P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2009 ,(3), (1) :86-90

(*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة**

Open Access

دراسة تأثير مستخلصات أوراق نبات الشيح *Artemisia herba-alba* على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية *L. major*.

عقبة نافع عبد العزيز

جامعة الانبار-كلية العلوم

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠٠٨/١٠/١١
تاريخ القبول: ٢٠٠٩/٦/٣٠
تاريخ النشر: ١٤/ ٦/ ٢٠١٢

DOI: 10.37652/juaps.2009.15528

الكلمات المفتاحية:

Artemisia herba-alba Leaves, *L. major*. Promastigotes .

الخلاصة:

تم في هذا البحث اختبار تأثير المستخلصات المائية والكحولية والخام لأوراق نبات الشيح Artemisia herba-alba على نمو الطور المسوط الأولي (بروماستكوت) اللشمانيا الجلدية Leishmani major في الوسط الزرعي In Vetro إذ استخدمت في البحث سلسلة من التراكيز هي 0.01، 0.1، 1، 10، 100 ملغم/مل لمستخلصات أوراق نبات الشيح. أظهرت نتائج البحث أن للمستخلص المائي لأوراق نبات الشيح عند التراكيز 1، 10، 100 ملغم/مل تأثيراً أقوى في تثبيط نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية حيث بلغ معامل النمو صفراً (GI = 0%) بعد أربعة أيام من التنمية بينما أظهر المستخلص الكحولي تأثيراً أقل عند التراكيز 1، 10، 100 ملغم/مل إذ بلغ معامل النمو صفراً بعد خمسة أيام من التنمية، أما المستخلص الخام فقد بلغ معامل النمو عند التراكيز 10، 100 ملغم/مل بعد خمسة أيام من التنمية.

المقدمة:

نبات الشيح شجيرة برية معمرة ذات فروع كبيرة وأورق مركبة يصل ارتفاعها إلى حوالي (40سم) ويضم الشيح حوالي (400) نوع(1)، وينتشر في العراق المناطق الغربية والشمالية (حديثة، البغدادي، عنه، ربيعة، سنجار، و البعاج)(2)، وتعود الأهمية الطبية لنبات الشيح من احتواءه على العديد من المواد والمركبات الفعالة فهو يحتوي على الزيوت الطيارة والقلويدات والفلافونويدات والكلايكوسيدات والصابونينات والتانينات والكومارينات(3)وقد ثبت من خلال البحوث والدراسات لأوراق نبات الشيح أن هذه الأوراق تمتلك فعالية مضادة للأجناس البكتيرية التالية(4): E. coli, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus، كما ثبت علمياً أن أوراق نبات الشيح تمتلك فعالية بايولوجية جيدة ضد العديد من أنواع الفطريات مثل Aspergillus niger, Candida albicans، وقد استخدم النبات بشكل واسع قديماً ولا يزال يستخدم في طرد ديدان الاسكارس كما أن مستخلصه الكحولي استخدم في علاج الأمراض الناجمة من العديد من الديدان الطفيلية كما اظهر نبات الشيح مفعولاً جيداً في خفض مستوى سكر الدم لدى المرضى المصابون بداء السكري وبدون حدوث أية أعراض جانبية أثناء وبعد العلاج(5).

طفيلي اللشمانيا الجلدية L. major أحد أنواع اللشمانيا المسببة للقرحة الجلدية الرطبة حيث تظهر الإصابات في المناطق المكشوفة من الجسم كالأنف والخدود والذراعين ويطلق على القرحة الجلدية أسماء محلية شائعة منها حبة بغداد (الأخت) وتتضمن حياة الطفيلي شكلين رئيسين هما الشكل عديم السوط الاماستكوت (Amastigote) الذي يتواجد داخل خلايا المضيف الفقري، والشكل المسوط البروماستكوت (Promastigote) الذي يتواجد في الأمعاء الوسطى لحشرة ذبابة الرمل(7,6).

