الفعالية الضد مايكروبية لمستخلص الحنظل و السذاب و الكركم مختبرياً

نجوى محمد جميل علي ابو مجداد
قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة البصرة

الخلاصـــة

اعدت هذه الدراسة لتقييم كفاءة المستخلصات المائية المحمضة و الايثانولية و البيوتانولية لثلاث نباتات هي الحنظل و السذاب و الكركم تجاه اربع عزلات جرثومية واربع عزلات خميرية وبثلاث تراكيز هي ٥٠٠ملغم / مل ، ٢٥٠ ملغم / مل ، ١٢٥ ملغم / مل، بطريقة الانتشار من الحفر .

حيث اظهرت النتائج ان اعلى معدل لمعدلات اقطار التثبيط وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل كان(٢٥ ملم) للمستخلص المائي المحمض لثمار الحنظل تجاه خميرة الـ Candida albicans و (٤١ ملم) للمستخلص المائي المحمض لاوراق السذاب تجاه الجرثومة الموجبة لملون كرام Staphylococcus aureus. كذلك اجري الكشف التمهيدي عن المركبات الكيميائية الفعالة لجميع المستخلصات النباتية .

و تم استخلاص المركبات الثانوية الفينولية و القلويدية و اختبار فاعليتها تجاه العزلات آنفة الذكر وبالتراكيز التالية : ٢٠٠ ملغم / مل ، ١٠٠ ملغم / مل ، ٥٠ ملغم / مل اذ لم تظهر أي فاعلية تجاه جميع العزلات المختبرة .

فضلاً عن كشف السمية الخلوية للمستخلصات النباتية وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل تجاه كريات الدم الحمراء اذ لم تظهر أي سمية لها .

١-المقدمـة

ان مقاومة الجراثيم والفطريات للمضادات الحيوية تعد من أحداث الحياة المثيرة التي تواجه العالم لاسيما وأنها مستمرة ومتزايدة بصورة تدريجية نظراً لاختفاء مضدات الحياة كسلاح قتال في عالم الطب بسبب المقاومة التي قد تبديها بعض الاحياء المجهرية (Bergstrom وجماعته ، ٢٠٠٤) .

لذا أزداد الأهتمام في السنوات الأخيرة حول امكانية ادخال مركبات طبية ذات منشا نباتي في العقاقير الصيدلانية في اواخر التسعينات اذ وجد (Dahiru وجماعته ، ٢٠٠٦) ان ٨٠ % من سكان العالم يعتمدون على الطب الشعبي التقليدي في علاج العديد من الاصابات السريرية اذ تستخدم العديد من المستخلصات النباتية كمضادات مايكروبية .

وهنالك العديد من الدراسات المسحية حول الفعالية الضد مايكروبية لمستخلصات العديد من النباتات الطبية ومنها نبات الحنظل والسذاب والكركم أذ أشارت الدراسات التي أجريت من قبل (James و Edward , 1985 ؛(١) الموسوي ، ٢٠٠٦ ؛ Policegoudra وجماعته ، ٢٠٠٧ ؛Ratheesh و Helen , 2007) الى الأهمية الطبية لهذه النباتات

في مجال الطب الشعبي لعلاج عدة حالات سريرية منها داء السكري ، الأسقربوط ، السرطان ، أرتفاع نسبة الكولسترول في الدم أو كمضادات فطرية وجرثومية وطفيلية وفايروسية فضلاً عن جوانب علاجية أخرى لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو معرفة التأثير التثبيطي لهذه النباتات تجاه بعض العزلات الجرثومية والخميرية للمستخلصات النباتية للحنظل والكركم والسذاب بأستخدام ثلاث مذيبات مختلفة القطبية وأستخلاص المركبات الفينولية والقلويدية وذلك لبحث أمكانية أدخال مثل هذه المستخلصات في المستحضرات الصيدلانية البشرية لعلاج حالات مرضية منتشرة تسببها مثل هذه العزلات.

٢-المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه الدراسة اربع عزلات خميرية تعود الى أنواع عزلت من مرضى يعانون من أعراض سريرية للإصابة بأمراض الفطار السطحي يراجعون مستشفى الزبير العام وبعض المختبرات للتحليلات المرضية في قضاء الزبير (ابو مجداد ، ٢٠٠٥) اذ شخصت الأنواع□□الفطرية□□بالاعتماد على المرجع (McGinnis ,1980) و كذلك استخدمت اربع من العزلات الجرثومية ثلاثة منها مرجعية و واحدة سريرية التي تم الحصول عليها من جامعة الكويت / كلية العلوم/ قسم علوم الحياة م.م اقبال علي مرهون واجريت الاختبارات التشخيصية التاكيدية عليها في مختبر ابحاث البكتريا – كلية العلوم – جامعة البصرة من قبل م.م منى عبد الامام :

