------مجلة علوم الرافدين، المجلد 22، العدد 2، ص 129-144،2011------

فصل ودراسة بعض من المستخلصات البروتينية وغير البروتينية من ثمار المردقوش *Origanum majorana* في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي

سكينة حسين رشيد

قسم الكيمياء

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 30/ 11 / 2010 ؛ تاريخ القبول 31 / 1 / 2011)

الملخص

صممت هذه الدراسة لـتحضير مسـتخلص مائي بارد لثمرة المردقوش *Origanum majorana* وتم عزل مستخلص القلويدات والفلافونويدات من هذه الثمار، كما تم عزل ودراسة المركبات البروتينية من ثمار نبات المردقوش، وباستخدام تقنية الترشيح الهلامي تم فصل مركبين بروتينين A(233646) دالتون و B(1032) دالتون من الراسب البروتيني البارد .

كما تضمنت الدراسة تأثير المستخلصات والمركبـات المـذكورة انفـا فـي مـستويات الكلوكـوز والكوليستيرول الكلي في مصل الدم وكذلك مستويات الكلوتاثايون والمالونداليديهايد في أنسجة الكبد والكليـة والقلب في ذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث ببروكسيد الهيدروجين عن طريـق الحقـن بالتجويف البريتوني .

وأشارت النتائج بعد اسبوع من المعاملة الى ان المستخلص المائي الخام وغيـر البروتينـي البـارد ومستخلص القلويدات والفلافونويدات والراسب البروتيني والمركب البروتيني B وبجرع (400 ،400، 0.51، 0.33 ، 10.15 ، 2.58) ملغم / كغم وزن الجسم على التوالي أدت إلى انخفـاض معنـوي ($p<0.05$) فـي مستوى كل من الكلوكوز و الكوليسترول الكلي في مصل الدم ومستوى المالونداليديهايد في أنـسجة الكبـد والكلية والقلب . كما أحدثت ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنـسجة الكبـد والكليـة والقلب لذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي ، استنتجت الدراسة ان معظم مستخلصات المردقوش تمتلك تأثيرا مضادا للأكسدة في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي .

الكلمات الدالة : المردقوش ، مضادات الأكسدة ، الكلوكوز ، الكوليسترول .

Isolation and Studying some Extracts, Protenious and non-protenious Compounds from Sweet Majorum (*Origanum majorana*) in Mice Exposed to Oxidative Stress

Sakena H. Rashed
Department of Chemistry
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

This study was designed to prepare cold aqueous extracts of *Origanum majorana* fruits, and isolation of alkaloid and flavonoids extracts. The study also comprised the isolation and studying the proteinous compounds, using gel filtration technique. Two compounds were separated A (233646 M.wt) Dalton and B(1032 M.wt) Dalton from the cold proteinous precipitate.

The effects of these extracts and the compounds previous mentioned above were studied on serum glucose and total cholesterol. Also glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels in liver, kidney and heart tissues in mice exposed to oxidative stress. The extracts were administrated intraperitoneally .

After one week from the treatment, the results were indicated that the cold crude aqueous, non-proteinous extracts, alkaloids, flavonoids, proteinous precipitate and proteinous compound B which was isolated from it at the doses of (400, 400, 0.51, 0.33, 10.15, 2.58) mg/kg body weights caused a significant decrease ($p<0.05$) in serum glucose, total cholesterol and MDA level in liver, kidney and heart tissues, also caused significant increase ($p<0.05$) in GSH level in liver, kidney and heart tissues in male mice exposed to oxidative stress. The study concluded that most *Origanum Majorana* extracts have antioxidant effect in mice exposed to oxidative stress .

Keywords : *Origanum Majorana ,* antioxidants , Glucose , Cholesterol .

المقدمة

المردقوش نبات عشبي معمر عطري ينمو في شبه الجزيرة العربية وسواحل البحر الابيض المتوسـط وجاوة والهند والصين ، ويزرع في اوربا وامريكا ويعرف علميا باسم *Origanum majorana* فهـو نبات معمر من الفـصيلة الشـفوية ، وهـو مجـموعة النعانيع المشهورة ، والـجزء المـستعمل مـن النبـات الاغصان المزهرة مع الزهر (Lagouri and Boskou,1996). أهم ما يمـيز المردقوش هـو احتـ ـواؤه على الزيوت الطيارة (Vanden and Lemli, 1980) كـما يـحتوي فـي تركـيبه علـى الفلافونويـدات Flavonoids وحامض الكافائين Caffeic acid، وحـامض الروزمارينيك rosemarinic acid وتربينـات ثـلاثية وهيدروكوينونات وتانينات (Dadalioglu and Evrendilek, 2004; Bozin *et al*., 2006) ونظـرا

لاحتواء المردقوش على هذه المواد الكيميائية الفعالة فهو يمتلك تاثيرا مـضادا لـبعض انـواع الفيروسـات والميكروبات والبكتريا (Chorianopoulos *et al*., 2004 ; Chami *et al*.,2005) إذ يستخدم علـى نطـاق واسع في الصناعات الغذائية بوصفه مضاداً ميكروبياً إذ يوضع مع اللحوم المصنعة كمادة حافظـة طبيعيـة (Dorman and Deans, 2000). تشير العديد من الدراسات الى ان النبات يمتلك تاثيرا مضادا للاكسدة نظرا لاحتوائه على مركبات تمنع تهتك الخلايـا أهمهـا الثيمـول والكارفـاكرول ولينـالول ومـواد عفـصية (Exarchou *et al*., 2002 ; Ivanova *et al*., 2005 ; Bozin *et al*., 2006 ; Nurmi *et al*., 2006).

