متوفرة على الموقع:http://www.basra-sciencejournal.org

ISSN –1817 –2695

عزل و تشخيص مركبات حامض الكافائيك و يوجينول و فينول– 2 – ميثوكسي – 3 – (2 – بروبينيل) من ثمار نبات الخرنوب و دراسة فعاليتها كأدوية مضادة للبكتريا المرضية للمجاري البولية

عباس دواس مطر المالكي ونزار لطيف شهاب الدين وهشام مناحي طالب الريحاني

قسم الكيمياء – كلية التربية – جامعة البصرة

البصرة – العراق

الاستلام 26-7-2011، القبول 15-11-2011

المستخلص

عزلت وشخصت بعض المركبات الفينولية وهي حامض الكافائيك و يوجينول و فينول-2- ميثوكسي-3- (2-بروبينيل) من ثمار نبات الخرنوب. واستعملت الطرائق الفيزيائية والكيميائية للتشخيص وهي طيف الأشعة المرئية وفوق البنفسجية و طيف الأشعة تحت الحمراء ومطيافية الكتلة المعتمدة على كروماتوغرافيا الغاز وتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وكروماتوغرافيا العمود و كشف المجاميع الفعالة و درجة الإنصهار. تم دراسة الفعالية الدوائية لهذه المركبات المعزولة بتركيز (150 mg/ml) ضد خمسة أنواع من البكتريا المرضية المسببة لإلتهابات المجاري البولية وهي *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Proteus* sp. و *Klebsiella* sp. و *Pseudomonas aeraginosa* وحدد التركيز المثبط الأدنى و السمية الخلوية لهذه المركبات و أيضاً تم مقارنة التأثير الدوائي للمركبات الفينولية المعزولة مع بعض المضادات الحياتية و هي الأمبيسيلين و الكفلاكسين و السيبروفلوكساسين و الستربتومايسين و التتراسايكلين إذ أظهرت المركبات المعزولة أنها ذات تأثير دوائي واضح في تثبيط نمو البكتريا مقارنة مع تاثير هذه المضادات الحياتية ولوحظ أنه ليس هناك تأثير سمي ضد كريات الدم الحمر للإنسان، وعليه فأنه يوصى بامكانية استعمال المركبات الفينولية المعزولة كبدائل دوائية عشبية لعلاج التهابات المجاري البولية بدلاً من المضادات الحياتية المستعملة ذات التأثيرات الجانبية لكن هذا العمل يتطلب المزيد من الدراسات السريرية و الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية:نبات الخرنوب ،حامض الكافائيك،فينول-2-ميثوكسي-3-(2-بروبينيل)،يوجينول، الفعالية الدوائية،البكتريا المرضية،التهابات المجاري البولية.

*البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثالث .

المقدمة

يتعرض الجهاز البولي إلى العديد من الحالات المرضية التي تسبب الإلتهابات. و إن من أهم أسباب إلتهابات المجاري البولية هي الإصابة بالبكتريا المرضية التي تدخل إلى القنوات البولية و التي تؤدي إلى الإخلال في الأداء الوظيفي لها [1] اذ تصاب المثانة بهذه البكتريا الممرضة و تسبب إلتهابها و يمكن أن تمتد الإصابة إلى الكليتين مؤدية إلى الإلتهاب الكلوي الحويضي و الذي يكون غالباً مزمناً و يسبب الفشل الكلوي [2]. و أن من أهم أنواع البكتريا الشائعة التي تسبب إلتهابات المجاري البولية هي *Proteus* sp. و *Klebsiella* sp. و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeraginosa* [3].

