دراسة التأثير التثبيطي التآزري لمزيج مستخلص الفلفل الأحمر الحلو مع زيت الزيتون العذري في فعالية إنزيمي الفا–أميليز والفا–كلوكوسايديز في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي

وداد محمود لهمود العبيدي

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

صمم البحث الحالي لتقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص الفلفل الأحمر الحلو لوحده, مستخلص الفلفل الأحمر الحلو مع زيت الزيتون العذري الممتاز سوية في فعالية أنزيمي إلفا – أميليز و ألفا – كلوكوسايديز في ذكور الجرذان البيض (*Rattus norvegicus*) البالغة والمصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان, استخدم في التجربة الحالية (40) جرذ ذكر ابيض بالغ (*Rattus norvegicus*) بأوزان بين (250–300) غم وبأعمار (14–16) أسبوع تم شراءها من كلية الطب البيطري /جامعة الموصل/ وتم تربيتها والعناية بها في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم في جامعة تكريت وأعطيت الغذاء والماء بشكل مستمر (*adlibitum*) وبكميات كافية طوال فترة التربية الممتدة من بداية تشرين الأول ولغاية كانون الأول, لذا هدفت الدراسة الحالية لاستخدام مزيج من المثبطات ذات مصدر طبيعي أكثر تخصصا لتقييم دورها في تثبيط عمل ألفا – أميليز والفا–كلوكوسايديز للسيطرة على داء السكر من النوع الثاني , فقد أظهرت النتائج ما يلي:

1– انخفاض معنوي عند مستوى ($P<0.01$) في تركيز الكلوكوز في مصل دم الجرذان المصابة بداء السكر بعد معاملتها بمزيج الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري سوية بأسلوب معتمد على الجرعة مقارنة مع مجموعة الحيوانات المصابة بداء السكر لوحده.

2– ارتفاع معنوي ملحوظ عند مستوى ($P<0.01$) في تركيز الأنسولين في الحيوانات المصابة بداء السكر والمعاملة بمزيج الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري مقارنة مع مجموعة الجرذان المصابة بداء السكر لوحده.

3– ارتفاع النسبة المئوية التثبيطية لمزيج مستخلص الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري سوية لكل من فعالية إنزيم ألفا– أميليز وألفا–كلوكوسايديز في الحيوانات المصابة بداء السكر نتيجة المعاملة بالالوكسان تفوق تأثير مستخلص الفلفل الأحمر الحلو مع الالوكسان بأسلوب معتمد على الجرعة المستخدمة في البحث الحالي وكانت متدرجة (2 مل,4 مل, 6 مل, 8 مل/ كغم من وزن الجسم).

الاستنتاج

أظهرت عملية مزج مستخلص الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري سوية تأثرات ايجابية واضحة في تثبيط فعالية كل من إنزيم الفا –اميليز والفا –كلوكوسايديز ,مع وجود تفوق لتثبيط إنزيم الفا– اميليز على الإنزيم الثاني في ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي لذا يمكن استخدام هذا الخليط كواحد من المركبات الطبيعية المهمة في السيطرة على حالة فرط سكر الدم .

المقدمة

البنكرياس هو تركيب صغير يقع بالقرب من المعدة ويلتصق بجدار الأمعاء الدقيقة، للبنكرياس وظيفتان رئيسيتان هما إنتاج الهرمونات وذلك للمساعدة على حفظ مستوى الكلوكوز في الدم وهذه الهرمونات تفرز إلى مجرى الدم مباشرة، إنتاج عدد من الأنزيمات للمساعدة في هضم الدهون والبروتينات والكربوهيدرات وهذه الأنزيمات تفرز من البنكرياس إلى الدم عن طريق أنبوب صغير هو قناة البنكرياس [1]. إن الهرمونات المنظمة للسكر تنتج بوساطة البنكرياس وهي الأنسولين والكلوكاكون. فعندما يدخل النشا والكاربوهيدرات يتم تفكيكها إلى جزيئات صغيرة هي سكر الكلوكوز يمتص من قبل جدران القناة الهضمية ويمر إلى الدم إذ يستعمل هذا السكر كطاقة للخلايا للقيام بالفعاليات الحيوية وإذا ارتفع مستوى السكر فان الكلوكاكون الذي يفرز من خلايا α-cell في البنكرياس إذ يعمل على الكبد والأنسجة الدهنية ويقوم بتنشيط تحلل الكلايكوجين ويمنع تكون الكلايكوجين من الكلوكوز كما انه يحفز تكون الكلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية ويزيد من تحلل الدهون [2]. وإذا كان مستوى الأنسولين غير كافي فهذا يسبب مرض السكري Diabetes mellitus.

