SEBHA UNIVERSITY CONFERENCE PROCEEDINGS, VOL.4 NO. 4 2025
DOI: 10.51984/SUCP.V4I4.4540

وقائع مؤتمرات جامعة سبها
Sebha University Conference Proceedings
Confrence Proceeeding homepage: http://www.sebhau.edu.ly/journal/CAS

دراسة تأثير المستخلص الميثانولي لنبات الشيح *Artemisia herba alba* على المؤشرات الدموية و فيلم الدم المحيطي في اناث جرذان الألبينو المستحثة بعقار السيكلوفوسفومايد

*فاطمة علي معتوق عبدالله[1] و خولة عبدالنبي أبوالاسعاد محمد[2] و وردة علي محمد خليفة[3]

[1] قسم علم الحيوان، كلية العلوم،جامعة سبها، ليبيا
[2] قسم مختبرات طبية، كلية الثقنية الطبية، جامعة سبها، ليبيا
[3]قسم التقنيات الحيوية، كلية العلوم،جامعة سبها، ليبيا

الملخص

تمثل الأعشاب المستخدمة منذ زمن طويل مصدرًا كبيرًا للمواد الفعالة التي تفتح افاق للبحث عن علاجات جديدة ضد الأمراض المختلفة، الا انه مع تقدم العلم تم تصنيع الادوية من مركبات كيميائية صناعية والتي قد تسبب في ظهور اعراض جانبية، تهدف هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص الميثانولي لنبات الشيح *Artemisia herba alba* على المؤشرات الدموية و فيلم الدم المحيطي في اناث جرذان الألبينو المستحثة بعقار السيكلوفوسفومايد، حيث أظهرت النتائج احتواء النبات على المركبات الفعالة كالفلافونويدات والفينولات وبروتينات وتربينات وتانينات وصابونين والجلايكوسيدات ولا يحتوي على الراسين والنشا، كما بينت نتائج التقدير الكمي احتواء المستخلص على نسبة متقاربة من الفلافونويدات لكلا التركيزين 200 و400 ml/mg والتي قدرت 300 mg، بينما قدرت نسبة الفينولات في التركيز200 ml/mg (94.05mg)، وفي تركيز 400 ml/mg بـ (101.5mg)، وقد بينت نتائج المؤشرات الدموية بأن عقار السيكلوفوسفومايد أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في مستوى كل من HB و WBC و MCV وMCH و MCHC و PCV للمجموعة PC مقارنة بالمجموعة NC ($p<0.05$)، بينما لوحظ وجود ارتفاع معنوي لهذه القيم في كلا المجموعتين T200 و T400 مقارنة بالمجموعة PC. ووجد في المجاميع المعاملة بالمستخلص اوراق الشيح فقط للمجموعة N200 و N400 انخفاض معنوي لكل من MCV،MCH، MCHC وارتفاع معنوي في كل من RBC،PCV، PLT في حين لم يتم ملاحظة وجود أي فروقات معنوية لكل من HB، WBC، RDW مقارنة بالمجموعة NC. كما بينت نتائج هذه الدراسة وجود اشكال غير طبيعية لكريات الدم الحمراء وتتفاوت وجود الاشكال الغير طبيعية بين المجموعات حيث لوحظ في المجموعة T200 و T400 احتوائها على اعداد قليلة من الاشكال المشوهة مقارنة مع المجموعة PC.

الكلمات المفتاحية:

اناث جرذان الألبينو
المواد الفعالة
المؤشرات الدموية
عقار السيكلوفوسفومايد
فيلم الدم المحيطي
نبات الشيح

Study the effect of methanolic extract of Artemisia herba alba on hematological parameters and peripheral blood film in female albino rats induced by cyclophosphamide

*Fatima Ali Moatouq Abdullah[a] , Khawla Abdulnabi Abu Al-Esaad Mohammed , [b] and Warda Ali Mohammed Khalifa[c]

[a] Department of Zoology, Faculty of Science/Sebha University, Sebha,, Libya
[b] Department of Medical Laboratories, Faculty of Medical Technology/Sebha University, Sabha ,Libya
[c] Department of Biotechnology, Faculty of Science/University of Sebha, Sabha , Libya

Keywords:

Artemisia herba alba
Cyclophosphamide
Female albino rats
Hematological parameters
Peripheral blood film
Phytochemical

ABSTRACT

Herbs used for a long time represent a great source of active ingredients that open up horizons for searching for new treatments against various diseases. However, with the advancement of science, drugs have been manufactured from synthetic chemical compounds that may cause side effects. This study aims to know the effect of the methanolic extract of Artemisia herba alba on blood indicators and peripheral blood film in female albino rats induced by cyclophosphamide. The results showed that the plant contains active compounds such as flavonoids, phenols, proteins, terpenes, tannins, saponins and glycosides, and does not contain racin and starch. The quantitative estimation results also showed that the extract contains a close percentage of flavonoids for both concentrations 200

*Corresponding author:
E-mail addresses: fat.abdullah@sebhau.edu.ly, (K. A. Mohammed) Khaw.abdunabi@sebhau.edu.ly

Article History : Received 01 January 2025 - Received in revised form 15 April 2025 - Accepted 24 May 2025

and 400 ml/mg, which was estimated at 300 mg, while the percentage of phenols in the concentration 200 ml/mg was estimated at (94.05 mg), and in the concentration 400 ml/mg at (101.5 mg). The results of the blood indicators showed that Cyclophosphamide drug led to a significant decrease in the level of HB, WBC, MCV, MCH, MCHC and PCV for the PC group compared to the NC group ($p<0.05$), while a significant increase was observed for these values in both groups T200 and T400 compared to the PC group. In the groups treated with wormwood extract only for the N200 and N400 groups, there was a significant decrease in MCH, MCV, MCHC and a significant increase in RBC, PCV, PLT, while no significant differences were observed for HB, WBC, RDW compared to the NC group. The results of this study also showed the presence of abnormal shapes of red blood cells, and the presence of abnormal shapes varied between groups, as it was observed in the T200 and T400 groups that they contained small numbers of deformed shapes compared to the PC group.

