مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین - اردیبهشت ۱۳۹۸؛ دوره ۱۸ (شماره ۴) ۱۷۸-۱۷۳

بررسی آزمایشگاهی اثر گیاه آویشن باغی در مهار آنزیم آلفا–گلوکوزیداز به‌منظور درمان بیماری دیابت

سعیده رهنما[۱]، عزیزه اسدزاده*[۱]، فاطمه حیدریان نائینی[۱]

چکیده

مقدمه: دیابت اختلالی متابولیسمی در بدن است که در اثر فعالیت بالای آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در هیدرولیز کربوهیدرات‌ها به گلوکز، ایجاد می‌شود. مهارکننده‌های آلفا-گلوکوزیداز با مداخله در هضم کربوهیدرات‌ها در کنترل بیماری دیابت نقش دارند. Thymus vulgaris یا آویشن باغی گیاهی از خانواده‌ی نعناعیان با عدد کروموزومی ۲n=۳۰ است. اسانس این گیاه دارای فنل‌هایی مثل تیمول، کارواکرول، سیمن، لینالول و پینن است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر مهار کنندگی عصاره‌ی آویشن باغی بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در سطح آزمایشگاهی است.

روش‌ها: عصاره‌ی مورد استفاده از طریق محلول‌سازی پودر گیاه آویشن در حلال آب مقطر تهیه شد. اثر بازدارندگی عصاره‌های به دست آمده بر فعالیت آنزیم آلفا- گلوکوزیداز بررسی شد. در این مرحله، غلظتی از هر عصاره که برای مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم مورد نیاز است (IC۵۰) به‌دست آمد و با مقدار مورد نیاز از آکاربوز، به عنوان کنترل مثبت مقایسه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره‌ی تام آبی آویشن باغی در هر ۳ غلظت تهیه شده (۱۰،۲۰،۴۰ و ۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر) قادر به مهار آنزیم است و غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر مهاری را بر آنزیم داشت. IC۵۰ عصاره‌ی تام آبی آویشن باغی معادل عدد ۲۹٪ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر بخشی ترکیبات عصاره گیاه در مطالعه‌ی *in vitro*، برای بررسی‌های تکمیلی می‌توان اثر این ترکیبات گیاهی را در شرایط *in vivo* مورد آنالیز قرار داد.

واژگان کلیدی: دیابت، آنزیم آلفا-گلوکوزیداز، مهارکننده، آویشن باغی، *in vitro*

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، مؤسسه آموزش عالی نور دانش، میمه، اصفهان، ایران

***نشانی**: اصفهان، میمه، میدان اصفهان، خیابان دانش، مؤسسه‌ی آموزش عالی نور دانش میمه، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زیست شناسی، کدپستی:۸۳۵۱۷۶۵۸۵۱ ، تلفن:۰۳۱٤٥٤۲۷٦۰٤، نمابر:۰۳۱٤٥٤۲۷٦۰۰، پست الکترونیک: az.asadzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۵ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۸/۰۲/۲۰** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۶**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

مقدمه

دیابت، شایع‌ترین بیماری متابولیک، شامل گروهی از اختلالات متابولیسمی است که با درجات متفاوتی از فقدان ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و اختلال در ترشح انسولین بروز می‌کند و اولین مشخصه‌ی آن افزایش سطح گلوکز در خون است. تقریباً شش درصد جمعیت دنیا مبتلا به دیابت هستند و ۹۰ تا ۹۵ درصد از این افراد از دیابت نوع دو رنج می‌برند بود [۱]. بی‌گوانیدها، سولفونیل اوره‌ها، تیازولیدین دیون‌ها و مهارکننده های آلفاگلوکزیداز از مهم‌ترین داروهای خوراکی ضد افزایش گلوکز خون هستند که جهت کنترل دیابت نوع دو مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه داروهای نامبرده قادر به کنترل افزایش گلوکز خون هستند ولی بدن بسیاری از بیماران به استفاده از این داروها مقاومت نشان می‌دهد و حتی بعضی از مبتلایان قادر به تحمل این داروها نیستند و یا با عوارض نامطلوب مواجه می شوند [۲، ۳]. بسیاری از بیماران دیابتی علاوه بر داروهای رایج جهت کنترل بیماری، تمایل فراوانی به مصرف گیاهان دارویی از خود نشان می‌دهند حتی در مواردی بدون مشورت با پزشک از آنها استفاده می‌کنند [٤].

