Study of the immune impact of the cold aqueous extract of Carthamus tinctorius L. plant flowers at Albino rat females Rattus rattus.

دراسة التأثير المناعي للمستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب *Carthamus tinctorius L* . لدى اناث الجرذان البيض *Rattus rattus*.

م.وجدان كمال نور
جامعة الكوفة/ كلية التربية للبنات/ قسم علوم الحياة

الخلاصة

نظرا للأهمية الطبية لنبات الكسوب واستعماله على نطاق واسع في علاج الحالات المرضية المختلفة , لذا صممت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب *Carthamus tinctorius L.* على وزن الجسم ووزن الكبد والجهاز المناعي لدى اناث الجرذان البيض *Rattus rattus*. اجريت هذه الدراسة في البيت الحيواني العائد لقسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات، وتضمنت متابعة (60) من اناث الجرذان البيض بعمر (12) أسبوع تعود لسلالة Sprague-Dawley، قسمت الحيوانات الى اربع مجاميع متساوية، حقنت المجموعة الاولى بالمحلول الفسلجي Normal saline (0.9% Nacl) كمجموعة سيطرة بينما حقنت المجاميع الثلاثة الاخرى بتراكيز المستخلص النباتي (45 و 90 و 130) ملغم /كغم على التتالي.

اظهرت النتائج انخفاضا معنويا($p<0.05$) في وزن الجسم و الكبد والنسبة المئوية للخلايا العدلة لدى اناث الجرذان المعاملة بالتركيز 130ملغم/ كغم من المستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع التركيزين (45 و 90)ملغم/ كغم التي لم تلاحظ بينهما اي فروقا معنوية,في حين بينت الحسابات وجود ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض لمجاميع الجرذان المجرعة بالتركيزين(90 و 130) ملغم/ كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة كما وجدت فروقا معنوية بين المجاميع الثلاث للمستخلص النباتي عند المقارنة بينها,كما اشارت النتائج الى حدوث ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في تركيز البروتين الكلي والكلوبيولين في المصل والنسبة المئوية للخلايا اللمفية في الدم عند الحقن بالتركيز 130 ملغم/ كغم من المستخلص مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع التركيزين الاخرين التي وجدت فروقا معنوية بينهما, وفيما يتعلق بتركيز الالبومين في المصل، فانه لم يبين فرقا معنويا ($p>0.05$) عند مقارنة التراكيز الثلاث للمستخلص مع مجموعة السيطرة وكذلك عند مقارنتها مع بعضهما البعض .

الكلمات المفتاحية: الالبومين,البروتين الكلي ,الكلوبيولين, الخلايا اللمفية,الخلايا العدلة ,اناث الجرذان البيض ،نبات الكسوب .

Abstract

For the medical importance of the *Carthamus tinctorius L*. plant and usage it in wide range to treat different pathological states, so the present study was designed to know the effect of the cold aqueous extract of *Carthamus tinctorius L.* plant flowers on the body , liver weights and the immune system. The study had been carried out in the animal house of the biology department / Faculty of Education for girls, and was included the follow up (60) Abino rat famales at (12) weeks age of Sprage -Dawley breed, were divided into four equal groups, the first was a control group injected with the physiological normal saline (0.9 %) , while the other three groups were injected with 45, 90 and 130 mg / kg concentrations of cold aqueous extract of the plant flowers.The following findings were obtained: a significant decrease ($p<0.05$) in the body , liver weights and the percentage of neutrophils of treated rats femals with the concentration of 130 mg / kg of cold aqueous extract of the *Carthamus tinctorius L.* plant flowers when compared with the control group and with two concentrations(45, 90 mg / kg) which did not any notice significant differences between them ,in upon the results were revealed a significant increase ($p<0.05$)in the the total count of white blood cells at the rat groups which treated with the concentrations(90,130) mg / kg when compared with the control group,so there signifticant differences were showed between the three groups that treated with the plant extract.Also the results pointed to a significant increment ($p<0.05$) in the total protein and globulin concentrations in the serum and the percentage of lymphocytes in the blood when injection with

the concentration(130 mg /kg) of the extract as compared with the control group as while as with the other concentrations(45, 90 mg /kg) which had not showed any signifticant differences.In related with the albumin concentraction in the serum,it had not revealed a significant difference ($p > 0.05$) when compared the three concentrtions of extract with the control group and with each other.