1. المقدمة

تمثل الأعشاب المعروفة والمستخدمة منذ زمن طويل في الطب الصيني التقليدي مصدرًا كبيرًا للمواد الفعالة التي تفتح افاق للبحث عن علاجات جديدة ضد السرطان، الا انه مع تقدم العلم تم تصنيع الادوية من مركبات كيميائية صناعية والتي قد تسبب في ظهور اعراض جانبية، لذلك لازال البحث مستمر عن علاجات ذات كفاءة عالية وأقل ضرراً على الشخص المصاب بغرض تصنيع الادوية من النباتات الطبية [5]، وبينت الدراسات بأن العقار الكيميائي السيكلوفوسفومايد (CP) Cyclophosphamide الذي يستخدم في علاج السرطانات والامراض المناعية والعديد من العوامل العلاجية الكيميائية تسبب عادة في حدوث طفرات كروموسوميه وطفرات جينية فضلا عن زيادة الأورام الثانوية المرتبطة بالمعالجة في الأشخاص المصابين بالسرطان [2]. ترتبط سمية السيكلوفوسفاميد بتطور نقص الكريات البيض وقلة الصفيحات وفقر الدم، قد تؤدي هذه الحالات إلى حدوث عدوى متكررة وقد تتداخل مع التئام الجروح. تشمل الأعراض الأخرى لسمية السيكلوفوسفاميد اضطرابات الجهاز الهضمي والثعلبة والتهاب المثانة النزفي ونخر الأنابيب الكلوية والعقم والتليف الرئوي والسمية القلبية. تتفاقم مظاهر سمية السيكلوفوسفاميد بالاستخدام المتزامن للفينوباربيتال ومثبطات نخاع العظم الأخرى والإشعاع والسكسينيل كولين [6] ويعتبر نبات الشيح من النباتات الطبية المستخدمة في علاج العديد من الأمراض، يستخدم كمدر للبول وكذلك لعلاج الربو والإنفلونزا ونزلات البرد والتهاب الشعب الهوائية والحمى و لتخفيف الآلام المصاحبة للصداع والتهاب المفاصل والروماتيزم، ويستخدم كدواء للنساء لعلاج متلازمة ما قبل الحيض وعسر الطمث وانقطاع الطمث، والمساعدة على إجهاض الأجنة [20]

ويرجع قدرة المستخلصات النباتية في عملها كمضاد للسرطان نتيجة لاحتوائها على مركبات كيميائية عدة ذات سمية عالية تجاه الخلايا السرطانية وذلك من خلال تأثيرها في آليات الانقسام الخلوي أوفي مرحلة تسبق الإنقسام مثل آليات تضاعف DNA أو انزيماته، ونظرا للدور المهم الذي تؤديه الانيبيبات الدقيقة في انقسام الخلية فإن ذلك جعلها الهدف المناسب في تطور أدوية العلاج الكيميائي ضد الانقسام السريع للخلايا السرطانية [4] .

لذلك اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص الميثانولي لنبات الشيح *Artemisia herba alba* على المؤشرات الدموية و فيلم الدم المحيطي في اناث جرذان الألبينو المستحثة بعقار السيكلوفوسفومايد وتعتبر هذه الورقة جزء من رسالة الماجستير .

2. المواد وطرق العمل

حيو انات التجربة Experiment animal

استعمل في هذه الدراسة 30 جرذ من إناث الجرذان البيضاء البالغة سلالة Albino Wister rats بعمر 5- 6 أشهر حيث تتراوح أوزانها بين 200 -250 g، قسمت إلى ستة مجاميع بعدد خمسة جرذان في كل مجموعة، تم تربيتها في بيت الحيوان لكلية العلوم جامعة سها، ووضعت في أقفاص بلاستيكية وتم إعطائها العليقة الغذائية التي تحتوي على حبوب القمح والذرة والشعير والماء اللازم بصوره حرة، مغطاة بأغطية معدنية ذات أرضية مفروشة بنشارة الخشب، كما تم مراعاة نظافة الأقفاص من حيث تبديل نشارة الخشب يومياً، مع مراعاة للظروف القياسية من حيث الحرارة المناسبة والرطوبة والضوء 12:12 ساعة (ضوء: ظلام) حتى تستطيع التكيف مع البيئة الجديدة وتركت الحيوانات لمدة أسبوعين لكي تتأقلم مع ظروف التجربة قبل إخضاعها للدراسة.

تصميم التجربة Experiment design

قسمت الجردان إلى 6 مجاميع بواقع 5 جردان لكل مجموعة.

المجموعة الأولى: المجموعة الضابطة السالبة تتكون من خمسة جرذان سليمة تم إعطائها محلول كلوريد الصوديوم0.9% لمدة 21 يوم.

المجموعة الثانية: المجموعة الضابطة الموجبة تم حقنها بالعقار السيكلوفوسفومايد بتركيز 60 ml/mg من وزن الجسم لمدة اسبوعين في الغشاء البروتوني ثم جرعت بمحلول ملحي لمدة 21 يوم.

المجموعة الثالثة normal + AHA: المجموعة الطبيعية تتكون من خمسة جردان سليمة تم تجريعها بالمستخلص أوراق نبات الشيح تركيز 200 ml/mg من وزن الجسم لمدة 21 يوم.

المجموعة الرابعة normal + AHA: المجموعة الطبيعية تتكون من خمسة جردان سليمة تم تجريعها بالمستخلص أوراق نبات الشيح تركيز 400 ml/mg من وزن الجسم لمدة 21 يوم.

المجموعة الخامسة CP+AHA : المجموعة المعالجة تتكون من خمسة جردان حقنت بالعقار ثم جرعت بمستخلص أوراق نبات الشيح تركيز 200 ml/mg من وزن الجسم لمدة 21 يوم.

المجموعة السادسة CP+AHA : المجموعة المعالجة تتكون من خمسة جردان حقنت بالعقار ثم جرعت بمستخلص أوراق نبات الشيح تركيز 400 ml/mg من وزن الجسم لمدة 21 يوم.

وقد اعطيت الجرعات المناسبة لها يوميا طول مدة التجربة بالمستخلص والعقار على حسب وزن الجسم كما ما هو موضح أعلاه في تصميم التجربة.

جمع النبات Plant collection

استخدمت في هذه الدراسة أوراق نبات الشيح التي تم الحصول عليها من ضفاف الجبلية لمدينة غريان في شهر يناير2023ف، حيث تم تصنيف النبات اعتمادا على الاعضاء المختصين بعلم التصنيف لقسم علم النبات جامعة سها كلية العلوم.

تحضير المستخلص Extract preparation

تم تحضير المستخلص وفقا لما جاء في دراسة Alshibly (2014) مع بعض التعديل [7]، حيث غسل نبات الشيح بالماء الفاتر لإزالة الاتربة والاوساخ وتركها لتجف في اشعة الشمس، ثم أخذت الأوراق فقط وتم التخلص من باقي اجزاء النبات وسحقها للحصول على مسحوق ناعم، ثم أخذ 332g من الشيح و اضيف إليه 3320 ml من المذيب الميثانولي 70% (V/V 30/70) وترك لمدة 48 ساعة ثم رشح المزيج بورق ترشيح، واستخلص المزيج باستخدام جهاز المبخر الدوار rotary عند 50°c وقبل ان يجف تماما تم وضعه في المجفف ليسهل كشطه، وبعد ان جف جيدا كشط وأخذ الوزن الكلي للمستخلص، وخزنت عند 4°c في قارورة زجاجية محكمة الأغلاق ومن ثم حضر منه التراكيز اللازمة للدراسة، وقد تم حساب نسبة المستخلص الذي تم الحصول عليه وفقا للمعادلة التالية:

