تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمركب الكركمين النقي في الفئران البيض

Evaluation of antioxidant activity for pure curcumin in albino mice

** سعد محمد ندا

* نورية عبد الحسين علي

ليبي احمد الزبيدي

مركز سلامة الغذاء / وزارة العلوم والتكنولوجيا
 * معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا / جامعة بغداد
 ** مركز بحوث التقنيات الإحيائية / جامعة النهرين

Labeeb Ahmed Al-Zubaidi * Norrya Abdul-Hussein Ali **Saad M. Nida

Food Safety Center, Ministry of Science and Technology/ Baghdad, Iraq

*Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Post Graduate Studies/University of Baghdad

** Biotechnology center/ University of Al- Nahrain,

المستخلص

أجريت الدراسة للكشف عن التأثير السمي والمؤكسد والمضاد للأكسدة لأحد مركبات نبات الكركم *Currcuma longa* مركب الكركمين النقي ومقارنته بفيتامين C تجاه رباعي كلوريد الكربون CCl_4 ، والذي يعد مركب كيميائي يسبب تلف خلايا الكبد ويمتلك تأثيراً تطفيرياً ، وباستخدام نظام اللبائن في *in vivo* وبالاعتماد على تقييم فعالية الانزيمية لمضادين للأكسدة: الكاتاليز و كلوتاثايون المختزل لمجانس خلايا الكبد . استخدم تركيزين للكركمين النقي (200، 400) ملغم/كيلوغرام وكل على انفراد لاختبار فعلها المؤكسد والمضاد للأكسدة في الفئران البيض . وتم انتخاب التركيز الأمثل للمركب والذي أعطى نتائج أفضل من الحالة الطبيعية السيطرة السالبة ، بعد ذلك اجري التداخل ما بين التركيز الأمثل والمطفر CCl_4 وبشكل معاملتان قبل وبعد المطفر لمعرفة الآلية التي يعمل بها هذا المركب في منع أو تقليل الأثر التأكسدي للمطفر ، توصلت الدراسة إلى عدم إظهار الكركمين النقي تأثيرات سمية و تأكسدية في التركيزين المستعملين وعلى مستوى النظام الحيوي المستخدم ، وظهر الكركمين النقي كفاءة عالية في تقليل الأثر التأكسدي للمطفر CCl_4 فقد عمل على رفع قيمة إنزيمي الكاتاليز الكلوتاثايون المختزل المضادين للأكسدة ، وقد كان الفعل الأكثر ايجابية عند استعمال الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/ كغم قبل المطفر وبدرجة اقل عند معاملة الحيوانات بالكركمين النقي بعد المطفر وبالتالي يمكن تصنيف فعل هذا المركب في نظام اللبائن كونه مثبط مباشر Desmutagens بالدرجة الأولى ومثبطات حيوية Bioantimutagens بالدرجة الثانية .

Abstract

The study was carried out in order to determine the toxic, oxidant and antioxidant effects for one compounds of the *Currcuma longa* L. in comparison with vitamin C against the mutagenic effect of carbon tetrachloride CCl_4 , which is a chemical compound that damages hepatic cells and has mutagenic effects. The effect was studied in a mammalian system. This *in vivo* system depended on evaluating the enzymatic activity of two anti oxidant enzymes: Catalase and Glutathione reductase. Two concentrations of pure curcumin 200 and 400 mg /kg were evaluated to chose the suitable concentration, which remembered the negative control. In order be used in The interaction experiments, included two types of treatments pre – CCl_4 and post- CCl_4 in order to determine the mechanisms of the pure curcumin in preventing or reducing the antioxidant effect of CCl_4 . The pure curcumin showed no toxic and oxidant effects in biological system, and instead it showed highly performance in preventing or reducing the oxidant stress effects of CCl_4 . It increased the Catalase and Glutathione reductase antioxidant activity, especially in dose 200 mg/kg. The positive effect was higher when pure curcumin was used as pre- CCl_4

treatments, and to less extent in post-CCl₄ treatment. Therefore, the plant extracts can be considered as adesmugen at the first degree and a bioantimugen at the second degree.

