تأثير المركبات الفينولية والمركبات الفعالة الاخرى لمستخلصات نبات القرفة الكحولي والحامضي على بعض المعايير الكيموحيوية لمرض السكري المستحث

The effect of the phenolic and other active compounds of the alcohol and acid extracts of cinnamon on some of the Biochemical Parameters of induced diabetes mellitus

حيدر تركي الموسوي *محمد ابراهيم الطائي منى تركي الموسوي**
جامعة القاسم الخضراء/ كلية التقانات الاحيائية
*معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية/ جامعة بغداد
**كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد

Hayder Turki AL-Musawi *Mohammed Ibrahem AL-Tai Muna Turki AL-Musawi**
University of AL-Qassim Green/ College of Biotechnology
*Genetic Engineering and Biotechnology/ University of Baghdad
**College of Science for women/ University of Baghdad

الملخص

تم استخلاص المركبات الفينولية والمركبات الفعالة الاخرى من نبات القرفة, في محاولة لإنتاج علاج من النباتات والاعشاب الطبية لمرض داء السكري على الجرذان المختبرية. إذ تمت عملية الاستخلاص بطريقتين تضمنت الأولى الاستخلاص بوساطة حامض الخليك بتركيز 2% والبروبانول والطريقة الثانية كانت بالكحول الاثيلي بتركيز 70% والكلوروفورم ومن خلال الكشوفات الاستدلالية للمستخلصات تبين اشتراك المستخلصين باحتوائهما على الفينولات والفلافونيدات والتانينات والكلايكوسيدات والكيومارين, فيما لم يظهر الصابونيين إلا في مستخلص القرفة الكحولي. قدرت المركبات الفينولية في المستخلصين بأستعمال طيف الأشعة فوق البنفسجية (UV), كما تم تشخيص المجاميع الفعالة للمركبات الفينولية والالديهايدية والاسترية والهيدروكاربونية والكحولية والكاربوكسيلية باستعمال مطياف الأشعة تحت الحمراء, فضلاً عن دراسة الجرعة المميتة الوسطية باختبار السمية للمستخلصين, إذ استخدمت الجرذان المختبرية لإجراء هذه التجارب, وقد اعطيت جرعا عن طريق الفم تقدر كالاتي (100، 200، 300، 400, 500 ملغم/كغم من وزن الجسم). لقد اظهرت النتائج عدم وجود أي تأثير سمي للمستخلصين. تم استعمال تراكيز مشابهة لتحديد الجرعة الفعالة للمستخلصين في خفض مستوى الكلوكوز في دم الحيوانات السليمة. لقد تبين ان الجرعة البالغة 300 ملغم/كغم من وزن جسم الحيوان بأنها الاكفأ, إذ انخفض مستوى الكلوكوز Glu لمصل الدم الصائم انخفاضاً معنوياً بعد إعطاء مستخلصات القرفة في المجاميع المعاملة بها وخلال مدة 30 يوماً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة المصابة وايضاً تفوقت على مجموعة العلاج بالداؤنيل. أظهرت الاختبارات الكيموحيوية بحصول انخفاضاً معنوياً في تراكيز كل من الكوليسترول TC والكليسريدات الثلاثية TG والبروتين الدهني واطئ الكثافة LDL-C, في مصل دم كل مجموعة من مجاميع الحيوانات المعاملة بمستخلصات القرفة قياساً بمجموعة السيطرة الموجبة خلال مدة 30 يوماً، وتفوقت ايضاً على مجموعة العلاج بالداؤنيل, أما تركيز مصل الدم للبروتين الدهني العالي الكثافة HDL-C فقد ارتفع مستواه في المجاميع المعاملة بمستخلصات القرفة وانخفض مستواه في مجموعة السيطرة الموجبة. قيست تراكيز أنزيمات GOT وGPT لتحديد وظيفة الكبد, إذ انخفضت مستوياتهما بعد مدة 30 يوماً من العلاج في مجاميع الجرذان المعاملة بمستخلصات القرفة قياساً بمجموعة السيطرة الموجبة وبالمقارنة مع مجموعة علاج الداؤنيل. كما تم قياس تركيز اليوريا والكرياتنيين لتحديد وظيفة الكليتين, إذ لوحظ خلال الأيام الأولى من الإصابة كثرة إدرار الحيوانات المصابة بالسكري المستحدث مما أثر على وظائف الكلية, لكن طول مدة العلاج 30 يوماً بمستخلصات القرفة أثبتت فعاليتها بالانخفاض المعنوي بمستوياتهما وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

كلمات الافتتاحية: القرفة، استخلاص المركبات الفينولية، الكشف عن المركبات الفعالة، استحداث مرض السكري، الاختبارات الكيموحيوية

Abstract

The phenolic compound and other active compounds were extracted from cinnamon, in an attempt to produce a drug from Medical and herbal Plants for the diabetes on rats. The extraction process included two methods the first carrid out with 2% v/v acetic acid and propanol, and in the second process 70% v/v ethanol and chloroform were used. In the detection of extracts it was noticed that both conteined phenols, flavonoids, tannins and Glycosides and Coumarins, while the saponin showed up only in the alcoholic extract of cinnamon. The phenolic compounds in the extracts of cinnamon were determined by using Ultraviolet Spectroscopy (UV) and other function groups such as phenols, aldehyedes, estars, hydrocarbons, alcohols and carboxylic compounds were diagnosed by using Infrared spectroscopy (IR). The study of the half lethal dose (midl lethal) (LD50) was also examined by testing the toxicity of the two cinnamon

extracts. Rats were used as laboratory animals in conducting the experiments. The rats were fed by the dose (100, 200, 300,400, 500 mg / kg of body weight). The results have shown that there is no toxic effect in the cinnamon extracts. Similar concentrations were used to determine the effective dose of the extracts in reducing the level of glucose in the blood of healthy animals. The dose (300) mg / kg of body weight of the animal body has proved to be the the most efficient as it decreased. The fasting glucose (Glu) serum consider by following of the cinnamon extracts with the adopted groups during the duration of (30) days in comparison with the control group (the infected) and outperformed the treated given Glibenelinide (daonil) group. The biochemical tests showed that the serum concentrations of each of cholesterol (TC),Triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL-C) was lowered in each of the groups treated with both cinnamon extracts in comparison with the positive groups (infected) throughout the duration (30) days and overcome the daonil treated group. However the serum high density lipoprotein (HDL-C) level was increased in cinnamon extract treated groups and decreased in the control group (infected).

The serum concentrations of enzymes (GOT) and (GPT) were measured to test the liver function after where their levels were lowered after (30) days in the cinnamon extracts administered groups compared with the two other groups, the control (positive) and the Daonil. The Urea and Creatinine levels were measured to determine or test the kidney functions, where it was observed as from the early days of the infection in that animals infected by induced diabetes developed symptoms of the illness, apparent in the high levels of urine which affected the functions of kidney, but the long duration (30 days) of treatment with these extracts of cinnamon proved their efficiency over the control group (positive).

Key words: cinnamon, phenolic compound and active compounds extract, detection for active compounds, Diabetes, induced diabetes, biochemical tests

المقدمة

ازداد الاهتمام حديثاً حول استعمال النباتات الطبية ومستخلصاتها في علاج داء السكري والحد من مضاعفاته، ويعد علاج السكري بالأعشاب والنباتات الطبيعية من العلاجات القديمة – الحديثة، لأنها ذات مدلول تاريخي قديم يصل إلى أقدم الحضارات, وحديثاً بسبب ازدياد الاهتمام بالمنتجات الطبيعية, لذا تعد مصدراً كبيراً للعقارات ذات الخواص الدوائية, اذ ان العديد منها وصف كمخفضات للسكري, وتحتوي هذه النباتات على المركبات الفينولية التي تمثل مجموعة واسعة من المركبات والتي تتواجد بشكل طبيعي في النباتات, وهي نواتج ثانوية لعمليات الايض, وتشكل المادة الاساسية الفعالة في العديد من الادوية، ويمكن استعمالها بوصفها مواداً مضادة للأكسدة وذلك من خلال قابليتها على اقتناص الجذور الحرة وهي بذلك تشارك في خط الدفاع الأول ضد الجذور الحرة [1] .

