------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 18، العدد 2، ص72-87، 2007-----

تاثير المستخلص المائي البارد والمركب البروتيني المعزول من لحاء الدارسين (*Cinnamomum cassia*) في مستويات الكلوكوز والدهون البروتينية في مصل دم الفئران

ليلى عبد الله مصطفى
قسم الكيمياء
كلية العلوم
جامعة الموصل

اسراء سهل احمد
قسم الكيمياء
كلية التربية
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/5/8 ، تاريخ القبول 2007/1/15)

الملخص

تم فصل مركب بروتيني واحد من المستخلص المائي للحاء الدارسين بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي للراسب البروتيني الناتج من الترسيب بكبريتات الامونيوم، وتم تحديد الوزن الجزيئي التقريبي له وكان بمدى (6558) دالتون باستخدام تقنية الترشيح الهلامي وبمدى (6732) دالتون باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية. اشارت النتائج ان المستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه والمركب البروتيني المعزول منه ادى الى خفض مستوى كلوكوز الدم باستخدام الجرعة (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) وكانت نسبة الانخفاض (38 % و 21 % و 25 %) على التوالي للفئران السليمة، اما في حالة الفئران المصابة بداء السكر التجريبي فكان المركب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد للحاء نبات الدارسين هو الاكثر فعالية في تخفيض مستوى الكلوكوز وكانت نسبة الانخفاض (85 %). واظهرت النتائج ان المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني البارد والمركب البروتيني المعزول اظهروا انخفاضا معنويا في مستويات الكوليستيرول الكلي (TC)، الكليسيريدات الثلاثية (TG) والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا (VLDL) والبروتين الواطئ الكثافة للكوليستيرول (LDLC) في الفئرات السليمة. اما في الفئران المصابة بداء السكر التجريبي فاظهر المستخلص غير البروتيني البارد للحاء نبات الدارسين اعلى فاعلية في خفض مستويات TG و VLDLC و LDL-C و HDL-C.

The Effects of Proteinous Compound and Nonproteinous Fractions, Isolated from Cold Aqueous Extract of (*Cinnamomum cassia*) Bark on the Levels of Glucose and Lipoproteins on Blood Serum of Mice

Layla A. Mustafa
Department of Chemistry
College of Sciences
Mosul University

Israa S. Ahmed
Department of Chemistry
College of Education
Mosul University

ABSTRACT

One proteinous component had been isolated from gel filtration chromatography of the full saturated precipitate produced by ammonium sulphate of the aqueous extract of the *Cinnamomum cassia* bark. The apparent molecular weight of the isolated component was found to be (6558) dalton using gel filtration chromatography and (6732) dalton using sodium dodecyl sulphate polyacryl amide gel electrophoresis. The results showed that the cold crude aqueous extract non-proteineous extract and proteinous component isolated from aqueous extract were lowered glucose level using a dose of 100 mg/kg weight. The percent decrease were (38 %, 21 % and 25 %) respectively in normal mice, where as in diabetic mice, the proteinous component isolated from aqueous extract was the most effective in lowering glucose level using a dose of 100 mg/kg body weight where the percent decrease was 85 %. Finally, the crude aqueous extract and proteinous component isolated from the cold aqueous extract showed a significant decrease in the level of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), very low density lipoprotein (VLDL-C) and low density lipoprotein (LDL-C) in normal mice. However, in diabetic mice, the cold non-proteinous extract was the most effective in lowering TC, TG, VLDL-C, LDL-C and HDL-C levels.

المقدمة

يعد الدارسين (القرفة) من النباتات الطبية القديمة جداً وهو في مقدمة التوابل الثمينة ذات الفوائد الواسعة والاستعمالات المختلفة (القباني، 1969).

ذكر الدارسين ضمن الكثير من الوصفات العلاجية في البرديات الطبية الفرعونية وله تاريخ طويل من الاستعمالات في الهند وأول استخدام طبي له كان في الهند وأجزاء من أوربا سنة (500) قبل الميلاد وكان الدارسين يستخدم في ذلك الزمان لعلاج الزكام والأنفلونزا والمشكلات الهضمية ولا يزال يستخدم حتى اليوم بنفس الطريقة (Internet 1). ويشمل الجزء الطبي من النبات اللحاء والأوراق والزيت العطري (أودي، 1999).

يساعد الدارسين على طرد البلغم (Expectorant) وتطهير الجهاز التنفسي والبولي ويرجع هذا التأثير لاحتوائه على الزيت الطيار(حسين، 1981) وكباقي الزيوت الطيارة فإن زيت الدارسين طارد للغازات (Carminative) فيزيل الأم المغص الناتج من وجودها (حسين، 1981).

أما مسحوق الدارسين فكان يستعمل في الماضي بمزجه بالملح والبصل لوضعه على هيئة لبخات لعلاج سقوط الشعر ومع التين على هيئة ضمادات لعلاج لسع العقرب (Internet 1)، ولعلاج التهاب المفاصل وداء الرثية (الروماتزم) (أودي، 1999). ويستخدم كذلك لعلاج المغص المعوي والإسهال (Diarrhea) (Barnes et al., 2002). كما أن للدارسين تأثيراً ضد البكتريا الملوية البوابية (*Helicobacter pylori*) المسببة لقرحة المعدة (Martin and Ernst, 2003). ولاينصح بإعطاء الدارسين بكميات كبيرة لمرضى القرحة لخواصه المهيجة. كما يمتلك الدارسين فاعلية مضادة للأكسدة فيقلل من إنتاج الجذور الحرة التي تحطم جدران الخلايا (Jayaprakasha et al., 2003).