كما أثبتت أبحاث أخرى إن المستخلص المائي للنبات يخفض سكر الـدم بنـسبة تـصل الـى 15 % (Lozano *et al*., 2004 ; Talpur *et al*., 2005) حيث يقلل من مضاعفات داء السكر على الجهاز العـصبي والرؤية (Koukoulitsa *et al*., 2006)، كما يستخدم في علاج امراض المفاصل والالام الروماتيزمية كمـا انه مهدئ وطارد للغازات (Vanden and Lemli, 1982) .

المواد المستعملة وطرائق العمل

جمع النبات المستعمل

جمعت ثمار المردقوش الجافة من الأسواق المحلية في مدينة الموصل وتم تصنيف النبات في كلية العلـوم ، قسم علوم الحياة.

تحضير المستخلصات

تحضير المستخلص المائي الخام البارد

وزن (500) غراما من ثمار المردقوش الجافة وطحنت بأستخدام آلة الطحن (Blender) مـدة (5) دقـائق للحصول على مسحوق ناعم عرض لغاز النتروجين المسال بعدها ترك النبات مدة (30) دقيقة فـي درجـة حرارة المختبر، أعيدت العملية مرات عدة بعد ذلك مزج مسحوق النبات مع الماء المقطـر البـارد بنـسبة (V/W 3:1) ثم ترك المزيج ساعتين تحت تأثير المحرك الكهربائي مع مراعاة التبريد للمزيج فـي الحمـام الثلجي، ثم رشح المزيج من خلال طبقات عدة من الشاش وفصل المستخلص المائي الخـام بجهـاز الطـرد المركزي المبرد مدة (15) دقيقة وبسرعة (6000 g) للتخلص من المواد العالقة وغير الذائبة. وتـم تقـدير كمية البروتين في الراشح استناداً إلى طريقة لاوري المحورة (Schacterle and Pollack, 1973) .

تحضير مستخلص الفلافونويدات:

استخلصت الفلافونويدات من ثمار المردقوش بوضع النبات في جهاز الأستخلاص (Soxhlet) لمـدة (3-4) أيام بأستخدام الأيثانول (95%)، بعد ذلك بخر الأيثانول (95%) باستخدام جهـاز التبخيـر تحـت

الضغط المخلخل، وأضيف بعد ذلك (50) سم^3 من الميثانول المركز الساخن (40-50) °م مع الرج السريع حيث تترسب في اثناء الأضافة مادة صلبة بنية اللون (Harborne , 1973).

تحضير مستخلص القلويدات

استخلصت القلويدات من ثمار المردقوش بالخطوات الآتية:

1- طحن النبات ، ثم أضيف حامض الهيدروكلوريك (5N) مع النقع لمدة (12) ساعة. بعد ذلك يرشح المستخلص الذي سمى بالمستخلص المائي للقلويدات.

2- أضيف إلى المستخلص المائي للقلويدات محلول الأمونيا مع الرج السريع، وفصلت الأخيرة بأضافة الأيثر حيث تذوب فيه القلويدات.

3- فصلت الطبقة العضوية وأضيف اليها حامض HCl المخفف مع الرج السريع ، بعدها أضيف الأيثانول (95%) مع الرج الشديد.

4- سحبت طبقة الكحول المحتوي على القلويدات ، وجففت باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل وباستخدام حمام مائي لا تتجاوز حرارته (40-50)°م للحصول على الراسب المحتوي على القلويدات (نصر، 1986).

تحضير المستخلص البروتيني وغير البروتيني

أضيف الأسيتون البارد إلى المستخلص المائي البارد بنسبة (60:40) حجم / حجم ببطء مع التحريك المستمر(Robyt and White, 1987) عند درجة حرارة 4°م ثم ترك المزيج في الثلاجة لمدة (24) ساعة. فصل البروتين المترسب بجهاز الطرد المركزي المبرد لمدة (20) دقيقة عند (6000 g) ، فالراسب يمثل المستخلص البروتيني والجزء الرائق يمثل المستخلص غير البروتيني بعدها جفف كل منهما باستخدام جهاز التجفيد للحصول على المادة بشكل مسحوق.