المقدمة

تمثل الأكسدة تفاعل كيميائي ينتقل فيه إلكترون من المادة إلى عامل مؤكسد ، ويمكن لتفاعلات التأكسدية أن تحرر الجذور الحرة، والتي تسبب ضرراً للخلايا [1] . يمكن أن تشارك الضغوط التأكسدية في تطور مدى واسع من الأمراض ومن ضمنها مرض الزهايمر Alzheimer's [2] ، ومرض Parkinson's [3] ، مرض السكري [4] ، الروماتزم وNeurogeneration وأمراض العصب الحركي motor neuron diseases [5] ، وبذلك يكون الضغط التأكسدي سبب مهم في تعدد الأمراض للإنسان [6] .

الجزئية المضادة للأكسدة ، هي جزئية قادرة على خفض أو منع أكسدة جزيئات أخرى . تحتفظ الحيوانات والنباتات بأنظمة معقدة من أنواع متعددة من مضادات الأكسدة، حيث إن مضادات الأكسدة تنهي سلسلة التفاعلات التأكسدية بإزالة المركبات الوسطية في هذه السلسلة ، وتثبط تفاعلات تأكسدية أخرى بأكسدة نفسها ، وان زيادة الضغط التأكسدي الناتج عن مستويات منخفضة من مضادات الأكسدة أو تثبيط الإنزيمات المضادة للتأكسد ممكن أن تسبب ضرر أو قتل الخلايا . تستعمل مضادات الأكسدة بشكل واسع كعنصر من عناصر المعززة للتغذية وللمساعدة في حماية الصحة ومنع الأمراض مثل السرطان ومرض Coronary heart [7] . لقد تنامي الاهتمام و الوعي بالمركبات النباتية الطبيعية التغذوية وغير التغذوية لما لها من دور مهم في الحفاظ على صحة الإنسان وتحسين حياتهم ، و إن الجاهزية الحياتية للفينولات المتعددة للكرم في القابلية على منع تكوين الأورام أو تثبط من تكون الأورام الصلبة بعد دخولها الدورة الدموية وامتصاصها عن طريق الأمعاء ، إذ تعمل كمثبط مباشر للأمراض أما بتأثيرها على بروتينات أو عوامل مسيطرة ومؤثرة في تنشيط أنظمة الإصلاح في الخلية [8] .

يمثل الكركمين أساس الكركمونيديات curcumanoids عبارة عن مركبات متعددة الفينول ومسؤولة عن اللون الأصفر للكرم في الكرم حيث يبلغ 75% من معظم الكركمونيديات [9] . والكركمين مركب متعدد الفينول غير ذائب بالماء والايثر، لكن ذائب في الكحول و Dimethyl sulphoxide و بقية المذيبات العضوية الأخرى ، تعود فعالية الكركمين الى مجاميع وظيفية عديدة منها حلقة اروماتية والتي هي متعددة الفينول مرتبطة بألفا وبيتا مجاميع الكاربونيل غير المشبعة [10] . وان التوجهات العالمية والمحلية حول استخدام المنتجات الطبيعية وخصوصا الأعشاب في المجالات العلاجية والطبية والغذائية قد جعلنا نوجه الدراسة الحالية لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمركب الكركمين النقي في احد أنظمة اللبائن الفئران البيض .

المواد وطرائق العمل

المحالييل: حضر محلول داريء الفوسفات و محلول الفوسفات القياسي حسب طريقة [11] . وحضرت محاليل الكلوتاثيون المؤكسد و نيكوتيناميد داي فوسفو هايدريت $\text{NADPH} + \text{H}$ 1 ملي مولر حسب طريقة [12] ، وحضر محلول بيروكسيد الهيدروجين المخفف بمزج 0.112 مليلتر من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 30% مع 100 مليلتر من محلول الفوسفات القياسي ويحضر أنيا خلال التحليل . حضر ألبومين المصل البقري [1% Bovine Serum Albumin- BSA] بإذابة 1 غرام من الـ BSA في 100 مليلتر من الماء المقطر المعقم . بينما ذوبت حبة واحدة (1 ملغرام) من الكولجسين في مليلتر واحد من الماء المقطر المعقم وحقن كل حيوان بمقدار 0.25 مليلتر من محلول الكولجسين في غشاء الخلب Intraperitoneal membrane قبل التشريح بمدة (2.5-3) ساعات ، واستخدم المحلول أنيا بعد تحضيره .