ان مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحياتية المستعملة تعني عدم قدرة المضاد الحياتي على أداء عمله في قتل هذه البكتريا و بالتالي عدم علاج الأمراض الجرثومية المختلفة [4]. و تكون المقاومة التي تبديها الأحياء المجهرية بما فيها البكتريا على نوعين و هي مقاومة داخلية Endogenous resistance و هي تحدث عن طريق تحوير مركز هدف المضاد الحيوي في الكائن المجهري من خلال الطفرات الجينية إذ يقوم هذا الكائن بتغيير الموقع المستهدف من المضاد الحياتي، ومقاومة خارجية Exogenous resistance و تحدث عن طريق إختزال النفاذية الخلوية و ذلك بتقليل نفاذية العلاج و زيادة ضخه إلى خارج الخلية البكتيرية [5]. كما أنه بالإمكان تحطيم المضاد الحياتي من خلال إنتاج بعض الإنزيمات الخاصة لتثبيط عمل هذا المضاد الحياتي [6]. كما أن التقدم الحاصل في الكيمياء العضوية قد فتح الباب لتصنيع العديد من المركبات الكيميائية كأدوية و لكن بسبب الآثار الجانبية الضارة لكثير من هذه الأدوية فقد استعملت النباتات الطبية كبديل 7]، لأسباب كثيرة منها المقاومة التي تبديها الأحياء المجهرية المرضية ضد الأدوية المصنعة معملياً و التي تؤدي إلى ظهور مشاكل سريرية إذ ظهرت في الآونة الأخيرة جراثيم ذات مقاومة متعددة للمضادات الحياتية [8]. كما أن الكثير من الأدوية المصنعة لا تزال تفتقر إلى المعلومات الدقيقة حول أعراضها الجانبية البعيدة الأمد و التي تؤدي إلى حالات خطيرة. و كذلك لا يمكن طرح بعض العقاقير بسهولة خارج الجسم إذ تترسب في الكبد على شكل سموم [9]. أن الفينولات هي مركبات أروماتية تحمل مجموعة هيدروكسيل واحدة أو أكثر و لها خواص ضد مايكروبية و هناك أصناف عديدة من المركبات الفينولية مثل التانينات و الفلافونيدات و الزانثونات و الأحماض الفينولية البسيطة و الليكنينات و الكيومارينات و تنتج الفينولات في النباتات عن طريق الأيض الثانوي لحامض الشكيميك و ذلك عند تعرض النبات لإصابة جرثومية أو فايروسية [10]. و يعد نبات الخرنوب *Prosopis farcta* واحداً من النباتات الطبية المعمرة الذي لم يحظ بالإهتمام الكبير من الباحثين إلا ببعض الدراسات المحلية و العالمية، و قد أكدت بعض الدراسات على أهمية هذا النبات فقد تم دراسة تأثير المستخلصات الكيميائية المعزولة منه على حالة إرتفاع السكر في الدم [11]، و درست التأثيرات الضد مايكروبية للسسكوتربين لاكتون المعزول من هذا النبات[12]، كما تم دراسة تأثير المستخلصات الفعالة للخرنوب على القلب و الأوردة ، كما وجد بأن لمستخلصات بذور هذا النبات تأثيرا تثبيطيا ضد بعض الفطريات [13].

و لهذا جاءت هذه الدراسة متضمنة عزل ثلاثة مركبات فينولية من ثمار نبات الخرنوب و دراسة فعاليتها الدوائية ضد البكتريا المرضية المسببة لإلتهابات المجاري البولية و بالتالي إيجاد بدائل دوائية عشبية متوفرة رخيصة الثمن لعلاج هذه الحالة المرضية و إستعمالها بدلاً من المضادات الحياتية المعروفة ذات التأثيرات الجانبية.

المواد و طرائق العمل

نبات الدراسة

جمعت ثمار نبات الخرنوب *Prosopis farcta* من المزارع الواقعة في ناحية عز الدين سليم \ شمالي محافظة البصرة – العراق في شهر حزيران 2008، و غسلت بماء الإسالة ثم الماء المقطر بعد ذلك

العزلات البكتيرية المستعملة

تم الحصول على العزلات البكتيرية الآتية من ادرار بعض الأشخاص المصابين بإلتهابات المجاري البولية في مستشفى الفيحاء العام في محافظة البصرة، و هي:

Escherichia coli., Staphylococcus aureus., Proteus sp., *Klebsiella* sp. *Pseudomonas aeraginosa.*

و تم التأكد من تشخيص العزلات البكتيرية السريرية في مختبر أبحاث البكتريا في قسم علوم الحياة – كلية التربية في جامعة البصرة.

الأوساط الزرعية المستعملة

و Muller Hinton Agar

استعملت الاوساط Nutrient Broth الزرعيةوهي

و قد تم تحضيرها طبقاً للمعلومات المعينة من قبل شركة التصنيع .

عزل المركبات الفينولية من مسحوق ثمار نبات الخرنوب

أضيف 50 غم من مسحوق الثمار منزوع الدهن إلى 250 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك (2% V\V)، وضع المزيج في حمام مائي بدرجة 60 ْم لمدة 8 ساعات، بعد ذلك رشح المزيج بإستعمال جهاز الترشيح تحت الضغط المخلخل، أهمل الراسب و قيس حجم الراشح ثم أضيف إليه بقدر حجمه ثنائي أثيل أيثر و ترك المزيج في حمام مائي مرة أخرى بدرجة 35 ْم و لمدة5 دقائق ، ثم بخر المذيب و ركز الراشح بواسطة جهاز المبخر الدوار و كانت الحصيلة هي المركبات الفينولية بوزن 4.75غم [14].

فصل المركبات الفينولية لثمار الخرنوب بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

أستعملت تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في فصل المركبات الفنولية وباستعمال المذيب (n- بيوتانول – حامض الخليك – ماء مقطر) بنسبة (4: 1: 5) كسائل مفرق ثم أضيف مزيج الفينولات المعزولة المذابة بمحلول السائل المفرق بهدوءالى العمود و كان معدل سريان المذيب هو 0.6 مل\دقيقة ، جمعت العينات المفصولة من نهاية العمود بأنابيب إختبار و أختبرت مكونات كل عينة بإستعمال TLC و جمعت المركبات ذات معامل الأنسياب (R_f) المتشابهة معاً ضمن مجموعة واحدة، بخرت المذيبات ثم جففت العينات و حفظت في الثلاجة [16]

التشخيص بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية

سجل طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية للمركبات الفينولية التي تم فصلها بتقنية كروماتوغرافيا جففت بالظل ثم طحنت و وضعت في قناني بلاستيكية معتمة و معقمة و محكمة الغطاء، و حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة5 ْم لحين الإستعمال.

