

The Effect of Natural Compounds on Serum Total Antioxidant Levels in Mice Obese

F. Jalalvand^{1*}, P. Yaghmaei²,
A. Ebrahim-Habibi³, M. Mohammad Amoli⁴,
M. Kimiagar⁵

1&2. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran
3&4. Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran
5. National nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran

(Received: Jul. 4, 2013; Accepted: Nov. 20, 2013)

تأثیر برخی ترکیبات طبیعی روی غلظت آنتی‌اکسیدان تام سرم (TAC) در موش‌های چاق نژاد NMRI

فاطمه جلالوند^{۱*}، پریچهر ینمایی^۲، آزاده ابراهیم حبیبی^۳، مهسا محمد آملی^۴، مسعود کیمیاگر^۵

۱ و ۲. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، ۳ و ۴. پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۵. انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۲۳، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۸/۲۹)

Abstract

Obesity is often associated with micronutrient deficiency, the result of poor diet, lack of antioxidants and polyunsaturated fat on one side and saturated fats, on the other side. Oxidative stress has a role in the onset of chronic diseases associated with obesity. Plant-derived secondary metabolites such as phenolics and total flavonoids may have potential for free radical scavenging. The purpose of this study was to determine the effect of natural compounds such as thymol, acarbose, thioflavin T and Chalcone on serum total antioxidant levels in mice obese. This study was performed in NMRI male mice. Animals were randomly divided into two groups: a control group (receiving standard rodent diet) and experimental group for 8 weeks (receiving high-calorie diet group). The obese animals into three groups: sham, obese and experimental groups. In the experimental group of mice with compounds thymol, acarbose, thioflavin T and Chalcone (12mg/kg/day) were gavage for 8 weeks. The end of treatment, blood samples, to investigate serum total antioxidant capacity (Total Antioxidant Capacity, TAC) was performed. Antioxidant capacity decreased in the obese group, the sham TAC levels than obese and control increased. In all treatment groups, TAC levels increased, but this increase in the thioflavin and chalcone group compared with the other groups was not significant; but in acarbose group ($P < 0.01$) and thymol group ($P < 0.05$) TAC levels were significantly increased. This study showed that natural compounds derived from plants such as thymol and acarbose can increase TAC levels in obese animals. Since that oxidative stress plays a pivotal role in the onset of chronic diseases associated with obesity, so we can use of these compounds for the treatment of obesity and increase of levels of antioxidants.

Keywords: Thymol, Acarbose, Serum Total Antioxidant, Obesity

چکیده

چاقی معمولاً همراه با کمبود ریزمغذی‌ها، نتیجه رژیم غذایی ناسالم، فقدان آنتی‌اکسیدان‌ها و چربی‌های غیراشباع از یک طرف و فراوانی چربی‌های اشباع از طرف دیگر است. استرس اکسیداتیو یک نقش محوری در شروع بیماری‌های مزمن مرتبط با چاقی دارد. متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند. در این مطالعه تأثیر ترکیبات طبیعی مانند تیمول، آکاربوز، تیوفلاوین T و چالکون روی غلظت سرمی آنتی‌اکسیدان‌های تام سرم بررسی می‌شود. در این مطالعه از موش‌های نر نژاد NMRI استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (تحت رژیم استاندارد جوندگان) و گروه تجربی به مدت ۸ هفته (تحت رژیم پرکالری) قرار گرفتند. سپس حیوانات چاق به سه گروه شم، چاق و تجربی تقسیم شدند. در گروه تجربی موش‌ها با ترکیبات تیمول، آکاربوز، تیوفلاوین T و چالکون (12mg/kg/day) به مدت ۸ هفته گاوژ شدند. در پایان دوره تیمار، خونگیری از حیوانات، به منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام سرم (Total Antioxidant Capacity, TAC) بعمل آمد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه چاق نسبت به کنترل کاهش، اما در گروه شم سطح TAC نسبت به چاق و کنترل، افزایش نشان داد. در همه گروه‌های تیمار، سطح TAC افزایش نشان داد، اما این افزایش در گروه چالکون و تیوفلاوین T در مقایسه با دیگر گروه‌ها معنی‌دار نبود، ولی در گروه آکاربوز ($P < 0.01$) و در گروه تیمول ($P < 0.05$) سطح TAC نسبت به دیگر گروه‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد. این مطالعه نشان داد که ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهان مانند تیمول و آکاربوز می‌توانند در حیوانات چاق باعث افزایش سطح TAC شوند. از آنجا که استرس اکسیداتیو نقش محوری در شروع بیماری‌های مزمن مرتبط با چاقی دارد، بنابراین می‌توان از این ترکیبات برای درمان چاقی و افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تیمول، آکاربوز، آنتی‌اکسیدان تام سرم، چاقی