فصل وتنقية وتعيين الأوزان الجزيئية للمركبات البروتينية

تم تنقية البروتين الخام المتحصل عليه وتقدير الأوزان الجزيئية للمركبات البروتينية باستخدام عمود ذي ابعاد (2×95) سم والحاوي على مادة السيفادكس (Sephadex G-100) وبمعدل جريان 49.2 سم^3/ساعة.

الحيوانات المستخدمة

استخدمت ذكور الفئران البيض Albino Male Mouse بوصفها حيوانات للدراسة وبعمر ثلاثة أشهر تقريبا وأوزان تراوحت (23-27) غم وضعت في اقفاص معدة ومهيأة لهذا الغرض وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها.

تحديد الجرعة المؤثرة

استخدمت فئران سليمة تراوحت أوزانها من (23-27)غم قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (5) فئران ، وعوملت كالآتي:

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد

1- المجموعة الأولى حقنت في التجويف البروتيني بـ (0.1) سم^3 بالمحلول الملحي الفسلجي (Normal Saline) وعدت مجموعة سيطرة.

2- المجاميع من (2-6) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (500,400,300,200,100) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي بالمستخلص المائي الخام البارد. وبعد ساعتين من الحقن في التجويف البريتوني قدر مستوى الكلوكوز في الدم ، ثم اختيرت الجرعة الأكثر تأثيرا في خفض مستوى كلوكوز الدم.

حقن الحيوانات المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين

قسمت ذكور الفئران البيض عشوائيا بعد وزنها الى (10) مجاميع تضم كل مجموعة (5) فئران وكما يأتي:

1- مجموعة السيطرة، تركت تتناول العلف والماء دون معاملة لمدة (15) يوما.

2- مجموعة عرضت للكرب التأكسدي بأعطائها بيروكسيد الهيدروجين بنسبة (0.5%) مع ماء الشرب فقط ولمدة (15) يوما.

3- مجموعة عرضت للكرب التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين بنسبة (0.5%) لمدة (15) يوما، مع حقنها في اليوم السابع ويوميا ولمدة أسبوع بالأنسولين تحت الجلد بجرعة (10) وحدة/كغم.

4- المجاميع (4-10) عرضت للكرب التأكسدي المستحدث ببيرو كسيد الهيدروجين (0.5%) لمدة (15) يوما مع حقنها في اليوم السابع ويوميا ولمدة أسبوع بالتجويف البريتوني كل من المستخلص المائي الخام وغير البروتيني البارد ومستخلص القلويدات والفلافونويدات والراسب البروتيني البارد والمركبات البروتينية المفصولة منه بتقنية الترشيح الهلامي بجرع مقدارها (2.61,2.58,10.15,0.33,0.51,400,400) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي.

تقدير المتغيرات

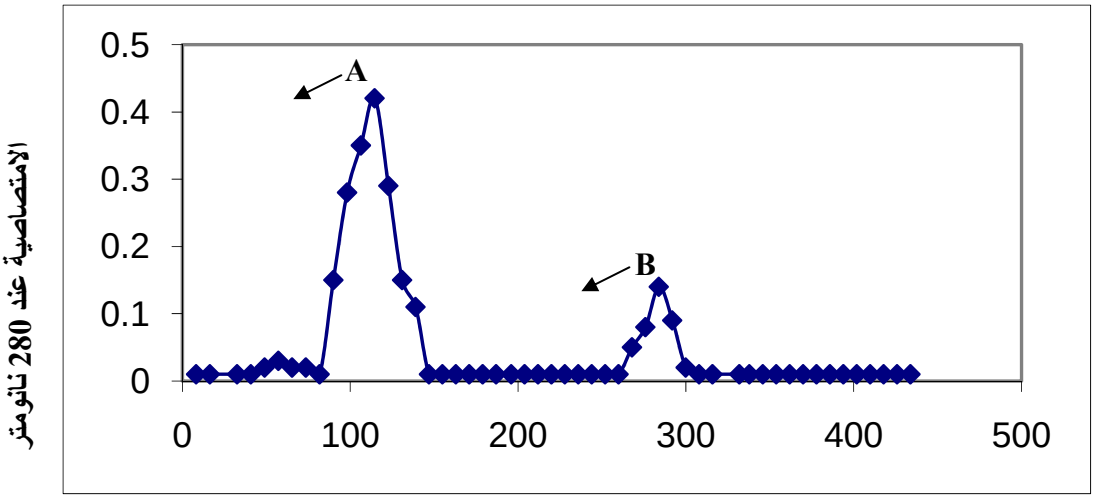
قدر مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي باستخدام عدة التحليل (Standard kits). قدر الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب بطريقة إلمان المحورة (James *et al.* , 1982) في حين قدر المالوندايالديهايد في الأنسجة المدروسة أعتمادا على طريقة الباحثين (Volken *et al.*, 2001).

النتائج والمناقشة

فصل الرواسب البروتينية من المستخلص المائي البارد لثمار المردقوش

فصلت الرواسب البروتينية بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذي الأبعاد (95 × 2) سـم والحاوي على الهلام من نوع Sephadex G – 100 (Plummer, 1978).

