مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، العدد (خاص) ، المجلد 21 ، 2008

تأثر مستخلصات نبات البلوط *Quercus aegilops* والعقارين تينيدازول وبرازيكوينتل علـــى قتل الرؤيسات الأولية لطفيلـــــــي المشوكة الحبيبيـــة *Echinococcus granulosus* خارج الجسم الحي *In vitro*

فاتن عبد الجبار مصطفى عبد الحسين حبش عواد

جامعة البصرة – كلية التربية – قسم علوم الحياة

الخلاصة

تضمنت الدراسة تأثير بعض مستخلصات ثمار البلوط وغلافها (المائي ، الكحولي الحار ، الفينولات القلويدات والدهون) على قتل الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكات الحبيبية خـــارج الجسم وبالتراكيز 5 ، 10 ، 20 و 40% . استعمل محلول هانك للحفاظ على حيوية الرؤيسات الأولية خارج الجسم ولمدة عشرون يوماً . تفاوتت جميع مستخلصات نبات البلوط عند التركيز 40% في تأثيرها على قتل الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكات الحبيبية فكانـــت مـــدة القتـــل للمستخلص المائي والكحولي الحار في اليوم الثاني والمـــستخلص الفينـــولي فـــي اليـــوم الأول والمستخلص القلويدي والدهون في اليومين الرابع والخامس من بدأ التجربـــة علـــى التـــوالي . اتضح أن المستخلص الفينولي يمتلك أكبر فعالية لقتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم فكان عقار تينيدازول هو الأكثر تأثيراً اذ تمكن من قتل جميع الرؤيسات في النصف ساعة الأولى من بـــدأ التجربة عند تركيز 2.5% يليه عقار برازيكوينتل في الساعة الأولى من بدأ التجربة عند التركيز 0.2% . كان تأثير المستخلصات والعقاقير في قتل الرؤيسات الأولية كما يلي : تينيـــدازول > برازيكوينتل > مستخلص المزيج الفينولي > المستخلص المائي الحار > المستخلص الكحـــولي الحار > المستخلص القلويدي > مستخلص الدهون .

المقدمة

البلوط Oak Bark هو من الأشجار الضخمة الخشبية المعروفة بقوتها ومتانتها وكثرة انتشارها ، وتستعمل ثمارها للأكل بعد شويها جيداً أو تغذى بها البهائم . ينتشر هذا النبات في امريكا الشمالية واوربا وأسيا ومنطقة حوض البحر المتوسط [1] . وتوجد منه أربعة أنواع في شمال العراق هي *Q. brantii* ، *Q. infectoria* ، *Q. libani* ، *Q. aegilops* .

تعد التانينات من مواده الفعالة الموجودة في القلف وقشور السيقان وكذلك galic acid و ellagitannin [2] ويعد هذا النبات عامل مثبط لنمو الأحياء المجهرية خاصة الأنزيمات وبروتينات الغشاء الخلوي الناقلة [3] ومن مركباته الفعالة الأخرى الفينولات ومشتقاتها الفلافونات مثال الكاتجين catechin وهو مثبط لجرثومة Vibreo cholera [4] .

أن وجود الفينولات وهي المادة الفعالة في البلوط جعلته نباتاً مهماً من الناحية الطبية ويستعمل البلوط في معالجة سقوط الرحم والشرج بحمامات مقعدية ساخنة وكذلك لتتلج أصابع القدمين في الشتاء ومعالجة الأكزما وضعف الأعصاب وداء الخنازير والفتوق والتبول الليلي والبصاق المدمم والنزيف المعدي ولمعالجة قروح الفم ويشفي سرطان المعدة ومعالج الأسهال والدزنتري [5] . يعد داء الأكياس العدرية التي يسببه الطور اليرقي للديدان الشريطية التابعة لجنس المشوكات Echinococcus من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان Zoonotic disease [6] وتكمن خطورة هذا الداء على حياة الإنسان بسبب عدم ظهور أعراض سريرية واضحة إلا بعد وصوله إلى حالة متقدمة خاصة عندما تصاب أعضاء مهمة في الجسم مثل الدماغ والعمود الفقري والقلب والعظام حتى أن التدخل الجراحي قد يصبح مستحيلا في هذه الحالات [7] تهدف الدراسة الحالية اختبار تأثير المستخلص الخام لثمار البلوط وغلافها وبعض مركباته الفعالة على قتل الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكة الحبيبة خارج الجسم الحي .

المواد وطرائق العمل

جمع النبات :

تم جمع ثمار البلوط وغلافها الغير ناضجة من منطقة زيارة شمال شرق اربيل وجفف ثم سحقت جيداً وحفظت في وعاء زجاجي نظيف ومحكم الغلق لحين الاستعمال

تحضير المستخلصات :

المستخلص المائي الحار :

تم الاستخلاص بالماء الحار حسب طريقة [8] وزنت المادة الجافة وحفظت بقناني معقمة لحين الاستعمال .

الاستخلاص الكحولي الحار :

اتبعت الطرق أعلاه مع استبدال الماء بالأيثانول 70% ، حسبت النسبة المئوية للمستخلصات المائية والكحولية .

الكشوفات النوعية :

أجريت كشوفات نوعية للتعرف على المكونات الكيميائية الأساسية في المستخلصات المائية والكحولية لنبات البلوط [9] .

استخلاص الدهون :

تم استخلاص الدهون بطريقة الاستخلاص المستمر باستعمال مذيبات الهكسان-n hexane وثنائي اثيل أيثر Diethyl ether وبترولیوم أيثر Petroleum ether (b.p.80-35) كل على حده ، إذ وضع 200 غم من مسحوق الغلاف والثمار في وعاء ورقي Thumble ضمن جهاز الاستخلاص Soxhelet ولمدة 24 ساعة ، بعدها بخر المذيب وزنت المادة المتبقية وكانت 5.7 غم المتبقية التي منها تم حساب النسبة المئوية للدهون[10] .

استخلاص القلويدات :

مزج الصلب المتبقي 5.7 غم من عملية استخلاص الدهون بالهكسان مع 300 مل من الكحول الأثيلي المحمض بحامض الخليك 5%وترك المعلق في جهاز المكثف العاكس Reflex condenser لمدة 24 ساعة بعدها فصل الراسب عن الراشح بالترشيح الاعتيادي ثم ركز الراشح بالمبخر الدوار إلى ربع حجمه وأضيفت إليه الأمونيا المركزة وذلك لترسيب القلويدات[9] . غسل الراسب بمحلول 1% أمونيا ومن ثم جمع الراسب وجفف .