المقدمة

الكسوب نبات عشبي شوكي حولي (1و2). يعود الى الجنس Carthamus والى النوع tinctoria , ينتمي الى العائلة المركبة Compositaceae او (Asteraceae)(3و4), الاسم الشائع له هو كسوب، عصفر، قرطم اضافة الى مريق , ويكون لون النبات اصفر او احمر حسب لون الزهرة (5). ويعرف الكسوب بـ Safflower أو الزعفران الكاذب False saffron (6)، ويتميز النبات بعطر ضعيف وطعم مر (7) والكسوب نبات متفرع مدغل Bushy ويحتوي على اشواك عديدة على الاوراق والقنابات (8و9). عرف نبات الكسوب منذ وقت مبكر وبعيد (4500 قبل الميلاد) (10). كما وجدت بذوره واطواق ازهاره في الاهرام بمصر منذ (4000 سنة)، اذ أستعمل في تحنيط المومياء واستعملت صبغاته ايضا في شعائر الحج الدينية عند المسلمين (11). يزرع الكسوب بصورة رئيسة للاستفادة من بذوره الزيتية لصنع الزيت الصالح للاكل (12) اذ يصل محتوى الزيت في البذرة الواحدة ما بين (20 -45%) او اكثر (1) ولزيت الكسوب قيمة غذائية عالية مماثلة لزيت الزيتون و دوار الشمس وزيت الفستق (13). وتحوي بذور الكسوب على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة الاحادية مثل Oleic acid (10%)والمتعددة مثل Linoleic acid (70%) مع كميات قليلة من حامض الستريك (14و15) كما تحتوي البذور على فينولات متعددة Polyphenols مختلفة اهمها Glucosides وLignaus (16) وفلافونيداتFlavonides وسيروتينات مضادة للأكسدة (17). وتعرف هذه المركبات بالاستروجينات النباتية Phytoestrogens (18). وتحوي البذور ايضا على العديد من العناصر المعدنية من اهمها الكالسيوم (Ca) والبوتاسيوم (K) والفسفور (P) (19) وصبغة Carthamin الحمراء (20) ,فضلا عما تقدم تحتوي بذور الكسوب ايضا على بروتين خام (14.9 -17%) ولبيدات (25 - 40 %) وسكر كلي (9.20 –3.2 %) (21). لزيت بذور الكسوب استعمالات عديدة في العلاجات الشعبية فهو يستعمل كمسهل ومسكنا للالم ويزيل الحمى وترياق ضد التسمم (22) ويعالج اضطرابات الدورة الشهرية والنزف بعد الولادة (9و23) والتضخم المصحوب بصدمة او رض (24) والتهابات المعدة المزمنة (25) والنفرونات الكلوية (26) وفي علاج امراض القلب الوعائية (27). ومفيدا لعلاج الروماتيزم وعرق النسا (28) . قد بينت الدراسات ان زيت الكسوب مفيدا في علاج سرطان الثدي (29). كما انه يحتوي على مادة Alkane-6-8 diols التي تظهر فعالية تثبيطية ضد المادةacetate -3- O teradecanoylphorbol -12 التي تحفز تطور الورم في مرحلتين من مراحل التسرطن في جلد الفئران (30) ,اضافة الى ان وجود المواد N- feruloyl serotonin وN-(p- coumaroyl) serotonin في زيت بذور الكسوب، والتي تملك تأثيرات مضادة للورم عن طريق تثبيطها وبقوة انتاج الميلانين في بكتريا *Streptomy cesbikiniens* و خلايا B16 Milanoma (31). ولزيت الكسوب تأثير واقي ضد هشاشة العظام Osteoporasis(19).ويساعد في علاجه اما عن طريق تثبيطه للانتاج المرتفع لمادة interleukin-1- mediated bone (IL -1B) والتي لها دور في حدوث لين العظام (32) ،او عن طريق تحفيزه لتكاثر خلايا Mc3 T3-E1 البانية للعظم وتمايزها وتجمع العناصر المعدنية فيها ,مما يؤدي الى تجديد العظم(33و34). كما يعد واقيا لفقدان العظم المتسبب عن نقص الاستروجين بدون تأثير فسلجي يذكر على انسجة الرحم (21). ووجد ايضا ان لزيت الكسوب دورا في علاج العيب أوالخلل المحيط بالسن (35). وتعد اوراق نبات الكسوب ذات اهمية كبيرة ايضا,أذ انها تحتوي على فلافونيدات عديدة اغلبها ذات فعاليات مضادة للاكسدة (36)، اضافة الى مواد عديدة اخرى(37). وقد بينت الدراسات ان مستخلص اوراق الكسوب قلل معنويا التاثير السام لرباعي كلوريد الكاربون CCl4 على وظائف أكباد الفئران المعاملة به من خلال المحافظة على تراكيز انزيمات الكبد Aspartate (AST) aminotransferaseو Alanine aminotransferase (ALT) وAlkaline phosphatase (ALP) وتركيز البيلروبين الكلي ضمن حدودها الطبيعية مع زيادة في تخليق البروتينات (38)، كما تستعمل اوراق الكسوب وسيقانه كعلف للحيوانات والدواجن (39و40). ولأزهار الكسوب دورا مهما وحيويا في الادوية الشائعة في المجالين الشعبي والطبي (41). ويعد شاي الكسوب المصنوع من زهيراته والذي يتميز بطعم لطيف ولون جميل غني بالمغذيات ومفيدا للصحة العامة وهو ينتشر في كثير من بلدان العالم (42)، اذ انه يستعمل في علاج العديد من الامراض كارتفاع ضغط الدم والخناق والامساك (17),و مضاد للسكري(43) وامرض الكبت المناعي (44). كما يعمل مهدئا وملينا (45). ومنظما للخصوبة (46) ويحفز الاجهاض (15) ، اما دراسة (47) فقد بينت قدرة مستخلصات ازهار هذا النبات على تعزيز الاداء المضاد للتعب والاعياء والاجهاد العصبي في الفئران. وتحوي ازهار الكسوب على نوعين من الصبغات هما الصبغة الحمراء Carthamin (41). والصبغة الصفراء Carthamidin (48)، وقد انتشر استعمال صبغات الكسوب لرخصها وتوفرها بدلا من الزعفران (49) بسبب خصائصها الامنة، اذ انها لا تسبب الحساسية وغير مسرطنة (50). وعلى الرغم من الفوائد الجمة لنبات الكسوب، الا ان الكثير من الدراسات الحديثة بينت بعض التأثيرات الجانبية له. فقد اشارت دراسة (51) الى ان معاملة الفئران بمستخلص الازهار ادى الى حدوث العديد من التغيرات الشكلية والنسجية في المبايض وفي تراكيز الهرمونات الانثوية لديها ، كما ادت المعاملة بالنبات الى حدوث تأثيرات سامة على

عملية تكوين النطف وانسجة الخصية في ذكور الفئران (52) .واشارت دراسة (53)الى حدوث انحرافات كروموسومية Chromosomal aberrations في خلايا نخاع عظم الفئران المعاملة بمستخلص نبات الكسوب.

ونتيجة للاستعمالات الطبية الكثيرة والمتعددة لنبات الكسوب وخاصة ازهاره في علاج مختلف الحالات المرضية ولعدم وجود ادبيات عراقية متوفرة عن تأثير المستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب على وزن الكبد والجسم وعلى الجهاز المناعي لدى الجرذان لذا صممت هذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

اولا:- تهيئة الحيوانات

استعمل في الدراسة الحالية 60 انثى من الجرذان البيض *Rattus rattus* عائدة لسلالة Sprague Dawley ,خالية من الامراض تم جلبها من المعهد الفني/ الكوفة بعمر ثلاثة اسابيع. ادخلت الى البيت الحيواني العائد لقسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات لاجل العناية بها، اذ وضعت في اقفاص بلاستيكية مغطاة باغطية معدنية مشبكة ومحكمة فرشت بنشارة الخشب وتمت عملية غسل الاقفاص وتعقيمها بالمطهرات بواقع ثلاث مرات اسبوعيا. كما تم تهيئة كافة الظروف الملائمة من عليقة وماء ودرجة حرارة (23-28°م) واضاءة (13 ساعة ضوء و 11 ساعة ظلام).

ثانيا:- تحضير المستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب

تمت عملية طحن ازهار النبات باستعمال الخلاط الكهربائي، بعد ذلك تم مجانسة المسحوق الناتج مع الماء المقطر بنسبة 1غم:5 مل (اوراق – ماء مقطر) وذلك باستخدام جهاز الهزاز الكهربائي ولمدة 15 دقيقة، بعدها ترك الخليط مدة 24 ساعة كاملة ثم رشح باستعمال شاش طبي معقم، بعدها تمت عملية طرد الراشح مركزيا بسرعة 3000 دورة في الدقيقة ولمدة 15 دقيقة كاملة. اخذ الراشح بعد عملية الطرد المركزي ووزع في قناني زجاجية معقمة و وضعت في الفرن الكهربائي تحت درجة حرارة (40°م) لاجل تجفيف المستخلص، ثم وزنت المادة الصلبة الناتجة من عملية التجفيف (54) لاجل تحضير التراكيز المعتمدة في هذه الدراسة وكانت:130,90,45 ملغم /كغم.