يوضح الشكل (1) فصل المحلول المركز للراسب البروتيني المعزول من المستخلص المـائي البـارد لثمار المردقوش، إذ أظهرت نتيجة الفصل وجود قمتين الأولى A وبحجم روغان (114.6) سم^3 والثانيـة B بحجم روغان (284) سم^3.



الشكل 1 : المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد لثمار المردقوش بتقنيـة الترشيح الهلامي بأستخدام عمود الفصل ذو الابعاد (95 × 2) سم والحاوي على الهلام السيفادكس من نوع 100 – Sephadex G الأسهم A ، B تمثل حجم الروغان للقمم الأولى (114.6) سم^3 والثانيـة (284) سـم^3 علـى التوالي للمركبات البروتينية المفصولة ، حجم كل جزء (8.2) سم^3 وبمعدل جريان (49.2 سم^3/ساعة).

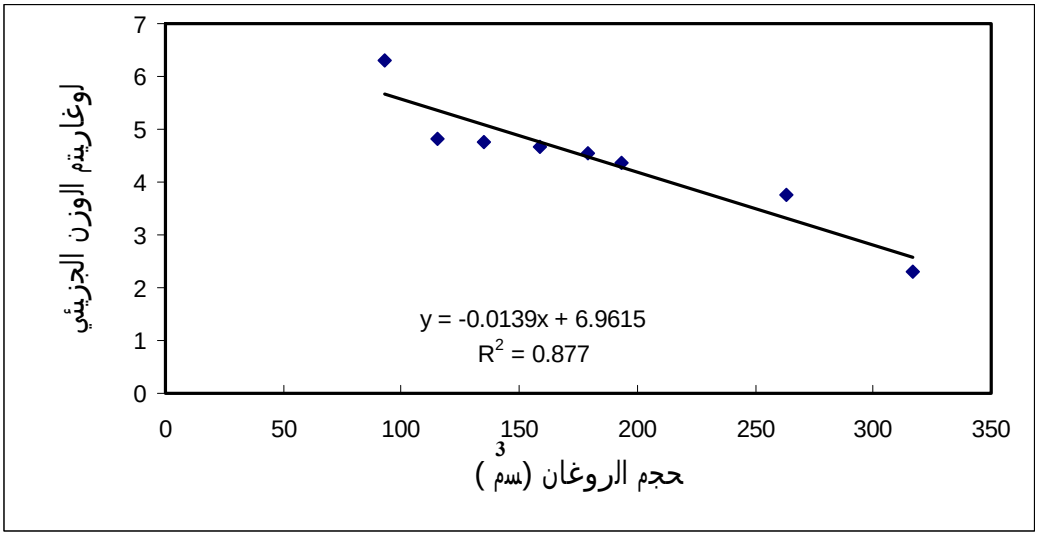
الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة

لغرض تعيين الأوزان الجزيئية التقريبية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي و باستخدام عمود الفـصل ذي الأبعاد (95 × 2) سم، تم إمرار عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي، تراوحت أوزانها الجزيئية بين (204-2000000) دالتون ، بعد ذلك حدد حجم الروغان لهذه المواد كما مبين في الجدول (2).

وعند رسم حجم الروغان لكل مادة مقابل لوغاريتم الوزن الجزيئي تم الحصول على المنحني القياسـي لتقدير الوزن الجزيئي كما موضح في الشكل (2) والذي من خلاله يمكن تحديد الأوزان الجزيئيـة التقريبيـة للمركبات المفصولة.

الجدول 1: حجوم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي والتي مررت على عمـود الفـصل ذي الأبعـاد (95 × 2) سم والحاوي على الهلام Sephadex G – 100.

المادة	الوزن الجزيئي (دالتون)	حجم الروغان ($سم^3$)
الدكستران الأزرق Blue dextran	2000000	93
ألبومين مصل البقر Bovine Serum Albumin(BSA)	67000	115
ألفا – أميليز α - amylase	58000	135
ألبومين البيض Egg Albumin	45000	159
ببسين Pepsin	36000	179
تربسين Trypsin	23000	193
هرمون الأنسولين Insulin Hormone	5750	263
التربتوفان Tryptophan	204	317



الشكل 2 : المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي للبروتينات المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي .

ومن خلال إسقاط حجوم الروغان التي تم الحصول عليها للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي، على المنحني القياسي في الشكل (2) تم أيجاد الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية لثمار المردقوش.

الجدول 2 : الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي.

المادة	حجم الروغان($سم^3$)	الوزن الجزيئي التقريبي (دالتون)
المركب البروتيني A البارد	114.6	233646
المركب البروتيني B البارد	284.0	1032

تحديد الجرعة المؤثرة

يوضح الجدول (3) تحديد الجرعة الأكثر تأثيرا في خفض مستوى الكلوكوز في ذكور الفئران السليمة للمستخلص المائي الخام البارد وقد تبين أن قيمة الجرعة المؤثرة هي (400) ملغم/كغم من وزن الجسم.

