تأثير مستخلصات أوراق وثمار نبات السبحبح *Melia azedarach* على بعض الفطريات المرضية المعزولة من الإنسان

صالح عيسى محمد و هديل احمد العامري

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: 22 / 10 /٢٠٠٧ ، تاريخ القبول: 26 / 2 / ٢٠٠8)

الملخص

أوضحت دراسة تاثير المستخلصات المائية لاوراق وثمار السبحبح *Melia azedarach* L. في نمو الفطر *Aspergillus niger* و *A. fumigatus* المعزول من مسحات الاذن الخارجية المصابة بداء الرشاشيات، تفوق المستخلص المائي للثمار على مستخلص الاوراق حيث كانت نسبة التثبيط ١٠٠% عند التركيز ٣٠ و ٢٥ ملغم/سم^3 على نمو الفطر *A. fumigatus* وعند التركيز ٣٠ ملغم/سم^3 في نمو الفطر *A. niger* ، وان اقل نسبة تثبيط كانت ١١,١% و ١١,٧% للفطر *A. niger* و *A.fumigatus* على التوالي عند التركيز ٥ ملغم/سم^3، وكانت هناك فروقات معنوية بين جميع المعاملات ومعاملة المقارنة، في حين بلغت نسبة التثبيط في مستخلص الاوراق ١٠٠% للفطر *A. fumigatus* عند التركيز ٣٠ ملغم/سم^3 وكان التاثير اقل في نمو الفطر *A. niger* حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط ٦٤,٢% عند نفس التركيز اعلاه.

الكلمات الدالة : السبحبح *Melia azedarach*، داء رشاشيات الاذن Ear Aspergillosis

المقدمة

تصاب الاذن الخارجية بامراض عدة ومنها التهاب الاذن الفطري Otomycosis وهو إنتان فطري لمجرى السمع الظاهر ويقسم الى داء الرشاشيات Aspergillosis المتسبب عن بعض انواع الفطر *Aspergillus* وداء المبيضات Candidiasis المتسبب عن بعض انواع شبه الخميرة *Candida* (١). ينتشر داء رشاشيات الاذن على نطاق واسع في العالم (٢) خاصة المناطق الحارة والرطبة والمناطق الاستوائية وشبه الاستوائية (٣)، وهو من الامراض الانتهازية حيث ان مسببات المرض موجودة بصورة طبيعية داخل قناة الاذن وتصبح مرضية وتصيب الجسم في حالة الضعف المناعي الناتج عن حالات كثيرة منها الاصابة بمختلفة انواع السرطانات ومرض الايدز AIDS واستخدام المضادات الحيوية لفترات طويلة(٤).

العامل المسبب عدة انواع من الجنس *Aspergillus* خاصة *A. niger* الاكثر تكراراً ثم *A. flavus* و *A. fumigatus* (٣). يكون الالتهاب حاداً او تحت حاد ويتصف بحكة Itching وتقشر Scaling والشعور بوجود شيء داخل الاذن والم وافراز سوائل يؤدي الى تكوين كتلة سطحية متكونة من الخلايا الطلائية المتقشرة والخيوط الفطرية وفي الحالات الشديدة قد يحدث التهاب الاذن النخري وقد ينتشر ليصيب اجزاء الاذن الاخرى كالاذن الوسطى والعظم الناتئ خلف الاذن (٥).

ان لقابلية بعض النباتات في معالجة بعض الالتهابات اصبح شائعاً حالياً (٦) ولان قسماً من الادوية المحضرة كيمياوياً حاوية على مركبات قد تتراكم في اعضاء الجسم المختلفة مسبباً لها اضراراً جانبية (٧) وبدأت الدراسات حول النباتات الطبية للتعرف على مدى تاثيرها على الاحياء المجهرية المرضية (٨)، ومن هذه النباتات اشجار السبحبح *Melia azedarach* ويتبع العائلة Meliaceae (٩). الذي تحتوي اوراقه وثماره على عدة مواد فعالة يعد الازداراختين Azadirachtin اكثرها فعالية (١٠) وله عدة اشكال منها الازداراختين A و B و C (١١) وكذلك Limonids وتمثل مجموعات متجانسة من Tetranortriterpenoids (١٢) بالاضافة الى Melianone و Melianol و Linoleic acid و Oleic acid و Triterpenoids و Carotenoids و Steroids و Phenolic comounds و Ketones و Nimbin و Salannin و Meliantriol (١٣)، يستخدم زيت السبحبح كوقود ومصدر كحولي ومضاد للديدان ومطهراً وهو سام للانسان والحيوان، والثمار الناضجة اكثر سمية للحيوانات اللبونة من الثمار الخضر غير الناضجة، وتستخدم الاوراق كمبيدات حشرية ومضادات للفايروسات والحلم والفطريات المحمولة في التربة (١٣) (١٤) وكمضادات للالتهابات والاورام (١٥). وللمستخلص الكحولي لقلف النبات تاثير في خلايا اللوكيميا (١٦). ان الهدف من هذه الدراسة هو اختبار كفاءة المستخلصات المائية والكحولية لأوراق وثمار نبات السبحبح في تثبيط بعض الفطريات المسببة لداء رشاشيات الاذن الجارجية.

