التاثير التثبيطي للمستخلصات المائية لجذور نبات السوس على نمو خميرة المبيضة البيضاء (*Candida albicans*) بالمقارنة مع المضادات الفطرية

سجى مهدي جابر العابدي
كلية الطب البيطري /فرع الاحياء المجهرية /جامعة القادسية

The inhibitory effect of watery extracts of Glycyrrhiza Glabra roots on the growth of *Candida albicans* in comparison with antifungal antibiotics

Saja Mahdi Jabir
Microbiology and parasitological branch /Qadisiya university

Abstracts

This study was made to evaluate the watery extract both hot and cold of Glycyrrhiza Glabra root on the growing of *Candida albicans* comparing with Nystatin and Clotrimazol .both cold and hot extract shows inhibitory effect with significant value on ($P<0.05$) on the growing of *Candida albicans* comparing with distal water and Nystatin in which the yeast was resistant to that drug . The hot extract in concentration (200 mg/ml) more effective than Clotrimazole , while the cold watery extract did not show the same effect . The hot watery extract was more effective than the cold one .The average of inhibition zone for the first extract on the concentration 50,100,150,200 mg/ml were 11.2,14.6,17.1,21.5 mm, while the average of inhibition zone for the second extract at the same concentrations as following 9.3,21.1,16.6,17.7 mm ,the results shows that the watery extract of Glycyrrhiza Glabra root can be use as an antifungal in the infection with *Candida albicans*

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لبيان تاثير المستخلص المائي الحار والمائي البارد لجذور نبات السوس على نمو خميرة المبيضة البيضاء بالمقارنة مع المضادين الفطريين Nystatin و Clotrimazole ، اظهر المستخلصان المائي الحار والمائي البارد لجذور نبات السوس تاثيرا تثبيطيا معنويا ($P<0.05$) على نمو خميرة المبيضة البيضاء بالمقارنة مع الماء المقطر والمضاد الفطري Nystatin والذي كانت الخميرة مقاومة له. كما كان المستخلص المائي الحار (بتركيز ٢٠٠ ملغم/مل) اكفا معنويا ($P<0.05$) من المضاد الفطري Clotrimazole، في حين لم يظهر التركيز نفسه للمستخلص المائي البارد مثل هذا الفرق المعنوي في التاثير .كان المستخلص المائي الحار اكفا معنويا ($P<0.05$) من المستخلص المائي البارد في تثبيط نمو الخميرة .اذ كان معدل قطر التثبيط للمستخلص الاول عند التراكيز 50 و 100 و 150 و 200

ملغم/مل كالاتي 11.2 و 14.6 و 17.1 و 21.5 ملم على التوالي ، بينما كانت اقطار التثبيط للمستخلص الثاني وعند نفس التراكيز كالاتي : 9.3 و 12.1 و 16.6 و 17.7 ملم على التوالي كما كانت العلاقة طردية بين قطر التثبيط وتركيز المستخلص لكلا النوعين من المستخلصات .نستنتج من هذه الدراسة ان المستخلصات المائية لجذور نبات السوس يمكن ان تكون بديلا للمضادات الفطرية في علاج الاصابات المسببة عن خميرة المبيضة البيضاء.

المقدمة

يعد نبات السوس من النباتات ذات الاهمية الطبية الكبيرة اذ استخدم في علاج العديد من الامراض التي يتعرض لها الانسان مثل الامراض الفطرية الجلدية وخصوصا في المملكة المتحدة وفي بعض البلدان الاوربية الاخر[1] وعلاج قرحة الفم والمعدة وفي علاج التهاب الكبد الفايروسي المزمن [2] ويحتوي نبات السوس على عوامل مضادة لاكسدة الدهون وهو من النباتات ذات الفعالية الاستروجينية والقيمة الغذائية العالية وان المادة الفعاله في السوس هي الكلسيرايزين ،وثبت ان عرق السوس يحتوي على مواد سكرية واملاح معدنية من اهمها البوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم والفوسفات ومواد صابونية تسبب الرغوة عند صب عصيره ويحتوي كذلك على زيت طيار[3.4] .ففي عام (1955- 1960) تم فصل مركب سيترويدي اطلق عليه اسم حامض الجلسرييزين glycyrrhizin من جذور نبات عرق السوس وقد تبين ان هذا الحمض يشبه في بنيته الكيميائية مركب الكورتيزون المعروف الا انه يتميز عنه بخلوه تماما من الاثار الجانبية المعروفة عند التداوي بالكورتيزون خصوصا لمدة طويلة [5] .

