الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الأفسنتين *Artemisia absinthium* تجاه بعض أنواع الجراثيم والفطريات

صبرية عبد علي محمد و ليلى ناصر حرب

قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة البصرة

ISSN –1817 –2695

((الاستلام 2011/1/12، القبول 2011/5/2))

الخلاصة

استخدم المستخلص المائي والكحولي لفروع واوراق نبات الأفسنتين *Artemisia absinthium* لتقييم فعاليته التثبيطية ضد بعض أنواع الجراثيم مثل *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Proteus vulgaris* ، والفطريات مثل *Aspergillus niger* ، *Aspergillus terrus* ، *Aspergillus fumigatus* ، وقد اظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي قد أعطى تاثيرا تثبيطيا واضحا تجاه انواع الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة اذ تراوحت اقطار منطقة التثبيط بين (20 - 30) ملم بينما اعطى المستخلص المائي تاثيرا تثبيطيا تجاه جرثومة *S. aureus* فقط ولم تعطي المستخلصات أي تاثير تجاه الفطريات المستخدمة في الدراسة . وقد قدر التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص الكحولي وقد تراوحت قيمته بين (50 – 150) ملغم/ مل .

المقدمة

لاتزال خصائص الكثير من النباتات البرية غير معروفة للأنسان اذ انه لم يستخدم الا القليل منها لحد الآن ومما لاشك فيه أن دراسة خواص النباتات هو في غاية الأهمية اذ انها مرتبطة بحياة الأنسان من حيث الغذاء والدواء بشكل خاص اضافة الى الأحتياجات الأخرى [1] .

من المشاكل الصحية المهمة التي يعاني منها المجتمع وللأعمار كافة هو مرض التهاب المجاري البولية ويعود السبب فيه الى مجموعة من الجراثيم مثل *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Proteus vulgaris* ،وغيرها اذ تتفاوت هذه الجراثيم في نسبة وقابلية احداثها لهذا المرض [2 ، 3] .

ان نبات الأفسنتين *Artemisia absinthium* من العائلة المركبة Compositae ومن اسمائه المعروفة دمسيسة ويعرف بالانكليزية Worm Wood وهو نبات عشبي شبه شجيري ارتفاعه بين 30-150 سم ،عطري ، يحمل اوراقا رمادية مخضرة مائلة الى البياض ،أزهاره عنقودية صفراء [4] .

الأفسنتين خافض للحرارة ، منفث للبلغم ، مخرج للقئ ، طارد للديدان ، منشط ، مطهر ، مدرر للطمث ، مقوي ، منعش للقلب ، مضاد للميكروبات ، يزيد في افراز الكبد والمرارة [5].

يحتوي الأفسنتين على زيوت طيارة Astinthol يتراوح لونها بين الأخضر والأزرق ، ذات رائحة قوية تستخدم لتحضير بعض المشروبات الكحولية مثل الفيرموث Vermonth والأبسنت Absinthe. [4] .

وقد اثبتت الدراسات ان الأفسنتين يحتوي على مواد مرة وفلافونيدات وقلويدات وأحماض عضوية ومن هنا جاءت أهمية هذا النبات في تثبيط نمو بعض أنواع الأحياء كالجراثيم والفطريات [4،5،6] .

لذلك هدفت هذه الدراسة الى اختبار تأثير مستخلصات هذا النبات على نمو بعض انواع الجراثيم والفطريات من خلال دراسة الفعالية البايولوجية لهذه المستخلصات .

المواد وطرائق العمل

1 - تم الحصول على نبات الأفسنتين من السوق المحلية وقد تم تصنيف النبات في قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة البصرة ، ثم طحن في مطحنة كهربائية وحفظ المسحوق في قنينة زجاجية لحين الأستعمال .

2- الأحياء المجهرية المستخدمة في الدراسة .