المواد وطرائق العمل

جمعت اوراق وثمار السبحبح في شهر تشرين الاول2006 من حدائق جامعة الموصل، تم تصنيفه في المعشب التابع لكلية العلوم/قسم علوم الحياة، وحضرت مستخلصاتها المائية حسب طريقة (٨) وذلك بمزج ٤٠ غم من النموذج النباتي مع ١٦٠ سم^3 من الماء المقطر ثم سحق النموذج بواسطة جفنة خزفية للاوراق و Homogenizer للثمار وهرس باستخدام الخلاط الكهربائي Blender تحت التبريد، ترك المزيج بدرجة ٤م لمدة ٢٤ ساعة لغرض النقع، رشح بعدها خلال عدة طبقات من الشاش واكمل الترشيح بواسطة قمع بوخنر باستخدام ورق ترشيح Whatman No. 2 تحت التفريغ بذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام للنبات، جفف باستخدام جهاز التجفيد Lyophilizer تحت التبريد والضغط المخلخل تحت درجة حرارة –٥٠م، حفظت العينات في عبوات بلاستيكية محكمة الغلق تحت التجميد لحين الاستعمال، حضر تركيز قياسي من هذا المستخلص باذابة ١ غم من المسحوق المجفف في٥ سم^3 من الماء المقطر حيث تم الحصول على التركيز ٢٠٠ ملغم/سم^3 وعقم باستخدام مرشح ساتيز Seitz filters الحاوي على مرشح غشائي Membrane filter بقطر ٠,٢٢مايكرومتر تحت التفريغ واستخدم لتحضير التخافيف المستخدمة في البحث. استخدم نوعين من الفطر *Aspergillus* هما *A.*

niger و *A.fumigatus* المعزولين من مسحات الاذن الخارجية المصابة بداء رشاشيات الاذن Ear Aspergillosis وذلك بتعقيم الاذن الخارجية بممسحة قطنية مشبعة بالايثانول ٧٠% وتركت لتجف ثم اخذت مسحة من الاذن بممسحة قطنية معقمة وزرعت على وسط Sabouraud's Glucose Agar (SGA) وحضنت العينات عند درجة حرارة ٢٧م لمدة اسبوعين، شخصت العزلات الفطرية حسب المفاتيح التصنيفية المعتمدة (١٧) (١٨).

اجري اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية لاوراق وثمار السبحبح على نمو الفطريات المدروسة باضافة احجام محددة من التركيز القياسي من كل مستخلص معقم الى احجام محددة من الوسط الغذائي SGA المعقم قبل تصلبه، وبعد مزجها جيداً تم الحصول على التراكيز (٥، ١٠، ١٥، ٢٠، ٢٥ و٣٠) ملغم/سم^3 ثم صبت في اطباق زجاجية بقطر ٩ سم وبعد تصلب الوسط اخذ قرص من حافة مستعمرة فطرية بعمر اسبوع واحد بواسطة ثاقب الفلين Cork porer بقطر ٠,٥ سم ووضع في مركز الطبق في ظروف معقمة، حضنت الاطباق بوضع مقلوب بدرجة ٢٧م لمدة اسبوع، اخذت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية بثلاث مكررات لكل تركيز، حللت النتائج احصائياً باستخدام اختبار دنكن لتحديد اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥.