استخلاص المركبات الفينولية :

تم وزن 40 غم من المسحوق النباتي الجاف المنزوع الدهون للبلوط ووضع في قمع مخروطي ثم أضيف إليه 200 مل من HCl 2% ووضع في حمام مائي لمدة 40 دقيقة بعدها رشح المستخلص وذلك باستعمال جهاز المضخة الساحبة وأوراق ترشيح Whatman No-1 . تم قياس حجم الراشح وأضيفت إليه الكمية نفسها من الايثر وتم إعادة المزيج إلى الحمام المائي لمدة 40 دقيقة بعدها نقل المزيج إلى قمع الفصل separating funnel وأجريت عملية الرج والتنفيس للمحلول داخل القمع مرات عدة بعدها نزلت الطبقة المائية تليها الطبقة العضوية الحاوية على المركبات الفينولية ، وركزت باستعمال جهاز المبخر الفراغي الدوار لتركيز الحجم بعدها جفف المستخلص ووضع في قناني بلاستيكية معقمة محكمة السد ، وترك في الثلاجة في درجة حرارة 5 مْ لحين الاستعمال [9] .

*** فصل المركبات الفينولية**

فصلت المركبات الفينولية باستعمال تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer chromatography TLC باستعمال أنظمة تطوير مختلفة

تم الكشف عن المركبات الفينولية (البقع المفصولة) باستعمال كاشف كلوريد الحديديك [9] وبعد التأكد من مواقع المركبات الفينوليه تم تحديد قيمة الانسياب النسبي relative flow rate R_f التي تستخرج بإتباع المعادلة التالية :

$$\text{الانسياب النسبي } R_f = \frac{\text{المسافة التي يقطعها المركب في المذيب}}{\text{المسافة التي يقطعها المذيب}}$$

*** عزل المركبات C , B , A**

فصلت المركبات C , B , A بعضها عن بعض باستعمال كروماتوغرافيا العمود Colum Chromatography وكما يأتي استعمل في هذه الطريقة عمود زجاجي (1×22) سم في نهايته قرص من البورسلين مملوء بمستحلب هلام السليكا G60 ارتفاعه 15 سم واستعمل المذيب Benzene - aceton كسائل مفرق وكان معدل سريان المذيب 0.8 في الدقيقة ، وقد تم استلام

وتجميع العينات المفصولة في نهاية العمود بأنابيب اختبار واختبرت مكونات كل عينة بواسطة (TLC) بعدها فحصت بكاشف كلوريد الحديديك وجمعت المكونات ذات المسارات المتشابهه (R_f) معاً ضمن مجموعة واحدة .

* **تشخيص المركبات الفينولية**

درجة الانصهار وبعض الاختبارات الأولية

استعملت طرق كيميائية وفيزيائية لتشخيص مزيج المركبات الفينولية ، حيث أجريت بعض الاختبارات الأولية على المزيج مثل درجة الانصهار وكشف الحرق وكشف الذائبية وكشف التفاعل بواسطة pH meter .

التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء IR

كذلك جففت عينة من المزيج الفينولي في فرن بدرجة 40 م لمدة 24 ساعة بعدها حضرت في ظروف جافة أقراص KBr discs من المزيج الفينولي وسجل طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) بجهاز Infrared – Spectrophotometer BUCK 5000 .

التشخيص بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV والمرئية

سجل طيف الأشعة فوق البنفسجية للمزيج الفينولي المذاب في الماء المقطر (60 ملغم في 10 مل) ولمدى من الأطوال 360-520 نانومتر بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer من شركة HITACHI U-1500 بعد تشخيص المركبات الفينولية

اختبار السمية الحاد (قصيرة الأمد) Acute(short-term)toxicity

استعمل في هذا الاختبار 48 فأراً مختبرياً من نوع Balb/c وكانت أوزانها (25 ± 5)غم وبعمر شهرين وقد قسمت عشوائياً إلى ثمان مجاميع تتكون كل مجموعة من ستة حيوانات (ثلاث ذكور + ثلاث إناث) وضعت في قفص واحد من أجل التأقلم acclimatization لمدة أسبوع وبدرجة حرارة 25 م في البيت الحيواني / قسم علوم الحياة / كلية التربية/ جامعة البصرة وغذيت الفئران بعليقة غذائية خاصة من البيت الحيواني و وزعت كميات كافية من الماء ولتحديد الجرعة القاتلة الوسطى Median Lethal Dose فقد تم تجريع إحدى المجاميع ومن كلا الجنسين بواحد مل من الماء المقطر بواسطة حقنة التجريع المعدي Stomach tube عن طريق الفم وعدت هذه المجموعة مجموعة سيطرة (C) بينما أعطيت بالطريقة نفسها جرع متدرجة من المستخلص الفينولي (2، 4 ، 8 ، 12 ، 16 ، 18، 20) غم/كغم لحيوانات المجاميع الأخرى t_1 ، t_2 ، t_3 ، t_4 ، t_5 ، t_6 على التوالي ومن كلا الجنسين

وقد تم مراقبة الحيوانات لمدة 48 ساعة لتسجيل البيانات حول التغيرات الظاهرية في السلوك وحول الوفيات الحاصلة [11] .

*** جمع نماذج الأكياس العدرية :**

جمعت نماذج أكباد أغنام مصابة بالأكياس العدرية من المجزرة المركزية ومناطق الذبح الأخرى في محافظة البصرة ونقلت في حافظات مبردة وتم التعامل معها في اليوم نفسه .

فتح الأكياس وعزل الرؤيسات الأولية :

أزيلت جميع الأنسجة المحيطة بالكيس العدري ثم عقم السطح الخارجي للكيس مرات عدة بالكحول الأثيلي 70% ، استعملت محاقن بلاستيكية معقمة سعة 10 مل في سحب السائل المتبقي والحاوي على كمية كبيرة من الرؤيسات الأولية ووضع في بيكر زجاجي معقم . عزلت الطبقة الجرثومية لبعض الأكياس باستعمال المقص والملقط ووضعت في صحن بتري كبير معقم . وقطعت إلى قطع صغيرة وغسلت بمحلول هانك Hank s balanced salt solution الحاوي على المضادين الحيويين البنسلين penicillin و الستربتومايسن Streptomycin المحضران من إذابة 0.1 غم من كل منهما في 100مل ماء مقطر . رشح الخليط خلال مصفاة معقمة تسمح ثقوبها بمرور الرؤيسات الأولية فقط وجمع في دورق زجاجي معقم ثم غسلت الرؤيسات 3-5 مرات بمحلول هانك وكانت في كل مرة ترج رجه خفيفة وتترك لمدة 15 دقيقة لكي تترسب الرؤيسات ويزال الراشح[2] .

