دراسة تاثير التربنويدات المستخلصة من الشاي الاخضرفي بعض الاجناس الخميرية والبكتيرية

منال فوزي محمد الحائك عمر فخري سعيد مشعل علي محمد العنزي
فرع الادوية/كلية الصيدلة/جامعة الموصل

الاستلام 05/09/2006 القبول 21/02/2007

Abstract

In this study Triterpenoids have been extracted from green tea powder, after that it is action on two species of yeast *Candida albicans* and *Candida tropicalis* and two species of bacteria *staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa* had been tested. This test shows variable degrees and effects, the growth of *Candida albicans* yeast has been inhibited 47% at a concentration of 12.5 µg/ml while the growth of *Candida tropicalis* has been inhibited by 43% at the same concentration while of 50 mg/ml *pseudomonas aeruginosa* had been inhibited by 66% and *staphylococcus aureus* by 58%at the same conc.

الخلاصة

في هذا البحث تستخلص التربنويدات من مسحوق الشاي الاخضر ثم يختبر تاثيرها في نمو جنسين من الخمائر هما *Candida albicans*،*Candida tropicalis* وجنسين من البكتريا هما *staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa* وقد اظهرت درجات مختلفة من التاثير اذ تثبط نمو خميرة *Candida albicans* بنسبة 47%عند التركيز12.5 مايكروغرام/مل وتثبط نمو خميرة *Candida tropicalis* بنسبة 43% عند التركيز نفسه وتثبط نمو بكتريا *pseudomonas aeruginosa* بنسبة(66%) عند التركيز 50 مايكروغرام /مل وتثبط نمو بكتريا *staphylococcus aureus* بنسبة 58% عند نفس التركيز ولم يظهر اي تاثير عند التركيز 25 مايكروغرام /مل فما دون.

المقدمة

لقد اجريت مجموعة من المحاولات على قواعد علمية في استخدام النباتات الطبية (1) اذ ان العديد من الامراض عولجت باستخدام تلك النباتات لانها تحتوي على العديد مـن المـواد الكيميائية بوصفها ناتجا من عمليات الايض الثانوي (2) ويطلق على هـذه المـواد النـواتج الطبيعية Natural products ولقد اثبت حدوث عدد من فعالياتها البايولوجية (3) اذ اظهرت بما تحتويه أنها مصدر اساس بوصفها مثبطات للاحياء المجهرية (4) ومن هـذه المركبـات التربينويدات Turbnoids وهي عبارة عن مركبات هيدروكاربونية تتكون من وحدة رئيـسة تدعى الايزوبرين Isoprene والتي وجدت في العديد من النباتات منها الشاي الاخـضر قيـد الدراسة (1) فقد اشار (5) ان التربنويدات مضادة للسرطان ولما تسببه بعض الخمـائر مـن امراض مثل التهابات الفم والامعاء (6) وكذلك بعض الاجناس البكتيرية التي تـسبب بعـض حالات التهابات اللثة والبلعوم واللوزتين (7)ولما اظهرته مـن مقاومـة تجـاه العديـد مـن المضادات الحيوية على مرور الزمن فقد تم دراسة تأثير التربنويدات المستخلصة مـن نبـات الشاي الاخضر على بعض انواع الخمائر وبعض الاجناس البكتيرية. والتي وجدت في العديد من النباتات منها الشاي الاخضر Green tea قيد الدراسة المهم في الوقاية مـن الـسرطان ومضاد للاكسدة (5)ولما تسببة بعـض الخمـائر قيـد الدراسـة *Candida albicans* و *Candida tropicalis* من التهابات مهبلية ومعوية وجوف الفم وكذلك بعض اجناس البكتريا مثل *staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa* والتي تسبب العديد من الالتهابات الجلدية وحالات الاسهال (6و8) ونظرا لما تظهره من مقاومة تجاه الكثير مـن المضادات الحيوية .

المواد وطرائق العمل

الاستخلاص:

تم استخلاص التربينويدات من الشاي الاخضر بخطوتين بعد اخذ وزن معلوم(40) غم من الشاي الاخضر في الخطوة الاولى تم الاستخلاص باستخدام (الميثانول + الماء) وبنـسبة (1:9) بعد ذلك يتم الاستخلاص المذيب (الميثانول + الماء) ولكن بنـسبة (1:1) وفـي كـلا الحالتين يترك المستخلص حتى اليوم التالي بعد ذلك يمزج المستخلصين بجهاز المبخر الدوار الى الثلث ، بعدها تم الفصل بقمع الفصل الخاص بالكلوروفورم حيث يضاف الكلوروفورم الى المزيج بنسبة (1:1) مع الرج اذ تظهر طبقتين (الكلوروفورم + المستخلص) اذ تؤخـذ طبقـة الكلوروفورم وتبخر بجهاز المبخر الدوار وبـذلك نحـصل علـى مـسحوق اخـضر هـو

التربينويد.(9).وتم الكشف عن التربنويـدات باسـتخدام كاشـف Libermann-Burchard (10).