المواد وطرائق العمل:

جمع وتصنيف النبات

تم جمع النبات من منطقة البغدادي غرب مدينة الرمادي وفي أواخر شهر شباط ٢٠٠٨ كما تم تصنيفه في كلية التربية للعلوم الصرفه–قسم علوم الحياة في جامعة الأنبار وكانت نتائج التصنيف كما يلي:

العائله	Compositae
النوع	Artemisia
الجنس	Herba-alba

* Corresponding author at: Anbar University - College of Science, Iraq;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5859-6212 .Mobil:777777

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة** Open Access
2009 ,(3), (1) :86-90

الاسم العربي الشيح

تحضير المستخلصات:

تم تحضير المستخلصات لاوراق نبات الشيح Artemisia herba-alba بأضافة(15)غم من مسحوق الاوراق الى (100) مللتر من الماء المقطر في دورق زجاجي بعدها تم تحريك المحلول بأستخدام المحرك المغناطيسي لمدة (12)ساعه وبدرجة حرارة المختبر. رشح المستخلص وعقم الراشح بأستخدام جهاز الموصدة وتمت عملية الترشيح بأستخدام أوراق ترشيح (ملي بور) ذي الثقوب (0.45) مايكروميتر ثم وضع الراشح او المستخلص المعقم (crude extract) في أناء زجاجي معقم ذي سداد محكم وحفظ في الثلاجه. في حين تم الحصول على المستخلص المائي (Aqueous extract) وذلك بتبخير المستخلص الخام بوساطة جهاز المبخر الدوار وبدرجة حرارة (70–80 oم)(8)، كما وتم الحصول على المستخلص الكحولي بنفس الطريقة وباستخدام 50% إيثانول كمذيب.

تحضير محاليل المستخلصات:

حضر المحلول الاساسي (Stock Solution) لكل مستخلص بتركيز (100 ملغم/مللتر) ومن هذا المحلول تم تحضير سلسله من المحاليل لكل مستخلص من المستخلصات الخام والمائيه والكحوليه للتراكيز 0.01، 0.1، 1، 10و 100 ملغم/مللتر.

حفظت جميع هذه المحاليل في الثلاجة لحين استعمالها في تجارب البحث.

تحضير الوسط الزرعي الهلامي

يعتبر هذا الوسط مزرعة أولية لتنمية وإدامة المسوط الاولي للشمانيا بعد إخراجها من سائل النتروجين المحفوظ فيه. استخدم الوسط الزرعي الهلامي من قبل الباحثين Theoder and Alder (9) وقد أجريت بعض التغيرات البسيطه عليه وذلك بتغير الدالة الحامضية بين(7.2–7.7) إذ أنه يعد المدى الاوفق لتنمية الطفيليات. ولتحضير لتر واحد من هذا الوسط الزرعي تستخدم المواد والكميات التالية:

الطور السائل		الطور الصلب	
المادة	الكمية	المادة	الكمية
ماء مقطر	800 مللتر	اكار	4.0 غم
كلوريد الصوديوم	6.9 غم	ببتون	1.0 غم
كلوريد الكالسيوم	0.2 غم	خلاصة لحم البقر	0.3 غم
بيكاربونات الصوديوم	0.1 غم	دم الارنب الخالي من الفايبرين	200 مللتر
كلوريد البوتاسيوم	0.3 غم	بنسلين بلوري	200.000 Iu
كلوكوز	0.7 غم	سلفات الستربتومايسين	200 ملغم

إذ يحضر الوسط الزرعي الهلامي بأذابة المواد الكيمياوية بالماء المقطر عدا المضادات الحيوية ودم الارنب الخالي من الفايبرين ثم تعدل الدالة الحامضية الى (7.4) ويعقم المحلول بالموصدة وبدرجة(121oم) ولمدة (20) دقيقة بعدها برد المحلول بدرجة(50 oم) وتضاف اليه المضادات الحيوية والدم في ظروف معقمة بعدها تم رج المزيج ليتجانس بعدها صبّ(3)مللتر من الوسط الزرعي قرب اللهب في قناني زجاجية معقمة سمكها (25)مللتر ثم حضنت في(37 oم).

مصدر الطفيليات :

تم الحصول على الطور المسوط الأولي (promastigote) للطفيلي من الكلية الطبية–جامعة النهرين وكانت محفوظة في النتروجين السائل.

البروماستكوت promastigote

وزع الوسط الزرعي السائل المضاف إليه التراكيز المختلفة من المستخلص بواقع (3 مللتر) في الأنابيب التي تلقح بالطور المسوط المنمى بكثافة طفيلية تبلغ 10 خلية/مل ثم حضن بدرجة (26 oم) وتم متابعة النمو يومياً وعلى مدى (5 أيام) فضلاً عن تنمية السيطرة (Control) دون إضافة المستخلص(10).