حساب عدد الرؤيسات الأولية :

تم حساب عدد الرؤيسات الأولية باستعمال طريقة نقل الحجم الثابت بالماصة الدقيقة micropipette سعة 10 مايكروليتر إذ حسب العدد الكلي للرؤيسات في الحجم باستعمال المجهر التشريحي Dissecting microscope نوع Wild No.3 وقد أعتمد معدل العد لثلاث مكررات .حسب عدد الرؤيسات الأولية في المليلتر الواحد وكما يلي :-

عدد الرؤيسات في 1 مل = عددها في (10 µl) × 100

تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار لنبات البلوط على قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي :

عوملت الرؤيسات الأولية بعد عدها واحتساب حيويتها مع المستخلصين المائي الحار والكحولي الحار وبالتراكيز (5 ، 10 ، 20 ، 40)% حيث نقل واحد مل من عالق الرؤيسات

الحاوي على 1500 رؤيس إلى كل أنبوبه اختبار حاوية على تركيز من التراكيز أعلاه . حسب معدل المتوسط الحسابي للحيوية بعد المعاملة ولفترات زمنية مختلفة .

تأثير المستخلص الفينولي لثمار نبات البلوط وغلافها المضادة على قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي :

بعد التعرف على قيمة LD_{50} للمستخلص الفينولي وبالقسمة على 10 اختيرت التراكيز التالية (5 ، 10 ، 20 ، 40) % و أختبر تأثيرها على قتل الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكات الحبيبية وبالتراكيز أعلاه .

تأثير مستخلصات المواد الفعالة لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

عوملت الرؤيسات الأولية بعد عدها واحتساب حيويتها مع مادتي القلويد والدهون الأساسية المستخلصة من نبات البلوط وبالتراكيز 5% ، 10% ، 20% ، 40% .

تأثير العقارين تينيدازول Tinidazole وبرازكوينتل Praziquantel في قتل الرؤيسات الأولية

عوملت الرؤيسات الأولية بعد عدها واحتساب حيوتها مع العقارين التينيدازول والبرازكوينتل وبالتراكيز(1.25% ، 1.8% ، 2.5%) و (0.1% ، 0.15% ، 0.2%) على التوالي .

النتائج

تأثير المستخلص المائي الحار لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

كان زمن القتل للمستخلص المائي الحار في اليوم الثاني من بدء التجربة عند التركيز 40% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 40% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (1) .

*** تأثير المستخلص الكحولي الحار لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي**

كان زمن القتل للمستخلص الكحولي الحار في اليوم الثاني من بدء التجربة عند التركيز 40% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 40% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (2) .

* **الكشوفات النوعية للمستخلصين المائي والكحولي لثمار نبات البلوط وغلافها .**

تم التعرف على طبيعة المركبات الكيميائية التي يحتوي عليها المستخلصان المائي والكحولي لثمار نبات البلوط وغلافها ، فقد أجريت كشوفات عدة ، لتشخيص عوائل المكونات الأساسية لهذه المركبات يظهر الجدول (1) احتواء المستخلصين على مركبات كربوهيدراتية و قلويدات وتانينات وفلافونيدات وفينولات وكلايكوسيدات وصابونين وأحماض امينية ومركبات ببتيديه موجبه الكشف مع صبغة النهدرين .

* **استخلاص الدهون من ثمار نبات البلوط وغلافها**

تراوحت نسبة الدهون المعزولة من ثمار نبات البلوط وغلافها باستعمال ثنائي اثيل أيثر والبترواليوم أيثر والهكسان كمذيبات في عملية الاستخلاص ما بين 6.4-10% (شكل 3) ، كما أظهرت النتائج تفوق الهكسان على بقية المذيبات في كفاءة الاستخلاص إذا أعطى نسبة 10% من الدهون المعزولة حيث كان وزن الدهون المستخلصة من ثمارالبلوط وغلافها للمذيبات الثلاثة هي (1.6 ، 1.7 ، 2.5) على التوالي .

* **استخلاص القلويدات**

استخلصت القلويدات من ثمار نبات البلوط وغلافها إذ تم الحصول على مستخلص بشكل مسحوق بني داكن اللون بنسبة 41.5% حيث كان وزن المادة المستخلصة 29.08 غم ، وقد أعطى المستخلص كشفاً موجباً مع كواشف القلويدات.

* **استخلاص المركبات الفينولية**

استخلصت المركبات الفينولية من ثمار نبات البلوط وغلافها إذ تم الحصول على مسحوق بني داكن اللون مائل إلى اللون البنفسجي بنسبة 28.37 % حيث كان وزن المادة المستخلصة 11.35 غم وأظهرت نتائج الفصل بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ظهور ثلاث بقع .

* **فصل المركبات الفينولية**

أظهرت نتائج الكشف الكيمائي التمهيدي أن النوع الأول من الصفائح (merck keisgel GF 254 (Type 60 20x20 كان أفضلها وتبين كذلك أن النظام السابع

Benzen	90
Acetone	10

من أنظمة التطوير الثمانية المذكورة و هو الأفضل أيضاً حيث تم الحصول فيه على أفضل فصل لمكونات المستخلص (صورة3) (جدول2).

* **تشخيص مزيج المركبات الفينولية المستخلصة**

درجة الانصهار Melting point وبعض الاختبارات الأولية

يظهر (جدول 3) درجة الانصهار لمزيج المركبات الفينولية وبعض الاختبارات الأولية مثل كشف الحرق وكشف الذائبيه وكشف التفاعل

التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR)

سجل طيف الأشعة تحت الحمراء لمزيج المركبات الفينولية (شكل4) ، ويوضح (الجدول 4) حزم الامتصاص والمجاميع التركيبية العائدة لهما .