اختبار الحساسية:

وقد تم دراسة تأثير التربينويدات في نمو نوعين من الفطريات ونوعين من البكتريـا وهـي: Candida albicans, *Candida tropicalis* *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa*,والتي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة في كلية العلوم / جامعة الموصل. وقد درس التاثير المضاد للمايكروبات في التربينويدات المستخلـصة مـن نبات الشاي الاخضر بطريقة الانتشار بالاقراص بالاعتماد علـى (11) اذ تـزرع الاحيـاء المجهرية (البكتريا ، الخمائر) بأنواعها في وسط المرق المغذي Nutrient Broth وتحـضن بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة قبل يوم من اجراء التجربة. تحضر تراكيز مختلفـة مـن المادة المراد دراستها وهي (12.5,25,50,100)مايكروغرام/مل وتم اضافة (1) مل من كل تركيز من هذه التراكيز الى انابيب يحوي كل منها على 100 قـرص مـن ورق الترشـيح (whatman No.1) وبقطر(6) ملم وبعد تعقيمها بجهاز المعقام. بعد ذلك تم تلقيح عدد مـن الاطباق الحاوية على وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ووسـط سـابرويت Saproite ب(0.1) مل من المعلق الجرثومي (بتركيز 10^8خلية/سم^3) ونشر على سطح الوسط الغذائي ثم يوضع في كل طبق قرص لكل تركيز من المادة المراد دراستها بعد ذلك وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة ويستدل على النتيجة بقياس قطر المنطقة الخالية مـن النمو والمحيطة بالقرص وتم اجراء مقارنـة مـع المـضادات الحيويـة (Ampicillin , Nystatin).

النتائج والمناقشة

بعد استخلاص التربنويد من مستخلص الشاي الاخضر اختبر تـاثيره فـي كـل مـن خمائر Candida وجنسين من البكتريا اذ اظهر فعاليات مختلفة فالجدول (1) يوضـح تـاثير التربنوتيدات المستخلصة في خميرة *Candida albicans* اذ ثبطت نموها بنسبة 82%عنـد التركيز 100 مايكروغرام /مل وبنسبة 43% عند التركيز 25 مـايكروغرام /مـل مقارنـة بمعامل المقارنة (control) Nystatin الذي تم الحصول عليه من معمل ادوية سامراء وتـم تحضير الاقراص بتركيز (100 وحدة دولية /قرص)اي مايعادل 600 مـايكروغرام/مـل (10) اما الجدول (2)فيبين تاثير التربنويد في *Candida tropicalis* اذ ثبط نمـو الخميـرة عند التركيز 100 مايكروغرام /مـل بنـسبة 81% وبنـسبة 43% عنـد التركيـز 12.5

مايكروغرام مقارنة بمعاملة المقارنة Nystatin (control) (50%) وقـد وجـدت فـروق معنوية بين المقارنة والمعاملات عند مستوى احتمال 0.005 بحسب اختبار دنكن (12).

الجدول 1: دراسة تاثير التربنويدات في نمو خميرة *Candida albicans*

التركيز µg/ml	قطر التثبيط	النسبة المئوية
200	17±1.15a	100
100	14±0.4b	82
50	13±0.15b	76
25	10±0.6c	58
12.5	8±1.1d	47
(Control)Nystatin 600 µg/ml	7±1.1d	44

الحروف المتشابهة تشير الى وجود فروق معنوية معينة بين النتائج حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05 وقد حسبت النسبة المئوية بالاستناد الى اعلى تركيز(200).

الجدول 2: دراسة تاثير التربنويدات في نمو خميرة *Candida tropicalis*

التركيز µg/ml	قطر التثبيط	النسبة المئوية
200	16±1.05a	100
100	13±0.3b	81
50	12±0.11b	75
25	11±0.2c	68
12.5	7±1.2d	43
(Control)Nystatin 600 µg/ml	9±0.7c	50

الحروف المتشابهة تشير الى وجود فروق معنوية معينة بين النتائج حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05 وقد حسبت النسبة المئوية بالاستناد االى اعلى تركيز(200).