تم الحصول على اربعة انواع من الجراثيم القياسية نوع موجب لصبغة كرام وهي جرثومة ATCC 25922 *Staphylococcus aureus* وثلاثة انواع سالبة لصبغة كرام هي ATCC 25923 ،*Escherichia* coli ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* ، *Proteus vulgaris* ATCC 25924 من مختبر ابحاث الأحياء المجهرية - قسم علوم الحياة – كلية التربية . اما عزلات الفطريات فهي *Aspergillus niger* ، *Aspergillus terrus* ، *Aspergillus fumigatus* وقد تم الحصول عليها من مختبر ابحاث الفطريات – قسم علوم الحياة – كلية التربية .

3 - تحضير المستخلصات النباتية .

1-المستخلص المائي Aqueous extract :

حضر المستخلص المائي لمسحوق نبات الافسنتين حسب طريقة [7] وذلك بمزج 20غم من المسحوق مع 200 مل من الماء المقطر وترك المزيج مع التحريك المستمر بواسطة جهاز La-ski لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة ، بعدها رشح المستخلص خلال عدة طبقات من الشاش ثم وضع الراشح في طبق بتري Petridish وترك مكشوفا ليجف بدرجة حرارة الغرفة ثم حفظ المسحوق الجاف في قناتي زجاجية لحين الاستعمال .

2- تحضير المستخلص الكحولي Ethanolic extract :

حضر المستخلص الكحولي بالطريقة السابقة نفسها باستثناء استبدال المذيب (الماء المقطر) بالكحول الاثيلي (70%) .

3- الكشوفات النوعية :

أجريت الكشوفات الاولية Preliminary tests للمستخلص المائي والكحولي للتعرف على المركبات الكيمائية الاساسية في المستخلص (جدول 1) .

4- اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصين المائي والكحولي .

4 - تحديد التراكيز المثبطة الدنيا .

حددت التراكيز المثبطة الدنيا للمستخلص الكحولي لنبات الافنستين ضد السلالات الموجبة والسالبة لصبغة لكرام قيد الدراسة حسب طريقة (9) اذا حضر المحلول الخزين Stock solution للمستخلص الكحولي من اذابة 2 غم من المسحوق النباتي في 5 مل من المذيب Dimethyl Sulfoxid (DMSO) ثم حضرت سلسلة من التخافيف من هذا المحلول وهي (

أختبرت قابلية المستخلصات المحضرة في تثبيط النمو الجرثومي للسلالات الجرثومية القياسية حسب طريقة [8] Well diffusion Agar وتضمنت تحضير وسط Muller Hinton agar حسب تعليمات الشركة المجهزة وصب الوسط في أطباق بتري وبعد التصلد لقح الوسط بـ (0.1) مل من العالق الجرثومي (بكتريا) تركيز (1 x 10^6) خلية \مل ونشر العالق باستخدام ناشر زجاجي .

وكذلك حضر الوسط Potato dextrose agar حسب تعليمات الشركة المجهزة وصب في أطباق بتري وترك ليتصلب ثم لقح بـ (0.1) مل من العالق الفطري تركيز (1 x 10^6) خلية \مل ونشر باستخدام ناشر زجاجي . تركت جميع الاطباق لمدة 15 دقيقة للتشرب ثم تم عمل 3 حفر بقطر 6 ملم لكل حفره باستخدام ثا قب فليني معقم ثم أضيف 100 مايكروليتر من المستخلص النباتي بتركيز 0.150 غم\مل في كل حفره باستخدام Micropipet ، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37مه لمدة 24 ساعة بالنسبة للجراثيم وثلاثة ايام على درجة حرارة 25 مه بالنسبة للفطريات ، ثم سجلت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بالملم كما موضح في (جدول 2) .

25,50,100,150,200,250,300,350,400) ملغم /مل ثم مزج واحد مل من كل تخفيف من هذه التخافيف مع 9 مل من وسط Muller Hinton agar وبعد التصلد لقحت الاطباق بـ (0.1) مل من العالق الجرثومي بكثافة (1x 10) خلية /مل ، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة . سجلت النتائج كما موضح في (جدول 3)

5 - تحديد السمية الخلوية .

