Study of anticoagulant activity of Yerba Mate and Yerba Mate with Ginger *in vitro*

Dr. Dima Aldiab*
Dr. Nouma Hassan**
Karol saeed***

(Received 19 / 3 / 2024. Accepted 23 / 5 / 2024)

□ ABSTRACT □

Yerba mate (YM) is a popular tea that is consumed in large quantities in our country, alone or with some herbal like ginger. It is prepared by infusion of the dried leaves of *Ilex Paraguariensis* in hot water. Although, it is a rich source of active compounds, such as polyphenol compounds which have been proven to have anticoagulant activity in many research, but the anticoagulant activity of YM has not been studied yet.
This study aimed to investigate the anticoagulant activity of YM alone and with ginger by testing its effect *in vitro* on prothrombin time (PT) using plasma from healthy adults. Different concentrations of YM and YM with ginger were prepared and the total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method. The results showed that the phenolic content of 1g YM and 1g of the mixture with ginger were (90.457 mg_{GAE}/g) (106.88 mg_{GAE}/g) respectively. *In-vitro* PT test showed that Both YM and YM with ginger can prolong prothrombin time.

Key Words: Yerba Mate, Ginger, Anticoagulant activity, Prothrombin time, Polyphenol

Copyright :Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Associate Professor at department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria**
** **Teacher at department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria.**
*** **Master student at department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Latakia, Syria.**

دراسة الفعالية المضادة للتخثر لكل من المتة والمتة مع الزنجبيل في الزجاج

د. ديمة الدياب*

د. نعمى حسن**

كارول سعيد سعيد***

(تاريخ الإيداع 19 / 3 / 2024. قبل للنشر في 23 / 5 / 2024)

□ ملخّص □

تعد المتة مشروباً شعبياً يتم استهلاكه بكميات كبيرة في بلادنا سواءً لوحدها أو مع بعض الإضافات كالزنجبيل، يتم تحضيرها عبر نقع أوراق نبات المتة الجافة بالماء الساخن وتناولها. بالرغم من كون المتة مصدراً غنياً بالمركبات الفعالة كالمركبات الفينولية التي تم عزلها من نباتات عديدة وإثبات فعاليتها المضادة للتخثر في العديد من الدراسات السابقة، إلا أنه حتى الآن لم يتم التقصي عن الفعالية المضادة للتخثر للمتة بحد ذاتها.

هدف هذا البحث إلى دراسة الفعالية المضادة للتخثر للمتة لوحدها ولمزيج المتة مع الزنجبيل وذلك من خلال قياس زمن البروترومبين باستخدام عينات بلاسما لأفراد أصحاء في الزجاج. تم تحضير خلاصات مائية بتراكيز مختلفة من المتة لوحدها ومزيج المتة مع الزنجبيل وتحديد محتواها الكلي من المركبات الفينولية وفقاً لطريقة Folin-Ciocalteau المرجعية. بلغ متوسط كمية المركبات الفينولية في 1g من المتة الجافة وفي 1g مزيج متة جافة مع زنجبيل مطحون ($90.457\ mg_{GAE}/g$)، ($106.88\ mg_{GAE}/g$) على التوالي. أظهرت نتائج زمن البروترومبين أن كل من خلاصات المتة ومزيج المتة مع الزنجبيل لها القدرة على إحداث تطاول هام إحصائياً في زمن البروترومبين مقارنةً مع الناصع عند الأصحاء ($P<0.05$). تشير نتائج البحث إلى احتمالية وجود فعالية مضادة للتخثر للخلاصات المائية للمتة ومزيج المتة مع الزنجبيل.

الكلمات المفتاحية: المتة، الزنجبيل، فعالية مضادة للتخثر، زمن البروترومبين، مركبات فينولية.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* أستاذ مساعد - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

** مدرّسة - قسم علم تأثير الأدوية والسموم - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

*** طالبة ماجستير - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

مقدمة:

تعد الأمراض القلبية الوعائية Cardiovascular diseases (CVD) الناجمة عن الخثرات من أشيع أسباب الوفاة والعجز في جميع أنحاء العالم، وبالرغم من أن علاج الأفراد المصابين بأمراض CVD فعال وغير مكلف إلا أنه قد يملك تأثيرات جانبية غير مرغوبة. نظراً للعبء المتزايد من الأمراض المزمنة، من المهم إيجاد منتجات طبيعية فعالة ذات تأثيرات جانبية أقل سواء في العلاج أو الوقاية من هذه الأمراض [1].

عملية الإرقاء هي عملية فيزيولوجية معقدة وواحدة من أهم آليات حماية الجسم، إذ تتحرض بفعل أذية في الأنسجة وخاصة الأوعية الدموية. فهي تساهم في إيقاف الأذية في الأوعية، الحفاظ على سيولة الدم، وإزالة الخثرات بعد استعادة سلامة الأوعية. ويتكون الإرقاء من ثلاث مراحل رئيسية (انقباض الأوعية الدموية وتشكل خثرة مؤقتة، تفعيل سبل التخثر، تشكل خثرة الفيبرين النهائية) [2].

تشمل سبل التخثر كل من (السبيل الخارجي، والداخلي، والمشترك)، ويتم تقييم فعالية سبيل التخثر الخارجي والمشترك من خلال اختبار زمن البروترومبين Prothrombin Time (PT) الذي يتألف من مرحلة واحدة حيث يعتمد على الزمن (بالثواني) اللازم لتشكل خثرة الفيبرين بعد إضافة كاشف الترومبوبلاستين الكامل إلى البلاسما الفقيرة بالصفيحات الدموية. يحسب الزمن من لحظة إضافة الكاشف إلى لحظة تشكل خثرة ثابتة، ويبلغ مجال زمن PT عند الشخص الطبيعي [11–15 sec] قد يتغير هذا المجال حسب نوع الكاشف المستخدم [3].

أما تقييم فعالية سبيل التخثر الداخلي تتم عبر اختبار زمن البروترومبين الجزيئي activated Partial Thromboplastin Time (aPTT). وهو الزمن (بالثواني) اللازم لتشكل خثرة الفيبرين بعد إضافة كاشف الترومبوبلاستين الجزيئي إلى البلاسما الفقيرة بالصفيحات الدموية. يحسب الزمن من لحظة إضافة الكاشف إلى لحظة تشكل خثرة ثابتة، ويبلغ مجال زمن aPTT عند الشخص الطبيعي [26–33 sec] [4].