وحديثاً استخدم مستخلص الدارسين (Cinnamon EXTRACt) دواءً على شكل أقراص (200) ملغم لعلاج المرضى المصابين بارتفاع السكر والكولسترول في الدم (Sahelian, 2004) إذ يعد تأثير الدارسين الخافض للكولسترول تأثيراً ممتازاً في التخطيط العلاجي للمرضى الذين يعانون من مشاكل الأوعية الدموية القلبية (Cardio-Vascular) (Khan, 2003).

استهدفت هذه الدراسة الى امكانية عزل المركبات البروتينية من المستخلص المائي البارد للحاء نبات الدارسين باستخدام التقنيات الحيائية المختلفة وايجاد الاوزان الجزيئية التقريبية لها ثم دراسة تاثير المركبات البروتينية المعزولة والجزء غير البروتيني المفصول من المستخلص المائي الخام على بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الفئران المختبرية السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان.

المواد المستعملة وطرائق العمل

تم الحصول على لحاء نبات الدارسين (Cinnamon Bark) من السوق المحلية في مدينة الموصل، نظف من الشوائب والأتربة. استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران البيض (Male Albino Mice) المجهزة من (كلية التربية وكلية الطب البيطري/جامعة الموصل) وتراوحت أوزانها مابين (20–30) غرام. وقد وضعت في أقفاص خاصة مجهزة ومعدة لهذا الغرض وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها وأخضعت جميع الحيوانات للظروف ذاتها من ضوء ودرجة حرارة، كما استخدمت العدد الجاهزة (Standard Kits) من شركة (GOD-PAD) الالمانية لقياس مستويات الكلوكوز والكوليستيرول ومن شركة (BioMerieux) الفرنسية لقياس مستويات الكليسيريدات الثلاثية والبروتين الدهني عالي الكثافة للكوليستيرول في مصل الدم.

تحضير المستخلص المائي:

وزن (500) غرام من لحاء النبات وكسر إلى قطع صغيرة، ثم طحنت باستخدام آلة الطحن لحين الحصول على مسحوق ناعم عرض لغاز النتروجين المسال بعدها ترك النبات مدة (30) دقيقة في درجة حرارة المختبر أعيدت العملية عدة مرات بعد ذلك مزج مسحوق النبات مع المحلول المنظم [0.1 M (KH_2PO_4, K_2HPO_4)] (Potassium Phosphate Buffer) عند الرقم الهيدروجيني (pH=7)

(Dawson et al., 1969) بنسبة (V/W 3:1) ثم ترك المزيج ثلاث ساعات تحت تأثير المحرك الكهربائي وباستخدام الحمام الثلجي، رشح المزيج من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي المبرد مدة (30) دقيقة وبسرعة (6000 Xg) للتخلص من المواد العالقة وغير الذائبة والحصول على المستخلص الرائق للنبات.

عزل البروتين:

عزل البروتين بوساطة الترسيب بكبريتات الامونيوم وبتشبيع (75%) (Dioxin and Weeb, 1961) والطرد المركزي المبرد لمدة (25) دقيقة وبسرعة (33520 xg) عند (4) درجة مئوية وبعد هذه العملية، تم اذابة الراسب في اقل كمية من المحلول المنظم [0.1 M (pH = 7) (KH_2PO_4, K_2HPO_4)] ثم قدرت كمية البروتين بطريقة لاوري المحورة (Schacterle and Pollak, 1973) وبذلك اصبح المحلول جاهزا لاجراء تقنية الفرز الغشائي والترشيح الهلامي.

الفرز الغشائي:

اجريت هذه التقنية للتخلص من كبريتات الامونيوم باستخدام غشاء نصف ناضح، بعد وضع المستخلص المراد تنقيته في الكيس وبحكم غلقه يغمر في محلول بيكاربونات الامونيوم (0.1 M NH_4HCO_3) وحرك المحلول باستخدام محرك مغناطيسي مع مراعاة استخدام الحمام الثلجي، تستمر العملية (48) ساعة مع مراعاة تبديل محلول الفرز الغشائي كل ثلاث ساعات (Plummer, 1978)

تجزئة البروتين الكلي:

تم تجزئة البروتين الكلي باستخدام كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي وباستخدام عمود الفصل ذي الابعاد (2.56 × 87) سم والحاوي على الهلام من نوع (Sephadex G-75) وبارتفاع (83) سم وباستعمال المحلول المنظم لفوسفات البوتاسيوم (0.1 M) كمحلول روغان.

تحديد الوزن الجزيئي:

حدد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المعزول باستخدام تقنية الترشيح الهلامي وباستخدام نفس مواصفات عمود الفصل المذكور انفا وبنفس مادة الهلام السابقة، اذ قورن حجم استرداد المركب البروتيني مع حجوم استرداد مركبات معلومة الوزن الجزيئي واستنادا الى طريقة الباحث (Andrews, 1964)، وكذلك بتقنية الهجرة الكهربائية الحاوية للـ SDS وباستخدام هلام متعدد الاكريلامايد بوجود مادة Sodium Dodecyl Sulphate وقورنت المسافة النسبية المقطوعة للمركب البروتيني مع تلك المسافة المقطوعة للمركبات البروتينية المعلومة الوزن الجزيئي واستنادا الى طريقة الباحث (Laemmli, 1970) في عملية الفصل.