الجدول 3: تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد لثمار المردقوش في خفض مستوى الكلوكوز في مصل ذكور الفئران.

	جرعة المستخلص المائي البارد ملغم / كغم وزن الجسم					
تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر	السيطرة	100	200	300	400	500
	0.16± 5.64	0.62 ±4.97	0.21 ±4.52	0.09± 4.39	0.33 ±4.02*	0.39± 4.1

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل ± الانحراف القياسي

* تشير إلى الجرعة المؤثرة

تأثير الأنسولين

أدت المعاملة بالأنسولين بجرعة (10) وحدات دولية/كغم وزن الجسم تحت الجلد في ذكور الفئران السليمة إلى حدوث أنخفاض معنوي($p< 0.05$ج) في مستويات الكلوكوز والكولسترول الكلي مقارنة مع مجموعة الفئران المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط ، كما هو مشار إليه في الجدول (4).

وقد يعزى السبب ألى أن الأنسولين يزيد من معدل دخول الكلوكوز إلى داخل الخلية من خلال زيادة عدد نواقل الكلوكوز (Ashcroft and Ashcroft, 1992)، في حين أن الأنخفاض المعنوي في مستوى الكولسترول الكلي قد يعزى الى تثبيط الأنسولين لأنزيم Intestinal acyl-CoA cholesterol transferase المسؤول عن أمتصاص الكولسترول من الأمعاء (Maechler *et al.*,1993).

تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني البـارد ومـستخلص القلويـدات والفلافونويـدات لثمـار المردقوش

مـن خلال المعاملة بالمستخلصات الـمذكورة أنفا و بجرع (400،400 ،0.51،0.33) ملغم /كغم وزن الجسم على التوالي في التجويف البريتوني تبين أن المستخلص المـائي الخـام وغيـر البروتينـي البـارد ومستخلص القلويدات والفلافونويدات أدت إلى أنخفاض معنوي (p<ج0.05) في مستويات الكلوكوز وغيـر معنوي في مستويات الكولسترول الكلي عدا المستخلص المائي الخام البارد الذي اظهر فرقـا معنويـا عنـد المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط كما موضح في الجدول (4).

أن الانخفاض المعنوي الحاصل في مستوى الكلوكوز عند المعاملة بالمستخلصات المذكورة أعلاه قـد يعود إلى قدرة هذه المستخلصات على زيادة أفراز الأنسولين من خلايا بيتـا (Koukoulitsa *et al.*, 2006) أما الأنخفاض الحاصل في مستوى الكولسترول الكلي قد يعزى الى قدرتها على تثبيط أنزيم بيتا-هيدروكسي مثـيل كلوتاريـل مسـاعـد الأنزيـم A ريدكتيز (HMG-CoA) المسـؤول عن بنـاء الكولستـرول (Koukoulitsa *et al.*, 2006).

الجدول 4: تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني البارد ومستخلص القلويدات والفلافونويدات لثمـار المردقوش في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي في مصل دم ذكور الفئـران المعرضـة للكرب التأكسدي بوساطة بيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول / لتر)	الكولسترول الكلي (ملي مول / لتر)
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	0.44 ± 4.04 (d)	0.1 ± 1.99 (c)
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب فقط	0.48 ± 5.72 (b)	0.14 ± 3.10 (a)
الأنسولين (10 وحدات دولية/كغم)	0.45 ± 2.75 (a)	0.9 ± 2.15 (ab)
المستخلص المائي الخام البارد (400 ملغم/كغم)	0.25 ± 4.93 (bc)	0.12 ± 2.91 (bc)
المستخلص غير البروتيني البارد (400 ملغم/كغم)	0.22 ± 4.32 (bc)	0.31 ± 1.93 (a)
مستخلص القلويدات (0.51 ملغم/كغم)	0.55 ± 5.01 (c)	0.41 ± 2.19 (a)
مـستخلص الفلافونويـدات (0.33 ملغم/كغم)	0.14 ± 2.73 (a)	0.3 ± 1.94 (a)

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية اقل أو يساوي (0.05).

تشير القيم أعلاه إلى المعدل ± الانحراف القياسي .

تأثير الرواسب البروتينية والمركبات البروتينية المفصولة من المستخلص المائي البارد لثمار المردقوش

أدت المعاملة بالراسب البروتيني البارد والمركب البارد A وبجرع (10.15 , 2.61) ملغم / كغم وزن الجسم إلى حدوث أنخفاض معنوي ($p< 0.05$) في مستويات الكلوكوز والكولسترول الكلي ماعدا المركب البروتيني البارد B إذ لم يحدث فرقا معنويا ($p> 0.05$)في مستوى الكولسترول الكلي عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط وبجرعة مقدارها (2.58) ملغم/كغم كما مشار أليه في الجدول(5).