مقدمه

رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های زیادی در انسان می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد از یک طرف باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی و سکنه می‌شوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان، جلوگیری می‌کنند (Mirzaei et al., 2011). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان و بیماری‌های قلبی و سکنه مغزی می‌شوند (Prior and Cao, 2000). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۴۲۳ روغن ضروری از ۴۸ خانواده مختلف به عنوان خنثی‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد، شناسایی شده‌اند. روغن‌های ضروری گیاهی خانواده‌های تیره مورد و نعنای از مؤثرترین آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. تیمول جزء اصلی بیشتر روغن‌های ضروری خانواده نعنای است. تکمیل غذا با روغن‌های ضروری می‌تواند پروسه تخریب اکسیداتیو و اکسیداسیون لیپیدها را خنثی یا به تأخیر بیندازد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را بالا ببرد (Anthony et al., 2012).

چالکون (1,3-diaryl-2-propen-1-ones) و آنالوگ‌های هتروسیکلیک آن به خانواده فلاونوئید متعلق هستند. که دارای ویژگی‌های بیولوژیک مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سیتوتوکسیک، ضد سرطان، آنتی‌باکتریال، آنتی‌پروتوزوا، ضد زخم، آنتی‌هیستامین و ضد التهاب می‌باشد (Rösen and Osmer, 2006).

تیمول (۲-ایزوپروپیل - ۵- متیل فنول) به طور وسیعی به عنوان آنتی‌سپتیک عمومی در اعمال جراحی کشاورزی وسایل آرایشی و صنایع تغذیه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Aeschbach et al., 1994; Manou et al., 1998). ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قارچ‌کشی و باکتری‌کشی قوی تیمول باعث شد که ابتدا این ترکیب در دندانپزشکی برای درمان عفونت‌های دهانی استفاده شود (Twetman et al., 1995). تیمول دارای عملکرد ضد التهابی قوی است که باعث کاهش آزاد شدن واسطه‌های التهابی مثل اینترلوکین‌ها پروستاگلان‌دین‌ها و لوکوتری آن‌ها می‌شود (Skold et al., 1998). تیمول یک مولکول فنولی مشتق از آویشن است. دسته‌ای از ترکیبات طبیعی که به عنوان زیست‌کش شناخته می‌شوند و دارای خواص آنتی‌میکروبی قوی است بخصوص زمانی که با ترکیبات مثل کارواکرول همراه می‌شود (Palaniappan and Holley, 2010). تیمول خواص آنتی‌توموری دارد (Andersen, 2006).

آکاربوز به خوبی شناسایی شده است یک ترکیب طبیعی است که توسط چندین گونه actinoplane تولید می‌شود. نشان داده شده که آکاربوز مهارکننده مؤثر چندین کربوهیدراز شامل: آلفاگلوکوزیداز، گلوکوامیلاز، سیکلوماتودکسترین گلوکونیل ترانسفراز، آلفاآمیلاز و دکستران ساکاراز است (Brzozowski and Daveis, 1997; Kim et al., 1998; Strokopytov et al., 1995). آکاربوز یک مهارکننده قند خون در بیماران مبتلا به دیابت است و می‌تواند هیپرگلیسمی بعد از صرف غذا را در این بیماران کاهش دهد (John and Robyt, 2005).

