ناهدة سعيد حمودي الجلبي
Saturday, December 25, 2010
2:48 PM

مجلة بغداد للعلوم مجلد 7(1) 2010

تأثيرالمستخلصات والمركب البروتيني المعزول من براعم نبات القرنفل *CLOVE BUDS* على مستوى الكلوكوز والدهون والكلوتاثايون والمالوندايالديهايد في الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

*ناهدة سعيد حمودي الجلبي** *كندة مسعود بلال الطائي** *إسراء سهل احمد آل فليح**

تاريخ قبول النشر 1 /3 /2010

الخلاصــة

تضمنت هذه الدراســة تحضير مستخلص مائي بارد لبراعم نبات القرنفل(Clove buds) ، إذ تم عزل ودراسة المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من الراسب البروتيني البارد ، كما تم تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول وكان (6799) دالتون .

يهدف البحث إلى دراسة تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني و الراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه في مستويات الكلوكوز ، الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية وكوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل الدم ، وكذلك مستويات الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد في أنسجة الكبد والكلية في ذكور الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان عن طريق الحقن بالتجويف البريتوني .

وأشارت النتائج إلى أن المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه قد أدت إلى انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز والكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم ومستوى المالونداياالديهايد في أنسجة الكبد والكلية ، في حين لم يظهر الراسب البروتيني انخفاض معنوي في مستوى الكوليسترول ، بينما لم تظهر أي من المستخلصات المذكورة آنفاً تأثيرا معنويا في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل الدم لذكور الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان ، بينما احدثت المستخلصات ارتفاعا معنويا في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية ماعدا المستخلص غير البروتيني والراسب البروتيني فقد احدثا ارتفاعا معنويا في مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد فقط .

الكلمات المفتاحية: براعم نبات القرنفل، الكليسيريدات الثلاثية، الترشيح الهلامي.

المقدمة :-

حاول الإنسان استخدام النباتات الطبية للشفاء من الأمراض التي تعرض لها على مدى تاريخه الطويل وبهذا تراكمت لديه على مر العهود معرفة بالخصائص العلاجية للكثير منها (*1*) .

وفي الآونة الأخيرة شاع استخدام النباتات الطبية سواء في الطب الشعبي أو في صناعة الأدوية وبعض المستحضرات الطبية ، كما أعتبر نبات القرنفل ألعطاري (*CLOVE*) *EUGENIA CARYOPHYLLUS* من بين أكثر النباتات استخداماً في هذا المجال .

القرنفل هو البراعم الزهرية الجافة لنبات *EUGENIA CARYOPHYLLUS* الذي يتبع الفضيلة الآسية *FAM. MYRTACEAE* (*2*) .

وتحتوي البراعم على كمية لا باس بها من الزيت الأساسي *ESSENTIAL OIL* المعروف بزيت القرنفل (*3*) والذي يشكل نسبة 20% من الوزن الجاف لهذه البراعم (*4*) .

ويحتوي الزيت على (60-95%) *EUGENOL* ، 2-27% *EUGENOL ACETATE* وكذلك 5-10% α and β - Caryophyllene (*3*) .

كما تحتوي على عناصر فعالة مثل فيرفيرول ، فانيلين ، بينين ، صمغ ، عفصيات . تستعمل خلاصة القرنفل كمطهرة معقمة في أمراض الفم وفي معالجة الألام العصبية السنية (*5*) .

كما يتميز بفعالية بايولوجية عالية في تثبيط نمو عدد لاباس به من الجراثيم ، إذ عزى العلماء السبب في ذلك إلى احتوائه على مادة *EUGENOL* التي تشكل نسبة عالية من الزيت تصل أحياناً إلى 95% (*6*) .

ومن الأمراض التي يمكن معالجتها باستخدام النباتات الطبية ، هو داء السكر الذي يعد من أكثر الأمراض شيوعاً في العالم .

يعرف داء السكر *DIABETES MELLITUS* على أنه حالة مزمنة ناتجة من ارتفاع مستوى السكر في الدم وهذا ناتج عن اختلال في مفعول الأنسولين الذي ينظم السكر في الدم وذلك بانخفاض مستواه في الدم أو بزيادة العوامل التي تبطل المواد الأساسية للجسم (الكاربوهيدرات والدهون والبروتينات) ويسبب خللا في توزيع المياه والالكترولبنات (*7*) ، وهذا المرض قد يصيب أي إنسان وفي أي عمر وخصوصا في حالة السمنة أو حالة وراثة المرض عن أحد الوالدين أو كليهما (*8*) . أهم الأعراض

*قسم الكيمياء/كلية التربية/جامعة الموصل

Unfiled Notes Page 1

السريرية للمرض : العطش الشديد وكثرة الإدرار والنقصان التدريجي في الوزن وفي بعض الأحيان ازدياد الشهية لتناول الطعام وعدم الوضوح في الرؤية والخمول والنعاس فضلاً عن احتمالية حدوث الاحمضاض الكيتوني (9) .