در مطالعات اتنوبوتانیک، بیش از ۱۲۰۰ گونه گیاهی با اثرات ضد دیابت گزارش شده است [۱]. آویشن (Thymus vulgari) یکی از شناخته شده ترین گیاهان دارویی است و از تیره نعنا (Lamiasceae) است. آویشن، درختچه‌ای کوتاه و پر شاخه‌است که برگهای نازک و متقابل دارد. دارای گل‌هایی سفید و چتری و منفرد است. گونه‌های مختلفی از آن درکوهستان‌های ایران می‌روید. آویشن در طب سنتی ایران و اروپا مصرف دارویی دارد. این گیاه علفی و معطر، دارای خواص دارویی بسیاری است و از آن در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده‌های متنوعی می‌شود. قسمت‌های دارویی این گیاه، سرشاخه‌های آن و برگ خشک شده آن (اندام‌های هوایی) است. ترکیبات مؤثر ضدمیکروبی در عصاره آویشن باغی حاوی فلاوونوئیدهایی مانند اپی‌ژنین، نارین‌ژین، لوتئولین وروغن‌های فرار محتوی تیمول وکارواکرول است [۲].

یکی از مشکلات تجویز گیاهان دارویی با اثرات ضددیابت، نامشخص بودن سازوکار اثر اغلب آنها در کاهش سطح گلوکز خون است که شناسایی سازوکار اثر آنها در پیشگیری از تداخلات دارویی با داروهای رایج حیاتی است. مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز در مجاری گوارشی یکی از سازوکارهای تأثیر گروهی از داروهای رایج مورد استفاده در کنترل بیماری دیابت است. این آنزیم که یک آنزیم کروی غشایی است و در سلول های شانه‌ای حاشیه‌ی روده‌ی کوچک مستقر است، نقش مهمی در هیدرولیز کردن پلی‌ساکاریدهای مواد غذای در مجاری گوارشی و تبدیل آنها به قندهای ساده قابل جذب دارند که این امر در حقیقت عامل اصلی افزایش سطح گلوکز خون بعد از غذا است. آلفا گلوکوزیداز روده کربوهیدرات‌های پیچیده را به گلوکز و دیگر مونوساکاریدها در روده‌ی کوچک هیدرولیز و تبدیل به گلوکز می‌کند. و از این طریق باعث تسهیل جذب گلوکز توسط روده‌ی کوچک می‌شود. مهار فعالیت این آنزیم به‌خصوص در بیماران دیابتی در جذب از گلوکز دستگاه گوارش و در نتیجه پیشگیری از افزایش سطح خون گلوکز بعد از غذا مؤثر است. در حال حاضر داروهایی مانند آکاربوز، میگلیتول و وگلیبوز جهت مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز استفاده می‌شوند. اما استفاده از این داروها به‌واسطه عوارض جانبی نظیر نفخ و مشکلات گوارشی در بسیاری از بیماران می‌شود [۵-۳].