أما الأنزيمات التي تفرز من البنكرياس فأنها تفرز بالشكل غير الفعال وعندما تدخل إلى القناة الهضمية تصبح فعالة وتساعد في هضم الطعام هناك أربع أنواع من الإنزيمات التي تفرز من قبل البنكرياس وهي -1 : الأنزيمات المحللة للدهون Lipolytic enzymes واللايبيز هو المكون الأساس حيث يحلل هذا الأنزيم الكليسيريدات الثلاثية إلى كليسيريدات ثنائية Diaglycerides وكليسريدات أحادية Monoglycerides وأحماض دهنية Fatty acids-2 الأنزيمات المحللة للبروتينات Proteolytic enzymesمثل التربسين والكايموتربسين -3 الأنزيمات المحللة للأحماض النووية Nucleolytic enzymes والتي تعمل على تفكيك phosphodiester bonds إلى وحدات نيوكليوتيدية -4 الأنزيمات المحللة للكاربوهيدرات Carbohydrates- hydrolyzing enzymes a-amylase وأهمها هو الاميليز a-amylase أنزيم الفا – كلوكوسيديز , يعمل إنزيم الفا – أميليز على تحليل النشا والسكريات الكبيرة محولا إياها إلى جزيئات اصغر ليصل بالنهاية إلى سكر مالتوز Maltose ومالتوترايوز ودكسترين إذ يقوم الأنزيم بتحليل روابط 1,4

α– glucosidic bond مائيا من الداخل منتجا دكسترينات– α dextrineومالتوز, [4] كما أن لخلايا الأمعاء الدقيقة دورا مهما في عملية امتصاص سكر الدم حيث أن التحلل المائي والامتصاص المعوي يتم بمساعدة عدد من الإنزيمات المائية والمتمثلة بالفا– أميليز البنكرياسي Pancreatic α-amylase والفا –كلوكوسايديز المعوي intestinal α-glucosidase ومن هذا المنطلق فان من المرجح أن تكون عملية تثبيط هذين الإنزيمين أحداهما أو كلاهما سببا معقولا لخفض مستوى السكر في الدم مما ينعكس بصورة ايجابية في السيطرة على داء السكر من النوع الثاني.

يحفز إنزيم الفا– كلوكوسايديز تكسير النشا والسكريات الثنائية وتحويلها إلى سكر الكلوكوز الأحادي. ففي الحيوانات تعمل مثبطات إنزيم الفا– اميليز على خفض تركيز سكر الدم المفرط التي تحدث بعد تناول وجبة غذائية عن طريق تبطئ سرعة تحول النشا إلى سكر الكلوكوز [6, 5] وهذا يعد من الأمور المهمة للمرضى المصابين بداء السكر الذين يعانون انخفاض في مستوى الأنسولين حيث تمنع هذه المثبطات من التصفية السريعة للكلوكوز خارج خلوي من الدم [7]. كما أن العديد من مثبطات الفا–كلوكوسايديز تستخدم كعقاقير فموية لعلاج داء السكر من النوع الثاني من خلال عملها في منع هضم الكربوهيدرات التي تتحول بصورة طبيعية وفي الحالات الاعتيادية إلى سكر تمتص من خلال الأمعاء الدقيقة [8] ويكمن التأثير الفعال لمثبطات إنزيم الفا–كلوكوسايديز كمثبطات تنافسية للارتباط بالمواقع الفعالة للإنزيم مخفضة بذلك هضم وامتصاص الكاربوهيدرات حيث إن تثبيط عمل الإنزيمات يخفض من معدل هضم الكاربوهيدرات [9]وبالتالي ينعكس ذلك على مستوى السكر في الدم بسبب عدم تكسر الاواصر لانتاج الكلوكوز ,ونظرا لما للمثبطات الصناعية مثل العقاقير التي تكون لها تاثيرات جانبية مثل الاسهال الالام البطن وانتفاخها لذلك فقد كان لاستخدام مثبطات الانزيمات من الاغذية النباتية تاثيرات علاجية فعالة لخفض سكر الدم مع تأثيرات جانبية بسيطة جدا [5]. فقد هدفت الدراسة الحالية للكشف عن القدرة التثبيطية التأزرية لمستخلص للفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري في فعالية أنزيمي الفا– اميليز والفا– كلوكوسايديز والتي تعد الإنزيمات الرئيسية في التحلل المائي للكاربوهيرات وخفض فرط سكر الدم في الأشخاص المصابين بداء السكر من النوع الثاني .