يُستهلَك المتة كمشروب شعبي بكميات كبيرة في بلادنا ويُحضَّر عبر نقع أوراق نبات المتة *Ilex Paragureiensis* بالماء الساخن ثم تناولها باستخدام المصاصة Bombilla [5]. تعتبر المتة مصدر غني بالمركبات الفعالة وعلى رأسها المركبات الفينولية (حموض فينولية كحمض الكلوروجينك، مشتقات حمض القهوة، الفلافونوئيدات) التي تعود لها العديد من التأثيرات الحيوية المهمة منها التأثيرات الحامية لعضلة القلب [6]، والفعالية المضادة للأكسدة [7,8] والمضادة للالتهاب [9,10]، والوقاية من داء السكري [11]، والمضادة للجراثيم [12,13]، والمضادة للتخثر [14,15].

يقوم بعض مستهلكي المتة بإضافة بعض النباتات لها أثناء تناولها بهدف تحسين مذاقها وزيادة تأثيراتها الطبية منها الزنجبيل *Zingier officinal* وهو نبات عشبي معمر غني بالمركبات الفعالة أهمها المركبات الفينولية (Shagaols، Gingerols) المسؤولة عن أغلب تأثيراته الحيوية [16]. فهو يمتلك فعالية مضادة للأكسدة [17]، مضاد للجراثيم [18]، مضاد للالتهابات [19]، مضادة للغثيان والإقياء [20]، مضادة لتكدس الصفيحات [21].

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث:

تم إثبات الفعالية المضادة للتخثر للمركبات الفينولية عبر العديد من الدراسات السابقة. المتة مشروب شعبي يتم استهلاكه بكميات كبيرة في بلادنا ومصدر غني بالمركبات الفينولية إلا أنه لم يتم دراسة تأثيراها المضاد للتخثر بعد، وفي حال إثبات هذه الخاصية تكون المتة ذات تأثير واقي من الخثرات والجلطات.

أهداف البحث:

- ✓ تحضير خلاصات مائية من المتة ومزيج المتة مع الزنجبيل بتراكيز مختلفة وتحديد كمية المركبات الفينولية الموجودة فيها
- ✓ دراسة الفعالية المضادة للتخثر للخلاصات المائية المحضرة في الزجاج من خلال قياس زمن البروترومبين PT باستخدام عينات دم من أفراد أصحاء

طرائق البحث ومواده:

تم إجراء البحث في مخابر جامعة تشرين ومشفى الباسل في طرطوس.

1- المواد والأجهزة المستخدمة:

المواد المستخدمة:

ماء مقطر حديثاً، حمض الغالي (Biotech LTD)، كربونات الصوديوم (BDH, England)، كاشف فولين سي كالتو (Sigma Aldrich, Swizerland)، كاشف اختبار زمن البروترومبين السائل عالي الحساسية (Antrim, BT41 1QS (United Kingdom.

الأجهزة المستخدمة:

ميزان إلكتروني ذو حساسية 0.0001 g (RADWAG, AS 220/C/2)، حمام مائي (MEMMERT)، مقياس الطيف الضوئي (Jasc V-530 UV)، مثفلة أنابيب دموية (scilogex)، جهاز قياس زمن البروترومبين نصف الآلي (CoaDATA 4004).

العينات:

تم شراء عبوات المتة التجارية من محل تجاري في محافظة طرطوس. تم شراء الزنجبيل الطازج أيضاً من السوق المحلية في طرطوس ثم تم تقطيعه إلى شرائح رقيقة وجُفِفت في مكانٍ عاتمٍ ثم طُحِنت بطاحونة منزلية ونُخلِت ووُضِع المسحوق الناتج في عبوات نظيفة عاتمة.

2- تحضير المحاليل:

محلول عمل من كاشف Folin Denis: حُضر بتمديد كاشف Folin Denis بالماء المقطر بنسبة 1:1

محلول كربونات الصوديوم 2%: حُضر بوزن 2 g من كربونات الصوديوم ثم وضعها في بالون معايرة سعة 100 ml وإضافة قليل من الماء المقطر والتحريك حتى تمام الذوبان ثم إضافة الماء المقطر حتى خط العيار

سلسلة حمض الغالي العيارية:

تم تحضير محاليل من حمض الغالي وذلك انطلاقاً من محلول أم بتركيز (5 g/l) [حُضِر بوزن (0.125 g) من حمض الغالي ووضعه في بالون معايرة سعة (25 ml) وإكمال الحجم بإضافة الماء المقطر حتى خط العيار] ثم أُخذَت الحجوم التالية من المحلول الأم باستخدام مِمّص معايرة (0.5-0.4-0.3-0.2-0.1 ml) ووضعت في أنابيب اختبار سعة 5ml وأضيف لها (4.5-4.6-4.7-4.8-4.9 ml) من الماء المقطر على التوالي فحصلنا بذلك على محاليل من حمض الغالي بتراكيز (0.5-0.4-0.3-0.2-0.1 g/l) على التوالي.

أُخذ 0.1ml من كل من محاليل السلسلة العيارية المحضرة ووُضِعت في كوفيت وأُضيف لها (2ml) من محلول بيكربونات الصوديوم 2% والانتظار لمدة 5 دقائق ثم إضافة (0.1 ml) من كاشف Folin Denis الممدد بالماء المقطر بنسبة (1:1) والانتظار لمدة 30 دقيقة في الظلام، وتمت قراءة قيم امتصاصية العينات عن طريق جهاز السبكتروفوتومتر عند طول موجة 750 nm بتكرارية ثلاث مرات بعدها حساب متوسط القراءات. تم استخدام الماء المقطر Blank للطريقة.

3- تحضير خلاصات المتة:

أُخِذت أربع أوزان مختلفة من المتة من عبوة تجارية واحدة بعد أن تم خلطها ومجانستها ثم نخلها جيداً للتخلص من الأجزاء الصغيرة جداً (10.283g –16.652g– 26.082g–32.203g).

تم اختيار هذه الأوزان لتكون أقرب ما يكون لطريقة الاستخدام الشائعة في بلادنا باستخدام الكؤوس الشائعة لتناول المتة، حيث تمثل الأوزان السابقة على الترتيب ما يلي (نصف كأس – كأس– كأس ونص –كأسين من المتة الجافة).

