دراسة كيموحيوية للفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية الفعالة المفصولة من جذور نبات الارقطيون *Arctium Lappa* في الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

محمد بحري حسن

قسم الكيمياء ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٠ / ٤ / ٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٢٩ / ١٠ / ٢٠٠٨)

الملخص

تضمنت هذه الدراسة تحضير الفلافونويدات والكلايكوسيدات لجذور نبات الارقطيون، وكذلك تم عزل ودراسة المركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي من الراسب البروتيني البارد، حيث تم تحديد الاوزان الجزيئية لهذه المركبات المفصولة وكانت كما ياتي، المركب A (٩٩٤٢٦) دالتون والمركب B (٢٥٧٠) دالتون.

حقنت المركبات التي حضرت في التجويف البريتوني، واشارت النتائج بعد اسبوع من المعاملة الى ان الفلافونويدات والكلايكوسيدات وبجرع(١،٥،١) ملغم/كغم وزن الجسم قد ادت الى انخفاض معنوي($p < 0.05$) في مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي في مصل الدم ، بينما احدث ارتفاعا معنويا ($p < 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وفيتامين C وفيتامين E في مصل الدم وفعالية انزيمي الكلوتاثايون بيروكسيديز وسوبر اوكساید ديسيموتيز في انسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان. يمكن الاستنتاج ان لمعظم مركبات جذور الارقطيون (خاصة الفلافونويدات) تاثير مضاد لاصناف الاوكسجين الفعالة في الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر.

الكلمات المفتاحية: الارقطيون، الفلافونويدات، الكلايكوسيدات، داء السكر.

المقدمة:

استعمل الارقطيون في مامضى، وعلى نطاق واسع في الادوية . ويتميز هذا النبات برؤيساته المستديره الشائكه، التي تلتصق بسهوله بالثياب، وقد انعكست هذه الخاصيه على اسمه العلمي المؤلف من الكلمتين اليونانيتين arktos ، أي يثمر ،وتوحي بمعنى ثمر في غلاف خشن، وLappa أي يمسك[١]. ولطالما كان الارقطيون منقيا للدم، كما كان شائع الاستعمال في الماضي لمعالجة عسر الهضم . يستعمل اليابانيون جذر الارقطيون ،كصنف من الخضر. ويعتبر العشابون الغربيون ان الجذر اهم اجزاء النبتة، فيستعملونه كدواء لتقرح الجروح والتهابات الجلد،وفي خفض سكر الدم، والتهابات المفاصل ،ومدرر للبول، ومضاد حيوي ،ومانع للحمى[٢].

ان حقن الالوكسان في الجرذان يؤدي الى انخفاض معنوي في مستويات كل من الكاتاليز وسوبراوكساید ديسموتيز في كلى الحيوانات المصابة بداء السكر [٣] ويمكن لمضادات الاكسدة ان تظهر فعالية وقائية من داء السكر اذ اتضح ان اعطاء الحيوانات فيتامين C يقلل الكرب التاكسدي وبالتالي يمنع او يقلل من حدوث مضاعفات داء السكر [٤] ، كما يمكن منع الفعل التخريبي للالوكسان والستربتوزوتوسين على خلايا بيتا البنكرياسية بوساطة مضادات الاكسدة (سوبراوكساید ديسموتيز والكاتاليز).وفي دراسة اخرى ظهر ان حقن الستربتوزوتوسين يؤدي الى انخفاض مستوى كل من انزيم سوبراوكساید ديسموتيز وكلوتاثايون بيروكسيديز [٥] . فضلا ان داء السكر التجريبي المستحدث بالستربتوزوتوسين في الجرذان يسبب انخفاض فعالية انزيم الكاتاليز في الكلية [٦].

ودرست عملية بيروكسدة الدهون في خلايا الدم البيض وتم قياس مستوى كل من سوبراوكساید ديسموتيز وكلوتاثايون بيروكسديز وفيتامين C ، ولوحظ حدوث انخفاض في مستوى فيتامين C وزيادة بيروكسدة الدهون، بينما لم يظهر اختلاف في مستوى سوبراوكساید ديسموتيز وكلوتاثايون بيروكسديز مقارنة مع مجموعة السيطرة[٧] . ولوحظ ان الفلافونويدات تحمي من الفعل السام للالوكسان المتمثل ببيروكسدة الدهون وانخفاض مضادات الاكسدة [٨].

حيث أشارت الدراسة التي اجريت على الفئران المعرضة للكرب التاكسدي بأن الفلافونويدات والكلايكوسيدات المفصولة من ثمار التفاح ، ادت الى انخفاض معنوي في مستوى الكلوكوز وبيروكسدة الدهون ، ورفع مستوى الكلوتاثايون[٩]. وفي دراسة اخرى أظهرت ان الفلافونويدات والكلايكوسيدات المعزولة من بذور الكرفس ادت الى انخفاض في مستوى الكلوكوز والبروتين الدهني واطئ الكثافة ، ورفع مستوى الكلوتاثايون والبروتين الدهني عالي الكثافة في الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان[١٠]. ودرست عملية بيروكسدة الدهون في الارانب السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان وتم قياس مستوى كل من الكلوكوز وانزيمي الزانثين اوكسيديز والسوبر اوكساید ديسميوتيز بعد اعطاء المركبات البروتينية الفعالة المعزولة من ثمار الفلفل الحاد ، ولوحظ انخفاض في مستوى الكلوكوز وانزيم الزانثين اوكسديز ، وارتفاع في مستوى انزيم السوبر اوكساید ديسميوتيز[١١].