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی موش‌های نر نژاد NMRI انجام شد. حیوانات با وزن تقریبی ۲۵g در دمای ۲۵-۲۲°C باسیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در قفس‌های استاندارد در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. ابتدا حیوانات به دو گروه تقسیم شدند. گروه کنترل (تحت رژیم استاندارد جوندگان) و گروه تجربی (تحت رژیم پرکالری) قرار گرفتند. پس از ۸ هفته رژیم چاقی و اطمینان از چاق شدن حیوانات، حیوانات چاق به ۵ گروه تقسیم شدند. ۴ گروه به مدت ۸ هفته تحت تیمار با ترکیبات طبیعی یعنی آکاربوز، چالکون، تیوفلاوین T و تیمول (دوز ۱۲ mg/kg/day) قرار گرفتند و یک گروه تحت عنوان گروه شم که حلال تیمول و چالکون (روغن دانه انگور) را با همان دوز دریافت می‌کردند. پس از پایان دوره تیمار، خونگیری از حیوانات به منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم با استفاده از کیت مخصوص اندازه‌گیری TAC انجام شد.

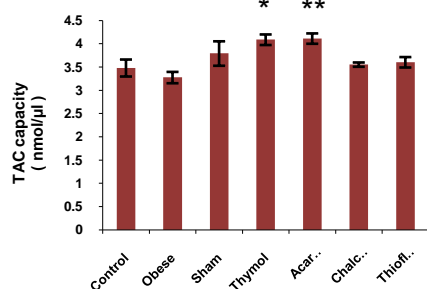
آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین گروه‌های مختلف از آزمون واریانس یک‌طرفه ANOVA و آزمون Tukey استفاده شد. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند و سطح معنی‌دار بودن $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

گروه کنترل به مدت ۸ هفته تحت رژیم استاندارد جوندگان و گروه چاق به مدت ۸ هفته تحت رژیم پرکالری قرار داشتند.

در مقایسه با گروه کنترل چاق، معنی‌دار نبود. $P < 0.05$



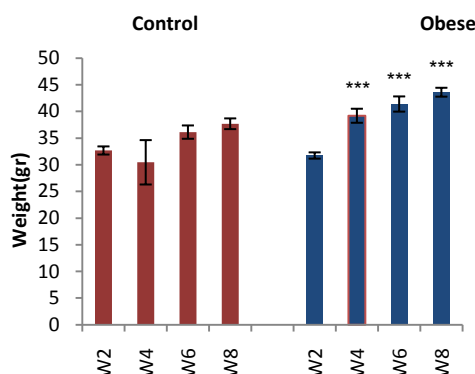
شکل ۲. تأثیر ترکیبات طبیعی روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما در موش‌های چاق

جدول ۳. تأثیر ترکیبات طبیعی روی TAC در موش‌های چاق

12 mg/kg/d	Mean ± SD
Control	3.682 ± 0.1909
Obese	3.2767 ± 0.21079
Sham	3.7933 ± 0.26295
Thymol	4.090 ± 0.11372
Acarbose	4.1150 ± 0.11124
Chalcon	3.5550 ± 0.04573
Thioflavin T	3.6050 ± 0.11214

بحث

سازمان بهداشت جهانی (WHO) تخمین زده است که در سال ۲۰۰۵، حدود ۱/۶ میلیارد بزرگسال در سراسر جهان اضافه وزن و حداقل ۴۰۰ میلیون نفر چاق بودند. علاوه بر این، سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که حداقل ۲۰ میلیون کودک زیر سن ۵ سال اضافه وزن داشتند. تعداد پیش‌بینی شده برای سال ۲۰۱۵، بسیار وسیع‌تر هستند، انتظار می‌رود ۲/۳ میلیارد بزرگسال مبتلا به اضافه وزن و ۷۰۰ میلیون نفر مبتلا به چاقی باشند (WHO, 2006). علت افزایش وزن بدن، عدم تعادل بین دریافت انرژی و مصرف آن است. سازمان بهداشت جهانی در نظر دارد یک تغییر جهانی در رژیم غذایی ایجاد کند. به این صورت که مصرف غذاهای پرکالری که دارای چربی و قند بالا هستند کاهش و مصرف غذاهای سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و دیگر عناصر، افزایش یابد (Preuss, 2009). نتایج این مطالعه نشان داد، تغذیه با رژیم پرکالری علاوه بر افزایش وزن بدن، می‌تواند باعث کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم شود. چاقی یک ریسک فاکتور مهم برای بیماری‌های مزمن مثل بیماری‌های قلبی - عروقی، دیابت نوع ۲، آپنه خواب، انواع مشخص سرطان و استوارتریت‌ها می‌باشد (Strokopytov *et al.*, 1995).



