

الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لنبات رجل الاسد ضد بعض البكتريا المعوية والعنقودية الذهبية

سؤدد عبد الاله محمد* هشام محمود عبد الكريم* سعاد عبد علي** حسنة وضاح معيبيد**
سعد حسين خضير**

*دائرة بحوث المواد / مركز بحوث المواد والعدد الطبية والصيدلة الاشعاعية
** دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه/ مركز معالجة الملوثات
وزارة العلوم والتكنولوجيا
بغداد - العراق

الخلاصة

حضر المستخلص الكحولي لاوراق نبات رجل الاسد باستعمال كحول الايثانول بتركيز 70% ثم اجري فحص الحساسية للمستخلص الكحولي للنبات (بطريقة الحفر) ضد العزلات البكتيرية (*Shigella dysentria*, *Proteus* spp. , *Klebsilla* spp. , *Salmonella typhi* , *Staphylococcus aureus* , *Enterobacter* spp.) وظهرت النتائج ان المستخلص الكحولي لاوراق النبات قد اعطى كفاءة تثبيطية جيدة ضد جميع العزلات البكتيرية المختبرة بتركيز 500 ملغم/مللتر. وكانت اعلى منطقة تثبيط (25 ملمتر) ضد بكتريا *Salmonella typhi* .

الكلمات المفتاحية: نبات رجل الاسد، مستخلص كحولي و بكتريا مرضية.

The Inhibitory Effect of the Alcoholic Extract of *Alchemilla vulgaris* Plant Against Enteric and *Staphylococcus aureus* Bacteria.

Suadad Abdulelah Muhammad* Hisham Mahmood Abdul Kareem*
Suad Abed Ali** Hassna Wadhah Meebed ** Saad Hussain Khdhaeir **

* Material Research Directorate / Pharmaceutical and Medical Kit Center.

** Enviroment and Water Technology Directorate / Biological Treatment Center

Ministry of Science and Technology

Baghdad - Iraq

E_mail:Suadad-AM@yahoo.com

Abstract

Alcoholic extract from leaves of the *Alchemilla vulgaris* plant were performed by 70% ethanol alcohol . Sensitivity test to the extract of this plant against some bacterial isolats (*Salmonella typhi* , *Shigella dysentriae* , *Klebsilla* spp. , *Proteus* spp., *Enterobacter* spp.and *Staphylococcus aureus*) were performed by agar well diffusion method .Results proved that Alcoholic extract has shown inhibitory effect for all bacterial isolates at 500 mg/ml and inhibition zone was 25mm against *Salmonella typhi*.

Key Words: *Alchemilla vulgaris* Plant, Alcoholic Extract and Pathogenic Bacteria.

المقدمة

المواد وطرائق العمل

نبات رجل الاسد (*Alchemilla vulgaris*) هو نبات عشبي معمر من فصيلة الورديات ينبت في المروج والاحراج الرطبة والجبال والساق مبرومة ومكسوة بشعيرات دقيقة والاوراق مسننة كالمناشر ومكونة من 7 - 9 فصوص والازهار صغيرة صفراء مشربة بالخضرة. (خليفة، 2011) ومن اهم مكوناته الفعالة التانينات بنسبة 6 - 8% ومجموعة احماض مثل Gallic acid, Salisalc acid والصابونينات وزيت طيارة وعناصر حرة. يستخدم هذا النبات كمادة قابضة ولمعالجة الجروح والنزف ويعالج تقرحات الفم، والعناية بالجلد والشعر (Ody, 2000, Chevallier, 2001, Kiselova, et al., 2006) كما يستعمل مستحلب هذا النبات لعلاج الاسهال والتهاب المبيض عند النساء والنزف الداخلي وكذلك السمنة وداء السكر. (شمس الدين، 2009) وتشير البحوث الحديثة الى ان المستخلص الميثانولي بتركيز 80% من هذا النبات يمتلك فعالية عالية من مضادات الاكسدة ومحتوى عالي من الفلافونيدات مثل الروتين (Crisan et al., 2009) ودراسة اخرى وجدت ان المستخلص الميثانولي بالتركيزين 80% و 90% والمستخلص الايثانولي بالتركيزين 60% و 96% يحتوي على حامض Gallic acid (Condrat et al., 2012). تهدف هذه الدراسة الى ايجاد الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لاوراق نبات رجل الاسد ضد بعض البكتريا الممرضة واستعمال هذا النبات كعلاج لبعض الامراض مثل الالتهابات المعوية والتهاب اللوزتين .