ومن أهم مضاعفات داء السكر الطويلة الأمد هي تسارع حدوث تصلب الشرايين والسكتة الدماغية وارتفاع ضغط الدم وأمراض شبكية العين والتهابات مزمنة في الجهاز البولي وحدوث الفشل الكلوي والاعتلال العصبي الذي يؤدي إلى الفقدان الحسي مع ازدياد حدوث التشوه الخلقي MALFORMATION في أجنة الحوامل المصابات بداء السكر (10).

استهدفت الدراسة الى امكانية عزل المركبات البروتينية من المستخلص المائي البارد لبراعم نبات القرنفل باستخدام التقنيات الحياتية المختلفة وايجاد الاوزان الجزئية التقريبية لها ثم دراسة تأثير المركبات البروتينية المعزولة والجزء غير البروتيني المفصول من المستخلص المائي الخام على بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الفئران المختبرية المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان وكذلك في مستويات الكلوتاثايون المالوندايالديهايد في انسجة الكبد والكلية العائدة لها.

المواد وطرائق العمل :

تم الحصول على براعم نبات القرنفل من السوق المحلية في مدينة الموصل ، نظفت من الشوائب والاتربة . استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران البيض المجهزة من (كلية الطب وكلية التربية/جامعة الموصل) وتراوحت اوزانها ما بين (20–33) غم. وضعت في اقفاص خاصة مجهزة ومعدة لهذا الغرض وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها واخضعت جميع الحيوانات للظروف ذاتها من ضوء ودرجة حرارة .

تحضير المستخلص المائي الخام البارد :

تم وزن (200) غم من براعم نبات القرنفل ، طحنت بواسطة الة الطحن ، بعدها مزجت بالماء وبنسب (1 :3 V/W) بعد ذلك عرضت للموجات فوق الصوتية لغرض تحطيم جدران الخلايا باستخدام جهاز الموجات فوق الصوتية (ULTRA SONIC) وذلك بتعريض النموذج (10) ثواني للموجات فوق الصوتية وبتردد (20000) ذبذبة/ ثانية ثم ترك لمدة دقيقة كررت العملية عدة مرات وقد أجريت العملية بدرجة (4) مْ . رشح المزيج من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي المبرد للتخلص من المواد غير الذائبة ثم قلص حجم هذا المستخلص الناتج الى الثلث بواسطة جهاز التجفيد (LYOPHILIZER) وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام .

عزل البروتين :

تم ترسيب البروتين من المستخلص المائي الخام باستخدام الاستيون البارد وبنسبة (40 : 60) حجم : حجم على التوالي (11)، تم الحصول على الراسب البروتيني بعد فصله بجهاز الطرد المركزي المبرد وبسرعة 6000 XG ولمدة 20 دقيقة . بعد ذلك وضع الراسب البروتيني في جهاز التجفيد لعدة ساعات للحصول على المادة البروتينية بشكل مسحوق .

فصل وتنقية البروتين :

نقي البروتين الخام الذي عزل بالترسيب وذلك باستخدام تقنية الترشيح الهلامي Gel filtration (12) ، من خلال عمود فصل ذي ابعاد 120 × 1.8 سم والحاوي على مادة السيفاديكس (SEPHADEX G-50) حيث بلغ الارتفاع السيفاديكس فيه (110)سم .

التقدير الكمي للبروتين :

قيست كمية البروتين في المستخلص المتحصل عليه من كل خطوة باستخدام طريقة الباحث لاوري المحورة (13) . استخدم البومين مصل البقر BSA بوصفه محلولاً قياسياً بتركيز 100 ملغم / 100 سم^3 وله معامل امتصاص مولاري 0.67 عند طول موجي 280 نانوميتر.

تعيين الوزن الجزئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول :

حدد الوزن الجزئي التفريبي للمركب البروتيني المعزول باستخدام تقنية الترشيح الهلامي وباستخدام نفس مواصفات عمود الفصل المذكور انفاً وبنفس مادة الهلام السابقة ، بعد تمرير محاليل المواد القياسية المعلومة الوزن الجزئي منه ومحلول البروتين الخام (14) .

تحديد الجرعة المؤثرة :

استخدمت فئران سليمة تراوحت اوزانها (20 – 33) غم قسمت الى مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران ، عوملت كما يأتي :-

1– المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني بـ (0.2) مل من المحلول الملحي الفسلجي (NORMAL SALINE) وعدت مجموعة سيطرة (CONTROL) .