Staphylococcus aureus (NCTC 5671) و Streptococcus pyogenes و Escherichia coli (NCTC 5933) و Klebsiella pneumoniae (ATCC 10031)

١-جمع و تصنيف نباتات الدراسة

جمعت ثماروبذور الحنظل L. colocynthis Citrullus و اوراق السذاب L. Ruta chalepensis من منطقة كرمة علي / محافظة البصرة اما رايزومات الكركم Curcuma longa Roxb. فقد تم الحصول عليها من الاسواق المحلية وصنفت النباتات من قبل الدكتور عبد الرضا اكبر علوان المياح بالاعتماد على (Chakravarty , 1976)

٢- تحضير المستخلصات المائية المحمضة و الايثانولية و البيوتانولية لنباتات الدراسة

حضرت المستخلصات باتباع طريقة Harborne 1984)) والتي وتتلخص بوضع ٢٠ غم من الجزء النباتي المجفف و المطحون في أوعية ورقية Thumbles ثم وضعت في جهاز الإستخلاص Soxhelet extractor بإستخدام ٤٠٠ مل من الماء المحمض ٥٠% حامض الخليك لتحضير المستخلص ولمدة ٢٤ ساعة . بعدها رشح وجفف المستخلص وكررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من الخلاصة النباتية ثم جمعت وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ م°لحين الاستخدام اما المستخلصات الايثانولية٩٥% و البيوتانولية فقد حضرت كما في الطريقة اعلاه باستثناء استبدال المذيب (الماء المحمض ٥٠ %) بالايثانول و البيوتانول في كل مرة .

٣- الكشوفات النوعية للمستخلص المائي المحمض والايثانولي و البيوتانولي لنباتات الدراسة

أجريت عدة كشوفات نوعية للتعرف على المكونات الكيميائية الأساس للمستخلصات المائية و الايثانولية و البيوتانولية لنباتات الدراسة بالاعتماد على Harborn), 1984; Adedayo وجماعته ،٢٠٠١) .

٤- استخلاص المركبات الثانوية

أ-استخلاص المركبات الفينولية

اتبعت طريقة Gayon (1972) حيث وضع ٢٠ غم من المسحوق النباتي في اناء زجاجي واضيف ١٠٠ مل من حامض الخليك٢ % و جرت عملية الاستخلاص بوساطة المكثف العاكس باستخدام حمام مائي بدرجة حرارة لا تتجاوز ٥٠ مْ ولمدة ٨ ساعات ثم رشح المستخلص واضيف له حجم مساو من البروبانول و كمية من كلوريد الصوديوم حتى الاشباع فتكونت طبقتان عزلت الطبقة العليا الحاوية على المركبات الفينولية باستخدام قمع فصل ثم جفف و حفظ المستخلص لحين الاستخدام.

ب- استخلاص المركبات القلويدية

استخلصت المركبات القلويدية حسب طريقة Harborne (1984) اذ حضر المستخلص الكحولي ثم اذيب ٥ مل منه بالايثانول و بعدها اضيف ٣٠ مل من حامض الكبريتيك ٢ % ومن ثم جفف و اضيف له كمية كافية من هيدروكسيد الامونيوم ١٠ % حتى اصبح الاس الهيدروجيني ٩ . بعدها تم استخلاص المحلول بوساطة قمع الفصل ٤ مرات باستخدام ١٠ مل من الكلوروفورم في كل مرة ثم جفف و حفظ المستخلص لحين الاستخدام.

٥ -المسح التمهيدي لمستخلصات نباتات الدراسة و المركبات الفينولية و القلويدية

لأجل التقييم الأولي للمستخلصات و المركبات الفينولية و القلويدية تجاه بعض العزلات الفطرية و الجرثومية خلال الدراسة أستخدمت طريقة الأنتشار في الأكار بوساطة الحفر(Mekbib وجماعته ، ٢٠٠٧) . وباستخدام ثلاث تراكيز هي : ٥٠٠ ملغم / مل، ٢٥٠

ملغم / مل، ١٢٥ ملغم / مل للمستخلصات و ٢٠٠ ملغم / مل و ١٠٠ ملغم / مل و ٥٠ ملغم / مل للمركبات الفينولية و القلويدية وتتلخص الطريقة كما يأتي :-

١- استخدم وسط أگارالسابرود ووسط الأگار المغذي (شركة **Oxoid**) لغرض تنشيط العزلات الفطرية و الجرثومية على التوالي و حضنت الفطريات في درجة حرارة ٢٧ م° ولمدة٣-٥ ايام اما العزلات الجرثومية فقد حضنت في درجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة .

٢- أُخذ شراج ناقل (**Loopful**) من العالق البوغي ذو التركيز ٣ او ٦ ×١٠^٦وحدة تكاثرية / مل المقارن بأنبوبتي مكفرلاند رقم ١ ، ٢ على التوالي بوساطة **Loop** وخطط على الوسط الزرعي ثم تركت الأطباق لمدة ساعة واحدة ليجف العالق

٣- تم عمل حفرتين بقطر ٦ ملم لكل طبق وإستخدام ثاقب فلين معقم (**Cork borer**).

٤- تم اضافة ١٠٠ مايكرو لتر من كل تركيز من المستخلصات و المركبات الفينولية و القلويدية في الحفرة وبإستخدام ماصة دقيقة ذات أغطية معقمة وبحذر شديد لتلافي تناثر المستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي .

٥- حضنت الأطباق بدرجة ٢٧ م°لمدة ٣ أيام للعزلات الفطرية وبدرجة ٣٧ م° لمدة٢٤ ساعة للعزلات الجرثومية وذلك لملاحظة تكون الهالة الشفافة حول الحفرة والتي تمثل قطر منطقة تثبيط النمو مقاسة بالملم .

٦-حساب السمية الخلوية لمستخلصات نباتات الدراسة استخدمت كريات الدم الحمراء للانسان لحساب السمية الخلوية للمستخلصات وذلك طبقاً لطريقة (**Xian-guo** و **Urasella , 1994**) حيث تم تحضير تركيز ٥٠٠ ملغم / مل من محلول الملح الفسيولوجي **phosphate buffer saline** لجميع المستخلصات واستخدم معامل سيطرة موجب يحوي محلول الملح الفسيولوجي فقط و معامل سيطرة سالب (ماء حنفية) ، تم بعدها وضع ٠.٨ مل من كل المستخلصات في انبوبة معقمة واضيف ٠.٢ مل من كريات الدم الحمراء ليصبح الحجم النهائي ١ مل . بعدها حضنت الانابيب في الحاضنة و بدرجة حرارة ٣٧ م ° ولمدة ٣ ساعة بعدها تم ملاحظة التحلل الدموي **Hemolysis** اذ يتم اخذ قطرة من الدم من كل انبوب وتوضع على شريحة زجاجية وتفحص بالمجهر المركب ففي حالة وجود الكريات سليمة يعني لا يوجد تحلل و النتيجة (-) اما اذا لم يتم ملاحظة الكريات و حصول تحلل لها فيعني ان النتيجة(+).

__التحليل الأحصائي__

أجري التحليل الأحصائي للنتائج بأستخدام اختبار تحليل التباين **Analysis of Variance** (الراوي وخلف الله،٢٠٠٠)

٣- النتائج و المناقشة

جدول (1) الكشف الكيميائي التمهيدي لمستخلصات ثمار و بذور الحنظل ومستخلصات الكركم و السذاب

المركبات الفعالة لنباتات الدراسة	مستخلصات ثمار الحنظل			مستخلصات بذور الحنظل			مستخلصات الكركم			مستخلصات السذاب		
	مائي محمض	ايثانولي	بيوتانولي	مائي محمض	ايثانولي	بيوتانولي	مائي محمض	ايثانولي	بيوتانولي	مائي محمض	ايثانولي	بيوتانولي
داله الحامضية	2.5	5	4	3.5	3.7	4	2.5	4	3	2.5	3	4
القلويدات	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
الكلايكوسيدات	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
الفينولات	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
التانينات	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
الصابونينات	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
الفيوكومارينات	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
الكومارينات	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
الفلافونيدات	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
الراتنجات	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-
الاحماض الامينيةَ	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) : وجود المركب الفعال

(-) : عدم وجود المركب الفعال

جدول (2) معدلات اقطار التثبيط مقاسة بالملم لمستخلصات ثمار و بذور الحنظل

مستخلصات ثمار الحنظل																								
التراكيز	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الكحولي								المستخلص البيوتانولي							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
500 ملغم / مل	50	45	50	50	35	23	10	10	20	25	23	20	0	0	12	10	14	10	13	40	0	0	0	0
250 لغم /مل	30	35	47	36	25	18	8	8	13	15	12	15	0	0	8	9	8	9	11	30	0	0	0	0
125 ملغم / مل	25	20	30	30	15	15	0	0	8	10	0	10	0	0	8	9	7	8	9	10	0	0	0	0
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	35	33.3	38.6	39.6	25	18.6	6	6	13.6	16.6	11.6	15	0	0	9.3	12.6	9.6	9	11	26.6	0	0	0	0
مستخلصات بذور الحنظل																								
التراكيز	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الكحولي								المستخلص البيوتانولي							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
500 ملغم / مل	35	30	30	20	0	12	15	13	10	23	10	15	0	16	13	9	13	32	22	20	15	13	20	15
250 لغم /مل	30	28	25	18	0	10	9	10	8	20	8	14	0	14	10	8	8	23	8	18	10	12	11	12
125 ملغم / مل	28	25	20	15	0	8	9	8	0	18	0	8	0	13	8	0	6	12	8	15	8	9	8	7
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	31	27.6	25	17.6	0	10	11	10.3	6	20.3	6	12.3	0	14.3	10.3	5.6	9	22.6	12.6	17.6	11	11.3	13	11.3

- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : *Staphylococcus aureus*= St ، *Streptococcus pyogenes* = Sr ، *Escherichia coli* =E ، *Klebsiella pneumonia*=K
- العزلات الخميرية : *Candida albicans*= Ca ، *Cryptococcus neoformans* =Cr ، *Rhodotorula rubra*=R ، *Trichosporon sp.*=T
- ($p<0.05$)

جدول (3) معدلات اقطار التثبيط مقاسة بالملم لمستخلصات الكركم و السذاب

مستخلصات الكركم																								
التراكيز	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الكحولي								المستخلص البيوتانولي							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
500 ملغم / مل	42	36	25	30	12	8	7	12	12	19	12	8	0	0	0	0	15	12	13	16	13	16	10	12
250 لغم /مل	35	30	15	26	7	0	0	10	10	5	10	0	0	0	0	0	13	10	10	12	10	9	8	7
125 ملغم / مل	30	22	13	20	0	0	0	0	0	12	7	0	0	0	0	0	9	8	10	10	8	7	7	7
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	35.6	29.3	17.6	25.3	6.3	2.6	2.3	7.3	7.3	15.3	9.6	2.6	0	0	0	0	12.3	10	11	12.6	10.3	10.6	11.6	8.6
مستخلصات السذاب																								
التراكيز	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الكحولي								المستخلص البيوتانولي							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
500 ملغم / مل	46	38	25	30	14	8	10	7	10	29	10	0	0	0	8	11	19	25	25	30	18	15	10	10
250 لغم /مل	40	30	20	22	8	0	8	0	8	20	8	0	0	0	6	8	11	12	13	16	15	10	8	8
125 ملغم / مل	37	28	14	20	0	0	0	0	0	15	6	0	0	0	0	0	8	8	8	14	0	0	0	8
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	41	32	19.6	24	7.3	2.6	6	2.3	6	21.3	8	0	0	0	4.6	6.3	12.6	15	15.3	20	11	8.3	6	8.6

- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : *Staphylococcus aureus*= St ، *Streptococcus pyogenes* = Sr ، *Escherichia coli* =E ، *Klebsiella pneumonia*=K
- العزلات الخميرية : *Candida albicans*= Ca ، *Cryptococcus neoformans* =Cr ، *Rhodotorula rubra*=R ، *Trichosporon sp.*=T
- ($p<0.05$)

جدول (4) معدلات اقطار التثبيط مقاسة بالملم للمركبات القلويدية و الفينولية لثمار و بذور الحنظل

ثمار الحنظل

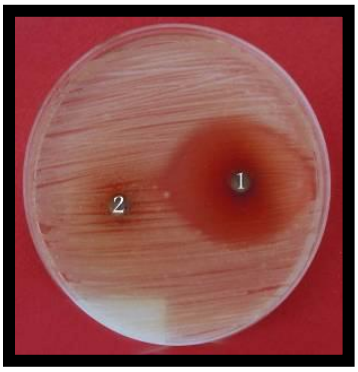
التراكيز	المركبات القلويدية								المركبات الفينولية							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
200ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

بذور الحنظل

التراكيز	المركبات القلويدية								المركبات الفينولية							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
200ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : St= *Staphylococcus aureus* ، Sr= *Streptococcus pyogenes* ، E= *Escherichia coli* ، K= *Klebsiella pneumonia*
- العزلات الخميرية : Ca= *Candida albicans* ، Cr= *Cryptococcus neoformans* ، R= *Rhodotorula rubra* ، T= *Trichosporon sp.*
- ($p<0.05$)

b- Staphylococcus aureus



c- Staphylococcus aureus

جدول (5) معدلات اقطار التثبيط مقاسة بالملم للمركبات القلويدية و الفينولية لرايزومات الكركم و اوراق السذاب

