آویشن ایرانی (*Thymus persicus*): گیاهی حاوی متابولیت‌های فعال با اثرات آنتی‌اکسیدانتی، ضددیابتی و ضدآلزایمری

بهور اصغری[1]*، فرهاد حبیب‌زاده[2]، مجید قربانی نهوجی[3]

۱- استادیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
۲- استادیار، گروه ژنتیک و بهنژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
۳- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
*آدرس مکاتبه: قزوین، بلوار دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، روبروی صدا و سیما، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه مهندسی علوم باغبانی، کدپستی: ۳۴۱۴۸۹۶۸۱۸
تلفن تماس: ۳۳۹۰۱۱۷۴ (۰۲۸) نمابر: ۳۳۷۸۰۰۷۳ (۰۲۸)
پست الکترونیک: behvar.asghari@gmail.com, asghari@eng.ikiu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۱ **تاریخ تصویب:** ۹۷/۹/۲۶ doi: 10.29252/jmp.2.70.97

چکیده

مقدمه: گیاه دارویی آویشن ایرانی (***Thymus persicus***) از جمله گیاهان بومی ایران است که جوشانده و عصاره‌های آن استفاده های غذایی و دارویی فراوانی دارند.

هدف: بررسی محتوای متابولیتی عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی و تعیین بهترین عصاره از نظر میزان قدرت آنتی‌اکسیدانتی و خواص ضددیابتی و ضدآلزایمری.

روش بررسی: میزان محتوای فنلی، فلاونوئیدی و تانن نمونه‌ها، به ترتیب با معرف‌های فولین- سیکالتیو، $AlCl_3$ و فولین- دنیس اندازه‌گیری شد و برای تعیین محتوای ساپونینی، روش وانیلین- سولفوریک اسید به کار رفت. بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌ها با چهار روش مهار رادیکال‌های آزاد **DPPH** و **OH**، روش فسفومولیبدنیوم و تعیین قدرت کیلیت‌کنندگی یون فروس انجام شد. برای بررسی قدرت ضددیابتی نمونه‌ها میزان اثر بازدارندگی آنها بر فعالیت دو آنزیم آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز و برای بررسی قدرت ضدآلزایمری، از اندازه‌گیری اثر مهاری نمونه‌ها بر روی دو آنزیم استیل و بوتیریل کولین استراز استفاده شد.

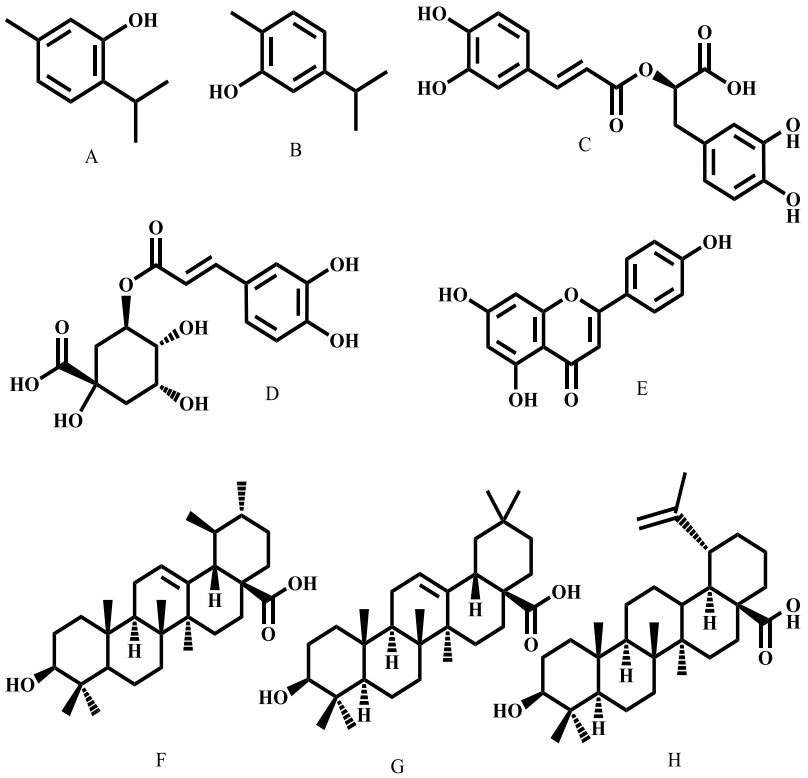
نتایج: جوشانده و عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن ایرانی دارای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تانن بالاتری نسبت به عصاره‌های دیگر بودند. از نظر محتوای ساپونینی عصاره اتیل‌استاتی دارای بیشترین مقدار بود. بر اساس نتایج تست‌های آنتی‌اکسیدانتی جوشانده و عصاره هیدروالکلی بالاترین پتانسیل را داشتند. در تست‌های ضددیابتی (مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز) و ضدآلزایمری (مهار آنزیم‌های استیل و بوتیریل کولین‌استراز) نیز جوشانده و عصاره هیدروالکلی قدرت بالایی نشان دادند و به شکل معنی‌داری در مقایسه با دیگر عصاره‌ها اثر مهاری بالاتری داشتند.

نتیجه‌گیری: قدرت بالای جوشانده و عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن ایرانی از نظر اثر آنتی‌اکسیدانتی و خواص ضددیابتی و ضدآلزایمری را می‌توان به مقدار بیشتر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و تانن در این عصاره‌ها ارتباط داد.

گل‌واژگان: آویشن، جوشانده، عصاره، محتوای متابولیتی، مهار آنزیمی

مقدمه

آویشن ایرانی با نام علمی *Thymus persicus* (Ronniger ex Rech.f.) Jalas از جمله گیاهان بومی ایران و متعلق به تیره نعنائیان (Lamiaceae=Labiatae) است. این گونه یکی از گونه‌های انحصاری جنس آویشن (*Thymus*) در ایران است که بیشتر در شمال غرب ایران بویژه استان‌های زنجان و آذربایجان غربی یافت می‌شود [۱]. گونه‌های مختلف این جنس از گذشته به عنوان ادویه و طعم‌دهنده دارای مصارف مختلف غذایی بوده‌اند. همچنین دم‌کرده و جوشانده اندام هوایی این گیاهان در طب سنتی ایران به عنوان عامل تقویت‌کننده، ضدنفخ، ضدالتهاب، کمک کننده به هضم و خلط آور مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۲]. در مطالعات انجام شده بر روی گیاهان این جنس، وجود خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانتی، ضدتوموری و حشره کشی به اثبات رسیده است [۵-۳]. با توجه به معطر بودن اکثر گونه‌های آویشن، بخش بزرگی از پژوهش‌های مرتبط با این گیاهان به شناسایی و بررسی خواص و کاربردهای ترکیبات فرار و معطر موجود در آنها پرداخته است. بر اساس این مطالعات دو مونوترپن تیمول و کارواکرول (شکل شماره ۱)، اصلی‌ترین ترکیبات موجود در اسانس گونه های مختلف آویشن هستند و علاوه بر آنها موادی نظیر لینالول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، بورنئول، ۱و۸-سینئول، کامفرول و بتا-کاریوفیلن از مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گونه‌ها به حساب می‌آیند [۷، ۶، ۲]. علاوه بر این ترکیبات فرار، حضور سایر متابولیت‌های ثانویه نظیر رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، فلاونوییدهایی نظیر آپیجنین و ترکیبات تری‌ترپنوییدی پنج حلقه‌ای مانند بتولینیک اسید، اولئانولیک اسید و اورسولیک اسید در گونه‌های مختلف آویشن مورد تأیید قرار گرفته است [۸،۹].