اختبار فعالية المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني المعزول منه والمركب البروتينـــي المفصول في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول والدهون البروتينية في مصل دم الفئران:

قسمت ذكور الفئران الى ثلاث مجموعات تضم كل مجموعة اربعة فئران، منعت الفئران من الأكل مدة (16) ساعة قبل إعطائها الجرعة (Neef et al., 1995) ثم حقنت عبر التجويف البريتوني بجرعة مقدارها (100) ملغم/كغم من وزن الجسم بالمستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني والمركب البروتيني المفصول منه بتقنية الترشيح الهلامي، فضلا عن المجموعات الثلاث مجموعة تضم (4) فئران عدت مجموعة سيطرة حقنت بـــ (1) مليلتر من المحلول الفسلجي (Normal Saline) فقط (Eno and Item, 1996). وبعد ساعتين من اجراء عملية الحقن تم سحب الدم (Ahmad et al., 1994) ثم اجريت القياسات الاتية على مصل الدم:

قياس مستوى الكلوكوز:

تم قياس مستوى كلوكوز الدم باستخدام عدة التحليل (Kit) من نوع
[Biocon®-Biosub®-Glu-Enzymatic Colorimetric Test (GOD-PAD)] Germany

قياس مستوى الكولستيرول:

تم قياس مستوى الكوليستيرول باستخدام عدة التحليل (Kit) من نوع
[Biocon®-CHOL-Enzymatic-Colorimetric-Test (HOP-PAD)] Germany

قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية:

تم قياس مستوى الكليسيريدات باستخدام عدة التحليل(Kit) من شركة (BioMerieux) الفرنسية.

تقدير مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة للكولسترول في مصل الدم:

تم قياس مستوى (HDL-C) في مصل دم الفئران باستخدام عدة التحليل (Kit) من نوع:
[(Biocon®-Fluitest®-HDL-CHOL-Precipitating Reagent)] Germany.

حساب مستوى البروتين الدهني واطئ الكثافة للكولسترول في مصل الدم:

حسب تركيز البروتين الدهني الواطئ الكثافة للكولسترول باستخدام العلاقة الآتية (Burtis and Ashwood, 1999):

LDL-C (mg/dl) = (Total cholesterol) – (HDL-C) – (Triglyceride/5)

حساب مستوى البروتين الدهني واطئ الكثافة جداً للكولسترول في مصل الدم:

حسب تركيز البروتين الدهني الواطئ الكثافة جداً للكولسترول باستخدام العلاقة الآتية: (Burtis and Ashwood, 1999):

$$\text{VLDL-C (mg/dl)} = \frac{\text{Triglyceride}}{5}$$

التحليل الإحصائي:

تم تحليل البيانات باستخدام الطرق القياسية فقد تم إيجاد المعدل والخطأ القياسي. كما تم مقارنة المعاملات باستخدام اختبار تحليل التباين واختبار دنكن عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) (Steel and Torrie, 1980).

النتائج والمناقشة

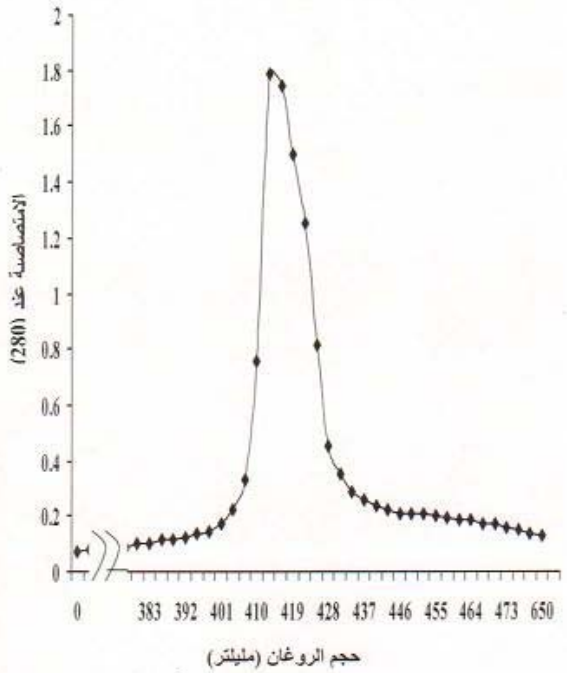
يوضح الجدول (1) كمية البروتين الكلي في المستخلص المائي البارد والراسب البروتيني الناتج وكفاءة الترسيب.

الجدول 1 : كمية البروتين الكلي في المستخلص المائي البارد والراسب البروتيني الناتج وكفاءة الترسيب

تركيز البروتين الكلي في المستخلص المائي الخام البارد (غم/500 غم لحاء الدرسين)	تركيز البروتين الكلي في الراسب غم/500 غم لحاء الدارسين	تركيز البروتين بعد عملية الديلزة	كفاءة الترسيب (%)
7.11	5.68	4.8	79.88

تجزئة البروتين الكلي وتحديد الوزن الجزيئي التقريبي:

اظهرت النتائج وجود قمة واحدة فقط للراسب البروتيني وكما هو موضح في الشكل (1).