عرفت القرفة منذ القدم ولها تاريخ طويل من الاستعمالات المتعددة, فقد تم ذكرها في الكتاب المقدس, وضمن الكثير من الوصفات العلاجية في البرديات الطبية الفرعونية وقد تم ذكرها في الكتب الطبية الصينية الخاصة بالأدوية النباتية القديمة, والمؤرخة قبل حوالي 2700 قبل الميلاد, اذ تساعد القرفة على تنظيم كمية السكر المستخلصة من الاغذية الكاربوهيدراتية في مجرى الدم, وتعد القرفة من أكفأ المواد المضادة للاكسدة والتي تعمل على حماية الكائن الحي مقارنة ببقية التوابل وحتى المواد الكيمياوية المضادة للاكسدة وتاتي هذه الفعالية من خلال احتوائها على مركبات فينولية فعالة لها علاقة بالكلوكوز ووظائف الانسولين ولها تأثير مشابه لعمل الأنسولين Insulin-like effects منها Methyl hydroxylchalcone polymer (MHCP) والسينمالديهايد وكذلك البرونثوسيانيدين Oligomeric Proanthocyanidins (OPC) والتي تعمل على اعادة تفعيل الخلايا التي توقفت عن الاستجابة لهرمون الإنسولين, فالمركبات الفينولية في القرفة تنشط مستقبلات الانسولين عن طريق زيادة فعالية فسفرة التايروسين وعن طريق تخفيض فعالية الفوسفتيز phosphatase والتي لاتنشط مستقبلات الانسولين, وتزيد تراكم الكلايكوجين, وتحتوي القرفة ايضاً على عناصر ضرورية منها الكروم والنحاس والكالسيوم والحديد والمنغنيز والفسفور والبوتاسيوم والفيتامينات الضرورية منها فيتامين A, B_1, B_2, C وجميع هذه المكونات ذات اهمية في الوقاية والعلاج من مرض السكري [2].

داء السكري ليس مرضاً واحداً وانما مجموعة من الامراض, اذ إن نقص الأنسولين يؤدي الى فشل في نقل الكلوكوز إلى داخل العضلات والنسيج الدهني، اما في الكبد فيحصل اما فشل في تحويل الكلوكوز إلى كلايكوجين, أوفشل في تقليل تحضير الكلوكوز من المصادر غير الكاربوهيدراتية Gluconeogenesis, اذ يصاحب هذه التغيرات ارتفاع في مستوى سكر الدم وظهور السكر في الأدرار وقد تم تصنيفه بالتالي ازاء ذلك الى أصناف عديدة منها داء السكري المعتمد على الانسولين (النوع الاول) وداء السكري غير المعتمد على الانسولين (النوع الثاني) [3]. وتستعمل العديد من المواد الكيميائية على استحداث داء السكري في الحيوانات المختبرية مثل الالوكسان Alloxan مسببة نقص أنسولين مزمن, وذلك لغرض اجراء التجارب والابحاث لايجاد علاجات او لعلاج حالات سببها مرض السكري, اذ تعمل هذه المواد من خلال تحطيمها الانتقائي لخلايا بيتا وهي بذلك مواد سامة لهذه الخلايا فقط [4].

لذا فقد هدفت هذه الدراسة الى تقييم فعالية مستخلصات نبات القرفة الكحولي والحامضي على مرض السكري المستحدث بالالوكسان في الجرذان.

المواد وطرائق العمل

النماذج

تم الحصول على لحاء نبات القرفة من الاسوق المحلية لمدينة بغداد، وبكلا النوعين وهما القرفة السيلانية *Cinnamomum zeylanicam*(التي هي عبارة عن قلف خفيف وذا قطع صغيرة) والقرفة الصينية *Cinnamomum cassia* (والتي هي عبارة عن قلف سميك وبشكل عيدان كبيرة) ومن ثم تم تشخيصها بوساطة المعشب التابع الى كلية العلوم جامعة بغداد. بعدها نظفت هذه النماذج من الشوائب, ومن ثم تم تقطيعها الى قطع صغيرة ومزج كميات متساوية من كلا النوعين, وطحنت بوساطة الخلاط الكهربائي جيد اً ثم وضعت في أكياس جافة ونظيفة وتم حفظها بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال.

استخلاص المركبات الفينولية الفعالة

تعد تقنيات الاستخلاص من المبادئ الأساسية لغرض الحصول على المركبات الفعالة وتحريرها من الأنسجة النباتية وتعتمد كفاءة الاستخلاص على طبيعة المادة المراد فصلها والجزء الذي تفصل منه. تستعمل المذيبات العضوية بشكل واسع في استخلاص المركبات الفينولية من النباتات، ولغرض الحصول على استخلاص جيد, يتم استعمال مذيبات عضوية قطبية، اذ يعد الكحول الاثيلي المطلق من أكثر المذيبات شيوعاً في الاستخلاص [5]. كما استخلصت المركبات الفينولية للقرفة من قبل [2] باستعمال حامض الخليك وبتركيز 0.1 مول/لتر والكحول الاثيلي.

1- استخلاص بوساطة حامض الخليك 2%

وزن 200 غرام من مسحوق لحاء نبات القرفة ووضع في قنينة حجمية سعة 2 لتر واضيف اليه 800 مللتر من حامض الخليك بتركيز 2% وتمزج المحتويات جيد اً وتترك لليوم التالي على الحاضنة الهزازة وتحت درجة 50 م لتتم عملية الاستخلاص بصورة جيدة. بعدها يرشح المزيج من خلال عدة طبقات من الشاش، ويجمع الرائق ويرشح من خلال ورق ترشيح Whatman No.1, للتخلص من المواد العالقة وغير الذائبة، ومن ثم يقاس حجمه ويضاف اليه حجم مساو من البروبانول العادي (n-propanol) ويمزج جيداً. بعدها تضاف كمية من كلوريد الصوديوم (NaCl) حتى الوصول الى حالة الاشباع وبعد الرج الجيد يوضع المزيج في قمع فصل Separating funnel. عند هذا إذ يتكون طوران فأن الطور السفلي والذي يمثل الطبقة المائية فهي غير مطلوبة ويتم اهمالها, اما الطور العلوي الذي يمثل طبقة المركبات الفينولية التي يتم فصلها ووضعها على جهاز المبخر الدوار (تحت الضغط المتخلخل لمنع تكسر المواد الفعالة بالحرارة) وعلى درجة حرارة 50 م لغرض تركيز حجمه ومن ثم يجفف في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40 م [6].

2- الاستخلاص بوساطة الكحول الاثيلي 70%

تم استخلاص المركبات متعددة الفينول وفقا للطريقة التي اتبعها [7], مع اجراء بعض التحويرات, إذ وزن 100 غرام من مسحوق لحاء نبات القرفة ونقع في الكحول الاثيلي بتركيز 70% وبنسبة 10:1 (وذلك بوضع 100 غرام من المسحوق النباتي في دورق مخروطي محكم الغلق ذو سعة 2 لتر حاوي على 1 لتر من الكحول الاثيلي 70%) وثم ترك على جهاز الهزاز لمدة 20 ساعة وفي درجة حرارة الغرفة. ترشيح المحلول بوساطة قطع من الشاش الطبي للتخلص من الشوائب الثقيلة. بعدها اكمل الترشيح من خلال ورق ترشيح Whatman No.1 تحت الضغط المنخفض ومن ثم ركز الراشح الى عشر حجمه بوساطة جهاز المبخر الدوار تحت الضغط المنخفض حتى لا تتكسر المواد الفينولية وتحت درجة 50 م. تمت تنقية المستخلص بوساطة استخدام نظام الاستخلاص سائل الى سائل باستعمال الكلوروفورم Chloroform, إذ تم وضع حجم من الكلوروفورم بقدر حجم المستخلص نفسه ورج جيد اً , ومن ثم وضع في قمع فصل, وتم الاحتفاظ بالطبقة العلوية الحاوية على المركبات الفينولية واهمال الطبقة السفلية. بعدها تم معاملة الطبقة الفينولية بالكمية نفسها من الكلوروفورم ووضعت في قمع الفصل واستخلصت الطبقة العلوية وكررت هذه العملية عدة مرات للحصول على طبقة نقية حاوية على المركبات الفينولية. بعدها ركزت المادة المستخلصة بوساطة جهاز المبخر الدوار وتحت درجة 50 م ووضعت الكمية المركزة في اطباق Petri dish لغرض تجفيفها في الفرن الكهربائي وتحت درجة 40 م.

الكشف عن المجاميع والمركبات الفعالة في المستخلصات قيد الدراسة

اجري الكشف عن القلويدات والكلايكوسيدات والتانينات والصابونيات والفلافونات والفينولات والراتنجات والكومارين والتربينات وفق الطرق المتبعة في اكثر البحوث العلمية للتاكد من وجودها في نبات القرفة [8].

تقدير الفينولات الكلية بوساطة التحليل الطيفي

جميع المركبات الفينولية لها القابلية على امتصاص طيف الاشعة فوق البنفسجية Ultra Violet عند الطول الموجي 280 نانومتر، وبذلك تستعمل هذه الصفة لحساب الفينولات الكلية بوساطة تقنية التحليل الطيفي. لكن لكون كل صنف من المركبات الفينولية له معامل امتصاصية Absorbtivity مختلف لذلك تم اعتماد حامض الگاليك Gallic acid كمحلول قياسي عند ايجاد التقدير الكمي للمواد [9]. اذ يمتلك حامض الكاليك وزن جزيئي بمقدار 170.12 دالتون وهو ثلاثي هيدروكسي حامض البنزويك ويمتلك صيغة جزيئية $C_7H_6O_5$, استعمل حامض الكاليك النقي المجهز من قبل شركة سيكما Sigma.

