جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلـية العلـــوم
قسم الكيمياء

دراسة المقارنة بين تأثير فعالية الكركم ومستخلصاته ودواء النابروكسين في الجرذان التجريبية المستحدث لديها التهاب المفاصل الروماتويدي

براء محمد ياسين محمد الطائي

رسالة ماجستير

علوم الكيمياء/ الكيمياء الحياتية

بإشـراف

الأستاذ المساعد الدكتورة سكينة حسين رشيد

١٤٤٥هـ ٢٠٢٣ م

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر الكيمياء الحياتية في كلية العلوم وفي كلية الطب البيطري في جامعة الموصل للفترة من شهر تشرين الاول الى شهر اذار لعام ٢٠٢٣ و تضمنت الدراسة عزل النواتج الطبيعية من نبات الكركم واستخلاصها ودراسة تأثيرها على الجرذان التجريبية المصابة بداء التهاب المفاصل الروماتويدي المستحدث بماده MIA ومقارنتها مع دواء النابروكسين.

تم فصل الراسب البروتيني البارد من مسحوق نبات الكركم عن طريق ترسيبه باستخدام كبريتات الامونيوم (٦٥٪) بعدها تم حساب كمية البروتين في الراسب البروتيني المعزول بإستخدام طريقه لاوري.

كما تضمن البحث استخلاص الزيوت الاساسية والفلافونيدات من مسحوق نبات الكركم في جهاز الاستخلاص (السكسوليت) وباستخدام مذيبات متنوعة، بعد اكتمال استخلاص الزيوت والفلافونويدات، تم تشخيص الزيوت المستخلصة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز– مطيافية الكتلة (GC-MS) وشخصت الفلافونيدات بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) حيث اظهرت النتائج وجود عشرين حزمة في كروموتوكرام GC-MS لنموذج الزيوت واحتواء الفلافونيدات على ١٤ ماده وبنسب مختلفة بعد تشخيص النموذج بتقنيةHPLC حيث تميز بوجود ١٤ حزمة تعود لمركبات فينولية مهمة ومتعددة، ثم درس تاثير هذه النواتج (الزيوت و الفلافونيدات) الوقائي والعلاجي على التهاب المفاصل الروماتويدي المستحدث لدى ذكور الجرذان التجريبية.

تضمنت الدراسة استخدام (٥٤) جرذ ذكر بالغ ابيض اللون تراوحت اعمارهم بين (١٢ الى ١٤ اسبوع) واوزانهم من (٢٥٠ الى ٣٠٠ غم) وبمعدل ست جرذان لكل مجموعة لاجراء تسعة تجارب حيث تم تقسيم الجرذان كما يلي : المجموعة الاولى (السيطرة السالبة) وتضم الجرذان الاصحاء غير المعاملين بمادة MIA ولم يعط لهم اي مستخلص من بداية التجربة لنهايتها، المجموعة من (٢–٩) تم استحداث مرض التهاب المفاصل الروماتويدي لديهم قبل بدء التجربة بمادة MIA وبعد التأكد من اصابة كل الجرذان بالتهاب المفصل تم توزيعهم كالتالي: المجموعة رقم ٢ عدت مجموعة سيطرة موجبة ولم يتم تجريعها بأي مستخلص فقط علف وماء طبيعي، أما المجموعة ٣ فقد تم تجريعها بالمستخلص الزيتي وبجرعة (٣٠ ملغم/كغم) والمجموعة الرابعة جرعت بالمستخلص الفلافونيدي وبجرعة (١٤٢ملغم/كغم) والمجموعة الخامسة جرعت بالراسب البروتيني والسادسة بالكركمين لوحده بجرعة (٤٠٠ملغم/ كغم) أما السابعة والثامنة فقد جرعت بمزيج الكركمين والفلفل(١:٩) والكركمين والزنجبيل(١:٩) على التوالي وبجرعة مقدارها (٤٠٠ ملغم/كغم).والمجموعة التاسعة والاخيرة جرعت دواء النابروكسين وبجرعة (2.5 ملغم/ كغم) لغرض مقارنة فعالية المستخلصات مع فعالية دواء النابروكسين في تخفيف تأثيرات التهاب المفاصل المستحدث.

