تأثيرالقلويدات والكلايكوسيدات المستخلصة من نبات الطرطيعShanginia Aegyptiaca على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية *Lashmania Major*

حنان حسن فليح
قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة الانبار - العراق
emanmed_2006@yahoo.com
قبل للنشر في 2012/11/1

الخلاصة

تم استخلاص القلويدات alkaloids والكلايكوسيدات glycosides من اوراق نبات الطرطيع *schanginia aegyptiaca* ودراسة تأثيرها على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية Lashmania major حيث استخدمت التراكيز التالية (0.1 , 1 , 5 , 10 , 25 ملغم/مل) لكل من القلويدات والكلايكوسيدات فأظهرت النتائج ان القلويدات المستخلصة من نبات الطرطيع بتركيز (5 ملغم/مل) ذات تأثير فعال أقوى على نمو الشكل المسوط الأولي promastigote للشمانيا الجلدية Lashmania major حيث بلغت النسبة المئوية لعامل النمو (GI %) صفرا بعد أربعة أيام من التنمية وبينت الكلايكوسيدات المستخلصة من اوراق نبات الطرطيع عند التركيز (10 و 25 ملغم/مل) تأثيرا فعالا على نمو بروماستكوت اللشمانية الجلدية حيث بلغت النسبة المئوية لعامل النمو (GI %) صفرا بعد خمسة أيام من التنمية .

الكلمات المفتاحية: نبات الطرطيع ,القلويدات, الكلايكوسيدات, اللشمانيا الجلدية.

المقدمة

نبات الطرطيع *schanginia aegyptiaca* من النباتات الموالية يتكاثر بالبذور(1) . له ساق قائمة ومتفرعة من القاعدة , صلدة وملساء والأوراق خيطية مبعثرة خضراء اللون طعمها مالح والإزهار عنقودية الشكل خضراء اللون مجتمعة على السيقان والأفرع (2) كما ينمو النبات في الترب الطينية والغنية بالنتروجين(3) أما المحتوى الكيميائي لنبات الطرطيع فهو يحتوي على والكلايكوسيدات والصابونيات ومركبات فينولية وتربينية وزيوت طيارة وبروتينات (3) . كما أستعمل نبات الطرطيع لعلاج الجروح والحروق السطحية والالتهابات فضلا عن فعاليته لعلاج مرض الخناق وألام المعدة (5) . كما اظهرت المركبات التربينية المستخلصة من الجزء الخضري لنبات الطرطيع تاثيرها المميت على بيوض بعوضة الكيولكس (6) ان مستخلص الطرطيع يحتوي على نسبة عالية من الحديد والزنك والمنغنيز وان رش مستخلصه لبعض النباتات كما في الباذنجان أدى الى زيادة ارتفاع النبات ، مساحته الورقية والكلوروفيل الكلي في الاوراق وطول الثمرة وقطرها(7) .

القلويدات alkaloids مركبات عضوية قاعدية مشتقة من الأحماض الامينية وتستعمل لعلاج الكثير من الإمراض مثل المركب القلويدي الكافائين المضاد للتشنج والكوينين المضاد للملاريا وأنواع أخرى من المركبات القلويدية الأخرى المستخدمة لعلاج الإمراض الجلدية والتهابات العيون (7).

إما الكلايكوسيدات glycosides فهي مركبات عضوية تتكون من جزء سكري glycon وجزء غير سكري Aglycon ويعود التأثير الفسيولجي للكلايكوسيدات إلى الجزء غير السكري أما الجزء السكري فهو مهم لنقل الجزء غير السكري إلى موقع التأثير الفيسيولجي في الجسم .

طفيلي اللشمانيا الجلدية Lashmania major احد أنواع اللشمانيا المرضية المسببة للقرحة الجلدية حيث تظهر الإصابات في المناطق المكشوفة من الجسم كالأنف والخدود والذراعين ويطلق على القرحة الجلدية أسماء محلية شائعة مثل حبة بغداد ويتضمن دورة حياة الطفيلي شكلين أو طورين رئيسيين هما الشكل العديم السوط(الاماستكوت) الذي يتواجد داخل خلايا المضيف الفقري والشكل المسوط (البروماستكوت) الذي يتطفل في الأمعاء الوسطى لحشرة ذبابة الرمل (8) .وينتشرطفيلي اللشمانيا في وسط وجنوب امريكا الى صحراء غرب اسيا والشرق الاوسط ويؤثر بحوالي 12 مليون نسمة يمعدل اصابة 1.5- 2 مليون نسمة في السنة الواحدة (9).