5)على التوالي كطور متحرك وشخصت البقع بوساطة بخار اليود و مصباح الأشعة فوق البنفسجية و كلوريد الحديديك (1%). تم حساب معامل الإنسيابية (R_f) لكل بقعة [15].

فصل المركبات الفينولية لثمار الخرنوب بإستعمال كروماتوغرافيا العمود

تم فصل المركبات الفينولية عن بعضها البعض بإستعمال تقنية العمود و ملئ بمستحلب هلام السليكا C_{60} و أستعمل(n- بيوتانول – حامض الخليك – ماء مقطر) بنسبة (4 :1: 5) كسائل مفرق ثم أضيف مزيج الفينولات المعزولة المذابة بمحلول السائل المفرق بهدوءالى العمود و كان معدل سريان المذيب هو 0.6 مل\دقيقة ، جمعت العينات المفصولة من نهاية العمود بأنابيب إختبار و أختبرت مكونات كل عينة بإستعمال TLC و جمعت المركبات ذات معامل الأنسياب (R_f) المتشابهة معاً ضمن مجموعة واحدة، بخرت المذيبات ثم جففت العينات و حفظت في الثلاجة [16]

العمود، و لمدى من الأطوال الموجية تتراوح بين (200-800 nm) بوساطة جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية و بإستعمال خلايا الكوارتز.

التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء

سجل طيف الأشعة تحت الحمراء لكل مركب فينولي تم فصله بتقنية كروماتوغرافيا العمود و ذلك إستعمال جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء و ذلك إستعمال بروميد البوتاسيوم على شكل قرص (KBr disc) – و كلوريد الصوديوم على شكل قرص (NaCl – disc) أيضاً و كان المدى الطيفي بين (500 – 3500) سم$^{-1}$.

التشخيص بجهاز كروماتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة

تم فصل و تشخيص مزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب بإستعمال تقنية كروماتوغرافيا الغاز - طيف الكتلة (GC- mass) في مختبرات جامعة آل البيت في المملكة الأردنية الهاشمية.

قياس درجة الإنصهار

تم قياس درجة الإنصهار للمركب الفينولي (A*) المعزول من ثمار نبات الخرنوب بإستعمال جهاز قياس الإنصهار.

تقييم الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية.

أستعملت طريقة الإنتشار بالآكار Agar well diffusion و ذلك بصب 20 مل من الوسط الزرعي Muller Hinton Agar لكل طبق زجاجي ثم لقح الوسط بـ 0.1 مل من العالق البكتيري ذو الكثافة الضوئية 0.1بطول موجي 450 نانومتر بإستعمال جهاز المطياف الضوئي و ذلك بوساطة ناشر زجاجي معقم، بعد ذلك تركت الأطباق لمدة (15 – 30) دقيقة، ثم عملت حفر بإستعمال ثاقب معدني و أضيف 0.1 مل من مستخلص مزيج المركبات الفينولية بتراكيز (25، 50، 100، 150 ملغم\مل) في هذه الحفر، حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24 ساعة. قيست أقطار منطقة التثبيط لجميع أنواع البكتريا [17]. و تمت مقارنة الفعالية الدوائية مع فعالية المضادات الحياتية مثل الأمبيسيلين و الكفلاكسين و السيبروفلاكسين و الستربتومايسين و التتراسايكلين.

تقييم الفعالية الدوائية للمركبات الفينولية المفصولة بتقنية (كروماتوغرافيا العمود) ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

أتبعت طريقة الانتشار في الاكار السابقة الذكر و لكن باستعمال كل مركب مفصول على حدة و بتركيز (150 ملغم\مل) و دراسة الفعالية الدوائية ضد البكتريا المذكورة [17].

دراسة التركيز المثبط الأدنى لمزيج المركبات الفينولية المعزولة

أختبر مزيج المركبات الفينولية الذي أعطى أعلى فعالية ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية لغرض تحديد التراكيز المثبطة الدنيا ضد البكتريا المدروسة، إذ تم إنماء البكتيريا في الوسط الغذائي الصلب Nutrient broth لمدة 6 ساعات، بعد ذلك أخذ 0.1 مل من العالق البكتيري الحاوي على (1×10^6 خلية بكتيرية /مل)، وضعت على شكل قطرات على سطح أطباق الآكار الحاوية على التراكيز (0.5، 1، 3، 5، 10،15، 20،25، 35، 40 ملغم/ مل) من مزيج المركبات الفينولية و وضعت الأطباق بدرجة 37 ْم لمدة 24 ساعة [18].