2– المجاميع من (2 – 5) ومن (6–9) حقنت بالتجويف البريتوني بالجرع (100، 200، 300، 400)ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي من المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني المعزول منه على التوالي، والمجاميع (10–13) حقنت في التجويف

Unfiled Notes Page 2

البريتوني بالجرع (25، 50، 75، 100)ملغم/كغم من وزن الجسم من الراسب البروتيني والمذاب في المحلول الملحي الفسلجي ، وبعد ساعتين من اجراء عملية الحقن تم سحب الدم من الفئران من جيب محجر العين، قيس مستوى الكلوكوز في مصل الدم، ثم اختيرت الجرعة الاكثر تخفيضا لمستوى كلوكوز الدم وعدت جرعة مؤثرة .

استحداث داء السكر

استخدم ذكور الفئران البيض والتي تراوحت اوزانها بين(20–33)غم . قسمت الى مجاميع ، تضم كل مجموعة اربعة فئران ، بضمنها مجموعة السيطرة ، حقنت الفئران المراد استحداث داء السكر بها بمادة الالوكسان *ALLOXAN* المحضرة انياً وبجرعة 150 ملغم/كغم من وزن الجسم في التجويف البريتوني (15)، وبعد تجويعها لمدة 24 ساعة ، تم التأكد من حدوث داء السكر بفحص الإدرار بواسطة الشريط الكاشف *(TEST–TAPE (R), ELI –LILLY CO –USA)*

تقدير المتغيرات

قدر مستوى الكلوكوز والكوليسترول الكلي *(T. C)* والكليسيريدات الثلاثية *(T.G)* وكوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة *(HDL–C)* في مصل الدم ، باستخدام عدة التحليل *KIT* نوع (Syrbio ,France) وهي طريقة انزيمية ، كما قدر مستوى الكلوتاثايون *(GSH)* في انسجة الكبد والكلية بطريقة المان المحورة (16) في حين قدر مستوى المالوندليالديهايد *(MDA)* في الانسجة المدروسة بالطريقة المتبعة من قبل الباحثين Volken وآخرون (17).

التحليل الاحصائي

حللت نتائج مستوى الكلوكوز، *(T.C)* ، *(T.G)*، *(HDL–C)*، *(GSH)* و(MDA) احصائياً وذلك باستخدام تحليل التباين الاحادي *(ONE WAY ANALYSIS OF VARIANCE)*، كما تم تحديد الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن *(DUNCAN)* (18) وكان مستوى التميز الاحصائي المقبول 5% ($P< 0.05$) .

النتائج والمناقشة

ايجاد كمية البروتينات الكلية ونسبتها المئوية وكفاءة الترسيب بالاسيتون في المستخلص المائي لبراعم نبات القرنفل .

يوضح الجدول (1) كمية البروتينات المقدرة بطريقة العالم لاوري المحورة ونسبتها المئوية وكفاءة ترسيبها بالاسيتون في المستخلص المائي الخام .

الجدول (1) كمية البروتينات ونسبتها المئوية وكفاءة الترسيب بالاستيون

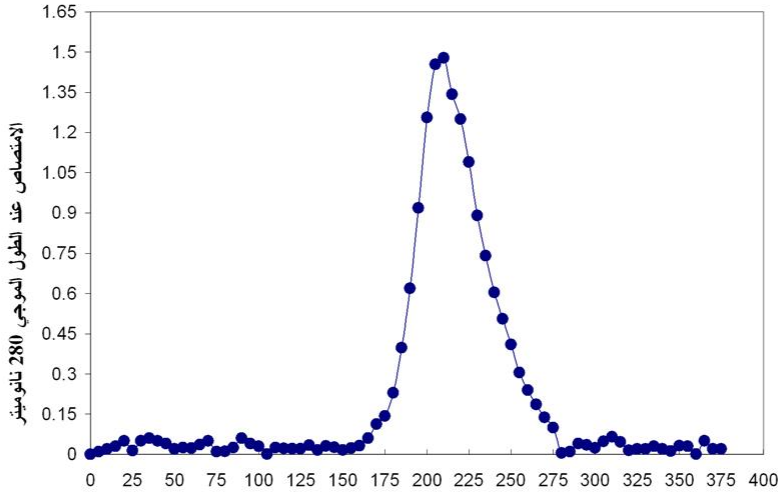
نوع المستخلص	تركيز البروتين (ملغم/سم^3)	الحجم الكلي للمستخلص (سم^3)	كمية البروتين الكلي في المستخلص (ملغم)	نسبة البروتين في النبات (%)	وزن النبات (غم)	وزن النبات المحصل عليه عمليا (ملغم)	كفاءة الترسيب بالاستيون (%)
المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل	8.97	390	3500	1.75	200	2940	84

فصل مادة الراسب البروتيني :

تعد طريقة الترشيح الهلامي احدى الطرائق المتبعة عالمياً لفصل المركبات اعتماداً على الاختلاف في حجم جزيئاتها ، فالجزيئات الكبيرة تمر أولاً من خلال عمود الفصل اما الجزيئات الصغيرة فسوف تتمكن من اختراق الهلام لذلك فانها تستغرق مدة زمنية اطول فتظهر اخيراً (19) .