تعد خميرة المبيضة البيضاء *Candida albicans* من الفطريات الممرضة والتي تسبب اصابات جلدية وجهازية لامتلاكها عدد من عوامل الضراوة مثل انبوب الانبات وانتاجها للانزيمات الحالة والسموم فضلا عن قدرتها العالية على الالتصاق بانواع مختلفة من الخلايا كما تتعرض الاجزاء الخارجية للجسم مثل الجلد والشعر والاظافر للاصابة بهذه الخميرة لامتلاكها لنوعين من الانزيمات هي الانزيم المحلل للبروتين (Proteinase) والانزيم المحلل للكيراتين (Keratinase) اللذان يساعدانها على اصابة الطبقة الخارجية المتقرنة [6.7] وتحدث الاصابة في الاجزاء الدافئة والرطبة مثل منطقة الابط وتحت الثديين وبين الاصابع وتحدث الاصابة بشكل حويصلات ثم تتحول الى بقع محددة حمراء داكنة تصاحبها حكة وحرقة مع تقشر في المنطقة [8.9] .تستخدم العديد من المضادات الحيوية Antibiotics لعلاج الاصابات المسببة عن هذه الاحياء المجهرية الا انه في الاونه الاخيرة وبسبب كثرة الاستخدام العشوائي لهذه المضادات ، انتشرت العديد من العزلات المقاومة لاغلب المضادات ،فضلا عن مسؤولية الاخيرة عن احداث العديد من التاثيرات الجانبية سيما اذا استخدمت بجرع عالية غير صحيحة .ويتجه العالم في الوقت الحاضر الى استخدام بدائل عن هذه المضادات كعلاجات ضد مايكروبية متمثلة بالنواتج الطبيعية المستخلصة من العديد من النباتات لما تحتويه من مواد فعالة كالقلويدات والفينولات [10.11] .ويعد العراق من بين الدول التي ينتشر فيها استعمال النباتات الطبية العشبية المتنوعة لفعاليتها ضد الاحياء المجهرية المرضية والتي من الممكن اقامة بحوث وتجارب على هذه النباتات لذا اجريت الدراسة الحالية الى التحري عن الفعالية المضادة لخميرة المبيضة البيضاء لمستخلصات جذور نبات السوس المائية في الاطباق الزرعية.

المواد و طرائق العمل

تم الحصول على جذور نبات السوس من الاسواق المحلية في مدينة الديوانية ، وقد تم تنظيفها من الاتربة العالقة بها ثم طحنت باستخدام المطحنة الكهربائية تمهيدا لتحضير المستخلصات قيد الدراسة منها.
اعتمدت طريقة Hernanez وجماعته [12] في تحضير المستخلصات المائية لجذور نبات السوس اذ تم اخذ 10 غم من المسحوق النباتي الجاف ومزجه مع 200 مل من الماء المقطر البارد باستعمال الخلاط الكهربائي وترك لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعدها رشح الخليط باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق بعد ذلك طرد مركزيا بسرعة 3000 دوره /دقيقة لمدة 10 دقائق ، ومن ثم رشح المستخلص باستخدام ورق الترشيح للحصول على محلول رائق ،جفف المستخلص باستخدام الفرن الكهربائي بدرجة حراره 40 °م وحفظ الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال وبنفس الطريقة حضر المستخلص المائي الحار باستثناء استبدل الماء البارد بالماء المغلي.
استخدمت (3) عزلات من خميرة المبيضة البيضاء ، تم الحصول عليها من مستشفى الديوانية التعليمي / الديوانية /محافظة القادسية/العراق والمعزولة من حالات مرضية مختلفة شخصت العزلات بحسب ما جاء في (3) و *(13)*ولدراسة الفعالية المضادة للفطريات للمستخلص المائي البارد والحار لجذور نبات السوس استخدمت طريقة الانتشار عبر الاكار لاربع تراكيز متدرجة من المستخلصين المذكورين كلا على حده وهي (50 و 100 و 150 و 200 ملغم/مل) وتم مقارنتها مع الماء المقطر كسيطرة سالبة و Nystatin و Clotrimazole كسيطرة موجبة وتم حساب اقطار تثبيط النمو حول كل حفره معموله في الوسط الزرعي باستخدام المسطرة .