تحديد السمية الخلوية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة

تم تحديد السمية الخلوية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب، إذ حضرت سلسلة من التراكيز و ذلك بإذابة 2.0 غم من المركبات الفينولية في 10 مل من محلول رينكر ثم خففت بنسب (1:1, 1:10, 1:100, 1: 1000 V\V). أستعمل معامل سيطرة سالب يحتوي على محلول رينكر Normal saline و معامل سيطرة موجب يحتوي على ماء الإسالة ثم وضع 0.8 مل من كل تركيز في أنبوبة إختبار معقمة من نوع Eppendrof tube تحتوي على مادة مانعة للتخثر و أضيف لكل أنبوبة 0.2 مل من الدم

ليصبح الحجم لكل أنبوبة هو 1 مل، بعد ذلك حضنت الأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 37 ْم لمدة نصف ساعة ثم أجريت عملية الطرد المركزي لمدة 5 دقائق بسرعة (3000 rpm) و أخيراً فحصت الأنابيب لملاحظة التحلل الدموي و سجلت النتائج [19].

النتائج و المناقشة

نتائج عزل المركبات الفينولية من نبات الخرنوب

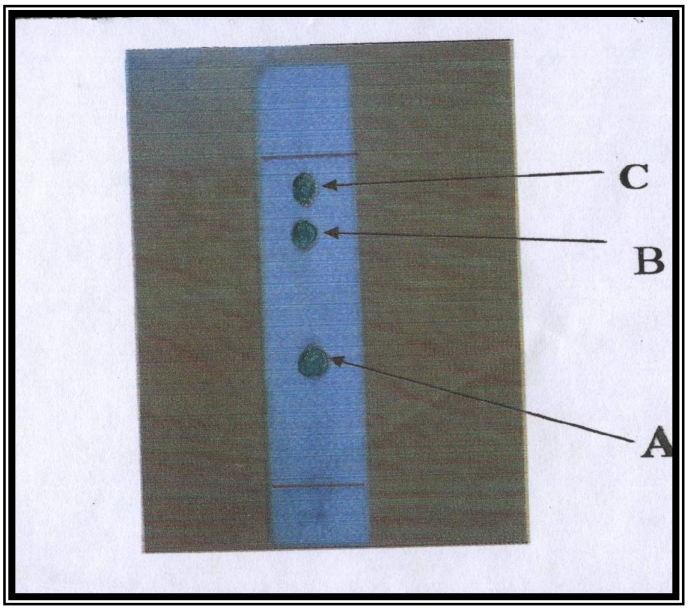
أن نسبة الإستخلاص التي تم الحصول عليها(9.5)هي أعلى مما وجد في دراسة أخرى حول تأثير الموقع الجغرافي على نسب المركبات الكيميائية الفعالة في نبات الخرنوب في موقعين مختلفين من جمهورية تونس، إذ كانت نسبة المركبات الفينولية في ثمار الخرنوب في منطقة نابل هي 3.1% أما في منطقة قابس فكانت 3.9% و يعود السبب في ذلك إلى أن نسب الإستخلاص المئوية للمركبات الفعالة في أي نبات تختلف بإختلاف البيئة التي يعيش فيها ذلك النبات [20].

نتائج فصل المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

يوضح الجدول (1) و الشكل (1) فصل المركبات الفينولية من ثمار نبات الخرنوب بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إذ تبين أن هناك ثلاثة بقع تم الإشارة إليها بالرموز A و B و C و بمعدلات سريان (R_f)هي 0.84و 0.73 و 0.41 على التوالي .

جدول (1) فصل المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)

الإستنتاج	معدلات السريان (R_f)	المركبات الفينولية A , B , C	الإختبار	مذيب التصعيد
مركبات نقية	A= 0.41 B= 0.73 C= 0.84	Light green	العين	n-بيوتانول- حامض الخليك - ماء مقطر (4: 1: 5)
مركبات عضوية	A= 0.41 B= 0.73 C= 0.84	Brown	بخار ليود	
وجود نظام تعاقب الآصرة المزدوجة	A= 0.41 B= 0.73 C= 0.84	Light Violet	مصباح UV	
وجود المركبات الفينولية	A= 0.41 B= 0.73 C= 0.84	Bluish green	$FeCl_3$(1%)	



