دراسة مقارنة لتاثير خلاصة بذور الحلبة *(Trigonella foenum-graecum)* ، وثمار القرنفل (*Syzygium aromaticum*) والانسولين في خفض مستوى سكر الدم لإناث الفئران البيض المستحث فيها داء السكري بعقار الالوكزان .

جواد كاظم عيسى / جامعة واسط / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

Comparative Study for the Hypoglycemic Effect of *(Trigonella foenum-graecum)*Seed, *(Syzygium aromaticum)* Fruit Extracts and Insulin in Alloxan-Induced Diabetic Female Albino Mice .

Jawad K. Isa- Waist University -College of Science- Dep:Biology

Summary

The present study has been carried out to determine the hypoglycemic effect of (Trigonella foenum-graecum) seed and (Syzygium aromaticum*)* fruit extracts administration as well as insulin injection in alloxan – induced diabetic female albino mice. Forty mice were randomaly assigned into two groups, control (10 mice) drenched with drinking water, while treated group (30 mice) were injected with alloxan (150 mg / kg) body weight. Treated group was further divided into three equal groups , first group drenched with (Trigonella foenum-graecum) seed extracted (200 mg / kg .b .w) , second group drenched with (Syzygium aromaticum) fruit extracted (200 mg / kg .b .w) , and third group injected with insulin (0.02 unit / mg / kg . b. w) .

The results revealed potent hypoglycemic effect of both (Trigonella foenum-graecum) seed extract and (Syzygium aromaticum) fruit extract in diabetic groups which showed no significant differences when compared with that of control and Significant differences when compared with that of alloxan group . On the other hand (Trigonella foenum-graecum) seed extract revealed more potency than (Syzygium aromaticum) fruit extract.

الخلاصة

اجريت التجربة الحالية لمعرفة تاثير تجريع المستخلص الكحولي لبذور الحلبة (200ملغم /كغم) من وزن الجسم، وثمار القرنفل (200ملغم /كغم) من وزن الجسم ، والانسولين(٠٢و٠وحدة / ملغم/ كغم) من وزن الجسم ، في خفض تركيز سكر الدم لاناث الفئران المستحث فيها داء السكري تجريبيا باستخدام عقار الالوكسان (١٥٠ ملغم / كغم) من وزن الجسم . تقسم (40 فارة) من اناث الفئران البيض الى مجموعتين مثلت الاولى السيطرة ضمت (10 فارة) اما المجموعة الثانية (30 فارة) حقنت بمادة الالوكسان ثم

قسمت الى ثلاث مجاميع ثانوية جرعت الاولى بالمستخلص الكحولي لبذور نبات الحلبة والثانية بالمستخلص الكحولي لثمار القرنفل والثالثة حقنت بعقار الانسولين .
اظهرت نتائج الدراسة في كل الفحوصات التي أجريت ان هنا ك تاثيرا فعالا للمستخلصات النباتية (بذورنبات الحلبة ، ثمار القرنفل) في خفض مستوى سكر الدم مع عدم وجود فروق معنوية بمستوى ($p< 0.05$) في كل المجاميع مقارنة مع مجموعة السيطرة مع وجود فروق معنوية بمستوى ($p< 0.05$) مع مجموعة الالوكسان وتبين إن المستخلص الكحولي لبذور نبات الحلبة كان له التأثير الأكبر بالمقارنة مع مجموعة القرنفل في خفض مستوى سكر الدم .