الشكل 1 : المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذي الأبعاد (2.56 × 87) سم والحاوي على الهلام سفدكس من نوع (Sephadex G-75).

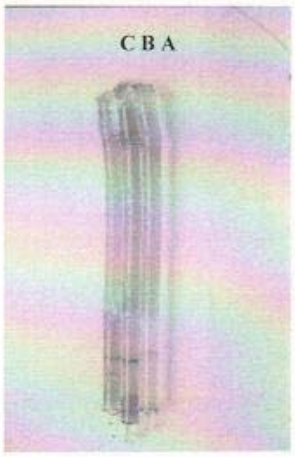
وبعد فصل البروتين تم تقدير كمية البروتين وكما موضح في الجدول (2).

الجدول 2: كمية البروتين الكلي للمركب البروتيني المفصول بتقنية الترشيح الهلامي والنسبة المئوية له.

المركب البروتيني	كمية البروتين غم/500 غم دارسين	النسبة المئوية %
المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد	3.9	81.25

كما استخدمت تقنية الترشيح الهلامي لايجاد الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني المفصول وذلك بمقارنة حجم روغانه مع حجوم روغان المواد القياسية المعلومة الوزن الجزيئي.

اما باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية الحاوية للـ SDS، فعند رسم الوزن الجزيئي لكل مادة مقابل المسافة النسبية المقطوعة تبين ظهور خط مستقيم حدد من خلاله الوزن الجزيئي التقريبي للمركب البروتيني وكان مساوي لـ (6732) دالتون كما هو موضح في الشكل (2).



الشكل 2 : صورة الهجرة الكهربائية الحاوية على الـ(SDS) بالنسبة إلى:

(A): المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد.

(B): هرمون الأنسولين.

(C): المركب البروتيني المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي.

تاثير المعاملة بالمستخلص المائي للحاء الدارسين والمستخلص غير البروتيني المفصول منه والمركب البروتيني المعزول منه في مستوى الكلوكوز في مصل دم الفئران السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان:

ظهر من النتائج الموضحة في الجدول (3) ان حقن الفئران السليمة بتركيز (100 ملغم/كغم) من وزن الجسم لكل من المستخلص المائي الخام والمستخلص غير البروتيني والمركب البروتيني المعزول منه في التجويف البريتوني (IP) قد ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P \leq 0.05$) في مستوى كلوكوز الدم وبنسب (38 % و 21 % و 24 %) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة.

وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي اجريت لمعرفة تاثير نبات الدارسين على مستوى الكلوكوز في الجرذان السليمة (Qine et al., 2003) . ان سبب الانخفاض في مستوى كلوكوز الدم قد يعزى الى وجود تحسن في مستقبلات الانسولين مما يؤدي الى زيادة دخوله وبالتالي تمثيله عن طريق مسار الكلايكوليسز (Glycolysis) ومسار البنتوز فوسفيت (Pentose Phosphate Pathway) (Jarvill-Taylor et al., 2001) أو ربما يعزى إلى احتواء المستخلصات المائية الخام والمستخلصات غير البروتينية المعزولة منها على مواد تحفز إفراز الأنسولين من خلايا بيتا البنكرياسية (Gray and Flatt, 1999) كالتانين (Tannin) فقد أشارت الدراسة التي أجراها الباحثون (Gray et al., 2000) إلى أن حامض التانيك (Tannic Acid) الموجود في المستخلص المائي لنبات البلسان [*Sambucus nigra* (elder)] عمل على تحفيز إفراز الأنسولين.

إن تأثير المستخلصات المائية الخام للدارسين الخافض لكلوكوز الدم يتفق مع نتائج الدراسة التي أجريت لمعرفة تأثير نبات الدارسين في مستوى الكلوكوز في الأشخاص المصابين بداء السكر من النوع الثاني (Khan, 2003).

إن سبب الانخفاض في مستوى كلوكوز الدم قد يعزى إلى قابلية مستخلصات الدارسين على تنشيط تكوين كلايكوجين الكبد من الكلوكوز الدائر في الدم المحيطي (Imparl-Radosevich et al., 1998).

كما اشارت النتائج الى ان المركب البروتيني المفصول اظهر انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز في ذكور الفئران السليمة والمصابة مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة والمصابة كما موضح في الجدول (3 و 4) وقد يعزى السبب في ذلك إلى أن المركب البروتيني له تأثير مشابه للأنسولين (Insulin-Like Action) (Gray and Flatt, 1999)، أو انه قد يحتوي على تسلسل الأحماض الأمينية على نحو مشابه للأنسولين (Insulin-like structure) إذ يرتبط بمستقبلات الأنسولين ويخفض مستوى كلوكوز الدم أو يقوم بكليهما (Insulin-Like Structure and Action) (Ahmad and Hamoodi, 2002, Part II).