ثالثا:- حقن الحيوانات

حقنت الحيوانات بعد ان اصبحت بالغة جنسيا بعمر (12) اسبوع، وقسمت الى اربع مجاميع متساوية وبواقع 15 انثى لكل مجموعة ,منها ثلاثة مجاميع معاملة والمجموعة المتبقية فقد كانت مجموعة سيطرة .حقنت مجموعة السيطرة بمحلول الملح الفسلجي (0.9%). اما مجاميع المعاملة فحقنت بالتراكيز 45 و 90 و130 ملغم/ كغم من المستخلص المائي البارد لأزهار نبات الكسوب تحت الجلد مباشرة (Subcutaneous) وبواقع ثلاث مرات اسبوعيا ولمدة (40) يوما.

رابعا:- التضحية بالحيوانات وجمع عينات الدم

سجلت اوزان الحيوانات المعتمدة في التجربة قبل بالبدء بالمعاملة وبعد الانتهاء منها باستعمال ميزان طبي خاص لقياس الوزن. خدرت الحيوانات بعد انقضاء مدة (40 يوم) باستعمال مادة ثنائي اثيل ايثر (Diethyl ether). بعد ذلك فتح التجويف البطني لكل حيوان، سحب الدم من القلب مباشرة اعتمادا على طعنة القلب (Heart puncture) للحصول على (4 مل) من الدم، ووضع ما مقداره (2 مل) من العينة المسحوبة في انبوبة حاوية على مادة Ethylene diamine tetracetic acid المانعة للتخثر لدراسة الصفات الفسلجية للدم. ونقل المتبقي من العينة (2 مل) الى انبوبة مصل غير حاوية على مادة مانعة للتخثر لاجل طردها مركزيا وفصل مصل الدم، الذي حفظ بدرجة حرارة (-20 م°) لدراسة المعايير الكيميوحيوية التي شملت بالدراسة الحالية.

خامسا :- دراسة المعايير الفسلجية للدم

1-العدد الكلي للخلايا البيض

عدت خلايا الدم البيض باستعمال جهاز عدد الخلايا الدموية وسائل التخفيف (Thoma's fluid) واستخرجت اعداد الخلايا بحسب المعادلة :-

مجموع الخلايا البيض في ملم^3 = عدد الخلايا × 50

(55).

2-العد التفريقي لخلايا الدم البيض

تمت عملية العد التفريقي لخلايا الدم البيض باستعمال صبغة لشمان (Leishman's stain) وحساب 200 خلية دموية بيضاء على اختلاف انواعها، و استخرجت النسبة المئوية لكل نوع منها بحسب (55).

سادسا:- دراسة المعايير الكيميوحيوية للدم

1-تقدير تركيز البروتين الكلي في المصل

اتبعت طريقة البايوريت (56) لاجل تقدير تركيز البروتين الكلي في المصل وذلك باستعمال كاشف البابوريت المصنع من شركة Randox Laboratories- France وذلك وفقا للمعادلة الاتية :-

$$\text{تركيز البروتين الكلي غم / ديسلتر} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

علما ان تركيز البروتين القياسي يساوي (6.5 g/dl).

2-تقدير تركيزي الالبومين والكلوبيولين في المصل

لاجل تقدير تركيز الالبومين في المصل استعمل كاشف بروموكريسول الاخضر اللون (Bromocresol green reagent) ، المنتج من شركة Randox Laboratories – France (57) حسب المعادلة الاتية:-

$$\text{تركيز الالبومين غم / ديسلتر} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

علما ان تركيز الالبومين القياسي يساوي (4.5 g/dl) اما تركيز الكلوبيولين في المصل، فقد استخرج طبقا للمعادلة: -

تركيز الكلوبيولين غم / ديسلتر = تركيز البروتين الكلي - تركيز الالبومين

(58).

سابعا:- التحليل الاحصائي

استعمل البرنامج الاحصائي Statistical package social sciences (SPSS) الاصدار 20 وذلك لاجل تحليل البيانات الاولية لنتائج الدراسة الحالية، اذ تم استعمال اختبار تحليل التباين Analysis of variance (ANOVA), واستخرجت معنوية الفروق بين معدلات المعايير المشمولة بالدراسة الحالية باستعمال اقل فرق معنوي Least significant difference (L.S.D) عند المستوى الاحصائي ($P<0.05$).

النتائج Results

أولا:- تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على اوزان اجسام وأكباد الحيوانات المعاملة.

لم تظهر اوزان اجسام الجرذان المجرعة بالجرعتين 45 و 90 ملغم/كغم وكذلك اوزان اكبادها تغيرا معنويا يذكر مقارنة مع مجموعة السيطرة، الا ان التركيز 130 ملغم/كغم من المستخلص المائي البارد لأزهار الكسوب قد سبب انخفاضا معنويا ($p<0.05$) في وزن الجسم وكذلك وزن الكبد عند مقارنته مع مجموعة السيطرة .كما احدث التركيز 130 ملغم/ كغم من المستخلص انخفاضا معنويا في كلا الوزنين مقارنة مع التركيزين 45 و 90 ملغم/كغم، ولم تلاحظ اي فروق معنوية في هذين المعيارين عند مقارنة التركيزين الاخيرين مع بعضهما البعض وكما مبين في الجدول (1).

جدول (1): تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على اوزان اجسام وأكباد الحيوانات المعاملة.

المعاملات	اعداد العينات	وزن الجسم /غرام	وزن الكبد / غرام
السيطرة	15	2.34 ± 242.13	0.19 ± 14.76
التركيز 45 ملغم/كغم	15	3.55 ± 244.53	0.20 ± 14.5
التركيز 90 ملغم / كغم	15	2.70 ± 237.86	0.32 ± 14.48
التركيز 130 ملغم/كغم	15	2.90 ± 229.8*	0.34 ± 11.6*

*: فرق معنوي بمستوى ($p<0.05$). القيم تمثل :- المعدل ±الخطا القياسي .

ثانيا:- تاثير المستخلص المائي لازهار نبات الكسوب على العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض.

لقد احدثت الجرعتين 130 و90 ملغم/ كغم من المستخلص ارتفاعا معنويا (P< 0.05) في العدد الكلي للخلايا البيض مقارنة مع مجموعة السيطرة، الا ان التركيز 45 ملغم / كغم لم يظهر تغيرا معنويا في اعداد هذه الخلايا ,بينما ظهرت فروق معنوية (P< 0.05) عند مقارنة التراكيز الثلاثة للمستخلص مع بعضها البعض وكما مبين في الجدول (2). وفيما يتعلق بالعدد التفريقي لخلايا الدم البيض فقد اظهر التركيز 130 ملغم/ كغم انخفاضا معنويا (P<0.05) في النسبة المئوية للخلايا العدلة مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع التركيزين 45 و 90 ملغم / كغم، الا انه لم تسجل اي فروق معنوية في النسبة المئوية لهذا النوع من الخلايا البيض عند مقارنة التركيزين 45 و90 ملغم/ كغم مع بعضهما البعض الجدول (2). اما النسبة المئوية للخلايا اللمفية فقد كانت على النقيض من ذلك، اذ سببت الجرعة 130 ملغم/ كغم ارتفاعا معنويا (p<0.05) فيها مقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك التركيزين 45 و 90 ملغم/كغم. في حين لم تظهر فروق معنوية في هذه النسبة عند مقارنة التركيزين الانفين مع بعضهما البعض وكما مبين في الجدول (2).