التشخيص بمطيافية الأشعة فوق البنفسجيةUV والمرئية

يوضح (الشكل 5) طيف الأشعة المرئية visible لمزيج المركب الفينولي في الماء المقطر ولمدى من الأطوال الموجية 360-520 نانوميتر

*** اختبار السمية الحاد (قصيرة الأمد)**

اجري اختبار السمية الحاد للمزيج الفينولي في الفئران عن طريق الفم إذ يظهر (جدول 4) أن التناسب طردي بين النسب المئوية لوفيات الفئران ومقدار الجرع المعطاة إذ تراوحت النسب ما بين 0-100 للجرعتين 2-20 غم / كغم ، كما أظهرت النتائج أن التأثير السمي في الإناث أقل مما هو عليه في الذكور . إذ ماتت جميع الذكور عند الجرعة 18 غم /كغم في حين كانت الجرعة المميتة لجميع الإناث 20 غم / كغم .

 # الجرعة القاتلة المتوسطة

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال ورقة الاحتمالية (شكل6) أن قيمة LD_{50} للمزيج الفينولي هي 14.5 غم/كغم .

*** تأثير المستخلص الفينولي لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي**

كان زمن القتل للمستخلص الفينولي في اليوم الأول من بدء التجربة عند التركيز 40% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 40% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (7) .

تأثير مستخلص الدهون لثمار نبات البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

كان زمن القتل لمستخلص الدهون في اليوم الرابع من بدء التجربة عند التركيز 40% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 40% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (8) .

تأثير المستخلص القلويدي لثمار نبات البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

كان زمن القتل للمستخلص القلويدي في اليوم الخامس من بدء التجربة عند التركيز 40% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 40% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (9) .

تأثير العقار Tinidazole في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

كان زمن القتل للعقار تينيدازول في الدقيقة 30 من بدء التجربة عند التركيز 2.5% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 2.5% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (10) .

تأثير العقار Praziquantel في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

كان زمن القتل للعقار برازيكوينتل في الدقيقة 60 من بدء التجربة عند التركيز 0.2% و قد أثبت التحليل الإحصائي R.L.S.D أن التركيز 0.2% كان هو الأكثر تأثيراً شكل (11) .

المناقشة

تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم

أن التأثير الواضح والدال إحصائيا للمستخلص المائي الحار والكحولي الحار لثمار البلوط وغلافها في تقليل النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات الأولية وتناسبهما مع زيادة التركيز ربما يعود إلى ما يحويه نبات البلوط وبالأخص الثمار وغلافها من المواد الفعالة كالفينولات ومشتقاتها [4]

الكشوفات النوعية للمستخلصين المائي الحار والكحولي الحار لثمار نبات البلوط وغلافها

أثبتت الدراسة الحالية احتواء المستخلصين المائي الحار والكحولي الحار لثمار البلوط وغلافها على المكونات الكيمائية (الفينولات ، التانينات ، القلويدات ، الكلايكوسيدات ، الفلافونيدات ، الصابونينات ، الكربوهيدرات ، الأحماض الأمينة والمركبات الببتيدية) التي أثبتت فعالية ضد الأحياء المجهرية (الجراثيم والطفيليات) . حاولت [14] الكشف عن بعض المواد الفعالة في نبات البلوط مثل القلويدات والتانينات والفينولات وأشارت إلى عدم توفر مصدر يؤكد وجود بقية المواد الفعالة الأخرى التي أثبتت الدراسة الحالية وجودها

استخلاص الدهون والقلويدات من ثمار البلوط وغلافها

أن سبب عزل الدهون من ثمار البلوط وغلافها كمرحلة أوليه لاستخلاص الفينولات والقلويدات فيما بعد هو لأبعاد الدهون من المادة الجافة قبل أي استخلاص اخر لكي لا تُسحب

الدهون فيما بعد مع المواد المستخلصة وتعطي نتائج متداخلة / غير دقيقة عند الكشف عن المواد الفعالة المراد استخلاصها [15] ، أما سبب كون مذيب الهكسان هو الأفضل لأنه أعطى أعلى نسبة استخلاص في هذه الدراسة فقد يعود إلى أن الدهون تمتاز بذوبانية جيدة في المذيبات الأقل قطبية ومذيب الهكسان هو غير قطبي فيستقطب المواد المشابه له في القطبية [9، 16] .

دلت النسبة المئوية لاستخلاص القلويدات على مقدار كميتها في نبات البلوط فهي سهلة الذوبان في العديد من المذيبات العضوية منها الكلوروفورم وكانت الحصيلة هذه النسبة الجيدة من المستخلص القلويدي التي جاءت مشابهة لما ذكره [17] ،[15] .

استخلاص المركبات الفينولية

استخلصت المركبات الفينولية من ثمار البلوط وغلافها باستعمال الماء المحمض واستبعدت المذيبات الكحولية لأن استعمال الماء قد يكون مع هذه المركبات محلولاً غروياً حامضياً ذا طعم لاذع وأنها تكوّن رواسب مع محاليل الجيلاتين والقلويدات وتكوّن مركبات ذائبة زرقاء أو خضراء غامقة مع أملاح الحديديك [9] .

استخلص [19،20] المركبات الفينولية من نبات الشوك الهندي ونبات الجفت والزباد والحميض باستعمال الماء المحمض أيضاً . كان استعمال نبات البلوط في الدراسة الحالية قبل نضجه ذا فائدة كبيرة خصوصاً ضد حيوية الرؤيسات الأولية لاحتواء ثماره غير الناضجة على المركبات الفينولية والتانينية التي عادة ما تختفي عندما يتم نضج الثمرة[18] .

تعد هذه المواد الفينولية والتانينية مصدر الطاقة التي يستهلكها النبات في عمليات الأيض ولذلك فأن كميتها تقل أثناء عملية النضج وأن المتبقي منها يتحول إلى أحماض تعطي الثمار طعمها الحامضي اللاذع كذلك تعد التانينات والفينولات مواد مطهره فهي تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة فتحافظ على حياة النبات أثناء نموه [13] .

فصل المركبات الفينولية

أظهرت نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمستخلص المزيج الفينولي وجود ثلاث بقع أعطت كشفاً موجباً مع كلوريد الحديديك وإذا ما قورنت هذه النتائج من حيث قيم R_f ، ومع المصادر وباستعمال نفس الطور الثابت Silica gel والطور المتحرك Benzene – acetone (90+10) مع مراعاة ظروف التجربة فقد تم اقتراح الصيغ الكيميائية للمركبات المعزولة B : هو Veratric acid و C : هو Alkannin [9] وحسب تسلسلها في TLC بينما حصل [19] في دراسته حول عزل المركبات الفينولية من نبات الشوك الهندي على ثلاث

بقع بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وتوقع هذه البقع تمثل Leutolin ، apigenin ، quercitin .