غالبا ما تشفى الآفة الناتجة من طفيلي اللشمانيا بشكل تلقائي، ولكنها تترك ندوبًا ضامرة وقد تعود تلقائيا في صورة افات ملحقة حول مكان الاقة اوعلى امتداد مسار التصريف الليمفاويً (10).ان الهدف من هذه الدراسة هو لمعرفة تاثير القلويدات والكلايكوسيدات المستخلصة من اوراق نبات الطرطيع على نمو برمماستكوت اللشمانيا الجلدية.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على نبات الطرطيع طازجا من منطقة البغدادي غرب محافظة الانبار بعد مرحلة الإزهار وفي نهاية شهر حزيران وصنفت عينات من النبات في قسم علوم الحياة – كلية التربية – جامعة الانبار . تم جمع أوراق نبات الطرطيع (الجزء الطبي المستخدم في البحث) وغسله بشكل جيد من الأتربة والعوالق الأخرى بالماء الأعتيادي ومن ثم بالماء المقطر بعدها تم تجفيف النبات في مكان ذي تهوية جيدة بعيدا عن الشمس وترك النبات وجفف بشكل تام لسهولة تكسيره, طحنت بعدها أوراق النبات الجافة باستخدام المطحنة الكهربائية ثم حفظ مسحوق النبات الجاف في حاويات بلاستيكية نظيفة في الثلاجة وبدرجة حرارة 4م لحين استخدامه لإكمال البحث . تم استخلاص (Alkaloids) القلويدات بإضافة 250 مللتر من الكحول الاثيلي 80% إلى 100 غم من مسحوق أوراق نبات الطرطيع بعدها رشح المحلول وركز باستخدام جهاز المبخر الدوار . أذيب المتبقي(الثماله) في 100 مللتر من حامض الهيدروكلوريك (5%) وأضيف إليه 100مللتر من خلات الاثيل بعدها فصلت الطبقة المائية وأضيف لها محلول الامونيا لجعلها قاعدية باستخدام PH=9 ثم أضيف إلى المستخلص 100 مللتر من كلوريد المثيلين ثم فصلت الطبقة السفلى وجففت باستخدام المبخر الدوار للحصول على القلويدات ثم وزنت لحساب نسبتها المئوية(11).

استخلصت الكلايكوسيدات بإضافة 250 مللتر من الكحول الاثيلي 80% إلى 50 غم من مسحوق أوراق نبات الطرطيع حرك المحلول بشكل جيد بعدها رشح المحلول للحصول على المستخلص الايثانولي بعدها ركز المحلول باستخدام جهاز المبخر الدوار ثم أضيف للمتبقي (الثمالة) 50 مللتر من الأيثر و 5 مللتر من محلول خلات الرصاص 0.3 مولاري وتم إضافة الأيثر لثلاث مرات بعدها فصلت الطبقة العليا (مستخلص الأثير) وجففت بدرجة حرارة 30م للحصول على الكلايكوسيدات بشكل بلورات صلبة (12) .

تم تحضير المحلول الأساس stock solution لكل من القلويدات والكلايكوسيدات وذلك بإذابة 0.1 غم لكل من القلويدات أو الكلايكوسيدات في 100 مللتر من الماء المقطر ليكون المحلول الناتج بتركيز 100ملغم / مل ,وحضر من المحلول الأساس سلسلة من التراكيز الأخرى هي (0.1 ملغم / مل , 1 ملغم / ملم , 5 ملغم / ملم , 10 ملغم / ملم , 25 ملغم / مل) لكل من القلويدات والكلايوسيدات المستخلصة من مسحوق نبات الطرطيع .

تم تحضير الوسط الزرعي الهلامي لاستخدامه في تنمية وإدامة البروماستكوت بعد أخراجها من النتروجين السائل وكانت مكونات الوسط في اللتر الواحد كما وردت في(13) , تم الحصول على بروماستكوت الطفيلي من كلية العلوم جامعة بغداد وكانت محفوظة في النتروجين السائل .

وزع الوسط الزراعي السائل المضاف إليه التراكيز المختلفة من المستخلص وبواقع 3 مللتر في الأنابيب التي تلقح بالبروماستكوت بكثافة طفيلية تبلغ 10 خلية / مل ثم تحضن بدرجة 26 مئوية وتوبع النمو يوميا وعلى مدى 5 أيام وكذلك حضر الوسط الزرعي السائل كمحلول سيطرة control دون إضافة المستخلص .