جدول (2) : تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض.

المعاملات	العدد الكلي لخلايا الدم البيض / مليمتر مكعب	النسبة المئوية للخلايا العدلة %	النسبة المئوية للخلايا اللمفية %
السيطرة	135.32 ± 6322.2	0.24 ± 13.93	1.42 ± 81.13
التركيز 45 ملغم / كغم	173.76 ± 672.46	o.25 ± 14	1.24 ± 80.73
التركيز 90 ملغم / كغم	195.33 ±7272.73	0.31 ± 13.13	1.31 ± 83.33
التركيز 130 ملغم / كغم	*284.75 ±7953.26	o.44 ± 9.2*	1.48 ± 88.2*

*: فرق معنوي بمستوى (p<0.05). القيم تمثل :- المعدل ±الخطا القياسي.

ثالثا:- تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على تراكيز البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في المصل.

لقد اظهرت تراكيز البروتين الكلي والكلوبيولين ارتفاعا معنويا (P<0.05) في المصل بتاثير الحقن بالتركيز 130 ملغم / كغم من المستخلص المائي البارد لازهار الكسوب مقارنة مع مجموعة السيطرة ومع التركيزين 45 و90 ملغم / كغم ولم تلاحظ اي فروق معنوية عند مقارنة التركيزين الاخيرين (45 و 90 ملغم / كغم) مع بعضهما البعض، الجدول (3). وفيما يتعلق بتركيز الالبومين في المصل، فانه لم يبين فرقا معنويا عند مقارنة الجرع الثلاث للمستخلص مع مجموعة السيطرة وكذلك عند مقارنتها مع بعضهما البعض وكما مبين في الجدول (3).

جدول(3): تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على تراكيز البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في المصل.

المعاملات	تركيز البروتين الكلي غرام / ديسلتر	تركيز الالبومين غرام / ديسلتر	تركيز الكلوبيولين غرام / ديسلتر
السيطرة	0.121 ± 7.06	0.09 ± 4.03	0.073 ± 3.03
التركيز 45 ملغم / كغم	0.118 ± 7.3	0.114 ± 4.08	0.077 ± 3.22
التركيز 90 ملغم / كغم	0.125 ±7.43	0.120 ± 3.98	0.08 ± 3.4
التركيز 130 ملغم / كغم	*0.10 ± 8.32	0.116 ±4.03	*0.078 ± 4.29

*: فرق معنوي بمستوى (p<0.05). القيم تمثل:- المعدل ±الخطا القياسي.

المناقشة

اولا:- تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب.*Carthamus tinctorius L* على اوزان اجسام وأكباد الحيوانات المعاملة.

لقد اتفق الانخفاض المعنوي الملاحظ في اوزان اجسام الجرذان المعاملة بمستخلص ازهار الكسوب مع العديد من الدراسات (59و60و61) وقد يعلل هذا الانخفاض الى الانخفاض المعنوي الحاصل في اوزان اكباد الجرذان المعاملة والذي تم توثيقه في الدراسة الحالية وبما ان وزن هذا العضو يشكل جزءا لا يتجزا من وزن الجسم العام لذا فان انخفاض وزنه معنويا ينعكس سلبا على الوزن الكلي للجسم.وربما يرجا الانخفاض في وزن الجسم الى أحتمال انخفاض تركيز الكولستيرول الكلي في المصل والذي ربما نتج عن ارتفاع معدل اكسدة الحوامض الدهنية في الخلايا وبالتالي انخفاض خزين الانسجة منالدهون الثلاثية وكذلك الكولستيرول الكلي نتيجة للتاثير الفسلجي للمستخلص الكحولي لازهار نبات الكسوب (61). ومن المحتمل ان يعلل الانخفاض في وزن الجسم الى احتواء نبات الكسوب على عنصر الزنك (62) والذي يعمل باتجاهين متعاكسين ، فهو ربما يعمل كعامل مساعد او مثبط لفعالية العديد من الانزيمات ومنها انزيم Alkalin phosphatese وغيره من الانزيمات الاخرى, لذا فان نقصان تركيزه او زيادته في الدم قد يؤدي الى الاصابة بالعديد من الامراض(63), فضلا عن انه يعمل على زيادة صرف الطاقة والتقليل من الشهية للطعام (62)، لذا قد يرجا الانخفاض الحاصل في الوزن الى التاثير الفسلجي لمحتوى هذا العنصر في مستخلص الكسوب , وقد يعودالانخفاض في وزن الجسم – في جزء منه – الى احتواء مستخلص ازهار هذا النبات على حوامض دهنية تعمل على احداث زيادة في مستوى المويثنات (64) داخل المجرى الدموي عن طريق تحول هذه الاحماض الى حامض Arachidonic الذي يعد اساسيا في تكوينها، وان بعض انواع هذه الموثينات تعد بمثابة العامل المحفز لعملية تحلل الدهون وبذا فانها تقلل من كتلة الجسم (54)، كما اكدت دراسة (65) ان الغذاء الذي يحتوي على نسبة عالية من الدهون المتعددة غير المشبعة تسبب أحداث زيادة معنوية في استهلاك الطاقة الكلية في الفئران المعاملة. وفيما يتعلق بوزن الكبد فقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات(59و66و67). وقد يعزى هذا الانخفاض الى تاثير المركبات الفلا فونيدية الموجودة في مستخلص ازهار هذا النبات والتي تعمل كمضادات للاكسدة Antioxdants(68). كما ذكر (5) بان ازهار هذا النبات تحتوي على (29) مركب فلافونيدي ، ومن الحقائق المثبتة علميا ان فيتامين E من اهم المركبات المضادة للاكسدة والذي تم استخراجه من زيت نبات الكسوب ، اذ يمتص هذا الفيتامين خلال عملية هضم الدهون ويدخل الى المجرى الدموي من خلال ارتباطه بالبروتينات الدهنية التي تعمل كنواقل له وتقوم الاخيرة بحمله الى الخلايا الحاوية على الانزيم المحلل للبروتينات الدهنية Lipoproteins lipase ومن بعدها ينقل الى الانسجة الكبدية والتي تقوم باخراجه على شكل بروتينات دهنية واطئة الكثافة تخزن في الانسجة الدهنية مما ينتج عنه انخفاض وزن الكبد (63) وربما يعود الانخفاض المعنوي الملاحظ في وزن الكبد لهذا السبب.

ثانيا:- تاثير المستخلص المائي البارد لازهار نبات الكسوب على العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض.