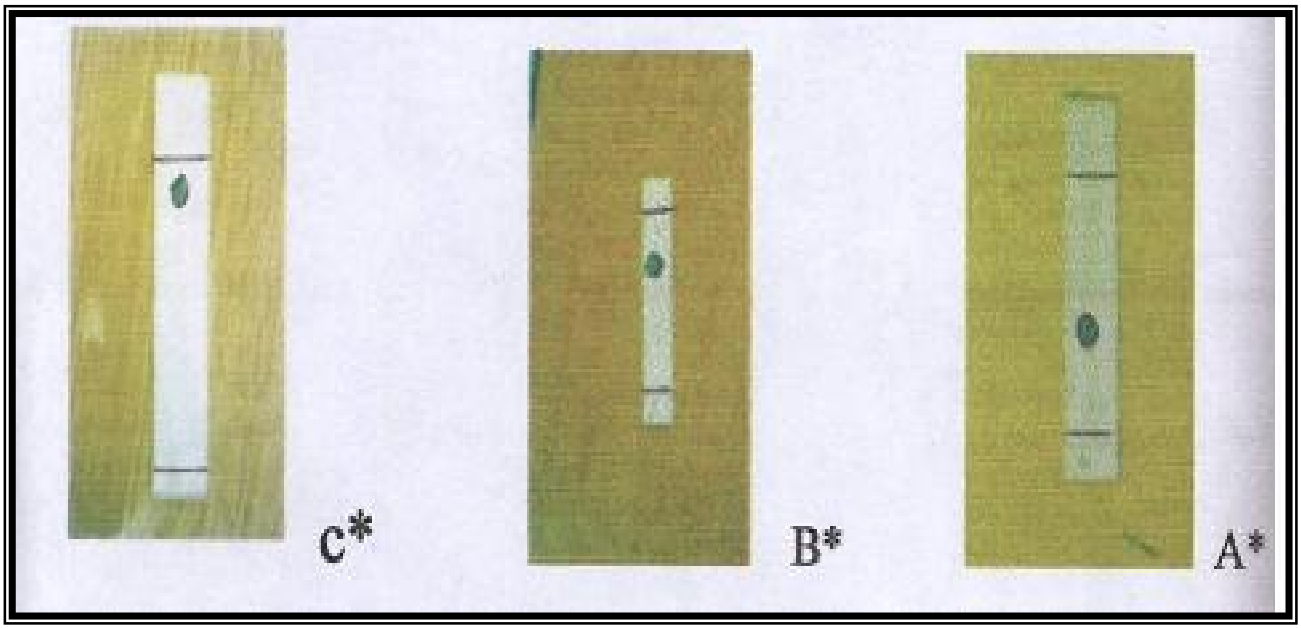
شكل (1) نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمزيج المركبات الفينولية

نتائج فصل مزيج المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا العمود

يوضح الجدول (2) نتائج فصل المركبات بتقنية كروماتوغرافيا العمود إذ تم الحصول على ثلاثة مركبات بصورة نقية أشير إليها (*C*, B*, A) و قد تم التأكد من المركبات المفصولة بإستعمال تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و كانت قيم معدلات السريان لهذه البقع هي (0.41و 0.73 و 0.84) على التوالي، و من خلال مقارنة القيم التي تم الحصول عليها بتقنية TLC مع القيم التي حصل عليها من تقنية كروماتوغرافيا العمود، يتضح أن هناك تطابقاً كبيراً للمركبات *A و *B و *C بنسبة 100% و بالتالي فأن المركبات التي تم فصلها بتقنية TLC هي نفسها المركبات التي تم الحصول عليها بتقنية كروماتوغرافيا العمود.

جدول (2) قيم معامل السريان المقاسة بتقنية TLCللمزيج المفصول بالعمود

قيمة معامل السريان R_f	مزيج المركب الفينولي
0.41	A*
0.73	B*
0.84	C*



R_f=0.84 **R_f=0.73** **R_f=0.41**

شكل (2) TLC للمركبات (*C* , B* ,A) المفصولة بتقنية العمود وقيم R_f التابعة لها .

الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة بتركيز (150 mg/ml) ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

أعطى التركيز (150) ملغم\مل أعلى فعالية من جميع التراكيز المستعملة لذا تم إعتماده في الدراسة، يوضح الجدول (3) أن المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب لها فعالية عالية ضد البكتريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella* sp. اذ أعطت أقطار تثبيط قيمته (34 ,29 ,25 ,20 ملم) على التوالي و فعالية متوسطة بقطر تثبيطي (18) ملم ضد بكتريا *Proteus* sp. و يعود السبب في الفعالية العالية للتثبيط أن المركبات الفينولية المعزولة تتميز بقدرتها على الإرتباط مع المواقع الفعالة للإنزيمات و

تثبيط عملها عن طريق تكوين أواصر هيدروجينية بين مجاميع الهيدروكسيل المرتبطة بالحلقات الأروماتية و مجاميع الكبريت للإنزيم الخلوي مما يؤدي إلى تغير طبيعة الإنزيمات و ترسيبها و فقدان وظيفتها [21] إضافة إلى ذلك فأن للمجاميع الهيدروكسيلية المرتبطة بالفينولات القدرة على تكوين أواصر هيدروجينية مع بروتينات الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى تحطيمه و تغيير نفاذيته و كذلك الحال لبقية البروتينات في الكائن المجهري [22].

جدول (3) نتائج الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية بتركيز (150 mg/ml) ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

البكتريا / المركبات المعزولة	أقطار منطقة التثبيط (mm)				
	Staph. aureus	*E. coli*	*P. aeruginosa*	*Klebsiella* sp.	*Proteus* sp.
الفينولات	29	34	25	20	18

نتائج التركيز المثبط الأدنى للمركبات الفينولية المعزولة ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

لقد أوصت منظمة الصحة العالمية (WHO) بتعيين التركيز المثبط الأدنى (MIC) لكل مادة معزولة من النباتات الطبية.