تم تحديد السمية الخلوية للمستخلص الكحولي حسب طريقة [10] أذ حضر محلول رنكر الفسيولوجي Ringer solution المعقم من اذبة 0.9 غم Nacl ، 0.092 غم Kcl ، 0.024 غم Cacl2، 0.03 غم NaHCO3 0.0200, غم glucose في 100 مل من الماء المقطر . ثم أضيف 18 مل من محلول رنكر الى 2 مل من الدم المسحوب من الانسان حضرت سلسلة من التخافيف للمستخلص الكحولي باستخدام Phosphate buffer أذ أضيف 200 ملغم من المستخلص في واحد مل من المذيب DMSO ثم حضرت التخافيف التالية (1:1 ، 1:10 ، 1:100 ، 1:1000) أستخدم لكل مستخلص معامل سيطرة سالبة تحتوي على Normal Saline فقط ومعامل سيطرة موجبه تحتوي على ماء الحنفية ثم وضع (0.8) مل من كل تخفيف في أنبوبة اختبارمعقمة وأضيف لكل انبوبة (0.2) مل من الدم ليصبح الحجم النهائي لكل انبوبة واحد مل . حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة .

النتائج

اوضحت نتائج الكشف عن المركبات الكيميائية لمستخلصات نبات الأفسنتين أحتواء المستخلص الكحولي على القلويدات و التانينات و الفلافونيدات و الكلايكوسيدات وكما موضحة في (الجدول 1) .

جدول (1) الكشوفات النوعية لمستخلصات نبات الافسنتين .

المستخلص	الكربوهيدرات	القلويدات	التانينات	الفلافو نيدات	الكلايكوسيدات
المائي	ـــ	+	ـــ	ـــ	ـــ
الكحولي	ـــ	+	+	+	+

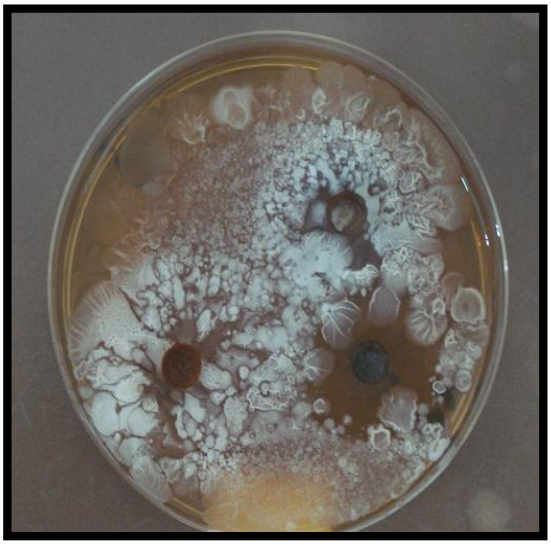
الفعالية التثبيطية للمستخلصين المائي والكحولي تجاه الجراثيم والفطريات .

أظهر المستخلص الكحولي لنبات الافسنتين فعالية ملحوضة تجاه العزلات الجرثومية قيد الدراسة وقد كانت أقطار منطقة التثبيط 30 ملم لجرثومة *S . aureus* و 25 ملم لجرثومة *E . coli* و 24 ملم لجرثومة *Ps . aeruginosa* و 20 ملم لجرثومة *Pr . vulgaris* أما المستخلص المائي فقد أعطى فعالية تجاه جرثومة *S. aureus* فقط وقد كان قطر منطقة التثبيط 15 ملم بينما لم يعطي المستخلصان أي فعالية تثبيطية تجاه الفطريات المستخدمة قيد الدراسة وكما موضح في (الجدول 2) و (الصورة 1) .