تشخيص مزيج المركبات الفينولية

أن الامتصاص في المنطقة المرئية عند طول موجي 465 نانوميتر يدل على كون مزيج المركبات الفينولية ملونه وأن ظهور قمة بشدة متوسطة الحدة لمزيج المركبات الفينولية يدل على أن الحزم ناشئة عن انتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$ ويحصل هذا الانتقال بطاقة أقل وطول موجي أعلى وأن ظهور حزم الامتصاص في هذه المواقع يدل على أنها أما أن تتضمن تعاقب الأواصر من نوع $C = C$ أو احتوائها على حلقات فينل مرتبطة بمختلف الكروموفورات [4] .

جاءت دراسة الركابي [19] بنتيجة تختلف عن هذه النتيجة حيث أن امتصاص الحزم للمستخلص الفينولي لنبات الشوك الهندي كان في طيف المنطقة فوق البنفسجية وعند الطول الموجي 315 نانوميتر وكانت قمة حادة ذات شدة عاليه وبطرق أخرى كانت ذات شدة أوطأ من الأولى عند 385 نانوميتر وعزي ذلك إلى الأنتقالين $\pi \rightarrow \pi^*$ و $n \rightarrow \pi^*$ على التوالي .

تأثير مستخلص مزيج المركبات الفينولية وكل من المركب الفينولي B و C لثمار البلوط وغلافها على قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم

أظهرت الدراسة الحالية تفوق مستخلص المزيج الفينولي على كلاً من المركبين B و C المعزولة في تأثيره على حيوية الرؤيسات الأولية وقد يعود السبب في هذا التأثير إلى ما يدعى بظاهرة التساند Synergism التي تحصل عند استعمال المركبات مجتمعة بدلاً من عزلها إلى مكوناتها [2] ولهذا السبب تم اختيار المزيج الفينولي في الدراسة اللاحقة التي تضمنت الدراسة الكيميائية فصل وعزل وتشخيص المركبينB و C والحيوية وهي دراسة التأثير السمي والعلاجي لهذا المزيج . ومن الدراسات العربية التي أشارت إلى فعالية الفينولات والتانينات لنبات البلوط هي دراسة [14] و [20] في تأثيرها على الأداء الحياتي لحشرة الذبابة الزرقاء والأداء الحياتي للذبابة المنزلية على التوالي . وقد عزيت آلية عمل المركبات الفينولية إلى تثبيطها للأيض البروتيني من خلال تداخلها في سلسلة تفاعلات هذا الأيض الضروري لاستمرار حيوية الطفيلي وبالتالي هلاكه [21] .

درس [18] تأثير المركبات الفينولية والفلافونيديه والتانينية المستخلصة من بذور الحبة السوداء على حيوية الرؤيسات الأولية وعزي السبب في هذا التأثير إلى قدرة هذه المركبات على تثبيط الأيض الكربوهيدراتي من خلال التأثير على المايتوكوندريا وعرقلة آلية التنفس والتي تؤدي بالنهاية إلى موت الطفيلي .

تأثير المستخلص القلويدي والدهون لثمار البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم

أظهرت نتائج الدراسة تفوق المستخلص القلويدي على الدهون في التأثير على حيوية الرؤيسات الأولية وقد يكون السبب في هذا التأثير فعالية المستخلص القلويدي المضاد للطفيليات خارج الجسم . عُزيت فعالية القلويدات إلى التداخل مع انزيمات السلسلة التنفسية الحاوية على مجموعة الثايول (كبريت – هيدروجين SH) ومن خلال الإحلال والإبدال في مجموعة (الأوكسجين = الكاربون c = o) فيتحول المركب إلى مركب أخر أكثر سمية من المركب الأصلي . كما أشار [22] إلى فعالية نبات الشيح ضد الديدان المعوية وعزي سبب ذلك إلى احتواء هذا النبات على مادة santonine .

كما أشارت [23] إلى فعالية المستخلص القلويدي لبذور نبات الحرمل على حيوية الرويسات الأولية لطفيلي المشوكات الحبيبية وعزي السبب في ذلك إلى احتواء النبات على أشباه القلويدات الحرمين والحرملين اللذين لهما فعالية عالية ضد الطفيليات . ومن المعروف أيضاً أن لبعض أشباه القلويدات تأثير مثبط للديدان مثل دودة الأسكارس Ascaris ودودة البقر الشريطية T. saginata حيث سببت القلويدات الموجودة في بذور نبات الحرمل التقلص والشلل للديدان [24] .

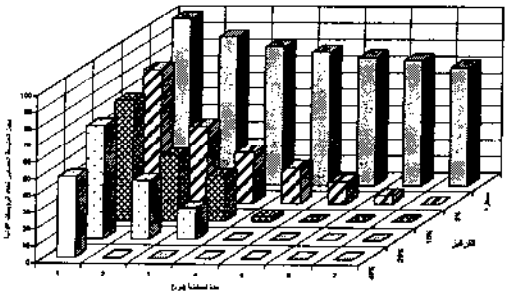
*** تأثير عقاري تينيدازول وبرازيكوينتل في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم**

ظهر من خلال الدراسة الحالية أن عقار التينيدازول كان له التأثير الأكبر والأفضل من البرازكوينتل في التأثير على حيوية الرؤيسات الأولية التي تتناسب طردياً مع زيادة التركيز . ربما يعود سبب هذا التأثير لمادة Tinidazole وهي من مركبات 5-Nitroimidazole المضادة للديدان ذات الطيف الواسع وميكانيكية عملها تكون من خلال ارتباطها مع البروتين التركيبي Tubulin الموجود ضمن الانيبيبات الدقيقة Microtubules مؤدية إلى غلق عملية البلمرة وإعاقة تكوين الأحماض الامينية من خلال تأثيرها على ATP اللازم لعملية النقل والنمو لخلايا الطفيليات [25] .