شکل شماره ۱- ساختار شیمیایی معروف‌ترین متابولیت‌های ثانویه‌ی موجود در گونه‌های مختلف آویشن، A) تیمول، B) کارواکرول، C) رزمارینیک اسید، D) کلروژنیک اسید، E) آپیجنین، F) اورسولیک اسید، G) اولئانولیک اسید، H) بتولینیک اسید

در بررسی که بر روی گیاه *Thymus quinquecostatus* انجام گرفت، نشان داده شد که فرکشن اتیل‌استاتی عصاره تام متانولی این گیاه از قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالایی برخوردار است. آنالیز HPLC عصاره این گیاه حضور ترکیباتی نظیر کلروژنیک اسید، روتین و رزمارینیک اسید را در آن به اثبات رساند. اثر ضددیابتی این گیاه نیز با بررسی اثر بازدارندگی عصاره‌های آن بر روی فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز ارزیابی شد. نتایج حاکی از این بود که فرکشن اتیل‌استاتی و بوتانولی عصاره تام متانولی آن دارای قدرت مهاری بالایی می‌باشند [۱۰]. در مطالعه دیگری که بر روی اثر آنتی‌اکسیدانتی عصاره اتانولی شش گونه متفاوت *Thymus* با روش‌هایی مانند مهار رادیکال‌های DPPH و نیتریک اکسید و اندازه‌گیری قدرت احیاءکنندگی و کیلیت‌کنندگی یون فروس انجام گرفت، قدرت بالای آنتی‌اکسیدانتی این گونه‌ها به اثبات رسید. همچنین اثر ضدآلزایمری این گونه‌های گیاهی با بررسی قدرت مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استراز اندازه‌گیری شد. در بین گونه‌های مورد بررسی *T. longicaulis*، *T. pulegioides* و *T. vulgaris* دارای بالاتری قدرت مهاری بر روی این آنزیم بودند [۱۱]. گزارش‌های دیگری نیز وجود دارد که قدرت آنتی اکسیدانتی، ضددیابتی و ضدآلزایمری گونه‌های دیگر از جنس Thymus مانند گیاه *T. argaeus* را مورد تأیید قرار داده‌اند [۱۲]. علی‌رغم تحقیقات فراوانی که بر روی گونه‌های مختلف جنس *Thymus* انجام گرفته است، ولی بر روی آویشن ایرانی به عنوان یک گونه بومی مطالعات چندانی وجود ندارد. بیشتر گزارشات موجود، در زمینه شناسایی کیفی و کمی اجزای تشکیل‌دهنده و خواص بیولوژیکی اسانس این گیاه است [۱۳]. سفیدکن و همکارانش در بررسی اسانس این گونه گیاهی نشان دادند که کارواکرول، ژرانیول، پارا- سیمن، تیمول، گاما-ترپینن و ژرانیل استات اصلی‌ترین اجزای موجود در آن هستند [۱۴]. در تحقیقات دیگر سه ترکیب لیمونن، تیمول و کارواکرول به عنوان ترکیبات اصلی گیاه آویشن ایرانی شناسایی شده و خصلت حشره‌کشی این اسانس نیز به اثبات رسیده است [۱۵، ۵]. به هر حال، ترکیبات منوترپنی اصلی‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس این گیاه بوده و سایر ترکیبات مقادیر کمتری از کل اسانس را به خود اختصاص داده‌اند. مهم‌ترین خواص بیولوژیکی گزارش شده از اسانس گیاه *T. persicus*، خاصیت ضدباکتریایی آن است. در بررسی که توسط Rasooli و Mirmostafa بر روی خاصیت آنتی باکتریایی اسانس گیاه آویشن ایرانی در مقابل باکتری‌هایی نظیر *E. coli*، *S. aureus*، *K. pneumonia* و *B. subtilis* انجام گرفت [۱۶]، نشان داده شد که منوترپن‌های فنلی نظیر کارواکرول و تیمول و همچنین منوترپن‌های هیدروکربنی آروماتیک نظیر پارا- سیمن که در جمع بیش از ۷۵ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند اصلی‌ترین عوامل ایجاد کننده خاصیت ضدباکتریایی این اسانس می‌باشند. در مطالعه‌ای دیگر علاوه بر سویه‌های باکتریایی فوق، اسانس گیاه آویشن ایرانی قدرت مقابله قابل توجهی در برابر باکتری گرم منفی *P. aeruginosa* از خود نشان داد [۱۷]. با وجود این تحقیقات، تاکنون مطالعه جامعی در مورد انواع محتویات متابولیتی و خواص بیولوژیکی و درمانی عصاره‌های مختلف گیاه آویشن ایرانی وجود ندارد که این پژوهش به منظور رسیدن به این هدف طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

اندام هوایی گیاه آویشن ایرانی در تابستان ۱۳۹۶ از ارتفاعات شهرستان تکاب (۲۵۰۰ متر از سطح دریا) واقع در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاه مورد نظر در فضایی دور از نور مستقیم خورشید خشک شد و برای انجام فرآیند عصاره‌گیری و تهیه جوشانده آماده شد. از بخشی از نمونه نیز پس از انتقال به هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی، نمونه استاندارد هرباریومی تهیه شد و با استفاده از منابع معتبر گیاهشناسی شناسایی دقیق انجام گرفت.

فرآیند عصاره‌گیری

عصاره‌گیری از گیاه مورد بررسی در این تحقیق به روش خیساندن انجام گرفت. برای این منظور ۳۰ گرم از پودر گیاه، وزن شده و به سه قسمت مساوی (۱۰ گرم) تقسیم شد و هر

قسمت در یک ظرف قرار گرفت. سپس در داخل یکی از این ظروف ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان در داخل ظرف دوم ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال اتیل‌استات و در ظرف سوم ۵۰۰ میلی‌لیتر مخلوط ۸۰ درصد اتانول در آب اضافه شد. ظروف عصاره‌گیری توسط ورقه‌های آلومینیومی پوشیده شد تا محتویات آن در معرض نور قرار نگیرند و در نهایت عصاره‌گیری به مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. فرآیند مذکور ۳ مرتبه بر روی هر نمونه انجام گرفت تا از استخراج کلیه مواد مؤثره گیاه اطمینان حاصل شود. عصاره‌های به دست آمده، بعد از صاف شدن، توسط تبخیر کننده دوار، در فشار کاهش یافته و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، تغلیظ و خشک شد.

تهیه جوشانده

برای تهیه جوشانده گیاه آویشن ایرانی، به ۱۰ گرم از این گیاه ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل بر روی حرارت قرار گرفت و پس از به جوش آمدن آب به مدت ۱۵ دقیقه گیاه در آب جوشانده شد. سپس مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه سرد شد و درنهایت صاف شد. جوشانده به دست آمده پس از تهیه، تحت فریزدرای قرار گرفت تا خشک شده و به حالت پودر درآید. عصاره‌ها و جوشانده تهیه شده تا زمان انجام آنالیزهای مربوط در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی محتوای فیتوشیمیایی

تعیین محتوای فنلی تام

برای تعیین محتوای تام فنلی نمونه‌های مورد بررسی از روش فولین- سیکالتیو استفاده شد [۱۸]. نتایج مربوط به محتوای فنلی تام نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره خشک (mg GAEs/g extract) بیان شده است.

تعیین محتوای فلاونوئیدی تام

برای تعیین محتوای فلاونوئیدی تام نمونه‌های تهیه شده از گیاه آویشن ایرانی از روش کلرید آلومینیم استفاده شد [۱۸]. نتایج نهایی بر حسب میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره خشک (mg QEs/g extract) بیان شده است.