1- نبات رجل الاسد

حصل على نبات رجل الاسد بشكل اوراق جافة من السوق المحلية وبعد تشخيصها في معشب جامعة بغداد اعتمادا على موسوعة Encyclopedia of Life, 2013 جرى تنظيفها وغسلها وتجفيفها بدرجة حرارة $2 \pm 35^{\circ} \text{C}$ وحفظها في أكياس نايلون لحين الاستعمال.

2- الاوساط الزرعية

أستعمل الوسط المغذي Nutrient agar والمرق المغذي Nutrient broth المنتج من شركة LAB لغرض تنمية وحفظ العزلات البكتيرية وفحص حساسية هذه العزلات للمستخلصات النباتية المحضرة .

3- العزلات البكتيرية

حصل على العزلات البكتيرية التالية من قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة بغداد وهي مأخوذة اصلا من مرضى شخصت اصابتهم في مختبر الصحة المركزي/وزارة الصحة.

أ- *Klebsilla spp.* المسببة للالتهابات المعوية.

ب- *Proteus spp.* المسببة للالتهابات المعوية.

ت- *Shigella dysenteria* المسببة للذنتري.

ث- *Enterobacter spp.* المسببة للالتهابات المعوية.

ج- *Salmonella typhi* المسببة للحمى التيفية.

ح- *Staphylococcus aureus* المسببة لالتهابات البلعوم واللوزتين.

4- طرائق العمل

أ- تحضير المستخلص الكحولي

اذيب 10 غرام من نبات رجل الاسد في 100 مل من كحول اثيلي تركيزه (70%) وترك بشكل نقيع لمدة ساعتان ثم رشح المحلول باستعمال شاش معقم ثم اوراق ترشيح واطمان رقم 1 وبعد الترشيح وضع المحلول في فرن درجة حرارته 2 ± 40 °م للحصول على مسحوق جاف . حسب وزنه وكان مقداره 1 غم وزن جاف اي ما يعادل 1000 ملغرام ثم اذيب في 2 ملتر من الماء المقطر المعقم للحصول على تركيز 500 ملغم/ملتر وهو التركيز الاصلي ثم حضرت سلسلة من التخفيف النصفية من هذا التركيز وهي (250، 125، و62.5) ملغم/ملتر ويسمى المستخلص الكحولي الايثانولي (العبيدي، 2007،

ب - فحص حساسية العزلات البكتيرية للمستخلص النباتي

أُتبعَت طريقة الانتشار بالاكار اي طريقة الحفر (Anesini and Peres, 1993) باستعمال ثاقبة فلينية معقمة بقطر 6 ملمتر ، ووضع المستخلص الكحولي السائل في كل حفرة باستعمال ماصة دقيقة بحجم 0.3 ملتر وبتراكيز (62.5 ، 125، 250 و 500) ملغم /ملتر . اما حفرة السيطرة فأحتوت ماء مقطر معقم فقط . وضعت الاطباق بعدها في الحاضنة بدرجة حرارة 2 ± 37 °م لمدة 24 ساعة بعدها قيس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة بالمسطرة مقدره بالملمتر .

ت- طريقة التحليل الاحصائي : حللت النتائج المستمدة من التجارب لبيان تأثيرالمستخلص الكحولي المحضر على نمو العزلات البكتيرية بطريقة التحليل الاحصائي للاختلافات ANOVA عند مستوى احتمالية 0.05 وذلك لتقييم الاختلافات في نتائج

المعاملات من حيث كونها أختلافات معنوية (بتأثير المادة) أم غير معنوية.

النتائج والمناقشة

يتضح من الجدول (1) والذي يمثل قطر منطقة التثبيط ضد ستة انواع من العزلات البكتيرية (*Shigella dysentria*, *Proteus spp.*, *Klebsilla spp.* , *Salmonella typhi* , *Staphylococcus aureus* , *Enterobacter spp.*) والمعاملة بعدة تراكيز من المستخلص الكحولي لاوراق نبات رجل الاسد (62.5 ، 125، 250 و 500) ملغم /الملتر ان هناك تثبيطا واضحا ضد جميع العزلات البكتيرية وخاصة في تركيز (500) ملغم/الملتر وقد اعطت بكتريا *Salmonella typhi* اعلى منطقة تثبيط 25 مليمتر كما في شكل (1) وبكتريا *Klebsilla spp.* اقل منطقة تثبيط 12 مليمتر . كما يوضح الشكل (2) قيم التركيز المثبط الادنى (MIC) مقدره بالملغم / ملتر للمستخلص الكحولي للنبات ضد العزلات البكتيرية الممرضة وكان اقل تركيز مثبط (MIC) لبكتريا *Salmonella typhi* و *Staphylococcus aureus* حوالي 62.5 ملغم /الملتر وبقية العزلات حوالي 500 ملغم /الملتر وهذه النتيجة تشجع على استعمال المستخلص الكحولي لنبات رجل الاسد في تثبيط البكتريا الممرضة سواء كانت موجبة او سالبة لصبغة كرام وهذه النتيجة تتفق مع ما وجدته الباحث (Keskin and Osky, 2010) . فضلا عن ذلك درست الفعالية المايكروبية والتحديد النوعي لسمية مجموعة من التوابل من ضمنها نبات رجل الاسد ووجد انه يثبط من نمو بكتريا القولون الملوثة للغذاء لذلك من الممكن دراسة هذا النبات واستعماله كمادة حافظة