تحضير المحلول المخزون لحامض الگاليك Gallic acid

يحضر بوزن 0.5 غرام من Gallic acid المجهز من شركة سيكما Sigma وذوب في 10 مللتر من الايثانول المطلق، بعدها خفف بالماء المقطر ليكمل الى حجم 100 مللتر بوساطة دورق حجمي لاجل الحصول على تركيز 5 غرام/لتر (5 ملغم/مللتر)،

اخذت من المحلول المخزون حجوماً بوساطة الماصة قدرها (10,5,2,1) مللتر على التوالي ووضع كل من هذه الحجوم في دوارق حجمية سعة 100 مللتر واكمل الحجم الى 100 مللتر بوساطة الماء المقطر، وبذلك حصلنا على التراكيز من حامض الكاليك Gallic acid الاتية وعلى التوالي (50, 100, 250, 500) ملغم/لتر على التوالي [9].

الكشف عن المركبات الفعالة لمستخلصات القرفة وزيته الطيار بوساطة مطياف الأشعة تحت الحمراء

تم إجراء الفحوصات الخاصة بجهاز أطياف ألاشعة تحت الحمراء FTIR-AB spectro lamp:MB 3000 ألتابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا, اذ تم اجراء الكشف عن مركبات القرفة الفعالة في المستخلصات الكحولية والحامضية بالاعتماد على الاشعة تحت الحمراء وفيما بين 2000 – 2500 سم$^{-1}$ [10].

الحيوانات المستعملة

استعملت في هذه الدراسة عدد من ذكور واناث الجرذان البيض وبعمر اكثر من شهرين تراوحت أوزانها ما بين 140-177 غم، وأُقلمت على المكان لمدة اسبوع ، اذ وضعت في أقفاص بلاستيكية خاصة مجهزة ومعدة لهذا الغرض ومفروشة بنشارة الخشب، مع الأنتباه لتغيير نشارة الخشب كل 3 ايام لضمان بيئة نظيفة وللمحافظة على نظافة الحيوانات والاقفاص وأخضعت جميع الحيوانات للظروف ذاتها من ضوء ودرجة حرارة , اذ كانت درجة الحرارة 25±2 م ودورة إضاءة /ظلام 12/12 ساعة، وكان الماء والغذاء متاح للحيوانات طول مدة الدراسة التي استمرت لمدة 30 يوم.

الدراسة السمية لتعيين الجرعة المميتة الوسطية Mid- lethal dose

لغرض تعيين الجرعة المميتة الوسطية لمستخلصات قلف القرفة الحامضي والكحولي, استعمل 3 جرذان لكل تركيز من المستخلصات المستعملة والتي كانت تراكيزها (100- 500 ملغم/كغم) فضلا عن مجموعة السيطرة التي كانت تعطى محلول الملح الفسلجي (0.85 Nacl %) التي استمرت مدة 48 ساعة.

دراسة تحديد الجرعة المؤثرة في خفض مستوى الكلوكوز لمستخلصات قلف القرفة

تم عمل تجربة مصغرة لمدة 3 ايام لتحديد الجرعة الأكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكوز في دم الحيوانات السليمة بالنسبة لمستخلصات القرفة وباستعمال التراكيز 100- 500 ملغم/كغم من وزن جسم الحيوان, اذ وزعت الحيوانات الى مجاميع اعتمادا على نوع المستخلص وباستعمال عدد من الجرذان قبل البدء بالتجربة الرئيسة.

استحداث داء السكري

بعد أن منعت الجرذان عن الأكل والشرب وصومت لمدة 18 ساعة. تم تقدير وزنها وثم حقنت بمادة الالوكسان alloxan monohydrate والذي اذيب بالمحلول الملح الفسلجي NaCl 0.85% w/v وبتركيز 150 ملغم/كغم من وزن الحيوان، واستعملت محقنة خاصة سعة 1 مللتر لحقن الجرذان عبر التجويف البريتوني Intraperitoneally وبجرعة مفردة, أما حيوانات السيطرة السالبة فقد حقنت بـ1 مليلتر من المحلول الملح الفسلجي لكل حيوان [11]. بعدها أعطي للحيوانات بعد الحقن في اليوم الأول محلول الكلوكوز بتركيز5% w/v مخافة لحدوث نقص السكر الحاد الناتج من تلف البنكرياس الذي قد يؤدي إلى هلاكها، ومن ثم سمح للحيوانات بتناول الماء والعلف بعد الحقن. وبعد مرور يومين تم التاكد من الإصابة بداء السكري وذلك عن طريق اخذ قطرة دم من الوريد الذنبي للجرذان بعد تصويمها مدة 18 ساعة وقيست بجهاز فحص السكر, كذلك قيست نسبة الكلوكوز في الادرار من خلال الشرائط الخاصة وبعد مرور أسبوع من التأكد من حدوث الإصابة بداء السكري بدأت التجربة الرئيسة, اذ تم تقسيم الحيوانات إلى خمسة مجموعات.

تصميم التجربة

المجموعة الاولى :- سيطرة سالبة حقنت بــ 1 مللتر من المحلول الملح الفسلجي لكل حيوان.

المجموعة الثانية :- سيطرة موجبة حقنت بالجرعة المحددة من الالوكسان 150 ملغم/كيلو غرام من وزن جسم الحيوان.

المجموعة الثالثة :- محقونة بالالوكسان بالجرعة المحددة نفسها ومعاملة بالعلاج الداؤنيل وبجرعة 0.1 ملغرام/1 كيلو غرام من وزن جسم الحيوان.

المجموعة الرابعة :- محقونة بالجرعة المحددة نفسها من الالوكسان ومعاملة بمستخلص القرفة الحامضي وبجرعة 300 ملغرام/كيلو غرام من وزن جسم الحيوان.

المجموعة الخامسة :- محقونة بالجرعة المحددة نفسها من الالوكسان ومعاملة بمستخلص الكحول الاثيلي للقرفة وبجرعة 300 ملغرام /كيلو غرام من وزن جسم الحيوان.

وقد احتوت كل مجموعة على ثمانية 8 جرذان وتم تجريعها بمستخلصات القرفة وعلاج الداؤنيل فموياً وبجرعة واحدة يومياً طول مدة الدراسة البالغة ثلاثون يوماً.

مصل الدم Serum

تم نبذ نماذج الدم باستعمال جهاز النبذ المركزي وبسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة للحصول على مصل الدم, ومن ثم تم سحب الحجم المأخوذ (الجزء العلوي المصل) بوساطة ماصة دقيقة Micropipette ثم اخذ المصل وتم قياس مستوى الكلوكوز Glucose مباشرة لكل حيوان, بعدها تم حفظ المصل في انابيب بلاستيكية محكمة الغلق في المجمدة الى حين اجراء التحاليل. وقد استعمل المصل لقياس (الكوليسترول الكلي TC، والكليسريدات الثلاثية TG، والبروتين الدهني العالي الكثافة للكوليسترول HDL-C، والبروتين الدهني الواطئ الكثافة للكوليسترول LDL-C، وانزيمات الكبد GOT، GPT، واليوريا Urea، والكرياتنين Creatinin), وقد استخدمت عدة جاهزة (kits) والمجهزة من شركات (BioSystems,Spinreact ,Biomegrb) لغرض اجراء الفحوصات الكيموحيوية.

التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج إحصائياً باستعمال أحد الأنظمة الإحصائية الشائعة المسماة نظام الرزمة الاحصائية Social Package Statistical System (SPSS) , اذ ان الأساليب الإحصائية كانت بأخذ متوسطات المعالجة ومتوسطات السيطرة السالبة الموجبة والإنحراف المعياري بطريقة تحليل التباين Analysis of variance (ANOVA) وقد اجري اختبار دنكن متعدد الحدود [12], في حالة وجود فروقات معنوية بين المجموعات المقارن بينها عند مستوى معنوية $p \leq 0.01$.

النتائج والمناقشة

الكشوفات الكيميائية النوعية عن المركبات الفعالة في مستخلصات قلف القرفة

يوضح جدول (1) نتائج التحليل والكشوفات الكيميائية الاستدلالية للمركبات الفعالة الموجودة في مستخلصات قلف القرفة, إذ يلاحظ اشتراك المستخلص الكحولي والحامضي بأحتوائهما على المركبات الفعالة مثل التانينات Tannins والفلافونيدات Flavonoids والكلايكوسيدات Glycoside والكيومارينات Coumarins والفينولات Phenolic, والى انعدام وجود الراتنجات Resins والقلويدات Alkaloids والتربينات Terpens اما الصابونيين Saponins فقد ظهر في المستخلص الكحولي ولم يظهر في المستخلص الحامضي للقرفة. وهذه النتائج تتفق مع ما اشار اليه [8] .