كمية المستخلص% = وزن المستخلص المتحصل عليه/ وزن المسحوق

أ ب

ج

صورة (1) توضح خطوات تحضير نبات الشيح (أ: تجهيز النبات، ب: مسحوق النبات، ج: استخلاص المواد الفعالة) لإستخلاص المواد الفعالة

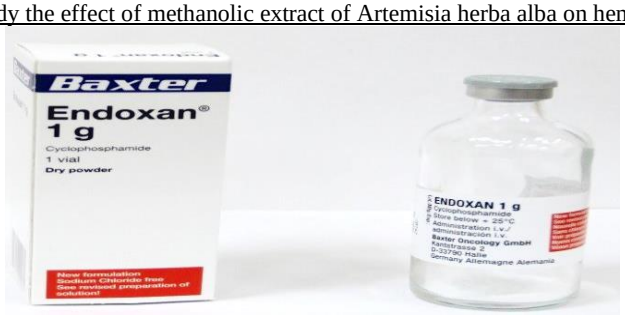
تحضير الجرعة و التركيز للمستخلص Dose and concentration of the extract

تم تحضير التراكيز 200 ml/mg و 400 ml/mg المستهدفة في هذه الدراسة بناءاً على طريقة Erhirhie *et al* (2014) [8]، قد تم استخدام قانون الجرعة لمعرفة الكمية المناسبة لكل جرذ واعطيت الجرعة المكافئة الموافقة لوزن الجرذ بناءً على المبادئ التوجيهية لمنظمة التعاون الاقتصادي والتنمية

الجرعة = وزن الجسم بالجرام / 1000 جم × التركيز

استحداث المرض Induction of disease

تم استحداث المرض باستخدام عقار السيكلوفوسفومايد الذي تم الحصول عليه من مركز علاج الأورام سبها عبوة 1g .



صورة (2) تبين العقار المستخدم في التجربة

تحضير الجرعة و التركيز للعقار Dose and concentration of the CP

تم الحصول على العقار على شكل مسحوق بحجم 1g، وقد تم استخدام في هذه الدراسة تركيز 60 mg/kg لكل جرذ، حيث تراوحت كمية الجرعة التي تم حقنها 0.2-0.25 ml، تم استخدام قانون التخفيف لتحضير التركيز 60 mg / kg : C1 × V1 = C2 × V2 ومن ثم تم حساب الجرعة المناسبة لحقنها في الجرذ.

الكشف عن المواد الفعالة Detection of phytochemical

تم الاعتماد على دراسة Tripathi and Mishra (2015) للكشف عن محتوى اوراق نبات الشيح [9]

التقدير النوعي للمركبات الكيميائية لأوراق نبات الشيح Qualitative estimation of phytochemical compounds

الكشف عن الفلافونيدات Flavonoids: اختبار H2SO4 يعامل جزء من المستخلص بحمض الكبريتيك المركز فيلاحظ تكون اللون البرتقالي.

اختبار Shinoda: يتم اخذ 1 ml من المستخلص ويضاف عليه قطع من المغنيسيوم و قطرات من حمض HCL الذي يشكل لون وردي محمر او بني او اخضر او ازرق في دقائق قليلة.

الكشف عن البروتينات Proteins: اختبار Biuret يتم اضافة 1% من هيدروكسيد الصوديوم NaoH الى 1 ml من المستخلص و يضاف عليه نقاط قليلة من كبريتات النحاس CUSO4 بتركيز 1%، قد يتكون لون أزرق/ أرجواني أو بنفسجي / وردي مما يدل على وجوده.

الكشف عن الراسين Resin: يتم اذابة 1 ml من المستخلص في الأسيتون ثم يضاف 1 ml من الماء المقطر فيدل التعكر على وجود الراسين.

الكشف عن التانيتات Tannins: يضاف 2 ml من كلوريد الحديديك $Fecl_3$ بتركيز 5% إلى 1 ml من المستخلص، ظهور لون أزرق داكن أو أسود مخضر يدل على وجوده.

الكشف عن المنشطات Steroid: اختبار Salvoski يذاب 1 ml من العينة في 1 ml من الكلوروفورم و كمية متساوية من حمض H_2SO_4 المركز فيتشكل اللون الأحمر المزرق إلى اللون الكرزي في طبقة الكلوروفورم .

الكشف عن الصابونين Saponins : اختبار الرغوة Foam يضاف كمية صغيرة من المستخلص مع الماء ويخلط لملاحظة وجود الرغوة، او اختبار بيكربونات الصوديوم يضاف قطرات قليلة من بيكربونات الصوديوم الى 1 ml من المستخلص فيتشكل تركيب يشبه العسل مما يدل على وجوده .

الكشف عن النشا Starch: يمزج 1 ml من محلول اليود في 1 ml من المستخلص يدل تكون اللون الأزرق إلى وجود النشا في المستخلص.

الكشف عن الجلايكوسيد Glycosides: يضاف 1 ml من المستخلص الى 1 ml من كلوريد الحديديك (5%)، وكذلك يضاف كمية متساوية من الحمض الخليك acetic acid، ثم قطرات قليلة من حمض الكبريتيك الى الخليط،

حيث ان ظهور اللون الأزرق المخضر يدل على وجود الجلايكوسيدات.

الكشف عن الفينولات phenols : يتم معاملة 1 ml من المستخلص بقطرات قليلة من محلول كلوريد الحديديك FeCl3 يعطي لون أخضر مزرق.

الكشف عن التربينات Terpinoids: يأخذ 1 ml من المستخلص ويضاف اليه 2 ml من الكلوروفورم و 3 ml من حمض الكبريتيك المركز فعندما يتشكل راسب بني محمر دليل على وجوده.

التقدير الكمي للمركبات الكيميائية لأوراق نبات الشيح Quantitative estimation of phytochemical compounds

تحديد محتوى الفينول الكلي

تم تقدير إجمالي محتوى الفينول باستخدام مقياس يعتمد على كاشف Folin-Ciocalteau كما هو موصوف في دراسة McDonald *et al* (2001) [10]

، تمت إضافة 20 µg من كاشف Folin-Ciocalteau (مخفف بعشرة أضعاف) و200 µg ماء مقطر إلى كل 10 µg من المستخلص وحضن في درجة حرارة الغرفة لمدة 3دقائق ثم اضيف 100 µg من Na_2CO_3 تركيزه 20%، تم ترك الخليط لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة بعد ذلك سجل امتصاص اللوني عند 765 nm باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي، تم استخدام محاليل حمض الجاليك الميثانولي20، 40 ، 60 ، 80 ، 100 µg/ml كمعيار لمنحنى المعايرة، تم الحصول على إجمالي قيمة الفينول من معادلة الانحدار:

$y = 0.0136x + 0.0239$، و تم التعبير عنها كمكافئ حمض الجاليك mg/g.