النتائج والمناقشة

اظهر المستخلصان المائي الحار والمائي البارد لجذور نبات السوس تاثيرا تثبيطياً معنويا ($P<0.05$) على نمو خميرة المبيضة البيضاء مع الماء المقطر والمضاد الفطري النستاتين Nystatin (100mg/ml) وقد اظهرت الخميرة مقاومة له لكن بشكل متفاوت وكما موضح في الجدول رقم (١) كما اظهرت النتائج تفوق التركيز ٢٠٠ ملغم/مل للمستخلص المائي الحار لجذور نبات السوس على المضاد الكلوترامازول (10mg/ml) تفوقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في حين لم يظهر التركيز نفسه للمستخلص البارد فروقا معنوية احصائيا مع المضاد الفطري المذكور انفاً.ويتضح ان اختلاف نوع المستخلص كان له الأثر الواضح في تباين ثبيط نمو خميرة المبيضة البيضاء قيد الدراسة.
ويمكن ان يعزى هذا التاثير الى فعالية بعض المركبات التي تدخل في تركيب هذا النبات والتي اثبتت فاعليتها الدوائية في هذا الاتجاه [13] ومنها مركبات Terpenoidsو saponins (Glycyrrhzin، Glycyrrhetinic acid) والكلاكوسيدات (Glycosids) و Flavonoids و Isoflavonoids والكومارين (Coumarin) والسكريات المتعددة (Polysaccharides) والزيوت الطيارة volatile oils) وكما ثبت ان لها دوراً في تثبيط بعض الانواع الفطريه ومنها خميرة المبيضة البيضاء [14] كما ان جذور نبات السوس تحتوي على مركب الـ Glycyrrhizin (GR) الذي اقترحت اهميته في تثبيط خميرة المبيضة البيضاء في الاطباق الزرعية[15] ،كان المستخلص المائي الحار اكفأ معنوياً ($P<0.05$) من المستخلص المائي البارد في تثبيط نمو الخميرة اذ كان معدل قطر تثبيط النمو للمستخلص المائي الحار عند التراكيز (50 و 100 و 150 و 200 ملغم /مل على التوالي) (11.2 و 14.6 و 17.1 و 21.5 ملم على التوالي) ،اما بالنسبة لاقطار التثبيط للمستخلص المائي البارد فكانت النتائج وعند التراكيز المذكوره انفاً (9.3 و 12.1 و 16.6 و 17.7 ملم وعلى التوالي) (الجدول ١) ويلاحظ من النتائج ان معدل قطر التثبيط يزداد بزيادة تركيز المستخلص وهذا التباين في معدلات اقطار التثبيط قد يعزى الى فعالية المركبات الفينولية التي يحتويها النبات التي تعمل على تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الاساسية بتداخلها غير المخصص مع البروتينات

مما يؤدي الى مسخ البروتين ومن ثم عدم قدرة الاحياء المجهرية على الاستمرار بالنمو ، فضلا عن احتواء النبات على حامض الروزمارينك وثنائي التربينات والروزميرسين وكذلك القلويدات والكومارين

وكل هذه المركبات تمتلك فعالية قاتلة للفطريات وذلك لقدرتها على التاثير على الحامض النووي(DNA) للخلية وكذلك لها القدرة على تحطيم الغشاء البلازمي للخلية وتحطيم ما يحويه من بروتينات ودهون [16]، وقد جاءت نتائج هذه الدراسة مقاربة مع Gupta وجماعته [17] في الهند بان المستخلص المائي الحار لجذور نبات السوس له فاعلية تثبيطية عالية ضد الانواع الفطرية ومنها خميرة المبيضة البيضاء .كما اظهر نبات السوس فعلاً مضاداً للفطريات اذ وجد إن لمركب GR المشتق من مستخلص Licorice root أهمية في حماية الفئران المتضررة حرارياً (Thermally injured mice) والفئران المصابة بالإيدز من الخميرة المبيضة البيضاء [18.19].

جدول (١) تاثير المستخلص المائي الحار والمائي البارد لجذور نبات السوس على نمو خميرة المبيضة البيضاء بالمقارنة مع المضادين الفطريين Nystatin و Clotrimazole

تركيز المستخلص (ملغم/مل)		قطر تثبيط نمو خميرة المبيضة البيضاء مقاس بالملم ±الخطا القياسي	
		المستخلص المائي الحار	المستخلص المائي البارد
50		1.6±11.2 A*	1.3±9.3 A
100		1.8±14.6 B	0.8±12.1 B
150		1.2±17.1 C	0.9±16.6 C
200		0.9±21.5	1.4±17.7 C
Nystatin 100 **µg /ml**	تركيز المضاد الفطري	E مقاومة	D مقاومة
Clotrimazole 10 **µg /ml**		2.3±16.7 C	2.3±16.7 C

*الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي تحت مستوى احتمالية (٠.٠٥).