تم احتساب أعداد الطفيليات الكلية وأعداد الطفيليات الحية بوساطة مقياس الخلايا الدموية (Hemacytometer) وصبغة Trypan blue بتركيز 0.4% ثم تم تحديد النسبة المئوية لمعامل النمو Growth index (GI %) حسب المعادلة (10):

$$GI\ \% = \frac{\text{Mean No of treated promastigote}}{\text{Mean No of untreated promastigote (control)}}$$

النتائج والمناقشة:

تم في هذا البحث إختبار تأثير المستخلصات المائية والكحولية والخام لأوراق نبات الشيح Artemisia Herba-alba على نمو الطور المسوط الأولي (promastigote) لطفيلي اللشمانيا الجلدية L. major وذلك بإضافة تراكيز مختلفة من هذه المستخلصات إلى الوسط الزرعي الملقح بطفيلي اللشمانيا الجلدية وقد تم قياس معدل نمو promastigote باحتساب عدد الطفيليات المسوطة والقادرة على الحركة ومن خلال مقارنة معدل النمو هذا مع معدل النمو على الوسط الزرعي الخالي من المستخلصات تم معرفة مدى تأثير كل مستخلص في نمو الطورالمسوط وقد استخدمت ثلاثة أنواع من المستخلصات هي المائية والكحولية والخام ولسلسة من التراكيز هي (0.01، 0.1، 1، 10، 100ملغم/مل).

أظهرت نتائج البحث بالنسبة للمستخلص المائي لأوراق نبات الشيح (جدول ١) للتراكيز 1، 10، 100 ملغم/مل تأثيراً أقوى في نمو الطور المسوط الأولي (البروماستكوت) حيث بلغ معامل النمو صفراً عند تلك التراكيز بعد أربعة أيام من التنمية، كما بلغ معامل النمو صفراً عند التركيز 0.1 ملغم/مل بعد خمسة أيام من التنمية، في حين لم يظهر المستخلص المائي تأثراً واضحاً عند التركيز 0.01 ملغم/مل حيث بلغ معامل النمو 40.2% بعد خمسة أيام من التنمية (شكل ٢).

أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد أظهرت نتائج البحث (جدول ٢) أن له فعالية مؤثرة في ايقاف نمو الطفيلي عند التراكيز 1، 10، 100 ملغم/مل حيث بلغ معامل النمو صفراً بعد خمسة أيام من التنمية، ولم تظهر بقية التراكيز 0.01، 0.1 ملغم/مل تأثيراً فعالاً في إيقاف نمو الطفيلي حيث بلغ النمو بعد خمسة أيام من التنمية (68.9%)، (41.9%) على التوالي (شكل ٣).

كما لوحظ من خلال نتائج البحث إن المستخلص الخام قد أظهر تأثيراً فعالاً في إيقاف نمو طفيلي اللشمانيا الجلدية (جدول ٣) حيث بلغ معامل النمو صفراً عند التراكيز 10، 100 ملغم/مل وبعد خمسة أيام من التنمية ولم تظهر بقية التراكيز 0.01، 0.1، 1 ملغم/مل تأثراً فعالاً في إيقاف نمو الطفيلي حيث بلغ معامل النمو وبعد خمسة أيام من التنمية (22.4 %، 15.5%، 10.6%) على التوالي (شكل ٤).

يتضح من خلال هذه الدراسة إن المستخلصات الثلاثة المائية والكحولية والخام لأوراق نبات الشيح قد أظهرت فعالية جيدة في التأثير على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية إلاّ أن هذا التأثير كان متبايناً حيث أن المستخلص المائي كان أكثر تأثيراً في إيقاف نمو الطفيلي وخاصةً عند التراكيز 1، 10، 100 ملغم/مل حيث بلغ معامل النمو صفراً وبعد أربعة أيام من التنمية.

إن العقاقير الفعالة في معالجة أمراض اللشمانيا الجلدية قليلة جداً (11) وحتى هذه القلة من العقاقير فإن مفعولها يكون متذبذباً بسبب مقاومة الطفيلي للعقار(12)، وكذلك الاختلاف في القدرة المناعية للإنسان المضيف(13).