بدايةً، وُزنت (10.283 g) ووُضِعت في بيشر نظيف ثم أُضيف لها 30 مل من الماء المقطر ذي درجة حرارة 80 °C إليها والانتظار مدة 5 دقائق، رُشحت العينة باستخدام ورق ترشيح في مكان عاتم قدر الإمكان، وجُمِعت الرشاحة في بيشر آخر نظيف.

أُعيدَت الخطوات السابقة من إضافة ماء وانتظار وترشيح 10 مرات وبذلك نكون أضفنا حوالي 300 مل ماء مقطر على دفعات متتالية (استخلاص متكرر) لنحاكي الطريقة الشعبية لتناول المتة في بلادنا

كُررت الخطوات السابقة ذاتها وبالترتيب ذاته مع باقي الأوزان (32.203 g – 26.082 g – 16.652 g).

تم تحديد الحجم النهائي للخلاصات باستخدام أسطوانة مدرجة حيث بلغت الحجوم النهائية للخلاصات (الوزن الأول يقابل 260ml، الوزن الثاني يقابل 247ml، الوزن الثالث يقابل 252ml، والوزن الرابع يقابل 200ml)، حُفِظت ضمن عبوات عاتمة وجُمِدت في الثلاجة لحين وقت التحليل.

4- تحضير خلاصات مزيج المتة مع الزنجبيل:

جرى تحضير 4 خلاصات من المتة والزنجبيل، حيث أُخذَت أوزان المتة المستخدمة في تحضير خلاصات المتة (10.283g –16.652g– 26.082g–32.203g)، مع إضافة (0.5 g) من مسحوق الزنجبيل إلى كل منها.

حُضِرت خلاصة من المتة والزنجبيل بالشكل التالي:

وضع 10.835 g متة مع 0.5g زنجبيل في بيشر نظيف، أضيف لها 30 مل من الماء المقطر ذي درجة حرارة 80 °C إليها ثم الانتظار مدة 5 دقائق، رُشِحت العينة باستخدام ورق ترشيح (11,0 cm–0.33mm–55 g/m2) في مكان عاتم ، وجُمِعت الرشاحة في بيشر أخر نظيف

أُعيدت الخطوات السابقة من إضافة ماء وانتظار وترشيح 10 مرات وبذلك يكون قد أُضيف حوالي 300 مل ماء مقطر على دفعات متتالية (استخلاص متكرر) لنحاكي الطريقة الشعبية لتناول المتة في بلادنا

كُررت الخطوات السابقة ذاتها وبالترتيب ذاته مع باقي الأوزان (32.203 g – 26.082 g – 16.652 g) مع إضافة 0.5 g زنجبيل لكل منها ومعاملتها بالخطوات ذاتها.

تم تحديد الحجم النهائي للخلاصات باستخدام أسطوانة مدرجة حيث بلغت الحجوم النهائية للخلاصات المائية بالترتيب (197 ml, 221 ml, 210 ml, 244 ml) وثم حُفِظت ضمن عبوات عاتمة وجُمِدت لحين وقت التحليل.

5- تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية باستخدام طريقة فولين سيوكالتو (Folin-Ciocalteu)

حُدِد المحتوى الفينولي الكلي لكل من خلاصات المتة وخلاصات مزيج متة مع الزنجبيل الأربعة وفق لطريقة فولين سيوكالتو مع الاعتماد على حمض الغالي كمادة عيارية [22,23]. حيث أُخِذ 0.1ml من كل خلاصة من الخلاصات، وأُضيف لكل منها ما يلي: 2ml من محلول بيكربونات الصوديوم 2% والانتظار 5 دقائق ثم إضافة 0.1ml من كاشف Folin Denis الممدد بالماء المقطر بنسبة (1:1) والانتظار لمدة 30 دقيقة في مكان عاتم، ثم قراءة الامتصاصية باستخدام جهاز سبكتروفوتومتر عند طول موجة 750nm باستخدام الماء المقطر كناصع. تم التعبير عن التراكيز بغرام مكافئ من حمض الغاليك الموجودة في لتر من الخلاصة المائية.

6- تحديد الفعالية المضادة للتخثر في الزجاج *In-Vitro*:

❖ مجموعة الدراسة

تم الاستعانة بخمسة متطوعين أصحاء تتراوح أعمارهم بين 40-25 سنة، غير مدخنين، لا يتناولون أدوية مزمنة، ولم يتناولوا مؤخراً أي أدوية OTC، ويتراوح زمن البروترومبين لديهم بين 15-12 ثانية. جرى سحب عينات دم وريدي من هؤلاء المتطوعين وجمعها في أنابيب منع التخثر الحاوية على سترات الصوديوم بنسبة (1:9) ذات اللون الزهري ومزجها بحركة دائرية لطيفة ثم تثفيلها باستخدام جهاز المثقلة بسرعة 4000 rpm لمدة 10 دقائق للحصول على بلاسما فقيرة بالصفيحات نقية لاستخدامها في اختبار زمن البروترومبين [14,15].

❖ اختبار زمن البروترومبين PT:

تم العمل وفق الطريقة المذكورة في دراسة Alaa وزملائه [14]. لتحديد زمن البروترومبين PT الطبيعي للمتطوعين الأصحاء أُخِذ 50 µl بلاسما وحضنها لمدة 60 ثانية ضمن جهاز PT بدرجة حرارة 37 °C ثم إضافة 100µl من كاشف Biorex المدفأ مسبقاً عند درجة حرارة 37 لمدة دقيقة، تمت قراءة زمن البروترومبين بالثواني. تمت إضافة 50 µl من الماء المقطر مع 50µl بلاسما كناصع Blank لاستبعاد تأثير المحل على تطاول زمن البروترومبين.

لمعرفة تأثير الخلاصات المحضرة (المتة، المتة والزنجبيل) على زمن PT للمتطوعين الأصحاء أُخذ 50 µl من بلاسما المتطوعين مع 50 µl خلاصة ثم حضن لمدة 60 ثانية ضمن جهاز PT بدرجة حرارة 37 °C ثم إضافة 100 µl كاشف Biorex المدفأ مسبقاً عند درجة حرارة 37 درجة مئوية وقراءة الزمن بالثواني. تم تكرار اختبار زمن PT مرتين لكل عينة بلاسما وتسجيل النتائج ليتم تحليلها لاحقاً.