المواد المستعملة وطرائق العمل

جمع النبات المستعمل:

تم الحصول على جذور نبات الارقطيون من احد الاماكن المختصة في بيع النباتات والاعشاب الطبية في مدينة الموصل، وتم تصنيفه في كلية العلوم، قسم علوم الحياة.

الاسم العربي للنبات: الارقطيون

الاسم الانكليزي للنبات : Burdock

الاسم اللاتيني للنبات: *Arctium Lappa*

فصل الفلافونويدات:

فصلت الفلافونويدات من جذور الارقطيون بوضع الجذور في جهاز الفصل (Soxhlet) لمدة (٣-٤) ايام باستخدام الايثانول، بعد ذلك بخر الايثانول باستخدام جهاز التبخير تحت الضغط المخلخل، واضيف بعد ذلك حوالي (٥٠) سم^{3} من الميثانول الساخن (٤٠-٥٠) ^{o}م مع الرج السريع حيث تترسب في اثناء الاضافة مادة صلبة بنية اللون[١٢] .

فصل الكلايكوسيدات

فصلت الكلايكوسيدات من جذور الارقطيون بنقع الجذور لمدة ثلاثة ايام في لتر واحد من الماء المقطر، ورشحت ثم ركزت الطبقة المائية باستخدام جهاز التقطير تحت الضغط المخلخل وباستخدام حمام لا تتجاوز حرارته (٥٠) ^{o}م ،بعدها اضيفت هذا الطبقة المائية على شكل قطرات الى (٥٠) سم^{3}من الميثانول مع الرج السريع حيث تترسب مادة بيضاء اللون[١٢].

فصل وتنقية وتعيين الاوزان الجزيئية للمركبات البروتينية:

وزن ٥٠٠ غراما من جذور الارقطيون ، بعد ذلك مزجت مع الماء المقطر وسحقت باستخدام آلة الثرم لمدة ١٥ دقيقة بعدها جمدت باضافة النتروجين المسال، بعد ذلك حرك الخليط لمدة ساعتين تحت تاثير المحرك الكهربائي، ثم رشح من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل الراشح عن الشوائب المتبقية بجهاز الطرد المركزي المبرد لمدة ٢٠ دقيقة، ثم اضيف الاسيتون البارد الى الراشح بنسبة (٤٠ : ٦٠) حجم:حجم على التوالي ببطئ مع التحريك المستمر [١٣] عند درجة حرارة ٤ °م، ثم ترك المزيج في الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة. فصل البروتين المترسب بجهاز الطرد المركزي المبرد لمدة ٢٠ دقيقة عند 6000xg ، فالراسب يمثل المركب البروتيني والجزء الرائق يمثل المركب غير البروتيني، بعدها جفف كل منها باستخدام جهاز التجفيف بالتبريد للحصول على المادة بشكل مسحوق.نقي البروتين الخام المستحصل عليه وقدرت الاوزان الجزيئية للمركبات البروتينية باستخدام عمود فصل ذي ابعاد (١٢٠ × ١,٨) سم والحاوي على مادة السيفادكس نوع ٧٥ (Sephadex G-75) وبمعدل جريان ٤٢ مل/ساعة [١٣].

الحيوانات المستخدمة:

استخدم في هذا البحث الجرذان بعمر خمسة اشهر تقريبا واوزان تراوحت (١٥٠-٢٠٠) غم وضعت في اقفاص معدنية وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها، واخضعت للظروف ذاتها من ضوء طبيعي ودرجة حرارة ٢٥±٢ .

تحديد الجرع المؤثرة:

استخدمت جرذان تراوحت اوزانها (١٥٠-٢٠٠) غم قسمت الى مجاميع تضم كل مجموعة (٥) جرذان، وعوملت كما ياتي :

تحديد الجرعة المؤثرة للفلافونويدات:

المجموعة الاولى حقنت في التجويف البروتيني بـ ١ سم^{3} من المحلول الملح الفسلجي عدت مجموعة سيطرة.

المجاميع (٢-٥) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (٠,٥، ١، ١,٥ ، ٢) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي من الفلافونويدات.

تحديد الجرعة المؤثرة للكلايكوسيدات:

المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني بـ ١ سم^{3} من المحلول الملحي الفسلجي وعدت مجموعة سيطرة.

المجاميع (٢-٥) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (٠,٥، ١، ١,٥ ، ٢) ملغم/كغم من وزن الجسم بالكلايكوسيدات.

تحديد الجرعة المؤثرة للمركبان البروتينيان A وB الباردان:

المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني بـ ١ سم^{3} من المحلول الملحي الفسلجي وعدت مجموعة سيطرة.

المجاميع (٢-٥) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (٢٥، ٥٠، ٧٥، ١٠٠) ملغم/كغم من وزن الجسم على التوالي بالمركب البروتيني A البارد وبنفس الطريقة تم تحديد الجرعة المؤثرة للمركب البروتيني B البارد. وبعد ساعتين من حقن المواد المذكورة انفا في التجويف البريتوني قيس مستوى الكلوكوز في مصل الدم.