شکل ۱. مقایسه تغییر وزن حیوانات گروه کنترل و گروه چاق تحت رژیم غذایی متفاوت

همانطور که شکل ۱ نشان می‌دهد، رژیم غذایی پرکالری در حیوانات گروه چاق، باعث افزایش معنی‌دار وزن ($p < 0.001$) گردید در حالی که در حیوانات گروه کنترل که غذای استاندارد دریافت می‌کردند، افزایش وزن معنی‌دار نبود.

جدول ۱. تغییر وزن حیوانات گروه کنترل طی ۸ هفته

Weight (gr)	Week	Mean ± SD
	W2	32.68 ± 0.762
W4	30.47 ± 4.161	
W6	36.13 ± 1.249	
W8	37.7 ± 1.005	

جدول ۲. تغییر وزن حیوانات گروه چاق طی ۸ هفته

Weight (gr)	Week	Mean ± SD
	W2	31.74 ± 0.588
W4	39.2 ± 1.314	
W6	41.4 ± 1.427	
W8	43.61 ± 0.831	

تأثیر ترکیبات طبیعی (آکاربوز، چالکون، تیوفلاوین T، تیمول) روی TAC سرم موش‌های چاق در شکل ۲ آمده است.

تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که سطح TAC در موش‌هایی که تحت رژیم پرکالری قرار گرفتند، کاهش می‌یابد. در موش‌های چاق تیمار شده با ترکیبات طبیعی و همچنین گروه شم، سطح TAC افزایش نشان می‌دهد. در موش‌های چاق تیمار شده با آکاربوز، سطح TAC در مقایسه با گروه کنترل چاق، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.01$) همچنین در گروه تیمار شده با تیمول، سطح TAC به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) در موش‌های چاق تیمار شده با چالکون و تیوفلاوین T و در گروه شم، سطح TAC سرم افزایش یافت، اما این افزایش در

محتوی TAC رژیم غذایی به بیش از ۱۰۸۰ nmol، چاقی شکمی را ۳۸ درصد کاهش می‌دهد (Bahadoran *et al.*, 2012).

تیمار موش‌های چاق با چالکون و تیوفلاوین T باعث افزایش سطح TAC در مقایسه با گروه کنترل چاق و کنترل لاغر شد، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. تیمول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (Beena *et al.*, 2013). تیمول از گیاهان گونه آویشن استخراج می‌شود که حاوی تنوعی از فلاونوئیدها شامل: apigenin, naringenin, luteolin و thymonin می‌باشد. این فلاونوئیدها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آویشن را بالا می‌برند، از طرفی ترکیب شدن آن با منابع غنی از منگنز، آویشن را در بالای لیست مواد غذایی آنتی‌اکسیدانی قرار می‌دهد (Trevisi *et al.*, 2007). نتایج تحقیق حاضر هم این مطلب را تأیید می‌کند. در این مطالعه مشاهده شد که تیمار حیوانات چاق با تیمول به عنوان یک ترکیب طبیعی، باعث افزایش معنی‌دار سطح TAC سرم می‌شود.

افزایش قند خون به طور معنی‌دار با استرس اکسیداتیو همراه است و نقش اصلی در پیشبرد T2DM دارد. گزارش شده که آکاربوز خطر بیماری‌های قلبی - عروقی را در مبتلایان به عدم تحمل گلوکز و T2DM کاهش می‌دهد. درمان با آکاربوز، وزن بدن و تری‌گلیسرید سرم را کاهش می‌دهد؛ درحالی‌که آدیپونکتین سرم را بالا می‌برد، بدون اینکه تأثیر معنی‌داری روی استرس اکسیداتیو داشته باشد. درمان با گلی‌بن‌گلامید استرس اکسیداتیو را بالا برده و HDL سرم را کاهش می‌دهد (Wang *et al.*, 2011). در مطالعه‌ای که روی رت‌های چاق انجام شد، درمان با آکاربوز، برای جلوگیری از افزایش استرس اکسیداتیو و عملکرد غیر عادی عروق که بواسطه هیپرگلیسمیک ایجاد شده‌اند، مفید و مؤثر بود (Rösen and Osmers, 2006).

نتایج این مطالعه نیز نشان داد که تیمار موش‌های چاق با آکاربوز احتمالاً با کاهش استرس اکسیداتیو موجب افزایش معنی‌دار سطح آنتی‌اکسیدان تام سرم شد.