قد اتفقت الزيادة المعنوية الملاحظة في العدد الكلي لخلايا البيض مع العديد من الدراسات (69و70و71)، الا انها اختلفت مع (72). وقد تعلل الزيادة الى الفعالية البايولوجية للفينولات المتواجدة في ازهار نبات الكسوب (1و73) وقدرة تلك المركبات في تحفيز الجهاز المناعي للجرذان المعاملة مما تسبب في احداث زيارة معنوية في العدد االكلي لخلايا الدم البيض داخل المجرى الدموي، كما اكدت دراسة (74) النتيجة نفسها عند حقن ذكور الفئران بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات الزعتر, او ربما قد تفسر الزيادة في اعداد تلك الخلايا الى الارتفاع المعنوي في النسبة المئوية للخلايا اللمفية والتي وثقت في الدراسة الحالية وبما انها تؤلف جزءا من العدد الكلي للخلايا البيض فان ارتفاع نسبتها معنويا يتسبب في احداث ارتفاع معنوي في العدد الكلي للخلايا البيض في الدم.وفيما يتعلق بالنسبة المئوية للخلايا اللمفية فقد اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع بعض الدراسات (70و71)، الا انها اختلفت مع (72). وقد يعلل الارتفاع في نسبة الخلايا اللمفية الى تأثير المركبات الكيميائية المتوفرة في أزهار نبات الكسوب على الجهاز المناعي للحيوانات المعاملة مما تسبب في ارتفاع نسبها معنويا في مجرى الدم، فقد اشاروا (75) الى ان استعمال مستخلص ثنائي كلوروميثان لنبات الكسوب تسبب في زيارة الفعالية التكاثرية للخلايا اللمفية في الحيوانات المعاملة بمقدار ثمان مرات، وان استعمال مستخلصي الكحول المثيلي والهكسان لنفس النبات قد احدث ارتفاعا معنويا قدر باثنتي عشر واربعة عشر مرة على التتالي.وفيما يتعلق بالنسبة المئوية للخلايا المتعادلة فانها لم تظهر تغيرا معنويا خلال الدراسة الحالية وقد اتفقت هذه النتيجة مع ما توصلت اليه العديد مع الدراسات (21و75و76و77)، الا انها اختلفت مع بعض الدراسات (72و78). وقد تعزى هذه النتيجة الى احتمالية ان المكونات الكيميائية المتوافرة في المستخلص االمائي لازهار نبات الكسوب لم تؤثر على الفعالية الحيوية لهذا النوع من الخلايا البيض في الدم، اذ انها تمثل الخط الدفاعي الاول للجسم وذلك لامتلاكها العديد من الصفات منها قدرتها على الانجذاب الكيميائي نحو موقع الاصابة وكذلك اختراقها للجدران الرقيقة للشعيرات الدموية حتى تصل الى النسيج القريب من موضع الاصابة من خلال حركتها الاميبية، فضلا عن قدرتها الفائقة على ابتلاع دقائق الاجسام الغريبة التي تتسرب الى داخل الجسم من خلال عملية البلعمة، الا انها لا تساهم في تحفيز الجهاز المناعي للجسم وربما لهذا السبب فان نسبتها في المجرى الدموي للجرذان المعاملة لم تعاني تغيرا معنويا بتاثير الحقن بمستخلص ازهار الكسوب بوصف ان هذه المكونات تعد عاملا منشطا للجهاز المناعي بجميع مكوناته (36و75و79).

ثالثا:- تاثير المستخلص المائي البارد نبات الكسوب على تراكيز البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في المصل.

لقد اتفقت الزيادة الملاحظة في تركيز البروتين الكلي في المصل مع ما اشارت اليه العديد من الدراسات(80و81و82). وقد تعلل هذه الزيادة الى احتمالية التأثير السلبي لمكونات مستخلص نبات الكسوب على فعالية الانزيم المحلل للبروتينات Protease، مما نتج عنه ارتفاع تركيزها في المصل، فقد اشارت بعض المصادر الى احتواء زيت نبات الكسوب على بعض المثبطات لفعالية هذا الانزيم ومنها Plasmin inhibitor و Urin inhibitors (83) , أو ربما ترجا هذه الزيادة الى الارتفاع المعنوي الملاحظ في تركيز الكلوبيولين في المصل والذي تم توثيقه في الدراسة الحالية وبما ان تركيزه يشكل جزءا لا يتجزا من تركيز البروتين الكلي لذا فان اي زيادة في محتواه تؤثر ايجابا على تركيز بروتينات الكلية في المصل . وفيما يتعلق بتركيز الكلوبيولين في المصل فقد اتفقت الزيادة الملاحظة مع العديد من الدراسات(82و84). ومن المحتمل ان يعود هذا الارتفاع الى احتمالية تاثير المكونات الكيميائية لمستخلص ازهار نبات الكسوب على الجهاز المناعي للجرذان المعاملة مما نتج عنه ارتفاع تركيز هذا النوع من البروتينات في المصل، ذلك ان الكلوبيولينات المناعية تعد احد انواع الكلوبيولينات المتواجدة في المصل وبما ان هذا النبات من النباتات الشائعة الاستعمال في الكثير من المجالات الطبية وخاصة في تحفيز الجهاز المناعي(75و79)، لذا فان استمرار تجريع الجرذان قيد الدراسة بمكونات مستخلص هذا النبات من شانه ان يحدث ارتفاعا معنويا في محتوى هذه البروتينات داخل المجرى الدموي.اما عن تركيز الالبومين في المصل فانه لم يظهر تغيرا معنويا يذكر خلال الدراسة الحالية وقد اتفق ذلك مع ما اكدته دراسة الباحث (85) . وربما يعلل ذلك الى احتمال ان معاملة الحيوانات بمستخلص نبات الكسوب لم يؤثر على الفعالية البايولوجية لهذا النوع من البروتينات مما تسبب في عدم احداث تغير معنوي في تركيزها في المصل.

نستنتج من الدراسة الحالية بان حقن الجرذان بالمستخلص المائي لازهار نبات الكسوب وخاصة التركيز 130 ملغم/كغم ربما حفز الجهاز المناعي لتلك الحيوانات وقد تجلى ذلك من خلال الزيادة الملاحظة في كل من النسبة المئوية للخلايا اللمفية وكذلك تركيز الكلوبيولين في المجرى الدموي للحيوانات المحقونة. كما انه قد احدث اختزالا في اوزان اجسام الحيوانات المعاملة واوزان اكبادها . لذا نوصي باجراء المزيد من الدراسات حول التركيز 130 ملغم/ كغم من المستخلص الكحولي لازهار الكسوب وامكانية الحقن بتراكيز اخرى اعلى منه لاجل التوصل الى التركيز الامثل في تاثيراته الايجابية على اعضاء الجسم واجهزته المختلفة والاقل في تاثيراته السلبية او انعدامها.

References

1-Dajue, L. I.and Mundel, H. H. (1996) . Safflower (Carthamus tinctorius L.) International plant genetic resources institute Rome. Italy (ISBN. , 92 (9043) : 297-307 .