جدول (1): نتائج الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المجاميع الفعالة لمستخلصات قلف القرفة Ve

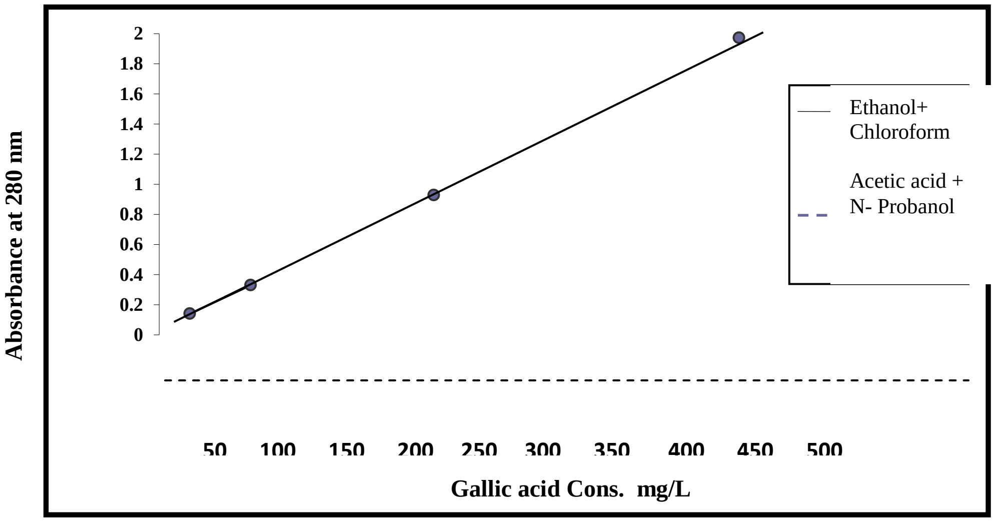
المركبات الفعالة	الكاشف المستخدم	الدليل	المستخلصات: المستخلص الكحولي	المستخلصات: المستخلص الحامضي
التانينات	خلات الرصاص 1%	راسب ابيض هلامي	+ Ve	+ Ve
	كلوريد الحديديك 1%	راسب ازرق	+ Ve	+ Ve
الفلافونيدات	كحول اثيلي + هيدروكسيد البوتاسيوم	لون اصفر	+ Ve	+ Ve
الراتنجات	كحول اثيلي من ماء مقطر مغلي+حامض HCl	تكون عكارة	- Ve	- Ve
	كاشف ماير	راسب ابيض	- Ve	- Ve
القلويدات	كاشف واكنر	راسب بني	- Ve	- Ve
	كاشف دراجندروف	راسب برتقالي	- Ve	- Ve
	كاشف فهلنك	راسب احمر	+ Ve	+ Ve
الكلايكوسيدات	كاشف بندكت	راسب احمر	+ Ve	+ Ve
	حامض هيدروكلوريك مخفف	راسب احمر	+ Ve	+ Ve
التربينات	كلوريد الزئبقيك	راسب ابيض	- Ve	- Ve
الكيومارينات	هيدروكسيد الصوديم + ورقة ترشيح + مصدر الاشعة فوق البنفسجية	اصفر مخضر لماع	+ Ve	+ Ve
الصابونينات	كلوريد الزئبقيك	راسب ابيض	+ Ve	- Ve
	رج المستخلص	تكون رغوة	+ Ve	- Ve
الفينولات	كلوريد الحديديك 1%	اخضر مزرق	+ Ve	+ Ve
	Follin – Ciocaltea1%	ازرق غامق	+ Ve	+ Ve

+= الكشف الموجب

Ve - = الكشف سالب

تقدير المركبات الفينولية لمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي

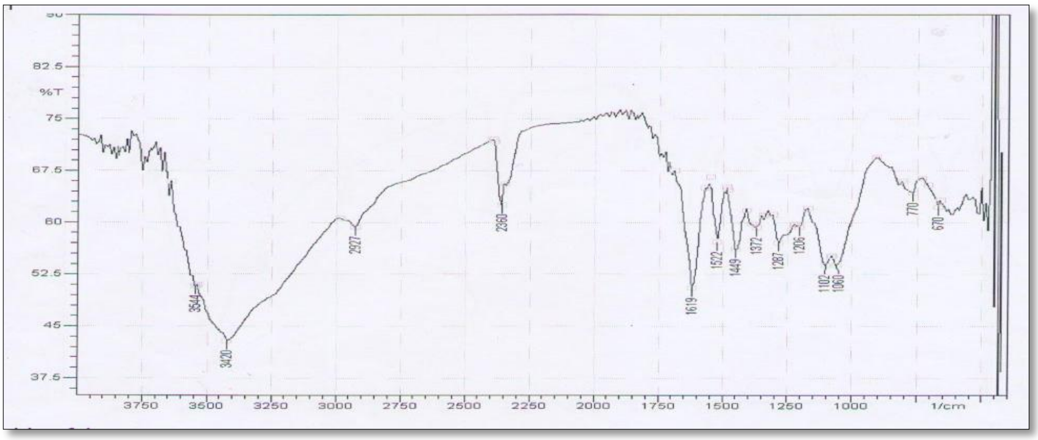
قدرت كمية المركبات الفينولية في المستخلصات قيد الدراسة اعتماداً على العلاقة البيانية بين تركيز حامض الكاليك والامتصاصية عند الطول الموجي 280 نانومتر كما في شكل (1), اذ تبين ان اعلى تركيز للمركبات الفينولية كان في المستخلص الكحولي بالايثانول 70% والكلوروفورم وبلغ تركيز الفينولات فيه 198 ملغم/لتر, في حين كان تركيز المركبات الفينولية في المستخلص الحامضي بحامض الخليك والبروبانول 173 ملغم/لتر.



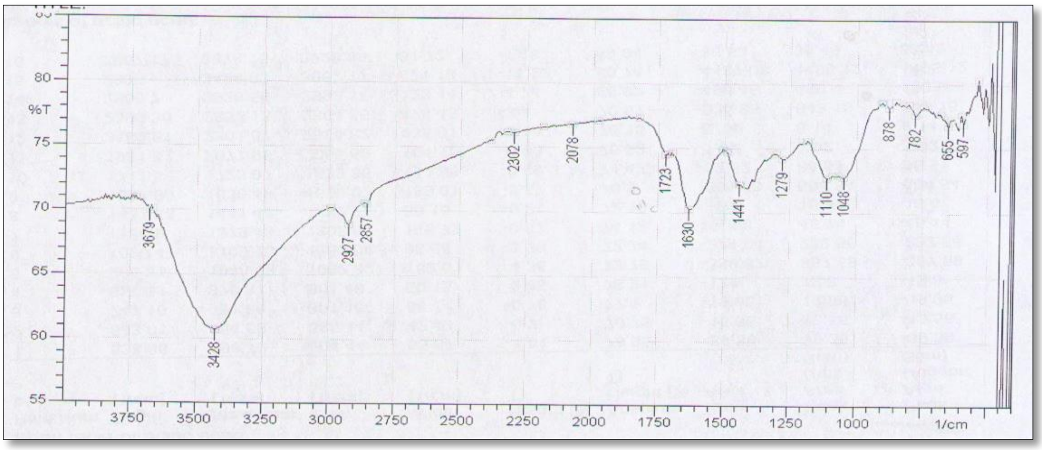
شكل (1): المنحنى البياني لقياس تراكيز المركبات الفينولية في طرائق الاستخلاص

التشخيص بمطياف الأشعة تحت الحمراء

تم تشخيص المجاميع الفعالة للمركبات الفينولية والالديهادية والاسترية والهيدروكاربونية والكحولية والكاربوكسيلية العائدة لمكونات مستخلصات القرفة الكحولية والحامضية والمبينة في شكل (3,2) وجدول (2) التي تظهر فيها أهم حزم الإمتصاص للمجاميع الأساسية, إذ أعطت مستخلصات القرفة الكحولية والحامضية حزمة امتصاص عريضة قوية الشدة عند الترددات 3420-3463 سم$^{-1}$ والتي تعود الى التذبذب الامتطاطي (مط) للمجاميع الهيدروكسيلية OH, كما أعطت نتائج الفحص حزم عند الترددات 2853 -2927 سم$^{-1}$ والتي تعود الى مط مجاميع المثيل C-H , واعطت نتائج الفحص حزم عند الترددات 1723-1798 سم$^{-1}$ والعائدة الى مط مجاميع الكاربونيل C=O, كما اعطت نتائج فحص طيف الاشعة تحت الحمراء حزماً عند الترددات 1102-1164 سم$^{-1}$ والعائدة الى مط مجاميع C-O كحول- ايثر, واعطت نتائج الفحص ايضاً حزماً عند الترددات 1202-1207 سم$^{-1}$ والتي تعود الى مط مجاميع ايثر C-O-C حامض كاربوكسيلي- فينول, أيضاً اعطت نتائج الفحص حزماً عند الترددات 1619-1681 سم$^{-1}$ والتي تعود الى مط مجاميع الالكينات C=C الحلقية الخارجية exocyclic, ان قيم هذه الترددات وموقعها وتسميتها وتفسيراتها تم ذكرها من قبل [10], والخاصة بفحوصات الاشعة تحت الحمراء, ومن خلال هذه الفحوصات نستنتج بان جميع مكونات القرفة قد اعطت نتيجة ايجابية في الفحص المذكور.