تم احتساب عدد الطفيليات الكلية وعدد الطفيليات الحية بواسطة مقياس الخلايا الدموية Haemocytometer وصبغة Trypan Blue ثم قدرت النسبة المئوية لمعامل النمو growth index (GI%) ووفق المعادلة (14):

GI%=mean number of treated promastigote/ mean number of untreated promastigote.

النتائج والمناقشة

أنجزت هذه الدراسة الكيموحيوية لاختبار فعالية أو تأثير القلويدات والكلايكوسيدات المستخلصة من أوراق نبات الطرطيع على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية *Lashmania major promastigote* وللتعرف على المزيد من العقاقير الفعالة في معالجة إمراض اللشمانيا الجلدية تم في هذه الدراسة اختبار البروماستكوت النامية *In vitro* علما ان الإصابة تحدث بواسطة الاماستكوت وسهولة تنمية الطفيلي تحت هذه الظروف تتيح الفرصة لإجراء مسح أولي على أكبر عدد ممكن من العقاقير (15) .

اظهرت النتائج أن النسبة المئوية للقلويدات في النموذج النباتي المستخدم في البحث هو 1.21% وللكلايكوسيدات هو 2.31% كما هو موضح في جدول, (1)

جدول ,1:النسبة المئوية للقلويدات والكلايكوسيدات في نبات الطرطيع

Components	Percentage %
Alkaloids	1.21
Glycosides	2.31

كما درس تأثير القلويدات والكلايكوسيدات المستخلصة بإضافة تراكيز مختلفة منها إلى الوسط الزرعي الملقح بالطور المسوط وقد يصل معدل نمو البروماستكوت بحساب عدد الطفيليات المسوطة والقادرة على الحركة ومن خلال مقارنة معدل النمو هذا مع معدل النمو في الوسط ألزرعي الخالي من القلويدات والكلايكوسيدات المستخلصة (السيطرة) تم معرفة مدى تأثير القلويدات والكلايكوسيدات على نمو بروماستكوت اللشمانيا الجلدية *Lashmania major*.

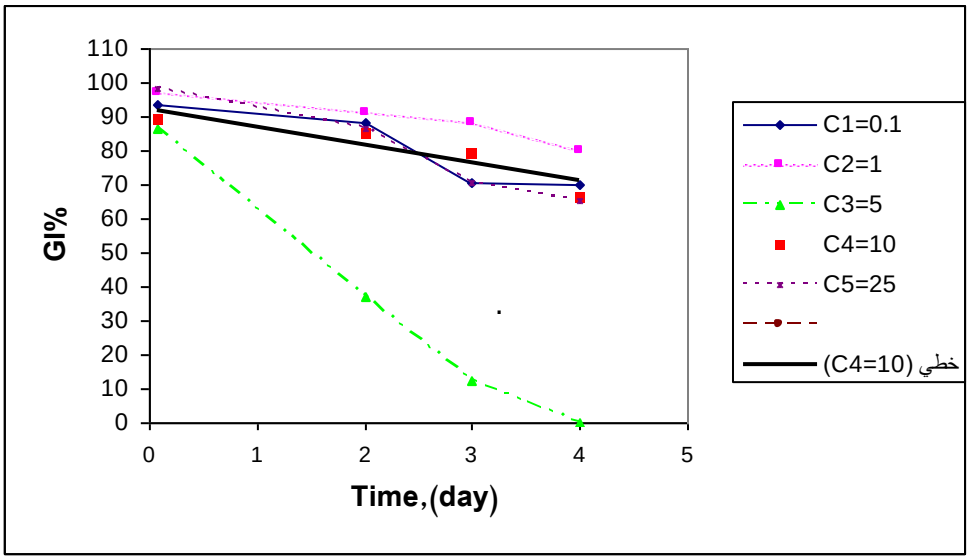
بينت النتائج أن القلويدات المستخلصة من أوراق الطرطيع بتركيز 5 ملغم/مل ذات تأثير فعال أقوى على نمو الشكل المسوط الأولي البروماستكوت للشمانيا الجلدية حيث بلغت النسبة المئوية لمعامل النمو صفر (%GI = O) بعد أربعة أيام من التنمية ولم تظهر بقية التراكيز(0.1 و 1 و10 و25 ملغم/مل) تأثيرا فعالا على نمو البروماستكوت (جدول 2 وشكل 1) . كما أتضح إن الكلايكوسيدات المستخلصة من أوراق نبات الطرطيع عند التركيزين(10 و 15ملغم/مل) ذات تأثير فعال أقوى على نمو البروماستكوت اللشمانيا الجلدية حيث بلغت النسبة المئوية لعامل النمو صفر (%GI = 0) بعد خمسة أيام من التنمية ولم تظهر بقية التراكيز(0.1 و 1و 5 ملغم/مل) تأثيرا فعالا على نمو البروماستكوت (جدول 3 وشكل 2) . ويتضح ومن خلال الاطلاع على النتائج النهائية أن للكلايكوسيدات المستخلصة من أوراق نبات الطرطيع تأثيرا فعالا أقوى مقارنة بالقلويدات لاسيما عند التراكيز(10 ,25 ملغم/مل) للكلايكوسيدات وقد يعزى ذلك الى احتواء الكلايكوسيدات على العديد من المركبات الفينولية حيث كان لها الدور الأكبر في الفعالية حيث تمتلك المركبات الفينولية تأثيرا أنزيميا يتمثل بفعالية الإنزيم أسيتيل كولين أستريز Acetylcholine sterase وخلال تنظيمه للفعالية الفيسيولجية للطفيلي السيطرة على حركية الطفيلي وكذلك التحكم بانتقائية جدار الخلية فتثبيط عمل الإنزيم أسيتايل كولين أستريز بواسطة المركبات الفينولية في الكلايكوسيدات يوقف نمو طفيلي اللشمانيا الجلدية كونه المسئول عن أداء الفعاليات الحيوية لطفيلي اللشمانيا الجلدية *Lashmania major* (16) .