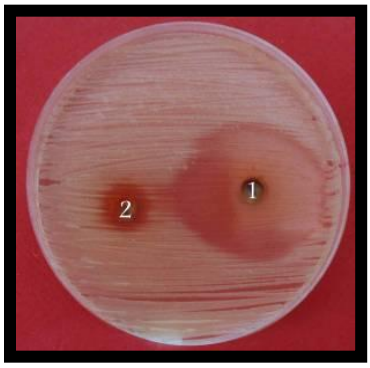
رايزومات الكركم

التراكيز	المركبات القلويدية								المركبات الفينولية							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
200ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

اوراق السذاب

التراكيز	المركبات القلويدية								المركبات الفينولية							
	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
200ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50ملغم / مل	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المعدل لمعدلات اقطار التثبيط	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : St= *Staphylococcus aureus* ، Sr= *Streptococcus pyogenes* ، E= *Escherichia coli* ، K= *Klebsiella pneumonia*
- العزلات الخميرية : Ca= *Candida albicans* ، Cr= *Cryptococcus neoformans* ، R= *Rhodotorula rubra* ، T= *Trichosporon sp.*
- ($p<0.05$)

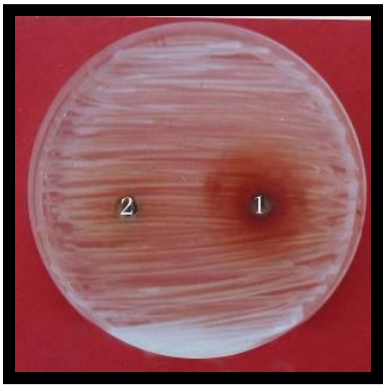


d- Staphylococcus aureus

لوحة (١) : a- تأثير المستخلص المائي المحمض لثمار الحنظل تجاه *Staphylococcus aureus*
b- تأثير المستخلص المائي المحمض لبذور الحنظل تجاه *Staphylococcus aureus*
c- تأثير المستخلص المائي المحمض لأوراق السذاب تجاه *Staphylococcus aureus*
d- تأثير المستخلص المائي المحمض لرايزومات الكركم تجاه Staphylococcus aureus
التركيز (١): ٥٠٠ ملغم/مل
(٢):سيطرة

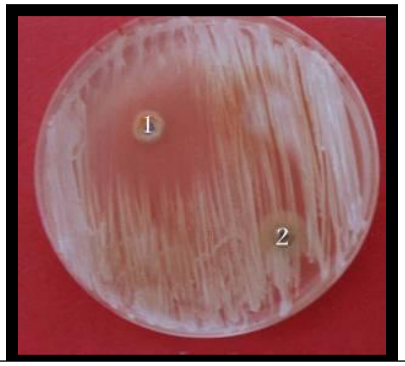
a- *Rhodotorula rubra*

a- Staphylococcus aureus



b- Candida albicans

c- Cryptococcus neoformans



لوحة (٢) : a- تأثير المستخلص البيوتانولي لبذور الحنظل تجاه *Rhodotorula rubra*
b- تأثير المستخلص البيوتانولي لأوراق السذاب تجاه *Candida albicans*
c- تأثير المستخلص البيوتانولي لرايزومات الكركم تجاه *Cryptococcus neoformans*
d- تأثير المستخلص المائي المحمض لثمار الحنظل تجاه *Candida albicans*
التركيز (١): ٥٠٠ ملغم/مل
(٢):سيطرة

اظهرت النتائج في الجدول (١) اختلاف في نوع المركبات الفعالة المستخلصة من النباتات المختبرة وحسب نوع المذيب المستخدم في عملية الاستخلاص اذ لوحظ ان الماء المحمض بحامض الخليك وبنسبة ٥٠ % كان اكثر المذيبات كفاءة في اذابة المركبات الفعالة لنباتات الدراسة مقارنة بالمذيبين الاخريين وفي هذا الصدد اشار (ساجدي و علي ، ١٩٨٧) الى اهمية اختيار المذيب المناسب للاستخلاص اذ ان استخدام خليط من المذيبات مثل الماء و حامض الخليك يزيد من درجة ذوبان المركبات الفعالة و تبعاً لدرجة قطبيتها في هذا الخليط بنسبة اعلى من استخدام احد المذيبين كلاً على حده وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع (الحسن ،٢٠٠٦ ؛(٢) الموسوي ، ٢٠٠٦) حول كفاءة الماء المحمض في الاستخلاص .