E.coli

S.aureus

Ps.aeruginosa



Pr.vulgaris

صورة (1) :فعالية المستخلص الكحولي لنبات الأفسنتين تجاه الأنواع الأربعة من الجراثيم

جدول (2) فعالية المستخلص الكحولي والمائي لنبات الافسنتين ضد الجراثيم والفطريات المختبره

	قطر منطقة التثبيط (ملم)	
العزلات	المستخلص الكحولي	المستخلص المائي
S. aureus	30	15
E. coli	25	0
Ps. aeruginosa	24	0
Pr. Vulgaris	20	0
A. niger	0	0
A. terrus	0	0
A. fumigatus	0	0

التركيز المثبط الأدنى MIC

يوضح (الجدول 3) التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات الأفسنتين تجاه الجراثيم قيد الدراسة وقد كان MIC لجرثومة *S.aureus* 50 ملغم/مل و 100 ملغم/مل لكل من جرثومتي الـ *E.coli* و *Ps.aeruginosa* و 150 ملغم/مل لجرثومة *Pr.vulgaris* .

جدول (3) التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات الأفسنتين تجاه الجراثيم

العزلات	MIC mg\ml
S .aureus	50
E . coli	100
Ps , aeroginosa	100
Pr . vulgaris	150

المناقشة

اظهرت النتائج المبينة في جدول (1) احتواء المستخلص الكحولي لنبات الأفسنتين على القلويدات ، الكلاكوسيدات ، التانينات و الفلافينويدات ولهذه المركبات فعالية ضد مايكروبية واسعة المدى [11 ، 12].

أما الجدول (2) فيشير الى نتائج فعالية المستخلص الكحولي والمائي تحت التركيز (0.150) mg/ml وقد اعطى المستخلص الكحولي تثبيطا للجراثيم أعلى من المستخلص المائي وقد يعود السبب الى قطبية الكحول التي تؤدي دورا مهما في استخلاص بعض المركبات الفعالة من دون المذيبات الأخرى مما يؤدي الى ترسيب أكبر كمية ممكنة من المركبات الفعالة في أثناء الأستخلاص [13] . ان استخدام الكحول في الأستخلاص يعمل على ترسيب العديد من المركبات الفعالة ومنها الفلافينويدات وهى مركبات أروماتية حاوية على مجاميع هيدروكسيل حرة ومتعددة وأن القدرة التثبيطية لهذه المركبات تزداد بزيادة هذه المجاميع وذلك من خلال تكوين أواصر هيدروجينية بين مجاميع الهيدروكسيل للمركب ومجاميع الكبريت لبروتين الخلية المايكروبية مما يؤدي الى تغير طبيعة البروتينات الخلوية مسببة ترسيبها وفقدان وظيفتها[14] . أما القلويدات فتمتاز بكفائتها ضد المايكروبية اذ ترتبط هذه المركبات بالحامض النووي الـ DNA للميكروبات وبالتالي منع نمو الخلايا [15] . أما الجدول (3) فيوضح التركيز المثبط الأدنى MIC والذي تراوح بين (150 ـــــ 50) mg\ml ونلاحظ زيادة الـ MIC في الجراثيم السالبة وانخفاضه في الموجبة وذلك بسبب احتواء غشاء خلايا الجراثيم السالبة على كمية من الدهون أكثر من الجراثيم الموجبة وهذه الدهون تمنع نفاذ المركبات الفعالة الى داخل الخلية وبالتالي يؤثر على تثبيطها [16] . أما بالنسبة الى الفطريات فلم يبدى النبات أي فعالية تثبيطية تجاه الفطريات قيد الدراسة وذلك لربما بسبب مقاومة مكونات جدار خلية الفطر [17] . أو لربما بسبب وجود انزيمات يفرزها الفطر قد تزيد من مقاومته لتلك المواد الفعالة [18] .وقد يعزى السبب الى عدم كفاية التراكيز المستخدمة لأحداث التاثير المطلوب .