جهت مقابله با این مشکل تحقیقات برای یافتن مهارکننده‌های جدیدتر که از یک طرف توانایی بالاتری در زمینه‌ی بازدارندگی آنزیم‌های مذکور داشته باشند و از طرف دیگر عوارض جانبی داروهای فعلی را نداشته باشند در جریان است. گیاهان دارویی و به‌ویژه عصاره‌های به‌دست آمده از آنها از مهم‌ترین منابعی هستند که به‌نظر می‌رسد می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای موجود باشند [٦]. ترکیبات موجود در گیاه آویشن باغی در مطالعه‌ی *in silico* که قبلاً انجام شد اثر مهاری خوبی نشان دادند، به‌طوری که ترکیبات در جایگاه فعال آنزیم آلفا گلوکوزیداز قرار می‌گرفت و جهت‌گیری مشابه کوکریستال را داشت [۷] بنابراین در این پژوهش قدرت مهارکنندگی عصاره‌ی گیاه Thymus vulgaris بر روی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در شرایط *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

پودر گیاه آویشن باغی: گیاه آویشن باغی در سه دوره‌ی مختلف رشد شامل مرحله‌ی اولیه (گیاه جوان)، مرحله‌ی برگدهی و مرحله‌ی گلدهی از منطقه‌ی چهارمحال و بختیاری برداشت شد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

سپس برگ گیاه خشک شده جدا و به‌وسیله آسیاب برقی کاملاً به حالت پودر درآمد.

عصاره‌گیری: فرآیند عصاره‌گیری در سه مرحله آماده سازی برای عصاره گیری، آسیاب کردن و تهیه‌ی عصاره انجام شد.
در ابتدا گیاه به‌منظور تهیه‌ی پودر وارد مرحله‌ی آماده‌سازی (Preparation) گردید که این مرحله به شرح زیر انجام گرفت و در پایان پس از گذشت ٤٨ ساعت وضعیت خشک شدن گیاه بررسی و مورد تأیید قرار گرفته شد.

۱) استریل کردن تمام وسایل مورد نیاز برای عصاره گیری با اتوکلاو و به‌مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد
۲) جدا سازی گل‌های راسی و ریشه‌های گیاه از پایه و نگه‌داری هرکدام از آنها به‌صورت جداگانه
۳) استفاده از بخش‌های هوایی گیاه شامل برگ و ساقه‌های جوان به‌منظور تهیه‌ی پودر برای عصاره گیری
٤) شست و شوی گیاه با آب مقطر استریل شده توسط اتوکلاو
۵) قرار دادن گیاه پس از شست و شو در آون با دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت به‌منظور خشک شدن کامل گیاه

در مرحله بعد گیاه آویشن که در مرحله‌ی قبل کاملاً خشک شده را با آسیاب برقی پودر و سپس با استفاده از الک ضدعفونی شده با اتانول، غربال شد. پودر یکنواخت شده را درون ارلن ریخته و به‌منظور جلوگیری از تابش نور آن را با فویل آلومینیوم بسته‌بندی نمودیم. پودر گیاه پس از توزین به‌منظور ساخت عصاره مورد استفاده قرار گرفت.
برای عصاره گیری، ۱۰۰گرم پودر گیاه با ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌عنوان حلال مخلوط و به‌منظور عدم انتقال آلودگی جداره‌های بیرونی ارلن با اتانول ۷۰ ضدعفونی شده و سپس به درون انکوباتور شیکردار با دمای ٤۰ درجه‌ی سانتی گراد و دور rpm۲۰۰ منتقل گشت. در تمام مدت عصاره گیری، عصاره به درون بشرهای استریل منتقل گردید تا به‌علت داشتن سطح تماس بیشتر، حلال زودتر تبخیر شده و مدت عصاره گیری طولانی نشود. سپس بشرها را به درون انکوباتور شیکردار (دمای ٤۰درجه و دور rpm۲۰۰) انتقال داده تا حلال آبی حذف شده و عصاره‌ی خشک و پودری حاصل شود. پس از گذشت ۲٤ ساعت عصاره‌ی پودری حاصل جداسازی و استخراج شد.