النتائج والمناقشة

وضحت نتائج اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلص اوراق وثمار السبحبح اختلاف التاثير التثبيطي باختلاف التراكيز والجزء النباتي المستخدم في نمو الفطر *A. niger* و *A. fumigatus* حيث اظهر مستخلص اوراق السبحبح (جدول ١) تاثيراً معنوياً في نمو الفطر *A. niger* عند التركيز ٣٠ ملغم/سم^3 اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط ٦٤,٢% يليه التركيز ٢٥ ملغم/سم^3 بنسبة تثبيط مئوية ٥٧,١% ثم التركيز ٢٠ ملغم/سم^3 بنسبة ٣٨,٥% يليه التركيز ١٥ ملغم/سم^3 حيث كانت نسبة التثبيط المئوية ٢٧,١٤% وأخيراً كانت نسبة التثبيط المئوية ٢١,٤% و ١٤,٢% عند التركيزين ١٠ و ٥ ملغم/سم^3 على التوالي. وكان نمو الفطر *A. fumigatus* أكثر تأثراً بمستخلص الاوراق اذ بلغت نسبة التثبيط ١٠٠% عند التركيز ٣٠ ملغم/سم^3 يليه التركيز ٢٥ ملغم/سم^3 اذ بلغت النسبة ٨٠% ثم ٦٨% عند التركيز ٢٠ ملغم/سم^3 وكان التركيزان ١٠ و ٥ ملغم/سم^3 اقل التراكيز تأثيراً اذ بلغت نسبة التثبيط المئوية ٣٦%و ٢٥,٣% على التوالي.

جدول (١) : تأثير المستخلص المائي لاوراق نبات السبحبح *M. azedarach* على نمو الفطر *A. niger* و *A. fumigatus*

	A. niger		*A. fumigatus*	
	متوسط اقطار	%	متوسط اقطار	%

التركيز ملغم/سم^3	*A. niger* متوسط اقطار المستعمرات الفطرية (سم)*	*A. niger* % للتثبيط**	*A. fumigatus* متوسط اقطار المستعمرات الفطرية (سم)*	*A. fumigatus* % للتثبيط**
٥	٦	١٤,٢ و	٥,٦	٢٥,٣ و
١٠	٥,٥	٢١,٤ هـ	٤,٨	٣٦ هـ
١٥	٥,١	٢٧,١ د	٣,٥	٥٣,٣ د
٢٠	٤,٣	٣٨,٥ ج	٢,٤	٦٨ ج
٢٥	٣	٥٧,١ ب	١,٥	٨٠ ب
٣٠	٢,٥	٦٤,٢ أ	٠	١٠٠ أ
مقارنة	٧	٠ ز	٧,٥	٠ ز

* متوسط الاقطار للمستعمرات الفطرية شمل ثلاث مكررات كل مكرر طبق واحد.

** القيم التي تشترك بحرف ابجدي واحد او اكثر ليس بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥

في حين كان مستخلص ثمار السبحبح اكثر تاثيراً من مستخلص الاوراق في نمو كلا الفطرين حيث كانت نسبة التثبيط المئوية ١٠٠% عند التركيز ٣٠ و ٢٥ ملغم/سم^3 للفطر *A. fumigatus* يليه التركيز ٢٠ ملغم/سم^3 حيث بلغت النسبة ٨٥,٨% ثم ٦٠% عند التركيز ١٥ ملغم/سم^3 و ١٥,٢% عند التركيز ١٥ ملغم/سم^3 واخيراً كانت نسبة التثبيط ١١,٧% عند التركيز ٥ ملغم/سم^3، في حين اختلفت النسب المئوية للتثبيط في نمو الفطر *A. niger* حيث بلغت ١٠٠% عند التركيز ٣٠ ملغم/سم^3 و ٩٦,٦% عند التركيز ٢٥ ملغم/سم^3 وكانت نسبة التثبيط ٨٨,٨% عند التركيز ٢٠ ملغم/سم^3 يليه التركيز ١٥ ملغم/سم^3 حيث كانت النسبة ٦١,١% واخيراً كانت النسبة ١١,١% عند التركيزين ١٠ و ٥ ملغم/سم^3 ولم يكن هناك فرقاً معنوياً بينهما (جدول ٢).

جدول (٢) : تأثير المستخلص المائي لثمار نبات السبحبح *M. azedarach* على نمو الفطر *A. niger* و *A. fumigatus*

التركيز ملغم/سم^3	*A. niger* متوسط اقطار المستعمرات الفطرية (سم)*	*A. niger* % للتثبيط**	*A. fumigatus* متوسط اقطار المستعمرات الفطرية (سم)*	*A. fumigatus* % للتثبيط**
٥	٨	١١,١ هـ	٧,٥	١١,٧ هـ
١٠	٨	١١,١ هـ	٧,٢	١٥,٢ د
١٥	٣,٥	٦١,١ د	٣,٤	٦٠ ج
٢٠	١	٨٨,٨ ج	١,٢	٨٥,٨ ب
٢٥	٠,٣	٩٦,٦ ب	٠	١٠٠ أ
٣٠	٠	١٠٠ أ	٠	١٠٠ أ
مقارنة	٩	٠ و	٨,٥	٠ و

* متوسط الاقطار للمستعمرات الفطرية شمل ثلاث مكررات كل مكرر طبق واحد.