7- الدراسة الإحصائية:

تم تحليل البيانات باستخدام برمجية Microsoft Excel 2016 Software لإجراء عدة اختبارات منها:

- ✓ حساب تراكيز المركبات الفينولية اعتماداً على المعادلة الخطية من الشكل Y=ax+b للسلسلة العيارية لحمض الغالي
- ✓ اختبار (شابيرو-ويلك) للتأكد أن جميع البيانات لدينا خاضعة للتوزع الطبيعي
- ✓ اختبار (One Way A NOVA) للتأكد من وجود فرق إحصائي هام بين قيم PT المحسوبة قبل وبعد إضافة كل خلاصة من الخلاصات الأصحاء
- ✓ اختبار العلاقة بين التراكيز المحضرة لجميع الخلاصات وقيم PT

تم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري مع اعتبار قيم P الأقل من 0.05 بأنها قيم ذات دلالة إحصائية، وأن قيم P الأكبر من 0.05 تشير إلى عدم وجود فرق إحصائي هام.

النتائج والمناقشة:

1- تحديد سويات المركبات الفينولية في الخلاصات المائية للمتة ومزيج المتة مع الزنجبيل:

تم التعبير عن إجمالي المركبات الفينولية الموجودة في جميع الخلاصات المائية بمكافئ من حمض الغالي، حيث حُضِرت سلسلة عيارية منه تراوحت تراكيزها بين (0.1-0.5 g/l) وحصلنا على المعادلة الخطية التالية (Y= 1.705 X – 0.0113) ومعامل التحديد R^2= 0.9983 بالاستعانة ببرمجية Excel بعد أن تم إدخال قيم التراكيز والامتصاصيات.

يبين الجدول (1-1) تركيز وكمية المركبات الفينولية في الخلاصات المائية للمتة المحضرة مقدراً بعدد ميلي غرامات حمض الغالي في غرام من المتة الجافة.

الجدول (1-1): تركيز وكمية المركبات الفينولية في الخلاصات المائية الأربعة للمتة

كمية المتة الجافة المستخدمة (g)	تركيز المركبات الفينولية في الخلاصات المائية المحضرة (g_{GAE}/L)[±SD]	كمية المركبات الفينولية في غرام من المتة الجافة (mg $_{GAE}$/g (Extract)[±SD]
10	3.278 ± 0.02	82.9 ± 0.05
16	6.407 ± 0.05	94.85 ± 0.07
26	9.104 ± 0.07	87.87 ± 0.06
32	15.42 ± 0.03	96.28 ± 0.08

بلغت كمية المركبات الفينولية الموجودة في المتة الجافة وسطياً (90.475 mg GAE/g). وهذا ما يتوافق مع نتيجة دراسة سابقة أجريت عام (2004) من قبل الباحثين Chandra و Gonzaliez حيث بلغت كمية المركبات الفينولية في الخلاصة المائية للمتة الجافة التي قاموا بتحضيرها (94.91 ± 4.18 mg GAE/g) [24]. وبالمقابل، كانت نتائج الدراسة الحالية أعلى من نتيجة دراسة أجرتها الباحثة Dima عام 2018 حيث بلغت قيمة المحتوى الفينولي للخلاصة المائية للمتة لديها حوالي (46.96 ± 0.22 mg GAE/g) [7].

يبين الجدول (1-2) كمية المركبات الفينولية الموجودة في الخلاصات المائية لمزيج المتة مع الزنجبيل والذي بلغت وسطياً (106.886 mg GAE/g).

الجدول (1-2): تركيز وكمية المركبات الفينولية في الخلاصات المائية الأربعة للمتة مع الزنجبيل

كمية المتة الجافة (g)	كمية مسحوق الزنجبيل (g)	تركيز المركبات الفينولية في الخلاصة المائية (g/L)	كمية المركبات الفينولية الموجودة في 1g من المتة الجافة مع زنجبيل (mg_{GAE}/g)
10	0.5	4.506 ± 0.02	106.84 ± 0.04
16	0.5	8.752 ± 0.04	109.97 ± 0.01
26	0.5	12.607 ± 0.03	106.92 ± 0.01
32	0.5	17.074 ± 0.04	104.44 ± 0.07

تجدر الإشارة إلا أنه تم الاكتفاء بإضافة 0.5g زنجبيل لتحضير الخلاصة المائية لمزيج المتة والزنجبيل ذلك بأن معظم الأشخاص عند إضافة الزنجبيل المطحون إلى كأس المتة لا يضعون كميات كبيرة ومن خلال التجربة لوحظ أن إضافة نص ملعقة صغيرة من الزنجبيل هي أكثر كمية يمكن تقبلها بسبب الطعم اللاذع الحار القوي للزنجبيل المطحون المحضر.

لا يوجد دراسات سابقة حول إضافة الزنجبيل إلى المتة ودراسة محتواها الفينولي، ولكن من الدراسات التي تناولت إضافة الأعشاب الطبية إلى المتة دراسة للباحثة De Mejia وزملاؤها في الولايات المتحدة الأمريكية عام (2009) التي أظهرت أن المحتوى الفينولي لشاي المتة Yerba Tea المضاف له منكهات يبلغ (40-113 mg GAE/g DL) وهذا ما يتوافق مع نتائج الدراسة الحالية [25].

إلا أن الباحثة Trimedona أظهرت في دراسة عام (2020) في أندونيسيا أن إضافة الزنجبيل إلى شاي الأعشاب وخاصة شاي فاكهة الدراكون *RED DRAGON* لا تؤثر على المحتوى الفينولي الموجود به، حيث بلغت كمية المحتوى الفينولي في الخلاصة المائية لفاكهة الدراكون لوحده والخلاصة المائية للفاكهة بعد إضافة الزنجبيل بنسبة 12% (3.39 ±1.19 mg GAE/g Herbal Tea) و(3.59 ±1.43 mg GAE/g Herbal Tea) على التوالي [26].