واعطى روغان مادة الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي لبراعم نبات القرنفل قمة واضحة عند امرار محلولها في عمود الفصل المذكور سابقاً والمبينة في الشكل (1)

Unfiled Notes Page 3



الشكل (1) حجم الروغان للراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لبراعم نبات القرنفل بتقنية الترشيح الهلامي ، تشير قمة الحزمة الى حجم الروغان للمركب البروتيني المفصول ومقدارها (210) مليلتر .

ايجاد كمية البروتين الكلي في مادة الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد لبراعم نبات القرنفل قبل التمرير في عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج عن تقنية الترشيح الهلامي .

بعد فصل المركب البروتيني من المحلول المركز لمادة الراسب البروتيني التي مررت في عمود الفصل كما ذكر في طريقة العمل . قدرت كمية البروتين بطريقة العالم لاوري المحورة

، ومن ثم تم ايجاد كفاءة الفصل في العمود المستخدم بتقنية الترشيح الهلامي ، والجدول (2) يبين النتائج التي تم الحصول عليها .

الجدول (2): كمية البروتين للمحلول المركز قبل تمريره على عمود الفصل والمركب البروتيني الناتج من الترشيح الهلامي

نوع المادة	تركيز البروتين (ملغم/سم^3)	الحجم الكلي (سم^3)	كمية البروتين الكلي (ملغم)	النسبة المئوية (%)	كفاءة الفصل (%)
الراسب البروتيني الناتج من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل قبل التمرير على عمود الفصل	1.475	2	2.95	100	95.33
المركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي من مادة الراسب البروتيني	0.028125	100	2.8125	95.33	

الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول

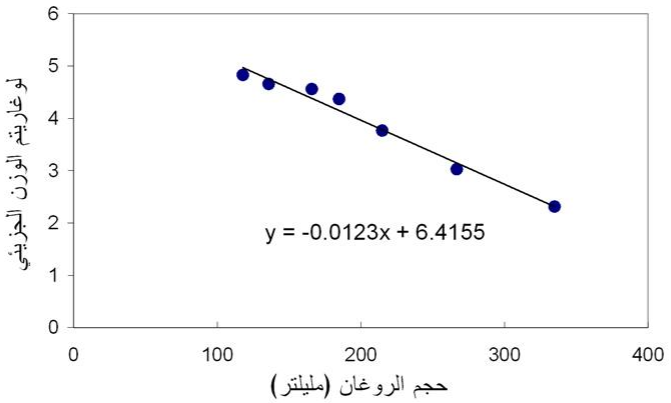
لتعيين الوزن الجزيئي للمركب المفصول بتقنية الترشيح الهلامي استخدم عمود الفصل ذو الابعاد (120 × 1.8) سم الذي وصف انفاً ، مرر عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي ، تراوحت اوزانها الجزئية بين (204- 2000000) دالتون ، بعد ذلك عين حجوم الروغان لهذه المواد كما هو مبين في الجدول (3) .

الجدول (3):حجوم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي والتي مررت على عمود الفصل ذي الابعاد (120 × 1.8) سم والحاوي على الهلام *SEPHADEX G-50*

المادة	الوزن الجزيئي	حجم الروغان (سم^3)
الدكستران الازرق *BLUE DEXTRAN*	2000000	87
البومين مصل البقر *BOVINE SERUM ALBUMIN*	67000	118
البومين البيض *EGGS ALBUMIN*	75000	136
ببسين *PEPSIN*	36000	166
ترببسين *TRYPSIN*	23000	185
هرمون الانسولين *INSULIN HORMONE*	2750	215
هرمون الاوكسيتوسين *OXYTOCIN HORMON*	1051	267
الترببتوفان *TRYPTOPHAN*	204	335

Unfiled Notes Page 4

وعند رسم حجم الروغان (ELUTION VOLUME) لكل مادة مقابل لوغارتم الوزن الجزيئي تم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي كما هو مبين في الشكل (2) والذي من خلاله يمكن تحديد الوزن الجزيئي التقريبي للمركبات المفصولة .



ومن خلال اسقاط حجم الروغان الذي تم الحصول عليه للمركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي على المنحني القياسي (الشكل 2) قدر الوزن الجزيئي التقريبي كما مبين في الجدول (4) .

الجدول (4) : الوزن الجزيئي التقريبي للمركب الهلامي البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي .

المركب البروتيني	حجم الروغان	الوزن الجزيئي التقريبي (دالتون)
المركب البروتيني المفصول من مادة الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد لبراعم نبات القرنفل	210	6799

تحديد الجرع المؤثرة للمستخلصات

يوضح الجدول (5)، (6)، (7) تحديد الجرع الاكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكوز في ذكور الفئران البيض السليمة للمستخلص المائي الخام البارد وغير البروتيني والراسب البروتيني لبراعم نبات القرنفل ، وقد تبين من خلال هذه الجداول ان قيمة الجرعة المؤثرة هي (300، 200، 75) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي .

الجدول (5) : تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد لبراعم نبات القرنفل .

	السيطرة	جرع المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل بـ ملغم / كغم وزن الجسم			
		100	200	300	400
تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر	5.66	3.37	3.08	2.54	2.75
نسبة التغير%	ـــــ	-40.45	-45.58	-55.12	-51.41

الجدول (6) تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص غير البروتيني لبراعم نبات القرنفل

	السيطرة	جرع المستخلص غير البروتيني لبراعم نبات القرنفل بـ ملغم / كغم وزن الجسم			
		100	200	300	400
تركيز الكلوكوز ملي مول / لتر	5.66	4.10	3.67	4.10	4.37
نسبة التغير %	—	-27.56	-35.15	-27.56	-22.79

الجدول (7) : تحديد الجرعة المؤثرة للراسب البروتيني لبراعم نبات القرنفل

	السيطرة	جرع الراسب البروتيني لبراعم نبات القرنفل بـ ملغم / كغم وزن الجسم			
		25	50	*75	100
تركيز الكلوكوز ملي مول / لتر	5.66	3.66	3.24	2.69	3.35
نسبة التغيير %	____	-35.33	-42.75	-52.45	-40.81

* وتم الاعتماد على الجرعة الفعالة للراسب البروتيني كمجموعة فعالة للمركب البروتيني المفصول منه .

تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول لبراعم نبات القرنفل على مستوى الكلوكوز ، الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية وكوليسيترول البروتين الدهني عالي الكثافة .

أظهرت نتائج حقن المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه وبجرع (300، 200، 75، 75) على التوالي في التجويف البريتوني انخفاضاً معنوياً في مستوى كلوكوز الدم بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان ، وكانت اعلى نسبة انخفاض عند حقن المستخلص الخام والمستخلص غير البروتيني المعزول منه ، حيث يصل الى مستوى الحد الطبيعي مقارنة بالسيطرة السليمة كما مبين في الجدول (8) وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي اجريت لمعرفة تأثير نبات القرنفل على مستوى الكلوكوز لاشخاص مصابين بداء السكر(20) وكذلك مع نتائج دراسة تأثير زيت القرنفل في الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي (21) .

ان سبب الانخفاض في مستوى كلوكوز الدم قد يعزى الى ان نبات القرنفل يلعب دوراً في تحفيز افراز الانسولين او قد يعزى الى قابلية بعض النباتات على تنشيط تكوين الكلايكوجين (21) .

وقد يكون السبب في امتلاك المستخلصات قابلية على خفض فعالية الانزيمات المسؤولة عن التكوين الجديد للكلوكوز مثل انزيم كلوكوز – 6 - فوسفاتيز والذي يؤدي دوراً مركزياً لتنظيم مستويات سكر الدم (22).

كما اشارت النتائج الى ان المركب البروتيني المفصول اظهر انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز وقد يعزى السبب في ذلك الى ان المركب البروتيني له تأثير مشابه للانسولين (*INSULIN – LIKE ACTION*) (23) ، او انه قد يحتوي على تسلسل الاحماض الامينية على نحو مشابه للانسولين (*INSULIN – LIKE STRUCTURE*) اذ يرتبط بمستقبلات الانسولين ويخفض مستوى كلوكوز الدم او يقوم بكليهما (*INSULIN-LIKE STRUCTURE AND ACTION*) (24) وفي الوقت نفسه ادى حقن نفس المستخلصات المذكورة انفاً وبنفس الجرع الى انخفاض معنوي وبنسب متفاوتة في مستوى الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية ما عدا الراسب البروتيني فقد احدث انخفاض غير معنوي في مستوى الكوليسترول فقط .

وتتفق هذه النتائج مع نتائج(20) حيث وجد ان تاثير مسحوق نبات القرنفل وعلى شكل كبسولات في المرضى المصابين بداء السكر ادى الى انخفاض في الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية ، في حين اشار (21) الى ان وجود انخفاض معنوي في الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية في الجرذان المصابة بداء السكر باستخدام زيت القرنفل ، وقد يكمن السبب الى خفض فعالية الانزيمات المصنعة للدهون خصوصاً الكوليسترول كانزيم (*B-HYDROXY –B- METHYL GLUTARYL COA REDUCTASE*) المسؤول عن بناء الكوليسترول (21،25)

اما بالنسبة للكليسيريدات الثلاثية فقد يعزى هذا التاثير الخافض لهذه المستخلصات الى قدرتها على زيادة تحفيز انزيم لايبوبروتين لايبير(26) في حين لم تشير هذه المستخلصات المذكورة في الجدول (8) الى وجود فرق معنوي في البروتين الدهني عالي الكثافة مقارنة بالسيطرة المصابة وهذا يتفق مع نتائج (20).

