ABSTRACT

Background: *Thymus* species have significant amounts of phenolic and flavonoid compounds and demonstrate strong antioxidant activities. Paraoxonase1 act as antioxidant enzyme and protect the low-density lipoprotein against oxidation. In our study we aimed to evaluate the antioxidant capacity of *Thymus Kotschyanus* Hydroalcoholic extract and its effect on serum paraoxonase 1 activity in healthy and diabetic person.

Methods: The antioxidant activity, and functional groups of the constituents in *T. Kotschyanus* Hydroalcoholic extract were determined using DPPH free radical scavenging assay, and The FTIR spectroscopy, respectively**.** Paraoxonase-1 activity was determined in 40 healthy and diabetic persons by measuring the rate of paraoxon hydrolysis substrate to p-nitrophenol, which absorbance was monitored at 405 nm. The data Statistically were analyzed by Duncan's and independent t-test.

Results: The IC50 values (the concentration with scavenging activity of 50%) was found to be 477.5 µg/ml. FTIR spectrum analysis showed biomolecules containing a hydroxyl group and aromatic ring in *T. Kotschyanus* hydroalcoholic extract. Serum paraoxonase activity in healthy and diabetic humans exposed to the extract at concentration of 1 mg/mL increased by 49.95 ± 3.57% and 51.05 ± 3.25%, respectively. Although there was a significant difference between serum enzyme activity in healthy and diabetic subjects in the presence and absence of the extract but the amount of enzyme activation affected by the extract in two healthy and patient did not show significant difference.

Conclusion: This plant extract increased enzyme activity due to the antioxidant properties and the presence of phenolic compounds in the plant extract.

Keywords: Thymus, Diabetes, Antioxidant, Paraoxonase

* Lorestan University, Faculty of Science, Department of Biology, 5th Kilometer of Khorramabad-Boroujerd Highway, Lorestan. Iran. Postal code: +9868151-44316, Tel: +9866 33230951, Fax:+ 986633120618, E-mail: Azarbani.f@lu.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-25]