إن التركيز المثبط الأدنى هو أقل تركيز من المادة المعزولة له القدرة على تثبيط نمو البكتريا المرضية[12]. لقد أظهرت النتائج في الجدول (4) أن أعلى تركيز مثبط هو (35 ملغم\مل) و قد سجل ضد بكتريا .*Proteus* sp في حين كان أقل تركيز مثبط هو (5 ملغم\مل) و قد سجل ضد بكتريا *Escherichia coli* بينما كانت قيم MIC لبكتريا *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella* sp. هي (15 و 15و 20 ملغم\مل)على التوالي. و يتبين من الجدول (4) أن المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب التي لها فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا معينة يكون تركيزها المثبط الأدنى واطئا و العكس صحيح.

جدول (4) نتائج التراكيز المثبطة الدنيا لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب ضد بكتريا إلتهابات للمجاري البولية

البكتريا / تركيز المركبات المعزولة	قيم التركيز المثبط الادنى(ملغم\مل)				
	E.coli	*Staph. aureus*	*P. aeruginosa*	*Klebsiella* sp.	*Proteus* sp.
الفينولات	5	15	15	20	35

تحديد السمية الخلوية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب

يوضح الجدول (5) نتائج التحلل الدموي لتحديد قيمة السمية الخلوية. و يظهر من الجدول بأن مزيج المركبات الفينولية التراكيز (0.2، 2، 20، 100 ملغم\ مل) المعزولة من ثمار نبات الخرنوب لم يظهر أي سمية ضد كريات الدم الحمر للإنسان.

جدول (5) نتائج السمية الخلوية للمركبات الفينولية ضد كريات الدم الحمر للإنسان

التحلل الدموي	تركيز المركبات الفينولية (mg/ml)
-	0.2
-	2
-	20
-	100

- تعني عدم وجود تحلل لكريات الدم الحمر

إن إختبار السمية الخلوية يعد أحد أهم الإختبارات الواجب إجراؤها على المركبات المحضرة صناعياً أو المعزولة من النباتات الطبية و ذلك حسب توصيات منظمة الصحة العالمية (WHO) [22]

مقارنة الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية مع فعالية بعض المضادات الحياتية

يوضح الجدول (6) الفعالية الدوائية للمركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية مع فعالية المضادات الحياتية (الأمبيسيلين و الكفلاكسين و السيبروفلاكسين و الستربتومايسين و التتراسايكلين) . لقد أعطت المركبات الفينولية بالتركيز (150 ملغم\مل) أقطار تثبيط هي (34 و 29 و18 و 25 و 20 ملم) ضد البكتريا المرضية (*Staphylococcus aureus* و *E.coli* و *Proreus* sp. و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella* sp.) على التوالي. لقد أظهرت البكتريا المرضية جميعها مقاومة ضد المضادين الحياتيين (الأمبيسيلين و الكفلاكسين) في حين كانت أقطار التثبيط للمضاد الحياتي السيبروفلاكسين ضد بكتريا (*Staphylococcus aureus* و *E.coli* و *Proreus* sp. و *Pseudomonas aeruginosa*) هي (24 و 34 و 27 و 29 ملم) على التوالي بينما أظهرت بكتريا *Klebsiella* sp. مقاومة ضد المضاد الحياتي السيبروفلاكسين. سجلت أقطار التثبيط للستربتومايسين ضد بكتريا (*Staphylococcus aureus* و *E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa*) حيث كانت (12 و 17 و 22 ملم) على التوالي في حين كانت هناك مقاومة من بكتريا *Proteus* sp. و *Klebsiella* sp. تجاه المضاد الحياتي الستربتومايسين. بينت النتائج أيضاً أن التتراسايكلين قد أعطى فعالية تثبيطية ضد بكتريا (*Staphylococcus aureus* و *E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella* sp.) وبأقطار تثبيط هي (32 و 24 و 28 و 32 ملم) على التوالي في حين لم تستجب البكتريا *Proreus* sp. لهذا المضاد الحياتي

جدول (6) الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب مقارنة بفعالية المضادات الحياتية ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

المركبات المعزولة و المضادات الحياتية	التركيز mg/ml	أقطار منطقة التثبيط (mm)				
		Staph. aureus	*E. coli*	*Proteus* sp.	*P. aeruginosa*	*Klebsiella* sp.
الفينولات	150	34	29	18	25	20
أمبيسيلين	0.01	0	0	0	0	0
كفلاكسين	0.03	0	0	0	0	0
سيبروفلاكسين	0.005	24	34	27	29	0
سيتربتومايسين	0.01	12	17	0	22	0
تتراسايكلين	0.03	32	24	0	28	32

يتضح من الجدول (6) إن الفعالية الدوائية لمزيج المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب قد تفوقت على الفعالية الدوائية للمضادات الحياتية و ذلك لأن المركبات الفينولية قد أعطت فعالية