منحنى المعايرة:

اضيفت 100 ml من حمض الجاليك الى 50 ml ماء مقطر، ثم حضرت منه سلسلة عيارية بتراكيز (20%،40%،60%،80%،100%)، وتم قياس الامتصاصية عند طول موجي 765 nm [12,11,3] .

تحديد محتوى الفلافونويدات

تم تحديد الفلافونويد في المستخلص عن طريق التحلل الحمضي بطريقة القياس الطيفي، استخدمت طريقة القياس اللوني لكلوريد الألومنيوم لقياس محتوى الفلافونويد، وذلك بإضافة محلول المستخلص للتراكيز المستخدمة باحجام متساوية حيث اضيف 1 ml من كلوريد الالمونيوم بتركيز 2% إلى 1 ml من العينة وحضنت لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة وتم قياس امتصاص خليط التفاعل عند 420 nm باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer، وتم استخدام كيرسيتين كمعيار لمنحنى المعايرة، تم التعبير عن محتويات الفلافونويد من معادلة الانحدار: $y= 0.0083x + 0.0056$ [13].

منحنى المعايرة:

أخذت 100 mg من الكيرستين واضيف اليه 50 ml ميثانول ثم حضرت سلسلة عيارية من المحلول حسب التراكيز(20%, 40%, 60%, 80%, 100%) واستكمل الحجم لكل تركيز بالميثانول وبعد ذلك تم قياس الامتصاصية عند طول موجي 420 nm.

تجميع عينات الدم Collect blood

بعد تخدير حيوانات التجربة بثنائي ايثايل الإيثر diethyl ether تم سحب الدم من القلب مباشرة بحجم 5 ml، وقسمت العينة الى جزئيين، الجزء الأول تم وضعه في أنابيب تحتوي على مادة مانعة التجلط EDTA لغرض اجراء فيلم الدم peripheral blood film (PBF) و تعداد الدم الكامل

قياس تعداد الدم الكامل (CBC) Complete blood count

استخدم جهاز خاص بعد الدم الكامل Automated haematology analyser لقياس المؤشرات الدموية والتي تشمل كلا من كريات الدم الحمراء RBCs، خلايا الدم البيضاء WBCs، الصفائح الدموية Platelets، الهيموجلوبين (HGB)، مستوى خضاب الدم (MCV)، متوسط تركيز الهيموجلوبين في الخلية (MCHC)، متوسط تركيز الهيموجلوبين (MCH)، عرض توزيع كريات الدم الحمراء (RDW)، وتحليل نسبة حجم خلايا المتراصة (PCV).

اختبار فيلم الدم Blood film

يهدف هذا الاختبار للكشف عن الاشكال غير طبيعية لكريات الدم الحمراء تحت المجهر والتي تظهر عادتا في حالات التشوهات في حجم كرية أو الشكل الظاهري أو محتوى الهيموجلوبيولين أو تظهر هذه التشوهات على شكل اجسام في كريات الدم الحمراء وقد تم استخدام طريقة Lewis and Dacie (1995) لتحضير عينات الدم [15,14]

- تم وضع مسحة دموية طازجة (fresh) على شريحة زجاجية نظيفة وجافة.
- تم تثبيت المسحة الدموية باستخدام كحول الميثانول (98%) لمدة 3 دقائق.
- بعد التخلص من الكحول الزائد تم غمر الشريحة في الصبغة جيمزا لمدة 5 دقائق.
- اضيف المحلول المنظم (phosphate buffer) او محلول ملحي (normal saline) على الصبغة لمدة 7د.
- ثم غسلت الشرائح بالماء الجاري وجففت لتصبح جاهزة للفحص.

التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم تحليل البيانات احصائيا باستخدام البرنامج الإحصائي Statistical Package Social Sciences (SPSS) اصدار 20 وتم حساب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري، وكذلك تم استخدام اختبار التوزيع الطبيعي Shapiro wilk test واعتمادا على اساس نتائج هذا الاختبار تم اجراء اختبار تحليل التباين للبيانات one way ANOVA للبيانات التي تتبع التوزيع الطبيعي حيث تم اجراء اختبار LSD لمعرفة الفروق المعنوية بين المجاميع قيد الدراسة بينما تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis test لتحليل البيانات التي تتبع التوزيع الغير طبيعي، وتم حساب الفروق المعنوية ذات الدلالة الاحصائية عند قيم الاحتمالية $P<0.05$.

3. النتائج والمناقشة

أولا: المواد الفعالة لمستخلص نبات الشيح phytochemical of AHA extract

تقدير الكمية الخام لمستخلص نبات الشيح quantity crude estimation of AHA

بينت نتائج الاستخلاص بأن كمية المستخلص الخام الميثانولي لنبات الشيح بلغت نسبته 22% كما مبين في جدول (4-1) وتعتبر هذه الكمية اكثر من التي تحصل عليها في دراسة Aissaoui et Belaid (2019) [21] الذي قدرت كميته (8.80 ٪) ويمكن تفسير هذا التباين الى اختلاف مكان وفصل الحصاد للنبات وايضا يرجع ذلك الاختلاف في نسب المتحصل عليها بين الدراسات إلى كمية وزن الجاف المستخدم للاستخلاص، ممايدل كلما زاد الوزن الجاف للشيح زادت نسبة المستخلص الحاصل عليه للمستخلص الخام كما بينت دراسة

Benmeziane *et al* (2023) الذي استخدم اكثر من نوع من المذيبات فتحصل على 12.2% من المستخلص الخام للمذيب الميثانولي لكمية بلغت 10جم من الوزن الجاف[22] .

جدول (1) يوضح كمية المستخلص الخام الميثانولي لنبات الشيح

اسم النبات	العائلة	الجزء المستخدم	المستخلص الخام الميثانولي
Artemisia herba-alba	**Asteraceae**	**Leaf**	**%22**

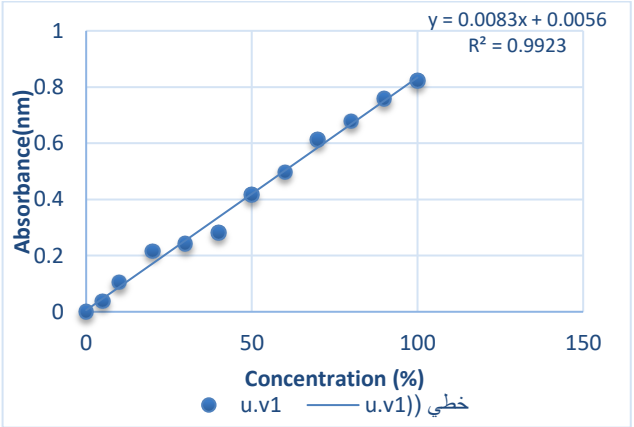
نتائج اختبارات التحليل النوعي للمواد الفعالة Qualitative analysis

اظهرت نتائج الاختبار النوعي للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات الشيح بأنه يحتوي على مركبات الفلافونويدات و الفينولات و بروتينات و تربينات وتانينات وصابونين والجلايكوسيدات ولا يحتوي على الراسين والنشا وهذه النتائج تتفق مع دراسة Dif et al [13] التي اوضحت بان المذيب الميثانولي افضل من المذيب الإيثانول والهكسان في استخلاص المواد الفعالة وكذلك مع دراسة Radi *et al* [16].