المواد وطرائق العمل

استخدم في التجربة الحالية (40) جرذ ذكر ابيض بالغ (*Rattus norvegicus*) بأوزان بين (250–300) غم وبأعمار (14–16) أسبوع تم شراءها من كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل/ وتم العناية بها في البيت الحيواني التابع لكلية العلوم في جامعة تكريت ,وزعت حيوانات التجربة في أقفاص نظيفة ومعقمة ومفروشة بنشارة الخشب وفي درجات حرارة تراوحت بين (25 ±2 ْ) م وغذيت على العليقه القياسية المحضرة على طريقة [10] والمتكونه من (34% حنطة، 20% شعير، 25% ذرة صفراء، 10 % بروتين حيواني، 10% حليب مجفف و 1% ملح طعام، تم طحن المواد وخلطها مع بعضها بصورة جيدة وأضيف إليها الزيت والماء لتصبح عجينة متماسكة وقطعت إلى كتل صغيرة ووضعت في المكان المخصص لها، كما ويضاف إليها 50 غراما مواد حافظه ومواد مضادة للفطريات), وأعطيت الغذاء والماء بشكل مستمر (*adlibitum*) وبكميات كافية طوال فترة التربية ومعاملة الحيوانات والممتدة من بداية تشرين الأول ولغاية كانون الأول.

تحضير مستخلص زيت الزيتون Olive Oil Extract

تم الحصول على مستخلص زيت الزيتون العذري المركز الجاهز الصنع من محلات العطارين المستورد من شركة (Hintz/Spain) المخفضة لمستويات سكر الكلوكوز في الدم. وقد استخدمت التراكيز التالية من مستخلص زيت الزيتون العذري الممتاز: (2مل/ كغم من وزن الجسم)، (4 مل/ كغم من وزن الجسم)، (6 مل/ كغم من وزن الجسم)، (8 مل/ كغم من وزن الجسم).

تحضير عصير الفلفل الاحمر الحلو: Sweet Bell Pepper Extract

تم الحصول على ثمار الفلفل الأحمر الحلو من الأسواق المحلية وبإتباع الطريقة التي وصفها [11] بعد غسلها تم تقطيعها إلى أجزاء صغيرة, بعدها تم عصرها بواسطة معصرة كهربائية Juice extractor للحصول على عصير الفلفل الحلو, ثم نبذ المستخلص بجهاز النبذ المركزي بسرعة (3000) دورة/ الدقيقة ولمدة (15) دقيقة, رشح الرائق بورق ترشيح نوع Whatman No. 1. وقد استخدمت جرع مختلفة من المستخلص (2, 4, 6, 8) مل/ كغم من وزن الجسم جرعت للحيوانات.

تصميم التجربة:

قسمت الحيوانات بصورة عشوائية بواقع (4) جرذ لكل مجموعة إلى المجاميع التالية:

1– مجموعة السيطرة: شملت هذه المجموعة (أربعة) جرذ ذكر بالغ جرعت هذه المجموعة ماء مقطر مع استمرار إعطاءها العليقة وماء الشرب الاعتيادي بشكل مستمر لمدة 30 يوما.

2– مجموعة الالوكسان : حقنت حيوانات هذه المجموعة ب 100 ملغم/ كغم من وزن الجسم من مادة الالوكسان تحت الصفاق مع استمرار إعطاءها الماء والغذاء بشكل مستمر لمدة 30 يوما.

3– مجاميع الفلفل الاحمر + الالوكسان: شملت هذه المجاميع (16) جرذ ذكور بالغة بعد أن حقنت حيوانات هذه المجاميع بالالوكسان وتأكدت حالة الإصابة بداء السكر عن طريق تقدير تركيز الكلوكوز في مصل دم حيوانات هذه المجموعة, جرعت عصير الفلفل الأحمر الحلو بتراكيز (2 مل/ كغم, 4 مل/ كغم, 6 مل/ كغم, 8 مل/ كغم من وزن الجسم) بواقع (4 جرذ/ معاملة) لمدة 30 يوما.

4– مجاميع مزيج الفلفل الأحمر الحلو + زيت الزيتون العذري + الالوكسان: شملت هذه المجاميع (16) جرذ ذكور بالغة بعد أن حقنت حيوانات هذه المجموعة بالالوكسان وتأكدت لدينا حالة الإصابة بداء

السكر جرعت مزيج عصير الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون بتراكيز (2 مل/ كغم, 4 مل/ كغم, 6 مل /كغم, 8 مل/ كغم من وزن الجسم) لكلا المستخلصين وبصورة تأزرية بواقع (4 جرذ/ معاملة) لمدة 30 يوما .