Unfiled Notes Page 6

الجدول(8):تاثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لبراعم نبات القرنفل على مستوى الكلوكوز ، الكوليسترول الكلي ، الكليسيريدات الثلاثية ، وكوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل دم ذكور الفئران المصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان .

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول/لتر)	الكوليسترول الكلي (ملي مول/لتر)	الكليسيريدات الثلاثية (ملي مول/لتر)	كوليسترول البروتين الدهني عالي الكثافة (ملي مول / لتر)
السيطرة(المحلول الملحي الفسلجي)	8.39±0.59 *A*	2.33±0.15 *A*	1.52±0.5 *B*	1.21 ±0.07 *B*
فئران مصابة بداء السكر المتروكة من دون معاملة	17.20±0.92 *D*	3.36±0.23 *C*	2.21±0.25 *C*	0.89±0.09 *A*
فئران مصابة بداء السكر + المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(300ملغم/كغم)	8.10±1.27 *A*	2.22±0.3 *A*	1.23±0.07 *AB*	0.88±0.18 *A*
فئران مصابة بداء السكر+المستخلص غير البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل (200ملغم/كغم)	6.93±1.27 *A*	2.85±0.42 *B*	1.63±0.09 *B*	0.93±0.14 *A*
فئران مصابة بداء السكر+الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(75ملغم/كغم)	14.08±1.10 *C*	2.97±0.2 *BC*	1.27±0.06 *AB*	0.88±0.14 *A*
فئران مصابة بداء السكر+المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(75ملغم/كغم)	11.45±0.10 *B*	2.18±0.19 *A*	0.89±0.13 *A*	0.98±0.14 *AB*

الأحرف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى إحتمالية (*0.05*)
تشير القيم الى المعدل ± الأنحراف القياسي.

تاثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لبراعم نبات القرنفل على مستوى الكلوتاثايون والمالونداليديهايد .

يتبين من الجدول (9) ان استحداث داء السكر والالوكسان ادى الى انخفاض مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية وتتفق هذه النتائج مع نتائج الكاكي في الارانب المصابة بداء السكر (27) كما اشار *THOMAS* الى خفض مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد لذكور الجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالستربتوزوتوسين (28) . يمكن ان يعزى السبب هنا الى انخفاض فعالية انزيم كاما- كلوتاميل-سستاين سنثيتيس او عدم توفر المواد الضرورية لبنائه .
كما ادى حقن المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه وبالجرع (300 , 200 , 75 , 75) على التوالي الى ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثايون في انسجة الكبد والكلية ، ما عدا المستخلص غير البروتيني والراسب البروتيني فقد احدث ارتفاع معنوي في مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد فقط . ربما يعزى سبب هذا الارتفاع الى زيادة فعالية انزيم كلوتاثايون سينثيتير *GSH SYNTHETASE* (29) او ربما تعزى الى احتواء هذه المستخلصات لنشاط مضاد للاكسدة من خلال تنشيط مضادات الاكسدة الانزيمية (30). او قد يعزى السبب الى زيادة فعالية انزيم كلوكوز-6-فوسفيت ديهايدروجينيز (21)وهذا يؤدي الى تكوين القوة المختزلة *NADPH* التي تكون ضرورية في اختزال الكلوتاثايون المؤكسد *GSSG* الى شكله المختزل *GSH*(31).

الجدول (9) : تاثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني والراسب البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه لبراعم نبات القرنفل على مستوى الكلوتاثايون والمالونداليديهايد في انسجة الكبد والكلية لذكور الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان .

المعاملات	الكلوتاثايون(نانومول/غم)		المالونداليديهايد (نانومول/ غم)	
	كبد	كلية	كبد	كلية
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	5382.3±28.5 *C*	6452.8±148 *B*	149.2±5.5 *A*	255±6.2 *BC*
فئران مصابة بداء السكر المتروكة من دون معاملة	3565.5±247.7 *A*	5559.4±57.1 *A*	264±10.9 *A*	310.2±60.6 *C*
فئران مصابة بداء السكر+المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(300ملغم/كغم)	6657.3±136.8 *D*	6643.6±279.7 *B*	154.2±16.05 *A*	170.5±28.2 *A*
فئران مصابة بداء السكر+المستخلص غير البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم القرنفل(200ملغم/كغم)	4414.4±11.9 *B*	5278±214.4 *A*	151.1±10.25 *A*	194±16.4 *AB*
فئران مصابة بداء السكر+الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(75ملغم/كغم)	5419.8±252.9 *C*	5569.3±342.3 *A*	196±10.30 *B*	238.4±34.6 *B*
فئران مصابة بداء السكر+المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام لبراعم نبات القرنفل(75ملغم/كغم)	9197.4±171.5 *F*	6717±292 *B*	187±17 *B*	227±29 *AB*

الأحرف المختلفة عمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى إحتمالية (*0.05*)
تشير القيم الى المعدل ± الأنحراف القياسي.