أما السمية الخلوية فقد أظهرت التراكيز العالية تحللا دمويا بسيطا لذلك لايجوز تجاوز جرعاته عن المقدار المحد د له وهذا ما ذكره [4] حيث اشار الى ان الأفسنتين يحتوي على قلويد سام لذلك يجب التقيد عند التعامل مع هذا النبات .

المصادر

1- المياح ، عبد الرضا علوان . النباتات الطبية والتداوي بلأعشاب . (2001) . جامعة البصرة – جامعة تعز .

2- الجبوري ، محيميد مد الله . (1990) - علم البكتريا الطبية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل .

3-Ahmad , S. and swedlund, S. (1998) . Evaluation and treatment of unirary tract infections in chidren Aerican family phy sician .57.(7).1573-1581

4- http://www.dr. Nada.com/Herbs/wormwood.html

5- مجيد ، سامي هاشم و مهند جميل محمود . (1988) . النباتات والاعشاب بين الطب الشعبي والبحث العلمي . مجلس البحث العلمي ، مركز بحوث علوم الحياة ، قسم العقاقير وتعقيم الادوية

6- http://www.Shammel.net/herbs/gorhaa.Php

7- عطوان ، زينب وحيد وفاطمة صيوان وفردوس نوري جعفر . (2005) . اختبار الفعالية الحياتية لمستخلص زهرة العصفر تجاه الجراثيم والفطريات . مجلة ابحاث البصرة (العلميات) العدد 31 ، الجزء الثالث 39 – 47 .

8- Perez,C.,Pauli,M. And Bazerque,P.(1990) . An antibiotic assay by the agar –well diffution method. J.Actabiologiae , 15: 113-115 .

9- National committee for clinical Laboratory standards method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4. National committee of clinical Laboratory standards . Wayne . PA . U.S.A. (1997) .

10- Xian – guo,H. and Ursella, M.(1994).Antifungal compounds form *solanum nigrescens*. J. Ethanopharm.,43:173-177.

11- Nicholas,D.and John,B. (1963) . Identification of organic compounds .

12- Owan,M.M.(1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Review,12:564-582 .

13- Kelmanson,J.E.,Jager,A.K. and Staden, J. V. Zulu medicinal plants with antibacterial activity . J. Ethnopharmcol . 69:241-246 . (2000) .

14- Feeny,P.,(1998).Inhibtory effect of Oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypsine. J.Phytochmistry,8:209-212.

15- Marr,w.,Tan,G.T.,Gordell,G.A.and pezzuo,J.M.(1991).Biological activity of novel microcyclic alkaloids from Albizi amara detected on the basis of interaction with DNA . J. Nat. Prod.,54:1531-1542 .

16- Salton,M.R.J.(1964). The bacterial cell wall. Elsevier,Amsterdam. The Netherlands.

17- Brooks,G.F.,Butel,J.S.Ornston , L. N. Medical microbiology , AIANGE , Medical book Appleton and LANGE , 20:137 -142. (1995) .

18 – الرحمة ، عبدالله بن ناصر ، أساسيات علم الفطريات . جامعة الملك سعود ، الرياض ، ص 179 – 242 . الطبعة الرابعة . (2005) .

The inhibitory activity of *Artemisia absinthium* against some species of bacteria and fungi

Sabriya Abd-Ali Mohammed and Layla Nasser Harub

Department of Biology / College of Education
University of Basrah.

Abstract :

In this study , the antimicrobial and antifungal effect of aqueous and alcoholic extracts of *Artemisia absinthium* were assayed against bacteria like *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa , Proteus vulgaris* and fungi like *Aspergillus niger , Aspergillus terrus and Aspergillus fumigatus* .

The result indicated that the alcoholic extract gave clear inhibitory activity against all the tests bacteria under concentration by the range of (20-30) mm but the aqueous extract gave inhibitory activity against *S.aureus* only , while both the extract don't gave any inhibitory activity against fungi.

The MIC value was detirminated by the range from (50-150) mg/ml .