هناك العديد من العوامل المؤثرة على كمية المركبات الفينولية المستخلصة سواء في المتة أو في مزيج المتة مع الزنجبيل، منها نوع النبات (الذي يختلف من بلد لآخر ويختلف أيضاً بين مناطق البلد الواحد)، أبعاد الجزيئات (كلما صغرت الأبعاد زادت مساحة سطح التماس مع المحل وزادت كمية المواد المستخلصة)، نوع المحل المستخدم (غالباً المحلات العضوية أفضل من الماء للاستخلاص)، PH الوسط، ومدة الاستخلاص. وعلى اعتبار أن كل باحث استخدم عوامل مختلفة عن الباحثين الآخرين فمن الطبيعي أن نجد اختلاف في النتائج التي توصلوا لها [27].

2- تأثير خلاصة المتة والمتة مع الزنجبيل على زمن البروترمبين باستخدام عينات بلاسما لأشخاص أصحاء في الزجاج:

يوضح الجدول (1-3) قيم زمن PT قبل وبعد إضافة كل خلاصة من الخلاصات المائية للمتة إلى البلاسما الفقيرة بالصفيحات الدموية العائدة للمتطوعين الأصحاء.

الجدول (1-3): قيم زمن البروترومبين PT (*in vitro*) عند الأشخاص الأصحاء قبل وبعد إضافة خلاصات المتة المائية

	قيم PT المتطوع (1) (sec)	قيم PT المتطوع (2) (sec)	قيم PT المتطوع (3) (sec)	قيم PT المتطوع (4) (sec)	قيم PT المتطوع (5) (sec)	قيم PT المتطوع (6) (sec)	قيم المتوسط SD±PT
البدئي (control)	12.1	12.6	12.8	11.8	12.0	12.3	12.3±0.42
ماء مقطر (Blank)	12.6	13.1	13.1	12.2	12.5	12.7	12.7±0.39
3.278 (g/L)	14.2	14.9	14.5	13.8	14.5	14.4	14.4±0.4
6.407 (g/L)	15.5	17.0	16.1	15.4	15.6	15.9	15.9±0.66
9.104 (g/L)	20.3	21.2	21.0	19.4	19.9	20.4	20.4±0.75
15.112 (g/L)	22.4	24.5	23.7	22.2	23.2	23.2	23.2±0.95

كان متوسط زمن PT البدئي للمتطوعين الأصحاء الذي تم قياسه من دون إي أضافات (12.3 sec)، سببت إضافة الماء المقطر إلى البلاسما زيادة في زمن PT ليُصبح (12.7 sec) مقارنة مع الزمن البدئي، وتعود هذه الزيادة إلى أن الماء المقطر مدد عينة البلاسما وساهم في زيادة الزمن اللازم لتشكل الخثرة. وبناءً على ما سبق ولإلغاء تأثير المحل تمت مقارنة الخلاصات مع الماء المقطر، وكانت النتيجة أن جميع خلاصات المتة المائية ذات التراكيز الفينولية المختلفة (3.278 g/l – 6.407 g/l – 9.104 g/l – 15.112 g/l) أدت إلى زيادة في قيم PT لتُصبح وسطياً (12.3 sec، 12.7 sec، 14.4 sec، 15.9 sec، 20.4 sec، 23.2 sec) على الترتيب وكانت هذه الزيادة في زمن PT معنوية مقارنةً مع زمن PT المقاس لدى إضافة الماء المقطر فقط عند الأشخاص الأصحاء ظاهرياً ($P<0.05$).

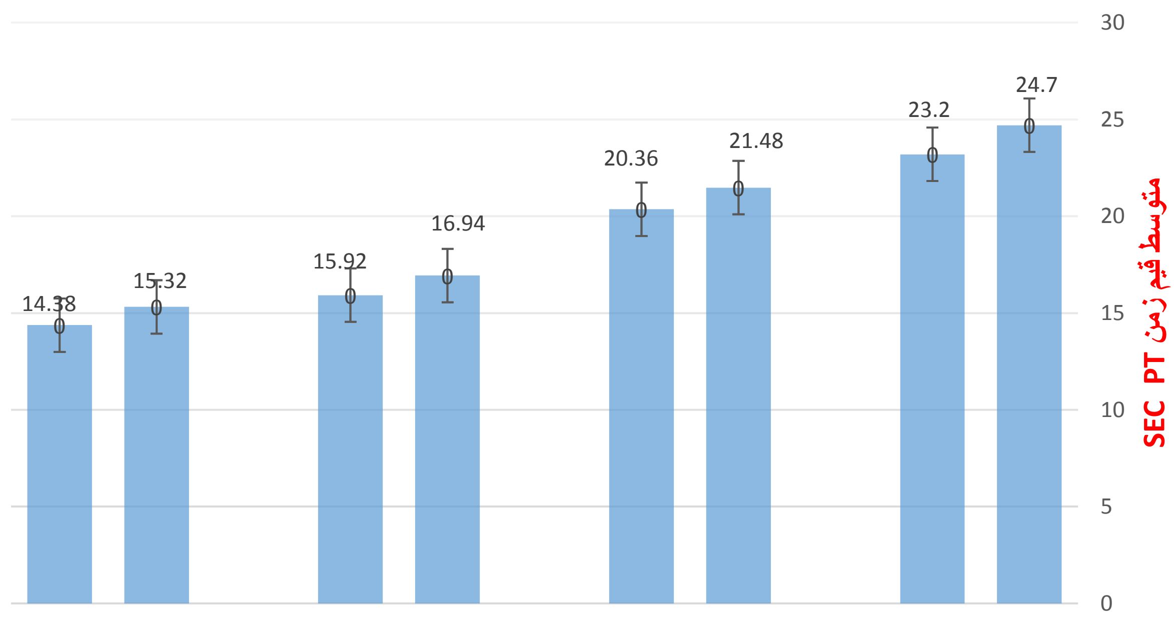
ساهمت الخلاصة المائية الأولى للمتة ذات التركيز الفينولي (3.278 g/l) في تطاول معنوي لزمن PT بمقدار (1.7 sec) بالمقارنة مع الماء المقطر حيث بلغ متوسط قيمة PT عندها (14.4 sec)، أما أكبر تركيز فينولي محضر من خلاصات المتة المائية (15.112 g/l) فقد سبب تطاول معنوي في زمن PT بمقدار (10.5 sec) بالمقارنة مع الماء المقطر وبلغت قيمة PT لديه (23.2 sec).