اما فيما يخص الجدولين 4,3 الذين يوضحان تاثير التربنويدات في كـل مـن بكتريـا *Staphylococcus aureus, pseudomonas aeruginosa* فان الجدول 3 يشير الـى ان التربنويدات تثبط نمـو *pseudomonas aeruginosa* بنـسبة 66% عنـد التركيـز 50 مايكروغرام /مل وبنسبة 44% عند التركيز 12.5 مايكروغرام مقارنـة بمعاملـة المقارنـة Ampicillin (control) (88%) امـا فـي الجـدول 4 فيتـضح ان التربنويـدات تثـبط نمو *StaphylococcusS aureus* بنسبة 58% عند التركيز 50 مايكروغرام /مل ولم يظهر

اي تاثير عند التركيز 25 مـايكروغرام فمـا دون مقارنـة بمعاملـة المقارنـة(control) Ampicillin وقد كانت هناك فروقا معنوية بين المقارنة والمعاملات عند مـستوى 0.005 وبحسب اختبار دنكن (12) ان تاثير التربنويدات قد يعود الى تركيبها الحلقي الذي قد يؤثر في الجدار او الفعاليات الايضية داخل خلية الخميرة او البكتريا و في حالة الخميرة تؤثر معظم المضادات على نحو رئيس في الغشاء البلازمي مما يؤدي الى عرقلة مـرور المـواد الغذائية ثم تثبيط نمو الخميرة (13) فضلا عن اتخاذها عدة طرائق في تاثيرها في البكتريا فاما ان تؤثر في جنس البكتريا او فعاليتها الايضية او مادتها النووية ويعتمد تاثير تلك المـضادات على مدى سرعة امتصاصها ومقدار ذوبانها في السوائل وهو مـرتبط بالـصفات الكيميائيـة والفسلجية (14) ومن الضروري الى حد ما دراسة التاثير الجزيئي للتربنويدات وذلك لمعرفة ميكانيكية التاثير.

الجدول 3: دراسة تاثير التربنويدات في نمو بكتريا *pseudomonas aeruginosa*

التركيز µg/ml	**قطر التثبيط**	**النسبة المئوية**
200	18±1.4a	100
100	14±0.4b	77
50	12±0.1b	66
25	10±0.6c	55
12.5	8±1.1d	44
(Control)Ampicillin 10 µg/ml	16±0.9a	88

الحروف المتشابهة تشير الى وجود فروق معنوية معينة بين النتائج حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05 وقد حسبت النسبة المئوية بالاستناد الى اعلى تركيز(200).

الجدول 4: دراسة تاثير التربنويدات في نمو بكتريا *staphylococcus aureus*

التركيز µg/ml	**قطر التثبيط**	**النسبة المئوية**
200	12±1.6b	100
100	9±1.35c	75
50	7±0.35d	58
25	0±1.4	0
12.5	0±1.4	0
(Control)Ampicillin 10 µg/ml	13±1.85b	0

الحروف المتشابهة تشير الى وجود فروق معنوية معينة بين النتائج حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05 وقد حسبت النسبة المئوية بالاستناد الى اعلى تركيز(200).

المصادر

1.Evans, W.C. 1997. Treas and Evans pharmacognosy. Fourteenth Ed. Sander Co, London.

2.ابو زيد ، الشحات مصر 2000 .الزيوت الطيارة ، الدار العربية للنشر والتوزيع ، القاهرة.

3.Al-Jewary, M.R.A; shareef, A.Y.andAbdullgB.A.1993.The antibacterial activities of acude extracts of Glycyrrhizia glabra Liguminaceae, .J.Edue.sce.12:35-47.

4.Sokemen, H., A.; Jones, B.M. and Ertak, M. 1999**.** The in vitro antibacterial of Turkish medicinal plant. The Ethnophamacology.67:79-86.

5.Saeed, Omar Fakhri, 2004. The Effect of Green and Black tea Extracts on Different Cell lines in vitro, thesis .Submitted for college of pharmacy, University of Mousl. Iraq.

6.Koneman, E.W. Allen, S.D.; Dowell,V.R; Jandg.W.M.; Sommers, H.M. and Winn,W.N. 1997. color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. Fourteenth ed., J.B. Lippinooott. com, Philadelphia. U.S.A.

7.الطالب .هشام احمد 1986. علم الاحياء الدقيقة الطبية ،دار الكتاب للطباعة والنـشرجامعة الموصل ،العراق.

8.Tyler, V.E.; Brady, L, K.; Robbers, J.E. 1988. pharmacognosy. Eth.ed.Lea and Febiger Philadelphia, U.S.A.

9.Zalka, L.L. 1988. Spices and herbs, their antimicrobial activity and its determents Journal of Food Safety, 9:97-118.

10. Harbone, J.B. 1973. Photochemical Methods Chapman and hill London.

11.Bauer, A.W.; Kirbay, W.A.M.; Sherris, J.S. and Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Amer.-` J. Clin. Pathol. , 45: 493-496.

12.الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد 1980.تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل.

13.Gupta, A.K. Richard, K.S. and piet, D. 1997. Garret management of onychomycosis. Dermat. Clinices, 15(I):2

14.السلطان ،صبا عبد السلام. 1993. التاثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية على بكتريا حمى مالطى دراسة مختبرية في الزجاج .رسالة ماجستير ،كلية العلوم ،جامعة الموصل.