نتیجه‌گیری

علت افزایش وزن بدن عدم تعادل بین دریافت انرژی و مصرف آن است. سازمان بهداشت جهانی در نظر دارد یک تغییر جهانی در رژیم غذایی ایجاد کند به این صورت که از سوی مصرف غذاهای با دانسیته انرژی بالا که دارای چربی و قند بالا هستند به غذاهایی که از سرشار از ویتامین‌ها، مواد معدنی و دیگر عناصر کم‌مصرف تغییر سبک ایجاد کند. در

یک ارتباط معکوس بین TAC و شاخص توده بدنی (Body Mass Index, BMI) وجود دارد. چاقی و افزایش توده بدن نقش کلیدی در پاتوژنز استرس اکسیداتیو سیستمیک در طول عمر بازی می‌کند. استرس اکسیداتیو نقش محوری در شروع بیماری‌های مزمن مرتبط با چاقی دارد (Hermsdorff *et al.*, 2012). نتایج این مطالعه نیز نشان داد که رژیم غذایی پرکالری با چاق شدن حیوانات و کاهش سطح TAC همراه می‌شود. به نظر می‌رسد استراتژی رژیم غذایی درمان مناسبی برای مقابله با چاقی باشد، ضمن اینکه فقط محدودیت کالری در نظر گرفته نشود، بلکه ترکیبات بیواکتیو و ساختار مواد غذایی مصرفی هم باید در نظر گرفته شود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام رژیم غذایی، به منظور تعیین کیفیت رژیم غذایی، بسیار مهم است. TAC رژیم غذایی مهمترین فاکتور درگیر در کاهش وزن بدن و مارکرهای مرتبط با چاقی است (Lopez-Legarrea *et al.*, 2013). آنالیزهای آماری در این تحقیق نشان داد که تیمار حیوانات چاق با ترکیبات طبیعی به عنوان مکمل‌های غذایی می‌تواند سطح کاهش یافته TAC را در حیوانات چاق، افزایش دهد.

بافت چربی نقش اصلی در تنظیم مقاومت انسولینی کل بدن بازی می‌کند. افزایش وزن بدن و چاقی به طور موازی با افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه است. اصلاح چاقی مقاومت انسولینی را در بسیاری از بیماران بهبود می‌بخشد. فلاونوئیدها از ترکیبات پلی فنولی هستند و در کاهش بروز بیماری‌های قلبی - عروقی، کاهش لیپیدهای سرمی از جمله TG، کلسترول، LDL و کاهش تولید VLDL در سلول‌های کبدی نقش دارند و به طور گسترده در گیاهان وجود دارند این ترکیبات تأثیرات سودمند فراوانی دارند به عنوان ضد آتروسکلروز، حساسیت، سرطان، ترومبوز و استئوپوروز بوده و خاصیت ضد ویروسی نیز دارند. در مدل حیوان دیابتی، فلاونوئیدها به عنوان داروهای ضد هیپرگلیسمی و هیپرلیپیدمی شناخته شده‌اند (Michael, 2006).

چالکون از ترکیبات فلاونوئیدی است دارای خاصیت ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریال و آنتی‌توموری است. تعدادی از مشتقات چالکون طبیعی و سنتتیک فعالیت ضدالتهابی قوی دارند (Nowakowska, 2007). فعالیت ضدالتهابی چالکون‌ها با مهار واسطه‌های التهابی از جمله NO و TNF- α همراه است (John, 2005). مدارکی وجود دارد که نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی می‌توانند اثرات تضعیف‌کننده و پیشگیری‌کننده روی اختلالات متابولیکی داشته باشند. افزایش TAC رژیم غذایی باعث کاهش وزن و کاهش چربی شکمی می‌شود و حتی افزایش

به‌عنوان روش درمانی مناسبی برای افزایش TAC در چاقی به‌حساب آید.