بعد انتهاء فترة التجربة وبعد تخدير الحيوانات بمادة الكلوروفورم, تم سحب 5 مل من الدم عن طريق طعنة القلب, وضعت عينات الدم في أنابيب خالية من مانع التخثر وتركت لمدة ربع ساعة ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي مدة 15 دقيقة 3000 دورة/ دقيقة وحفظ بدرجة (−20) م لغرض تقدير فعالية الإنزيمين المطلوبين مع تقدير تركيز سكر الكلوكوز والانسولين في مصل الدم.

تقدير الفعالية التثبيطية لإنزيم ألفا –أميليز Determination of amylase inhibitor activity

تم استخدام الطريقة الأنزيمية لتقدير فعالية إنزيم ألفا–أميليز في مصل الدم حيث تضمنت الطريقة استخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة (Biolabo/French), يتم إضافة (ا مل) من محلول العمل ترك فترة دقيقتين في درجة حرارة 30–37 م ومن ثم أضيف إليه (25) مايكروليتر من مصل الدم مزجت سوية ومن ثم سجلت قراءة الامتصاصية الأولية في الدقيقة الأولى من المزج عند طول موجي 405 نانوميتر وبعدها سجلت الامتصاصية كل دقيقة لمدة ثلاث دقائق اعتمادا على ما ذكره [12].

حسبت فعالية إنزيم الفا– أميليز في مصل الدم اعتمادا على المعادلة أدناه :

Alpha-amylase activity IU/L= (Δ abs/min) * 5140

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط \%} = \frac{\text{فعالية الإنزيم للسيطرة} - \text{فعالية الإنزيم في المستخلص}}{\text{فعالية الأنزيم للسيطرة}} \times 100$$

تحديد الفعالية التثبيطية لإنزيم ألفا– كلوكوسايديز Determination of glucosidase inhibitor activity

تم استخدام الطريقة الأنزيمية لتقدير فعالية إنزيم ألفا– كلوكوسايديز في مصل الدم حيث تضمنت الطريقة استخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة (Biolabo/ French), تمثلت طريقة العمل بما يلي 1– وضع (20) µl من الماء المقطر لحفرتين من صفيحة المعايرة وأضيف إليها µl(200) من الماء المقطر لواحد من الحفرتين السابقتين في حين أضيفت للحفرة الثانية µl(200) من محلول المعايرة ,فيما يخص بقية حفر صفيحة المعايرة فقد تم وضع µl(20) من عينة مصل الدم في كل حفرة وأضيف إليها µl(200) من محلول العمل ومن ثم مزجت بصورة هادئة . 2–قرئت الامتصاصية للصفيحة عند طول موجي nm410 عند الوقت (صفر) وبعد مرور (20) دقيقة ومن ثم حسبت فعالية انزيم الفا –كلوكوسايديز اعتمادا على المعادلة التالية وحسب ما ذكره [13].

$$\text{a-Glucosidase Activity} = \frac{OD20 - OD0}{OD\ calbrator - OD\ H_2O} * 250\ (U/L)$$

لحساب النسبة المئوية للتثبط لفعالية أنزيم الفا– كلوكوسايديز فقد اعتمدت المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط \%} = \frac{\text{فعالية الإنزيم للسيطرة} - \text{فعالية الإنزيم في المستخلص}}{\text{فعالية الأنزيم للسيطرة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) حصول انخفاض معنوي عند مستوى ($P<0.01$) في فعالية انزيم الفا– اميليز في مجموعة ذكور الجرذان البيض المصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان والمعاملة بمستخلص الفلفل الأحمر الحلو لوحده من جهة ومزيج الفلفل الأحمر الحلو مع زيت الزيتون العذري من جهة أخرى مقارنة مع مجموعة الالوكسان لوحده, كما لوحظ أن فعالية إعطاء المستخلصين سوية بصورة تأزرية أظهرت تأثير إيجابي في كبح وتثبيط فعالية إنزيم الفا– أميليز من خلال معرفة النسبة المئوية للتثبيط عند مقارنتها مع مجموعة الفلفل الأحمر الحلو لوحده وقد جاءت نتائج البحث الحالي متوافقة مع ما توصل إليه [14] فقد أشار إلى الدور الانتقائي للمستخلص المائي للفلفل الحلو بانواعه المختلفة الأحمر, الأصفر, الأخضر في السيطرة على حالات ارتفاع تركيز سكر الدم في المرضى المصابين بداء السكر من النوع الثاني من خلال ما تمتلكه من قدرة تثبيطة لفعالية أنزيم الفا– أميليز البنكرياسي كما واتفقت نتائج البحث الحالي مع ما توصل إليه [15] حيث أوضح تأثير المركبات الفعالة في ثمرة الطماطم في السيطرة على داء السكر من النوع الثاني من خلال تثبيط فعالية إنزيم الفا– أميليز, وقد يعزى سبب ذلك إلى امتلاك كل من الفلفل الأحمر الحلو والطماطم الذين يعودان إلى نفس العائلة الزهرية Solanaceae إلى قدرة وكفاءة مركباتها الفعالة كالمركبات الفينولية Phenols, الفلافونويدات Flavonoids والليكوبين Lycopene التي بمجموعها لها القدرة على التثبيط التنافسي من خلال الارتباط بالموقع الفعال لإنزيم الفا – اميليز بدلا من المادة الكاربوهيدراتية مسببة بذلك كبح فعالية الانزيم وتثبيط عمله في تكسير سلسلة الكاربوهيدرات الطويلة ومنع تحولها إلى مركبات ابسط في الهضم [16], وقد يرجع السبب إلى كفاءة زيت الزيتون العذري الممتاز في تثبيط عمل إنزيم الفا – اميليز فقد أشارت الدراسات السابقة إلى التأثير الايجابي الفعال لزيت الزيتون نظرا ما