بينت التجارب التسعة تأثير كل من الكركمين لوحده والكركمين والفلفل والكركمين والزنجبيل والمستخلصات الزيتية والفلافونويدية والمستخلص البروتيني الخام البارد لنبات الكركم والنابروكسين على

بعض المتغيرات الكيموحيوية المرتبطة بالتهاب المفاصل الروماتويدي مثل : الكالسيوم والفسفور وانزيمات الكبد AST و ALT والكلوتاثايونGSH والمالونداياالديهايد MDA و فيتامين سي وحامض اليوريك والكرياتنين في مصل دم الجرذان البالغة ومقارنتها مع مجموعة السيطرة السالبة ولثلاثة ازمنة (الزمن صفر ويمثل بداية التجربة قبل التجريع ،بعد ٢٢ يوما ، بعد مرور ٤٥ يوما).

واستخدمت عدة تحاليل جاهزة قياسية في الدراسة لقياس (الكالسيوم والفسفور وانزيمات الكبد AST و ALT وحامض اليوريك والكرياتنين) .,كما قُدر كل من (الكلوتايونGSH والمالونداياالديهايد MDA و فيتامين سي) في مصل الدم باستخدام الطرق اليدوية .

اشارت النتائج أن معاملة الجرذان بمادة MIA واستحداث التهاب المفاصل الروماتويدي لديها ادى الى حدوث انخفاض معنوي في تركيز الفسفور والكلوتاثايون وفيتامين سي مع حدوث ارتفاع معنوي في فعالية انزيمات الكبد AST وALT والمالونديالديهايد والكالسيوم والكرياتنين وحامض اليوريك نتيجة المعاملة بمادة MIA مقارنة مع مجموعة الجرذان الاصحاء (السيطرة السالبة).

اما عند معاملة الجرذان بالزيوت الفلافونويدات والراسب البروتيني الخام والكركمين قد أدت إلى حدوث انخفاض معنوي في فعالية انزيمات الكبد AST وALT والمالونديالديهايد والكالسيوم والكرياتنين وحامض اليوريك مع حدوث ارتفاع معنوي في الفسفور والكلوتاثايون وفيتامين سي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة (المجموعة رقم ٢).

في حين أظهرت النتائج أن معاملة الجرذان بالنابروكسين وبجرعة (2.5ملغم/ كغم) قد أدت الى حدوث تأثيراً معنوياً ولكن التأثير ضعيف مقارنة مع تأثير الزيوت الفلافونويدات والكركمين.

يُستنتج من هذه الدراسة ان استخدام المستخلص الزيتي والفلافونويدي التي ضمت العديد من المركبات الفعالة المعزولة من مسحوق نبات الكركم., قد اظهرت تأثيراً وقائياً قلل من الضرر الناتج عن استحداث التهاب المفاصل بواسطة (MIA) .,فضلا عن تحسن في مستويات مضادات الاكسدة ومستويات انزيمات الكبد والكلية المتمثلة بالكرياتنين., وهذا ما تبينه نتائج الفحوصات لهذه المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الجرذان.

Summary

This study was conducted in the biochemistry laboratory in the College of Science and in the College of Veterinary Medicine at the University of Mosul for the period from October to March 2023. The study included isolating and extracting natural products from the turmeric plant and studying its effect on experimental rats infected with rheumatoid arthritis caused by MIA. Compare it with naproxen.

The cold protein sediment was separated from the turmeric plant powder by precipitation using ammonium sulfate (65%), after which the amount of protein in the isolated protein sediment was calculated using Lowery's method.