تاثير المعاملة بالمستخلص المائي للحاء الدارسين والمستخلص غير البروتيني المفصول منه والمركب البروتيني المعزول منه في مستوى الكوليستيرول والكليسيريدات الثلاثية والـدهون البروتينيـة فـي الفئران السليمة والمصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان:

أدت المعاملة بالمستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه للحاء نبات الدارسين بجرعة (100) ملغم/ كغم من وزن الجسم في التجويف البريتوني إلى انخفاض معنوي في مستويات (TC، TG، VLDL، LDL) بينما لم يحدث أي تغيير معنوي في مستوى (HDL) في الفئران السليمة والمصابة مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة والمصابة على التوالي كما موضح في الجدول (3) و(4). في حين أحدث المستخلص غير البروتيني البارد انخفاضاً معنوياً في مستوى (HDL)

في الفئران المصابة مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة المصابة، وهذا الانخفاض ينسجم مع الانخفاض الكبير الذي سببه المستخلص غير البروتيني البارد في مستوى الكولسترول (TC) في الفئران المصابة مقارنةً بمستواه في مجموعة السيطرة المصابة كما موضح في الجدول (4)، أحدث المستخلص غير البروتيني البارد أعلى انخفاض في مستوى الدهون في الفئران المصابة، وربما يعود السبب إلى زيادة تركيز المواد الفعالة المختلفة والموجودة في المستخلص المائي الخام للدارسين بعد إزالة الجزء البروتيني منه. كما أشار Dhuley (1999) إلى أن نبات الدارسين يملك فاعلية مضادة للأكسدة في الجرذان المغذاة على غذاء عالي الدهن.

الجدول 3 : تأثير المستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه للحاء نبات الدارسين بجرعة (100 ملغم/ كغم) في مستويات الكلوكوز والكولسترول والكليسيريدات الثلاثية والدهون البروتينية في مصل دم ذكور الفئران السليمة.

المعاملات	مستوى الكلوكوز ملغم/100 مل والنسبة المئوية للتخفيض	مستوى الكوليسترول الكلي ملغم/100 مليلتر	مستوى الكليسيريدات الثلاثية ملغم/100 مليلتر	VLDL ملغم/100 مليلتر	LDL ملغم/100 مليلتر	HDL ملغم/100 مليلتر
السيطرة	1.4 ± 84.62 a	2.1 ± 139.33 a	1.7 ± 44.23 a	0.35 ± 8.84 a	1.4 ± 29.58 a	2.1 ± 100.9 a
المستخلص المائي الخام البارد للحاء نبات الدارسين	2.0 ± 52.18 c-38%	4.2 ± 119.8 b	2.0 ± 35.0 b	0.4 ± 7.0 b	1.3 ± 14.3 b	2.5 ± 98.5 a
المستخلص غير البروتيني البارد للحاء نبات الدارسين	3.6 ± 67.24 b-20.5%	1.4 ± 116 b	1.15 ± 34.0 b	0.23 ± 6.8 b	0.72 ± 13.2 b	2.27 ± 96.0 a
المركب البروتيني المعزول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد للحاء نبات الدارسين	2.1 ± 63.6 b-24.8%	1.22 ± 112 c	0.72 ± 34 b	0.144 ± 6.8 b	1.19 ± 11.2 c	2.3 ± 94 a

الاحرف المتشابهة دلالة على ان العلاقة غير معنوية والاحرف المختلفة دلالة على ان العلاقة معنوية، والاشارة السالبة تدل على الانخفاض

الجدول 4 : تأثير المستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه للحاء نبات الدارسين بجرعة (100 ملغم/ كغم) في مستويات الكلوكوز والكولسترول والكليسيريدات الثلاثية والدهون البروتينية في مصل دم ذكور الفئران المصابة.

المعاملات	مستوى الكلوكوز ملغم/100 مل والنسبة المئوية للتخفيض	مستوى الكوليستيرول الكلي ملغم/100 مليلتر	مستوى الكليسيريدات الثلاثية ملغم/100 مليلتر	VLDL ملغم/100 مليلتر	LDL ملغم/100 مليلتر	HDL ملغم/100 مليلتر
السيطرة	3.7 ± 374.5 a	3.2 ± 165.0 a	2.1 ± 47.33 a	0.43 ± 9.46 a	0.81±47.86 a	2.3±107.66 a
المستخلص المائي الخام البارد للحاء نبات الدارسين	2.1 ± 87.2 c -76.7%	2.4 ± 132.66 c	0.72 ± 36.16 b	0.144±7.23 b	0.64±25.76 c	2.6 ± 99.66 a
المستخلص غير البروتيني البارد للحاء نبات الدارسين	4.7 ± 362.7 a -3.15%	4.5 ± 89.5 d	3.0 ± 35.0 b	0.6 ± 7.0 b	1.6 ± 21.0 d	5.5 ± 61.5 b
المركب البروتيني المعزول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد للحاء نبات الدارسين	1.8 ± 54.9 c -85.3%	2.3 ± 154 b	1.32 ± 42 b	0.26 ± 8.4 b	0.6 ± 40.4 c	1.99±105.2 a

الاحرف المتشابهة دلالة على ان العلاقة غير معنوية والاحرف المختلفة دلالة على ان العلاقة معنويـة، والاشارة السالبة تدل على الانخفاض

إن التأثير الخافض للمستخلص المائي البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه للحاء الدارسين في مستوى كولسترول الدم في الفئران السليمة والمصابة، قد يعزى إلى أن بعض مكونات الدارسين ربما أدت إلى توقف بناء الكولسترول أو عملت على زيادة سرعة تخلص الجسم من الكولسترول (Khan, 2003). إن احتواء الدارسين على الكالسيوم والألياف يساعد على التخلص من أملاح الصفراء، إذ يعمل كل من الكالسيوم والليف على الارتباط بأملاح الصفراء في الأمعاء ويساعدان