جدول ,2: فعالية القلويدات المستخلصة من نبات الطرطيع مقابل نمو بروموستكات اللشمانيا الجلدية في درجة حرارة 25 م

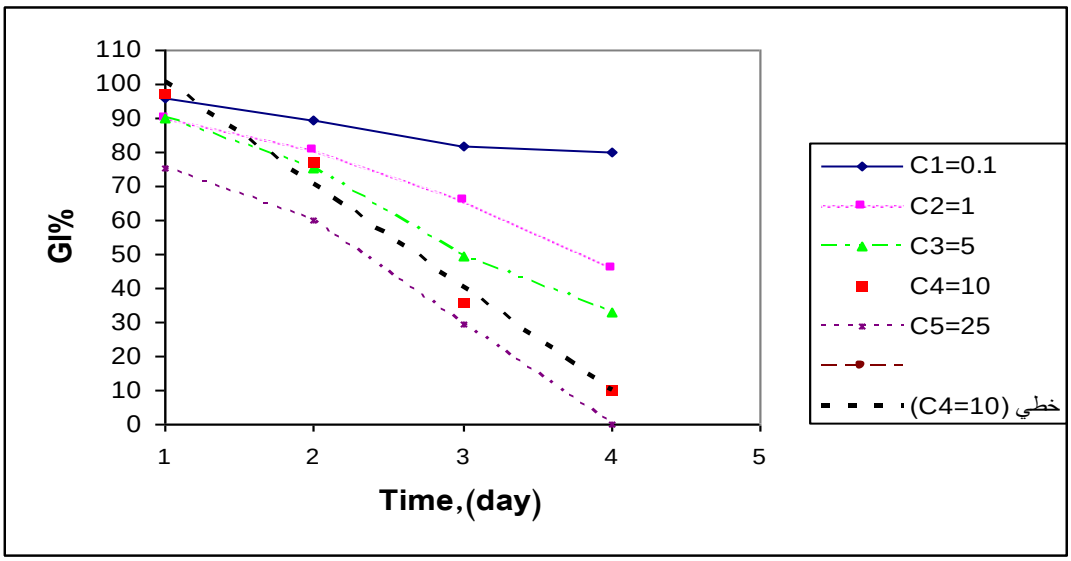
GI % After 5 days					
Conc.mg/ml	1 day	2 days	3 days	4 days	5 days
0.1	93.4	88.0	70.8	70.0	65.5
1	96.8	90.9	88.3	80.1	75.3
5	46.2	30.1	12.2	0.00	0.00
10	89.2	85.1	79.7	66.7	60.0
25	98.2	86.6	70.3	65.1	61.2

جدول , 3: فعالية الكلايكوسيدات المستخلصة من نبات الطرطيع مقابل نمو بروموستكات اللشمانيا الجلدية في درجة حرارة 25 مئوية