تعیین محتوای تانن تام

اندازه‌گیری محتوای تانن کل عصاره‌ها و جوشانده‌ی گیاه آویشن ایرانی با اعمال برخی تغییرات بر روش گزارش شده قبلی و با استفاده از معرف فولین- دنیس انجام گرفت [۱۹]. نتایج این اندازه‌گیری بر حسب معادل میلی‌گرم تانیک اسید بر گرم عصاره خشک (mg TAEs/g extract) بیان شد.

تعیین محتوای ساپونینی تام

محتوای ساپونینی نمونه‌های تهیه شده در این تحقیق با استفاده از روش وانیلین- سولفوریک اسید تعیین شد [۲۰]. در این روش ساپونین کوئیلاجا به عنوان ماده رفرنس استفاده شد و محتوای ساپونینی کل نمونه‌ها به صورت معادل میلی‌گرم کوئیلاجا بر گرم خشک عصاره (mg QAEs/g extract) بیان شد.

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانتی

تعیین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

در این تحقیق از روش رنگ‌سنجی جهت تعیین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط نمونه‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی استفاده شد [۲۱]. نتایج به صورت IC_{50} یعنی غلظت مورد نیاز از عصاره برای از بین بردن ۵۰ درصد از رادیکال های DPPH بیان شد.

تعیین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد OH

برای تعیین میزان قدرت مهار رادیکال‌های هیدروکسیل توسط نمونه‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی از روش اسپکتروفتومتری که قبلاً گزارش شده است استفاده شد [۲۲]. در این تست نیز به روش مشابه آنچه که در مورد رادیکال‌های DPPH بیان شد، نتایج به صورت IC_{50} ارائه شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل با استفاده از روش فسفومولیبدنیوم انجام گرفت. در این روش احیاء Mo (VI) به Mo (V) و تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفات از یون Mo (V) پایه و اساس تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانتی نمونه به حساب می‌آید. قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره بر حسب معادل میلی‌گرم آسکوربیک اسید در هر گرم عصاره خشک (mg AAEs/g extract) به دست آمد [۲۲].

تعیین فعالیت کیلیت‌کنندگی یون فروس

برای اندازه‌گیری قدرت کیلت‌کنندگی یون فروس جوشانده و عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی، از روش رنگ‌سنجی که قبلاً گزارش شده است استفاده شد [۲۳]. به عنوان واکنش کنترل مخلوطی که فقط حاوی $FeCl_2$ و فروزین بود، به کار رفت. در این تست ترکیب اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) ماده رفرنس بود و نتایج به دست آمده به صورت میلی‌گرم معادل EDTA بر گرم عصاره (mg EDTAs/g extract) بیان شد.

قدرت مهارکنندگی آنزیمی

تست مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز

در این تحقیق میزان فعالیت مهارکنندگی نمونه‌ها بر روی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز با استفاده از روش رنگ‌سنجی گزارش شده در منابع مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و به صورت میلی‌مول معادل آکاربوز بر گرم عصاره (mmol ACEs/g extract) بیان شد [۲۴،۲۵].

تست مهار آنزیم‌های کولین استراز

قدرت مهارکنندگی عصاره‌ها و جوشانده گیاه آویشن ایرانی بر روی دو آنزیم استیل کولین استراز (AChE) و بوتیریل کولین استراز (BChE) با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری انجام گرفت [۲۶]. در این تحقیق گالانتامین به عنوان ماده مرجع به کار برده شد. درصد مهار فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی، در مقایسه با مخلوط شاهد حاوی کلیه واکنش‌گرها به غیر از آنزیم تعیین شد. نتایج به دست آمده بر حسب میزان معادل گالانتامین (mmol GALAEs/g extract) بیان شد.

آنالیز آماری

داده‌های آزمایشی مربوط به صفات اندازه‌گیری شده، با محاسبه میانگین سه تکرار به دست آمده است. مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ($P<۰/۰۵$) با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد.

نتایج

محتوای متابولیتی گیاه آویشن ایرانی

در این تحقیق میزان محتوای انواع متابولیت‌های گیاه آویشن ایرانی مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه‌ای که اثر فراوانی در ایجاد خواص بیولوژیکی و دارویی در گیاهان دارند، می‌توان به ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، تانن و ساپونینی اشاره کرد. نتایج مربوط به اندازه‌گیری این ترکیبات در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بالاترین میزان محتوای فنلی عصاره‌های به دست آمده از گیاه *T. persicus* به مقدار ۱۰۵/۹ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره در جوشانده این گیاه مشاهده شد. عصاره هیدروالکلی اگر چه به شکل معنی‌داری محتوای فنلی کمتری از جوشانده دارد، اما با داشتن مقدار ۷۷/۸ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره دارای محتوای قابل قبولی است. این در حالی است که عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی به ترتیب با داشتن ۲۴/۱ و ۲۵/۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره از محتوای فنلی بالایی برخوردار نیستند.

بر اساس نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری میزان محتوای فلاونوئیدی تام نمونه‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی، جوشانده و عصاره هیدروالکلی این گیاه به ترتیب با دارا بودن مقادیر ۵۱/۶ و ۵۲/۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره دارای بالاترین مقدار می‌باشند. اندازه‌گیری میزان محتوای فلاونوئیدی تام عصاره اتیل‌استاتی این گیاه نشان داد که این عصاره با مقدار ۲۴/۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره در مقایسه با عصاره هگزانی (۱۵/۸ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم عصاره) دارای مقدار بیشتری است.

جوشانده و عصاره هیدروالکلی به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی از نظر میزان ترکیبات تانن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند و در مقایسه با عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی دارای محتوای بالاتری هستند. همانگونه که در جدول شماره ۱ نیز قابل مشاهده است این عصاره‌ها به ترتیب دارای ۶/۵ و ۶/۹ میلی‌گرم معادل تانیک اسید بر گرم عصاره می‌باشند؛ این در حالی است که هر دو عصاره‌ی اتیل‌استاتی و هگزانی دارای مقدار محتوای تانن کمتر از ۲/۵ میلی‌گرم معادل تانیک اسید بر گرم عصاره هستند.

جدول شماره ۱- میزان محتوای فنلی (TPC)، فلاونوئیدی (TFC)، تانینی (TTC) و ساپونینی (TSC) جوشانده و عصاره‌های مختلف گیاه آویشن ایرانی*

نمونه	TPC (mg GAEs/g)	TFC (mg QEs/g)	TTC (mg TAEs/g)	TSC (mg QAEs/g)
عصاره هگزانی	۲۵/۴ ± ۳/۲^{c}	۱۵/۸ ± ۲/۳^{c}	۲/۲ ± ۰/۶^{b}	۴۷/۹ ± ۲/۹^{b}
عصاره اتیل‌استاتی	۲۴/۱ ± ۲/۲^{c}	۲۴/۴ ± ۱/۱^{b}	۲/۴ ± ۰/۵^{b}	۵۴/۶ ± ۱/۹^{a}
عصاره هیدروالکلی	۷۷/۸ ± ۳/۷^{b}	۵۲/۹ ± ۳/۹^{a}	۶/۹ ± ۰/۴^{a}	۳۴/۷ ± ۱/۷^{c}
جوشانده	۱۰۵/۹ ± ۴/۵^{a}	۵۱/۶ ± ۳/۶^{a}	۶/۵ ± ۰/۴^{a}	۲۶/۲ ± ۲/۵^{d}

* داده‌ها به همراه انحراف استاندارد آورده شده‌اند و در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

در مورد میزان محتوای ساپونینی عصاره‌های گیاه *T. persicus* روند متفاوت‌تری از آنچه در مورد متابولیت‌های دیگر وجود داشت، شاهد بودیم. بر اساس نتایج به دست آمده عصاره‌ی اتیل‌استاتی با دارا بودن ۵۴/۶ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم عصاره دارای بالاترین مقدار است و پس از آن عصاره هگزانی نیز با داشتن ۴۷/۹ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم عصاره دارای محتوای ساپونینی نسبتاً بالایی است. عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن ایرانی اگر چه به شکل معنی‌داری از عصاره‌های هگزانی و اتیل‌استاتی مقدار محتوای ساپونینی پائین‌تری دارد (۳۴/۷ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم عصاره) اما در مقایسه با جوشانده گیاه (۲۶/۲ میلی‌گرم معادل ساپونین کوئیلاجا بر گرم عصاره) دارای ساپونین بالاتری است.