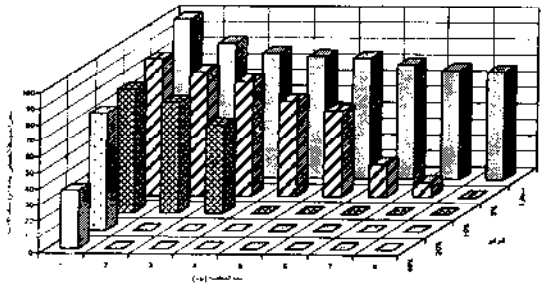
وجد [18] أن لعقار تينيدازول تأثير فعال في القضاء على حيوية الرؤيسات الأولية خارج وداخل الجسم الحي وأعزى سبب ذلك إلى أن العقار يؤثر على مخزون الطفيلي من الكلايكوجين عن طريق إعاقة امتصاص سكر الكلوكوز في الرؤيسات الأولية وبالتالي انخفاض تكوين ATP وقلة مستويات الطاقة مؤدية إلى موت الطفيلي [24]أما بالنسبة لعقار برازيكونتل فقد كان له الأثر الكبير ايضاً في قتل الرؤيسات بعد ساعة واحدة من بدأ التجربة والسبب أن هذا العقار يُعد

من مركبات الايزكوينولين Isoquinolin وله تأثيرات ضد أنواع معينة من ديدان المخرمـــات Trematoda مثل البلهارزيا Schistosoma والديدان الشريطية مثل الجنس Taenia وكذلك جنس المشوكات Echinococcus وضد الرؤيسات الأولية من جنس المشوكات ، ويمتص هذا العقار بسرعة من قبل الجسم عندما يؤخذ عن طريق الفم وينتشر في الجسم [26] .

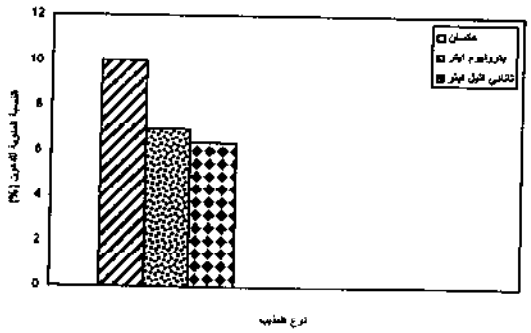
ويعمل البرازيكونتل على زيادة نفاذية الأغشية الخلوية للديدان الحساسة له ويـــؤدي إلـــى فقدان الكالسيوم من داخل الخلايا[24] .



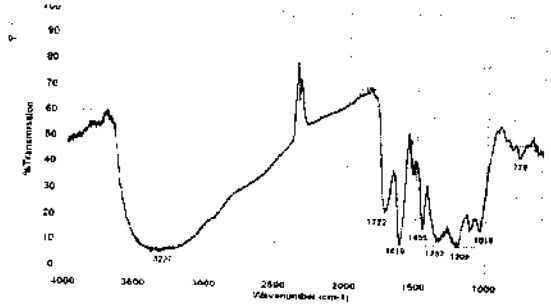
شكل (1) تأثير المستخلص المائي الحار لثمار البلوط وغلافها البلوط وغلافها في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



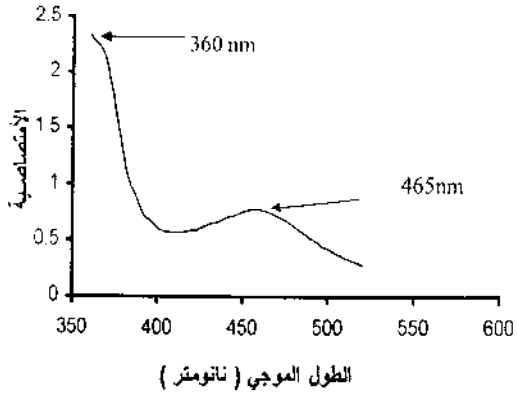
شكل (2) تأثير المستخلص الكحولي الحار لثمار في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



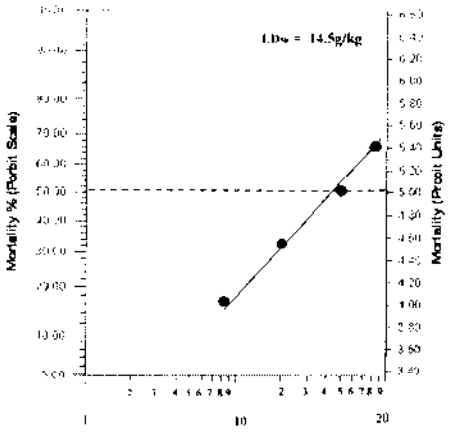
شكل (3) النسب المئوية للدهون المعزولة من ثمار نبات البلوط وغلافها باستعمال ثلاثة أنواع من المذيبات



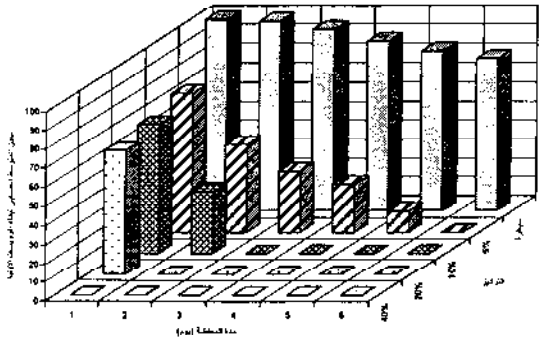
شكل (4) طيف الأشعة تحت الحمراء لمزيج المركبات الفينولية لنبات البلوط



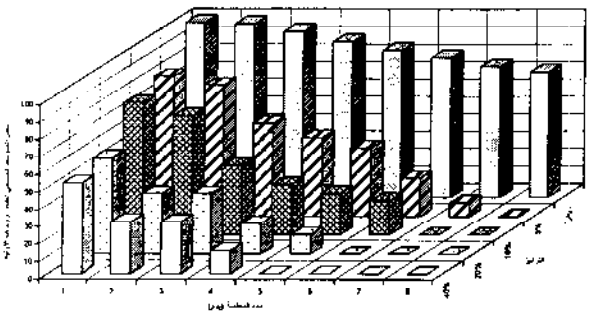
شكل (5) طيف المنطقة المرئية لمزيج المركبات الفينولية القاتلة لثمار البلوط وغلافها