على إزالتها من الجسم، وبإزالة الألياف لأملاح الصفراء فإن الجسم يقوم بتحويل الكولسترول ليصنع أملاح صفراء جديدة، وهذه العملية تساعد على خفض مستويات الكولسترول العالية في الدم (Zoladz et al., 2004)، وربما يعود التأثير الخافض لمستوى الكولسترول إلى احتواء نبات الدارسين على الفلافونويدات والتانين (تريز وايفانز، 2003) حيث أن للتانينات النباتية دوراً في تثبيط إنزيم (β-Hydroxy- β-methyl glutaryl CoA reductase) المسؤول عن بناء الكولسترول وهذا ما أكده Chang وآخرون (2004).

كما أدت المعاملة بالمستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه إلى انخفاض معنوي في مستوى الكليسيريدات الثلاثية (الدهون المتعادلة) في الفئران السليمة والمصابة مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة والمصابة على التوالي، ويمكن تفسير هذا بأن للحاء نبات الدارسين القدرة العالية على تحلل الدهون كما أشار Khan (2003) من أن لحاء الدارسين ربما يحدث بعض التغييرات أو التأثيرات الكيموحيوية داخل الجسم التي ربما يعزى إلى احتوائه على الألياف والتي لها تأثير محفز لإنزيم اللايبيز المسؤول عن تحلل الكليسيريدات الثلاثية وبالتالي يحافظ على مستوى الكليسيريدات الثلاثية (الدهون المتعادلة) منخفضاً (Venkatesan et al., 2003). كما أن تأثير المستخلصات الخافض للدهون ربما يعود السبب فيه إلى رفع فعالية الأنسولين الداخلي (Insulin-Potentially Action) إذ كلما كان أيض الكلوكوز طبيعياً فان أيض الدهون يصبح طبيعياً أيضاً (Khan, 2003).

أما بالنسبة لمستوى البروتين الدهني الواطئ الكثافة جداً (VLDL) فربما يعزى التأثير الخافض للمستخلص المائي البارد للحاء الدارسين والمستخلص غير البروتيني المعزول منه إلى احتواء هذه المستخلصات على مواد ذات تأثير شبيه بالأنسولين تعمل على زيادة نشاط فعالية إنزيم لايبوبروتين لايبيز (Lipoprotein Lipase) المسؤول عن إزالة الكليسيريدات الثلاثية والذي ينشط بوجود الأنسولين (King, 2004).

ادت المعاملة بالمستخلص المائي الخام البارد والمستخلص غير البروتيني المفصول منه الى انخفاض معنوي في مستوى الدهون البروتينية الواطئة الكثافة (LDL) في الفئران السليمة والمصابة مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة والمصابة على التوالي. وربما يعزى السبب إلى احتواء نبات الدارسين على الفلافونويدات (Flavonoides) التي تعمل بوصفها مواد مضادة للأكسدة والتي تتميز بقدرتها على خفض مستوى كولسترول الدم وتعزيز عملية ايضه وتحويله إلى مركبات أخرى والحد من عملية خزنة في الأنسجة (Robak et al., 2004) ومن البديهي في هذه الحالة أن يهبط مستوى الدهون البروتينية واطئة الكثافة في الدم التي تكمن وظيفتها في نقل الكولسترول الفائض إلى الأنسجة (McKee and McKee, 1996)، أو ربما يعود السبب إلى احتواء نبات الدارسين على نسبة عالية من

الفينولات وهذا ما وضحه Quettier-Deleu وآخرون (2003) بأن الأغذية الغنية بالفينولات تخفض من مستويات الدهون البروتينية واطئة الكثافة بشكل يتفوق على مضادات الأكسدة الأخرى.

كما أدى المركب البروتيني المعزول من المستخلص المائي البارد للحاء الدارسين إلى انخفاض معنوي في مستويات الكولسترول والكليسيريدات الثلاثية والدهن البروتيني الواطئ الكثافة جداً والدهن البروتيني الواطئ الكثافة بينما لم يحدث أي تغيير معنوي في مستوى الدهن البروتيني العالي الكثافة في الفئران السليمة والمصابة مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة والمصابة على التوالي كما موضح في الجدول (3 و 4).

من النتائج المشار إليها يتبين انه قد يكون للمركب البروتيني خواص مشابهة للأنسولين نفسه (Jachak, 2002) لقد أدى إلى خفض مستوى الكولسترول في الدم ويعزى الانخفاض فيه إلى احتمالية تثبيط المركب البروتيني لإنزيم (Intestinal acyl-CoA: Cholestrol acyltransferase, ACAT) المسؤول عن امتصاص الكولسترول من الأمعاء والذي يثبط بالأنسولين أيضا (Maechler et al., 1992). وكذلك الانخفاض في مستوى الكليسيريدات الثلاثية والدهون البروتينية الواطئة الكثافة جداً (VLDL) وقد يعزى إلى زيادة نشاط فعالية إنزيم لايبوبروتين لايبيز (Lipoprotein Lipase) الذي يقوم بإزالة الكليسيريدات الثلاثية بتحويلها إلى أحماض دهنية وكليسرول والذي ينشط بوجود الأنسولين (Ashcroft and Ashcroft, 1992). وربط الباحث (Verger, 1999) انخفاض مستوى الكليسيريدات الثلاثية (TG) باحتمالية ارتفاع إزالة البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة جداً (VLDL) من الدورة الدموية.