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی

بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی در این تحقیق به چهار روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و OH، اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل با استفاده از روش فسفومولیبدنیوم و تعیین قدرت کیلیت کنندگی یون فروس انجام گرفت. نتایج مربوط به این اندازه گیری‌ها در جدول شماره ۲ آورده شده است.

بر طبق بررسی انجام شده در بین نمونه‌های به دست آمده از گیاه *T. persicus*، جوشانده این گیاه دارای قدرت مهار بسیار بالایی در مقابل رادیکال‌های آزاد DPPH می‌باشد. IC_{50} مربوط به جوشانده این گیاه برابر ۶۳/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که تفاوت معنی‌داری با IC_{50} آسکوربیک اسید به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانت مرجع (با IC_{50} معادل ۵۷/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ندارد. IC_{50} غلظتی از نمونه را نشان می دهد که می‌تواند ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط را از بین ببرد و مسلماً هر چه نمونه‌ای در غلظت پایین تر این کار را انجام دهد از قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالاتری برخوردار است. عصاره هیدروالکلی نیز با داشتن IC_{50} معادل ۸۵/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر از توانایی نسبتاً خوبی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد DPPH برخوردار است. اما دو عصاره اتیل استاتی و هگزانی به ترتیب با دارا بودن مقادیر IC_{50} معادل ۱۴۰/۸ و ۲۵۹/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر ضد رادیکالی بالایی در برابر رادیکال‌های DPPH از خود نشان ندادند. همین دو عصاره در مهار رادیکال‌های OH نیز دارای عملکرد بسیار ضعیفی بودند و IC_{50} آنها بالاتر از ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. جوشانده و عصاره هیدروالکی گیاه آویشن ایرانی اگرچه در مقایسه با عصاره‌های اتیل استاتی و هگزانی به شکل معنی‌داری قدرت بالاتری در مهار رادیکال‌های هیدروکسیل از خود نشان می‌دهند اما در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان ماده ضدرادیکال مرجع با IC_{50} معادل ۸۳/۱ میکروگرم بر میلی لیتر دارای قدرت مهاری چندان بالایی نیستند.

اندازه‌گیری فعالیت کیلیت‌کنندگی یون Fe^{2+} نمونه‌های گیاهی نشان داد که به غیر از عصاره هگزانی با قدرت کیلیت کنندگی ضعیف (۲۰/۶ میلی‌گرم معادل EDTA بر گرم عصاره)، عصاره‌های اتیل استاتی و هیدورالکلی و همچنین جوشانده گیاه آویشن ایرانی به ترتیب با ۵۳/۹، ۵۹/۱ و ۵۵/۲ میلی گرم معادل EDTA بر گرم نمونه از قدرت کیلیت‌کنندگی بالایی برخوردارند که این امر نشان از قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالای این نمونه‌ها است.

جدول شماره ۲- قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و OH، قدرت کیلیت‌کنندگی یون فروس (FCA) و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل (TAA) جوشانده و عصاره‌های مختلف گیاه آویشن ایرانی

نمونه	DPPH (IC_{50} µg/ml)	OH (IC_{50} µg/ml)	FCA (mg EDTAs/g)	TAA (mg AAEs/g)
عصاره هگزانی	۲۵۹/۴ ± ۲/۳^{d}	> ۴۰۰^{d}	۲۰/۶ ± ۱/۰^{c}	۷۷/۴ ± ۳/۴^{c}
عصاره اتیل‌استاتی	۱۴۰/۸ ± ۴/۳^{c}	> ۴۰۰^{d}	۵۳/۹ ± ۲/۳^{b}	۱۰۵/۵ ± ۱/۸^{b}
عصاره هیدروالکلی	۸۵/۷ ± ۲/۶^{b}	۲۵۷/۱ ± ۶/۲^{c}	۵۹/۱ ± ۲/۲^{a}	۱۱۶/۳ ± ۷/۲^{a}
جوشانده	۶۳/۹ ± ۵/۷^{a}	۲۱۳/۵ ± ۵/۵^{b}	۵۵/۲ ± ۱/۳^{ab}	۱۲۰/۴ ± ۴/۹^{a}
آسکوربیک اسید	۵۷/۵ ± ۳/۹^{a}	۸۳/۱ ± ۴/۶^{a}	–	–

*داده‌ها به همراه انحراف استاندارد آورده شده‌اند و در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانتی کل با استفاده از فسفومولیبدینیوم یکی از روش‌های معمول بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانتی نمونه‌های گیاهی است. در این تحقیق نیز از این روش برای عصاره‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی استفاده شد و بر اساس نتایج به دست آمده، جوشانده و عصاره هیدروالکلی این گیاه به ترتیب با نشان دادن مقدار ۱۲۰/۴ و ۱۱۶/۳ میلی‌گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم نمونه از قدرت آنتی‌اکسیدانتی بالایی برخوردارند. عصاره اتیل استاتی نیز با داشتن ۱۰۵/۵ میلی‌گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم عصاره از قدرت آنتی‌اکسیدانتی قابل قبولی برخوردار می‌باشد. بر طبق این آزمایش عصاره هگزانی این گیاه با مقدار ۷۷/۴ میلی گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم عصاره ضعیف‌ترین نمونه از نظر قدرت آنتی‌اکسیدانتی است.