Unfiled Notes Page 7

وقد احدثت المعاملة بالالوكسان لاستحداث داء السكر الى ارتفاعاً معنوياً في مستوى المالونداياليديهايد في انسجة الكبد والكلية لذكور الفئران وتتفق هذه النتائج مع نتائج عبد السعدون اذ لاحظ حدوث ارتفاع معنوي في مستوى المالونداياليديهايد في انسجة الكبد والكلية لذكور الفئران عند استحداث داء السكر بالمقارنة مع السيطرة السليمة (32) ،قد يعود السبب في ذلك الى ان ارتفاع مستوى الكلوكوز يزيد من توليد اصناف الاوكسجين الفعالة *(ROS)* وبالتالي الى زيادة بيروكسيدة الدهون وموت الخلايا (33) . كما ادى حقن المستخلصات المذكورة انفاً الى انخفاض معنوي في مستوى المالونداياليديهايد في نسيجي الكبد والكلية .

وقد يكون السبب في الانخفاض الى قدرة المستخلصات على اخماد فعالية الجذور الحرة حيث يعتبر القرنفل من النباتات التي تمتلك خاصية مضادة للاكسدة كبيرة *(30)*

المصادر

1. الكاتب، يوسف منصور.(2000)." تصنيف النباتات البذرية"، الطبعة الثانية ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ص 351.

2. حسين، فوزي طه قطب.(1981).لنباتات الطبية زراعتها ومكوناتها"، دار المريخ للطباعة والنشر، الرياض-المملكة العربية السعودية، ص 325.

3. Bisset, N.G.(1994)"Herbal drugs and Phytopharmaceuticals". Baca Raton., FL., CRC Press.

4. Brunton J.(1995)."Pharmacogenosy, Phytochemistry". Medicinal Plants, Paris, Lavoisier.

5. عيسى، بابا فريد.(2002)."موسوعة النباتات المفيدة"، الطبعة الاولى، مطبعة دار عكرمة، دمشق سوريا، ص 447.

6. Iwn M.M.(1993)."Hand Book of African Medicinal Plants". Boca Raton.,FL., CRC Press.

7. السيد، كمال فضل والكمالي ، هاطل هاشم.(1997). "النباتات العشبية المستخدمة لعلاج مرضى السكري بولاية الخرطوم(السودان)"، مجلة الدواء العربي – اكديما، العدد الثاني، كانون الاول، ص 66.

8. عرموش، هاني *(1996)*. "الامراض الشائعة والتداوي بالاعشاب". دار النفائس للطباعة والنشر والتوزيع، بيروت ، لبنان,ص266.

9. Mcdermontt M.T.(1998)." Endocrine Secrets", 2nd ed., Hanley and Belfus,Inc., Philadlphia, pp.1-13.

10. مصيقر، عبد الرحمن *(1999)*. " الغذاء والتغذية ". اكاديميا انترناشيونال، بيروت، لبنان، ص 563-557.

11 .آل فليح ، خولة احمد (2000). " مدخل الى الكيمياء الحياتية ". دار الكتب للطباعة والنشر ، الطبعة الثانية ، جامعة الموصل ، ص 119 .

12. Stanton P.(2003)."Gel filtration chromatography human a press., 251: 55-74.

13. Clark j.M. and Switzer R.L.(1977). " Experimental biochemistry " San Francisco , USA , PP.73-77 .

14. Andrews P. (1964). "Filtration behavior of proteins related to their molecular weight over a wide range ".J.Biol.Chem., 96,595-600.

15. Abdel-Hassen I.A., Abdel-Barry J.A. and Mohammed S.T. (2000). "The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extracts in normal and alloxan diabetic rabbits". J. Ethnopharmacol.,82,185-189 .

16. James R.C.,Goodman D.R. and Harbison R.D. (1982). " Hepatic glutathione and Hepatotoxicity , changes induced by selected marcortics ". J . Pharmacol . Therapy ., 221 : 708-714 .

17. Volken E., Nurperi G.and Ahmet B.(2001). " N-acetyl cystine reduces cerebral lipid peroxidation in a rat model of infanttile hydrocephalus ". J .Neurol . Sci ., Issue 1302-1310 .

18. Steel R.G. and Torrie J.H .(1984). " Principles and procedures of statistics biometrical approach". 2nd ed., Mc Graw .Hill Inc ., Singapore , p. 183.