The research also included the extraction of essential oils and flavonoids from the turmeric plant powder in the extractor (Sexolite) and using a variety of solvents. After completing the extraction of oils and flavonoids, the extracted oils were identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and the flavonoids were identified using high-performance liquid chromatography (HPLC). In different proportions after diagnosing the model using HPLC technology, where it was characterized by the presence of 14 bands belonging to several important phenolic compounds, then the effect of these products (Oils and flavonoids) on preventive and curative effects on rheumatoid arthritis developed in male experimental rats was studied.

The study included the use of (54) white adult male rats, their ages ranged between (12 to 14 weeks) and their weights ranged from (250 to 300 gm), with an average of six rats per group to conduct nine experiments, where the rats were divided as follows: The first group (negative control) includes Healthy rats not treated with MIA, and they were not given any extract from the beginning of the experiment to the end, the group (2-9) had rheumatoid arthritis in them before the start of the experiment with MIA, and after confirming that all rats had arthritis, they were distributed as follows : Group No. 2 was considered a positive control group and was not dosed with any extract, only natural feed and water. Group 3 was dosed with oil extract at a dose of (30 mg/kg), and the fourth group was dosed with flavonoid extract at a dose of (142 mg/kg), and the fifth group was dosed with protein precipitate and the sixth with curcumin. Alone, at a dose of (400 mg/kg), while the seventh and eighth groups were given a mixture of curcumin and pepper (9:1) and curcumin and ginger (9:1), respectively, at a dose of (400 mg/kg). And the ninth and last group was given naproxen at a dose of (2.5 mg/kg).) for the purpose of comparing the effectiveness of the extracts with the effectiveness of naproxen in relieving the effects of new arthritis.

The nine experiments showed the effect of each of curcumin, curcumin, pepper, curcumin, ginger, oil extracts, flavonoids, cold crude protein extract of turmeric

plant, and naproxen on some biochemical variables associated with rheumatoid arthritis, such as calcium, phosphorus, liver enzymes AST, ALT, glutathione GSH, malondialdehyde MDA, vitamin C, uric acid, and creatinine in the blood serum of adult rats and compared with the negative control group for three times (zero time and represents the beginning of the experiment before dose, after 22 days, after 45 days).

Several standard kits were used in the study to measure (calcium, phosphorus, liver enzymes AST, ALT, uric acid, and creatinine), and (glutathione, GSH, malondialdehyde, MDA, and vitamin C) were estimated in blood serum using manual methods.

The results indicated that the treatment of rats with MIA and the induction of rheumatoid arthritis in them led to a significant decrease in phosphorus,vitamine C ,glutathione with a significant increase in calcium concentration and in the activity of liver enzymes AST and ALT ,malondialdehyde ,uric acid creatinine The result of MIA treatment compared with the group of healthy rats (negative control).

But when treating rats with flavonoid oils, crude protein precipitate, and curcumin, it led to a significant decrease in calcium concentration and in the activity of liver enzymes AST and ALT ,malondialdehyde ,uric acid creatinine , with a significant increase in phosphorus,vitamine C ,glutathione When compared with the positive control group (Group No.2).

While the results showed that treating rats with naproxen at a dose of (2.5 mg/kg) had a significant effect, but the effect was weak compared to the effect of flavonoids and curcumin oils.

It is concluded from this study that the use of oil extract and flavonoids, which included several active compounds isolated from turmeric plant powder, showed a protective effect that reduced the damage resulting from the development of arthritis by (MIA), as well as an improvement in the levels of antioxidants and the levels of liver and kidney enzymes. Creatinine, and this is what the results of the examinations show for these biochemical variables in the blood serum of rats.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
Scientific Research&
Mosul University / College of Science
Department of Chemistry Science

A comparative study between the effectiveness of curcuma longa, its extracts and naproxen drug in experimental rats with induced rheumatoid arthritis

Baraa Mohammed Yaseen Mohammed Al-Taee

M.Sc. Thesis in

Chemistry Science / Biochemistry

Supervised by

Assistant Professor Dr. Sukayna Hussain Rashed Alrawi

2023 A.D **1445 A.H**