كذلك الأمر بالنسبة لخلاصات المتة مع الزنجبيل المائية فقد تمت مقارنتها مع زمن PT المقاس لدى إضافة الماء المقطر (12.7 sec) بدلاً من PT الزمن البدئي (12.3 sec) لنفس السبب السابق، وقد أدت جميع التراكيز الفينولية المختلفة لهذه الخلاصات المائية (4.633 g/l – 8.052 g/l – 12.607 g/l – 17.074 g/l) إلى تطاول زمن البروترومبين PT بشكل هام إحصائياً مقارنة مع الماء المقطر، ونلاحظ أن إضافة الزنجبيل إلى المتة أدت إلى تطاول معنوي في زمن PT مقارنة بالمتة لوحدها. كما هو موضح في الجدول (1–4).

الجدول (1-4): قيم زمن البروترومبين PT (*in vitro*) عند الأشخاص الأصحاء قبل وبعد إضافة الخلاصة المائية المتة مع الزنجبيل

	قيم PT المتطوع (1) (sec)	قيم PT المتطوع (2) (sec)	قيم PT المتطوع (3) (sec)	قيم PT المتطوع (3) (sec)	قيم PT المتطوع (4) (sec)	قيم PT المتطوع (5) (sec)	المتوسط قيم SD±PT
البدئي (control)	12.1	12.6	12.8	11.8	12.0	12.3	12.3±0.42
ماء مقطر (Blank)	12.6	13.1	13.1	12.2	12.5	12.7	12.7±0.39
4.633 (g/L)	15.0	16.0	15.6	14.4	15.6	15.3	15.3±0.62
8.052 (g/L)	16.5	18.0	17.5	16.3	16.4	16.9	16.9±0.76
12.607 (g/L)	21.1	22.2	22.4	21.0	20.7	21.5	21.5±0.76
17.074 (g/L)	23.6	26.1	25.7	23.7	24.4	24.7	24.7±1.1

نتج عن الخلاصة المائية للمتة مع الزنجبيل ذات أصغر تركيز فينولي (4.633 g/l) تطاول معنوي في زمن PT بمقدار (2.6 sec) مقارنة مع الماء المقطر وقد بلغ متوسط قيمة PT لديها (15.3 sec)، أما الخلاصة المائية ذات أكبر تركيز فينولي (17.074 g/l) فقد سببت تطاول زمن PT بمقدار (12 sec) مقارنة مع الماء المقطر وكانت قيمة زمن PT حينها (24.7 sec).



الشكل (6–5): تأثير خلاصات المتة والمتة مع الزنجبيل على زمن PT

بالرغم من الكمية القليلة من مسحوق الزنجبيل المضافة إلى جميع خلاصات مزيج متة مع زنجبيل والتغير البسيط في قيم زمن PT الذي يحدثه الزنجبيل في خلاصات المزيج، إلا أن هذا الفرق كان ذو دلالة إحصائية مقارنة مع خلاصات المتة لوحدها دون الزنجبيل (P<0.05).

يُلاحظ أن تناول نصف كأس من المتة الجافة لم يسبب تجاوز قيمة زمن PT عن الحد الأعلى للمجال الطبيعي لزمن PT إلا أن إضافة نصف ملعقة صغيرة من الزنجبيل إلى كأس المتة زادت التأثير المطاول لزمن PT وجعلته يتجاوز الحد الأعلى لمجال زمن PT الطبيعي أي أن إضافة نصف ملعقة من الزنجبيل المطحون إلى نصف كأس من المتة أدت إلى تطاول أعلى لزمن PT مقارنة مع المتة لوحدها ولكن دون الخوف من زيادة خطر النزف.

يعتبر مشروب المتة المحضر من نقع نبات المتة الجافة من أكثر المشروبات الساخنة تناولاً في بلادنا وخاصةً في المناطق الساحلية. تعتبر مصدراً وفيراً بالمركبات الفينولية (حموض فينولية وفلافونوئيدات) التي تم إثبات فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للتخثر في العديد من الدراسات السابقة، لذلك كان لا بد لنا من دراسة فعالية المتة المضادة للتخثر وقدرتها على التأثير في زمن البروترومبين PT.

لا يوجد دراسات سابقة تناولت تأثير YM سواء لوحدها أو مع الزنجبيل على زمن البروترومبين PT عند الأفراد الأصحاء ظاهرياً في الزجاج بالرغم من غناها بالمركبات الفينولية (حموض فينولية كحمض القهوة وحمض الفيرول وحمض الكلوروجينك ومشتقاتها) والفلافونوئيدات القادرة على التأثير على شلال التخثر وإحداث تطاول معنوي في أزمنة التخثر PT و APTT.

من ضمن الدراسات المشابهة والتي تناولت تأثير خلاصات نباتية غنية بالمركبات الفينولية وتأثيرها على زمن PT منها دراسة أجرها الباحث Alaa وزملاؤه عام (2023) في سوريا لمعرفة التأثير المضاد للتخثر في الزجاج للوردة الدمشقية *Rosa Damascena* الغنية بالمركبات الفينولية، حيث حضروا خلاصة مائية منها وقاموا بدراسة تأثيرها على زمن PT لعينات بلاسما أصحاء، إذ أظهرت نتائجهم تطاولاً معنوياً (P<0.05) لجميع الخلاصات المحضرة ذات التراكيز الفينولية المختلفة [14].

أيضاً في دراسة قام بها الباحث Bijak وزملاؤه عام (2011) في بولندا لمعرفة التأثير المضاد للتخثر المحتمل للخلاصة المائية للتوت الأسود *Black Berry* وخلاصة بذور العنب *Grape seeds* الغنيتين بالمركبات الفينولية، تم فيها سحب عينات دم وريدي لمتطوعين أصحاء ظاهرياً وتثفيلها ثم إضافة كل من الخلاصات للبلاسما وحساب زمن PT قبل وبعد الإضافة. أظهرت نتائج الباحث Bijak وزملاؤه أن كل من خلاصة بذور العنب والتوت الأسود ذات التركيز (5 µg/ml) قد أدّت إلى تطاول معنوي (P<0.001) في كل من زمن PT وزمن APTT، حيث بلغت قيمة PT قبل الإضافة (16.1 sec) وأصبحت بعد إضافة خلاصة بذور العنب وخلاصة التوت الأسود (18.1 sec) و(17.9 sec) على التوالي [28].

