



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية / قسم علوم الحياة

بحث عن

دراسة تأثير مستخلص الشاي الأخضر *Camellia Sinensis*

في مستوى بعض المعايير الكيموحيوية

لذكور الجرذان البالغة

مقدم من قبل الطالبة ( زينب سعد ونان )

الى كلية التربية / قسم علوم الحياة في جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

بإشراف

د . ايناس محمد مجهول

## ﴿ الإهداء ﴾

الى من علم البشرية مبادئ العلم والثقافة الى منارة العلم الى سيد  
الخلق رسولنا وحبیبنا الاكرم ( ص )

الى من علمني كيف ارتقي سلم النجاح بصبره وحكمته والدي العزيز ...

الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها منطلق افكاري الى حبيبتي  
اهدي روعي وكل طموحي والدي العزيزة ...

الى عيني ومهجتي الى من اعتمد عليهم وقت شدتي اخي واخواني  
الأعزاء ...

الى من شاطرنى أفكاره وابداعاته الى من سار معي في طريق النجاح  
زملائي وزميلاتي الأعزاء ...

## ﴿ الشكر والتقدير ﴾

اللهم لك الحمد والشكر على ما اوصلتني الية وفضلت به علي وعلى والدي , اسألك ان تشرح لي صدري وتيسر لي امري وتجعل لي من لدنك سلطاناً نصيراً .

اما بعد فأتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى استاذتي الفاضلة ( الدكتورة ايناس محمد مجهول ) التي شرفتني واکرمتني بإشرافها القيم ومتابعتها المتواصلة لي في كتابة هذا البحث .

لا بد لنا ونحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود الى أعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين بذلك جهوداً كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الامة من جديد .

وقبل ان نمضي تقدم اسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة الى الذين حملوا اقدس رسالة في الحياة الى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة الى جميع اساتذتنا الافاضل في قسم علوم الحياة

## المقدمة

يحتل العلاج بالنباتات والأعشاب الطبية مكانة مهمة في علوم الطب والصيدلة اذ يعتبر مصدراً أمنياً لصناعة الأدوية. وأثبتت الدراسات والبحوث العلمية الحديثة الفعالية الدوائية للعديد من المركبات النباتية في علاج العديد من الأمراض (Al-Basher *etal*,2017) ، كما ان لبعض النباتات تأثير محفز لأفراز الهرمونات، او ان لبعضها تأثيرات هرمونية كما هو الحال في بذور الرمان والبرتقال التي تحتوي على مركبات فعالة ذات تأثير مشابه لهرموني الأستروجين والبروجستيرون على التوالي (Tariq,*etal* 2010)

يعد الشاي الأخضر مهما جدا من الناحية الصحية وذلك لأحتوائه على العديد من المركبات الفعالة التي تعتبر مهمة جداً من الناحية الطبية مثل مركبات البيورين القلوية ومنها الكافئين، الثيوبرومين ، الثيوفالين . فأوراقها تحتوي على المركبات الصابونية، كما يحتوي الشاي الأخضر على الفلافونويدات ، ويحتوي الشاي الأخضر على المركبات الفينولية ومنها الكاتاجين (Mandel *etal*,2005) . حيث تشير الدراسات ان الكاتاجين يمتلك فعالية مضادة للبكتريا والفايروسات وله فعالية مضادة للسرطان (Butt *etal*,2017)، كما انه يخفض من ضغط الدم وبالتالي الحماية من امراض القلب (Kuriyama *etal* ,2006)، كما يحتوي الشاي الأخضر على العديد من الفيتامينات التي تعمل كمضادات للأكسدة (Cabrerá *etal*,2003)، كذلك تعمل المواد المضادة للأكسدة في الشاي الأخضر على تقليل حدة الألتهابات في الجسم ومنها التهاب المفاصل (Ryu *etal*,2006). ونظرا لأهمية النبات الصحية بات من الضروري دراسة تأثيراته الطبية في بعض المعايير الكيموحيوية وتشمل تركيز البروتين الكلي والكولسترول الكلي والكليسيريديات الثلاثية وتركيز الكلوكوز في مصل الدم .