تست فعالیت و مهار فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز

با توجه به روش گزارش شده توسط McCue و همکاران و با اندکی تغییر در آن، مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز توسط عصاره های گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت [۸، ۹]. در این بررسی از ماده‌ی PNPG به‌عنوان سوبسترا استفاده شد که توسط آنزیم آلفا گلوکوزیداز، به پارا-نیتروفنل(زرد رنگ) و گلوکز هیدرولیز می شود. فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری میزان جذب پارانیتروفنل تولید شده در محلول تعیین می‌شود. در صورتی که عصاره‌های گیاهی دارای اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز باشد شاهد جذب پایین‌تری در مقایسه با کنترل (واکنش بدون مهارکننده) خواهیم بود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز

در تمام مراحل خالص‌سازی، سنجش فعالیت آنزیم صورت گرفت. مخلوط واکنش حاوی ٤۰ میکرولیتر آلفا گلوکوزیداز (۰/۲۵ unit/mg)،۱۳۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ mM(٦/٨ PH) و ۸۰ میکرولیتر محلول PNPG بود. سپس جذب در طول موج ٤۰۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتری خوانده شد. در این بررسی از مخلوط واکنش بدون آنزیم آلفا گلوکوزیداز به‌عنوان بلانک استفاده شد.

اندازه‌گیری مهار فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز

غلظت‌های متفاوت نمونه‌ی عصاره گیاهی (mg/ml ٤۰ – ۵) پس از حل در بافر فسفات، تهیه شد.٤۰ میکرولیتر محلول عصاره‌ی گیاهی با ٤۰ میکرولیتر آلفا گلوکوزیداز در ۵۲۰ میکرولیتر بافر فسفات (٦/٨ PH) مخلوط و سپس حجمی معادل ۸۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا به آن اضافه شد. جذب در طول موج ٤۰۵ نانومتر خوانده شد. برای هر نمونه، بلالنک مجزا که حاوی مخلوط واکنش بدون عصاره‌ی گیاهی و آنزیم بود گذاشته شد. این آزمایش برای هریک از غلظت ها سه مرتبه تکرار شد. درصد مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

$$\text{درصد مهار} = \frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})}{\text{جذب کنترل}} \times (۱۰۰)$$

منظور از جذب کنترل، همان نمونه بلانک (همه اجزا واکنشگر بدون عصاره‌ی گیاهی) بود. نتایج به‌صورت IC_{50} (مقداری از عصاره که لازم است تا فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید.

یافته‌ها

به منظور بررسی و مقایسه تأثیر ترکیبات مورد مطالعه بر روی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز، از ٤ غلظت مختلف عصاره‌ی آبی آویشن باغی (۵، ۱۰، ۲۰ و ٤۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد تا اثر افزایش غلظت عصاره‌ی آویشن باغی بر روی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نیز مشخص شود. در این بررسی PNPG به عنوان سوبسترا و آکاربوز که مهارکننده استاندارد آنزیم آلفا-گلوکوزیداز است، به‌عنوان گروه کنترل مثبت است. IC50 غلظتی از سوبسترا است که بتواند نصف آنزیم را غیر فعال کند. داده های مربوط به درصد مهارکنندگی و IC50 در جدول ۱ ذکر شده است. هر آزمایش سه بار تکرار شده است و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

جدول۱- میانگین جذب‌های ترکیبات مورد مطالعه (هر آزمایش سه بار تکرار شده است).

IC50	میانگین درصد مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز	غلظت بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر	ترکیبات مورد مطالعه
۲۹±۰/۰۹	۷/۵٤±۰/۰۳۸۸	۵	آویشن باغی
	۱۳/۳٦±۰/۰۳٦۷	۱۰	
	۱۵/۹۳±۰/۰۱۳۱	۲۰	
	۱۹/۲۹±۰/۰۱٤۷	٤۰	
۸/۵±۰/٦	۱۲±۱/۰	۱/۲۵	آکاربوز
	۲۱/۱ ±۲/٦	۵	
	۳۳±۱/۸	۲/۵	
	۵۸/۵±۱/۲	۱۰	