استعملت جرعتين من الكركمين النقي (شركة Fluka) وهي (200، 400) ملغم/كغم وفيتامين C 180 ملغم/كغم كمجموعة مقارنة ومركب CCl_4 بتركيز 3.2 ملغم/كغم كمجموعة سيطرة موجبة (مجموعة كشف) والماء المقطر كمجموعة سيطرة سالبة ، لدراسة التأثير التأكسدي والمضاد للأكسدة في الحيوانات المختبرية حيث كان التجريب عن طريق الفم وباستخدام محقنه حورت لهذا الغرض . استخدمت في تجارب هذه الدراسة ذكور الفئران البيض *Mus Musculus* الضرب (Balb/C) وبمعدل عمر تراوح بين (8-12) اسبوع والتي جهزت من قبل كلية العلوم/جامعة بغداد ، وزعت الفئران داخل أقفاص بلاستيكية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة في غرفة تراوحت درجة الحرارة فيها بين (23 و 25) م ، وأعطيت هذه الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة والمصنعة محليا . تمثلت هذه التجربة بتحضير تركيزين من مركب الكركمين النقي وكانت (200 ، 400) ملغم/كغم وذلك

بإذابة 100 ملغرام من مركب الكركمين النقي في 2 مليلتر PBS و200 ملغم من الكركمين النقي في 2 مليلتر على التوالي، وحُسبت هذه التراكيز على أساس وزن الفأر. إذ ضمت هذه التجربة 80 فأراً مقسمة على 5 مجاميع وكل مجموعة ضمت 16 فأراً. جرع 32 فأراً بالتراكيزين المختلفين لمركب الكركمين النقي، وكل 16 فأراً لتراكيز معين بينما جرعت 16 فأراً بالماء المقطر وُعِدَت سيطرة سالبة وجرعت 16 فأراً أخرى بالمركب CCl_4 وُعِدَت سيطرة موجبة، وجرعت 16 فأراً أخرى بفيتامين C وُعِدَت مجموعة مقارنة ومن خلال هاتين السيطرتين والمقارنة يمكن إعطاء فكرة أولية عن التركيز الأمثل لمركب الكركمين النقي وكانت كمية الجرعة 0.1 مليلتر مدة سبعة أيام ما عدا CCl_4 كانت الجرعة لليوم الأول فقط بعدها جرعت بالماء المقطر.

دراسة التداخل بين مركب الكركمين النقي والمركب CCl_4

المعاملة بعد المركب CCl_4

خصص لهذه التجربة 24 فأراً منها ثمانية جرعت بالتركيز الأمثل لمركب الكركمين النقي بتركيز 200 ملغرام/كغم. وثمانية أخرى جرعت بفيتامين C بتركيز 180 ملغم/كغم، والثمانية الأخيرة جرعت بالماء المقطر.

المجموعة الأولى (السيطرة):

تم تجريعها بالمركب CCl_4 بالتركيز 3.2 ملغم/كغم لليوم الأول بجرعة 0.1 مليلتر بعدها بالماء المقطر ولمدة سبعة ايام، وشرحت هذه الفئران بعد مرور 24 ساعة من آخر جرعة.

المجموعة الثانية (المقارنة):

تم تجريعها بالمركب CCl_4 بالتركيز 3.2 ملغم/كغم لليوم الأول وبعدها جرعت بفيتامين C بتركيز 180 ملغم/كغم لمدة سبعة ايام، وشرحت هذه الفئران بعد مرور 24 ساعة من آخر جرعة.

المجموعة الثالثة:

تم تجريعها بالمركب CCl_4 بالتركيز 3.2 ملغم/كغم لليوم الأول بعدها تم تجريعها بالتركيز الأمثل لمركب الكركمين النقي لمدة سبعة ايام، وشرحت هذه الفئران بعد مرور 24 ساعة من آخر جرعة.

تقدير فعالية المضادة للاكسدة Antioxidant :

تحضير المستخلص النسيجي :

وزن غرام واحد من كبد الفأر وقطع إلى قطع صغيرة جداً بواسطة سكين حادة وبوجود 1 مليلتر من داريء الفوسفات القياسي وباستعمال الضغط الميكانيكي اليدوي هرس نسيج الكبد جيداً إلى أن أصبح المحلول لزجاً بعدها نقل الناتج إلى النابذة ونبذ بسرعة 5000 دورة/ دقيقة مدة ساعة واحدة. اخذ الراشح وتركت الطبقة المترسبة في قعر أنابيب الاختبار مع تجنب الطبقة الدهنية الموجودة أعلى الراشح وحفظ في المجمدة (-20) م لحين التقدير أو استخدام مباشرة لتقدير فعالية الإنزيم.