لا يوجد دراسات حول تأثير إضافة الزنجبيل إلى المتة وتأثيرها على زمن PT إلا أنه أكدت العديد من الدراسات فعالية الزنجبيل المضادة للتخثر وقدرته على التأثير على زمن PT عند الأشخاص الأصحاء ظاهرياً.

ففي دراسة قام بها الباحث Ajala وزملاؤه عام 2017 في نيجيريا حول الفعالية المضادة للتخثر لخلاصة جذور الزنجبيل الميتانولية على فئران التجربة تم سحب عينات دم من الفئران بعد أن تم إعطاءها خلاصة الزنجبيل فموياً وقياس أزمنة التخثر، أظهرت النتائج تطاولاً معنوياً في كل من زمن PT وAPTT مقارنة مع الفئران التي لم يتم

إعطاءها الزنجبيل وقد تم تفسير النتائج أن خلاصة الزنجبيل تمتلك تأثير مباشر على عوامل تخثر السبيل الخارجي والداخلي [29].

من الدراسات التي تناولت تأثير المركبات الفينولية على أزمنة التخثر دراسة جرت في كوريا عام 2017 لدراسة التأثير المضاد للتخثر *in vitro* و*in vivo* لمشتقات حمض القهوة أكدت من خلالها أن حمض الفيرول يمتلك تأثير مضاد للتخثر من خلال قدرته على إحداث تطاول معنوي في زمن PT ويمتلك أيضاً القدرة على تثبيط تكدس الصفيحات [30].

درس الباحث Choi عام 2016 في كوريا الفعالية المضادة للتخثر العائدة لحمض الكلوروجيني، حيث تم اختبار عدة تراكيز من الحمض ودراسة تأثيرها على أزمنة التخثر PT وAPTT وذلك *in vitro*، كذلك تمت دراسة التأثير المباشر لحمض الكلوروجيني على الترومبين من خلال حضنهم معاً وقد أظهرت النتائج أن حمض الكلوروجيني سبب تطاولاً معنوياً في أزمنة التخثر وله القدرة على التثبيط المباشر للترومبين [31].

في دراسة قام بها الباحث Luo وزملاؤه عام 2017 لفحص قدرة الأحماض الفينولية (حمض القهوة، هيدروكسي حمض القرفة، حمض الفيروليك) التأثير على أزمنة التخثر، أظهرت النتائج أن الحموض الفينولية السابقة لها القدرة على إطالة كل من زمن PT وAPTT فلها القدرة على تثبيط الترومبين ومنع تحول الفيبرينوجين المنحل إلى الفيبرين غير منحل [32].

يجب إبقاء زمن PT لدى الأشخاص الأصحاء ضمن المجال الطبيعي [12–15 sec]، وفي حال تجاوزت قيمة PT الحد الأعلى لهذا المجال يزداد خطر النزف. بالمقارنة مع نتائج الدراسة الحالية، يقلل تناول المتة من احتمالية الإصابة بالجلطات وهذا يمنحها أهمية كبيرة كونها تمتلك أيضاً خصائص مضادة للأكسدة ومضادة لتكدس الصفيحات.

لكن بالمقابل يمكن لتناول كأسين أو كأس ونصف من المتة الجافة أن يزيد من خطر النزف عند الأشخاص الأصحاء ظاهرياً ويجعل قيمة PT تتجاوز المجال الطبيعي السابق لذلك يجب تناولها باعتدال وعدم الإكثار منها.

الاستنتاجات والتوصيات:

- **الاستنتاجات:**

✓ يعتبر مشروب المتة مصدر غني بالمركبات الفينولية حيث بلغت كمية المركبات الفينولية الموجودة في غرام واحد من المتة الجافة وسطياً (90.475 mg GAE/g)، كما أن إضافة الزنجبيل لها تزيد محتواها الفينولي حيث بلغت كمية المركبات الفينولية في 1g من مزيج المتة الجافة مع الزنجبيل المطحون وسطياً (106.886 mg GAE/g).

✓ أظهرت جميع الخلاصات المائية للمتة زيادة هامة إحصائياً في زمن البروترمبين مقارنة مع الماء المقطر (الناصع)، حققت الخلاصة المائية الرابعة للمتة ذات التركيز الفينولي الأعلى (15.112 g/l) التطاول الأعلى في زمن البروترومبين بمقدار (10.06 sec) مقارنة مع الماء المقطر والتي تعادل تناول (32.203 g) من المتة الجافة أي كأسين من المتة الجافة.

✓ أظهرت جميع الخلاصات المائية لمزيج المتة والزنجبيل زيادة هامة إحصائياً في زمن البروترومبين مقارنة مع الماء المقطر (الناصع)، حققت الخلاصة المائية الرابعة لمزيج متة مع زنجبيل ذات التركيز الفينولي الأعلى (17.074 g/l) أعلى تطاول لزمن PT عن الحد الأعلى الطبيعي بمقدار (11.56 sec) وهو ما يعادل تناول كأسين من المتة الجافة مع نصف ملعقة صغيرة من الزنجبيل.

✓ تمتلك المتة تأثير مضاد للتخثر جيد في الزجاج ويزداد هذا التأثير عند إضافة الزنجبيل لها.

- **التوصيات:**

✓ دراسة التأثير المضاد للتخثر للمستخلصات المائية للمتة والمتة مع الزنجبيل *in vivo* لدى البشر.

✓ دراسة تأثير مستخلصات المتة والمتة مع الزنجبيل على زمن الترومبوبلاستين الجزئي المفعل APTT وعلى تكدس الصفيحات لمعرفة التأثيرات الأخرى المحتملة للمتة على عملية التخثر، خصوصاً مع قلة الأبحاث حول هذا الموضوع.

✓ إمكانية استخدام المتة للوقاية من حدوث الخثرات والجلطات عند الأشخاص المعرضين للجلطات، في حال إثبات تأثيرها لدى البشر، على اعتبار أن نتائج دراستنا في الزجاج توجه لوجود فعالية مضادة للتخثر.

✓ تحديد المركبات الفعالة المسؤولة عن الخاصية المضادة للتخثر والاستفادة منها في صنع أدوية نباتية تقي من الجلطات على اعتبار أنها تمتلك خصائص مضادة للأكسدة والالتهاب أيضاً.

✓ تحذير الأشخاص المعرضين لحدوث نزف (مثل المرضى الذين يتناولون الوارفارين) من خطر حدوث تطاول في زمن البروترومبين لديهم والوصول إلى حد النزف في حال تناولهم للمتة بشكل كبير.