يمتلكه من مركبات فينولية فعالة السكوالين Squalene و كورسيتين quercetin في تثبيط فعالية هذا الإنزيم ومن ثم خفض تركيز سكر كلوكوز الدم [17 و 18].

جدول (1): يوضح النسبة المئوية للفعالية التثبيطية لمزيج الفلفل الاحمر الحلو وزيت الزيتون العذري في إنزيم الفا –أميليز في ذكور الجرذان المصابة بالسكر التجريبي

المعاملة / التركيز	المعاملة بالفلفل الأحمر الحلو لوحده		المعاملة بالفلفل الأحمر الحلو+زيت الزيتون العذري	
	فعالية الإنزيم المعدل±الخطأ القياسي	% للفعالية التثبيطية للإنزيم	فعالية الإنزيم المعدل±الخطأ القياسي	% للفعالية التثبيطية للإنزيم
الالوكسان	177±7.4 a	--------	177±7.4 a	--------
الالوكسان+ 2مل/ كغم من وزن الجسم	152±3.2 b	14.1	100±1.5 b	44
الالوكسان + 4 مل/ كغم من وزن الجسم	136±3.8 c	23.2	81±1.8 c	45.2
الالوكسان+ 6مل/ كغم من وزن الجسم	103±1.9 d	41.8	60±3.4 d	66.1
الالوكسان+8مل/ كغم من وزن الجسم	99±4.1 d	44.0	51±3.8 e	71.1

- عدد الجرذان في كل مجموعة (4).
- الاحرف المختلفة فوق كل عمود تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($p<0.01$).

في حين أظهرت نتائج البحث الحالي المبين في الجدول (2) حصول انخفاض معنوي عند مستوى ($P\leq0.05$) في فعالية إنزيم الفا–كلوكوسايديز في مجموعة ذكور الجرذان البيض المصابة بداء السكر التجريبي المستحدث بالالوكسان بعد معاملتها بمزيج مستخلص الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري سوية مقارنة مع مجموعة الحيوانات المعاملة بمادة الالوكسان لوحده , مع ملاحظة ارتفاع النسبة المئوية لتثبيط الإنزيم المذكور سلفا بزيادة تركيز الجرعة المعطاة للحيوانات, في حين لم تظهر مجموعة الحيوانات المعاملة بمستخلص الفلفل الأحمر الحلو مع الالوكسان فروق معنوية في فعالية الفا–كلوكوسايديز وكذلك الحال للنسبة المئوية للتثبيط مقارنة مع مجموعة الالوكسان لوحده , وقد جاءت النتيجة متوافقة مع ما توصل إليه [15] وقد يعزى السبب في ذلك إلى أن الفلفل الأحمر الحلو له تأثير ايجابي في خفض فعالية الإنزيم من خلال القدرة على التثبيط التنافسي ومنع تحول النشا او السكريات الثنائية في الأمعاء إلى سكر الكلوكوز ومن ثم خفض امتصاصه مما ينعكس ايجابيا على خفض تركيز سكر الدم كما موضح في الجدول (3) ولما كان تأثير مادة واحدة مثل الفلفل الأحمر الحلو في تثبيط فعالية إنزيم الكلايوسيديز فان وجود زيت الزيتون العذري ذو التأثير الاكثر فاعلية في تثبيط فعالية هذا الإنزيم فان المعاملة الازدواجية للمستخلصين اظهر تأثير فعال في زيادة النسبة المئوية لتثبيط الإنزيم وخفض فعاليته في الأمعاء ومن ثم خفض امتصاص السكريات الأحادية ومنع حصول حالة فرط سكر الدم [19 و 20].كما وقد جاءت نتائج البحث الحالي متقاربة مع ما توصل إليه [1] حيث لاحظ دور المستخلصات الكحولية للنباتات في تثبيط فعالية إنزيم ألفا – كلوكوسايديز خارج الجسم فضلا عن ذلك فان المركبات الفلافونويدية وهي واحدة من بين المركبات الفعالة المتوفرة في ثمرة الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري على حد سواء والتي تلعب دورا فعالا كمواد مثبطة لفعالية إنزيم الفا – كلوكوسايديز مما يكسبها أهمية في خفض مستوى سكر الدم .[21] .