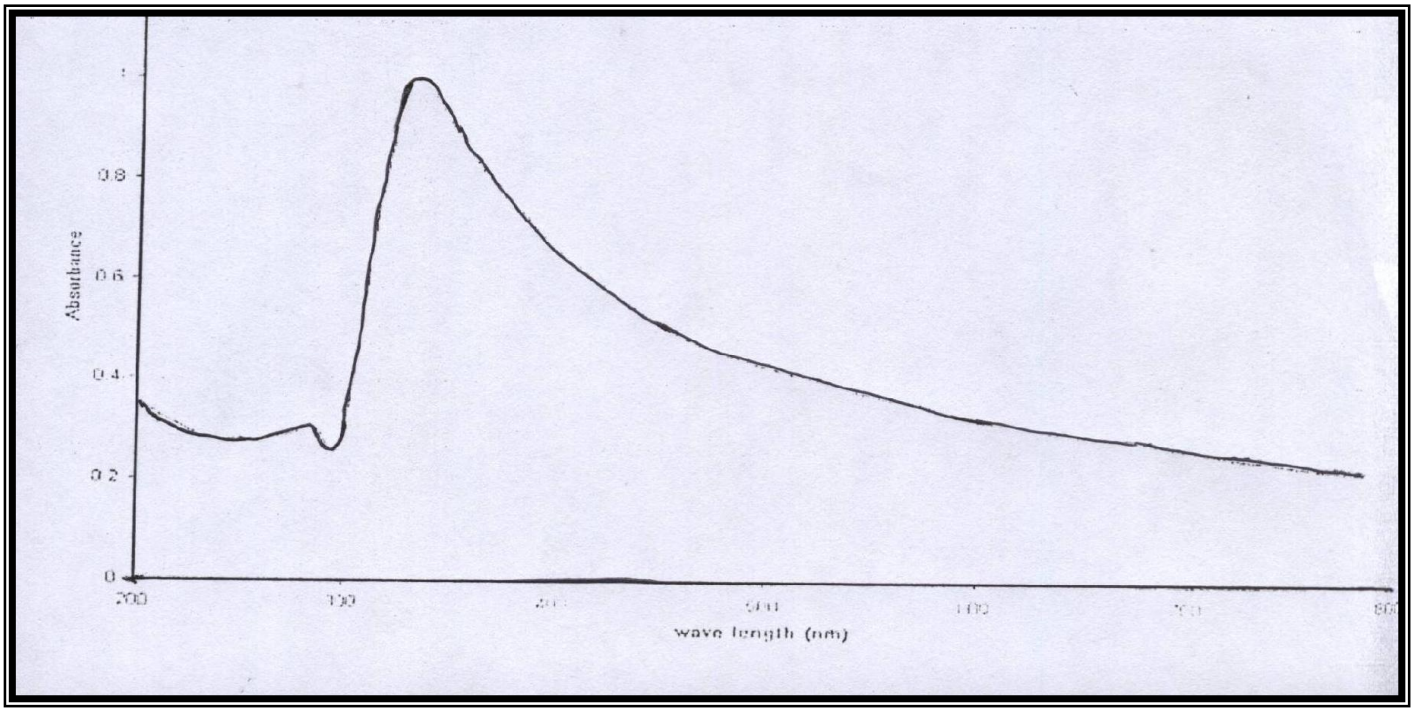
تثبيطية ضد جميع أنواع البكتريا المرضية أي أن هـذه البكتريا لم تظهر أي مقاومة تجاه هذه المركبـات بينمـا كانت هناك مقاومة لجميع أنواع البكتريا المرضية ضـد المضادين الحياتيين (الأمبيسيلين و الكفلاكسين) و مقاومة أبدتها بكتريا *Proteus* sp. ضد كل من الستربتومايسين و التتراسايكلين. أن الكفاءة العاليـة للفعاليـة الدوائيـة للمركبات الفينولية يعزى إلى فعـل التـداخل التـآزري synergistic interaction لهذه المركبات [23 ، 24]. و من خلال هذه الميزة التي تمتلكها المركبات الفينولية، فأنه يمكن إستعمال هذه المركبات مجتمعـة أو منفـردة كدواء طبيعي لعلاج إلتهابات المجاري البولية بدلاً مـن المضادات الحياتية المستعملة ذات التـأثيرات الجانبيـة side effects.

نتائج قياس درجة الإنصهار للمركب A*

تم قياس درجة الإنصهار للمركـب الفينـولي المعزول A* و وجد أنها في المدى الواقع ما بين 223 (225 – ْم) و تبين بأن المركب المعزول هو مركب نقي تماماً.