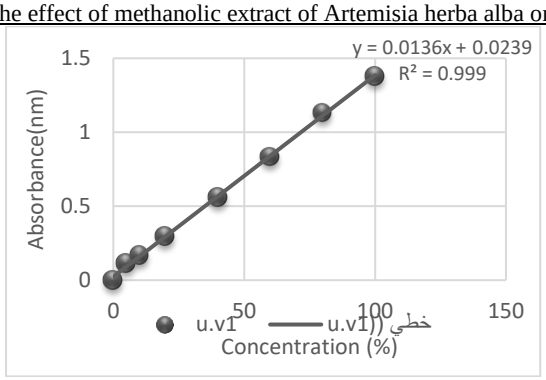
صورة (3) تبين الاختبار النوعي

نتائج التقدير الكمي للمواد المعالة لمستخلص اوراق نبات الشيح Quantitative analysis

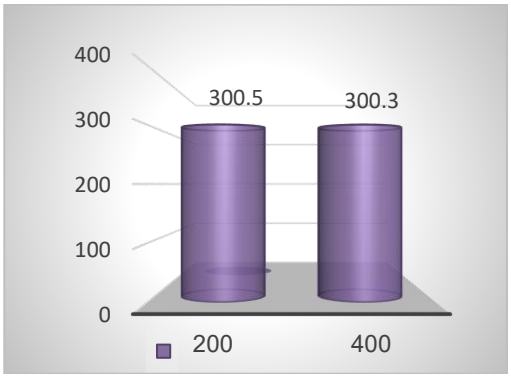
تم تقييم كمية الفلافونويدات والفينولات للمستخلص الميثانولي لنبات الشيح لكلا التركيزين 200 و400 ml/mg، وجد بأن كمية الفلافونويدات متساوية في كلا التركيزين كما هو مبين في الشكل (4-3)، بينما لوحظ بان هناك فروقات كبيرة في نسب الفينولات بينهما حيث كانت نسبته عالية في التركيز400 ml/mg عن 200 ml/mg كما هو مبين في الشكل (4-4) وهذه النتيجة تتفق مع دراسة 24/6/2025 في ان نبات الشيح غني جدا بالفلافونويدات اكثر من الفينولات.



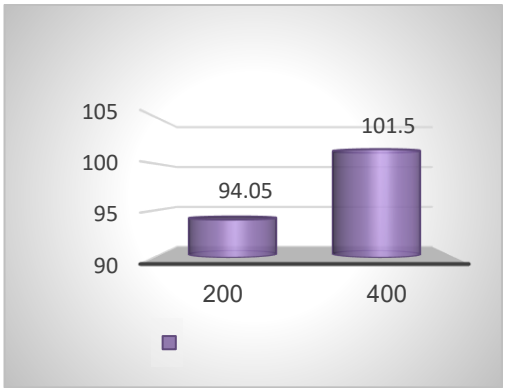
شكل (1) يوضح المنحنى القياسي للكيرستين للفلاقونويدات



شكل(2) يوضح المنحنى القياسي لحمض الجاليك للقينول



شكل (3) يوضح كمية الفلافونويدات لمستخلص نبات الشيح



شكل (4) يوضح كمية الفينولات لمستخلص نبات الشيح

ثانيا: تأثير مستخلص نبات الشيح على المؤشرات الدموية Effects of AHA on haematological Parameters

بينت نتائج هذه الدراسة بأن عقار السيكلوفوسفومايد قام باستحداث المرض في المجموعة الضابطة الموجبة لإناث الجرذان فقد أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في مستوى كل من HB، WBC، MCV، MCH، MCHC، PCV مقارنة بالمجموعة الضابطة السالبة NC عند مستوى الدلالة الاحصائية ($p<0.05$) وهذه النتائج اتفقت مع دراسة الغانمي (2014)، من جهة اخرى لم تكن هناك اي تغيرات في قيم كل من PLT و RDW في المجموعة الضابطة الموجبة PC مقارنة بالمجموعة الضابطة السالبة NC، ومن الجدير بالذكر عند التجريع بمستخلص نبات الشيح في كلا المجموعتين المعالجة بالتركيزين (200mg/kg، 400mg/kg) PC+AHA ادى الي حدوث ارتفاع معنوي في قيم كل من HB، MCHC، PCV، RBC، WBC مقارنة بالمجموعة الضابطة الموجبة PC وهذا يرجع لدور المستخلص في تحسين مستويات بعض المؤشرات الدموية والتي تتفق مع دراسة الغانمي (2014).

ويمكن ان يعود ذلك الى خصائص المركبات الفعالة التي يحتويها نبات الشيح كالأرتيميسين والمركبات الفلافونية Flavonoids التي لها دور حيوي مهم بتقليل خطر الإصابة بالعدوى وتعمل كعوامل مضادة للالتهابات، وتعد خلايا

البيضاء المتعادلة من الخطوط الدفاعية الاولية في الدفاع عن الجسم ضد الميكروبات ولها خاصية الالتهام للأجسام الغريبة وكذلك لها دور في الاستجابة المناعية و الالتهابية، في حين وجد هناك فرق معنوي قليل في قيم MCH عند التجريع بالشيح في كلا التركيزين المستخدمين (200mg/kg، 400mg/kg) PC+AHA عند مقارنته بالمجموعة الضابطة الموجبة، بالإضافة الى ذلك لوحظ وجود ارتفاع معنوي احصائي في قيم كل من الصفائح الدموية PLT و RDW في مجموعة المعالجة (200mg/kg) PC+AHA و PC+AHA (400mg/kg) مقارنة بالمجموعة الضابطة الموجبة PC.