تقدير فعالية Glutathione Reductase :

استخدمت طريقة Racker [13] لتقدير فعالية الإنزيم في حجم نهائي مقداره 1 مليلتر ويحتوي خليط التفاعل على 0.1 مليلتر 1% من ألبومين المصل البقري و0.4 مليلتر من 2% الكلوتاثيون المؤكسد و 0.4 مليلتر من 1 مولار $NADPH + H$ و 0.1 مليلتر من المستخلص الإنزيمي ثم قريء مزيج التفاعل في مطياف ضوئي على موجة مقدارها 340 نانوميترًا وسجلت القراءات كل 30 ثانية مدة نصف ساعة.

أما وحدة الإنزيم Unit of enzyme فقد قدرت على أساس مقدار الانخفاض في الامتصاصية خلال دقيقة واحدة تحت ظروف التفاعل القياسي وعرفت وحدة الإنزيم على إنها التغير في الامتصاصية بمقدار 0.001 لكل دقيقة تحت ظروف التفاعل. لتقدير فعالية الإنزيم وحدة/ مليلتر طبق القانون الآتي :

الحجم الكلي للتفاعل Δ°

$$\text{فعالية الإنزيم} = \frac{\Delta^\circ}{\text{حجم المستخلص الإنزيمي}} \times 1 \times 0.001$$

T2-T1

Δ° = تشير إلى مقدار الانخفاض في الامتصاص.

T2-T1 = تشير إلى مقدار التغير في الزمن

تقدير فعالية الكاتاليز (Catalas activity assay)

أذيب 1 ملغم من الكاتاليز القياسي والحوي على 60U/ mg في 10 مليلتر من محلول PBS. حضرت منه سلسلة من التراكيز (0.6, 0.3, 0.15, 0.075, 0.0375) U/ ml ، وذلك لغرض الحصول على منحنى قياسي وضع 3 مليلتر من محلول بيروكسيد الهيدروجين الفسيولوجي في خلية الكوارتز لجهاز المطياف الضوئي وترك في الجهاز مدة 3 دقائق لغرض الاستقرار. أضيف بعدها 0.1 مليلتر من الكاتاليز القياسي أو النموذج ومزج في نفس الوقت.

يتوجب أن تكون أعلى قراءة للمطياف الضوئي بطول موجي 240nm عند امتصاصية مقدارها 0.5. تم متابعة الانحدار في الامتصاصية لكل 20 ثانية ، وقد كانت أول قراءة عند 10 ثواني من إضافة الإنزيم بعد ذلك تكون القراءة الثانية بعد 30 ثانية وهكذا تم رسم المنحنى القياسي كما في الشكل (1).

شكل (1): العلاقة بين تركيز انزيم الكاتاليز القياسي والامتصاصية لجهاز المطياف الضوئي (UV- spectrophotometer).

أما الفعالية النوعية Specific activity فانها تعبر عن عدد وحدات الإنزيم لكل ملغم \ بروتين في المستخلص الإنزيمي وقد استخدمت طريقة Biuret [14] لتقدير كمية البروتين فالفعالية النوعية للإنزيم تمثل مقدار الانخفاض في الامتصاص بفعل 1 مليلتر من المستخلص الإنزيمي خلال دقيقة واحدة لكل ملغم من البروتين وتحت ظروف التفاعل.

أجري التحليل الاحصائي لاستخراج المعدلات $\pm$ الخطأ القياسي. اختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود ، واختبار الفروق بين المتوسطات في تجارب التداخل للمقارنة بين المعاملة الكركمين النقي والمعاملات الاخرى أستعمل اختبار T-test [15].

النتائج والمناقشة**انتخاب التركيز الأمثل للكركمين النقي للفعالية المضادة للأكسدة****الفعالية النوعية لإنزيم Catalase - CAT**

بينت النتائج في جدول (1) عند معاملة السيطرة الموجبة بالمركب CCl₄ أدت إلى انخفاض معنوي لمستوى الفعالية النوعية لإنزيم الكاتاليز وصل المعدل إلى 0.24 وحدة/ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة السالبة التي كانت 0.79 وحدة/ملغم بروتين. أعطى فيتامين C زيادة معنوية في الفعالية وقدرت بـ 2.06 وحدة/ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة ، وعند تجريب الفئران بالكركمين النقي 200 ملغم \كغم أدت إلى زيادة في الفعالية وبمعنوية بحيث أصبحت 2.26 وحدة/ملغم بروتين عند المقارنة ببقية المعاملات. وأدت زيادة جرعة الكركمين النقي 400 ملغم/كغم إلى زيادة معنوية في الفعالية وصلت إلى 1.43 وحدة/ملغم بروتين عند المقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة ومجموعة المقارنة.