استحداث داء السكر في ذكور الجرذان المحلية:

استخدمت ذكور الجرذان المحلية قربت اوزانها (١٥٠-٢٠٠) غراما ووضعت في اقفاص خاصة ومنعت من الاكل لمدة (٤٨) ساعة قبل استحداث داء السكر فيها. وزنت ثم حقنت بالالوكسان وبجرعة ١٠٠ ملغم/كغم من وزن الجسم [١٤].

تم التاكد من ان الجرذان مصابة بداء السكر وذلك من خلال فحص البول للتاكد من وجود سكر الكلوكوز فيه وذلك باستخدام الشريط الكاشف Glukotest .

معاملة الجرذان السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان بالفلافونويدات ،الكلايكوسيدات ،المواد البروتينية المحضرة والانسولين:

قسمت الجرذان عشوائيا الى (٦) مجاميع سليمة و (٧) مجاميع مصابة بداء السكر، وتمت معاملتها كالاتي:

١. المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني بالمحلول الملحي الفسلجي وعدت سيطرة سليمة.
٢. المجموعة الثانية حقنت تحت الجلد بـ (١٠) وحدات دولية/كغم من وزن الجسم من الانسولين.
٣. المجاميع من الثالثة الى السادسة حقنت في التجويف البريتوني بالفلافونويدات ، الكلايكوسيدات والمركب البروتيني A و B لجذور الارقطيون وبجرع(١،١,٥،٥٠،٧٥) ملغم/كغم من وزن الجسم.
٤. المجموعة السابعة العائدة للجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان حقنت في التجويف البريتوني بالمحلول الملحي الفسلجي وعدت سيطرة مصابة.

تقدير المتغيرات:

قدر مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة باستخدام عدة التحليل (kit) وهي طريقة انزيمية نوع(Syrobio, France) بطريقة(Burtis and Ashwood,1999) [١٥]. قدر فيتامين C بطريقة (Fischbach,2000) [١٦]. قدر فيتامين E بطريقة (Prakasam et al.,2003) [١٧]. قدر انزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز بطريقة (Latha and Pari,2004) [١٨] باختصار، مزيج التفاعل يحتوي على ٠,٢ مل ٠,٤ ملي مولار صوديم فوسفيت، ٠,١ مل ١٠ ملي مولار صوديم ازيد، ٠,٢ مل من المصل، ٠,٢ مل كلوتاثايون،

٠,١ مل ٠,٢ ملي مولار بيروكسيد الهيدروجين. المزيج يحضن عند ٣٧ م° ولمدة ١٠ دقائق، بعد ذلك يوقف التفاعل باضافة ١٠% من TCA وبعدها تجرى عملية الطرد المركزي، ثم يقدر الكلوتاثايون الموجود في الراشح بطريقة ألمان عند طول موجي مقداره ٤١٢ نانومتر. قدر انزيم السوبر اوكساید ديسميوتيز بطريقة (Al-Muslih *et al*.,2001) [١٩] باختصار، مزيج التفاعل يحتوي على ١,٢ مل صوديم فوسفيت المنظم (pH 8.3)، ٠,١ مل ١٨٦ميكرومول/ لتر فينازين ميثوسلفيت، ٠,٣ مل ٣٠٠ ملي مول/ لتر نايتروبلوتيترازوليوم، ٠,٢ مل ٧٨٠ مايكومول/ لتر NADH ويكمل المزيج الى ٣ مل بالماء المقطر. المزيج يحضن عند ٣٠ م° لمدة ١,٥ دقيقة، بعد ذلك يوقف التفاعل باضافة ١٠٠ مل من حامض الخيك الثلجي ، ثم يرج هذا المزيج بقوة مع ٤٠٠ مل بيوتانول ، ثم تقدر فعالية الانزيم بعد الرج في طبقة البيوتانول عند طول موجي مقداره ٥٦٠ نانومتر.

التحليل الاحصائي:

حللت نتائج البحث باستخدام One way analysis of variance وحددت الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن[٢٠] .

النتائج والمناقشة:فصل الرواسب البروتينية المعزولة من جذور الارقطيون:

فصلت الرواسب البروتينية بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذي الابعاد (١٢٠ × ١,٨) سم والحاوي على الهلام من نوع Sephadex G 75 .

تعد طريقة الترشيح الهلامي احدى الطرائق المتبعة لفصل المركبات اعتمادا على الاختلاف في حجم جزيئاتها، فالجزيئات الكبيرة تمر اولا من خلال عمود الفصل، اما الجزيئات الصغيرة فسوف تتمكن من اختراق حبيبات الهلام لذلك فانها تستغرق مدة زمنية اطول فتظهر اخيرا[٢١].