## طريقة العمل

### 1- تحضير المستخلص النباتي

تم الحصول على الشاي الأخضر من الأسواق المحلية في مدينة الديوانية وتم طحنه قليلا قبل الاستخلاص، تم أخذ 20 غم من المادة المجففة للنبات الطبي وتم استخلاص المواد منها بالتتابع بجهاز الاستخلاص المتتابع Soxhlet extractor في 200 مل من المذيب الأثانولي 95% لمدة 24 ساعة . بعد ذلك تم تركيز المادة المستخلصة بالمبخر الدوار بدرجة حرارة 40-45 م° ، بعدها أذيب 2غم من المادة المستخلصة الجافة في 10 مل بالماء المقطر للحصول

على محلول أصلي Stock solution (Ladd,1978)

### 2- تهيئة حيوانات التجربة

تم استخدام 18 حيوان من ذكور الجرذان البيض البالغة وتم معاملتها بالمستخلص النباتي على النحو التالي:-

1- مجموعة السيطرة (6 حيوانات): حقنت بـ 0.1 مل من المحلول الملحي الفسلجي داخل البريتون لمدة شهر

2- المجموعة الأولى (6 حيوانات): حقنت بـ 0.1 مل من المستخلص النباتي بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم داخل البريتون لمدة شهر

3- المجموعة الثانية (6 حيوانات): حقنت بـ 0.1 مل من المستخلص النباتي بتركيز 400 ملغم/كغم من وزن الجسم داخل البريتون لمدة شهر

وبعد نهاية مدة الحقن تم تخدير الحيوانات لغرض الحصول على الدم بطريقة طعنة القلب ثم وضع الدم في أنابيب خاصة لجمع المصل ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة ربع ساعة وبسرعة 15000 دورة/دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم لقياس بعض المعايير

الكيموحيوية وتشمل البروتين الكلي والكولستيرول الكلي ومستوى الكلوکوز في مصل الدم.

### 3- الدراسة الكيموحيوية

#### 1- قياس تركيز البروتين الكلي في مصل الدم

لتحديد البروتين الكلي في مصل الدم استعملت عدة التحاليل المحضرة من شركة Biomerieux الفرنسية ، وتعتمد طريقة الفحص على تفاعل البروتين الموجود في عينة المصل مع محلول تترات البوتاسيوم النحاسية القاعدية أو مايسمى بكاشف بايوريت Biuret Reagent ، ونتيجة لهذا التفاعل يتكون معقد بنفسجي اللون تعتمد شدته اللونية على أواصر البيتيد الموجودة في بروتين العينة، ويمكن قياس هذه الشدة اللونية بإستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 530 نانوميتر (Silverman *etal*,1986) وبالاعتماد على شدة إمتصاصية المحلول القياسي يتم حساب تركيز البروتين الكلي في العينة على وفق المعادلة التالية:

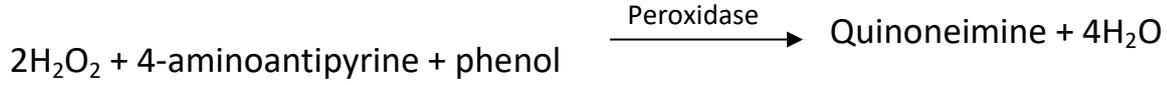
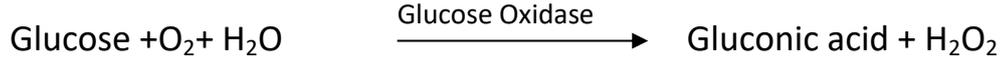
شدة إمتصاصية محلول الاختبار

تركيز البروتين (غم/ 100مل) = ----- × تركيز المحلول القياسي

شدة امتصاصية المحلول القياسي

#### 2- قياس تركيز الكلوکوز في مصل الدم

تم قياس تركيز الكلوکوز في مصل الدم باستخدام الطريقة الأنزيمية (Trinder,1969) إذ تضمنت استخدام عدة التحليل (Kit) والمصنعة من قبل شركة (Syrbio) لصناعة الكواشف ، التي يتم فيها أكسدة مجموعة الالدهايد الموجودة في جزئية الكلوکوز بوساطة أنزيم كلوکوز اوكسيديز ، الذي يعطي حامض الكلوکونيك وبيروكسيد الهيدروجين ويكون بيروكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل وتحت تحفيز أنزيم البيروكسيديز مع الفينول و 4 امينوأنتيبايرين صبغة الكوينون ايمين ذات اللون الوردي ووفقاً للمعادلات الآتية :-



وقُرأت النماذج عند طول موجي (505) نانوميتر مقابل قراءة محلول الكفاء Blank بوساطة جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer ( Shimadzae, Japan ) ومن ثم تم حساب تركيز الكلوكوز في الدم اعتمادا على المعادلة الآتية

$$\text{تركيز كلوكوز الدم (ملغم/100مل)} = \frac{\text{قراءة المحلول الاختباري}}{\text{قراءة المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي (100ملغم/100مل)}$$

### 3- قياس تركيز الكولستيرول الكلي في مصل الدم

أستخدمت الطريقة اللونية للعالم **Richmond (1973)** لتقدير تركيز الكولسترول الكلي في مصل الدم وأستعملت عدة التحاليل Kits المجهزة من شركة Biomerieux الفرنسية.