قدرت مهار آنزیمی

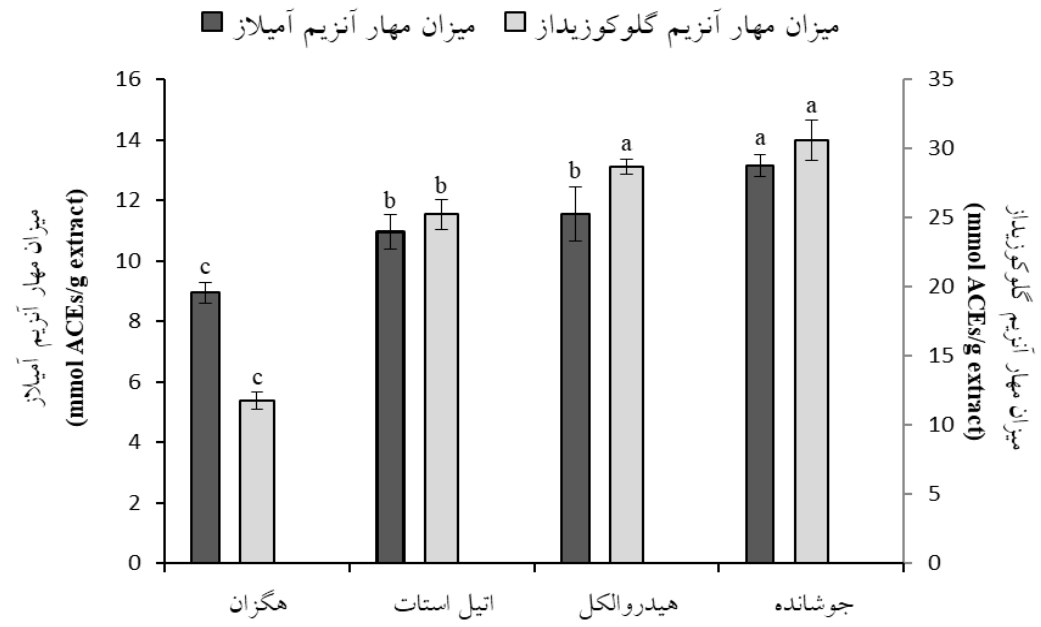
مهار فعالیت آنزیم‌های دخیل در دیابت

بر اساس نتایج مربوط به آزمایشات انجام گرفته، تمامی عصاره‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی دارای قدرت مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز می‌باشند (شکل شماره ۲). جوشانده و عصاره‌های هیدروالکلی و اتیل استاتی این گیاه به ترتیب با داشتن ۱۳/۱۴، ۱۱/۵۶ و ۱۰/۹۵ میلی‌مول معادل آکاربوز بر گرم عصاره فعالیت خوبی در مهار آنزیم آلفا-آمیلاز از خورد نشان داده است.

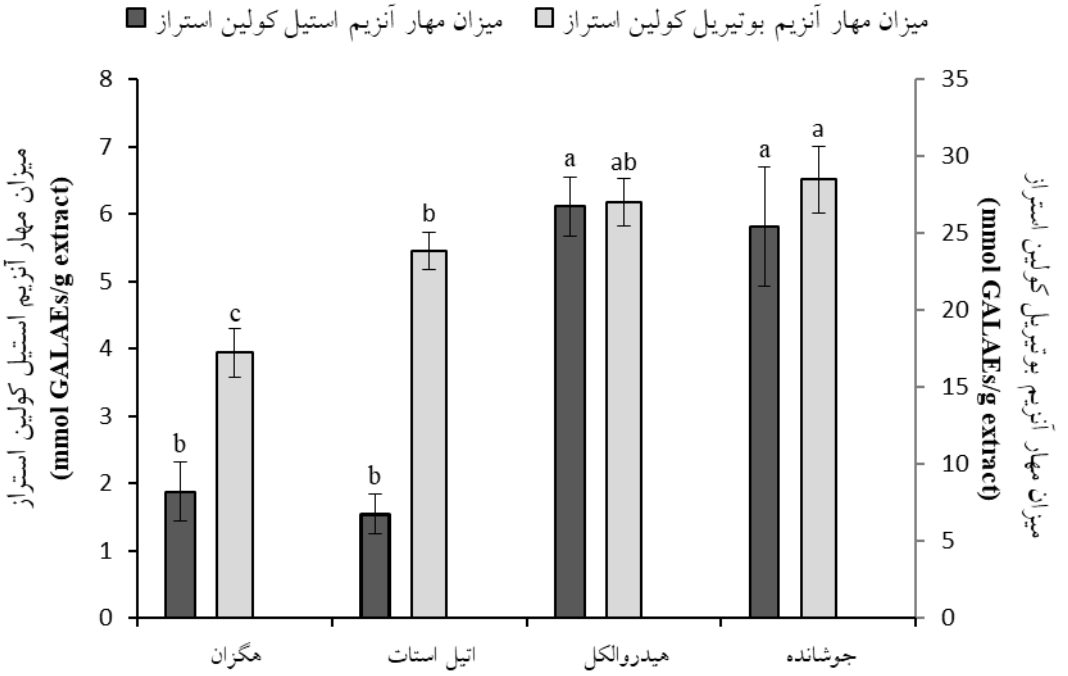
همین عصاره‌ها در مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نیز پتانسیل بسیار بالایی داشتند و به ترتیب با مقادیر ۳۰/۵۷، ۲۷/۶۷ و ۲۵/۲۳ میلی‌مول معادل آکاربوز بر گرم عصاره، این توانایی را دارند که بتوانند به خوبی فعالیت آنزیم مذکور را در تولید گلوکز، کاهش دهند و از افزایش قند خون جلوگیری نمایند. عصاره هگزانی در مقایسه با عصاره‌های دیگر دارای توانایی پایین‌تری در بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز (به ترتیب ۸/۹۴ و ۱۱/۷۸ میلی‌مول معادل آکاربوز بر گرم عصاره) بود.

مهار آنزیم‌های دخیل در آلزایمر

مهار دو آنزیم استیل و بوتیریل کولین استراز از مهم‌ترین روش‌های مقابله با بیماری‌های عصبی شایعی نظیر آلزایمر است. در این مطالعه نشان داده شد که جوشانده و عصاره هیدورالکی گیاه آویشن ایرانی توانایی خوبی در مهار فعالیت این دو آنزیم دارد. این دو عصاره به ترتیب با نشان دادن فعالیت بازدارندگی برابر ۵/۸۱ و ۶/۱۱ میلی‌مول معادل گالانتامین بر گرم عصاره در مقابل آنزیم استیل کولین استراز و ۲۸/۹ و ۲۷/۰۱ میلی‌مول معادل گالانتامین بر گرم عصاره در برابر آنزیم بوتیریل کولین استراز قدرت بسیار خوبی در مقابله با آنزیم‌های مذکور داشتند. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که عصاره های اتیل استاتی و هگزانی توانایی چندانی در مهار فعالیت آنزیم های کولین استراز ندارند (شکل شماره ۳).



شکل شماره ۲- میزان مهار فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز توسط جوشانده و عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی (بارها نشان‌دهنده انحراف استاندارد بوده و برای هر صفت ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند).



شکل شماره ۳- میزان مهار فعالیت آنزیم‌های استیل و بوتیریل کولین استراز توسط جوشانده و عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی (بارها نشان‌دهنده انحراف استاندارد بوده و برای هر صفت ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند)

بحث

در این تحقیق مقدار محتوای چهار گروه اصلی از مواد مؤثره موجود در گیاهان که عبارتند از ترکیبات فنلی، فلاونوییدی، تانن و ساپونین، و وجود آنها در گونه‌های جنس *Thymus* مشخص شده است [۲۸، ۲۷]، در گیاه آویشن ایرانی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در بسیاری از مطالعات ارتباط بین وجود ترکیبات فنلی، فلاونوییدی و تانن در عصاره‌های گیاهی و انواع خواص بیولوژیکی و دارویی آنها نشان داده شده است [۲۹]. با توجه به این امر تهیه عصاره‌هایی از این گیاه که دارای مقدار بالاتری از این ترکیبات باشند، مطلوب است.