كذلك بينت نتائج الدراسة الحالية جدول (٢ ،٣) ولوحة (١ ، ٢) فعالية مستخلصات نباتات الدراسة تجاه العزلات الجرثومية و الخميرية المختبرة وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل اذ اظهر المستخلص المائي المحمض لثمار وبذور نبات الحنظل و اوراق السذاب ورايزومات الكركم فاعلية تثبيطية اذ كان ان اعلى معدل لمعدلات اقطار التثبيط تجاه Staphylococcus aureus كان(٥٠ ،٣٥ ، ٤٦ ،٤٢) ملم على التوالي اما فاعليتها تجاه العزلات الخميرية وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل فقد اظهرت المستخلصات البيوتانولية لبذور نبات الحنظل اعلى معدل لمعدلات اقطار التثبيط(٢٠) ملم تجاه Rhodotorula rubra و لاوراق السذاب (١٨) ملم تجاه Candida albicans ولرايزومات الكركم (١٦) ملم تجاه Cryptococcus neoformans اما ثمار نبات الحنظل فقد اظهر المستخلص المائي المحمض اعلى معدل لاقطار التثبيط (٣٥) تجاه Candida albicans .

ومن النتائج اعلاه يتبين بصورة عامة ان حساسية الجراثيم السالبة لملون كرام اقل من الموجبة ومن نتائج التحليل الاحصائي وأختبار أقل فرق معنوي معدل بين المتوسطات ظهر وجود فروق معنوية وبفارق عالٍ في المعنوية ($p<0.05$) بين المستخلصات النباتية اذ قد يعود السبب الى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي لكلا النوعيين وقد جاءت دراسات عديدة لتؤكد حساسية الجرثومة الموجبة لملون كرام بالمقارنة مع الجرثومة السالبة لملون كرام التي ابدت مقاومة لاغلب المستخلصات النباتية ومنها دراسة (هميم ،٢٠٠٢ ؛ الركابي ، ٢٠٠٣ ؛ Mekbib وجماعته،٢٠٠٧) .

كذلك لوحظ من جدول (٢، ٣) ان العزلات الخميرية اظهرت حساسية اقل تجاه المستخلصات النباتية مقارنةً مع العزلات الجرثومية ويعزى السبب الى

الاختلاف في مكونات الجدار الخلوي بين الخمائر و الجراثيم (الكناني ، ٢٠٠١).
اما فاعلية المستخلصات المائية المحمضة لنباتات الدراسة مقارنةً مع مثيلاتها من المستخلصات الايثانولية و البيوتانولية قد يعزى الى انخفاض الدالة الحامضية للمستخلص بسبب احتوائه على العديد من الحوامض النباتية مثل وجود gallic acid , coumaric acid , benzoic acid في نبات السذاب (Hernandez وجماعته ، ٢٠٠٣) و الـveleric acid, coporic acid في نبات الكركم (Jain وجماعته ، ٢٠٠٧) اما نبات الحنظل فيحتوي hexanoic acid , heptanoic acid, decanoic acid (Rizk و El-Ghazaly, 1995) الذي بين أن الحامضية العالية تعمل على تغيير طبيعة المادة الحية وبخاصة البروتينات في الأغشية الخلوية التي تفقد وظيفتها مما يؤدي الى اتلاف الغشاء الخلوي وقتل الخلية الفطرية و الجرثومية (الصراف ، ١٩٩٢).أو ربما يعزى ذلك الى قابلية المذيب المتمثل بخليط الماء و حامض الخليك على استخلاص أكثر المركبات الفعالة مقارنةً بالمذيبين الاخريين جدول (١) اذ استطاع هذا المذيب على استخلاص المركبات الفلافونيدية في نباتات الدراسة وهي نواتج طبيعية ملونة منتشرة في العديد من النباتات اذ تعود فاعلية هذه المركبات الى احتوائها على مجاميع كاربوكسيد (C=O) ومجموعة او اكثر من مجاميع الهيدروكسيل مما يزيد من تركيز الشحنة السالبة في المستخلص و يصبح اكثر فعالية وبذلك تزداد قدرته التثبيطية(، Red 1995).
كذلك اختبرت الفعالية الضد مايكروبية للمركبات الفينولية و القلويدية الخام لجميع نباتات الدراسة وبثلاث تراكيز هي : ٢٠٠ ملغم / مل ، ١٠٠ ملغم / مل ، ٥٠ ملغم / مل جدول (٥,٤) ولم يلاحظ أي فاعلية تثبيطية تجاه جميع العزلات المختبرة وهذا يتفق مع نتائج التحليل الاحصائي التي اظهرت عدم وجود فروق معنوية في تاثير المركبات القلويدية و الفينولية لنباتات الدراسة على جميع العزلات المختبرة وتحت مستوى احتمالية ($p<0.05$) وقد يعود السبب الى عدم تنقية وتشخيص مركب فينولي او قلويدي واختبار قابليته التثبيطية اذ قد يؤدي تواجد المركبات الفينولية او القلويدية بشكل خام الى تأثير احد المركبات على الاخر بشكل سلبي ((Al-Rawi، 1988).أو ربما يعود السبب إلى انخفاض تركيز المركبات الفينولية و القلويدية المختبرة خلال الدراسة الحالية اذ ان هنالك علاقة طردية بين تاثير المستخلصات و تراكيزها اذ كلما زادت تراكيزها زاد تأثيرها و العكس صحيح (Hammer وجماعته ، ٢٠٠٣).
وتتفق نتائج دراستنا الحالية مع (Memon وجماعته ، ٢٠٠٣ ؛ Han و Yang, 2005 و Mekbib وجماعته،٢٠٠٧) حول الفعالية الضد مايكروبية لمستخلصات نبات الحنظل و الكركم و السذاب على بعض العزلات الخميرية و الجراثيم الموجبة و السالبة لملون كرام