با دقت در نتایج بررسی مهار آنزیمی، می‌توان به وضوح مهار وابسته به دوز را مشاهده کرد یعنی این که با افزایش غلظت نمونه‌ها میزان مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نیز افزایش می‌یابد. با این حال درصد مهار آنزیم به‌وسیله‌ی غلظت‌های مختلف عصاره نسبتا کم بود، به‌عبارتی دیگر مهار صورت می‌گیرد ولی میزان مهار قابل ملاحظه نبود. به این ترتیب که پایین‌ترین غلظت عصاره‌ی گیاهی (۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) کمترین میزان مهار را برآنزیم داشت و میانگین درصد مهار آن ۷/۵٤ محاسبه شد. بالاترین میزان مهار نیز مربوط به بیشترین غلظت عصاره‌ی گیاهی(٤۰میکرو گرم بر میلی لیتر) با میانگین درصد مهار ۱۹/۲۹ بود. در آزمایش مربوط به اثر مهاری آکاربوز نیز نتیجه‌ی مشابه مشاهده شد به این صورت که کمترین میزان مهار مربوط به پایین ترین غلظت آکاربوز (۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با مقدار ۱۱/۸ و بیشترین میزان مهار مربوط به بالاترین غلظت (۱۰میکروگرم بر میلی لیتر) با مقدار ۵۸/۲ بود. IC50 آکاربوز برای آنزیم آلفا-گلوکوزیداز برابر با ۰/٦ ± ۸/۵ است. به‌عبارت دیگر ۸/۵ میکروگرم بر میلی لیتر غلظتی است که در آن آکاربوز می‌تواند ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را مهار کند. مقدار IC50 برای عصاره‌ی آبی گیاه آویشن باغی نیز برابر با ۰/۰۹ ± ۲۹ است، به این مفهوم که غلظت ۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر غلظتی است که در آن گیاه آویشن باغی می‌تواند ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم را مهار کند.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

بحث

همانطور که گفته شد تأثیر مهاری قابل ملاحظه‌ای از عصاره‌ی گیاهی آویشن باغی بر آنزیم آلفا-گلوکوزیداز مشاهده نشد. این نتیجه‌گیری را می‌توان در مقایسه با نتیجه ی مربوط به آکاربوز به وضوح مشاهده کرد، در این مقایسه بهترین IC50 ناشی از تأثیر آکاربوز است و عصاره‌ی آبی گیاه آویشن باغی قدرت پایین تری در مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نسبت به آکاربوز به‌عنوان مهارکننده مرجع دارد.

مطالعات انجام شده بر روی داروهای گیاهی و تأثیرات آنها بر بیماری دیابت نشان داده است که گیاه آویشن باغی به‌دلیل داشتن ترکیبات فنولی می‌تواند به میزان قابل توجهی باعث کاهش سطح گلوکز شده و در نتیجه به درمان دیابت کمک کند [۱۱، ۱۰].

Subramanian و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر مهاری عصاره‌ی نائین هاوندی (Andrographis paniculata) بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را بررسی کردند. در این مطالعه اثر مهاری عصاره بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در یک روش وابسته به غلظت بررسی شده است و IC50 برابر با ۰/۱۵ ± ۱۷/۲ میلی گرم / میلی لیتر بود [۱۲]. در مطالعه‌ی دیگری Nair و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر مهاری عصاره‌های ۳ گیاه مختلف Artocarpus altilis، Piper Betel و Cinnamomum zeylanicum بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را مورد بررسی قرار دادند. IC50 برای عصاره‌های Artocarpus altilis، Cinnamomum zeylanicum و Piper Betel در مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز به‌ترتیب ۸۵/۱۲۹ ±۲۹/۱۰، ٤٠/٠٨±٤٠/٠١ و ٩٦/٩٦±٦/٩٦ میلی‌گرم/میلی‌لیتر بود [۱۳]. Zhang و همکاران در سال ۲۰۱٤ اثر مهاری عصاره‌های پلی فنول شاه بلوط ((Castanea mollissima Blume (CMPE) بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را مورد بررسی قرار دادند. IC50 برای عصاره‌ها در مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در این مطالعه برابر با ۰/۳۳ میلی گرم/میلی لیتر بود [۱٤].