همانگونه که از نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود استفاده از حلال‌های با قطبیت بالاتر نظیر آب و الکل و آب خالص منجر به تهیه عصاره‌هایی با محتوای فنلی، فلاونوییدی و تانن بالاتر می‌شود. این نتایج به خوبی با مطالعات قبلی انجام گرفته در تطابق است. در مطالعه‌ای که توسط Medini و همکارانش انجام گرفت به خوبی اثر استفاده از حلال‌های مختلف بر میزان محتوای فنلی، فلاونوییدی، تانن و اثرات آنتی‌اکسیدانتی و آنتی‌میکروبی عصاره‌های استخراج شده از گیاه *Limonium delicatulum* مشاهده شد. در این مطالعه نشان داده شد که هگزان به عنوان یک حلال غیرقطبی کمترین توانایی را در استخراج ترکیبات فنلی، فلاونوییدی و تانن دارد و عصاره استخراج شده توسط مخلوط استون و آب که قطبی ترین حلال مورد استفاده در این تحقیق بوده توانسته بیشترین مقدار این ترکیبات را استخراج کند [۳۰]. باید توجه داشت که نمی‌توان تمام خواص موجود در گونه‌های مختلف آویشن را فقط به ترکیبات قطبی ارتباط داد. در مطالعات دیگری نیز حضور ترکیبات غیرقطبی بسیار فعال از نظر بیولوژیکی و دارویی، نظیر ترپنوئیدها و ساپونین‌ها در این گیاهان نشان داده شده است [۹].

استرس اکسیداتیو که در حقیقت عدم توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم دفاعی از بین برنده این گونه‌ها در بدن است، به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد ناهنجاری‌هایی نظیر بیماری‌های قلبی، عصبی، دیابت و سرطان می‌باشد [۳۱]. با توجه به این امر، یافتن عوامل آنتی‌اکسیدانتی که بتوانند اثر دارویی جهت مقابله با این بیماری‌ها داشته باشند هدف بسیاری از تحقیقات بویژه بر روی گیاهان دارویی و عصاره‌های به دست آمده از آنها است. در این تحقیق نیز در کنار بررسی خواص دارویی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی جوشانده و عصاره‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. تاکنون گونه‌های مختلف جنس *Thymus* نظیر *T. nummularias* [۳۲]، *T. zygis* [۳۳] و *T. vulgaris* [۳۴]، از نظر قدرت آنتی اکسیدانتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و در کل نتایج حاکی از پتانسیل بالای این گیاهان در این زمینه می‌باشد. برای اندازه گیری قدرت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌های گیاه آویشن ایرانی از رادیکال‌های DPPH و OH استفاده شد. روش DPPH مرسوم‌ترین روش برای این اندازه‌گیری و رادیکال‌های هیدروکسیل نیز مضرترین رادیکال‌های آزاد در بین گونه‌های فعال اکسیژن و اصلی‌ترین عامل صدمه به انواع بیومولکول‌ها می‌باشند [۳۵]. با دقت در نتایج به دست آمده به خوبی می‌توان دید که رابطه بسیار نزدیکی بین مقدار محتوای فنلی، فلاونوئیدی و تانن با قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و OH وجود دارد. در مطالعات بسیاری توانایی این ترکیبات در از بین بردن رادیکال‌های آزاد با استفاده از مکانیسم‌هایی چون انتقال اتم هیدروژن، انتقال تک الکترون و یا ترکیبی از این دو مکانیسم به اثبات رسیده است. علت استفاده از روش های مختلف برای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانتی نمونه‌ها این است که بر طبق گزارش‌های موجود نتایج حاصل از یک روش ارزیابی اثبات‌کننده قدرت آنتی‌اکسیدانتی یک نمونه نیست و در حال حاضر در اکثر مطالعات معمولاً از چندین روش استفاده می‌شود تا از صحت نتایج مربوط به قدرت آنتی اکسیدانتی نمونه‌ها یقین حاصل شود [۲۹]. علاوه بر مهار رادیکال‌های آزاد، نتایج مربوط به تست‌های فسفومولیبدنیوم و کیلیت‌کنندگی یون فروس نیز تأییدکننده قابلیت آنتی‌اکسیدانتی بالای عصاره هیدروالکلی و جوشانده گیاه آویشن ایرانی بود. در مقایسه با روش‌های دیگر نتایج مربوط به این دو تست نشان می‌دهد که عصاره اتیل‌استاتی گیاه آویشن ایرانی از قدرت آنتی‌اکسیدانتی نسبتاً خوبی برخوردار است که این امر را می

توان به حضور تری‌ترپنوئیدهای پنج حلقه‌ای نظیر اورسولیک اسید و اولئانولیک اسید نسبت دادکه توان آنتی‌اکسیدانتی این ترکیبات قبلاً به اثبات رسیده است [۳۶].

بیماری دیابت از جمله ناهنجاری‌های متابولیکی بسیار شایع در جهان می‌باشد که منجر به متابولیسم غیرطبیعی کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها در بدن می‌شود. آنزیم های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز دو آنزیم کلیدی در شکست پلی‌ساکاریدهایی نظیر نشاسته هستند که میزان جذب گلوکز، بستگی فراوانی به فعالیت این دو آنزیم در روده دارد. در بیماران دیابتی بویژه مبتلایان به دیابت نوع II می‌توان با مهار فعالیت این دو آنزیم در بدن از افزایش سطح قند خون جلوگیری کرد و در حال حاضر داروهایی نظیر متفورمین و آکاربوز داروهای مهارکننده آنزیمی هستند که به شکل معمول برای بیماران تجویز می‌شود. اما به واسطه برخی عوارض جانبی این داروها، پژوهش‌های فراوانی در جهت یافتن بازدارنده‌های آنزیمی جدید، بویژه از منابع گیاهی در جریان است [۳۷]. به همین دلیل در این تحقیق نیز قدرت مهارکنندگی عصاره‌های به دست آمده از گیاه آویشن ایرانی بر روی این دو آنزیم مورد بررسی قرار گرفته است.

تاکنون اثرات ضددیابتی از گونه‌های مختلف جنس آویشن گزارش شده است. برای مثال خاصیت ضددیابتی گیاه *T. quinquecostatus* از طریق تست قدرت مهارکنندگی عصاره متانولی و فرکشن‌های مختلف این عصاره بر روی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نشان داد که عصاره تام متانولی و فرکشن اتیل استاتی این عصاره از قدرت ضددیابتی بالایی برخوردارند. محققین این خاصیت گیاه را به حضور ترکیباتی نظیر کتچین، کلروژنیک اسید، روتین و رزمارینیک اسید نسبت داده‌اند و در کل گیاه *T. quinquecostatus* را به عنوان یک داروی اولیه کنترل‌کننده دیابت معرفی کرده‌اند [۳۸]. در مطالعه دیگری که بر روی گیاه *T. capitatus* انجام گرفت اثر ضد دیابتی عصاره‌های هگزانی و متانولی این گیاه از طریق مهار میزان آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز بررسی شد [۳۹]. نتایج آزمایشات حاکی از قدرت مهارکنندگی نسبتاً خوب این عصاره‌ها بر روی آنزیم آلفا-آمیلاز بود، در حالی که نمونه های ذکر شده اثر بادارندگی چندانی بر آنزیم آلفا-گلوکوزیداز از خود نشان ندادند. این مطالعات به خوبی حاکی از پتانسیل بالای گونه‌های مختلف جنس آویشن در مهار فعالیت آنزیم های هیدرولیز کننده نشاسته در روده هستند. داده‌های به دست آمده از تحقیق جاری نیز به خوبی قدرت قابل ملاحظه جوشانده و عصاره‌های اتیل استاتی و هیدروالکی گیاه آویشن ایرانی را در مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز به اثبات می‌رساند. این امر با توجه به مطالعات پیشین مسلماً به حضور ترکیباتی نظیر پلی فنل‌ها، مشتقات فلاونوئید، تری ترپنوئیدهایی مانند بتولینیک اسید، اورسولیک اسید، اولئانولیک اسید، مشتقات ساپونینی و همچنین الاجیک اسید و گالیک اسید و مشتقات تاننی آنها مربوط می‌باشد [۴۰].