جدول (2): يوضح النسبة المئوية للفعالية التثبيطية لمزيج الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري في إنزيم الفا كلايكوسايديز في ذكور الجرذان المصابة بالسكر التجريبي

المعاملة / التركيز	المعاملة بالفلفل الأحمر الحلو لوحده		المعاملة بالفلفل الأحمر الحلو+زيت الزيتون العذري	
	فعالية الإنزيم المعدل±الخطأ القياسي	% للفعالية التثبيطية للإنزيم	فعالية الإنزيم المعدل±الخطأ القياسي	%للفعالية التثبيطية للإنزيم
الالوكسان	210 ± 3.6^{a}	--------	210 ± 3.6^{a}	--------
الالوكسان+ 2مل/ كغم من وزن الجسم	191 ± 1.9^{a}	9.0	176 ± 2.4^{b}	16
الالوكسان+ 4 مل/ كغم من وزن الجسم	173 ± 1.2^{b}	17	152 ± 2.0^{c}	27.6
الالوكسان+ 6مل/ كغم من وزن الجسم	168 ± 1.1^{b}	20	133 ± 1.3^{d}	36.6
الالوكسان+8مل/ كغم من وزن الجسم	158 ± 2.4^{c}	24.8	101 ± 0.7^{e}	52

- عدد الجرذان في كل مجموعة (4).
- الاحرف المختلفة فوق كل عمود تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ($p<0.05$).

في حين سجلت النتائج المبينة في الجدول (3) حصول انخفاض معنوي (P<0.01) في تركيز كلوكوز الدم في الحيوانات المعاملة بمزيج الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري بعد تعرضها للالوكسان عند مقارنتها مع مجموعة الحيوانات المعرضة للالوكسان لوحده وقد جاءت النتيجة متوافقة مع ما توصل إليه [14] أوضح الباحث وجماعته عن قدرة وكفاءة مزيج مستخلص الفلفل الأحمر الحلو والفلفل الاخضر في خفض تركيز كلوكوز الدم في الحيوانات المصابة بداء السكر غير المعتمد على الانسولين وحسب استنتاجاته هذا يعد مؤشرا ايجابيا في اعتماد النباتات كمصدر طبيعي لخفض تركيز كلوكوز الدم .كما واتفقت الدراسة الحالية مع [22] فقد بين كفاءة المركبات الفعالة في زيت الزيتون العذري لوحده في خفض تركيز كلوكوز الدم من خلال دراسة تأثير زيت الزيتون في الجرذان وقد يعود سبب هذا الانخفاض في هذه الحالات إلى طبيعة المكونات الفعالة وتراكيزها فهو يحتوي على تراكيز عالية من المركبات الفينولية المتعددة وخاصة مركبات (التيروزول، الهيدروكسي تيروزول والاوليروبين) التي تمتاز بفعاليتها كمضادات أكسدة تعمل على إزالة الجذور الحرة وبشكل خاص أصناف ألاوكسجين الفعالة وبالتالي التقليل من حالة الإجهاد التأكسدي وتنشيط إفراز هرمون الأنسولين إلى الدم، [23] كما أن لمادة (Oleuropein) القدرة على تنشيط الأنسولين وتحرره وزيادة دخول الكلوكوز إلى الخلايا المستهدفة إضافة إلى أن الفلافونيدات تلعب دوراً فعالاً في خفض عملية تكوين الكلوكوز في الكبد، وكذلك تثبيط عملية تكوين الكلوكوز من مصادر غير كاربوهيدراتية عن طريق تثبيط إنزيم Glucose-6-phosphatase في الكبد .[24].