Sadegh-Nejadi نژاد و همکاران در سال ۲۰۱٦ اثر مهاری عصاره‌ی گیاه عناب و گلپر بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را بررسی کردند. IC50 عصاره‌های عناب و گلپر برای مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز به‌ترتیب ۱۰٤و۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد [۱۵]. حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۲ اثر مهاری عصاره‌ی ژل برگ گیاه صبر زرد (Aloe vera L) بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را بررسی کردند. IC50 عصاره‌ی ژل برگ گیاه صبر زرد برای مهار آنزیم آلفا-گلوکوزیداز ۳/۱±۲/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد [۱٦].

از میان مطالعات انجام شده به ترتیب عصاره‌ی ژل برگ گیاه صبرزرد و عصاره‌ی Andrographis paniculata قدرت مهاری بالاتری نسبت به آویشن باغی بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز دارند. عصاره‌ی گیاه Artocarpus altilis با IC50 تقریباً مشابه با عصاره‌ی آبی آویشن (عصاره‌ی مورد مطالعه) می‌توان گفت اثر مهاری یکسانی را نیز اعمال می‌کند. سایر عصاره‌های گیاهی در مقایسه با آویشن باغی اثرات مهاری چندان بالاتری را نشان نداده اند.

نتایج کلی نشان می‌دهد که عصاره‌ی آبی گیاه آویشن باغی تا حدودی دارای خاصیت مهارکنندگی فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز است. این گیاه دارای ترکیبات فنلی است که یک گروه متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی‌اند که به‌طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی دارند. در مطالعه داکینگ نیز ثابت شد که این ترکیبات فنولی از جمله Caryophlla-4-(12),8(13)-dien-5-β-ol با سطح انرژی ۳/۷۱- کیلوکالری بر مول به خوبی جایگاه مشابه کوکریستال را در بخش فعال آنزیم آلفاگلوکوزیداز اشغال می‌کند [۷].

سپاسگزاری

پژوهشگران این مطالعه مراتب تشکر و سپاس خود را از جناب آقای دکتر زمانی و اعضای هیئت مؤسس مؤسسه آموزش عالی نور دانش اعلام می‌دارند.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