وقد وجد عند المعاملة بالمستخلص اوراق الشيح فقط للمجموعة (200mg/kg) normal+AHA و (400mg/kg) normal+AHA ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم الحمراء مقارنة بالمجموعة الضابطة السالبة وجاءت هذه النتيجةمتفقة مع دراسة [17] و [1] والتي بينت ان التجريع بالمستخلص المائي لنبات الشيح قد سبب ارتفاعا معنويا في مستوى عدد كريات الدم الحمراء وكذلك عند المجموعة المعالجة (200mg/kg، 400mg/kg) بسبب ما يحتويه مستخلص نبات الشيح من مواد مضادات للاكسدة والتي تقوم بدورها بحماية كريات الدم الحمراء من الاضرار الناتجة عن ارتفاع الجذور الحرة والذي تؤدي بدورها الى خفض مستويات lipid peroxide في اغشية كريات الدم الحمر فيؤدي الى انخفاض قابليتها على التحلل (Rao *et al*., 2003). بينما وجد هناك انخفاض معنوي لكل من MCH،MCV، MCHC، وارتفاع معنوي في كل من RBC، PCV ، PLT ، في حين لم يتم ملاحظة وجود أي فروقات معنوية لكل من HB، WBC، RDW للمجموعة (200mg/kg) normal+AHA و (400mg/kg) normal+AHA مقارنة بالمجموعة الضابطة السالبة NC ومع ذلك يبين الجدول (4-7) بان تركيز المستخلص 400 ml/mg ادى إلى حدوث تغيرات على المؤشرات الدموية اكثر من تركيز 200 ml/mg وهذا يدل على ان نبات الشيح له سمية خلوية على الجسم وكلما زاد التركيز زاد سميته.

جدول (2) يبين قيم المتوسط الحسابي و الانحراف المعياري للمؤشرات الدموية

	negative control	positive control	normal+ AHA (200mg/ kg)	normal+ AHA (400mg/ kg)	PC+A HA (200mg /kg)	PC+A HA (400mg /kg)
RBC L×10⁶0	4.9±0 .58	*4.95±0.61 c,d,e,f	*8.48±0. 58 a,b,f	*8.78±0. 22 a, b,f	*7.89±0 .41 a,b	*7.38±0 . 8 a,b,c,d
HB g/dl) (	14.6± 1.5	*8.58±1.05a ,c,d,e,f	*13.14±0 .55 a,b,e	*13.32±0 .50 a,b,e	*14.90± 0.93 b,c,d,f	*12.9± 0.7 a,b,e
MC V (fl)	85.7± 3.3	*65.02±7.46 a,f	*64.80±1 .50 a,f	*61.44±2 .11 a,f	*64.7±3 . a,f	*73.70± 2.72 a,b,c,d,e
MC H (Pg)	28.7± 1.2	*17.44±1.04 a,c,d,e	*15.98±. 95 a,b,e,f	*15.26±. 56 a,b,e,f	*18.8±. 47 a,b,c,d	*17.84± 1.35 a,c,d
MC HC (g\dl)	32.0± 1.2	*24.74±1.04 a,e	*24.64±. 56 a,e,f	*24.68±. 61 a,e,f	*28.3±1 .01 a,b,c,d,e ,f	*26.06± 1.59 a,c,e,d
PCV %	46.6± 3.3	*32.24±5.4 a,c,d,e,f	*54.40±4 .04 a,b	*53.98±2 .15 a,b	*48.8±5 .51 b	*53.58± 5.52 a,b
WB C x10⁹ L	7.66± 0.6	1.52±0.31 a,c,d,e,f	6.76±0.3 b	6.82±2.0 B	8.4±3.2 8 b	8.7±2.9 B
PLT x10⁹ L	233.0 ±65	*279.3±130 d	*563.0±2 14 a	*689.88± 386 a,b,f	395.4±3 86	*376.0± 283 D
RD W	14.8± 2.0	*16.32±2.19 c,d,e	*13.14±1 .83 b,e,f	*13.04±0 .73 b,e,f	*19.34± 0.82 b,c,d,f	*16.26± 2.07 c,d,e

تدل العلامة * على وجود فروق معنوية عند مستوى الدالة ($p<0.05$)، وكل رمز يدل على مجموعة معينة لها فروق معنوية مقارنة بباقي المجاميع a = normal+AHA (200mg/kg) = c ،positive control = b ،negative control = F ، PC+AHA (200mg/kg) = e ، normal+AHA (400mg/kg) = d ، PC+AHA (400mg/kg)

ثالثا: تأثير مستخلص نبات الشيح على فيلم الدم Effective extract AHA on blood film

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود اشكال غير طبيعية لكريات الدم الحمراء وذلك من خلال اجراء فحص الشكل الظاهري لكريات الدم الحمراء لكل المجاميع المعاملة، حيث وجد بأن المجموعة المعاملة بالشيح 200 ml/mg تحتوي اغلبها على اشكال طبيعية normal (N) من كريات الدم الحمراء وعلى عدد محدود من الخلايا الدمعية Tear drop (Td) المستهدفة Target cell (T) وايضا خلايا صغيرة الحجم Microcytes (M) وحلزونية Rouleax (R) والخلايا البيضاوية Ovalocytes (O) وخلايا ذات الشكل المتراص (A) Agglutinationوتعتبر هذه الخلايا اقل تواجدا في هذه المجموعه مقارنة بالمجموعة المعاملة بالشيح تركيزه 400 ml/mg التي تحتوي على خلايا فموية Stomatocytosis(St) ومتجزئة Schistocytosis (Sc) وخلايا دمعية Td بعدد محدود جدا وبينما تحتوي على عدد كبيرمن الخلايا غير منتظمة الشكل Ac.

كذلك لوحظ وجود اشكال مختلفة عديدة من كريات الدم الحمراء في المجموعة الضابطة الموجبة PC منها خلايا دمعية Td ومتراصة Ag وحلزونية Rouleax(R) بشكل كبير وفموية St وذات نتوءات Burr cell (B) واجسام هينز Heinz bodies (H) واجسام Pappenheimer (P) وخلايا قرنية Keratocytes (K) واجسام جولي Howell jolly (Hj).

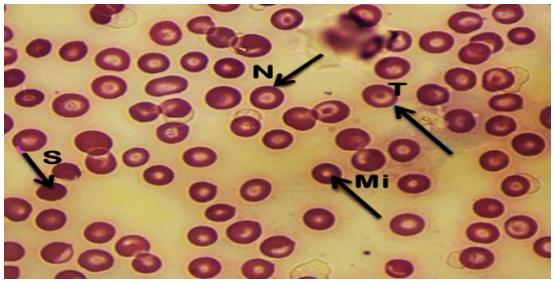
بينما في المجموعة المعالجة بالشيح تركيز200 ml/mg وجد بها خلايا بيضاوية O ودمعية Td وفموية St وكروية Spherocytosis (S) ومتجزئة Sc وخلايا هدفية Target cell (T)، وفي المقابل فإن المجموعة المعالجة بالشيح تركيز400 ml/mg فكانت تحتوي على اعداد قليلة من الخلايا الهدفية T والدمعية Td وايضا خلايا صغيرة الحجم Microcytes (M).