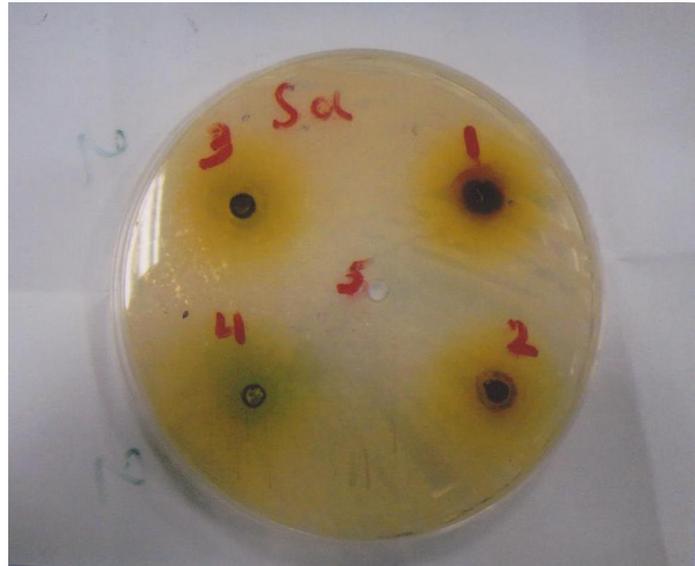
المواد المثبطة مثل الفلافونوات كمضادات اكسدة واعطت نتيجة ايجابية تشجع على استعمال هذا النبات في علاج بعض الامراض مثل ضغط الدم والزهايمر (Elena and Gabriela,2015)

للغذاء (Vittulo et al., 2011). وتعزى الفعالية التثبيطية لهذا النبات الى وجود بعض المركبات الفعالة مثل الفلويديات والترينينات والفينولات والتانينات والتي تكون فعالة في تثبيط البكتريا الممرضة (Levancheva et al., 2006) كما درست بعض

جدول(1) أقطار منطقة التثبيط بالملمتر لسته أنواع من العزلات البكتيرية المعاملة بعدة تراكيز من المستخلص الكحولي لاوراق نبات رجل الاسد.

<i>Proteus</i> spp.	<i>Klebsilla</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Shigella</i> dysentria	<i>Salmonell</i> typhi	<i>Staphylococcus aureus</i>	التركيز ملغم/مللتر
15a	12a	16a	18a	25a	20a	500
6b	6b	6b	6b	20b	15b	250
6b	6b	6b	6b	15c	15b	125
6b	6b	6b	6b	15c	15b	62.5
6b	6b	6b	6b	6d	6c	السيطرة (ماء مقطر)

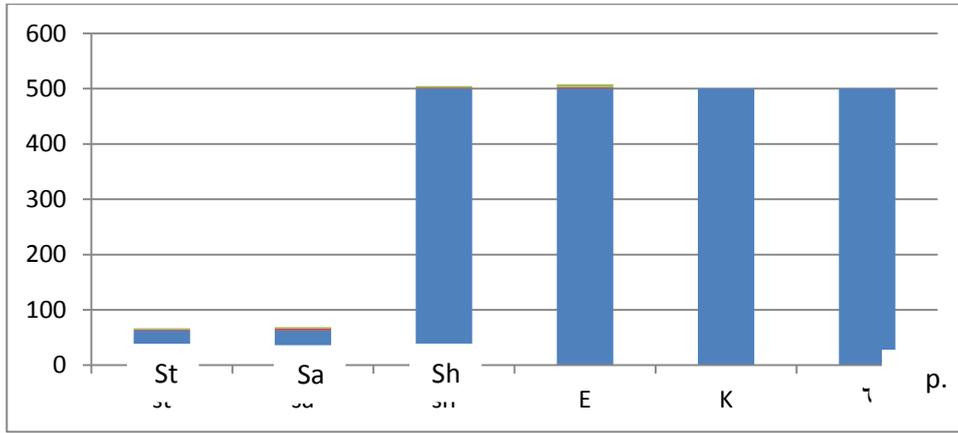
- الرقم 6 يشير الى عدم وجود منطقة تثبيط حول الحفرة والسيطرة ماء مقطر.
- الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية 0.05 ضمن العمود الواحد



شكل(1) أقطار منطقة التثبيط بالملمتر للمستخلص الكحولي لنبات رجل الاسد ضد بكتريا السالمونيللا بطريقة الحفر بأستعمال الوسط المغذي الصلب .