ويمكن أن يعود التأثير المخفض لمستوى الكلوكوز في مصل الدم للفئران المعرضة للكرب التأكسدي الى زيادة تحرير الأنسولين من خلايا بيتا الذي يكون أكثر في بنكرياس الفئران المعرضة للكرب التأكسدي مما هو عليه في بنكرياس الفئران السليمة، أو أن هذه المركبات تمتلك تأثيرا مشابها للأنسولين على الخلايا أو التأثير المحفز المباشر في الانزيمات المشاركة في أيض الكلوكوز(Gupta *et al.* , 2005).

وقد يعزى الانخفاض في مستوى الكولسترول إلى قدرة المركب A على تثبيط الأنزيم المنظم والمسؤول عن بناء الكولسترول بيتا-هيدروكسي-بيتا-مثيل كلوتاريل CoA ردكتيز (Koukoulitsa *et al.*, 2006).

الجدول 5 : تأثير الراسب البروتيني البارد والمركبات البروتينية B & A المفصولة منه لثمار المردقوش في مستويات الكلوكوز والكولسيترول الكلي في مصل دم ذكور الفئران المعرضة للكرب لتأكسدي بوساطة بيروكسيد الهيدروجين.

المعاملات	الكلوكوز(ملي مول/لتر)	الكولسترول الكلي(ملي مول/لتر)
السيطرة (المحلول الملحي الفسلجي)	0.44 ± 4.04 (d)	0.10 ± 1.99 (b)
فئران معاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%)مع ماء الشرب فقط	0.48 ± 5.72 (b)	0.14 ± 3.1 (a)
الأنسولين	0.45 ± 2.75 (a)	0.9 ± 2.15 (ab)
الراسب البروتيني البارد	0.82 ± 5.00 (bcd)	0.42 ± 2.71 (ab)
المركب البروتيني A البارد	0.10 ± 5.22 (c)	0.28 ± 3.04 (b)
المركب البروتيني B البارد	0.36 ± 4.3 (bc)	0.8 ± 1.98 (a)

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية اقل او يساوي (0.05).

تشير القيم أعلاه إلى المعدل ± الانحراف القياسي

تأثير الأنسولين في مستويات الكلوتاثايون والمالونداليالديهايد

أدت المعاملة بالأنسولين وبجرع (10)وحدات دولية/كغم تحت الجلد في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين إلى ارتفاع معنوي ($p< 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب، بينما أنخفض مستوى المالونداليالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب معنويا($p< 0.05$) عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدرجين مع ماء الشرب فقط، وكما مشار أليه في الجدول (6). وهذا يتفق مع نتائج السعدون(2008) ، وقد يعزى السبب إلى أرتفاع مستويات مضادات الأكسدة بعد المعالجة بالأنسولين(Hartnett *et al.*, 2000).

تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني البارد ومستخلص الفلويدات والفلافونويدات لثمار المردقوش في مستويات الكلوتاثايون والمالونداليالديهايد

أدت المعاملة بالمستخلصات المذكورة آنفا و بجرع (400 , 400 , 0.51, 0.33) ملغم/كغم وزن الجسم في ذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين إلى أرتفاع معنوي ($p< 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب، في حين أنخفض معنويا ($p< 0.05$) مستوى المالونداليالديهايد في الأنسجة المدروسة عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط كما مبين في الجدول(6).

إن انخفاض مستويات المالونداليالديهايد قد يعود الى قدرة هذه المستخلصات على أزالة الجذور الحرة، أو تمتلك آلية مضادة للأكسدة أو أنها تعمل على تنشيط مضادات الأكسدة الإنزيمية الكاسحة للجذور الحرة (Nurmi *et al.*, 2006).

أما ارتفاع مستوى الكلوتاثايون في الأنسجة المدروسة قد يعزى الى قدرة هذه المستخلصات على تنشيط فعالية انزيم كلوتاثايون سينثيتيز GSH synthetase (Lomaestro and Malone, 1995).

الجدول 6 : تأثير المستخلص المائي الخام وغير البروتيني البارد ومستخلص القلويـدات والفلافونويـدات لثمار المردقوش في مستويات الكلوتاثايون والمالونداليالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلـب في ذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي بواساطة بيروكسيد الهيدروجين

ت	الكلوتاثايون (نانومول/ غم)			المالونداليالديهايد (نانومول/ غم)		
	الكبد	الكلية	القلب	الكبد	الكلية	القلب
ول الملحـي	27.27±7571.99 (f)	52.94±2598.84 (c)	63.04±2059.01 (b)	3.27±204.98 (a)	24.7±402.07 (b)	**22.72±323.71 (b)**
بيروكـسيد %)مـع مـاء	36.98±5222.78 (a)	45.34±2180 (b)	24.91±2049.72 (a)	12.41±454.12 (d)	10.22±595.3 (c)	**18.15±501.86 (c)**
	24.22±7709.91 **(g)**	51.96 ±2266.71 **(a)**	24.78±3834.71 **(f)**	4.13±224.76 **(ab)**	15.01±315.66 **(a)**	**22.64±291.2 (b)**
خام البارد	28.74±5605.12 (c)	54.43±2999.25 (e)	39.99±3705.2 (e)	19.51±285.25 (c)	23.05±275.73 (a)	**30.67±287.61 (b)**
روتيني البارد	31.41±5451.55 (b)	63.98±2816.06 (d)	37.19±2914.7 (c)	5.9±243.26 (b)	10.25±266.16 (a)	**11.65±232.4 (a)**
	51.4±6282.15 (d)	61.04±3017.7 (e)	52.35±3549.7 (d)	6.2±237.18 (b)	15.8±298.72 (ab)	**25.04±291.9 (b)**
دات	43.3±6811.13 (e)	62.66±2264.16 (b)	62.41±2874.4 (c)	22.31±276.03 (c)	18.88±304.17 (ab)	**31.41±292.2 (b)**