** القيم التي تشترك بحرف ابجدي واحد او اكثر ليس بينها فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥

تتفق هذه النتائج مع ما ذكره (١٩) من ان اوراق السبحبح لها فعالية في علاج الامراض الجلدية، ولزيته فعاليته عالية ضد الفطريات *A. fumigatus* و *A. flavus* و *A. niger* و *Cryptococcus neoformans* و *Candida albicans* (٢٠)، وتعتبر مضاداً للملاريا (٢١)، وان مادة Hydroxycoumarin و Vanillin المعزولة من بذور

السبحبح لها تاثير قوي على الفطر *Fusarium verticillioides* بتركيز ٥% (٢٢)، ويؤثر زيت السبحبح في الفطريات التي تصيب جسم الانسان مثل *Candida* و *Geotrichum* (١٤) وبكتريا *Salmonella typhae* و *S. aureus* (٢٣)، وله فاعلية ضد الفايروسات (٢٤).

اوضح (٢٥) تاثير مستخلصات اجزاء مختلفة من السبحبح على فطريات *Trichophyton* و *Microsporium* و *Epidermophyton* بالاضافة لتثبيطه عدد من البكتريا مثل *Klebsiella pneumoniae* و *Streptococcus mutans*، ودرس (٢٦) تاثير هذه المستخلصات على احياء مجهرية مختلفة مثل *C. albicans* و *Giardia lamblia* و *Cryptosporidium blastocystis* و *Citrobacter* و *Pseudomonas*. كما بينت (٢٧) ان للمستخلص المائي لثمار السبحبح تاثير في محتوى البروتين الكلي لطفيل *Leishmania tropica* بنسبة ٦١% وكمية الكربوهيدرات والاحماض النووية الكلية و DNA و RNA بنسب مختلفة بالاضافة لاحداثه تثبيطاً في فعالية انزيمات GOT و GPT و DHFH بنسب مختلفة للكائن الحي نفسه.

المصادر

1-T. Yamazaki; H. Kume; S. Murase; E. Yamashita and M. Arisawa. Epidemiology of Visceral Mycology : Analysis of data in Annual of the Pathological Autopsy cases in Japan. Jclin Microbiol., (1999), 37 (6) : 1732 – 1738.

2-J. G. Collee; A. G. Fraser; B. P. Marmion and A. Simmons. Practical Medical Microbiology, 4th ed., Churchill Livingstone, (1996), 695 – 717.

3-J. W. Rippon. Medical Mycology,Textbook of Microbiology, 21st ed. Philadelphia, W. B. Saunders, (1979), 717 – 784.

4-M. Prescott; P. Harley and A. Klein. Microbiology, 3rd ed. W. M. C. Brown Publishers, USA.**,** (1996).

5- زهير عبد الوهاب. الموجز الارشادي عن الانف والاذن والحنجرة، المركز العربي للوثائق والمطبوعات الصحية، أكمل، الكويت، (١٩٩٤) ص ٥١ – ٨٦.

6-M. M. Cowan. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, (1999), 12 (4) : 564 – 582.

7-M. Blumenthal; W. R. Busse and A. Goldberg. The complete German commission monographs : Therapeutic guide to herbal medicines. Austin : American botanical council and Boston : Integrative medicine communication, (1998), 219 – 220.

8-J.L. Rios; M.C. Recio and A. Villar. Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean Area. J. Ethnopharmacol., (1987), 21: 139-152.

9- داؤد محمود داؤد. تصنيف اشجار الغابات، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل،(١٩٧٩) ص ٤٢٩

10- H. Rembold and E. S. Garica. Azadirachtin inhibits *Trypanosoma cruzi* of it triatomine host, Rhodinus prolixus. Naturwissens chaften, (1987), 76 : 77 – 78.

11- R. Nironjan; K. VanKata Krishnon and K. M. Madyastha. 11-EPI Azadiracht-H from *Azadirachta indica*, Phytochemistry, (1995), 42 : 561 – 562.