الفعالية النوعية لإنزيم Glutathione Reductase- GR

أدت المعاملة السيطرة الموجبة بالمركب CCl₄ إلى انخفاض وبمعنوية في مستوى الفعالية النوعية لإنزيم Glutathione reductase وبلغت 10.23 وحدة/ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة السالبة التي كانت 28.99 وحدة/ملغم بروتين، وقد أعطى فيتامين C زيادة في الفعالية بحيث أصبحت 52.94 وحدة/ملغم بروتين ، واكتسبت هذه الزيادة فرقاً معنوياً عند المقارنة بالسيطرة الموجبة والسالبة. وبتجريب الفئران بالكركمين النقي وبجرعة

200 ملغم\كغم أزدادت الفعالية زيادة معنوية بحيث أصبحت 56.99 وحدة\ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة ومجموعة المقارنة ، وأظهر الكركمين بجرعة 400 ملغم\كغم زيادة في الفعالية فأصبحت 47.04 وحدة \ ملغم بروتين واكتسبت هذه الزيادة فرقاً معنوياً عند المقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة والمقارنة كما بينها جدول (1).

جدول (1) : يوضح معدلات نتائج فحوصات تضاد الأكسدة للمعاملات المختلفة لمدة سبعة ايام.

المعاملة	السيطرة السالبة [الماء المقطر]	مجموعة المقارنة فيتامين C بجرعة 180 ملغم\كغم	السيطرة الموجبة CCl ₄ بجرعة 3.2 ملغم\كغم	الكركمين النقي [بجرعة 200 ملغم\كغم]	الكركمين النقي [بجرعة 400 ملغم\كغم]
الفحص					
Catalase	^d 0.01±0.79	^b 0.06±2.06	^E 0.24± 0.01	^a 2.26±0.03	^c 0.06±1.43
Glutathione Reductase	^d 0.12±28.99	^b 0.24±52.94	^E 0.19±10.23	^a 0.29±56.99	^c 0.55±47.04

المعدلات التي تحمل حروف مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنوياً .
الاحتمالية $P \leq 0.05$.

المعدلات لاثنتي عشرة مكررات

أظهر الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم\كغم زيادة معنوية لفعالية المضادة للأكسدة من خلال زيادة المحتوى الكلوتاثايون الكبدي وإنزيم الكاتاليز والذي سبب خفض للضغوط التأكسدية وتكاد تتفق هذه النتائج مع [16] . يمكن أن يكون سبب تأكسد وتضرر الخلية يأتي من تفاعل جذر الهيدروكسيل (جذر حر) الغير مستقر السريع والغير المتخصص مع بعض الجزيئات البايولوجية ، والناتج من بيروكسيد الهيدروجين عن طريق إعطاء الشرارة الأولى لبداية سلسلة تفاعلات كيميائية مثل عملية lipid peroxidation أو عن طريق أكسدة DNA أو البروتين ، وان تضرر الـ DNA سوف يسبب الطفرات ومن المحتمل يسبب السرطان إذا ما لم تنجح ميكانيكيات الإصلاح للـ DNA [17 ، 18] ، بينما ضرر البروتينات تؤدي إلى تثبيط الإنزيمات ، مسخ البروتينات وتجريد البروتين ، وهي الأنظمة التي تمنع حدوث أنواع هذه التفاعلات أو إزالتها قبل قيامها بالضرر لمحتويات الحيوية للخلية ، حيث تحوي الكائنات شبكة من المتايضات المضادة للأكسدة والإنزيمات التي تعمل معا لمنع حدوث الأضرار الناجمة من عملية الأكسدة لمحتويات الخلية مثل DNA والبروتينات والدهون ، وان مقدار الحماية تعتمد على تركيز المادة المضادة للأكسدة وظروف التفاعل [19] .

التداخل بين مركب CCl₄ والكركمين النقي بجرعة 200 ملغم\كغم.