شكل (2): طيف الاشعة تحت الحمراء لمجاميع مكونات مستخلص القرفة الكحولي



شكل رقم (3): طيف الاشعة تحت الحمراء لمجاميع مكونات مستخلص القرفة الحامضي

جدول (2): نتائج طيف الاشعة تحت الحمراء IR للمركبات المفصولة وحزم الامتصاص والمجاميع التركيبية

المجاميع الكيميائية / المستخلصات	الاهتزاز الاتساعي لمجموعة					
	OH√	C-H√ الاليفاتية	C=O√	C-O√	C-O-C√	C=C√
مستخلص القرفة الكحولي	3420	2927	1725	1102 1150	1206	1619 1650
مستخلص القرفة الحامضي	3428	2927 2857	1723	1110	1202	1630 1650

√ : التذبذب الامتطاطي
OH: مجاميع الهيدروكسيلية
C-H: مجاميع المثيل
C=O: مجاميع الكاربونيل
C-O: مجاميع كاربونيل كحول- ايثر
C-O-C: مجاميع ايثر حامض كاربوكسيلي- فينول
C=C: مجاميع الالكينات

تقدير سمية المركبات الفينولية والفعالة في مستخلصات قلف القرفة الكحولي والحامضي على حيوانات التجربة

أجريت دراسة التأثير السمي لمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي على حيوانات التجربة والبالغ عددها (3) جرذان لكل تركيز فضلا عن مجموعة السيطرة التي كانت تعطى المحلول الملح الفسيولوجي Nacl 0.85% ولمدة 48 ساعة, فوجد أنها غير سامة ضمن التراكيز 100 – 500 ملغم/كغم من وزن الحيوانات. إذ لم يلاحظ وجود أي أعراض سمية للمستخلصات خلال مدة التجربة لتحديد الجرعة المؤثرة أو حصول وفيات في الجرذان لمختلف التراكيز, وهذا يدل على عدم سمية هذه المادة اذا ما استعملت بتراكيز عالية وضمن الجرعة المحددة للجرعة المميتة الوسطية Mid - lethal dose لتراكيب القرفة وكما موضحة سابقاً والتي ذكرها [13], اذ لم يلاحظ حدوث تداخلات في اعضاء جسم حيوانات التجربة عند استعمالها.

تحديد الجرعة المؤثرة لمستخلصات قلف القرفة

يوضح جدول (3) أن الجرعة 300 ملغم/كغم لكل من مستخلصات القرفة الكحولي والحامضي هي الأكثر تأثيراً في خفض مستوى الكلوكوز عند المقارنة مع مجموعة السيطرة. وعليه اعتمدت الجرعة المستخدمة 300 ملغم/كغم لتقييم تأثير المستخلصات النباتية المستخدمة في الدراسة الحالية والتي اتفقت مع الدراسة التي اجراها [13] باستعمال الجرعة نفسها.

جدول (3): تحديدالجرعة المؤثرة لمستخلصات قلف القرفة على تركيز الكلوكوز في مصل الدم الجرذان

المستخلصات	السيطرة	تراكيز المستخلصات (ملغم/كغم وزن الجسم)				
		100	200	300	400	500
تركيز الكلوكوز بالملغم /100 مللتر في دم الجرذان المعاملة بمستخلص القرفة الكحولي	102 + 2	98+ 2	92 + 1	88* + 0.5	88+ 0.6	89 + 1
تركيز الكلوكوز بالملغم /100 مللتر في دم الجرذان المعاملة بمستخلص القرفة الحامضي	102 + 2	97+ 1	91 + 2	85 * + 1	85+ 1	86 + 1

- القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي
- عدد الحيوانات (3) في كل مجموعة
*** قيم الانخفاض المعنوي**

استحداث داء السكري تجريبياً في الجرذان بوساطة الالوكسان

تمت مراقبة الجرذان المستحدثة بداء السكري بعد مرور72 ساعة من حقنها بالالوكسان بالغشاء البريتوني وبالجرعة اللازمة لأحداث داء السكري والبالغة 150 ملغم/كغم من وزن الجسم، وذلك للتأكد من حدوث الإصابة, إذ لوحظ أولاً ظهور أعراض داء السكري على الحيوانات والعلامات السريرية للجرذان المصابة هي (خمول، كثرة التبول، تبول الكلوكوز، العطش الشديد وشرب كميات كبيرة من الماء) وهذه الاعراض تتفق مع الدراسة التي اجراها [14] على الحيوانات التجريبية المستحدثة بداء السكري. كما تم التأكد ثانية من استحداث داء السكري في الجرذان المعاملة بالالوكسان بعد أخذ عينات دم من تلك الجرذان لغرض قياس مستوى كلوكوز الدم, إذ تم فحص مستوى الكلوكوز باستعمال الجهاز الخاص بفحص السكري ووجد بأنه أرتفع إلى ضعف معدله الطبيعي عند حدوث الاصابة اي اكثر من 200 ملغم /100 مللتر, وايضاً تم فحص الادرار والتأكد من وجود سكر الكلوكوز فيه وذلك عن طريق استعمال الشريط الكاشف وبذلك عدت بانها مصابة بداء السكري, استمرت مراقبة الحيوانات لمدة اسبوع باجراء الفحوصات نفسها. اشارت بعض الدراسات التي أجريت على الالوكسان بانه يؤثر بصورة سريعة في رفع مستوى تركيز الكلوكوز بالدم, وان منع مرحلة ارتفاع السكري لا تمنع الضرر في خلايا بيتا لذلك بعد فترة قصيرة من مرحلة ارتفاع السكري الاولي سيكون هناك هبوط سريع في مستويات الكلوكوز بالدم مما يؤدي الى انخفاض السكري وبالنتيجة فان الانسولين سيصدر ضرر في خلايا بيتا، وبعد فترة قصيرة يظهر كلوكوز الدم مرة اخرى ويبقى على ارتفاع [4], وفي هذه المرحلة فان الخلايا تكون قد تحطمت ومحتوى الانسولين في البنكرياس يبقى على ارتفاع.

تاثير الاعطاء الفموي للمركبات الفينولية والفعالة في مستخلصات قلف القرفة في المتغيرات الكيموحيوية

مستوى تركيز الكلوكوز الصيام في مصل الدم

تبين نتائج التحليل الاحصائي للدراسة بعد مدة 30 يوماً من الاصابة حصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.01$) في مجموعة حيوانات السيطرة الموجبة المصابة بداء السكري المستحث مقارنة بتركيزه بمجموعة السيطرة السالبة الاعتيادية وكما موضحة في الجدول (4), ويعود السبب في ذلك زيادة جهد الاكسدة من خلال تحطيم خلايا بيتا البنكرياسية بسبب مادة الالوكسان مما أدى إلى توقف صنع الانسولين, فضلا عن ذلك فان ارتفاع مستوى السكر في الدم يثبط انزيم Glucose-6-Phosphate dehydrogenase الذي يسبب اختزال انتاج الاوكسجين الفائق نتيجة نقص انتاج انزيم Dinucleotide- Phosphate-oxidase DPH oxidase [15].

أما فيما يخص إستعمال مستخلصات القرفة الحامضي والكحولي للمجاميع المصابة فبين التحليل الاحصائي في الجدول ذاته تفوقهما على مجموعة السيطرة الموجبة والمجموعة المعاملة بعلاج الداؤنيل والتي اتفقت نتائجها مع الدراسات التي اجراها [16] وقد يعود سبب انخفاض مستوى تركيز كلوكوز مصل الدم إلى قابلية مستخلصات القرفة على تنشيط تكوين كلايكوجين الكبد من الكلوكوز الدائر في محيط الدم أو ربما يعود إلى احتواء هذه المستخلصات على مواد مثل Methyl hydroxylchalcone polymer (MHCP) والتي تعمل على زيادة إفراز هرمون الأنسولين بصورة فعالة من خلايا بيتا وقد تعمل على زيادة عملية تحلل السكر Glycolysis في الأنسجة المحيطة أو انخفاض في عملية تكوين السكر من مصادر غير كاربوهيدراتية Gluconeogensis [17], وتعمل المركبات الفينولية النباتية والتانينات على تقليل مقاومة الانسولين في العضلات والدهون ويعمل ذلك على امتلاك الجسم كمية من الانسولين ليكون كفوء في إداء عمله بالسيطرة على الكلوكوز في الدم عن طريق تحويل الانسولين الى ألشكل ألفعال, وايضاً لها دور مضاد لارتفاع السكر في الدم من خلال تحفيز افراز الانسولين وتحسين حساسيته [18], ونظراً لوجود أملاح الكروم العضوية في نبات القرفة فمن المعتقد ان تكون زيادة افراز الانسولين بسبب الكروم لانه يزيد من عدد مستقبلات الانسولين وايضاً يزيد من حساسية مستقبلات الانسولين عن طريق زيادة عملية الفسفرة للمستقبلات [2], وهذا يشير الى الفعالية العلاجية للمستخلصات.