تكون كريات الدم الحمراء عرضة بشكل خاص للأكسدة بواسطة الجذور الحرة للأكسجين، لأنها غنية جدًا بالجزيئات التي تحتوي على الحديد Fe^{+2} ، حيث وجد أن بعض المركبات تعبر غشاء كريات الدم الحمراء ويتفاعل بسرعة مع الهيموجلوبين، مما يؤدي إلى توليد أنواع الجذور الحرة شديدة التفاعل مثل الجذر الهيدروكسيلي، ويبدو أن حدوث التشوه لشكل الكرية الحمراء مرتبط بأكسدة بروتينات الهيم مما يؤدي إلى ارتباطها المتبادل بالبروتينات الهيكلية أي السبكترين والأكتين (actin and spectrin)، ويمكن منعه من التأكسد تمامًا من خلال تعريض كريات الدم الحمراء مسبقا لمضادات الأكسدة والتي بدورها تحميها من ضرر الجذور الحرة [18].

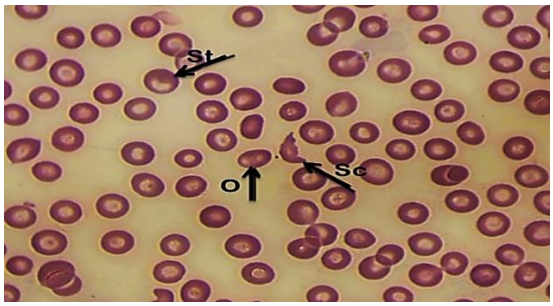
ويعزى سبب وجود اشكال غير طبيعية لكريات الدم الحمراء في المجموعة الضابطة الموجبة الى مقدرة العقار CP على انتاج الجذور الحره التي بدورها لها تاثير على الدهون والبروتينات لأغشية كريات الدم الحمراء مما يؤدي الي تكوين اشكال غير طبيعية، ومن الجدير بالذكر ان مستلخص نبات الشيح كان له دور فعال في تقليل التغيرات غير الطبيعية في اشكال كريات الدم الحمراء، وهذا ما اكدته دراسة Stuart & Nash [19] حيث تعتبر هشاشية غشاء الخلية أحد العوامل المحددة لتشوه كريات الدم الحمراء و إن انخفاض مرونة الغشاءهو مسؤول عن زيادة الهشاشة التناضحية لكريات الدم الحمراء المعرضة للأكسدة، يعمل مستخلص نبات الشيح على جعل الهيكل

الخلوي لكريات الدم الحمراء أكثر مقاومة للضرر الميكانيكي من خلال حماية كريات الدم الحمراء من الضرر التأكسدي. وذلك ما اكدته دراسة Suboh *et al* [18] الذي قام بدراسة تأثير سبع انواع من النباتات الطبية من بينها نبات الشيح AHA على كريات الدم الحمراء البشرية المعرضة لـ 10 Mm من بيروكسيد الهيدروجين، حيث لم يظهر اي تأثير على انتاج الألانين ومن ثم لم يتحلل بروتين اغشية الكريات، أي عدم وجود تأثير على قابلية تشوه كريات الدم الحمراء.

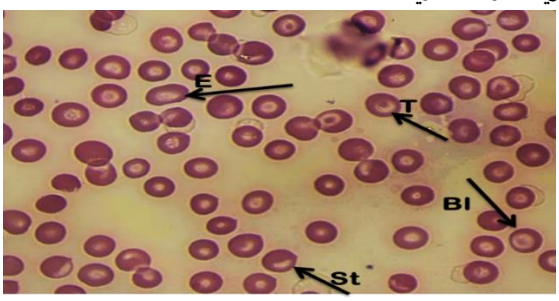
صورة (4) يوضح الأشكال الطبيعية لكريات الدم الحمراء في المجموعة السالبة NC



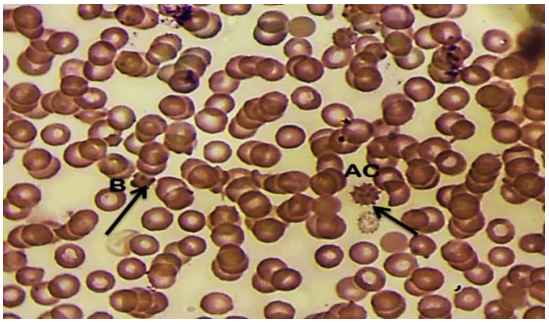
صورة (5) يوضح تباين شكل كريات الدم الحمراء بين الطبيعية N والغير طبيعية منها صغيرة الحجم Mi والكروية S والهدفيةT



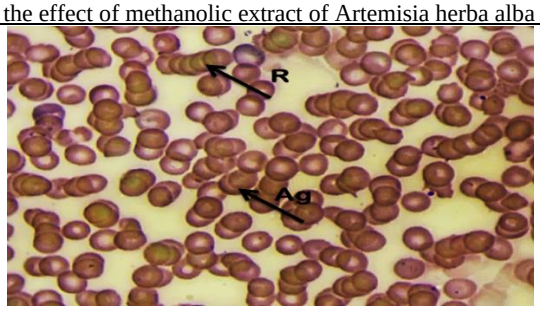
صورة (6) يوضح الاشكال غير طبيعية لكريات الدم الحمراء منها المتجزئة Sc والفموية St والبيضاويةO



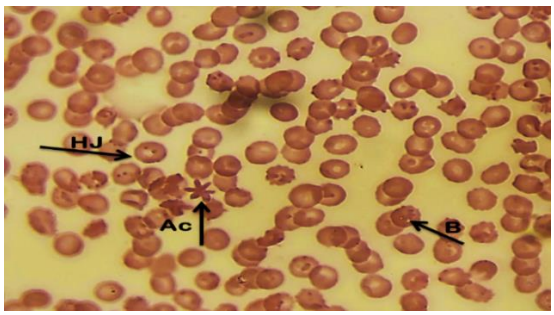
صورة (7) يوضح خلايا فقاعية Bl وبيضاوية كبيرة E وفموية St ومستهدفة T



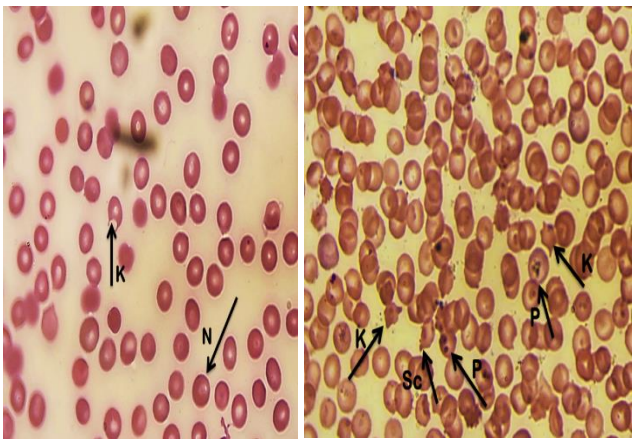
صورة (8) يوضح شكل الخلايا غير منتظمة الشكل Ac وخلايا ذات النتوءات B والتي ظهرت في كل من مجموعة N400 و CP