آلزایمر معمول‌ترین شکل از بیماری‌های زوال عقلی است که تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۳۰ حدود ۶۶ میلیون نفر به آن مبتلا شوند [۴۱]. این بیماری با از دست دادن حافظه، قدرت تفکر و رفتارهای غیرطبیعی همراه است. اگرچه هنوز داروی مشخصی برای درمان قطعی این بیماری وجود ندارد اما بازدارندگان فعالیت آنزیم‌های کولین‌استراز در حال حاضر مهم ترین دسته از داروها می‌باشند که برای این بیماری تجویز می شوند [۴۲]. به واسطه عوارض جانبی برخی از این داروها (مانند تاکرین و گالانتامین) در حال حاضر بسیاری از محققان در پژوهش‌های خود به دنبال یافتن مهارکننده‌های جدید، بویژه از منابع گیاهی هستند [۲۰]. گونه‌های مختلف جنس *Thymus* نیز از مهم‌ترین گیاهانی می‌باشند که از نظر قدرت مهارکنندگی آنزیم‌های کولین‌استراز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در مطالعه ای که قدرت مهارکنندگی عصاره اتانولی برخی گیاهان خانواده نعناعیان را بر روی آنزیم استیل‌کولین استراز بررسی نموده، عصاره گیاه *T. vulgaris* در غلظت ۱ mg/ml اثر بازدارندگی بالایی از خود نشان داد. در این تحقیق به ترکیب رزمارنیک اسید به عنوان یک ماده مؤثره دخیل در ایجاد این خاصیت اشاره شده است [۴۳]. همچنین در مطالعه دیگری که به بررسی اثر بازدارندگی اسانس گیاه *T. vulgaris* و اصلی‌ترین اجزاء تشکیل‌دهنده این اسانس بر آنزیم استیل‌کولین استراز پرداخته، نشان داده شد که ترکیبات تیموهیدروکینون،

کارواکرول، تیمول و تیموکینون اصلی‌ترین عوامل مهارکننده در اسانس گیاه آویشن باغی هستند. نکته جالب در این پژوهش این است که کارواکرول علی‌رغم شباهت ساختاری که با تیمول دارد، از نظر قدرت مهارکنندگی آنزیم استیل‌کولین استراز ۱۰ برابر قدرت بیشتری از خود نشان می‌دهد [۴۴].

با توجه به موارد ذکر شده مسلماً می‌توان قدرت مناسب جوشانده و عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن ایرانی را به حضور ترکیبات فنلی و بویژه ترکیباتی نظیر رزمارینیک اسید نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و پتانسیل‌های دارویی مانند خاصیت ضددیابتی و ضدآلزایمری را برای گیاه آویشن ایرانی تأیید می‌کند. بهترین عصاره‌های این گیاه که دارای بالاترین خواص ذکر شده می‌باشند، جوشانده و عصاره هیدروالکلی آن هستند که علت این امر وجود محتوای متابولیتی بیشتر این عصاره‌ها است. با توجه به نتایج به دست آمده مطالعات آینده باید در جهت شناخت جزئی‌تر مواد مؤثره و انجام مطالعات سلولی، حیوانی و بالینی بر روی عصاره‌های گوناگون بویژه جوشانده و عصاره هیدروالکلی این گیاه، طرح‌ریزی و اجرا شود.

منابع

1. Sonboli A, Mirjalili MH, Bakhtiar ZIBA and Jamzad ZIBA. Molecular authentication of *Thymus persicus* based on nrDNA ITS sequences data. *Iran. J. Bot.* 2013; 19 (2): 179-85.

2. Nickavar B, Mojab F and Dolat-Abadi R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chem.* 2005; 90 (4): 609-11.

3. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Salgueiro L, Miguel MG and Faleiro ML. Portuguese *Thymbra* and *Thymus* species volatiles: chemical composition and biological activities. *Curr. Pharm. Des.* 2008; 14 (29): 3120-40.

4. Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A and Armand R. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *Int. J. Clin. Med.* 2015; 6 (09): 635-42.

5. Taghizadeh Saroukolai A, Moharramipour S, and Meshkatalsadat MH. Insecticidal properties of *Thymus persicus* essential oil against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *J. Pest. Sci.* 2010; 83 (1): 3-8.

6. Stahl-Biskup, E. The chemical composition of *Thymus* oils: a review of the literature 1960–1989. *J. Essent. Oil Res.* 1991; 3 (2): 61-82.

7. Rasooli I, and Mirmostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51 (8): 2200-5.

8. Boros B, Jakabová S, Dörnyei Á, Horváth G, Pluhár Z, Kilár F, and Felinger A. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *J. Chromatogr A.* 2010; 1217 (51): 7972-80.

9. Mirjalili MH., Ayyari M, Bakhtiar Z, Moridi Farimani M and Sonboli, A. Quantification of betulinic, oleanolic and ursolic acids as medicinally important triterpenoids in some *Thymus* species from Iran. *Res. J. Pharmaco.* 2016; 3 (1): 23-8.

10. Hyun TK, Kim HC and Kim JS. Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Ind. Crops Prod.* 2014; 52: 611-6.

11. Kindl M, Blazekovic B, Bucar F and Vladimir-Knezevic S. Antioxidant and anticholinesterase potential of six *Thymus* species. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2015; Article ID 403950, 10 pages.

12. Zengin G, Atasagun B, Aumeeruddy MZ, Saleem H, Mollica A, Bahadori MB and Mahommodally MF. Phenolic profiling and in vitro biological properties of two Lamiaceae species (*Salvia modesta* and *Thymus argaeus*): A comprehensive evaluation. *Ind. Crops Prod.* 2019; 128: 308-14.

13. Da Silva JAT. *Thymus Persicus* (Poniger ex reach. F.) Jalas. *CIBTech J. Biotech.* 2016; 5 (3): 24-7.

14. Sefidkon F, Dabiri M and Mirmostafa, SA. The essential oil of *Thymus persicus* (*Ronniger* ex Rech. f.) Jalas from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 2002; 14 (5): 351-2.

15. Safaei-Ghomi J, Meshkatalsadat MH, Shamai S, Hasheminejad M and Hassani A. Chemical characterization of bioactive volatile molecules of four *Thymus* species using nanoscale injection method. *Dig. J. Nanomater Biostruct.* 2009; 4 (4): 835-41.

16. Rasooli I and Mirmostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51 (8): 2200-5.

17. Talei GR and Meshkatalsadat MH. Antibacterial activity and chemical constitutions of essential oils of *Thymus persicus* and *Thymus eriocalyx* from west of Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* 2007; 10 (21): 3923-6.

18. Bahadori MB, Valizadeh H, Asghari B, Dinparast L, Bahadori S and Moridi Farimani M. Biological activities of *Salvia santolinifolia* Boiss. A multifunctional medicinal plant. *Curr. Bioact. Compd.* 2016; 12 (4): 297-305.

19. Pilerood SA and Prakash J. Evaluation of nutritional composition and antioxidant activity of Borage (*Echium amoenum*) and Valerian (*Valerian officinalis*). *J. Food Sci. Tech.* 2014; 51 (5): 845-54.

20. Zengin G, Sarikurkcu C, Uyar P, Aktumsek A, Uysal S, Kocak MS and Ceylan R. *Crepis foetida* L. subsp. rhoeadifolia (Bieb.) Celak. as a source of multifunctional agents: Cytotoxic and phytochemical evaluation. *J. Funct Foods* 2015; 17: 698-708.