مستوى تركيز الكوليسترول الكلي Total Cholesterol (T.C) في مصل الدم

أوضحت نتائج قياس الكوليسترول الكلي بمصل الدم حصول ارتفاع معنوي كبير($p \leq 0.01$) بمعدلات الكوليسترول لحيوانات مجموعة السيطرة الموجبة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة والموضحة في جدول (4) وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي بينت حصول تغيرات في دهون مصل الدم نتيجة للاصابة بفرط السكري [19]. يمكن أن يعزى سبب الارتفاع هذا إلى انعدام الأنسولين الذي يزيد من نشاط إنزيم اللايبيز Lipase في الخلايا الدهنية وبالتالي زيادة كميات الكوليسترول المتحررة الى الدم, مما يؤدي ايضا الى زيادة عمليات الهدم في الجسم بصورة كبيرة مما ينتج عنه زيادة الدهون في الجسم وارتفاع في مستوى كوليسترول الدم [20]. كما وتشير نتائج التحليل الاحصائي بحصول انخفاض معنوي $p \leq 0.01$ بمستوى تركيز الكوليسترول الكلي بالمجاميع المصابة بالسكري والمعاملة بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي, وبذلك يكونان قد تفوقا على المجموعة المصابة بالسكري والمعاملة بعلاج الداؤنيل وعلى مجموعة السيطرة الموجبة, ويعود السبب في هذا الانخفاض الى تثبيط إنزيم (Intestinal acyl-CoA: Cholestrol acyl transferase, ACAT) ألمسؤول عن إمتصاص الكوليسترول من الأمعاء والذي يتم تثبيطه نتيجة زيادة مستوى الأنسولين [21], وكذلك احتواء القرفة على الكالسيوم والالياف اللذان يعملان على التخلص من املاح الصفراء من خلال إرتباط هذه المكونات معها في الامعاء ومن ثم طرحها خارجاً, إذ ان تصنيع املاح الصفراء يؤدي الى زيادة استعمال كميات من الكوليسترول وبذلك تعمل القرفة على تعزيز خفض تراكيز الكوليسترول في الدم [22], وكذلك تعمل على خفض مستوى T.C في مصل دم الحيوانات المصابة والمعاملة بمستخلص القرفة الكحولي لاحتواؤها على الصابونيين الذي له فعالية بذلك فقد أوضح, اذ ان للصابونيين تأثير مخفض لمستوى الكوليسترول في الدم نتيجة تحلل الصابونيين في القناة الهضمية إلى Sapogenins و diosgenin وهذين

المركبين لهما دور بتنشيط إفراز حامض الصفراء بوساطة الكبد، ويُكون الصابونيين مع الكوليسترول معقدات غير ذائبة في تجويف القناة الهضمية, اذ تعمل على تثبيط امتصاص الكوليسترول من الأمعاء, وبذلك يتم طرحه مع الفضلات ومن ثم انخفاض مستواه، ويعمل الصابونيين على الالتصاق مع الدهون المتعادلة وحوامض الصفراء في الأمعاء وخفض مستواها من خلال تثبيط امتصاصها وتحفيز الكبد لتحويل الكوليسترول إلى احماض الصفراء [23].

مستوى تركيز الكليسريدات الثلاثية Triglyciride T.G في مصل الدم

لوحظ من خلال نتائج التحليل الاحصائي أن طول مدة الاصابة بالسكري والبالغة 30 يوماً له اثر معنوي (p≤ 0.01) بزيادة مستوى تركيز الكليسريدات الثلاثية لمجموعة السيطرة الموجبة المصابة بالسكري مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة, والموضحة في جدول (4) والتي اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات سابقة اجريت على الجرذان المصابة بداء السكري, إذ وجد عند استحداث داء السكري بالالوكسان في الجرذان يرافقها ارتفاع في مستوى الكليسريدات الثلاثية في الدم ويعود السبب في ذلك الى ارتفاع مستوى ألسكر في الدم وانخفاض مضادات الاكسدة وانخفاض مستوى الكلوتاثيون بـيروكسيديز Glutothion peroxides يؤدي إلى ارتفاع فـي مـستويات الكليسريدات الثلاثية وهذا الارتفاع يكون مرتبط مع طول مدة المرض [24]. وقد اثبتت المعاملة بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي فعاليتها في حصول انخفاض معنوي عالي (p≤ 0.01) في معدل تركيز الكليسريدات الثلاثية, مقارنة بالمجموعة المصابة والمعاملة بعلاج الداؤنيل. ويعود السبب في ذلك إن استعمال مستخلصات القرفة وزيتها الطيار ربما يحدث بعض التغييرات أو التأثيرات الكيموحيوية داخل الجسم فقد أدى إلى حصول انخفاض معنوي في مستوى تركيز الكليسريدات الثلاثية وجاء هذا متوافقاً مع [16] عند استحداث داء السكري في الفئران تجريبياً, إذ اثبت أن مستخلص القرفة يملك فاعلية مضادة للأكسدة من خلال احتوائها على مركبات الفلافونات المعروفة بخواصها المضادة للأكسدة والتي لها دوراً في تعزيز وظيفة الأنسولين، وهذا ما انعكس على المجاميع المعاملة بمستخلصات القرفة التي أظهرت المعاملة بها انخفاضاً في مستوى الكليسريدات الثلاثية في الدم, كذلك وجد إن الصابونينات المعزولة من نبات القرفة قد خفضت من مستوى الكليسريدات الثلاثية في مصل دم الفئران المصابة بالسكري, اذ أن مادة الصابونين المعزولة من نبات القرفة كان لها تأثير خافض في مستوى الكليسريدات الثلاثية [23]. أو قد تمتلك مستخلصات القرفة على مركبات شبيهة بالانسولين من خلال تاثيرها المثبط لعدد من الهورمونات مثل الكلوكاكون glucagon والكـاتيكول أمينات Catecholamines والايبنفرين وهي من الهورمونات المحفزة لتحلل الدهون من خلال تنشيطها لانزيم اللايبيز Lipase الذي يزيد من تحلل الدهون في الانسجة الدهنية [8].

مستوى تركيز البروتين الدهني عالي الكثافة HDL-C في مصل الدم خلال

يوضح جدول (4) نتائج التحليل الاحصائي لمستوى تركيز الدهون البروتينية عالية الكثافة HDL-C والذي يلاحظ فيه حصول انخفاض معنوي (p≤ 0.01) في مستواه لمجموعة السيطرة الموجبة المصابة والتي توافقت النتائج مع نتائج ماحصل عليه [25] من خلال الدراسات التي اجراها على الجرذان المستحثة بالسكري, وربما يعزى السبب الى ان الاصابة بمرض داء السكري ادى الى زيادة نسبة التعرض لعملية الشدة التأكسدية والذي ربما يعود سببه الى الانزيم Glycosyl transferase الذي يعمل على تصنع البروتين السكري والذي قد يكون له دور في رفع سكر الدم وخفض مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة [26]. وبين الجدول ذاته حصول إرتفاع معنوي (P≤ 0.01) في مستوى تركيز الـ HDL-C نتيجة المعاملة بمستخلصات القرفة الحامضي والكحولي وجاءت هذه النتائج مطابقة لما وجده [18], وقد يعزى سبب الارتفاع لما تحويه مستخلصات القرفة من مركبات فينولية والفلافونات ومواداً اخرى نتيجة لزيادة تركيزها بهذه المستخلصات والتي لها دور فاعل في السيطرة على عملية الشدة التأكسدية وعلى مستوى كلوكوز الدم, الذي له دور مهم وفعال في السيطرة على مشاكل فرط الدهون وأضطرابها في مصل الدم, من خلال تنشيط مستقبلات الانسولين والسيطرة على فعالية انزيم Hepatic lipase الذي يؤدي الى خفض تحلل الدهون البروتينية عالية الكثافة وارتفاع نسبته في مصل الدم [2].

مستوى تركيز البروتين الدهني واطئ الكثافة LDL-C في مصل الدم

ان الارتفاع المعنوي (p≤ 0.01) الذي حصل للجرذان المصابة بداء السكري (مجموعة السيطرة الموجبة) في مستوى الدهون البروتينية واطئة الكثافة الـ LDL-C في الدراسة الحالية والمبينة في جدول (4) والتي جاءت النتائج متوافقة مع ماذكره [25] من خلال التجارب التي أجريت على الجرذان المستحثة بالسكري, ويعود السبب في ذلك إلى انه ربما قد حصل تغيير في مستوى Apolipoprotien الذي يلعب دوراً مهماً في المحافظة على التراكيز الطبيعية للبروتين الدهني واطئ الكثافة و البروتين الدهني عالي الكثافة في الدم، وان حصول أي تغيير او خلل في عملية أيضه ممكن أن يؤثر ذلك على مستوى الدهون البروتينية في الدم ، كذلك يؤدي ارتفاع مستوى سكر الكلوكوز في الدم الى ارتباط هذه الجزيئات مع المجاميع الامينيـة للبروتين الدهني واطئ الكثافة بعملية تدعى الكلايكوسلية Glucosylation,وان اكسدة البروتين الدهني واطئ الكثافة يعد الخطوة الاولى في تطور امراض القلب نتيجة الاصابة بالسكري [27], اما الانخفاض المعنوي (p≤ 0.05) في معدلات تركيز البروتين الدهني واطئ الكثافة بالنسبة للمجاميع المعاملة بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي ومقارنتا بالمجموعة المصابة والمعاملة بعلاج الداؤنيل والتي كانت نتائج هذه الدراسة متفقة مع الدراسة التي اجراها [25] على جرذان تم استحداثها بالستربتوزوتسين, ويعود السبب في هذا الانخفاض الى ان مستخلصات القرفة الحامضية والكحولية تحتوي على مواد فعالة علاجيا عملت على خفض مستويات الكوليسترول من خلال تحفيز عملية ايضه في الكبد, ومن ثم تحويله إلى احماض صفراء وهذا الانخفاض قد حد من نقل الكوليسترول إلى الخلايا وذلك عن طريق البروتين الدهني واطئ الكثافة , كما قد يكون للفلافونويدات والمواد متعددة الفينول الموجودة في نبات القرفة دور في هذا الإنخفاض, اذ تتصف بكونها مواداً مضادة للأكسدة, اذ تعمل على ازالة الـ LDL-C من الدم عن طريق رفع كفاءة عمل مستقبلاته في الكبد وارتباطه بـ Apoliporotein B [2,8].