ارتفاع معنوي عند مستوى (P<0.01) في تركيز الانسولين في مصل دم الحيوانات المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان والمعاملة بمزيج الفلفل الأحمر الحلو وزيت الزيتون العذري الممتاز سوية وقد يرجع السبب في ذلك إلى كفاءة المزيج المستخدم في إعادة بناء وإصلاح خلايا بيتا البنكرياسية التي تسهم في تحفيز تصنيع وإفراز الأنسولين ومن ثم السيطرة على مستوى الكلوكوز في مصل الدم. وجاءت النتيجة متفقة مع ما توصل إليه [25] إن للمركبات الفعالة الموجودة في الفاكهة الحمراء ومن ضمنها الفلفل الأحمر الحلو والطماطم الغنية بفيتاميني E,C فضلاً عن احتواءها على كميات كبيرة من المركبات الفلافونويدية مع توفر المادة الفعالة المعروفة بالكابسيسين Capsaicin حيث عرفت جميعها بفعاليتها وقدرتها على خفض تركيز سكر كلوكوز الدم وتحفيز انتاج الانسولين كما توضح الدراسات التي أجريت في قسم خدمة صحة الإنسان للدراسات الأمريكية ونشر إرشادات التغذية الصحية للعام 2010 والتي تركز على ما يحتويه الفلفل الأحمر الحلو من معادن متنوعة حيث ثبت احتواءه على 346 ملغم بوتاسيوم / 100 غرام يقابله 7 ملغم صوديوم /100 غرام وهي ضرورية بمستوياتها المعتدلة للجسم وذلك لأهميتها في تحفيز إنتاج الأنسولين وخفض تركيز سكر الكلوكوز .

جدول(3): يوضح تركيز سكر الكلوكوز والأنسولين في مصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي والمعاملة بمستخلص الفلفل الأحمر مع زيت الزيتون العذري بصورة تأزرية

الاختبارات / المجاميع التجريبية	تركيز سكر الكلوكوز في مصل الدم mg/dl	تركيز الأنسولين في مصل الدم ng/ml
مجموعة السيطرة	92.4 ± 1.6^{e}	2.9 ± 1.4^{a}
مجموعة الالوكسان	259.3 ± 4.5^{a}	$0.1^{c}\pm4.7$
الالوكسان+الفلفل الأحمر الحلو +زيت الزيتون(2مل/كغم)	188 ± 6.2^{b}	$0.5^{c}\pm4.6$
الالوكسان+الفلفل الاحمر الحلو +زيت الزيتون(4مل/كغم)	185 ± 5.7^{c}	$1.5^{b}\pm1.9$
الالوكسان+الفلفل الأحمر الحلو +زيت الزيتون(6مل/كغم)	154.5 ± 4.2^{d}	2.8 ± 1.7^{a}
الالوكسان+الفلفل الأحمر الحلو +زيت الزيتون(8مل/كغم)	159.08 ± 1.9^{d}	1.5 ± 2.2^{b}

- عدد الجرذان في كل مجموعة(4).
- الاحرف المختلفة فوق كل عمود تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية($p<0.05$)

المصادر:

1-Sindhu, S. Nair, Vaibhavi, K.and Anshu M.(2013). *In vitro* studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts European Journal of Experimental Biology, 3(1):128-132

2-Shoback, edited by David G. Gardner, Dolores (2011). *Greenspan's basic & clinical endocrinology* (9th ed.). New York: McGraw-Hill Medical. pp. Chapter 17. ISBN 0-07-162243-8.

3- Ismail ,Bakaa H.(2008). Study of amylase enzyme and amylase creatinine clearance rate in non-insulin dependent diabetes meiilites .J. of Al-Anbar Univ., 1991-8941.

4- Green, J. H. (1985). Control system‑ Hormones. In: Basic clinical physiology. 3ed edition. Oxford medical publication. New York.Tornto. p 114-121.

5- Schmidt ,D.; Former ,H .;Junge ,B.;Muller M .; Wingender, W. and Trusheit E. (1999). a-Glucosidase inhibitor: New complex oligosaccharides of microbial origin. Natur wissenschaften *64*, 535–536.

6- A. van de Laar, Floris ,Peter L. Lucassen,Reinier P. Akkermans,Eloy H. van de Lisdonk, M,Guy E. Rutten, and Chris van Weel, M.(2005). α-Glucosidase Inhibitors for Patients With Type 2 Diabetes ,j. Diabetes Care vol. 28 no. 1 154-163.

7-Mohammed, A. Adelaiye, A.B.; Bakari, A.G. and Mabrouk ,M.A.(2009) *International Journal of Medicine and Medicina Sciences*, , 1(12):530-535

8- Rodbard H.; Blonde L.;Braithwaite S.; Brett E.; Cobin R. and Handelsman Y.(2007). American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. Endocr Pract. 13(Suppl 1):S1-68.

9-Bhat, M.; Zinjarde, S.S.; Bhargava, S.Y.; Kumar, A.R. and Joshi, B.N.(2011) *Evi Based Complement Alternate Med*,810-207.