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى (0.05).

تشير القيم أعلاه إلى المعدل ± الانحراف القياسي.

تأثير الراسب البروتيني البارد والمركبات البروتينية A و B المفصولة من ثمار المردقوش في مـستويات الكلوتاثايون والمالوندايالديهايد

أدى حقن الراسب البروتيني البارد والمركب B البارد في التجويف البريتوني لذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين إلى ارتفاع معنوي ($p< 0.05$) في مستوى الكلوتاثـايون في أنسجة الكبد والكلية والقلب ، في حين أنخفض مستوى المالوندايالديهايد معنويا ($p< 0.05$) فـي أنـسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب فقط ، ولم تـؤد المعاملة بالمركب البروتيني A البارد إلى انخفاض معنوي ($p> 0.05$) في مستوى الكلوتاثايون في أنـسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنة مع الفئران المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين مع ماء الشرب، كما موضح في الجدول (7).

وقد يعزى سبب ارتفاع مستوى الكلوتاثايون إلى قدرة هذه الرواسب والمركبات البروتينية على تنـشيط آلية بناء الكلوتاثايون من خلال زيادة فعالية أنزيم كاما-كلوتاميـل سـستين سـنثتيز Glutamyl- Cysteine Synthetase - γ (γ -GCS) (Lands *et al.* ,1999) أو أن هذه الرواسب والمركبات البروتينية المفـصولة منها تعمل على تثبيط فعالية أنزيم كاما-كلوتاميل ترانس ببتايديز (Lomaestro and Malone, 1995). أمـا الأنخفاض الحاصل في مستوى المالوندايالديهايد قد يعزى الى ان هذه الرواسب لهـا آليـة مـضادة لعمليـة بيروكسدة الدهون، أو تعمل على تنشيط مضادات الأكسدة الإنزيمية مثل أنزيم سوبر أوكـسايد ديـسميوتيز Superoxide Dismutase (SOD) ، أو أنزيم الكاتاليز Catalase (CAT) التي تسهم في إزالة الأصـناف الفعالة للأوكـسجين ممـا يـؤدي الـى خفـض عمليـة بيروكـسدة الـدهن المتمثلـة بالمالوندايالديهايـد (Mcanuff *et al.*, 2003).

الجدول 7: تأثير الراسب البروتيني البارد والمركبات A و B المفصولة من ثمار المردقوش في مستويات الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد في أنسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الفئران المعرضة للكرب التأكسدي بوساطة بيروكسيد الهيدروجين

	الكلوتاثايون (نانومول/ غم)			المالونداياالديهايد (نانومول/ غم)		
	الكبد	الكلية	القلب	الكبد	الكلية	القلب
ول	27.27±7571.99 (b)	52.94±2598.84 (d)	63.04±2059.01 (b)	3.27±204.98 (a)	24.7±402.07 (c)	**22.72±323.71 (a)**
ة يد ين اء	36.98±5222.78 (a)	45.34±2180 (a)	24.91±2049.72 (a)	12.41±454.12 (c)	10.22±595.3 (d)	**18.15±501.86 (b)**
	±77709.91 24.22 (c)	51.96 ±2266.71 (b)	24.78±3834.71 (d)	4.13±224.76 (a)	±315.66 15.01 (b)	**22.64±291.2 (a)**
ي	31.52±5296.44 (ab)	49.3±2197.61 (bc)	41.98±2552.59 (c)	20.21±258.21 (b)	±304.14 23.22 (b)	**31.04±298.91 (a)**
ي	32.44±5261.27 (a)	54.03±2087.7 (a)	38.37±2421.91 (b)	14.14±225.51 (a)	25.39±259.4 (a)	**51.97±341.07 (a)**
ي	63.41±5331.41 (bc)	59.9±2615.88 (d)	55.43±2610.43 (cd)	7.21±215.4 (a)	27.7±417.95 (c)	**29.4±337.12 (a)**

الأحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى (0.05).

تشير القيم أعلاه إلى المعدل ± الانحراف القياسي.

المصادر العربية

السعدون، محمد بحري، (2008). دراسة عدد من المستخلصات والمركبات البروتينية المفصولة من ثمار التفاح في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي ، *مجلة علوم الرافدين* ، المجلد19 ، العدد 1، 116-133 .