### 4- قياس تركيز الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم

تم قياس تركيز الكليسيريدات الثلاثية T.G. في مصل الدم بإستعمال عدة الفحص الجاهزة والمنتجة من شركة Randox الأنكليزية وبحسب الطريقة المعتمدة من قبل ( *Allain et al.*, 1974 ).

### التحليل الأحصائي

تم تحليل نتائج التجربة بإستعمال التصميم تام العشوائية Completely randomized design (CRD) لجميع المعايير المدروسة وقد تم استعمال اختبار أقل فرق معنوي Least significant differences (LSD) وتحت مستوى احتمال  $P < 0.05$  ( *Scheffler, 1980* ).

## النتائج والمناقشة

تشير نتائج التحليل الأحصائي في التجربة الحالية (الجدول 1) الى ان المجموعة الأولى التي تم معاملتها مع مستخلص الشاي الأخضر بتركيز 200 ملغم/كغم من وزن الجسم والمجموعة الثانية التي تم معاملتها بتركيز 400 ملغم/كغم من وزن الجسم قد سجلتا ارتفاعاً في مستوى البروتين الكلي الا انه لم يصل الى مستوى المعنوية  $P>0.05$  عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ، وقد يعزى السبب في ذلك الى المواد الفعالة الموجودة في المستخلص النباتي التي تعمل كمواد مضادة للأكسدة تعمل على حماية خلايا الجسم من اضرار الجذور الحرة، وبذلك تساعد بدورها في عمليات تخليق الأحماض الأمينية وزيادة بنائها وسرعة امتصاصها في الكليتين (Wang *etal*,2016).، كما تعمل مضادات الأكسدة في المستخلص النباتي على حماية خلايا الكبد والمحافظة عليها، اذ من المعروف ان الكبد هو العضو المسؤول عن تصنيع اغلب البروتينات في الجسم ولاسيما الألبومين والكلوبيولين ، من هذا نستنتج ان دور المستخلص هو حماية الكبد والكليتين من اضرار الجذور الحرة ، حيث ان اصابة هذه الأعضاء يؤدي الى سرعة فقدان بروتينات بلازما الدم.

وقد سجلت المعاملة الأولى انخفاضاً معنوياً  $P<0.05$  في تركيز الكولستيرول الكلي والكلسيريدات الثلاثية عند مقارنتها مع السيطرة ، من جانب اخر حققت المعاملة الثانية انخفاضاً اعلى معنوية عند مقارنتها مع السيطرة والمجموعة الأولى، يعود السبب في ذلك الى ان مستخلص الشاي الأخضر غني بالعديد من المواد الفعالة التي تعمل كمضادات اكسدة منها polyphenol (caffeine و theophylline و theobromine) والأحماض الأمينية والكاربوهيدرات ، تعمل الفينولات كمواد مضادة للأكسدة داخل وخارج الجسم تساعد في توليد الحرارة واكسدة الدهون في الجسم وبالتالي انخفاض ضغط الدم ، كما تشير البحوث ان تناول

الشاي الأخضر يزيد من مقاومة الدهون للأكسدة (Klaus *etal*,2005)، كما يزيد الكافئين والكاتاجين من نشاط ايض الدهون في الكبد، اكدت الدراسات ان تناول الشاي الأخضر يحمي من السمنة المرتبطة بأمراض اخرى مثل السكري وارتفاع ضغط الدم وتصلب الشرايين (Ravikiran *etal*,2014).

كما سجلت العاملتين الأولى والثانية انخفاضاً غير معنوي  $P>0.05$  في تركيز الكلوكوز في مصل الدم عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ، يعزى السبب في ذلك الى ان المواد الفعالة في المستخلص لها تأثيرات مضادة للسكر ، حيث تخفض من تركيز الكلوكوز في الدم من غير ان تؤثر على مستوى الأنسولين (Wu *etal*,2004) ، كما تشير الدراسات الى ان طول معاملة الجرذان بالشاي الأخضر يزيد من حساسية الأنسولين ويمنع تطور مقاومة الأنسولين في الجرذان التي تحتوي غذاؤها على السكر، كما انه يمنع ارتفاع مستوى السكر في الدم او حدوث اضطراب في ايض الجسم (Hsu *etal*,2011).