المقدمة

إن مرض السكري هو اضطراب في التمثيل الغذائي ويتصف بنقص في إنتاج أو فعالية الانسولين insulin ، أن الأنسولين الهرمون الوحيد الذي يعمل على خفض نسبة الكلوكوزفي الدم وينتج هذا الهرمون في خلايا بيتا التي تكون جزءا من جزيرات لانكرهانز في النسيج البنكرياسي والأنسولين يساعد في تحويل الكلوكوز إلى كلايكوجين وتسمى العملية Glycogensis والى مواد دهنية وتسمى Lipogenesis في الأنسجة الدهنية(1). إن وجود الأنسولين في الجسم بكميات كافية مناسبة ضروري وأساسي لتمثيل الكلوكوز طبيعيا داخل الخلايا . لان هذا الهرمون يفرز من البنكرياس ليلامس المستقبلات على سطح الخلية وفوق ذلك يخبر الخلية بأنه يوجد بعض الكلوكوزفي الدم وبعد أعلام المستقبلات يسمح للكلوكوز بالدخول خلال غشاء الخلية لتغذيتها ، تنتشر مستقبلات الانسولين على سطح خلايا الجسم كالامعاء والقلب والكبد والعضلات ووظيفتها استلام الانسولين المفرز من البنكرياس وتسهيل عملية استعماله من قبل خلايا الاعضاء المذكورة (2) . كما إن النقص في كمية الأنسولين ينتج عنه ضعف وإعاقة تحطيم الكلوكوز داخل الخلايا وعرقلة تحويله إلى كلايكوجين glycogen او إلى دهن ونتيجة لذلك يتراكم الكلوكوز في الدم ويسبب Hyperglycemia ويظهر كذلك في إفرازات البول Glycosurea (7) . يعد نبات الحلبة (*Trigonella foenum-graecum*) من النباتات الطبية المهمة إذ تحتوي بذور هذا النبات على العديد من المواد الفعالة مثل القلويدات (Trigonellene , Choline) ، (Saponine) ، بالاضافة الى (28%) مواد صمغية ، (22%) بروتين ، (6%) زيوت ثابتة ، وتشير بعض المصادر الى استخدامها في الطب الشعبي لعلاج امراض المعدة وتخفيض نسبة السكر في الدم وتشير مصادر اخرى الى استخدام مغلي بذور الحلبة في تغذية الجسم ومساعدة مرضى الداء السكري لشفاء الجروح (3) . لقد استخدمت بذور الحلبة منذ مئات السنين وقد قيل فيها ان الناس لوعلموا مافيها من فائدة لاشتروها بوزنها ذهبا ، وتعتبر الحلبة من امن الادوية لهذا الغرض كما انها بجانب تخفيضها لسكر الدم تقوم بتخفيض الكوليسترول وتهبط سرطان الكبد وتقوم ايضا بادرار الحليب لدى المرضعات(18) . احد الباحثين في فرنسا عام (1984) قدم بحثا عن خصائص الحامض الاميني (Hydroxyisoleucine - 4) المستخلص من بذور الحلبة والمنشطة للانسولين حيث يقلل زيادة سكر الكلوكوز في الدم مع زيادة افراز الانسولين من خلال تاثيره على خلايا لانجرهانز في البنكرياس وقد اثبت ان الحامض الاميني يحفز افراز الانسولين استجابة لزيادة تركيز الكلوكوز ، واستنتج الباحث ان الحامض الاميني له تاثير منشط للانسولين ولذا يفضل مرضى السكري استخدام بذور الحلبة (2) . كما ان للحلبة تاثير مخفض لكوليسترول الدم لوجود المواد الصابونية والني تؤثر على ايض الكوليسترول وامتصاص واخراج الاحماض الصفراوية ، حيث ان المواد الصابونية المشتقة من الحلبة ربما تزاحم الكوليسترول خلال مواقع ارتباطه او انها تتدخل في التكوين الحيوي لكوليسترول الكبد وان الالياف الزيتية الموجودة في الحلبة ربما تقلل من امتصاص الكوليسترول في الامعاء الدقيقة (13) .
تحتوي ثمار نبات القرنفل (Clove) (*Syzygium aromaticum*) على زيت طيار تصل نسبته الى(21%) ومواد قابضة حوالي (13%) بالاضافة الى مادة متبلورة تسمى (Caryophyllin) واهم مكونات زيت القرنفل هي مادة (Eugenol) وهي مادة فينولية تعتبر المكون الرئيسي للزيت التي تعتبر

كعامل مضاد للاكسدة بالاضافة الى (Gallic acid) (4) كما تشير بعض المصادر الى الفعل المطهر لزيت القرنفل كمضاد للبكتريا والفطريات (5) .

المواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص النباتي الخام :- تم تحضير المستخلص الخام لبذور نبات الحلبة وثمار نبات القرنفل وفقا (6) . استخدمت (40 فارة) من اناث الفئران البيض قسمت عشوائيا الى مجموعتين المجموعة الاولى تمثل مجموعة السيطرة تضم (10 فارة) اما المجموعة الثانية تضم (30 فارة) حقنت بعقار الالوكسان ثم قسمت هذه المجموعة الى ثلاث مجاميع ثانوية ووزعت الحيوانات باعداد متساوية بواقع (10 فارة) لكل مجموعة لتعامل لاحقا بكل من مستخلص بذور الحلبة وثمار القرنفل والحقن بالانسولين على التوالي .