بعد أن تم التأكد من انعدام التأثيرات التأكسدية للجرعة المثلى للكركمين النقي بالاعتماد على نتائج اختبارات الأكسدة المعتمدة في هذه الدراسة ، أجريت عملية التداخل بين الكركمين النقي والمركب CCl₄ والذي يسبب تأثيرات سمية وتطهيرية كونه عامل يؤدي إلى منع انقسام الخلايا عن طريق إحداث ترابط في شريط DNA نفسه أو بين شريطين مختلفين فضلاً عن تثبيط بنائه . وقد شملت عملية التداخل إعطاء الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم\كغم بعد المطفر .

الفعالية النوعية لإنزيم Catalase- CAT

سجلت معاملة مجموعة المقارنة بفيتامين C بعد المركب رباعي كلوريد الكربون زيادة معنوية في معدل الفعالية النوعية لإنزيم CAT وكان 3.9 وحدة\ ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة التي بلغت 0.64 وحدة\ملغم بروتين . وظهر ارتفاعاً عند إعطاء الكركمين بعد المركب CCl₄ في المعدل وكان 4.86 وحدة\ملغم بروتين ، واكتسب الارتفاع فرقاً معنوياً عند المقارنة بالسيطرة ومجموعة فيتامين C وكما مبين في جدول (2) .

الفعالية النوعية لإنزيم Glutathione Reductase- GR

بينت النتائج في جدول (2) إن المعاملة بمجموعة المقارنة بفيتامين C بعد المركب رباعي كلوريد الكربون أدت إلى ارتفاع في معدل الفعالية النوعية لإنزيم Glutathione reductase وبلغ 50.45 وحدة\ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة التي كانت 13.215 وحدة\ملغم بروتين ، وشكل هذا فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) ، فيما أظهر الكركمين بجرعة 200 ملغم\كغم زيادة معنوية في المعدل الذي كان 50.77 وحدة\ ملغم بروتين مقارنة بالسيطرة ومجموعة فيتامين C .

جدول (2) : يوضح معدلات نتائج فحوصات تضاد الأكسدة للمعاملة تداخل مع المركب CCl_4 لمدة سبعة أيام.

المعاملة	[CCl_4 + الماء المقطر]	[مركب CCl_4 + فيتامين C 180 ملغم/كغم]	[مركب CCl_4 + الكركمين النقي 200 ملغم/كغم]
الفحص			
Catalase	^c 0.04±0.64	^b 0.3±3.9	^a 0.92±4.86
Glutathione Reductase	^c 0.638±13.215	^a 1.07±50.45	^b 0.89±50.77

المعدلات التي تحمل حروف مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنوياً .
P≤0.05 الاحتمالية

معدلات ست مكررات

ويتبين من نتائج هذا الاختبار أن للكركمين النقي تأثير فعال في خفض الضغط التأكسدي وحماية الخلايا من تأثير المطفر وقد يعود إلى صفة المضادة للأكسدة التي تلعب دوراً كبيراً في حماية الدهون المخزونة في الخلية والأحماض الدهنية الموجودة بشكل دهون فوسفاتية في الغشاء السابتوبلازمي للخلية فضلاً عن حماية المادة الوراثية DNA والبروتينات من فعل الجذور الحرة الفعالة والناجمة من تأييض المواد المطفرة . كما تشير النتائج المبينة في أعلاه إلى تفوق المعاملة بالكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم وقد حققت أعلى قدرة حماية وبهذا فهي تمتلك قدرة في اختزال تلف DNA وزيادة بنائه والذي يعزى إلى تظافر الفعل التراكمي للكركمين مؤدياً إلى مضاعفة الفعالية الحيوية تجاه الآثار السامة للمطفر ، إذ أبدت مركبات المضادة للأكسدة دوراً كبيراً في حماية الخلايا من فعل سموم المواد المطفرة بتراكمها داخل الخلايا Intracellular accumulation بشكل معقد مرتبط مع Glutathion- GSH والذي ينسحب إيجابياً على مستوى Glutathion-S-transferases-GST داخل الخلايا وان درجة التراكم داخل الخلايا مرتبط بقدرتها على تحفيز الطور الانزيمي الثاني II enzymes phase المتمثل بأنزيمات إزالة السمية منها GST و Quinone reductase- QR . كذلك طول مدة التجريع بالمستخلصات توفر وقتاً لتهيئة الجسم للحد من الآثار السمية للمطفر بتنشيط الإنزيمات المزيلة للسمية أو العمل على تحويل آليات دفاعية للحد من تأثيره السمي والوراثي [20] .