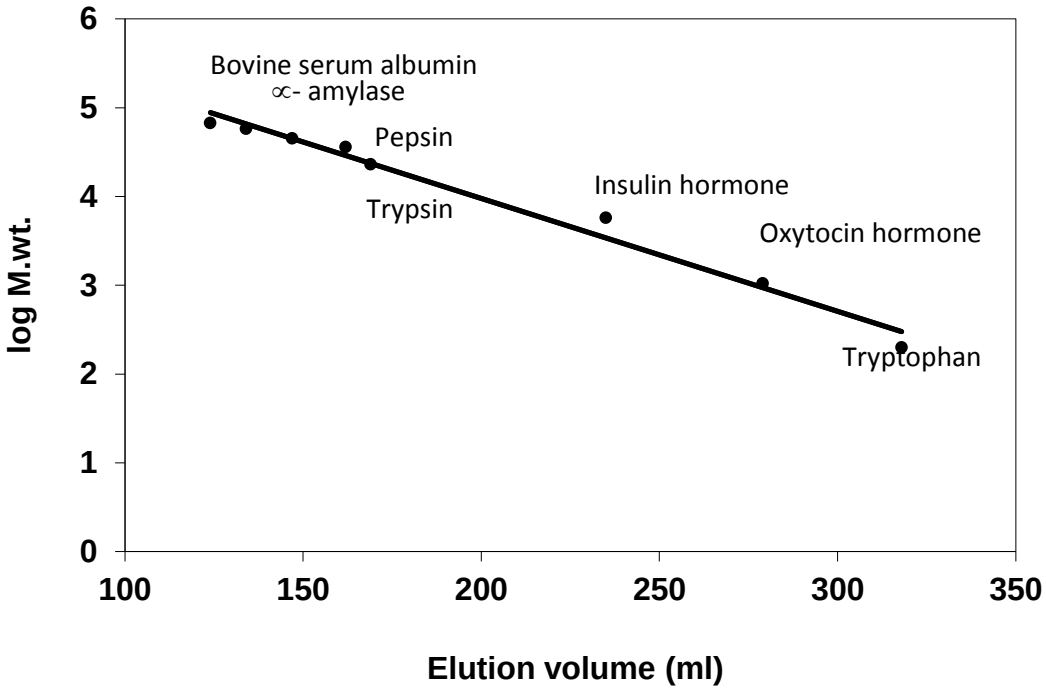
يوضح الشكل (١) فصل المحلول المركز للراسب البروتيني المعزول من جذور الارقطيون، اذ اظهرت نتيجة الفصل وجود قمتين الاولى A وبحجم روغان (١٢٠) سم^{٣} والثانية B بحجم روغان (٢٤٥) سم^{٣}.

الشكل (١): المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المعزول من جذور الارقطيون بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذو الابعاد (١٢٠ × ١,٨) سم والحاوي على الهلام من نوع Sephadex G 70 ، الاحرف A و B تمثل حجم الروغان للقمم الاول (١٢٠سم^{٣}) والثانية (٢٤٥ سم^{٣}) على التوالي للمركبات البروتينية المفصولة، حجم كل جزء ٧ مل وبمعدل جريان٤٢ مل/ساعة.

الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة:

لغرض تعيين الاوزان الجزيئية التقريبية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي، استخدم عمود فصل ذي الابعاد (١٢٠ × ١,٨) سم، اذ تم امرار عدد من المواد المعلومة الوزن الجزيئي، تراوحت اوزانها الجزيئية بين (٢٠٤-٢٠٠٠،٠٠٠) دالتون، بعد ذلك تم تعيين حجم الروغان لهذه المواد كما مبين في الشكل (٢).

وعند رسم حجم الروغان لكل مادة مقابل لوغاريتم الوزن الجزيئي تم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي كما مبين في الشكل (٢) والذي من خلالة يمكن تحديد الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبات المفصولة.



الشكل (٢): المنحنى القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي للبروتين

الجدول (١): الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي

المادة	حجم الروغان (سم^3)	الوزن الجزيئي التقريبي (دالتون)
المركب البروتيني A البارد	١٢٠	٩٩٤٢٦
المركب البروتيني B البارد	٢٤٥	٢٥٧٠

تحديد الجرعة المؤثرة: توضح الجداول (١-٥) تحديد الجرعة الاكثر تاثيرا في خفض مستوى الكلوكوز في ذكور الجرذان السليمة لكل من الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبان البروتينيان A و B.

الجدول (٢): تحديد الجرعة المؤثرة للفلافونويدات

	جرعة الفلافونويدات ملغم/كغم وزن الجسم				
تركيز الكلوكوز (ملي مول/لتر)	السيطرة	٠,٥	١	١,٥	٢
	٠,١٣ ± ٥,٤٧	٠,١٠ ± ٥,٤١	٠,٠٩ ± ٤,٠٣	٠,١١ ± ٥,٧٩	٠,١٠±٥,٣١

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل ± الانحراف القياسي

الجدول (٣): تحديد الجرعة المؤثرة للكلايكوسيدات

	جرعة الكلايكوسيدات ملغم/كغم وزن الجسم				
تركيز الكلوكوز (ملي مول/لتر)	السيطرة	٠,٥	١	١,٥	٢
	٠,٠٩ ± ٥,٦٦	٠,٢٠ ± ٦,٥٤	٠,١١± ٦,٣٥	٠,١٦ ± ٥,٢٧	٠,٠٨ ± ٧,١١

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل ± الانحراف القياسي

الجدول (٤): تحديد الجرعة المؤثرة للمركب البروتيني A البارد

	جرعة المركب البروتيني A ملغم/كغم وزن الجسم				
تركيز الكلوكوز (ملي مول/لتر)	السيطرة	٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠
	٠,١٣ ± ٥,٤٥	٠,٠٩ ± ٦,٢٢	٠,١١ ± ٥,٤٣	٠,١٣± ٦,٦٦	٠,٢١ ± ٦,٣٥

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل ± الانحراف القياس

الجدول (٥): تحديد الجرعة المؤثرة للمركب البروتيني B البارد

	جرعة المركب البروتيني A ملغم/كغم وزن الجسم				
تركيز الكلوكوز (ملي مول/لتر)	السيطرة	٢٥	٥٠	٧٥	١٠٠
	٠,٠٨ ± ٥,٥٤	٠,١٢ ± ٦,٤٣	٠,١١ ± ٦,٥٤	٠,١٩ ± ٥,٠٥	٠,١٩ ± ٥,٤٦

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل ± الانحراف القياس.