الجدول (1) يبين تأثير مستخلص الشاي الأخضر في بعض المعايير الكيموحيوية

المجموعات المعايير	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة الأولى	مجموعة المعاملة الثانية
البروتين الكلي (غم/100مل)	0.22 ±7.23 a	0.34 ±7.29 a	0.32 ± 7.31 a
الكوليسترول (ملغم/100مل)	3.14 ± 69.43 a	2.43±66.53 b	1.98±59.28 d
الكسيريدات الثلاثية (ملغم/100مل)	0.45±59.03 a	0.36±55.43 b	0.18±51.87 d
الكلوكوز (ملغم/100مل)	2.4 ± 83.42 a	2.2 ± 81.32 a	1.9 ± 82.46 a

الأرقام تمثل المعدلات ± الخطأ القياسي  
الحروف المختلفة أفقياً تشير الى الفروق المعنوية  $P<0.05$  بين المجاميع

## **References**

**Al-Basher, G** ; Ajarem, J. S ; Allam, A.A and Mahmoud, A.M.(2017). “Green tea protects against perinatal nicotine-induced histological, biochemical and hematological alterations in mice offspring,” *International Journal of Pharmacology*, vol. 13, no. 2, pp. 109–121.

**Allain, C.C.**; Poon, L.S.; Chan, C.S. and Richmond, W.F.C.(1974). *The Merck manual of diagnostic and therapy*, Merck Co. Clin .Chem., 20(4):470-475.

**Butt, M. S** ; Ahmad, R.S ; Sultan, M.T; Qayyum, M.M and Naz, A.(2015). “Green tea and anticancer perspectives: updates from last decade,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 55, no. 6, pp. 792–805

**Cabrera, C. R** ; Gimenez and Lopez, M.C.(2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 51(15): 4427-35.

**Hsu, CH**; Liao, YL ; Lin, SC; Tsai, TH; Huang, CJ and Chou, P.(2011) Does supplementation with green tea extract improve insulin resistance in obese type 2 diabetics? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. *Altern Med Rev*. 2011;16:157–163.

**Klaus, S**; Pultz, S ; Thone-Reineke, C and Wolfram, S.(2005) Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *Int J Obes (Lond)* . 29:615–623.

**Kuriyama, S**; Shimazu, T; Ohmori, K, K; Ikuchi, N; Nakaya, N; Nishino, Y; Tsubono, Y and Tsuji, I.(2006). Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: the Ohsaki study. *JAMA*. 296:1255–1265

**Ladd, J.L.** ; Jacobson, M. and Buriffim, C. (1978). Beetles extracts from neem tree as feeding deterrents. *J. Econ. Entomol.*, 71 : 803 – 810.

**Mandel, S.A**; Avramovich-Tirosh, Y; Reznichenko, L et al.(2005) “Multifunctional activities of green tea catechins in neuroprotection. Modulation of cell survival genes,

iron-dependent oxidative stress and PKC signaling pathway,” *Neurosignals*, vol. 14, no. 1-2, pp. 46–60.

**Ravikiran,BS**; Pawar,SM; Sankeerth, SLV and Dwarakanath.(2014). Green tea consumption on serum lipids and blood sugar levels in Puducherry subjects. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*. 2(4):422

**Richmond,W.**(1973).Preparation and properties of cholesterol oxidase from *Nocard sp.*and its application to the enzymatic assay of total cholesterol .*Clin Chem* ., 19:1350-1356.

**Ryu, OH** ; Lee, J ; Lee, KW; Kim, HY; Seo, JA; Kim, SG; Kim, NH; Baik, SH; Choi, DS and Choi, KM.(2006). Effects of green tea consumption on inflammation, insulin resistance and pulse wave velocity in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 71:356–358 .

**Silverman, L. M**; Christenson, R. and Grant, G. (1986). Amino acids and proteins. In: *Text Book of Clinical Chemistry*. Tietz, N. (ed.). W. B. Saunders company. Philadelphia. Pp: 519.

**Scheffler, W.C.** (1980). *Statistics for the biological sciences* (2<sup>nd</sup> edition).Addison-Wesley.

**Tariq, M., A** ; Naveed and Barkat,K.A. (2010). Themorphology, characteristics and medicinal properties of ‘*Camellia sinensis*’ tea. *J. Med. Plants Res*. 4(19): 2028-33.

**Trinder,P.**(1969).Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor.*Ann.Clin.Biochem*. pp.24-27

**Wang, H**; Li, D ; Hu, Z ; Zhao, S; Zheng, Z and Li ,W. (2016) . Protective Effects of Green Tea Polyphenol Against Renal Injury Through ROS-MediatedJNK-MAPK Pathway in Lead Exposed Rats.*Molecules and cells*.39(6):508-513.

**Wu, LY**; Juan, CC; Hwang, LS; Hsu ,YP; Ho, PH and Ho, LT.(2004) Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *Eur J Nutr* . 43:116–124.