أما بالنسبة للبروتينات الدهنية الواطئة الكثافة (LDL) التي تعمل على نقل الكولسترول إلى الخلية فان عملية حصول الخلية على الكولسترول من (LDL) يتطلب امتلاك الخلية مستقبلات معينة (Specific receptors) تدعى (LDL-receptors) لكي تتحد مع (LDL) بآلية خاصة تدعى الإدخال الخلوي عن طريق المستقبل (النجفي، 1994).

وبسبب حدوث انخفاض في مستوى كولسترول الدم لذا يحصل انخفاض في مستوى (LDL) (Murray et al., 2003). إذ إن (70 %) من كولسترول الدم موجود ضمن تركيب (LDL) بينما لا يحتوي (HDL) على أكثر من (20 %) لهذا فإن قياس كولسترول الدم يعكس بصورة رئيسة تركيز (LDL) (Grover et al., 2003).

ومن المحتمل أن يعمل المركب البروتيني على رفع كفاءة عمل مستقبلات الدهون البروتينية واطئة الكثافة وهذا ما توصل إليه Song وآخرون (2003) من أن لبروتين فول الصويا القابلية على رفع كفاءة عمل مستقبلات الدهون البروتينية الواطئة الكثافة (LDL) فضلاً عن قابليته على تقليل امتصاص الكولسترول من قبل الأمعاء.

المصادر العربية

آودي، بنيلوب، 1999. الكامل في الأعشاب والنباتات الطبية. أكاديميا انترناشينال، بيروت- لبنان، 48 صفحة.

تريز وايفانز، 2003. علم العقاقير. ترجمة منصور بن سليمان السعيد، محمد بن عبد العزيز اليحيى، محمد عصام حسن آغا، عبد الناصر عمرين، المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر، دمشق- سوريا، ص 518-523، 802-806، 893 صفحة.

حسين، فوزي طه قطب، 1981. النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر، الرياض- المملكة العربية السعودية، 325 صفحة.

القباني، صبري، 1969. الغذاء لا الدواء. الطبعة الرابعة، مطبعة دار العلم للملايين، بيروت- لبنان، 373 صفحة.

النجفي، طلال سعيد، 1994. علم الخلية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ص 124-125، 218 صفحة.

المصادر الاجنبية

Ahmad, T.Y. and Al-Chalabi, N.S., 2002. Hypoglycemic Effect of the Proteinous Compounds Isolated from Some Hypoglycemic Plants. Part II. Raf. J. Sci., pp.43-55.

Ahmad, T.Y., Al-Khayat, I. and Mahmood, S.Z., 1994. Hypoglycemic Activity of *Olea Europaea* Leaves, J. Educ. Sci., Vol. 15, pp.54-61.

Andrews, P., 1964. Filtration Behaviour of Proteins Related to Their Molecular Weight Over a Wide Range. J. Biol. Chem., Vol. 96, pp.595-600.

Ashcroft, F.M. and Ashcroft, S.H.(eds), 1992. Insulin: Molecular Biology to Pathology. IRL Press, pp.155-174.

Barnes, J., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D., 2002. Herbal Medicines: A Guide for Healthcare Professionals. 2nd ed., Pharmaceutical Press, London, pp.135-136.

Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., 1999. Teitz Text Book of Clinical Chemistry. 3rd ed., W.B. Saunders Company, London, UK., pp.840-843.

Chang, J.J, Chen, T.H. and Chem, Y.T., 2004. Inhibitory Effect of Tauni Derivatives on HMG-CoA Reductase in Vitro Cells. Pharmacol., Vol. 62, No. 4, pp.224-228.

Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H. and Jones, K.M., 1969. Data for Biochemical Research. 2nd ed., Oxford University Press, UK, 489 p.

Dhuley, J.N., 1999. Antioxidant Effects of Cinnamon (*Cinnamomum verum*) Bark and Greater Cardamom (*Amomum sabulatum*) Seeds in Rates Fed High Fat Diet. Indian J. Exp. Biol., Vol. 37, pp.238-242., Cited by (Khan A., Safdar M. and Khan M.M.A., 2003).

Dioxin, M. and Weeb, E.C., 1961. Tools of Biochemistry. T.G. Cooperal, John Willey and Sons Inc., 370 p.

Eno, A.E. and Item, E.H., 1996. Hypoglycemic Agents Leaves of *Elaophorbia Drupifera*. Phytother. Res., Vol. 10, pp.680-682.

Gray, A.M. and Flatt, P.R., 1999. Insulin Releasing and Insulin-like Activity of The Traditional Anti-Diabetic Plant *Coriandrum sativum* (Coriander). Br. J. Nutr., Vol. 81, pp.203-209.

Gray, A.M., Yasser, H.A.A. and Flatt, P.R., 2000. The Traditional Plant Treatment, *Sambucus nigra* (elder), Exhibits Insulin-like and Insulin-Releasing Actions in Vitro, J. Nutr., Vol. 130, No. 1, pp.15-20.

Grover, A., Dorais, M. and Coupal, L., 2003. Improving The Prediction of Cardiovascular Risk: Interaction between LDL and HDL Cholesterol. Epidemiology, Vol. 14, No. 3, pp.315-320.