2- Bae, C. s. ; Park, C. H. ; cCho, H. J. ; Han, H. J. ; Kang, S. S. ; Choi, S. H. and et al. (2002) . Therapeutic effects of safflower (Carthamus tinctorius L.) seed powder on Osteoporosis . Korean. J. Electron. Microscopy. , 32 : 285-290 .

3- Siddiqi, E. H. ; Ashraf, M. ; Hussain, M. ; Jamil, A. (2009) . Assessment of intercultivar variation for salt tolerance in Safflower (Carthamus tinctorius L.) using gas exchange characteristics as selection criteria. Pak. J. Bot. , 41 : 2251-2559 .

4- Elias, S. ; Basil, S. and Kafka, R. (2002) . Response of safflower (Carthamus tinctorius L.) to saline soils and irrigation : I. Consumptive water use . Agric . water. Manag., 54 : 67 .

5-الابراهيمي ، فاضل كاظم كريم .(2003) . دراسة تصنيفية للجنس *Carthamus L.* في العراق . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الكوفة .

6- Shirwaikar, A. ; Khan, S. ; Kamariya, Y. H. ; Patel, B. D. and Gajera, F. P. (2012) . Medicinal plants for the management of post – menopausal osteoporosis : a review . Open bone. J. , 2 : 1-13 .

7- Zheng, J. X. (1999) . Functional Food. Chemical Industry press, Beijing , China .

8-Zargari,A.(1988).Medicinal plants .Vol.2.Iran:Tehran university press.P:619.

9- Asgarpanah, J. and Kazemivash, N. (2013) . Phyto chemistry, pharmacology and Medicinal properties of Carthamus tinctorius L. chin. J. Integr.Med. , 19 (2) : 153-159 .

10- Ashri, A. (1975) . Evaluation of the germplasm Collection of safflower . Distribution and regional divergence for morphological characters . Euphytica., 24 : 651-659.

11- Cannon, J. and Cannon, M. (2003) . Dye plants and dyeing . Royal Botanic gardens, Kew, pp : 128

12- Pahlavani, M. H. ; Mirlohi, A. F. and Saeidi, G. (2004) . Inheritance of flower color and spininess in safflower (Carthamus tinctorius L.) . J. Heredity., 95 : 265-267 .

13- Iwata, T. ; Hoshi, S. ; Tkehisa, F. ; Tsutsumi, K. ; Furukawa, Y. and Kimura, S. (1992) . The effect of dietary safflower phospholipid and soy bean phospholipid on plasma and liver lipids in rats fed hyper cholesterolemic diet . J.Nutr. Sci. and Vitamin . 38, 471-479 .

14- Knowles,P.F.;Ashri,A.In:Smar, H.J,Simmonds ,N.W,eds.Evolution of crop plants.2nd ed.Harlow,UK:Longman.pp:47-50.(1995).

15- DerMarderosian, A. (2001) . The Review of Natural products . 1st ed. Missouri : Facts and Comparisons .

16- Takashi, T. and Miyazawa, M. (2012) . Potent α – glucosidase inhibitors from safflower (Carthamus tinctorius L.) seed . Phytother . Res. , 26 : 722-726 .

17- Zhang, L. ; Yan, J. and Chai, Q. (1997) . Pharmacological study of safflower. 4th Intl. Safflower Conf. , 2-7 June, Bari, Italy. pp : 339-346 .

18- Dixon, R. A. (2004) . Pytoestrogens . Annu. Rev. plant. Biol. , 55 : 225-261 .

19- Lee, Y. S. ; Choi, C. W. ; Kim, J. J ; Ganapathi, A. ; Uday Akumar, R. and Kim, S. C. (2009) . Determination of mineral Content in methanolic safflower (Carthamus tinctorius L.) seed extract and its effect on osteoblasts markers. Int. J. Mol. Sci. , 10 : 292-305 .

20-Cho,M.H.,Paik,Y.S.and Hahn,T.R.(2000). Enzymatic conversion of precarthamin to carthamin by a purified enzyme from the yellow petals of safflower.J.Agric.Food.Chem .,48:3917-3921.

21- Kim, H J. ; Bae, Y. C. ; Park, R. W. ; Choi, S. W. ; Cho, S. H. ; Choi, Y. S. and Lee, W. J. (2002) . Bone-protecting effect of safflower seeds in ovariectomized rats . Calcif. Tiss. Inter. , 71 : 88-94 .

22- Weiss, E. A. (1983) . In : Anonymous, eds. Safflower. London. 4K : Longman Group Limited, Longman House. , pp : 216-281.

23- Punjanon, T. ; Arpornsuwan, T. and Klinkusoom, N. (2004) . The pharmacological properties of safflower (Carthamus tinctorius L.) . Bulletin of Health Science and Technology . 7 : 51-63 .

24- Wang, G. and Li, Y. (1985) . Clinical application of Safflower (Carthamus tinctorius) [in Chinese] . Zhejiang. J. Trad. Chinese. Med. , 20 : 42-43 .

25- Wu, L. ; Yi HuoXue. (1992) . Prescription used for treatment of gastritis [in Chinese] . Jiangsu. J. Trad. Chinese . Med. , 13 : 35-37 .

26-Zhu, P. Hu, S.and Hua, Y. (1991) . Decoction was used for treatment on renal function imperfection of 61 cases [in Chinese] . J. comb. Trad. Chinese West. Med. , 11 : 750-752 .

27-Wang, Z. T. ; Wang, S. R. and Zhao, M. J. (2002) . Comparative study on effect of recipe for activating blood circulation and replenishing Qi on left ventricular remodeling in rats with left heart failure after myocardial in farction . ZhongguozhongXiYiJieHezazhi. , 22 (5) : 376-378 .

28- Wang, Y. and Wang, L. (1990) . A clinical observation on the effect of rhematic prescription for treatment of rheumatoid arthritis of 50 Cases [in Chinese] . Jaingsu. J. Trad. Chinese. Med. , 11 : 1-3 .

29- Loo, W. Y. ; Cheung, M. N. and Chow, L. W. (2004) . The inhibitory effect of a herbal formula comprising ginseng and Carthamus tinctorius on breast Cancer. Life. Sci., 76 (2): 191-200 .

30- Yasukawa, K. ; Akihisa, T. Kasohara, Y. and et. al. (1996) . Inhibitory effect of alkane – 6, 8-diols, the components of safflower, on tumor promotion by 12-O-tetra decanoy . lphorbol – 13 – acetate in two -Stage carcinogensis in mouse skin . Oncology . , 53 (2) : 133-136 .

31- Roh, J. S. ; Han, J. Y. ; Kim, J. H. and Hwang, J. K. (2004) . Inhibitory effects of active compounds isolated from safflower (Carthamus tinctorius L.) seeds from melanogensis . Biological and pharmaceutical Cal. Bulletin. , 27 (12) : 1976-1978.