صورة (9) يوضح الخلايا الحلزونية R والمتراصة Ag والتي ظهرت بعدد قليل في مجموعة N200 وبكمية كبيرة في مجموعة N400 و CP



صورة (10) يوضح تباين في شكل الكريات الحمراء (Poikilocysis) للخلايا ذات نتوءات منتظمة B و خلايا ذات نتوءات غير منتظمة Ac واجسام جولي Hjفي المجموعة CP



صورة (11) يوضح تباين في شكل كريات دم الحمراء بين خلايا المتجزئة Sc والقرنية K واجسام بانهومر P

الخلاصة Conclusion

استنتج من خلال نتائج هذه الدراسة بان معاملة إناث الجردان بمستخلص أوراق نبات الشيح فقط عند تركيز 200ملجم/مل وكذلك تركيز 400ملجم/مل أدى الى حدوث تغيرات في بعض المؤشرات الدموية وخاصة عند التركيز الأعلى، كما اظهرت النتائج ان لمستخلص أوراق نبات الشيح دور علاجي على إناث الجرذان البيضاء المستحثة بعقار السيكلوفوسفومايد نتيجة لإنخفاض أو رجوع قيم المؤشرات الدموية وانخفاض التشوهات في شكل كريات الدم الحمراء الى المستوى الطبيعي مقارنة بالمجموعة الضابطة السالبة NC فقد كان التركيز الاعلى 400 ملجم/مل ذو قدرة علاجية افضل من تركيز 200ملجم/مل.

وبذلك أكدت الدراسة الحالية أن لنبات الشيح خصائص مضادة للأكسدة في الكائن الحي الناتجة عن سمية عقار السيكلوفوسفومايد في الجرذان، ويمكن اعتبار الجرعة (400 ملغ / كجم) من مستخلص الشيح جرعة مثالية ومناسبة من حيث تقليل التأثير السام للعقار حيث بينت هذه الدراسة بان كلما زاد التركيز زادت فاعلية العلاجية.

قائمة المراجع

[1] الغانمي، دعاء علي حمد (2014) تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الشيح على بعض المعايير الوظيفية و النسيجية لبعض اعضاء ذكور الجرذ المستحث بداء السكر مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء.

[2] جودة، أحمد سرحان كاظم (2013) تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل(Eugenia caryophyllus) على كبد وكلية ذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار السايكلوفوسفامايد دراسة وظيفية ونسجية. رسالة ماستر، جمهورية العراق مجلة الجامعة كربلاء-كلية التربية للعلوم الصرفة.

[3] حداء، منال و دعمش، مارية (2017). المساهمة في الدراسة التشريحية والمحتوى الكيميائي وفعالية مستخلص أوراق نبات العرفج Rhanterium Suaveolens Desf. رسالة ماستر، مجلة الجامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي -كلية علوم الطبيعة والحياة قسم البيولوجيا.

[4] هادي، ابراهيم و عبد الحافظ، زينة طه (2010) تأثير مستخلصات نبات السقومانيا Scammonia Convolvulus في الانقسام الميتوزي، جامعة بغداد، مجلة Diyala journal for pure sciences ، العدد 7 January 2011.

[5] Abdallah, E. M., Hsouna, A. B., & Al-Khalifa, K. S. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. edible fruit from Sudan. African Journal of Biotechnology, 11(52), 11535-11542.

[6]Ogino MH, Tadi P. Cyclophosphamide. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 24 Jan 2020. PMID: 31971727.

[7] Alshibly, N. M. Y. (2014). Effect of Artemisia absinthium L. on genotoxicity on mice bone marrow cells.

[8] Erhirhie, E. O., Ekene, N. E., & Ajaghaku, D. L. (2014). Guidelines on dosage calculation and stock solution preparation in experimental animals' studies.

[9] Tripathi, I. P., & Mishra, C. (2015). Phytochemical screening of some medicinal plants of Chitrakoot region. *Indian Journal of Applied Research*, *5*(12), 56-60.

[10] McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry*, *73*(1), 73-84.

[11] Nguekouo, P. T., Kuate, D., Kengne, A. P. N., Woumbo, C. Y., Tekou, F. A., & Oben, J. E. (2018). Effect of boiling and roasting on the antidiabetic activity of Abelmoschus esculentus (Okra) fruits and seeds in type 2 diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*, *42*(6), e12669.

[12] Barku, V. Y. A., Opoku-Boahen, Y., Owusu-Ansah, E., & Mensah, E. F. (2013). Antioxidant activity and the estimation of total phenolic and flavonoid contents of the root extract of Amaranthus spinosus

[13] Dif, M. M., Toumi, F. B., Boukaaza, H., Mokaddem, F., Benyahia, M., & Bouazza, S. (2018). Phenolic content and antioxidant activity of Artemisia herba-alba, A medicinal plant from Algerian arid zone. *Phototherapies*, *16*(2), 91.

[14] KT, N., Prasad, K., & Singh, B. M. K. (2022). Analysis of red blood cells from peripheral blood smear images for anemia detection: a methodological review. *Medical & biological engineering & computing*, *60*(9), 2445-2462.

[15] Adewoyin, A. S., & Nwogoh, B. (2014). Peripheral blood film - a review. *Annals of Ibadan postgraduate medicine*, *12*(2), 71–79

[16] Radi, N. H., Maleek, M. I., & Sharhan, M. H (2020) ARTEMISIA EXTRACT REDUCE CHROMOSOME ABERRATIONS OF BONE MARROWSTEM CELLS ON TEMOZOLOMIDE TREATED MICE. *Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation*, *32*, 3.

[17] Afolayan, A. J., & Sunmonu, T. O. (2013). Protective role of Artemisia afra aqueous extract on tissue antioxidant defense systems in streptozotocin-induced diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *10*(1), 15-20.

[18] Suboh, S. M., Bilto, Y. Y., & Aburjai, T. A. (2004). Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *18*(4), 280-284

[19] Stuart, J., & Nash, G. B. (1990). Red cell deformability and haematological disorders. *Blood reviews*, *4*(3), 141-147.

[20] Somaweera, H., Lai, G. C., Blackeye, R., Littlejohn, B., Kirksey, J., Aguirre, R. M, & Hintz, M. M. (2013). Ethanolic extracts of California mugwort (Artemisia douglasiana Besser) are cytotoxic against normal and cancerous human cells. *Journal of herbal medicine*, *3*(2), 47-51.

[21] R. **Aissaoui**, Sarra Belaid, S. Nadeau (2019) Estimation des forces de réaction durant la marche chez l'hémiparétique dans le milieu écologique Published in Neurophysiologies Clinique

[22] Benmeziane, S., Haddadin, M. S., & Al-Domi, H. A. (2023). Extraction yield, phytochemicals analysis, and certain in vitro biological activities of Artemisia herba alba extracts. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, *19*(2), 125-141.