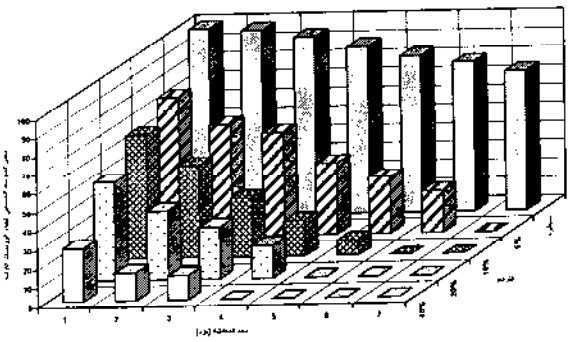
شكل (6) ورقة وحدة الاحتمالية تتضمن تعيين الجرعة المتوسطة LD_{50} لمستخلص المزيج الفينولي لنبات البلوط



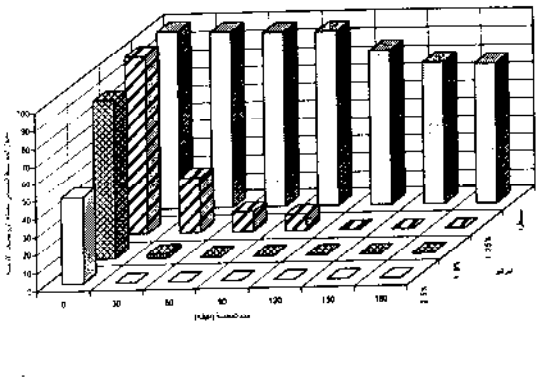
شكل (7) تأثير المستخلص الفينولي لنبات البلوط في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



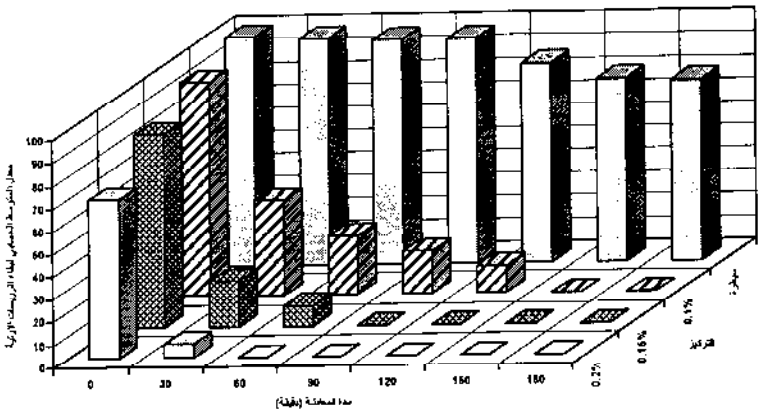
شكل (8) تأثير مستخلص الدهون الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



شكل (9) تأثير المستخلص القلويدي لنبات البلوط في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



شكل (10) تأثير عقار التينيدازول في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي



شكل (11) تأثير عقار البرازكوينتل في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم الحي

جدول (1) الكشوفات النوعية للمستخلصين المائي والكحولي لثمار البلوط وغلافها

نوع المستخلص	النفهدرين	الفينول	التانين	الصابونين	كشف أشباه القلويجات				الفلافونيدات	الكلايكوسيدات		كشف الكربوهيدرات
					دراكندروف	واكز	ماركس	ماير	خراطة المغنسيوم	قبل التحلل	بعد التحلل	
مائي حار	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
كحولي حار	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

جدول (2) كشف وقياس المركبات الفينولية المعزولة من نبات البلوط في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

رقم البقعة الظاهرة	اللون بالعين المجردة	اللون تحت أشعة UV 254 نانومتر	الانسياب النسبي (Rf)	اللون مع كاشف كلوريد الحديديك
A	عديم اللون	-	0.46	أخضر
B	عديم اللون	-	0.60	أخضر مزرق
C	عديم اللون	-	0.79	أخضر مزرق

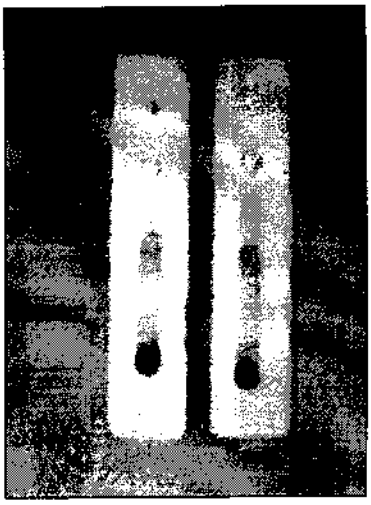
جدول (3) درجة الانصهار وبعض الاختبارات الأولية لمزيج المركبات الفينولية

نوع الاختبار	المستخلص الفينولي
درجة الانصهار	(250 – 270)°م
كشف الحرق	دخان أسود ، تخلف بعض الكاربون الأسود (تفحم)
كشف الذائبية	ذوبانه جزئي في الماء وذائب في الكحولات والأستون
كشف التفاعل	حامضي (pH : 3.7) في المحلول المائي

جدول (4) أعداد ونسب وفيات الفئران في اختبار السمية الحاد لمستخلص المركب الفينولي لثمار البلوط وغلافها

رمز المجموعة	الجرعة غم/كغم	الإناث		النسبة المئوية	الذكور		النسبة المئوية	العدد الكلي للفئران		النسبة المئوية	الاختمالية
		عدد الوفيات			عدد الوفيات			عدد الوفيات			
		اليوم الأول	اليوم الثاني		اليوم الأول	اليوم الثاني		اليوم الأول	اليوم الثاني		
c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T_1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T_2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T_3	8	-	-	-	1	-	%33	-	1	%16.7	-
T_4	12	-	1	%33	1	-	%33	1	1	%33	-
T_5	16	-	1	%33	1	1	%66.6	1	2	%50	-
T_6	18	1	1	%66.6	1	2	%100	2	3	%83.3	-
T_7	20	2	1	%100	3	-	%100	5	1	%100	-

عدد الفئران : (ثلاثة ذكور + ثلاثة إناث)



صورة (1) كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لناتج فصل المركبات الفينولية
الممثلة بالأحرف A ، B ، C وتم استظهارها في بخار اليود

المصادر

2- منصور ، أحمد توفيق .(2005) . الدليل الكامل في التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية . الطبعة الثانية . الأهلية للنشر والتوزيع .

5- رويحة ، أمين . (1965) . التداوي بالأعشاب ، الطبعة الثانية ، دار الأندلس . بيروت . لبنان 7-445 .

12-كوان ، مي حميد .(1985) . السلوك الحياتي ليرقات طفيلي Echinococcus. granulosus مضائف وسطية مختلفة من الفئران المثبطة مناعياً . رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .

13-الحريشاوي ، رواء محمد عبيد . (2004) . تأثير مستخلصات نباتي العفص والحناء في نمو بعض الجراثيم المعزولة من جروح بعض العمليات الجراحية . رسالة ماجستير - كلية العلوم جامعة البصرة .

14-العيداني ، أسماء عبد الزهره سبع .(2006) . دراسة تأثير المستخلصات النباتية لأوراق نبات الحناء Luwsonia inermis L وقشور الجفت Quercus infectoria Oliv في الأداء الحياتي للذبابة الزرقاء (Lucilia sericata (Meigen رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة البصرة 138 صفحة .

15-الجبوري ، علي عواد والراوي ، محمد عبد الله .(1994) . علم الأدوية الطبيعية . دار الكتب والوثائق ، بغداد .

16-السلامي ، وجيه مظهر .(1998) . تأثير مستخلصات نباتي المديد Convolvulus arvensis L والهندال Ipomoea Cairica (Linn) sweet في الأداء الحيوي لحشرة من الحنطة Schizaphis grarainum (Homoptera : Aphididea) (ROND) رسالة دكتوره - كلية العلوم - جامعة بابل ، 111 صفحة .

17-الشماع ، علي عبد الحسين .(1989) . العقاقير وكيمياء النباتات الطبية ، بيت الحكمة ، جامعة بغداد .

18-الخزاعي ، جاسم حميد رحمه .(2005) . تقييم فعالية مستخلص الحبة السوداء وبعض الأدوية والتيار الكهربائي على حيوية الرؤيسات الأولية لطفيلي المشوكة الحبيبية Echinococcus. granulosus خارج وداخل الجسم الحي في الفئران البيض .رسالة دكتوراه - كلية التربية / جامعة القادسية ، 99 صفحة .

19-الركابي ، رحمن لعيبي جلاب .(2003) . الفعالية ضد ميكروبية وضد اميبية لمستخلصات بعض النباتات الطبية مع الأشارة إلى التاثيرات المرضية النسيجية لطفيلي الزحار الأميبي Entamoeba histolytica في الفئران المختبرية Balb/c . رسالة ماجستير – كلية التربية / جامعة البصرة .

20-الثامري ، علاء ناظم حاتم .(2006) . تأثير بعض المستخلصات النباتية في بعض جوانب حياتية حشرة الذبابة المنزلية Musca domestica (Muscidae : Diptera). رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة البصرة

23-التميمي ، أيمان حسين . (1999) . عزل وتشخيص مركبي الحرمين والحرملين من بذور نبات Peganum harmala ودراسة تأثيرها المضاد على طفيلي الأكياس المائية Echinococcus granulosus في الفئران المصابة مختبرياً – رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة البصرة . 130 صفحة .

1. Heywood , V. H. and Chant . R. (1982) . Papular Encyclopedia of Plants . Cambridge University Press . PP. 368 .
3. Haslam , E. (1996) . Chemistry of Vegetable Tannins . Academic Press . INC. London .
4. Toda , M. ; Okubo , S ; Ikigai , H. ; Suzuki , T. ; Suzuk , Y. ; Hara . Y. and Shimanura , T. (1992). The Protective of tea chatechins against experimental infection by vibrio cholera . Microbiol . Immunol ., 36:999-1001 .
6. Anderson , J. R. (1980) . Introduction to cystic echinococcosis and description cooperative research . Project in Morocco.
7. Thompson , R. C. A. (1977) . Hydatidosis in Great Britain . Helmnthol . Abst ., 46:337-861.
8. Alade , P. I . and Irabi , O.N. (1993). Antimicrobial activities of crud leaf extracts of Acalypha Wilkension .J. Ethnopharm., 39:171-174.
9. Harborn , J. B. (1984) . Phytochemical Methods : A guide to modern teahing use of plant Analysis . Chapman and Hall , London .
10. Al-Hakeem , T. M. , Salihi , F. G. and Samaraie , A. T. (1991). Some essential constituents of N2- Fixing cynobacteria isolated from Shatt Al-Arab river at Garma region south Iraq . J. Mar. Meso ., 6:225-236.
11. Katzung , B. G. and Berkowitz .(1987). Basic and clinical evaluation of new drug . In: Basic and clinical pharmacology . B. G.(eds) . 3rd ed . Appleton and Lange. USA.

21. Anthony , H. R. (1976) . Chemical microbiology . An. Introduction to microbial Physiology . 3rd ed . Butter Worth and Co. (publishers). London
22. Chakravarty , H.L. (1976) . Plant Wealth of Iraq , Ministry of Agriculture and Agrarian Reform , Baghdad , Iraq .
24. Dandan , I. S. , Soweid , A. M.and Abiad , F.(2002). Hydatid cysts . WWW.eMedicine . com / med / topic 1046 . htm : 1-20. (5/11/2006)
25. Imad , S.D. (2002). Hydatid cysts. Emidicine . World Medical Library. 1:1-20.
26.Thompson , R. C. A. and Lymbery , A. J. (1995). Echinococcus and hydatid disease . CAB Int. , Wallingford, pp 476 .

EFFECT OF *QUERUS AEGILOPS* EXTRACTS AND TWO DRUGS (TINIDIZOLE AND PROZIQUANTEL) ON THE KILLING OF PROTOSCOLICES OF *ECHINOCOCCUS OSUS* GRANUL *IN VITRO*

F.Abdul Jabber and A-H.H.AWAD
Biology Dept., Education Coll., Basrah Univ.

SUMMARY

The present study was conducted on effect of *Querus aegilops extracts* (conn's peel) on killing protoscolices of *E. grounlosus in vitro* at 5, 10 , 20 and 40% concent . The effect of *Q. aegilops extracts* on killing of protoscolices were varies at 40% concentration . The protoscolices died at first day with phenolic extract and at 2nd day with watery and alcoholic extracts and at 4th and 5th day with alkaloid and lipid extracts respectively . This that the phenolic extract has huge effect on killing of protoscolies at 40% concentration . The tinidazole killed all the protoscolices after half an hour at 2.5% concentration followed by praziquantel after 1 hour at 0.2% concentration . The effects of Q. aegilops extracts on killing of protoscolies *in vitro* were as followed : Tinidazde > praziauantel > mixed phcnolic extract > hot watery extract > alcoholic hot extract > alkaloid > lipidextract

Key words

Quercus aegilops , biological activity Hydatid disease , protoscolic