تاثير الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية في مصل ذكور الجرذان السليمة:

من خلال المعاملة بالمواد المذكورة انفا وبجرع(٠,١، ٥،١، ٥٠، ٧٥) ملغم/كغم وزن الجسم على التوالي في التجويف البريتوني، تبين ان الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركب البروتيني A ادت الى انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي،بينمااحدثت ارتفاعا معنويا ($p < 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة، في حين لم يؤد المركب البروتيني B الى فرق معنوي ($p < 0.05$) في المتغيرات التي تم دراستها، ماعدا مستوى الكلوكوز فانه انخفض معنويا، وكما هو مشار اليه في الجدول(٦). ان الانخفاض المعنوي الحاصل في مستوى الكلوكوز عند المعاملة بالمواد المذكورة اعلاه قد يعود الى قدرة هذ المواد على زيادة افراز الانسولين من خلايا بيتا[٢٢] ، اما الانخفاض الحاصل في مستوى الكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة قد يعزى ١٠٣''ى قدرة هذه المركبات على تثبيط انزيم بيتا–هيدروكسي مثيل كلوتاريل مساعد الانزيم A ريدكتيز المسؤول عن بناء الكوليستيرول [٢٣] ، او تقلل من كمية البروتين الدهني المتوسط الكثافة المتحول الى البروتين الدهني الواطئ الكثافة [٢٤]. في حين يعزى الارتفاع المعنوي الحاصل في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة نتيجة المعاملة بالمركبات المذكورة انفا، الى قدرة المركبات على تنشيط انزيم لايبوبروتين لايبيز الذي يجهز جزيئات البروتين الدهني عالي الكثافة بالدهون الفوسفاتية و apo A-I اثناء سحب الكليسيريدات الثلاثية من الكيلومايكرونات والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا [٢٥]. وقد يعزى الارتفاع المعنوي الحاصل في مستوى فيتامين C و E الى امتلاك هذه المواد القدرة على ازالة الجذور الحرة وبالتالي التقليل من نسبة فيتامين C و E المستهلكة ، حيث العلاقة بين مستوى فيتامين C و E والجذور الحرة هي علاقة عكسية[٢٦] .

الجدول (٦): تاثير الفلافونويدات والكلاكوسيدات والمركبات البروتينية المفصولة من جذور الارقطيون في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وفيتامين C و E في مصل دم ذكور الجرذان السليمة

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول/لتر)	الكوليستيرول الكلي (ملي مول/لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (ملي/لتر)	فيتامين C (ملغم/١٠٠سم^{3})	فيتامين E (ملغم/١٠٠سم^{3})
السيطرة / سليمة (المحلول الملحي الفسلجي)	e 0.02 ± 5.80	d 0.08 ± 2.38	a 0.04 ± 0.73	a 0.2 ± 1.85	a 0.10 ± 1.29
الانسولين	a 0.03 ± 1.65	a 0.04 ± 1.75	d 0.02 ± 0.97	c 0.3 ± 2.0	c 0.12 ± 1.30
الفلافونويدات	b 0.06 ± 3.23	ab 0.07 ± 1.90	c 0.05 ± 0.89	c 0.34 ± 2.1	c 0.14 ± 1.35
الكلايكوسيدات	c 0.04 ± 3.91	b 0.06 ± 2.02	ab 0.04 ± 0.82	b 0.38 ± 1.90	b 0.12 ± 1.29
المركب البروتيني A	d 0.10 ± 4.80	c 0.06 ± 2.18	bc 0.04 ± 0.80	b 0.31 ± 1.92	b 0.14 ± 1.26
المركب البروتيني B	d 0.21 ± 5.02	d 0.05 ± 2.40	a 0.08 ± 0.73	a 0.41 ± 1.84	a 0.13 ± 1.19

تشير القيم اعلاه الى المعدل ± الانحراف القياسي

الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (٠,٠٥)

تاثير الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر:

ادت المعاملة بالفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركب البروتيني A و وبجرع (٠,١، ٥،١، ٥٠) ملغم/كغم وزن الجسم الى انخفاضا معنويا ($p < 0.05$) في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي. بينما احدثت ارتفاعا معنويا ($p < 0.05$) في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وفيتامين C و E ، ماعدا المركب البروتيني A لم يحدث فرق معنوي ($p < 0.05$) في مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر عند المقارنة مع السيطرة المصابة بداء السكر.