32- Hong, H. ; Kim, H. ; Lee, T. ; Kim, D. ; Kim, M. ; Choo, Y. ; Park. ; Y. ; Lee, Y. and Kim, C. (2002) . Inhibitory effect of Korean traditional medicine, Honghwain Jahage water extract of *Carthamus* tinctorius L. seed and Homonis placentaon interleukin -1- mediated bone resportion. J. Ethnopharm. , 79 : 143-148.

33- Seo, J. J. ; Kim, T. ; Pi, S. H. ; Yun, G. Y. ; You, H. K. and Shin, H. S. (2000) . Effects of safflower seed extracts and bovine bone regeneration of bone defects in mongrel dogs [in Korean] . J. Kor. Acad. Periodontol. , 30 : 553-569 .

34- Lee, S. J. ; Choi, H. C. ; Sun, K. J. ; Song, J. B. ; Pi, S. H. ; You, H. K. and shin, H. S. (2005). A study of safflower extracts on bone formation in vitro [in Korean] . J. Kor. Acad. Periodontol. , 30 : 461-474 .

35- You, K. T. ; Choi, K. S. ; Yun, G. Y. ; Kim, E. C. ; You, H. K. ; Shin, H. S. (2000) . Healing after implantation of bone substitutes and safflower seeds feeding in rat calvarial defects [in Korean] . J. Kor. Acad. Periodontol. , 30 : 91-104 .

36- Lee, J. Y. ; Chang, E. J. ; Kim, H. J. ; Park, J. H. and Choi, S. W. (2002) . Antioxidative flavonoids from Leaves of Cathamus tinctorius . Archives of Pharmacal . Res. , 25 : 313-319 .

37- Kambayashi, Y.; Takekoshi, S.; Nakano, M.; Shibamori, M.; Hitomi, Y. and Ogino, K.(2005) . Kinobeon A, purified from cultured safflower cells, is a novel and potent singlet oxygen quencher. Acta Biochimica Polonica. 52(4)., pp: 903–907.

38- Paramesha, M. ; Ramesh, C. K. ; Krishna, V. ; Parvathi, K. M. M. and Kuppast, I. J. (2011). Antihyperglycemic activity of methanolic extract of Carthamus tinctorius L. annigere-2 . Asi. J. Exp. Sci. , 23 (3) : 497-502 .

39- Smith, J. R. (1996) . safflower . Aocs press, champaigh, 11 , U.S.A. p : 629 .

40- Landaua, S. ; Friedmana, S. ; Brennera, I. ; Bruckentalb, Z. C. ; Weinbergc, G. ; Ashbellc, Y. ; Henc, L. ; Dvasha, L. and Lehsem, Y. (2004) . The value of safflower (Carthamus tinctorius L.) hay and silage grown under me diterranean Conditions as for age for dairy cattle. Lever pool prod. Sci. , 88 : 263-271 .

41- Nagaraj, G. ; Devi, G. N. and Srinivas, C. V. (2001) . Safflower petals and their chemical composition . 5th . Intl. Safflower Conf. USA. pp : 301-302 .

42- Dajue, L. and Yunzhou, H. (1993) . The development and exploitation of safflower tea. 3rd . Intl. Safflower Conf. 14-18 June, Beijing, China, pp : 837-843 .

43- Behera, B. and Yadav, D. (2013) . Current researches on plants having antidiabetic potential : An Over view . RRJBS., 2 (2) .

44- Chang, J. ; Hung, L. ; Chyan, Y. ; Cheng, C. and Wu, R. (200) . Carthamus tinctorius enhances the antitumor activity of dendritic cell vaccines via polarization toward Th1 cytokines and increase of cytotoxic . evidence-based complementary alternative medicine. Hindawi publishing corporation. Volume 2011. Article ID 274858, 10 pages.

45- Zargari,A.(1991).Medicinal plants . Tehran: university of Tehran press., p:4-33.

46- Kumar, S. ; Kumar, A. and Prakash, O. (2012) . Potential antifertility agents from plants : A Comprehensive review . J. Ethnopharmacol. , 140 : 1-32 .

47- Guoquan, J. and Yueying, L. (2010) . Antifatigue and sport performance enhancement effects of safflower extract in mice . Journal of Medicinal plants Research. , 4 (23) , pp : 2539-2543.

48- Kulkarni, D. ; Kulkarni, K.andTathe, S. (2001) . Studies on the extraction of safflower yellow Band Carthamin red pigments from safflower florets as food colorant 5th Intl. Safflower Conf. 23-27 July, USA. pp : 321-324 .

49- Bahmanpour, S. ; Javidnia, K. and Arandi, H. (2003) . Weight and crown – rump length reduction, gross malformation and pregnancy outcome in Carthamus tinctorius L. treated mice. Arch.Iranian.Med.,6(2):117-120.

50- Rudometora, N. V. ; Pasovskij, A. P. and Blohina, E. A. (2001) .Method of isolation and identification of Carthamin in safflower . Application's perspectives in Russian food products . 4th Intl. Safflower Conf. 23-27 July, USA. pp : 309-314.

51- Louei Monfared, A. and Salati, A. P. (2013) . Effects of Carthamus tinctorius L. on the ovarian histomorphology and the female reproductive hormones in mice. Avicenna. J. Med. Phytomed., 3 (2) : 171-177 .

52- Mirhoseini, M. ; Mohamadpour, M. and Khorsandi, L. (2012) . Toxic effects of Cathamus tinctorius L. (Safflower) extract on mouse spermatogensis. J. Assist. Reprod. Genet., 29 : 457-461

53-Yin,X.J.,Liu,D.,Wang,H. and Zhou,Y. (1991).Astudy on the mutagenicity of 102 raw pharmaceuticals used in Chinese traditional medicine.Mutation.Res.,260:73-82.

54 -العابدي ، امال فيصل لفته .(2005) . تأثير مستخلص الماء البارد لاوراق وازهار نبات الكسوب *Carthamus tinctorius* في خصوبة ذكور الفئران البيض . رسالة ماجستير - كلية العلوم – جامعة بابل .

55- Dacie, J. V. and Lewis, S. (2005) . Practical haematology . 6th ed. Burgh. Churchill.

56- Bishop, M. L. ; Vonlaufer, J. L. and Fody, E. P. (1985) . Clinical-chem. ,

57- Silverman, L. M. ; Christenson, R. H and Grant, G. H. (1970) . Amino acids and proteins . In : Tietz, N. W. Eds. Text book of clinical chemistry . Philadelphia. P : 45 .

58- الخفاجي ، فراس جبار والمزين ، قحطان احمد وعبد الرزاق ، حسام علاء الدين .(2002). تأثير الثوم على بروتينات مصل الدم ومؤيضاتها في الارانب المصابة تجريبياً بداء السكري. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري ، العدد الاول (المجلد الاول) : 1-8.

59- Nobakht, M. ; Fattahi, M. ; Hoormand, M. ; Milanian, I. ; Rahbar, N. and Mahmoudian, M. (2000) . A study on the teratogenic and cytotoxic effects of safflower extract . J. Ethnopharmacol . , 73 : 453-459 .