Imparl-Radosevich, J., Deas, S., Polansky, M.M., Baedke, D.A., Ingebrutsen, T.S., Anderson, R.A. and Graves, D.J., 1998. Regulation of Phosphorylase Phosphatase (PTP-1) and Insulin Receptor Kinase by Fractions from Cinnamon: Implications for Cinnamon Regulation of Insulin Signaling. Horm. Res., Vol. 50, pp.177-182, Cited by (Khan, 2003).

Internet 1: (http://www.khayma.com/hawaj/girfah.htm)

Jachak, S.M., 2002. Herbal Drugs as Antidiabetics: An Overview. CRIPS, Vol. 3,No. 2, pp.9-13.

Jarvill-Taylor, K.J., Anderson, R.A. and Graves, D.J., 2001. A Hydroxy Chalcone Derived from Cinnamon Functions as a Mimetic for Insulin in 3T3-L1 Adipocytes. J. Am. Coll. Nutr. Vol. 20, pp.327-336, Cited by (Khan, 2003).

Jayaprakasha, G.K., Jagan, L. and Sakariah, K.K., 2003. Volatile Constituents from *Cinnamomum zeylanicum* Fruit Stalks and Their Antioxidant Activities. J. Agric. Food Chem. Vol. 51, No. 15, pp.4344-4348.

Khan, A., Sadar, M. and Khan, M.M.A., 2003. Effect of Various Doses of Cinnamon on Lipid Profile in Diabetic Individuals. Pakistan J. Nutr., Vol. 2, No. 5, pp.312-319.

King, M.W., 2004. The Medical Biochemistry Page. IU School of Medicine, USA., 177 p. (http://www.Indstate.edu/thcme/mwking/home.html) .

Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature, 227, 680 p.

Maechler, P., Wollheim, C.B., Bentzen, C.L. and Niesor, E., 1992. Role of The Intestinal Acyl-CoA: Cholesterol Acyl Transferase Activity in The Hyperresponse of Diabetic Rats to Dietary Cholesterol. J. Lipid Res., Vol. 33, pp.1475-1484.

Martin, K.W. and Ernst, E., 2003. Herbal Medicine for Treatment of Bacterial Infections: A Review of Controlled Clinical Trials. J. Antimicrob. Chemother., Vol. 51, No. 2, pp.241-246.

McKee, T. and McKee, J.R., 1996. Biochemistry. McGraw-Hill Company, USA., pp.447-456.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W., 2003. Harper's Illustrated Biochemistry. 26th ed., McGraw-Hill Company Inc., USA, pp.135, 179, 223-352, 449-450.

Neef, H., Declerca, P. and Laekeman, G., 1995. Hypoglycemic Activity of Selected European Plants. Phytother. Res., Vol. 9, pp.45-48.

Plummer, D.E., 1978. An Introduction to Practical Biochemistry. 2nd ed., McGraw Hill Company, UK.

Qin, B., Nagasaki, M., Ren, M., Bajotto, G., Oshida, Y. and Sato, Y., 2003. Cinnamon Extract (Traditional Herb) Potentates in Vivo Insulin Regulated Glucose Utilization Via Enhancing Insulin Signaling in Rats. Diabetes Res. Clin. Pract., Vol. 62, No. 3, pp.139-148.

Quettier-Deleu, Voisselle, G., Duriez, P. and Asseur, J., 2003. Howthron Extracts Inhibit LDL Oxidation. Pharmazic, Vol. 58, No. 8, pp.577-581.

Robak, J., Winder, C.K. and Gryglewski, R.J., 2004. Bioactivity of Flavonoides. Cir., Vol. 93, No. 2, pp.170-177.

Sahelian, M.D., 2004. Cinnamon for Diabetes, Cinnamon for Cholesterol, Health Benefits. (http://www.raysahelian.com/cinnamon.htm/)

Schacterle, G.R. and Pollack, R.L., 1973. A Simplified Method for the Quantitative Assay of Small Amount of Protein in Biological Materials. Anal. Biochem., Vol. 51, pp.654-655.

Song, T., Leed, S.O., Murphy, P.A. and Hendrich, S., 2003. Soy Protein with or without Isoflavones, Soy Germ and Soy Germ Extract, and Daidzein Lessen Plasma Cholesterol Levels in Golden Syrian Hamsters. Exp. Biol. Med., Vol. 228, No. 9, pp.1063-1068.

Steel, R.G. and Torrie, J.H., 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biochemical Approach. 2nd ed., McGraw-Hill, Singapore, 183 p.

Venkatesan, N., Devaraj, S.N. and Devaraj, H., 2003. Increased Binding of LDL and VLDL to Apo B., E. Receptors of Plasma Membrane of Rats Treated with Fibernat. Eur. J. Nutr., Vol. 42, No. 5, pp.262-271.

Verger, B.L., 1999. Dislipidemia in Diabetes Mellitus, Review of the Mailipo-Protein and their Consequences on the Development of the Atherogenesis. Diabetes Metabolism, Vol. 25, No. 3, pp.32-40.

Zoladz, P., Raudenbush, B. and Lilley, S., 2004. Cinnamon Perk Performance. Paper Presented at the Annual Meeting of the Association for Chemoreception Sciences, Held in Sarasota, FL. April, pp.21-25.