GI % After					
Time / Conc.	1 day	2 days	3days	4days	5 days
O.1mg/ml	96.1	89.3	81.5	80.1	61.2
1mg/ml	89.9	80.3	66.1	45.9	35.0
5mg/ml	90.2	75.3	49.2	33.1	13.0
10mg/ml	97.2	77.3	35.7	10.2	0.00
25mg/ml	75.3	59.8	29.5	0.00	0.00



شكل ,1: فعالية القلويدات المستخلصة من نبات الطرطيع مقابل نمو بروموستكات اللشمانيا الجلدية في درجة حرارة 25 مئوية



شكل 2: فعالية الكلايكوسيدات المستخلصة من نبات الطرطيع مقابل نمو برومستكات اللشمانيا الجلدية في درجة حرارة 25 مئوية

المصادر

1. فوزي, طه قطب. (1969) .النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها, الطبعة الثالثة,ليبيا ,الدار العربية للكتب, ص :25- 44.
2. جون , أ. وفردريك, أ . (1975) .علم البيئة النباتية , ترجمة أحمد محمد مجاهد .الطبعة الثانية , بيروت, دار العلوم للنشر, ص :34- 55.
3. فؤاد, علي الخشن . (1985). قواعد تربية النباتات , الطبعة الخامسة , مصر, دار المعارف , المصرية , 30- 56 .
4. الخفاجي , رافع شاكر عبود. (2003). فعالية مستخلصات أوراق نبات الطرطيع في بعوض الكيولكس,رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة الكوفة ,ص12- 20.
5. Jane , ly. (1975): Isolation of Aromoline and oxberine, J. Chem. Society, Vol 6, 2nd Ed. pp:334-356.
6. AL-Aansari, K.C. (1983). Alkaloids of berberis aristata, 7th Ed. New York, Books , PP: 113-119.
7. الشمري, وسن حمزة. (2011) . تأثير الرش بمستخلص الطرطيع والـ **Grofalcs** في صفات النمو الخضري والثمري لصنف الباذنجان المحلي , مجلة العلوم الصرفة والتطبيقية العدد 2 المجلد 19 ص:656 – 676
8. الشحات , نصر أبو زيد . (2000). النباتات والإعشاب الطبية ,الطبعة الثانية, القاهرة , الدار العربية للنشر والتوزيع, ص : 78 -122 .
9. EL- On, J. and Messer, G. (1986). Tropical Medicine Hyogen, Am. Med. J., Bygbjerg, IC, Flach H. Vol. 9, 3ed ed. PP: 110-116.
10. Ansari, M.Y; Dikhit, M.R.; Sahoo, G.C. and Das, P. (2012). Comparative modeling of HGPRT enzyme of L. donovani and binding affinities of different analogs of GMP. *Int. J. Biol. Macromol.*, 637–649.
11. Hussein, F. (1985). Medicinal plant in Libya, College of Agriculture, Al – Fath University, Arab Encyclopedia House Libya. 1st Ed. PP: 87 – 100.
12. الجبوري, علي عواد .(1993): علم الأدوية الطبيعية, الطبعة الاولى, بغداد, دار الرصافة للنشر, ص: 44-56.
13. Alder , s . and theodor , O . (1985). Introduction In: Biological Medicine of parasite . 3rd ed. Pp: 175 – 194 .
14. Mattock , NM. (1973): Chemotherapy of leishmaniasis , Ph D. thesis, collage of science , university of Liverpool , PP: 283 – 284.
15. Al-Azawi, J. and Al-shafi, K. (1999). Treatment of *Lashmania Majar*. Iraqi J. Pharma. Sci., 8 (3): 220-236.

The effect of alkaloids and glycosides extracted from *Shangina aegyptiaca* on growth of *Lashmania major* promastigote

Hanan Hasan Flaih
Department of Chemistry, College of Science, Al-Anbar University, Iraq

Summary

The effect of alkaloids, glycosides extracted from *schanginia aegyptiaca* plant was studied against the activity and growth of *Lashmania major* promastigote. The Concentration of 0.1, 1, 5, 10 and 25 mg / ml for each alkaloids and glycosides were used. The results showed that 5 mg / ml of alkaloids had stronger effect with growth index (GI) = 0% after 4 days cultivation , while the concentration of 10 mg / ml and 25 mg / ml of glycosides gave growth index (GI) = 0% after 5 days cultivation.

Keywords: alkaloids, glycosides, *schanginia aegyptiaca*, Lashmania major.