Referance:

1- Viuda-Martos, M., et al. "Role of fiber in cardiovascular diseases: A review." *Comprehensive reviews in food science and food safety* 9.2 (2010): 240-258

2- Chen, Yeyi, et al. "Polysaccharide based hemostatic strategy for ultrarapid hemostasis." Macromolecular Bioscience 20.4 (2020).

3- Dorgalaheh, Akbar, et al. "Standardization of prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR)." International journal of laboratory hematology 43.1 (2021): 21-28.

4- Ge, Beikang, Zhen Zhang, and Zhong Zuo. "Updates on the clinical evidenced herb-warfarin interactions." Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2014 (2014).

5- Gawron-Gzella, Anna, Justyna Chanaj-Kaczmarek, and Judyta Cielecka-Piontek. "Yerba mate—A long but current history." *Nutrients* 13.11 (2021): 3706

6- Mosimann et al." a queous extract of Ilex paraguariensis attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits." *Biofactors* 26. 1 (2006): 59-70.

7- Aldiab, Dima. "Effect of preparation conditions on phenolic content and antioxidant activity of various teas and herbal teas." *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* 11.3 (2018):222-226.

8- Al Assad, Nour and Dima Al Diab. "Determination of total antioxidant activity of fruit juices widely consumed in Syria." *Research Journal of Pharmacy and Technology* 10.4 (2017): 957-962.

9- Nezam, Akram, Dima Al Diab, and Nouma Hasan. "In-Vitro Anti-Inflammatory activity of Total phenolic content of some fruit juices in Syria." *Research Journal of Pharmacy and Technology* 14.7 (2021): 3685-3688.

10- Al Diab, Dima, Nouma Hasan, and Akram Nezam. "Using Albumin Denaturation Inhibition Method to Determine the Anti-Inflammatory Activity of Phenolic Compounds in Some Locally Available Fruit Juices ". *Tishreen University Journal-Medical Sciences Series* 43.1 (2021).

11- Alsalti, Abed Almajid, Nouma Hasan, and Dima Aldiab. "In-vivo hypoglycemic efficacy of Rosa damascene petals extracts." *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut* 45.2 (2022): 593-604.
12- Ahmad Ahmad, Dima Al-Diab, and Nazih Daoud. "Antimicrobial effect of Rosmary extract to improve the shelf life of chicken meat". *Tishreen University Journal-Medical Sciences Series* 45.3 (2023).
13- Kaddar, Rafah, Nouma Hasan, and Dima Al-Diab. "Antibacterial activity of Rosa damascene petals mill extracts." *Research Journal of Pharmacy and Technology* 16.11 (2023).
14- Alaa Ahmad, Nouma Hasan, and Dima Aldiab. "Study of the anticoagulant activity of Rosa Damascena extract in vitro". *Tishreen University Journal-Medical Sciences Series* 45.3 (2023).
15- Karol Saeed, Dima Aldiab, and Nouma hasan. "In vitro evaluation of the effect of yerba mate on warfarin efficacy". *International Journal of Advance Healthcare Research* 7.11 (2023)..
16- Jerdy, Jouliana. *Assessing the use of yerba mate with other medicinal plants in Lebanon*. Diss. Notre Dame University-Louaize, 2020.
17- Ma, Run-Hui, et al. "A recent update on the multifaceted health benefits associated with ginger and its bioactive components." *Food & Function* 12.2 (2021): 519-542
18- Miri park et al." Antibacterial activity of 10-gingerol and 12- gingerol isolated from ginger against periodontal bacteria. 2008
19- Vasala, P. A. "Ginger." *Handbook of herbs and spices*. Woodhead Publishing, 2012. 319-335
20- Moghaddasi, Mohammad Sharrif, and Hamed Haddad Kashani. "Ginger (Zingiber officinale): A review." *Journal of Medicinal Plants Research* 6.26 (2012): 4255-4258
21- Basila, Daniel, and Chun-Su Yuan. "Effects of dietary supplements on coagulation and platelet function." *Thrombosis research* 117.1-2 (2005): 49-53.
22- Sahunie, Ali and Dima Aldiab. "Effect of Rosmeary and Marjoram Extracts on oxidative stability of refined sunflower oil." *Tishreen University Journal-Medical Sciences Series* 45.1 (2023).
23- Al Asaad, Nour, and Dima Al Diab. "Antioxidant Activity and Phenolic Content of Eight Mediterranean Fruit Juices." *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology (IJPSN)* 9.3 (2016): 3299-3304
24- Chandra, Sonia, and Elvira Gonzalez de Mejia. "Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of Ardisia compressa in comparison to mate (Ilex paraguariensis) and green (Camellia sinensis) teas." *Journal of agricultural and food chemistry* 52.11 (2004): 3583-3589.
25- de Mejia, Flvira Gonzalwz, et al. "Yerba mate tea (Ilex paraguariensis): phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation." Journal of Functional Foods 2.1 (2010):23-34.
26- . Trimedona, Neni, et al. "Antioxidant properties of herbal tea prepared from red dragon fruit Peel with the addition of ginger." *Journal of Applied Agricultural Science and Technology* 4.2 (2020): 181-188.
27- . Tinello, Federica, Stefania Zannoni, and Anna Lante. "Antioxidant properties of soybean oil supplemented with ginger and turmeric powders." *Applied Sciences* 10.23 (2020): 8438

28- Bijak, Michal, et al. "Popular naturally occurring antioxidants as potential anticoagulant drugs." Chemico-bBiological Interactions 257 (2016) 35-45.
29- Ajala, O. S., et al. "Anticoagulant activity of ginger (Zingiber officinale Rosc., Zingiberaceae) rizhome extract." *Nigerian Journal of Pharmaceutical Research* 13.2 (2017): 167-173.
30- Choi, Jun-Hui, et al. "In vitro and in vivo antithrombotic and cytotoxicity effects of ferulic acid." *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 32.1 (2018): e22004
31- Choi, Jun-Hui, and Seung Kim. "Investigation of the anticoagulant and antithrombotic effects of chlorogenic acid." *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 31.3 (2017): e21865.
32- Luo, Xuan, et al. "Study on the anticoagulant or procoagulant activities of type II phenolic acid derivatives." *Molecules* 22.12 (2017): 2047.7.