- 1:تركيز 500 ملغرام/مللتر من المستخلص الكحولي.
- 2:تركيز 250 ملغرام/مللتر من المستخلص الكحولي.
- 3:تركيز 125ملغرام /مللتر من المستخلص الكحولي.
- 4:تركيز 62.5 ملغرام /مللتر من المستخلص الكحولي.
- 5:السيطرة (ماء مقطر)

التركيز المثبط الأدنى مقدراً بالملغم / ملتر



أنواع العزلات البكتيرية

شكل (2) قيم التركيز المثبط الأدنى مقدرة بالملغم/ملتر للمستخلص الكحولي لنبات رجل الاسد لستة أنواع من العزلات البكتيرية.
St:Staphylococcus, Sa:Salmonella, Sh:Shigella, E:Enterobacter, K:Klebsilla, P:Proteus

الاستنتاجات

Kiselova, Y. et al ., (2006) . Correlation Between In Vitro Antioxidant Activity and PolyPhenols Content of Aqueous Extract from Bulgarian Herbs. *Phytotherapy. Res.* 20(11),961-965.

Levancheva, S. ; Nicolava, M ; Sevetcova, T. (2006) Pharmacological Activities and Biologically Active Compound of Bulgarian Medicinal Plants . *Phytochemistry* . 81 (9), 87-103.

Ody, P. (2000) . The Complete Guide Medicinal Herbal , Pub. Dorling Kindersley ,2nd ed.

Vitullo, M. ; Ripabelli, G. ; Fanelli, I. and Tamburro, M. (2011) . Microbiological and Toxicological Quality of Dried Herbs. *Left Appl. Microbiol* . 52(6),573-580.

المستخلص الكحولي لاوراق نبات رجل الاسد مثبط كفاءة للبكتريا المعوية والعنقودية الذهبية وهذا يشجع على استخدامه في علاج بعض الامراض مثل الالتهابات المعوية والتهاب البلعوم واللوزتين .

المصادر

خليفة، حسن. (2011) جنة الاعشاب، الطبعة الثانية، دار الاسراء للنشر والتوزيع -الاردن -عمان

شمس الدين ، أحمد (2009) . التداوي بالاعشاب والنباتات قديما وحديثا. الطبعة الرابعة، دار الكتب العلمية-بيروت ص:169

العبيدي، هبة محمد علي. (2007) تأثير بعض المستخلصات النباتية المضادة للاميبا الحالة للنسيج المنماة على اوساط زرعية. رسالة ماجستير، كلية العلوم-جامعة بغداد.

Anesini, C and Peres, C. (1993). Screening of Plants Used in Argentine Folk Medicin for Antimicrobial Activity . *Journal of Ethnopharmacology*. 39 , 119-128

Chevallier, A. (2001) . Encyclopedia of Medicinal Plant, Pub. Dorling Kindersley, Ltd, London.

Condrat, D. ; Mosoraca, C. ; Zamfir, D. , Crisan, F. ; Rodica, M. and Lupea, X. (2012) .Qualitative and Quantative Analysis of Gallic acid in *Alchemilla vulgaris* , *Allium ursinum*, *Acorusculamo* and *Soldagovirga - aureaby* Chip-electrospray Ionization Mass Spectrometry and HPLC. *J. of Chem.*. 8(3),530-535.

Crisan, F ; Szabo, M.; Rodica, D. and Lupea, A. (2009) . Flavonoids in Angiospermatophta and Spermatophyte Species and their Antioxidant Activity. *Rev. Chem.* 60(2),320-325.

Elena, N. and Gabriela, B. (2015) . Assessment of Acetylcholin Esterase and Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Activity of *Alchemilla vulgaris* Extracts. *J. Tiawan INCT CHEN Engineers*. 52,1-6.

Keskin, D. and Osky, M. (2010). Antimicrobial Activity of Selected Plant Species Marketed in the West Anatolia. *International J.A.B.* 12(6),916-920.