إن التأثير المثبط المتباين لمستخلصات أوراق نبات الشيح على نمو طفيلي اللشمانيا يعود إلى إحتواء أوراق الشيح على نسبة عالية من التانينات، التي هي عبارة عن مركبات فينولية تمتلك تأثيراً إنزيمياً يؤثر على فعالية إنزيم أسيتايل كولين إستيريز (Acetylcholinesterase) حيث تعمل على تثبيط عمل هذا الإنزيم المسيطر على الفعاليات الفسيولوجية للطفيلي لكونه (أي الإنزيم) يتحكم بانتقائية جدار الخلية كما يسيطر على مرور الأيونات عبر الأغشية الخلوية كما يسيطر هذا الإنزيم على حركية الطفيلي (Motility) وعليه فإن التأثير التثبيطي لهذا الإنزيم يسبب خللاً خطيراً قد يقود الى موت الطفيلي (14).

المصادر:

١. فوزي طه قطب، النباتات الطبية "زراعتها ومكوناتها" الدار العربية للكتاب، ليبيا (١٩٧٩).

٢. شكري إبراهيم سعد، عبد الله القاضي، و عبد الكريم محمد صالح، "النباتات الطبية و العطرية و السامة في الوطن العربي" المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم، (١٩٨٨).

3. Rizk, A. M., "The phytochemistry of flora of Qatar" King print Richmond, Great Britain, (1986).
4. Setzer, W. N. and Voglar, B., "Anti microbial activity of *Artemisia douglasiana* leaf essential oil", Fitoterapial journal, 75(2), pp: 192-200, (2004).
5. AL-Waili, N. S., "Treatment of diabetes mellitus by *Artemisia herba-alba* extracts, preliminary study", Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 13, p: 569-573, (1981).
6. Lainosa, R., and Shaw, J., "Evolution Classification and geographical distribution, in the Leishmaniases in Medicine", 26, (1979).
7. Chance,M.L.,Ann. Trop.Med.Parasite, 68, (1974).
8. Derwish, S. H., Athesis of M. Sc. College of science, university of Mosul, p:19, (1993).
9. Alder, S., and Theoder, O., Ann. Trop. Med. Parasite, 20, p:355-364, (1992).
10. EL. On, J. and Messer, G., AMJ-Trop. Med. Hyg. 35, p: 1110-1116, (1986).
11. Cupta, P. C. "In Medica Tropical", Editorial Fornier, Mexico, pp:73-79, (1968).
12. Peter, S. W., "Biochemistry of Parasite and Host Relation", Janssen Research Foundation, (1976).
13. Mattock, N. M.,"Chromatography of Leishmiasis", ph. D. thesis, University of Liverpool, (1973).
14. Hustis, W. H. and Macconel, H. M., "a Functional Acetylcholine Receptor in Human Erythrocyte", Biochem. Biophys. Res. Commun., 57, pp:726-733, (1974).

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2009 ,(3), (1) :86-90

(*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

Open Access

جدول (١): تأثير المستخلص المائي على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.

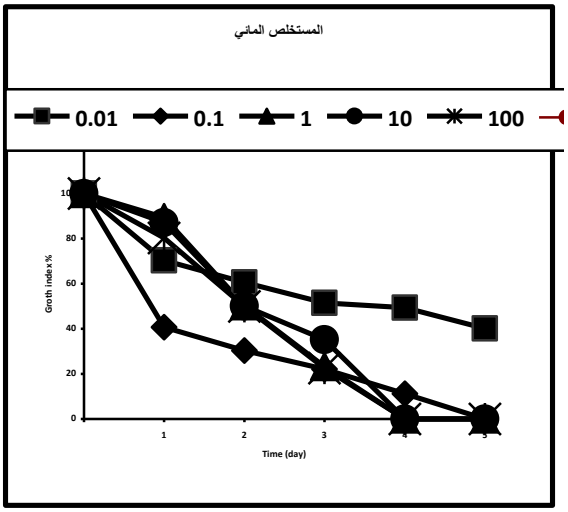
Conc. (mg/ml)	GI % After				
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day
0.01	70.3	60.6	51.5	49.3	40.2
0.1	40.7	30.3	22.1	11.2	0
1	89.3	50.2	23.3	0	0
10	87.1	50.1	35.2	0	0
100	80.3	49.9	22.5	0	0

جدول (٢): تأثير المستخلص الكحولي على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.