المستخلص الكحولي الايثانولي :- تم وزن 50غم من مسحوق العينة النباتية الجافة (بذور الحلبة ، براعم القرنفل) التي تم شرائها من السوق المحلية بعد تنظيفها وتجفيفها٠ووضعت كل منهما في الكشتبان (Thambel) ثم وضع في جهاز السكسوليت (Soxhlet) بعد ان أضيف إليه 250 مل من الكحول الايثانولي المطلق (95%) وترك لمدة ثمان ساعات ثم رشح بورق الترشيح وركز المستخلص بجهاز المبخر الدوار الى حين الحصول على سائل كثيف تم حفظه في عبوات زجاجية معقمة بدرجة (-4 م) الى حين الاستعمال .

طريقة ومدة التجريع :- أعطيت الجرعة عن طريق الفم يوميا بأستخدام اللي المعدي ولمدة 30 يوما .

استحداث داء السكري :- تم استحداث داء السكري عن طريق حقن عقار الالوكسان Alloxan monohydrated (٥% و / ح) مذابة في المحلول الفسيولوجي بجرعة (١٥٠ ملغم / كغم) من وزن الجسم في حجم (١و٠ مل) . (8) .

الحقن بعقار الأنسولين :- تم الحقن بعقار الأنسولين بجرعة (٠٢و٠وحدة / ملغم/ كغم) من وزن **الجسم .**

جمع النماذج لقياس مستوى سكر الدم :- خدرت الحيوانات بواسطة الايثر وتم سحب الدم من القلب مباشرة ووضع الدم في أنابيب ابندروف Eppendrof tube ثم في جهاز الطرد المركزي لمدة (15) دقيقة لفصل مصل الدم ثم حفظ الى حين استخدامه لغرض قياس سكر الدم .

التحليل الإحصائي :- تم تحليل البيانات بأستخدام برنامج التحليل الجاهز (SPSS). وتم اختبار المتوسطات وفق تحليل ANOVA (اختبارF) ومقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات المدروسة باستعمال اختبار Duncan متعدد الحدود على مستوى احتمالية ($P<0.05$) . (9) .

النتائج والمناقشة

اثبتت نتائج الدراسة بان هناك تاثيرا فعالا للمستخلصات النباتية (الحلبة ، القرنفل) في خفض مستوى الكلوكوز في دم الفئران المعاملة بالالوكسان اذ لوحظ عدم وجود فروق معنوية ($P< 0.05$) بين المستخلصات النباتية المذكورة مع مجموعة السيطرة، مع وجود فروق معنوية ($P< 0.05$) بين المستخلصات النباتية المذكورة مع مجموعة الالوكسان كما هو موضح في جدول رقم (١) الا انه كان مستخلص الحلبة اكثر فعالية من مستخلص القرنفل في خفض مستوى السكرفي دم الفئران المعاملة بالالوكسان .

جدول (١) : يوضح تاثير المستخلصات النباتية ، الانسولين في خفض مستوى

الكلوكوز في الفئران المستحث فيها داء السكري بالالوكزان .

المجاميع	مستوى الكلوكوز mg / dl (المعدل الحسابي± الخطا القياسي)
السيطرة (الفئران غير المصابة) المعاملة مع الماء المقطر فقط	ا –١٦٣,٢٠± ٩,٠٥
المعاملة بالالوكزان	ب– ٨٠ , ٢٣٨± ٢٥.٠٩
المعاملة مع مستخلص بذور الحلبة (trigonella foenum - graecum) ٢٠٠ ملغم / كغم لمدة ٣٠ يوم بعد المعاملة بالالوكزان	ا– ١٧٢.٢٢ ±١٣.٠٢
المعاملة مع مستخلص ثمار القرنفل (Syzygium aromaticum) ٢٠٠ ملغم / كغم لمدة ٣٠ يوم بعد المعاملة بالالوكزان	ا– ١٩٠ ,٢٦ ± ١٤ ,٠٣
المعاملة بالانسولين	ا– ١٣, ١٥٣± ٨,٠٧

الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فروق معنوية بمستوى ($P < 0.05$)

كما اثبتت نتائج هذه الدراسة ان نقص الانسولين وارتفاع مستوى السكر في دم الفئران يحدث عنداعطاء مادة (Alloxan monohydrate) وهو مركب سام انتقائي يحطم خلايا بيتا المنتجة للانسولين في البنكرياس ((10,11) .وبذلك فهو يسبب داء السكري المعتمد على الانسولين يسمى (Diabetic dependent insulin I) في حيوانات التجربة مع خصائص مشابهة للنوع الاول من داء السكر الذي يحدث عند الانسان

اثبتت نتائج الدراسة هذه الى ان تاثير مستخلصات الحلبة والقرنفل يعملان على تحسين السيطرة على مستوى سكر الدم في الفئران المصابة بداء السكري المستحث بالالوكسان والمعروف عن الانسولين انه يزيد من معدل دخول الكلوكوزالى داخل الخلايا من خلال زيادة عدد نواقل الكلوكوز في الغشاء البلازمي وذلك بزيادة معدل تحريكها خلال الغشاء (11) ، كذلك يعمل الانسولين على تقليل مستوى السكر عن

طريق تحفيزه لنشاط الخمائر المسؤولة عن عملية هدم الكلوكوز وهي (Pyruvate kinase , Phosphofructo kinase)
وبالمقابل يثبط الانسولين الخمائر المسؤولة عن تكوين الكلوكوز وهي (Pyruvate Carboxylase, Fructose-1,6-biphosphatase, Glucose-6-phosphatase) . ،وبما ان مادة الالوكسان التي جرعت بها حيوانات التجربة وادت الى تدمير خلايا بيتا المنتجة للانسولين في البنكرياس لذلك فمن المحتمل ان المستخلصات النباتية موضوع الدراسة (الحلبة ، القرنفل) كان عملها مشابه لعمل الانسولين .
ايضا تاثير بذور الحلبة (Fenugreek) في تخفيض مستوى سكر الدم في الفئران المعاملة بالالوكسان بسبب احتوائها على الالياف (13و 12) حيث ان المواد الغذائية الغنية بالالياف تخفض بدرجة مهمة سكر الدم اضافة الى الكليسيريدات الثلاثية والكوليسرول ، حيث ان الالياف الذائبة تكون شبيهة بالهلام تساعد على ربط احماض الصفراء مما تساعد في تخفيض الكوليسترول(1) ، ايضا الالياف الموجودة في مستخلص بذور الحلبة يمكن ان تثبط عملية امتصاص الكلوكوز والدهون في جهاز الهظم (12, 2) ، ايضا من ضمن المجاميع الفعالة الموجودة في بذور الحلبة هي مجاميع صغيرة من القلويدات ، Trignonelline التي لها خصائص طبية بالاضافة الى مادة (Saponins) المسؤولة عن تخفيض كلوكوز الدم ، الدهون والكوليسترول (14).

بعض الباحثين لاحظ بان هناك زيادة في مستوى الكوليسترول في الدم (Hypercholesterolemia) عند المصابين بداء السكر مقارنة مع الاشخاص الاصحاء (15) ، وعندما تكون هناك مستويات عالية للسكر في الدم وعندما يستقلب السكر فانه يطلق الجذور الحرة التي تجعل الكوليسترول ضارا (2) ، وهذه الحالة تسبب الضرر للانسجة وتجعل الخلايا لاتستفيد من سكر الكلوكوز ويبقى بمستويات عالية في الدم .
مستخلص ثمار القرنفل يمكن ان يعمل كمضاد للاكسدة (Antioxidant) يعمل على معادلة الجذور الحرة ويمنعها من احداث الضرر للانسجة (16) ويمكنها من الاستفادة من سكر الكلوكوز وبالتالي تنخفض مستوياته في الدم . ومن المكونات الرئيسة التي يحتويها مستخلص ثمار القرنفل هي (Gallic acid , Engenol) حيث تبدي فعالية عالية كعوامل مضادة للاكسدة(17) ايضا ممكن ان يحتوي مستخلص ثمار القرنفل على مكونات اخرى فعالة تعمل بشكل مباشر او غير مباشر على تخفيض مستوى الكلوكوز في الدم .