10- Baldcci-Roslnd, E.; Silvirio, K.; Gorge, M. and Gonazaga, H. (2001). Effectof Isotrishone on tooth germ of plate development in mouse *J embryos. Braz. Dent.*, 12(2): 115-119.

11- Kyung, K. and Felming, H.(1994). Antibacterial activity of cabage juice against lactic acid bacteria . *J. Food Sci.*, 59(1) : 125-129 .

12- Young .D.S.effect of drugs on clinical laboratory tests,4th ed.(1995),p:3-43 to 3-46.

13-Kim, Y. et al. (2003). Inhibitory effect of pine extract on α-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition* 21(6): 756 – 761.

14-Young- K, Emmanouil A and Kalidas ,S.(2007) Evaluation of pepper (*CAPSICUM ANNUUM*) for management of Diabetes and Hypertenstion, J. of Food Biochem., 31 :370–385.

15- Ademosun A., Oboh, G.*, Adewuni T., Akinyemi A. and T. A. Olasehinde. (2013).

Antioxidative properties and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes by snake tomato (*Tricosanthes cucumerina*) and two tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties African J. of pharmacy and pharmacology,7:33,pp.2358-2365.

16- Tadera, K.; Minami, Y.; Takamatsu, K. and Matsuoka, T. (2006)Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. J. Nutr., Sci. Vitaminol, (Tokyo).52(2):149-53.

17- Erbay, Z. and Icier ,F.(2010) The importance and potential uses of Olive leaves. Food Rev Int . 26(4): 319 -34.

18- Tuck, K.L. and Hayball P.J. (2002)Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. J. Nutr, Biochem.13(11):636-44.

19- Van de Laar F.A.(2008) Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. Vasc Health Risk Manag.4(6):1189-95.

20 -Van de Laar F.A., Lucassen, P.L.and Akkermans R.P.(2005) Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev.

21-Minh A.,Jin W., Jingyi T., Yan Z. and Ken Ng(2013).Evaluation of α-glucosidase inhibition potential of some flavonoids from *Epimedium brevicornum*, 492–498.

22- Al Jamal Abdul Rahim and Abdallah Ibrahim .(2011).Effects of olive oil on lipid profiles and blood glucose in type2 diabetic patients . Int J Diabetes & Metab, 19:19-22.

23- Paiva-Martins, F.; Fernandes, J.; Rocha,S.; Nascimento, H.; Vitorino, R.; Amado,F.; Borges, F.; Belo,L. and Santos-Silva, A.(2009). Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. *Mol Nutr.Food Res*; 53: 609-616.

24- Jung,U.; Lee,M.; Jeong,K.and Choi,M.(2006). The hypo- glycemic effects of hesperidin and naringin are paetly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57 BL/KSJ-db Mice. *J. Nutr*; 134(10): 2499-2503.

25-Navarro, J.; Floresand, P. and Garrido ,C. (2006). Vicente Martinez. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity Food Chemistry 96: 66–73.

Study of synergistic Inhibitory effectiveness of mixed of Sweet bell pepper extract and virgin olive oil in α -amylase and α-glucosidase activity in serum of male rats infected with experimental diabetes

Wedad M. Lahmood Al-obaidi

Dep. of Biology , College of Science , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

Abstract

The present research designed for evaluate the inhibitory activities of red bell pepper alone ,red bell pepper and virgin olive oil together on alpha-amylase and alpha-glucosidase activities of adult male rats (*Rattus norvegicus*) infected with experimental Diabetes induced by alloxan, in present study used (40) male rats weight (250-300) gram, their age (14-16) weeks the experimental animals had been bought from faculty of veterinary/ university of mousl and had been performed in the animal house at Dept. of Biology of science college at Tikrit Univ. from October to December, The present study intend to screen novel alpha amylase and alpha glucosidase inhibitors from natural sources to management of diabetes mellitus type 2.

1- The results had been shown significant decrease at the level of ($p<0.01$) in serum glucose concentration in diabetics rats given mixed of red bell pepper and virgin olive oil in dose –dependent manner compare with diabetic group alone.

2- high significant increase ($P<0.01$) in insulin concentration in diabetics male rats given mixed red bell pepper and olive oil compared with diabetic group alone .

3- The present result had been shown high inhibitory percentage of mixed extract of red bell pepper and virgin olive oil together against alpha-amylase and alpha-glucosidase in diabetic rats more than red bell pepper alone in dose-dependent manner (2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml/ kg. of body weight).

Conclusion: the mixture consist of red bell pepper extract and virgin olive oil show positive effect on inhibitory of amylase activity and alpha-glucosidase but effect on alpha- amylase more than on alpha glucosidase activity in male diabetic rats this may be considered this mixture as one of good management of hyperglycemia.