19. Plumer D.T., (1978)."An Introduction of practical Biochemistry". 2nd ed., Mc Graw-Hill Book Company, UK.p 61.

20. Khan A., Qadir S., Katta K.,and Anderson R.A.(2006). "Cloves improve glucose, Cholesterol and triglycerides of oeople with type 2 diabetes mellitus". J.fedration. Ame.Socities. Experimental Biol.20(5),690-693.

21. Al-Attar A A.M. and Zari T.A. (2007). Modulatory effects of *Ginger* and *Clove* Oils on physiological responses in streptozotocin-induced diabetic rats". Intrenational J., Pharmacol.,3.32-40.

22. Gupta R.K., Kesari A.N., Watal G., Murthy P.S., Chandra R., Maithal K. and Tandon V.(2005). "Hypoglycemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of *Annona squamosa* (L.) in experimental animal ". Current Science. , 88(8) :1244-1254 .

23. Gray A.M. and Flatt P.R. (1999). " Insulin releasing and insulin like activity of the traditional antidiabetic plant .*Coriandrum sativum* (coriander) ". Br. J.Nutr. 81(3) : 203 – 209 .

24. Ahmed T.Y. and Al-Chalabi N.S. (2002). "Hypoglycemic effect of the proteinous compounds isolated from some hypoglycemic plants, Part II". Raf. J. Sci., 43-55.

25. Chang J.J., Chen T.H and Chem Y.T.(2004). " Inhibitory effect of tanui derivatives on HMG–CoA reductase in vitro cells ". Pharmacol ., 62(4) : 224-228 .

26. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A.and Rodwell V.W.(2000)" Harpers' Biochemistry ". 25th ed ., Appleton and Lange ,USA, p.279 .

27. الكاكي ، اسماعيل صالح ، يوسف ، وليد حميد (2003). " تأثير المستخلصات المائية لبذور حبة السوداء في مستويات المالونديالديهايد والكلوتاثيون في بعض انسجة ذكور الأرانب" . المجلة العراقية للعلوم البيطرية , المجلد 17 , العدد 1, ص 23-15 .

28. Thomas H., Schladt M. and Oesh F.(1989). "Effect of diabetes and starvation on the activity of rat liver epoxidehydrolases, glutathione S-tranferase and peroxisomal beta-oxidation ". Biochem.pharmacol. 38, 4291-4297.

29. Lomaestro B.M. and Malone M. (1995). " Glutathione and glutathione delivery compounds ". Adv. Pharmacol., 38 : 65 – 78

30. Jirovetz L., Buchbauer G., Stoilova I., Stoyanova A., Krastanov A. and Schmidt E.(2006). "Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential Oil". J.Agric.Food Chem., 54(17), 6303-6307.

31. Lands L.C., Grey V.L. and Smountas A . A. (1999) . " Effect of supplementation with acysteine donar on muscular performance " . J. Appl. Physiol., 87 : 1381 – 1385 .

32. السعدون ، محمد بحري حسن (2005). " عزل المستخلصات من بذور نبات الكرفس *APIUM GRAVEOLENS* ودراسة تاثيرها في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي " اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة الموصل .

33. Andrea D.H., Tracey B. and Peter J.O.(2003)." The response of antioxidant genes to hyperglycemia in abnormal in patients with type I diabetes and diabetic nephropathy " . diabetes, 52:846 – 851.

The effect of aqueous extracts and isolation proteinous compound from clove buds on serumglucose, triglyceride , glutathione and malnodialdehyde levels in alloxan induced diabetic mice

*Nhida Saieed Hamoodi** *Kinda Masood Bilal Al_Taee**
*Israa Sahel Ahmed Al-Flyah**

*Chem. Dept., College of Education, University of Mosul

ABSTRACT

This study was included preparing acold aqueous extract of clove buds The study also comprised the isolation and studying the proteinous compound,which was seperated using gel filtration technique and determined approximately molecular weight of this isolated compound(6799) dalton .

The aim of the study demonstrate effects of the crude aqueous, non proteinous extract, proteinous precipitate and proteinous compound on serum glucose, total cholesterol, triglyceride and high density lipoprotein-cholesterol levels, also glutathione and malondialdehyde levels in liver and kidney tissues in diabetic mice-induced alloxan.Extracts were administerated interaperitioneally.

The results were indicated that the crude aqueous, non proteinous extract, proteinous precipitate and proteinous compound which were caused asignificant decrease in serum glucose, total cholesterol, triglyceride levels and malondialdehyde level in liver and kidney tissues, while aproteinous precipitate don't show asignificant decrease in serum cholesterol level but all extracts don't show asignificant changes in serum high density lipoprotein-cholesterol level in alloxan induced diabetic mice, on other wise all extracts showed asignificant increase in glutathione level in liver and kidney tissues except non proteinous extract and proteinous precipitate which were caused asignificant increase in glutathione level in liver tissue only.