نصر ، شحات (1986). "النباتات والأعشاب الطبية" ، منشاة المعارف، القاهرة، مصر ، 130 .

المصادر الأجنبية

Ashcroft, F. M. ; Ashcroft, S. J. H., (1992). "Insulin Molecular Biology to Pathology", IRI Press, pp.155-174 .

Bozin, B.; Mimica-Dukic, N.; Simin, N. ; Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils, *J. Agric. Food Chem*., **54**: 1822-1828.

Chami, F.; Chami, N. ; Bennis, S., (2005). "Oregano and clove essential oils induce surface alteration of saccharomyces cerevisiae", *Phyto. Ther. Res.,* **19** (5) , 405-408 .

Chorianopoulos, N.; Kalpoutzakis, E. ; Aligiannis, N. (2004). Essential oils of satureja, origanum and thymus species : chemical composition and antibacterial activities against food borne, pathogens. *J. Agric. Food Chem.,* **52**(26), 8261-8267 .

Dadalioglu, I. ; Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*origanum minutilorum*), baylaurel (*Laurus nobilis*) Spanish Lavender (*Lavandula stoechas L*.) and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common food borne Pathogens, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 8255-8260 .

Dorman, H. J. ; Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils, *J. Appl. Microbiol*., **88**, 308-316 .

Exarchou, V., Nenadis, N. ; Tsimidon, M., (2002). Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greekoregan, Greeksage, and Summer Savory. *J. Agric Food Chem*., **50**(19), 5294-5299 .

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

Harbone, J. B., (1973) . "Phytochemical Methods", 1st edn., COX and Wayman LTD., London, pp. 192- 519 .

Hartnett, E. M.; Stratton, B. R. ; Armstrong, R. D. (2000). Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy, *Diabet. Care*, **23**, 234-240 .

Ivanova, D.; Gerova, D.; Chervenkov, T. ; Yankova, T.(2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medical plants, *J. Ethnopharmacol*, **96** , 145-150 .

James, R. C.; Goodman, D. R. ; Harbison, R. D. (1982). Hepatic glutathione and hepatotoxicity, changes induced by selected marcortics, *J. Pharmaco. Therap*, **221,** 708-714 .

Koukoulitsa, C.; Zika, C.; Hadjipavolou, D.; Demopoulos, V. J. ; Skaltsa, H. (2006). Inhibitory effect of polar Oregano extracts on aldose reductase and soybean lipoxygenase *in vitro*. *Phyto. Ther. Res.,* **20**, 605-606 .

Lagouri, V. ; Boskou, D. (1996). Nutrient antioxidant in Oregano, *In. J. Food Sci. Nutr.,* **47,** 493-497.

Lands, L. C.; Gery, V. L. ; Smountas, A. A. (1999). Effect of supplementation with a cysteine donar on muscular performance. *J. Appl. Physiol.,* **87**, 1381-1385 .

Lomaestro, B. M. ; Malone, M. (1995). Glutathione and glutathione delivery compounds, *Adv. Pharmacol*., **38**, 65-78 .

Lozano, C. C.; Pina, G.L.; Uribe, S. L. ; Mejia, E. G. (2004). Oregano: properties, composition and biological activities of it's components, *ALAN,* **54**(1), 712-722 .

Mcanuff , M. A.; Omorny, F. O.; Morrison, E. Y. ; Asemota, H. N. (2003) . Hepatic function enzymes and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats fed bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) steroidal sapogenin extract. *Diabetologia croatica*., **32**(1), 17-23 .

Maechler, P.; Wollheim, C. B.; Bentzen, C. I; Niesor, E. (1993). Importance of exogenous cholesterol in diabetic rats: Effect of treatment with insulin or with an acyl CoA: cholesterol acyl transferase inhibitor. *Ann. Nutr. Metab.,* **37**, 199-209 .

Nurmi, A.; Mursu, J.; Nurmi, T. ; Nyssonen, K. (2006). Consumption of juice fortified with oregano extract markedly increases excretion of phenolic acids but lacks short- and long-term effects on lipid peroxidation in healthy nonsmoking men. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 5790-5796 .

Plummer, D.T., (1978). "An Introduction of Practical Biochemistry", 2nd edn., McGraw-Hill Book company, UK, 61 p.

Robyt, F. J. ; White, J. B. (1987). "Biochemical Techniques, Theory and Practice Brookes". Cloe Publishing company, Monterey, California. pp.115-118.

Schacterle, G. R. ; Pollack, R.L. (1973) . A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biological materials. *Anal. Biochem*., **51**, 654-655 .

Talpur, N.; Echard, B. ; Ingram, C. (2005). Effect of a novel formulation of essential oils on glucose-insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats:a pilot study, *Dia. Obes. Metab*., **7**(2), 193-199 .

Vanden , C.O.; Lemli, J. A. (1982). Antispasmodic activity of *origanum compactum*. Part 2: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. *Planta Med.,* **45**, 180-190 .

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