کل می‌توان نتیجه گرفت سطح TAC در چاقی کاهش می‌یابد و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان مکمل می‌تواند

REFERENCES

- Andersen A (2006) Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *Int J Toxicol*. 25 Suppl 1: 29-127.
- Anthony KP, Deolu-Sobogun SA, Saleh MA (2012) Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils. *J Food Sci*, 77(8): 839-43.
- Aeschbach R, Loliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B, Aruoma OI (1994) Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem. Toxicol*, 32, 31 ± 36.
- Bahadoran Z, Golzarand M, Mirmiran P, Shiva N, Azizi F (2012) Dietary total antioxidant capacity and the occurrence of metabolic syndrome and its components after a 3-year follow-up in adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutr Metab (Lond)*. Jul 31; 9(1):70.
- Beena, Kumar D, Rawat DS (2013) Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. *Bioorg Med Chem Lett*, 1; 23(3):641-5.
- Brzozowski AM, Daveis MJ (1997) *Biochemistry*, 36: 10837-10845.
- John F, Robyt (2005) Inhibition, activation and stabilization of α -amylase family enzymes. 1997 *Biologia*, Bratislava, 60/ suppl. 16: 17-26.
- Hermesdorff HH, Barbosa KB, Volp AC, Puchau B, Bressan J, Zulet MA, Martínez JA (2012) Gender-specific relationships between plasma oxidized low-density lipoprotein cholesterol, total antioxidant capacity, and central adiposity indicators. *Eur J Prev Cardiol*. Dec 19.
- Kim D, Park KH, Robyt JF (1998) *J. Microbiol. Biotechnol*, 8: 287-290.
- Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Abete I, Bondia-Pons I, Navas-Carretero S, Forga L, Martinez JA, Zulet MA (2013) Short-term role of the dietary total antioxidant capacity in two hypocaloric regimes on obese with metabolic syndrome symptoms: the RESMENA randomized controlled trial. *Nutr Metab (Lond)*, 13; 10(1):22.
- Manou L, Bouillard L, Deveeschouwer MJ, Barel AO (1998) Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *J Appl Microbiol*, 84, 368 ± 376.
- Michael R Peluso (2006) Flavonoid attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver. *Exp Biol Med*, 231: 1287-1299.
- Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M (2011) The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. *Fasa University of Medical Sci*, 3(1):104-111.
- Nowakowska Z (2007) A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones, *Eur J Med Chem*, 42:125-137.
- Palaniappan K, Holley RA (2010) Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *Int J Food Microbiol*, 140 (2-3): 164-8.
- Preuss HG (2009) Bean amylase inhibitor and other carbohydrate absorption blockers: effects on diabetes and general health. *J Am Coll Nutr*, 28: 266-276.
- Prior RL, Cao G (2000) Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications *Hortic Sci*, 35: 588-592.
- Rösen P, Osmers A (2006) Oxidative stress in young Zucker rats with impaired glucose tolerance is diminished by acarbose. *Horm Metab Res*, 38(9):575-86.
- Sahu NK, Balbhadra SS, Choudhary J, Kohli DV (2012) Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Curr Med Chem*, 19(2): 209-25.
- Skold K, Twetman S, Hallgren A, Yucel-Lindberg T, Modeer T (1998) Effect of a chlorhexidine/thymol-containing varnish on prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid. *Eur J Oral Sci*, 106:571- 575.
- Strokopytov B, Penninga D, Roseboom HJ, Kalk KH, Dijkhuizen L, Dijkstra BW

- (1995) *Biochemistry*, 34: 2234–2240.
- Tonstad S, Després JP (2011) Treatment of lipid disorders in obesity, *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 9(8): 1069-80.
- Trevisi P, Merialdi G, Mazzoni M, Casini L, Tittarelli C, De Filippi S, Minieri L, Lalatta-Costerbosa G, Bosi P (2007) Effect of dietary addition of thymolon growth, salivary and gastric function, immune response, and excretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, in weaning pigs challenged with this microbe strain. *Ital J Anim Sci*, 6(1): 374-376.
- Twetman S, Hallgren A, Petersson LG (1995) Effect of antibacterial varnish on mutans streptococci in plaque form enamel adjacent to orthodontic appliances. *Caries Res*, 29: 188-191.
- Wang JS, Lin SD, Lee WJ, Su SL, Lee IT, Tu ST, Tseng YH, Lin SY, Sheu WH (2011) Effects of acarbose versus glibenclamide on glycemic excursion and oxidative stress in type 2 diabetic patients inadequately controlled by metformin: a 24-week, randomized, open-label, parallel-group comparison. *Clin Ther*, 33(12): 1932-42.
- World Health Organization: Obesity and overweight (2006) [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>], Ref Type: Online Source.