60- Li ,F., Hai-Yu, Z., Man, X., Lei, Z., Hui, G., Jian, H., Bao-Rong ,W. and De-An, G.(2009). Qualitative evaluation and quantitative determination of 10 major active components in Carthamus tinctorius L. by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector. J .Chromat A.,1216:2063–2070.

61- Monfared, A. L. ; Aziziyan, H. ; Bahrami, A. M. and Asbejin, S. A. (2012) . Development toxicity evaluation of methanol extracts of Carthamus tinctorius L. in the Balb/C pregnant mice during organogenesis period. J. Medi. Pla. Res. , 6 (9) : 1623-1626 .

62- Song, M. K. (2004) . Composition and methods for treating obesity . United States Patent application . 768200 .

63- Robert, K. M. ; Darly, K. G. ; Peter, A. M. and Victor, W. R. (1993) . Harper's Biochmistry . Twenty-third edition . Chapter 53, Structure and function of the lipid – soluble vitamins.p : 927 .

64- Utsunomiya, T. ; Chavali, S. R. ; Zhong, W. W. and Forse, R. A. (2000) . Effect of sesamin-supplemented dietary fat emulsions on the ex vivo production of lipopolysaccharide – induced prostanoids and tumer necrosis factor α in rats. J. Clin. Nutr. , 72 (3) : 804-808 .

65- Rolland, V. ; Roseau, S. ; Fromentin, G. ; Nicolaidis, S. ; Tome, D. and Even, P. C. (2002) . Body weight, body composition, and energy metabolism in lean and obese Zucker rats fed soybean oil butter. J. Clin. Nutr. , 75 (1) : 21-30.

66- Liu, Y. ; Yang, J. and Liu, Q. (2005) . Studies on chemical constituents from the flowers of Carthamus tinctorius L. Zhong. Yao. Cai. , 28 : 288-289 .

67- Aliyu, R. ; Adebayo, A. H. ; Gatsing, D. and Garba, I. H. (2007) . The effects of ethanolic leaf extract of Commiphora Africana (Burseraceae) on rat liver and kidney function . J. Pharmacal. Toxicol. , 2 : 373-379 .

68-الزاملي ، عودة مزعل ياسر .(2001) . دراسة احتشاء العضلة القلبية باتجاه نظرية الاكسدة. اطروحة دكتوراه – كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

69- Rodan, G. A. ; Raisz, L. G. and Bilezikian, J. P. (1996) . Pathophysiology of osteoporosis . Principles of bone biology . Academic press, San Diego, CA. pp : 979-990 .

70- Roodman, G. D. (1996) . Advances in bone biology : Osteoclast . Endocrinol. Rev., 17 : 308-332 .

71-Yuk, T. H. ; Kang, J. H. ; Lee, S. R. ; Yuk, S. W. ; Lee, K. G. ; Song, B. Y. ; Kim, C. H. ; Kim, D. W. ; Kim, D. ; Lee, T. K. and Lee, C. H. (2001) . Inhibitory effect of Carthamus tinctorius L. seed extracts on bone resorption mediated by tyrosine kinase, Cox-2 (cyclooxygenase) and PG (prostaglandin) E2 . Am. J. Chin.Med.,30(1):95-108.

72- Namjoo, A. ; Nasri, H. ; Juneghani, A. T. ; Baradaran, A. and Kopaei, M. R. (2013) . Safety profile of Cathamus tinctorius L. in lactation : Brain, Renal and Hepatotoxicity. Pak. J. Med. Sci. , 29 (1) : 378-383 .

73- Savoini, G. ; Mancin, G ; Agazzi, A. ; Cheli, F. ; Bald, a. and et. al. (2000) . Effect of dietary supplementation with phytogen, substance, Carbadox and Conlistin on performaces and immune response in post-weaning pig. J. Anim. Sci. , 78 (1) : 176 .

74- Elhabazi, K. ; Dick, A. ; Desor, F. ; Younous, C. and Soulimani, R. (2005) . Preliminary study on immunological and behavioral effect of Thymus broussneti : Bioss. Anendemic species in Morocco . J. Ethnopharmacol .

75- Arpornsuwan, T. ; Petvises, S. ; Thim-uam, A. ; Boondech, A. and Roytrakul, S. (2012) . Effects of Carthamus tinctorius L. solvent extracts on anti-proliferation of human colon cancer (SW 620 cell line) via apoptosis and the growth promotion of lymphocytes. Songklanakarin. J. Sci. Technol., 34 (1) : 45-51 .

76- Nagami, K. ; Kawashima, Y. ; Kuno, H. ; Kemi, M. and Matsumoto, H. (2002) . In vitro cytotoxicity assay to screen compounds for apoptosis – inducing potential on Lymphocytes and neutrophils . J. Tox. Sci. , 27 : 191-203 .

77-Zhu, H. ; Wang, Z. ; Ma, C. ; Tian, J. ; Fu, F. ; Li, C. ; Guo, D. ; Roeder, E. and Liu, K. (2003) . Neuroprotective effects of hydroxysafflor yellow A: in vivo and in vitro studies . Plant. Med. , 69 : 429-433 .

78- World Health Organization (WHO) . (2007) . Monographs on selected medicinal plants . Geneva. , 3 : 114-125 .

79- Yaginuma, S. ; Shiraishi, T. and Igarashi, K. (2003) . Developmental transition of the flavonoid contents in safflower Leaves during stress – loaded cultivation. Biosci. Biotechnol. Biochem. , 67 : 1691-1698 .

80- Han, S. Y. ; Li, H. X ; Bai, C. C. ;Wang, L. and Tu, P. F. (2010) . Component analysis and free radical – scavenging potential of panaxnotoginseng and Carthamus tinctorius extracts . Chem. Biodivers. , 7 : 383-391 .

81- Mandade, R. ; Sreenivas, S. A. ; Sakarkar, D. M. and Wanare, R. (2011) . Pharmacological effects of extract of Cathamus tinctorius on volume and acidity of stimulated gastric secretion . Orient. Pharm. , 11 (4) : 293-298 .

82- Mandade, R. (2012) . Protective effects of Carthamus tictorius on streptozotocin - induced diabetic complications in rats and the possible morphological changes in the liver and kindney. Int. J. Sci. Inn. Dis. , 2 (5) : 502-510 .

83 - Amano, S. ; Ogura, Y. ; Matsunaga, Y. ; Tsud, T. ; Aoyama, Y. and Koga, N. (2004) . Skin vitalizing composition for external use anti-aging preparation. United States Patent application. 314165 .

84- Hamden, K. ; Allouche, N. ; Damak, M. and Elfeki, A. (2009) . Hypoglycemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. Chem. Boil. Interact . , 180 : 421-432 .

85- Brownlee, M. (2001) . Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complication . Nature. , 414 : 813-20 .