اختبارات انزيمات وظائف الكبد Liver function enzymes

أسفرت نتائج مدة الثلاثون يوماً من الاصابة حصول ارتفاع معنوي كبير($p \leq 0.01$) في فعالية انزيمات الكبد الـ GOT و الـGPT لمصل دم الجرذان لمجموعة السيطرة الموجبة المصابة بالسكري بالمقارنة مع فعاليته في مجموعة السيطرة السالبة والموضحة في جدول (4) وتتفق نتائج هذه الدراسة مع [28], التي تم فيها استحداث داء السكري بالجرذان, ويعزى سبب هذا الارتفاع إلى نقص في تكون الكلايكوجين وزيادة في عملية التحلل من خلال تثبيطها لنشاط أنزيم Glycogen synthase وكذلك تثبيط عملية نقل الكلوكوز إلى داخل الخلايا, وان اي خلل في التركيب الخلوي للكبد بسبب الجذور الحرة والشدة التاكسدية سوف يزيد من مستوى هذا الانزيم خصوصاً عند حصول تنخر في الكبد Hepatic necrosis [29]. كما يعد قياس مستوى أنزيمات الـGPT و الـ GOT مؤشرا حساسا لأمراض الكبد, إذ ترتفع مستوياتهما في حالات أضطراب وظيفة الكبد Hepatic dysfunction وتنخر الخلايا الكبدية وألتهاب الكبد المزمن نتيجة الاصابة بداء السكري, إذ ان علاقة الانزيمين الـ GOT و الـ GPT تكون طردية, إذ ان ارتفاع انزيم الـ GOT بارتفاع انزيم الـ GPT دليل حدوث الاصابة [30], كما بينت نتائج التحليل الاحصائي والمبينة في الجدول ذاته حصول تغير ايجابي في فعالية هذه الانزيمات فقد انخفضت معدلاتهما معنوياً ($p \leq 0.01$) في مجاميع الجرذان المصابة والتي جرعت بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي مقارنة بمعدل فعاليتهما في المجموعة المعاملة بعلاج الداؤنيل وفي مجموعة السيطرة الموجبة, وبذلك اتفقت النتائج مع نتائج دراسات اخرى [16,31] وهذا يدل على ان هذه المستخلصات عملت على اصلاح التلف في خلايا الكبد لما تحويه من مكونات طبيعية شبيهة بعمل الانسولين منها المادة المتعددة الفينول Methyl Hydroxychalcone Polymer (MHCP), إذ اثبتت بانها اقوى من الانسولين بتخفيضها لسكر الكلوكوز, وايضاً من مضادات الاكسدة للجذور الحرة, والتي يولدها مرض السكري من خلال تأثيره على وظائف الكبد وعمل انزيمات الكبد من خلال عودة خلايا B-cell التالفة إلى القيام بوظيفتها بشكل صحيح, وزيادة العمليات الأيضية في الكبد [28]. كما ان للمركبات الفينولية والفلافونويدات والتانينات والكيومارينات الموجودة في مستخلصات القرفة دور في تحسن وظائف الكبد بوصفها مواد مضادة للاكسدة, وكسح الجذور الحرة, وتفاعل الدهون البيروكسيدية, وخفض مستوى هذه الانزيمات المصاحبة لمرض السكري [1].

اختبارات وظائف الكلية Kidney function tests

مستوى تركيز اليوريا في مصل الدم

يبين جدول (4) نتائج التحليل الاحصائي الذي يوضح فيه حصول ارتفاع معنوي ($p \leq 0.01$) في مستوى تركيز اليوريا في مصل الدم لمجموعة السيطرة الموجبة نتيجة الاصابة بداء السكري قياسا بمستواه في مجموعة السيطرة السالبة, وقد توافقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات التي اجريت على الحيوانات المستحثة بداء السكري [28], وقد يعزى سبب الارتفاع في اليوريا الى فقدان الكلوكوز الذي يعد مصدر الطاقة المباشر في الجسم بسبب غياب الانسولين واللجوء الى استغلال البروتين بوصفه مصدر بديل للطاقة والذي ينجم عنه تكوين كميات كبيرة من اليوريا, إذ تترشح اليوريا عن طريق الكبيبات (Glomeruli) من الدم ويعاد امتصاصها عن طريق النبيبات (Tubules) الكلوية [32]. وقد يعزى سبب ذلك ايضا الى ان هناك علاقة وثيقة ما بين داء السكري واعتلال الكلية, لذا تعد اليوريا مؤشرا على وظيفة الترشيح الكلوية ينبئ بحصول اعتلال الكلية السكري لدى مرضى داء السكري نتيجة لارتفاع مستوى تركيز السكر في الدم [3]. وقد ادى معاملة الحيوانات المصابة بداء السكري المستحث بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي الى حصول انخفاض معنوي ($p \leq 0.01$) في مستوى تركيز اليوريا في مصل الدم ووصوله الى التركيز الطبيعي مقارنةً بمستواه في مجموعة السيطرة الموجبة والمجموعة المعاملة بعلاج الداؤنيل والموضحة في الجدول المذكور, وبذلك تتفق نتائج الدراسة مع دراسات اخرى [2,31] ويمكن ان يعود سبب انخفاض نسبة اليوريا الى احتواء هذه المستخلصات على مركبات شبيهة بالانسولين الذي يعيد الاختلالات الايضية الى مسارها الطبيعي والتقليل من تاثيرات داء السكري الضارة في نسيج الكلية, كما ان احتواء القرفة على البروتينات والعناصر المتنوعة الاخرى والتي تؤدي الى عدم ارتفاع نسبة اليوريا في الدم, إذ ان البروتينات النباتية ومحتواها من الاحماض الامينية لاتسبب ارتفاع في تركيز اليوريا وحامض اليوريك وان انخفاض حامض اليوريك يمكن أن يعزى الى نوعية البروتين المكون للمستخلص [33].

مستوى تركيز الكرياتنيين في مصل الدم

أشارت نتائج الدراسة إلى وجود فروق معنوية ($p \leq 0.01$) في تركيز الكرياتنيين خلال مدة 30 يوماً من الاصابة بداء السكري المستحث في مجموعة السيطرة الموجبة وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة والموضحة في جدول (4) وبذلك تتفق النتائج مع النتائج التي قام بها [19]. وتعزى الزيادة الحاصلة في تركيز الكرياتنيين إلى انخفاض في تصفية البلازما الكلوية للكرياتنيين بسبب إنخفاض جريان الدم خلال الكليتين نتيجة الألتهاب الحاد في النبيبات الكلوية التي سببها داء السكري, كما تؤدي الإصابة بداء السكري الى الزيادة في مستوى الكرياتنيين في بلازما الدم والزيادة في مستوى البروتين البولي وارتفاع ضغط الدم ايضاً وزيادة مستوى الدهون، وارتفاع نسبة الكوليسترول، وزيادة مستوى الالبومين, وتجمع السوائل تحت الجلد [34]. و بين التحليل الاحصائي حصول انخفاض معنوي $p \leq 0.01$ للمجاميع المعاملة بمستخلصات القرفة الكحولي والحامضي في مستوى تركيز الكرياتنيين ووصوله الى الحدود الطبيعية مقارنةً بالمجموعة المعاملة بعلاج الداؤنيل, وقد يعزى الانخفاض في مستوى الكرياتنيين نتيجة معاملة المجاميع المصابة بداء السكري بمستخلصات القرفة إلى اعادة اصلاح انسجة الكلى وعدم حصول أي أعراض لالتهاب الكلى, ومن ثم زيادة ترشيح الكرياتنيين بوساطة الكبيبات الكلوية مما يؤدي الى قلة مستواه في مصل الدم, وإلى عدم حصول ضرر في حالة الكلى وعدم تحلل لبعض المكونات الداخلية للعضلات [14,31,24].