ووجد ان المركب البروتيني B ادى الى انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في مستوى الكلوكوز، بينما لم يؤدي الى أي فرق معنوي في مستوى المتغيرات الاخرى التي تم دراستها. وقد يعزى الانخفاض الحاصل في مستوى الكلوكوز الى ان هذه المركبات تعمل على زيادة تكوين الكلايكوجين من الكلوكوز الزائد في الدم، او قد تعمل على تحفيز افراز الانسولين من خلايا بيتا البنكرياسية غير المحطمة (المتبقية). ، في حين ان الارتفاع المعنوي الحاصل في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة، ربما يعزى الى قدرة هذه المركبات على تحفيز خلايا الكبد والامعاء على انتاج جزيئات البروتين الدهني عالي الكثافة الابتدائية [٢٧] ، اما الارتفاع المعنوي ($p<0.05$) الحاصل في مستوى فيتامين C و E ، قد يعزى الى قدرة هذه المركبات على ازالة الجذور الحرة ، اوتنشيط مضادات الاكسدة الانزيمية [١٧] وهذا يتفق مع نتائج جدول (٩) حيث ادت هذه المركبات الى زيادة فعالية انزيمي الكلوتاثايون بيروكسديز والسوبر اوكسايد ديسميوتيز.

الجدول (٧): تاثير الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية المفصولة من جذور الارقطيون في مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة وفيتامين C و E في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

المعاملات	الكلوكوز (ملي مول/لتر)	الكوليستيرول الكلي (ملي مول/لتر)	كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (ملي مول/لتر)	فيتامين C (ملغم/١٠٠سم^3)	فيتامين E (ملغم/١٠٠سم^3)
السيطرة / سليمة (المحلول الملحي الفسلجي)	b 0.02 ± 5.60	b 0.08 ± 2.38	b 0.04 ± 0.85	d 0.1 ± 1.86	d 0.03 ± 1.22
سيطرة/مصابة بداء السكر	e 0.87 ± 16.46	c 0.13 ± 2.96	a 0.02 ± 0.45	a 0.11 ± 1.34	a 0.02 ± 0.71
الانسولين	a 0.40 ± 3.52	a 0.05 ± 2.10	c 0.10 ± 0.90	d 0.09± 1.80	c 0.01 ± 1.00
المستخلص غير البروتيني	c 0.51 ± 9.35	a 0.09 ± 2.19	c 0.09 ± 0.91	d 0.1 ± 1.89	e 0.01 ± 1.31
الراسب البروتيني	cd 0.49 ± 8.92	b 0.18 ± 2.41	b 0.12 ± 0.71	c 0.12 ± 1.63	c 0.03 ± 1.01
المركب البروتيني A البارد	e 0.70 ± 16.81	c 0.45 ± 2.96	b 0.06 ± 0.70	b 0.04 ± 1.59	b 0.06 ± 1.77
المركب البروتيني B البارد	d 0.15 ± 10.48	c 0.30 ± 2.95	a 0.06 ± 0.43	a 0.09 ± 1.32	a 0.07 ± 0.72

تشير القيم اعلاه الى المعدل ± الانحراف القياسي

الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (٠,٠٥)

تـاثير الفلافونويـدات والكلايكوسـيدات والمركبـات البروتينيـة فـي انسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الجرذان السليمة:

ادت المعاملـة بالفلافونويـدات والكلايكوسـيدات وبجـرع(١، ١,٥) ملغم/كغـم وزن الجسـم الـى ارتفـاع معنـوي ($p < 0.05$) فـي فعاليـة الكلوتاثـايون بيروكسيديز في انسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنـة مـع السيطرة، ، في حين لم يؤد المركبان A و B وبجرع (٥٠،٧٥) ملغم/كغم وزن الجسم فرقا معنويا ($p > 0.05$) في فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز في انسجة الكبد والكلية والقلب عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما احدثت الفلافونويدات والكلايكوسيدات ارتفاعا معنويا ($p < 0.05$) في فعاليـة انـزيم السـوبر اوكسـايد ديسـموتيز فـي انسـجة الكبـد والكليـة والقلـب لذكور الجرذان السليمة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد يعزى ذلك الـى قـدرة هذه المركبـات علـى تقليـل عمليـة تسـكر البـروتين (Protein glycation) من خلال تقليل مستوى السكر في الدم، حيث انه العلاقة بين تسكر البروتين ومستوى مضادات الاكسدة الانزيمية علاقة عكسية، او انـه هذه المركبـات تعمـل علـى تنشيط مضـادات الاكسـدة الانزيميـة ومنهـا انـزيم سوبر اوكسايد ديسموتيز [٢٨].

الجدول (٨): تاثير الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية المفصولة من جذور الارقطيون في فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز والسوبر اوكسايد ديسموتيز في انسجة الكبد والكلية والقلب في ذكور الجرذان السليمة

المعاملات	الكلوتاثايون بيروكسيديز (U/غم)			سوبر اوكسايد ديسموتيز (U/غم)		
	كبد	كلية	قلب	كبد	كلية	قلب
السيطرة / سليمة (المحلول الملحي الفسلجي)	a 0.01 ± 0.32	a 0.04 ± 0.29	a 0.02 ± 0.27	a 18.13± 302.22	a 25.13 ± 289.25	ab 10.32± 2221.3
الانسولين	d 0.03 ± 0.38	d 0.01 ± 0.34	c 0.05 ± 0.30	e 15.12 ± 403.12	d 15.61 ± 232.11	e 29.31 ± 295.21
الفلافونويدات	c 0.02 ±0.35	de 0.02 ± 0.35	e 0.04 ± 0.33	c 25.24 ± 388.24	c 18.11 ± 329.22	d 20.40 ± 277.24
الكلايكوسيدات	b 0.06 ± 0.33	c 0.04 ± 0.33	d 0.02 ± 0.32	d 19.25 ± 399.32	b 19.61 ± 322.14	c 20.61 ± 254.33
المركب البروتيني A البارد	a 0.03 ± 0.32	ab 0.01 ± 0.30	a 0.06 ± 0.28	ab 10.23 ± 350	a 20.81 ± 288.11	ab 30.81 ± 222.41
المركب البروتيني B البارد	a 0.04 ± 0.32	a 0.08 ± 0.29	ab 0.01 ± 0.29	c 25.12 ± 350.21	a 34.51 ± 229.44	a 31.81 ± 275.8