السمية الخلوية

لم تظهرجميع المستخلصات النباتية وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل أي سمية خلوية تجاه كريات الدم الحمراء ، وفي ظل الاستخدام الواسع للنباتات التقليدية كعقاقير مضادة للمايكروبات فان عدم سميتها على خلايا المضيف تصبح ضرورية جداً وخاصةً عند استخدامها لتحضير مواد معقمة أو مطهرة أو دخولها كأحد مكونات العقاقير الكيماوية (WHO , 2000).

Antimicrobial activity of *Citrullus colocynthis* L. , *Ruta chalepensis* L. and *Curcuma longa* Roxb. Extract *In Vitro*

Najwa Mohammed Jameel Ali Abu-Mejdad
Biologydepartment/ College of science / Univrsity of Basrah

Summary

This study was Prepared for evaluate the efficiency of acidic – water , ethanolic and butanolic plant extracts for three medicinal plants are : , *Citrullus colocynthis* L. ,*Ruta chalepensis* L. and *Curcuma longa* Roxb. Against four bacterial and fungal isolates in three concentrations : 500 mg/ml , 250 mg/ml and 125 mg/ml by agar well diffusion assays .

The results showed that the highest inhibition zone diameters (25 mm) in concentration 500 mg/ml for acidic – water extract of fruits *Citrullus colocynthis* L against *Candida albicans*; while the acidic – water extract of leaves *Ruta chalepensis* L appeared highest inhibition zone diameters(41 mm) in the same concentration against gram positive bacteria *Staphylococcus aureus*.

Also it has been detected about active compounds in all plant extracts beside of isolation alkaloids and phenolic compounds and the antimicrobial activity was tested in three concentrations : 200 mg/ml , 100 mg/ ml and 50 mg/ ml , the results showed the alkaloids and phenolic compounds were not appeared any antimicrobial activity .

Apart from cytotoxicity for all plant extracts in concentration 500 mg/ml determined against Red Blood Cells ; and there was no sign toxicity appeared against it .

المصادر العربية

- **ابو مجداد ، نجوى محمد جميل علي. (٢٠٠٥). تقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتية تجاه بعض الفطريات المسببة لداء الفطار السطحي – الجلدي . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة .**
- **الحسن ، سفانة كاظم جاسم .(٢٠٠٦). استخلاص مركبات بروتينية من القواقع *Tibia sp* و *Tibia insula* Chorab – curta pomacea و bridgesii diffusa : Mollusca Gastropoda. رسالة ماجستير – كلية العلوم– جامعة البصرة.**
- **الراوي، خاشع محمود و خلف الله، عبد العزيز محمد (٢٠٠٠). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، جامعة الموصل، دار الكتب للنشر.**
- **الركابي ، رحمن لعيبي جلاب .(٢٠٠٣) . الفعالية الضد مايكروبية و الضد اميبية لمستخلصات بعض النباتات الطبية. رسالة ماجستير – كلية التربية – جامعة البصرة .**
- **ساجدي، عادل جورج وعلي، علاء يحيى محمد (١٩٨٧). الميكروبيولوجي الصناعي (اساسيات التخمرات الصناعية). الجزء الأول. مطبعة جامعة البصرة. ٥٥٢ صفحة.**
- **الصراف، عبد الحسن محمد جواد (١٩٩٢). النشرة الأرشادية في زراعة الكجرات. الهيئة العامة للخدمات الزراعية، وزارة الزراعة. العراق**
- **الكناني، فاضل جبار فرحان (2001). حساسية الفطريات الجلدية والأنتهازية تجاه بعض المستخلصات النباتية الخام المحضرة مختبرياً. رسالة ماجستير- كلية التربية- جامعة البصرة. ٦٥ صفحة.**
- **الموسوي ، علا محمد نور عبدالله .(٢٠٠٦). دراسة الصفات التثبيطية و الكيميائية لمركب Vinblastine المستخلص من نبات *Vinca rosea* في السلالات البكتيرية . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة .**
- **الموسوي ، منى عبد المطلب يحيى .(٢٠٠٦).الفعالية ضد الجرثومية لمستخلصات بعض النباتات البرية**

العراقية . رسالة ماجستير – كلية التربية – جامعة البصرة .