12- S. U. Tianyum and S. Mulla. Ovicidal activity of neem products (Azadirachtin) against *Culex trasalis* and *Culex quinquefasciatus*, J. Am. Mosq. Cont. Assoc., (1998), 19 : 204 – 209.

13- H. Schmutterer. The neem tree, *Azadirachta indica* A-Juss. And other meliaceous plants. VCH, Weinheim , New York, (1995), 605 – 642.

14- M. Khan and S. Wassilew W. Gited by Schmutterer, H. and Ascher, K. R. S. (1997), 1987.

15- W. C. Evans. Trease and evans, Pharmacognosy, 14th ed., W. B. Saunders company, (1997), 490 – 491.

16- H. Itokawa and Q. S. Zhi. Cytotoxic limmnoids and tetranortriterpenoids from *Melia azedarach*. Chem. And Pharmac. Bull. Tokyo, (1995), 43 : 1171 – 1175.

17- G.S. de Hoog and J. Guarro. Atlas of clinical fungi, Universitat Rovira Virgil, rues, Spain., (1995), 720.

18- J.I. Pitt and A.D. Hocking. Fungi and Food Spoilage, 2nd ed. Academic Press, Sydney, (1997), 593.

19- M. I. Shinwari and M. A. Khan. Indigenous use of medicinal trees and shrubs of Margalla Hills National Park, Islamabad. Pak. J. Forest., (1998), 48 (1-4) : 63 – 90.

20- M. J. Abad; M. Ansuategui and P. Bermejo. Active antifungal substances from natural sources, ARKIVOC, (2007), vii : 116 – 145.

21- S. Schwikkard and F. R. Vantteerden. Antimalarial activity of plant metabolites, Nat. Prod. Rep. J. Royal Society of Chemistry, (2002), 19, 675 – 692.

22- M. C. Carpinella; C. G. Ferrayoli and S. M. Palacios. Antifungal Synergistic Effect of Scopoletin, a Hydroxycoumarin Isolated from *Melia azedarach* L. Fruits, J. Agric. Food Chem., (2005), 53 (8), 2922 - 2927.

23- B. H. Schneider. The effects of neem leaf extracts on *Epilachna varivestis* and *Staphylococcus aureus*. In abstracts of the 3rd international neem conference, Nairobi, Kenya, (1996), pp. 73.

24- F. R. Ruskin. Neem- A tree for solving global problems. National academy Press, Washington, (1992), D. C., pp. 31 – 70

25- K. Biswas; I. Chattopadhyay; R. K. Banerjee and U. Bandyopadhyay. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*),Current Science, (2002), 82 (11) : 1336 – 1345.

26- L. Pironi. "Relationship Between Intestinal Permeability and Inflammatory Activity in Asymptomatic Patients with Crohn's Disease," Dig. Dis. Sci., (1990), 35 (5) : 582 – 588.

٢٧- شيماء عبد الله احمد مديد الجبوري. تاثير المستخلصات المائية لنباتي الدفلة *Nerium oleander* والسبحبح *Melia azedarach* على نمو وايض طفيليات اللشمانيا الاستوائية امامية السوط *Leishmania tropica* promastigotes خارج الجسم الحي، رسالة ماجستير،جامعة الموصل، (٢٠٠٥)، كلية العلوم، العراق.

Effect of Leaves and Fruits Extracts of *Melia azedarach* Against Some Pathogenic Fungi Isolated from Human

Saleh Easa Mohammad , Hadeel Ahmed AL-Ameri

Department of Biology/College of Science/University of Mosul/ Mosul/iRAQ

(Received 22 / 10 / 2007, Accepted 26 / 2 / 2008)

Abstract

Study of the effect of aqueous extract of leaves and fruits of *Melia azedarach* against growth of *Aspergillus niger* and *A. fumigatus* isolated from external ear swabs had been infected with Aspergillosis, Showed that aqueous extract of fruits was more effective than its leaves extracts, Which its inhibition percent was 100% with concentrations 30 and 25 mg/cm^3 on growth of *A. fumigatus* and on concentration 30 mg/cm^3 on *A. niger*, It was also showed that minimum inhibition concentration (MIC) was 11.1% and 11.7% on *A. niger* and *A. fumigatus* respectively in concentration 5 mg/cm^3, The study also showed significant differences between all treatments and control, The inhibition percent in leaves extract was 100% on *A. fumigatus* with concentration 30 mg/cm^3 while the effect were less on fungal growth against *A. niger* which the inhibition percent was 64.2% with the same concentration above