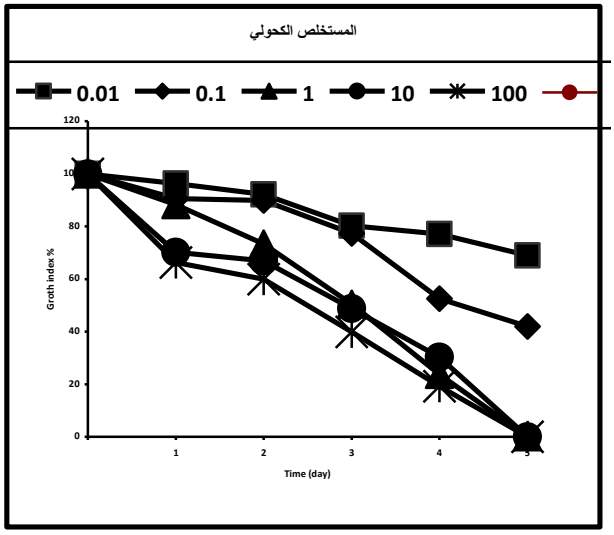
Conc. (mg/ml)	GI % After				
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day
0.01	96.3	92.1	80.3	77.1	68.9
0.1	90.6	89.9	77.3	52.5	41.9
1	88.3	73.3	50.5	23.7	0
10	70.1	66.9	48.8	30.3	0
100	66.3	59.9	39.9	19.2	0

جدول (٣): تأثير المستخلص الخام على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.

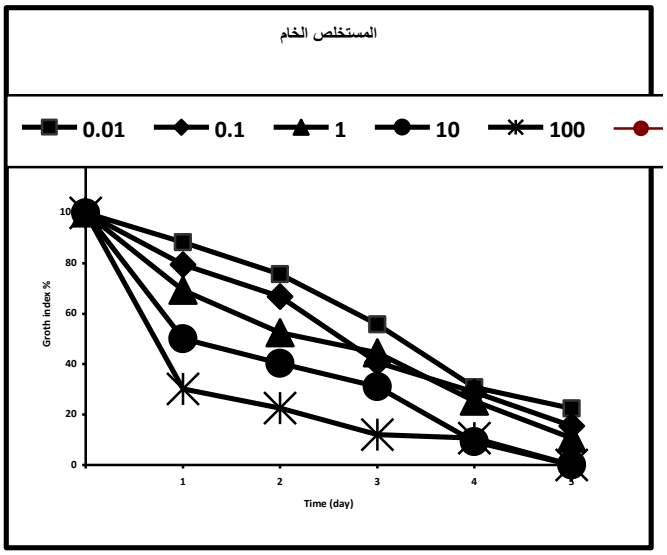
Conc. (mg/ml)	GI % After				
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day
0.01	88.3	75.6	55.7	30.8	22.4
0.1	79.5	66.8	40.7	28.9	15.5
1	69.3	52.5	44.5	25.3	10.6
10	50.1	40.3	31.1	9.3	0
100	30.1	22.5	12.1	10.6	0



شكل (٢): تأثير المستخلص المائي على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.



شكل (٣): تأثير المستخلص اللكحولي على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.



شكل (٤): تأثير المستخلص الخام على نمو *L. major* promastigotes في درجة ٢٥°م.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2009 ,(3), (1) :86-90

The Study of the Effect of Artemisia herba-alba Leaves Extracts on Growth of L. major. Promastigotes.

Oqba Nafi'a Al-Shaye'a

Abstract:

The study was conducted with the effect of aqueous, alcoholic and crude extracts of *Artemisia herba-alba* Leaves against *L. major*. Promastigotes.The concentration of 0.01, 0.1, 1, 10, 100 mg/ml of aqueous extract had stronger effect against *L. major*. Promastigotes giving growth index equal to zero percent after four days of cultivation, while the concentration of 1, 10, 100 mg/ml of alcoholic extract give growth index equal to zero percent after five days of cultivation and the concentration of 10 and 100 mg/ml of crude extract give a good effect with growth index equal to zero after five days of cultivation.