References

1-Winston, David; Steven Maimes (2007). Adaptogens: Herbs for Strength, Stamina, and Stress Relief. Healing Arts Press.

2- Curreli, Francesca; Friedman-Kien, Alvin E.; Flore, Ornella. "Glycyrrhizic acid alters Kaposi sarcoma–associated herpesvirus latency, triggering p53-mediated apoptosis in transformed B lymphocytes" Journal of Clinical Investigation, Vol. 115, Issue 3 (March 1, 2005) 115(3): 642-652 (2005). doi:10.1172/JCI23334.

3-مجيد ،سامي ومحمود،مهند جميل (١٩٨٨). النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي .ط/ ٢ دار الثوره للصحافة والنشر –بغداد ص ٥٠

4-Snow,J.M.(1996).Glycyrrhiza glabra L. Protocol journal of Botanical medicine .1:9-14

5-Licorice (Glycyrrhiza glabra) and DGL (deglyrrhizinated licorice) . Natural standard database web site . Accessed on July 12,2007.

6- Iwata ,K.(1977). Toxins produced by candida albicans .J.Contrib.Microbial .Immunol.4:77-85

7- Negi,M.R;Matsui ,T. and ogawa,H.(1984). Isolation and characterization of protienase from candida albicans substrate specificity .J.Invest .dermatol.83:32-36.

8- Jawetz,E.; Melnick. J.L.; Adelberg ,E.A.; Brooks, G.E.; Butel ,J.S and 12-Ornsor ,L. M.(1987).Review of medical microbiology .17th ed .Middle east .Appleton and lange norwalk ,connection .Los atlos.

9- Nolte ,W.A. (1982). Oral microbiology with basic microbiology and immunology .4th ed .Mosby ,Louis st.,London.

10- Ahmed ,I.; Mehmood ,Z. and Mohammad ,F. (1998) .Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties .J. Enthnopharmacolgy.62:183-193.

11- Brantner , A. and Grein , E.(1994).Antibacterial activity of plant extracts used externally in traditional medicine .J. Enthnopharmacolgy .44 :35-40

12-Hernanez,M.;Lopez,P.Abonal,R.M.;Darias.V;and Arias,A. (1994). Antimicrobial activity of visnea mocanera leaf extrects. J. Ethnopharmacology .41:115-119.

13- Evans ,W.C.(1999).Trease and Evans pharmacognosy .14th ed.W. B. Sounders company Ltd.U.K.PP.612.

14- Motesi.M.L .;Lindesy K.L.;Vanstaden.J.;Jager .A.K.(2003). Screening of traditionally used South Africa plants for antifungal activity against Candida albicans .J .Ethanopharmacol ,86 .PP 235-241.

15- Berghe V.A. and A.J. Vlietinck, 1991. Screening methods for antifungal and antiviral agents from higher plants. Meth Plant Biochem, 6: 47-68.

16- Ammosov .S. and litvinenko. V.I.(2003).Triterpenoids of plants Glycyrrhiza L and Meristotropis fisch.Et Mey genuses (A review).Pharchem J.37.PP:83-94.

17- Gupta, V.K.; Fatima, U. ;Faridi, A.S. ;Negi, K.Shanker, J.K. ;Kumar, N.; Rahuja, S.; Luqman, B.S.;Sis odia, D.; Saikia, M.P. ;Darokar and S.P.(2008). Antimicrobial potential of of Glycyrrhiza glbra roots . Journal of Ethnopharmacology, 116: 377 - 80.

18- Utsunomiya, T.; Kobayashi, M. ; Herndon, D. N. ; Pollard, R. B. and Suzuki, F. (1999). Effect of Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, on *Candida albicans* infection in thermally injured mice. *Clin. Exp. E*

19- Utsunomiya, T.; Kobayashi, M. I to, M.; Pollard, R. B. and Suzuki F. (2000). Glycyrrhizin improves the resistance of MAIDS Mice to opportunistic infection of *Candida albicans* through the modulation of MAIDS-associated type 2 T- cell Responses. *Clinical immunology*, **95**: 145- 155.

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠١٠/١/٤)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠١٠/٦/٦)