تشير القيم اعلاه الى المعدل ± الانحراف القياسي

الاحرف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (٠,٠٥)

تـاثير الفلافونويـدات والكلايكوسـيدات والمركبـات البروتينيـة فـي انسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان:

احـدثت المعاملـة بالفلافونويـدات والكلايكوسـيدات وبجـرع (١، ١,٥) ملغم/كغم وزن الجسم ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز وسوبر اوكساید ديسموتيز في انسجة الكبد والكلية والقلب لذكور الجرذان المصابة بداء السكر عند المقارنة مع السيطرة المصابة بداء السكر.

ان الارتفاع المعنوي الحاصل في فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز والسوبر اوكساید ديسموتيز، ربما يعزى الى قدرة المركبات المذكورة سابقا في ازلة الجذور الحرة، او تمتلك آلية مضادة للاكسدة، او انها تعمل على تنشيط مضادات الاكسدة الانزيمية الكاسحة للجذور الحرة [٢٩] .

الجدول (٩): تاثير الفلافونويدات والكلايكوسيدات والمركبات البروتينية المفصولة من جذور الارقطيون في فعالية الكلوتاثايون بيروكسيديز والسوبر اوكساید ديسموتيز في انسجة الكبد والكلية والقلب في ذكور الجرذان المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

المعاملات	الكلوتاثايون بيروكسيديز (U/غم)			سوبر اوكساید ديسموتيز (U/غم)		
	كبد	كلية	قلب	كبد	كلية	قلب
السيطرة / سليمة (المحلول الملحي الفسلجي)	f 0.01 ± 0.32	f 0.08 ± 0.29	f 0.03 ± 0.27	e 31.51 ± 353.21	e 21.41 ± 282.11	f 19.61 ± 224.58
سيطرة /مصابة بداء السكر	a 0.009 ± 0.08	a 0.003 ± 0.07	a 0.001 ± 0.05	a 12.11 ± 152.62	a 20.81 ± 133.52	a 31.52 ± 105.31
الانسولين	e 0.03 ± 0.18	de 0.04 ± 0.14	e 0.04 ± 0.20	c 26.91 ± 248.31	d 21.71 ± 204.36	e 30.21 ± 196.55
الفلافونويدات	d 0.04 ± 1.5	e 0.06 ± 0.15	d 0.02 ± 0.13	c 11.61 ± 248.66	b 12.61 ± 207.25	d 15.61 ± 188.24
الكلايكوسيدات	c 0.05 ± 0.13	c 0.03 ± 0.13	c 0.05 ± 0.12	d 20.51 ± 236.58	c 29.31 ± 200.22	c 18.14 ± 176.21
المركب البروتيني A البارد	b 0.06 ± 0.12	b 0.02 ± 0.10	b 0.002 ± 0.08	a 20.61 ± 155.81	a 24.6 ± 129.99	ab 29.31 ± 110.63
المركب البروتيني B البارد	B 0.03 ± 0.12	b 0.01 ± 0.09	b 0.03 ± 0.09	ab 21.81 ± 152.22	ab 20.14± 134.22	a 26.24 ±108.31

تشير القيم اعلاه الى المعدل ± الانحراف القياسي

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

References

1. Gruenwald J., Brendler T. and Jaenick C. (2000). "Herabl Medicine". 2nded., Montvale, NJ., Medical Company.P.147.
2. Holctz F.B., Pessini G.L. and Sanches N.R., (2002), "Screening of some plants used in the Brazilian medicine for the treatment of infections diseases". *Med. Inst. Oswalde. Graz. 97(7): 1027-1031.*
3. Cho S.Y., Park J.Y., Choi M.S. and Park Y.B. (2002). "Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract". *Clin. Chim. Acta., 317(1-2): 109-117.*
4. Sinclair A.J., Lunec J., Girling A.J. and Barnett A.H. (1992). "Modulators of free radical activity in diabetes mellitus: Role of ascorbic acid". *Nat. Libr. Med., 62: 342-352.*
5. Vural H., Sabuncu T., Arslan S.O. and Aksoy N. (2001). "Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulate the antioxidant status of diabetic rats". *J. Pineal Res., 31(3): 193-198.*
6. Kakkar R., Kalra J., Mantha S.V. and Prasad K. (1995). "Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats". *Mol. Cell. Bio. Chem., 151(2): 113-119.*
7. Akkus I., Kalak S., Can G. and Durmus B. (1996). "Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus". *Clin. Chim. Acta, 244(2): 221-227.*
8. AL-Saadon M.B., (2008)."Studying some of the extracts and isolated protienous compounds from apple (*Pyrus malus*) in mice exposed to oxidative stress". *J. Sci. Rafi., 19 (1) : 116-133.*
9. AL-Saadon M.B., (2005). "Isolation of the extracts from celery (*Apium graveolens*) seeds and studying their effects in mice exposed to oxidative stress". Submitted of Doctor, College of Education, University of Mosul.P.1.
10. AL-Saadon M.B., (2008). "Isolation and study of proteinous precipitate and active proteinous compounds from *Capsium frutescens* (Chilli) fruit in the normal and diabetic rabbits". *Tik . J. pure Sci 14 (1) : 11-22.*
11. Quine S.D and Raghu P.S., (2005). "Effects of (-) epicatechin, aflavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in alloxan - induced diabetic liver, kidney and heart". *pharmacol., 57: 610-615.*