- همـــيم ، ســـعد ســـلمان. (٢٠٠٣).فعاليـــة بعـــض المستخلصـات النباتيـة ضـد الممرضـات الشـانعة فـي اخمـاج الجلـد الجرثوميـة. رسـالة ماجسـتير– كليـة التربية– جامعة البصرة.

المصادر الاجنبية

- **Adedayo , O. ;Anderson , W.A. ; Moo-Young , M. ; Sncickus , V. ; Patil , P.A. & Kolawole , D.O. (2001) . Phytochemistry and antibacterial activity of *Senna alata* flower.Pharmaceutical Biology 39 : 1-5 .**
- **Al-Rawi , A. (1988) . Poisonous plants of Iraq. 3rd ed. Al-Yakada. Baghdad. 138 p.**
- **Bergstrom , C.T. ; Lo , M. and Lipsitch , M.(2004). Ecological theory suggests , that antimicrobial cycling will not reduce antimicrobial resistance in hospitals.J.Ann.Int.Med.101(36): 85-90 Pp.**
- **Chakravarty , H.L.(1976). Plant wealth of Iraq.Vol.1.Ministry of Agriculture.550Pp.**
- **Dahiru , D. ; Sini , J.M. and John-Africa , L. (2006). Antidiarrhoeal activity of *Ziziphus mauritiana* root extract in rodents . African .J. Biotechnology . 5 (10) : 941-945 Pp.**
- **Gayon , G.A. (1972) . Plant phenolic. Oliver and Boyed Edinburg .254 p.**
- **Hammer , K. A. ;Carson C. F. & Riley ,T. V. (2003) . Anti fungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil . J. Appli. Microbiol. 86: 446-452.**
- **Han , S .and Yang , Y.(2005). Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin . J. Appli. Microbiol .64 (2) :157-161Pp.**
- **Harborn , J.B. (1984) . Phytochemical methods aguide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed. Chapman and Hall , London , New York . 288p.**
- **Hernandez , T.; Canes , M.; Avila , J.G.; Caballero ,J.; Romode –Vivar , R. and Lira , R.(2003). Ethno botany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlan de Salinas, Puebla (Mexico).J. Ethnopharmaco . 88 : 181-188 Pp.**
- **Jain , S. ; Shrivastava , S.; Nayak , S. and Sumbhate , S.(2007). PHOG MAGI Plant Review Recent trends in *Curcuma longa* Linn.Pharmacognosy Review .1(1): 119-128 Pp.**
- **James , A.D. & Edward , S.A. (1985) .Medicinal plants of China . Vol (1) . Refrence publications , inc . 362p.**
- **McGinnis , M.R. (1980) . Laboratory Hand book of Medical Mycology .Academic press , NewYork , 661p**
- **Mekbib , S.B.; Regnier , T.J.C. Zeeman , C.A.M. and Korsten , L.(2007) .*In Vitro* antimicrobial assay of some medicinal plants from Ethiopia against plant and food – borne pathogens .Pretoria University press , Pretoria .97-128 Pp.**
- **Memone ,U.; Broni , A.H. ; Ahmed, S.W. ; Azhar , I. and Bano ,H.(2003) .Antibacterial screening of *Citrullus colocynthis* L. Pak .J.Pharm.Sci.16(1) : 1-6 Pp.**
- **Policegoudra , R.S.; Divakar , S. and Aradhya , S.M.(2007). Identification of difurocumenonol anew antimicrobial compound from mango ginger (*Curcuma amada* Roxb) rhizome .Applied Microbiology Journal .102(6) : 1594-1602 Pp.**
- **Ratheesh , M. and Helen , A.(2007). Anti-infllammatory activity of *Ruta graveolens* Linn on carrageenan induce paw edema in wister male rats . African .J. Of Biotechnology .6 (10) : 1209-1211 Pp.**
- **Red ,D.(1995). Nutritional toxicology of Tannins and related polyphenols in forgye . Legynemes .J.Animals .Soc.73 :151-158 Pp.**
- **Rizk , A.M. and El-Ghazaly , G.A. (1995) Medicinal and poisonous plants of Qatar . University of Qatar , Scientific and applied Research Center , Doha , Qatar . 306 p .**
- **WHO.(2000) .General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine . WHO.Geneva. 3-11 Pp.***
- **Xian-guo, H and Urasella, M. (1994). Antifungal compound from *Solanum nigrum* . J . Ethnopharm. 43 : 173-177.**