اعتمادا على نتائج هذه الدراسة يمكن ان نستنتج ان عمل المستخلصين النباتيين (بذور الحلبة وثمار القرنفل) مشابه لفعل الانسولين واعتمادا على نتائج هذه الدراسة على انها مشروع مستقبلي لدراسة تاثير المستخلصين المذكورين على مرضى السكري من النوع الثاني او الذين لديهم تسلسل وراثي والذين لديهم استعداد وراثي الى تناول بذور الحلبة بالاضافة الى الاشخاص المصابين بهذا المرض مما يقلل الاثار الجانبية لداء السكري ومضاعفاته المحتملة بالاضافة الى تجنب الاثار الجانبية للادوية المستعملة ، كذلك فان اضافة ثمار القرنفل كتوابل او اضافتها الى مكونات الغذاء يمكن ان يحقق الهدف نفسه .

المصادر (References)

١- النوري ،فاروق فاضل و الطالبني ، لامعة جمال (١٩٨١). تغذية الإنسان . دار الكتب للطباعة والنشر الموصل ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .
٢- عيسى ، جواد كاظم (٢٠٠٣). عالج نفسك بالغذاء من الكولسترول ،تصلب الشرايين ، ضغط الدم ، السكري . الطبعة الأولى دار عالم الثقافة للنشر والتوزيع عمان – الأردن .

٣- النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي(١٩٨٨) . جامعة الدول العربية / المنظمة العربية للتنمية الزراعية / الخرطوم.
٤- حسين ، فوزي طه قطب (١٩٧٩) . النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها . الدار العربية للكتاب ، ليبيا- تونس .
٥- شنن ، بشار(٢٠٠٤) . دراسة الخواص المطهرة لبعض النباتات الطبية الزعتر-القرنفل . (رسالة ماجستير) . قسم الكيمياء ، كلية العلوم،جامعة حلب .
6- Harborne ,J.B. (1973). Photochemical methods science paper able active, Chapman &Hall pub .
7- Furuse M, kumara C, Mabel RT , Takashi (1993). Dietary sorbs prevents & Improves hyperglycemia genetically in diabetic mice .J Nutria, 123:59-65.
8- Benedict SR.(2006). The detection & estimation of glucose in blood .J. Am. Med.Assoc; 57:1193-1196.
9- Duncan , Multiple range & Multiple F-test Biometrics.(1955); 11:1-42.
١٠- اسماعيل ، مطاع عبد المطلب عيد (٢٠٠٢) . تاثير بعض النباتات الطبية على مرضى السكري في الجرذان. (رسالة ماجستير) . كلية الطب البطري ، جامعة الموصل .
11- Aschcroft,F.M and Aschcroft,S.J.H.(1992) . Insulin: molecular biology to Pathology.pp.155-174.
12- Xue, Wan-Li. MB, Xuan-she Li . MD, J,Z. MD, Y,H,L.Wang,z. Zhang,R.(2007). Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extract on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats . Asta Pac J Clin Nutr, 16 (Suppl 1) : 422-426.
13- Sharma, F.D., Raghuram, T. C . and Rao, N.S. (1990) . Effect of fenugreek seeds on blood glucose and serum lipids in type 1 diabets .J .Clin. Nutr ., 44 : 301-306 .
14- Van Wyk B-E, Wink M (2004) : *Medicinal Plants of the World* .Briz Publications, Pretoria, pp. 1-304.
15- Garcia , M. J . , Mcnamara , P.M., Grodon, T. and Kannel , W. B .(1974) . Diabetes, 23 : 1-5-111.
16- Shyamala , M.P. Venukumar, M.R. Latha, M.S. (2003) . Antioxidant Potential of the *Syzygium aromaticum* (Gaertn) Linn. (Cloves) in rats fed with high fat diet .
17- Kramer R.E. (1985). Antioxidants in clove **. *J* . *Amer Oil Chem Soc*, 62 111-13.**
١٨- عبد القادر ، حليمي (١٩٩٧) . النباتات الطبية . الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة ، الاتحاد العالمي لحفظ الطبيعة ، وزارة الفلاحة والصيد البحري ، الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية .

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠١٠/١/٤)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠١٠/٦/٦)