12. Harbone J.B. (1973). "Phytochemical Methods". 1st ed., COX and Wayman Ltd., London, pp. 192, 519.
13. Robyt F.J. and White J.B., (1987). "Biochemical Techniques, Theory and Practice", Brookeslcloe Publishing Company, Monterey, California, pp. 115-118.
14. Abdel-Hassan L.A., Abdel-Bary J.A. and Tariq M.S., (2000). "The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits". *J. Ethnopharm., 71: 325-330*.
15. Burtis C.A and Ashwood E.R., (1999). "Tietz text book of clinical chemistry", 3rd ed., W.B. Saunders company, London, pp. 840-841.
16. Fischbach F.,(2000). "AManul of laboratory and diagnostic tests", 6th ed., Lippincott. USA., p.341.
17. Prakasam A., Sethupathy K. and Pugalendi K.V., (2003)."Effect of *casearia esulenta* root extract on blood glucose and plasma antioxidant status in streptozotocin diabetic rats". *J. Pharmacol., 55 : 43-49*.
18. Latha M and Pari L.,(2004). "Effect of an aqueous extract of scoparia dulcis on blood, plasma insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetic". *Braz . J. Med. Biol. Res., 37(4) :577-586*.
19. Al-Muslih R.K., Al-Zamely O.M.Y. and Al-Nimer M.S., (2001). "Detection the level of peroxynitrite and related with antioxidants status in the serum of patients with acute myocardial infraction". *N. J. Chem., 4: 625-637*.
20. Steel R.G. and Torrie J.H., (1984) "Principles and Cedures of Statistics a Biometrical Approach", 2nd ed., McGraw-Hill, Inc., Singapore, P.183.
21. Plumer D.T., (1978). "An Introduction of Practical Biochemistry", 2nd ed., McGraw-Hill Book Company , UK, p. 61.
22. Gidado A., Ameh D.A. and Atawodi S.E.,2001. "Effect of Aloe vera leaves on blood glucose levels in type I and type II diabetic rat models". *Phytother. Res., 15: 157-161*.
23. Pushpara P., Tan B.H.K. and Tan C.H., (2001) ." Effects of *Averrhoa billimli leaf* extract on blood glucose and lipids in streptozotocine diabetic rats". *J. Ethnopharmacol., 72: 69-76*.
24. Ram A., Lauria P., Gupta R. and Kumar P., (1997). "Hypocholesterolaemic effects of Terminalia arjuna tree bark", *J. Ethnopharmacol., 55: 165-169*.
25. Henriksen A.V., Lotte N.K. and Capristo E., (1999). "Triglyceride induced diabetes associated with familial lipoprotein lipase deficiency". *Diabetes, 48: 1236-1258*.
26. Eshrat H.M.and Mukhopadhyay A.K., (2006). "Effect of *ocimum sanctum* (Tulsi) and vitamin E on biochemical parameters and retino0pathy in streptozotocin indued diabetic rats". *Indian. J. clin Biochem., 21(2): 181-188*.
27. Pari L. and Latha M., (2002)."Effect of Cassia Aurjculata flowers on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats". *Sing. Med. J., 43(12): 617-621*.
28. Kaleem M., Asif M., Ahmed Q.U. and Bano B.,(2006). "Antioxidant and antidiabetic activityof *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats". *Singa M.J., 47(8): 670-675*.
29. Shirwaikar A., Rajendran K. and Kumar D., (2004). "Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin nicotin amide type-2 diabetic rats."*J.Ethnopharm.,91:171-175*.

Biochemical studies of flavonoids, glycosides and active proteinous compounds isolation from Burdock (*Arctium Lappa*) roots in normal and diabetic rats

M.B. Al-saadon
Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul , Mosul , Iraq
(Received 20 / 4 / 2008 , Accepted 29 / 10 / 2008)

Abstract
This study was included the isolation of a flavoniods, glycosides and proteinous compounds of *Arctium Lappa* roots. The proteinous compounds, separated by using the gel filtration technique which was isolated two compounds A (M.wt 99426) Dalton and B (M.wt 2570) Dalton.
Compounds were administrated interaperitioneally. After one week from the treatment the results were indicated that the flavoniods and glycosides at the dose (1,1.5)mg/kg body weight which were caused a significant decrease ($P < 0.05$) in serum glucose (glu), total cholesterol (TC) levels, with an associated significant increase ($P < 0.05$) in serum high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), vitamin C and vitamin E level, Glutathion peroxidase (GSH-PX) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activity in liver, kidney and heart tissues, in normal and alloxan-induced diabetic rats.
Finally, we suggest that most of compounds isolated from *Arctium Lappa* roots (especially the flavoniods) have antireactive oxygen species (ROS) effect in normal and diabetic rats.
Keywords: burdock, flavoniods, glycosides, diabetes mellitus