جدول (4): معدل تراكيز المتغيرات الكيموحيويـة في مصـل دم الجـرذان

المجاميع / مستوى التراكيز	سيطرة سالبة غير مصابة	سيطرة موجبة مصابة	مصابة وتعالج بالداونيل	مصابة وتعالج بمستخلص القرفة الحامضي	مصابة وتعالج بمستخلص القرفة الكحولي
الكلوكوز GLUCOSE	102.82±1.11 c	355.40±5.43 a	173.37±2.5 b	92.50±8.3 d	107.14±2.4 c
الكوليسترول الكلي T.C	86.05±0.67 c	139.0±1.37 a	96.76±0.96 b	87.17±0.80 c	85.9±0.41 c
الكليسريدات الثلاثية T.G.	59.65±0.26 c	98.32±1.35 a	71.30±1.01 b	56.97±1.27 d	57.68±1.11 d
(ملغم/دسيلتر) HDL-C	62.6±0.32 a	33.56±0.56 d	53.76±0.94 c	58.05±0.83 b	59.15±0.56 b
(ملغم/دسيلتر) LDL-C	10.74±0.65 d	85.8±1.2 a	26.7±1.5 b	17.7±0.14 c	15.12±0.22 c
(وحدة/ لتر) GOT	52.25±1.11 d	101.25±1.8 a	72.75±2.17 b	57.25±1.93 c	59.75±0.48 c
(وحدة/ لتر) GPT	21.25±0.75 d	58.50±1.85 a	38.50±3.01 b	29.50±1.84 c	28.50±9.32 c
اليوريا (ملغم/دسيلتر)	42.5±0.73 d	94.03±0.87 a	74.25±1.54 b	52.98±1.06 c	55.93±1.40 c
الكرياتنين (ملغم/دسيلتر)	0.475±0.05 d	1.98±0.06 a	1.65±0.15 b	0.800±0.04 c	0.775±0.05 c

* الحروف غير المتشابهة في العمود تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى ($P \leq 0.01$)

المصـــادر

1. Nickavar, B. and Abolhsani, F. A. (2009). "Screening of antioxidant properties of seven umbellferae fruits from Iran", Pak. J. Pharm. Sci, 22: 30-35.
2. Anderson, R. A. (2008). "Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity, Proc Nutr Soc 67(1): 48-53.
3. American Diabetes Association. (2010). "Diagnosis and classification of Diabetes mellitus, *Diabetes Care"*, 33(1): 62-69.
4. Szkudelski, T. (2001). "The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas", Physiol. Res. 50: 537–546.
5. Diaz-Reinoso, B.; Moure, A.; Dominguez, H . and Parajo, J. C. (2006). "Supercritical CO_2 extraction and purification of compound with antioxidant activity", J. Agric. Food Chem. 54: 2441-2469.
6. Gayon-Ribereau, D. (1972). "Plant Phenolics, Oliver and Boyed, Edinburgh, 254.

7. Sinisa, D.; Milorad, C. and Salameh, A. (2000), "The extraction of apigenin and luteolin from the sage *Salvia officinalis l.* from Jordan", The scientific journal Facta Universitatis. 1(5): 87-93.

8. Anderson, R. A. and Broadhurst, C. L. et al (2004). "Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity", J. Agric. Food Chemistry. 52: 65-70.

9. Kaur, C. and Kapoor, H. C. (2002). "Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables", Int. J. Food Sci. Technol. 37: 153-161.

.10 سلومي, عصام جرجيس. (1982). "اطياف الاشعة تحت الحمراء للمركبات اللاعضوية والتناسقية", وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. المكتبة الوطنية, العراق.

11. Nimenibo-Vadia, R. (2003)."Control of hyper lipidemia hyper cholesrolemia and hyper ketonemia by aqueous extract of *Dioscorea dumetorum* tuber", Trop. J. of Pharm Res. 2: 183-189.

12. Duncun, J. (1955). "Multiple F-Test Multiple Range Test", Biometric. 1(1): 31-42.

13. Qin, B., Nagasaki, M., Ren, M., Bajotto, G., Oshida, Y. and Sato, Y. (2004). "Cinnamon extract (traditional herb) potentiates in vivo insulin-regulated glucose utilization via enhancing insulin signaling in rats", Diab Res Clin Pract. 62: 139–148.

14. Ganong, W. F. (2005). "Review of medical physiology", 22th ed. (Medical. Pubulation). McGraw-Hill Professional, San fransisco. 340- 342.

15. Edwards, C. R. and Bouchier, I. A. D. (1991). "Davidson's Principles and Practice of Medicine", 16th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh. England. 658-666.

16. Zari, T. A. and AL-Logmani, A. S. h. (2009). "Long–term effects of *Cinnamomum zeylanicum* Blume oil on some physiological parameters in streptozoto-cin-diabetic and non-diabetic rats", Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 8(4): 266-274.

17. de Carvalho, E. N., de Carvalho, N. A. S. and Ferreiva, L. M. (2003). "Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats", Acta. Cir. Bras.

18. Rajesh, G., Sameer, W., Shyam, A., Roshan, K., Swati, J., Sushma, S., Padalkar, A.S. and Kalpana, J. (2011). "Ethanolic extract of cinnamon potentiates in vitro ppar-reporter activity in presence of pgc1 and src1 andimproves glucose tolerance in mice", Int Res J Biotechnology. 2(2): 047-057.

19. Yan Shen, M. F., Yoshimasa, I. T. O., Muraki, E., Hosono, T., Seki, T. and Ariga, T. (2010)."Verification of the antidiabetic effects of cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*) using insulin-uncontrolled type 1 diabetic rats and cultured adipocytes", Biosci. Biotechnol. Biochem. 74(12): 2418-2425.

20. Rajagopal, K. and Sasikala, K. (2008). "Antihyperglycemic and antihyper- lipidemic effects of *Nymphaea stellata* in alloxan induced diabetic rats", Singapore. Med. J. 49: 137-141.

21. Maechler, P., Wolheim, C.B., Bentzen, C.L. and Niesor, E. (1993). "Imortance of exogenous cholesterol in diabetic rats: effect of treatment with insulin or with an acyl-CoA: cholesterol acyl transferase inhibition", Ann. Nutr. Metab. 37(4): 199-209.

22. Dugoua, J. J., Ridout, R., Koren, G. and Einarson, T. (2007)."The Antidiabetic and Cholesterol-Lowering Effects of Cinnamon and Caissa Bark", University Health Network, Toronto. Canada. 1-4

23. Sauvaire, Y., Baissa, C.Y., Leonate, O., Petit, P. and Ribes, G. (1996). "Steroid saponins and their biological properties", Waller and Yamasak Plenum press, New York. 37-46.

24. Naglaa, H. M. H. (2010). "Prootective effect of Cinnamon clove and Ginger spices or their essential oils on oxidative stress of streptozotocin-induced diabetic rats". 18(1): 137-154.

25. Rekha, N., Balaji, R. and Deecaraman, M. (2010). "Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of extracts of the pulp of *Syzygium cumini* and bark of *Cinnamon zeylanicum* in streptozotocin-induced diabetic rats", J Appl Biosci. 28: 1718 –1730.

26. Kontush, A., Guerin, M. and Chapman, M. J. (2008). "Spot light on HDL- raising therapies: in sights from the torcetrapid trials", Nature Clin. Practice Cardiovascu. Med. 5: 329- 336.

27. Turk, Z., Sesto, M., Skodlar, J., Ferencak, G., Turk, N. and Sturljenic – Rukavina, A. (2004). "Soluble LDL immune complexes in type 2 diabetes and vascular disease", Horm. Metab. Res. 34: 196–201.

28. Ani, F., Ime, I., Atangwho, J., Edisua, H. I., Mary A. I., and Essien, U. E. (2011)."Effect of traditional diets on oxidative stress and lipid profile of alloxan induced diabetic rats", Afr. J. Food Science. 5(3): 143-147.

29. Tchounwou, D. B., Patolla, A. K. and Centon, A. (2004). "Serum aminotrancs ferasesas biomarkers of arsenic-induced hepatotoxic in Sprague-dawley rats", Metal. Lons. Bio. Medicine. 8: 284-288

30. Thapa, B. R. and Walia, A. (2007). "Liver Function Tests and their Interpretation", Ind J Ped, 74: 663-671.

31. Hassan, S. K., N. M. El-Sammad, M. M. Ali, A. S. A. Hegazi and N. M. Nazif. (2010)."Anti-diabetic activity of Syzygium cumini. fruits extract on strepto-zotocin induced diabetic rats", Egypt. J. Biomed. Sci. 29: 271-285.

32. Eteng, M. U., Bassey, B. J., Atangwho, I. J., Egbung, G. E., Eyong, E. U., Ebong, P. E. and Abolaji, A. O. (2008). "Biochemical indices of Macrovascular complication in diabetic rat model: compared effects of *Vernoia amygdalina*, *Catharantus roseus* and *chlorpro pamide*", Asia. J. Biochem. 3: 228- 234

33. Trudy, M. and Mckee, J. (2004). "Biochemistry introduction", U.S.A.

34. Santopinto, J. J., Fox, K. A. A., Goldberg, R., Budaj, G. and Pinero, A. A. (2003). "Creatinine clearance and adverse hospital outcomes in patients with acute coronary syndromes: findings from the global registry of acute coronary events (Grace)", Cardio Medicin Heart. 89: 1003–1008.