21. Bahadori MB, Dinparast L, Zengin G, Sarikurkcu C, Bahadori S, Asghari B and Movahhedin, N. Functional components, antidiabetic, anti-Alzheimer's disease, and antioxidant activities of *Salvia syriaca* L. *Int. J. Food Prop.* 2017; 20 (8): 1761-72.

22. Asghari B, Mafakheri S, Zarrabi MM, Erdem, SA, Orhan IE and Bahadori MB. Therapeutic target enzymes inhibitory potential, antioxidant activity, and rosmarinic acid content of *Echium amoenum*. *S. Afr. J. Bot.* 2018; doi:10.1016/j.sajb.2018.05.017.

23. Asghari B, Zengin G, Bahadori MB, Abbas-Mohammadi M and Dinparast L. Amylase, glucosidase, tyrosinase, and cholinesterases inhibitory, antioxidant effects, and GC-MS analysis of wild mint (*Mentha longifolia* var. calliantha) essential oil: A natural remedy. *Eur. J. Integr. Med.* 2018; 22: 44-9.

24. Fallah Huseini H, Asghari B, Asgarpanah J, Eghbali Zarch T and Babai Zarch A. Investigation of α-Amylase and α-Glucosidases Inhibitory Effects of *Silybum marianum* L. Gaertn Seed Extracts *in vitro*. *JMP*. 2012; 1 (41): 239-47 (Persian).

25. Asghari B, Salehi P, Farimani MM, and Ebrahimi SN. α-Glucosidase Inhibitors from Fruits of *Rosa canina* L. *Rec Nat Prod.* 2015; 9 (3): 276-83.

26. Akkol EK, Orhan IE, and Yeşilada E. Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chem.* 2012; 131 (2): 626-31.

27. Haddouchi F, Chaouche T, Benmansour A and Lazouni HA. Phytochemical study of *Thymus fontanesii* and *Laurus nobilis*. *Der. Pharmacia. Lettre* 2011; 3 (2): 343-50.

28. El-Newary SA, Shaffie NM and Omer EA. The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic

extract against hepatotoxicity of alcohol in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2017; 10 (4): 361-71.

29. Craft BD, Kerrihard AL, Amarowicz R and Pegg RB. Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Compr. Rev. Food Sci.* 2012; 11 (2): 148-73.

30. Medini F, Fellah H, Ksouri R and Abdelly C. Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *J. Taibah Univ. Sci.* 2014; 8 (3): 216-24.

31. El-Massry KF, El-Ghorab AH, Shaaban HA and Shibamoto T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57 (12): 5265-70.

32. Ertas A, Boga M, Yilmaz MA, Yesil Y, Tel G, Temel H. and Ugurlu, P. A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. *Ind Crops Prod.* 2015; 67: 336-45.

33. Soare JR, Dinis TC, Cunha AP and Almeida, L. Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radic Res.* 1997; 26 (5): 469-78.

34. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH and Khalel KI. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Ind. Crops Prod.* 2013; 43": 827-31.

35. Fu R, Zhang Y, Guo Y, Liu F and Chen F. Determination of phenolic contents and antioxidant activities of extracts of *Jatropha curcas* L. seed shell, a by-product, a new source of natural antioxidant. *Ind. Crops Prod.* 2014; 58: 265-70.

36. do Nascimento PG, Lemos TL, Bizerra A, Arriaga Â, Ferreira DA, Santiago GM and Costa J. GM. Antibacterial and antioxidant activities of ursolic acid and derivatives. *Molecules* 2014; 19 (1): 1317-27.

37. Fallah Huseini H, Asghari B, Asgarpanah J, Babai Zarch A and Eghbali Zarch T. Effect of Polar and Nom-polar *Aloe vera* L. Leaf extracts on α-amylase and α-Glucosidases inhibitory activity *in vitro*. *JMP*. 2013; 4 (48): 160-9 (Persian).

38. Hyun TK, Kim HC, and Kim JS. Antioxidant and antidiabetic activity of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Ind. Crops Prod.* 2014; 52: 611-6.

39. Iauk L, Acquaviva R, Mastrojeni S, Amodeo A, Pugliese M, Ragusa M and Tundis R. Antibacterial, antioxidant and hypoglycaemic effects of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. Et Link leaves' fractions. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2015; 30 (3): 360-5.

40. Benalla W, Bellahcen S and Bnouham M. Antidiabetic medicinal plants as a source of alpha-glucosidase inhibitors. *Curr. Diabetes Rev*. 2010; 6 (4): 247-54.

41. Alzheimer's Disease International, World Alzheimer Report: The Global Prevalence of Dementia, London SE1 0BL, UK, 2009.

42. Ustun O, Senol FS, Kurkcuoglu M, Orhan I. E, Kartal M and Baser KHC. Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish Pinus species and pycnogenol. *Ind. Crops Prod.* 2012; 38: 115-23.

43. Vladimir-Knežević S, Blažeković B, Kindl M, Vladić J, Lower-Nedza AD and Brantner AH. Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family. *Molecules* 2014; 19 (1): 767-82.

44. Jukic M, Politeo O, Maksimovic M, Milos M and Milos M. *In vitro* acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. *Phytother. Res.* 2007; 21 (3): 259-61.

Persian Thyme (*Thymus persicus*): A Plant Containing Active Metabolites with Antioxidant, Anti-diabetic and Anti-Alzheimer Effects

Asghari B (Ph.D.)[1*], Habibzadeh F (Ph.D.)[2], Ghorbani Nohooji M (Ph.D.)[3]

1- Department of Horticultural Sciences Engineering, Agriculture and Natural Resources Faculty, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
2- Genetics and Plant Breeding Department, Agriculture and Natural Resources Faculty, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
3- Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
*Corresponding author: Department of Horticultural Sciences Engineering, Agriculture and Natural Resources Faculty, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
Tel & Fax: +98 – 28 - 33901174, Fax: +98 – 28 - 33780073
E-mail: behvar.asghari@gmail.com

Abstract

Background: ***Thymus persicus*** **is one of the Iranian endemic medicinal plants, that its decoction and various products have plenty of food and pharmaceutical uses.**

Objective: **Evaluation of *T. persicus* products metabolite contains and determination of the best antioxidant, anti-diabetic and anti-Alzheimer extract.**

Methods: **Samples total phenolic, flavonoid and tannin contents were determined by Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, Folin-Denis reagents and for saponin content vanillin-sulfuric acid method were used. To the investigation of products antioxidant effect, DPPH and OH radical scavenging and phosphomolybdenum and ferrous ion chelating methods were employed. To evaluate of samples anti-diabetic properties α-amylase and α-glucosidase inhibitory effects, and to investigate of anti-Alzheimer potential, acetyl and butyryl cholinesterase inhibitory effect were measured.**

Results: **Decoction and hydroalcoholic extract of *T. persicus* showed the highest phenol, flavonoid and tannin contents in comparison with the others. Ethyl acetate extract had the highest saponin content. According to the antioxidant assays, decoction and hydroalcoholic extract exhibited the best potential. In anti-diabetic (inhibition of α-amylase and α-glucosidase enzymes) and anti-Alzheimer (inhibition of acetyl and butyryl cholinesterase) assays, decoction and hydroalcoholic extract showed significantly higher power.**

Conclusion: **The high ability of decoction and hydroalcoholic extract of *T. persicus* in antioxidant, anti-diabetic and anti-Alzheimer can be related to their high phenol, flavonoid and tannin content.**

Keywords: **Thymus, Decoction, Enzyme inhibition, Extract, Metabolite contents**