يتبين مما تقدم بان الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم يمتلك فعالية مضادة للأكسدة وبكفاءة أعلى من كفاءة فيتامين C واعتبار الكركمين من المثبطات الحيوية للمطفر Bioantimutagen لكونه عمل على إزالة الآثار السمية للمطفر، لذلك نوصي بدراسة تأثير تغير الرقم الهيدروجيني على ألفة المضادة للأكسدة ، وإجراء دراسات داخل الجسم الحي لاختبارات أخرى منها فعالية الكركمين المضادة للتطفر و الفعالية المضادة للتسرطن ودراسة إمكانية حماية الكركمين للجهاز المناعي والوراثي من الأضرار الممكن تسببها بالمطفرات .

المصادر :

1. Valko, M.; Leibfritz, D.; MOucoi, J.; Cronin, M. and Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J Biochem. Cell Biol., 39: 44-84.
2. Nunomura, A.; Castellani, R.; Zhu, X.; Moreira, P.; Perry, G. and Smith, M. (2006) Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. J Neuropathol Exp Neurol., 65: 631-641.
3. Wood-Kaczmar, A.; Gandhi, S. and Wood, N. (2006). Understanding the molecular causes of Parkinson's disease. Trends Mol Med 12: 521-8.
4. Davì, G.; Falco, A. and Patrono, C. (2005). Lipid peroxidation in diabetes mellitus. Antioxid Redox Signal 7: 256-268.
5. Hitchon, C. and El-Gabalawy, H. (2004). Oxidation in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther., 6: 265-278.

6. Cookson, M. & Shaw, P. (1999). Oxidative stress and motor neurone disease. *Brain Pathol.*, 9: 165–186.
7. Bjelakovic, G.; Nikolova, D.; Gluud, LL.; Simonetti, RG. and Gluud, C. (2008) Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2) .
8. Bjelakovic, G.; Nagorni, A.; Nikolova, D.; Simonetti, R.; Bjelakovic, M. and Gluud C. (2006). Meta-analysis: antioxidant supplements for primary and secondary prevention of colorectal adenoma. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 24: 281–291.
9. Tsuda, H.; Ohshima, Y.; Nomoto, H.; Fujita, K.; Matsuda, E.; Iigo, M.; Takasuka, N.; Moore, M.A. (2004) . Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 19: 245-263
10. Heath, DD.; Khwaja F. and Rock, CL. (2004) Curcumin content of turmeric and curry powders. *J. FASEB*, 18: A125.
11. Aggarwal, BB.; Kumar, A. and Bharti, AC. (2003) Anticancer potential of Curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, 23:363-398.
12. Hudson, L. and Hay, F.C. (1980) *Practical Immunology* 2nd Edition. Black Well Scientific Publ.: London.
13. Racker, E. (1955) *Method in Enzymology*. Vol. II (127) : 722-725.
14. Annino, J. (1964). *Clinical chemistry principles and procedures* Third Edition. Little, Brown and Company. Boston. PP: 186-187.
15. Duncan, D. B.(1955). Multiple range and multiple t- test biometrics, 11: 1-42.
16. Steele, VE.; Hawk, ET.; Viner, JL. and Lubet, RA. (2003) Mechanisms and applications of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the chemoprevention of cancer. *Mutat Res.* 137: 523-524.
17. Sanchenz, JJ.; Monaghan, G.;Borsting, C.; Norbuy, G.; Morling, G. and Gaspar, HB. (2007) Carrier frequency of anon sense mutation in the adenosine deaminase (ADA) gene implies a high incidence of ADA-dafinicient severe combined immunodeficiency [SCID] in Somalia and sigle, Common haplotype indicates common an cestry. *Ann. Hum. Genet.*, 71:336-347.
18. Nakabeppu, Y.; Sakumi, K.; Sakamoto, K.; Tsuchimoto, D.; Tsuzuki, T. and Nakatsu, Y. (2006) Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids. *Biol Chem.*, 387: 373 –379.
19. Vertuani,s.;Angusti, A. and Monfredini, S. (2004)The antioxidants and pro-antioxidants network; an overview. *Curr. Pharm. Des.*,10: 1677-1694.
20. Kuroda,Y. and Hara, Y. (1999) Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mut. Res.*, 436: 69-97.