مآخذ

1. Marles RJ. and Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 1995; 2(2):137-189.
2. Behnia M, et al. Inhibitory effects of Iranian Thymus vulgaris extracts on in vitro growth of Entamoeba histolytica. *The Korean Journal of parasitology* 2008; 46(3):153.
3. Rabasa-Lhoret, R. and J.L. Chiasson, *α-Glucosidase inhibitors.* International textbook of diabetes mellitus, 2003.
4. Yee HS and Fong NT. A review of the safety and efficacy of acarbose in diabetes mellitus. Pharmacotherapy. *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 1996; 16(5): 792-805.
5. Tian G, et al. Inhibition of α-glucosidases I and II increases the cell surface expression of functional class A macrophage scavenger receptor (SR-A) by extending its half-life. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(38):39303-39309.
6. Bueno JM, et al. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part I: general considerations concerning polyphenols and flavonoids. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2012; 42(2):102-125.
7. Rahnama Falavarjani S, Asadzadeh A and Heidarian Naini F. Bioinformatic studies of the effect of thymus vulgaris on alpha-glucosidase enzyme inhibition for treating diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18(1):19-28.
8. Mccue P, KWON YI, and Shetty K. Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin i-converting enzyme potential of selected foods. *Journal of food biochemistry* 2005; 29(3):278-294.
9. Oboh G, Ademiluyi AO, and Faloye YM. Effect of combination on the antioxidant and inhibitory properties of tropical pepper varieties against α-amylase and α-glucosidase activities in vitro. *Journal of medicinal food* 2011; 14(10):1152-1158.
10. Dauqan E and Abdullah A. Medicinal and functional values of thyme (Thymus vulgaris L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 2017; 5(02):017-22.
11. Hyun TK, Eom SH and Kim JS. Molecular docking studies for discovery of plant-derived a-glucosidase inhibitors. *Plant Omics* 2014; 7(3):166.
12. Subramanian R, Asmawi MZ, and Sadikun A. In vitro α-glucosidase and α-amylase enzyme inhibitory effects of Andrographis paniculata extract and andrographolide. *Acta Biochim Pol* 2000; (2)55:391-398.
13. Nair SS, Kavrekar V, and Mishra A. In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. European *Journal of Experimental Biology* 2013; 3(1):128-132.
14. Zhang J, et al. α-Glucosidase inhibitory activity of polyphenols from the burs of Castanea mollissima Blume. *Molecules* 2014; 19(6):8373-8386.
15. Sadegh-Nejadi S, et al., Inhibitory Effect of Ziziphus Jujuba and Heracleum Persicum on the Activity of Partial Purified Rat Intestinal Alpha-Glucosidase Enzyme. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2016; 25(134):135-146.

۱۶. حسینی، ف ح و دیگران. بررسی اثر عصاره‌های قطبی و غیرقطبی ژل برگ گیاه صبرزرد (Aloe vera l) بر فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز در محیط برونتنی. *فصل‌نامه‌ی گیاهان دارویی*،۱۳۹۲؛ ۱۲(٤):۱۶۹-۱۶۰.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]

IN VITRO STUDY OF THE EFFECT OF THYMUS VULGARIS ON ALPHA-GLUCOSIDASE ENZYME INHIBITION FOR TREATING DIABETES

Saeedeh Rahnama falavarjani[1], Azizeh Asadzadeh[1*], Fatemeh Heidarian Naini[1]

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Nourdanesh Institute of Higher Education, Meymeh, Isfahan, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetes is a metabolic abnormality in the body caused by the high activity of the α-glucosidase enzyme in the hydrolysis of carbohydrates to glucose. Alpha-glucosidase inhibitors involved in the digestion of carbohydrates, play a key role in controlling diabetes. Thymus vulgaris is a species of flowering plant in the mint family Lamiaceae with a chromosome number of 2n = 30. The essential oil of this plant has phenolic compounds such as thymol, carvacrol, cymene, linalool, and pinene. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of the main compounds found in the thyme extract on the activity of alpha-glucosidase by in vitro methods.

Methods: Extract was used to dissolve thyme powder in distilled water solution. The inhibitory effect of the extracts on the activity of alpha-glucosidase enzyme was investigated. In this experiment, the concentration of each extract that was required to inhibit 50% of the enzyme activity (IC 50) was obtained and compared with the needed acarbose as a positive control.

Results: the results showed that aqueous extract of thyme Thymus vulgaris in all three concentrations (40, 20, 10, and 5 mg/ml) can inhibit the enzyme. And as expected, the concentration of 40 mg / ml was exercised the highest inhibitory effect on the enzyme. IC50 of aqueous extract of thyme Thymus vulgaris was equal to 29%.

Conclusion: Considering the effectiveness of plant extract compounds in *in silico* and *in vitro* studies, for supplemental studies, the effect of these plant compounds can be analyzed in vivo conditions.

Keywords: Diabetes, Alpha-Glucosidase, Inhibitor, Thymus Vulgaris, In Vitro

*Nourdanesh Institute of Higher Education, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Isfahan Square, Danesh St, Meimeh, Isfahan, Iran. ZIP code: +988351765851- Tel: +983145427600. E-mail: az.asadzadeh@yahoo.com

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-08-14]