تشخيص المركب الفينولي A* بمطيافية الأشعة فـوق البنفسجية و المرئية

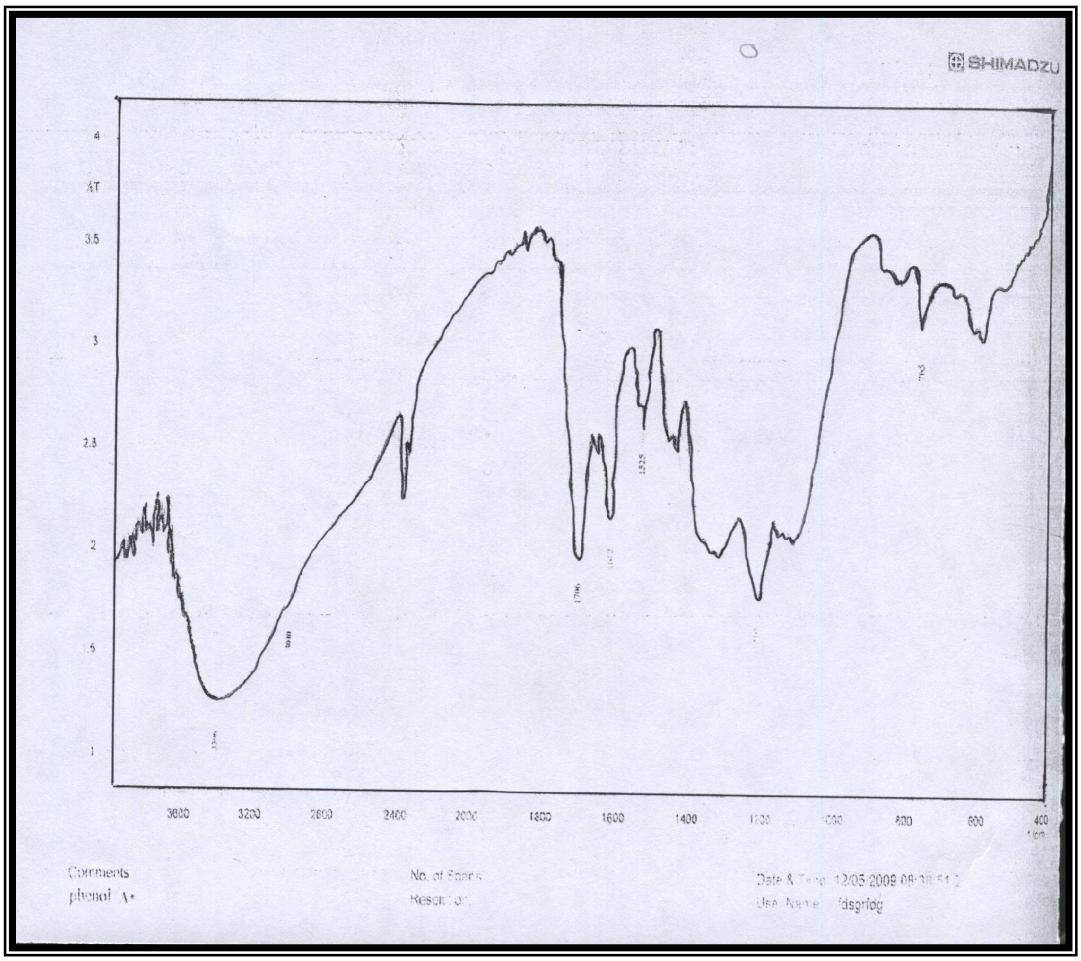
يبين الشكل (3) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية للمركب الفينولي A* و بمدى مـن الأطـوال الموجية (200 – 800 nm) إذ ظهرت حزمتان الأولـى عند الطول الموجي (295 nm) ذات الشدة الواطئـة. و التي تعزى إلى الإنتقال الإلكتروني مـن نـوع (π-π*) الذي يعود إلى إلكترونات π فـي الحلقـة الأروماتيـة. والحزمة الثانية ظهرت عند الطول الموجي (327 nm) وكانت ذات شدة عالية وتعزى إلى الإنتقال الإلكترونـي من نوع (π-π*) الذي يعود إلى وجود نظـام تعاقـب (C=C-C=O) أو قد يعزى إلى الإنتقال الألكتروني نوع (n-π*) الذي يعود إلى المـزدوج الإلكترونـي غيـر التآصري على ذرة الأوكسجين العائدة إلـى مجموعـة الكاربوكسيل الحامضية[25].



شكل (3) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV – Vis) للمركب الفينولي A*

تشخيص المركب الفينولي *A بمطيافية الأشعة تحت الحمراء

يوضح الشكل (4) و الجدول (7) حزم الإمتصاص لطيف الأشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي *A إذ ظهرت حزمة عريضة و قوية عند العدد الموجي ($3396\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة الهيدروكسيل الفينولية ذات التآصر الهيدروجيني و حزمة ضعيفة جداً عند العدد الموجي ($3010\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-H) الأروماتية أو الألكينية، و ظهور حزمة قوية عند ($1706\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C=O) الكاربوكسيلية و أيضاً وجود حزمة متوسطة الشدة عند ($1612\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي للآصرة (C=C) الأليفاتية. عند العدد الموجي ($1525\ cm^{-1}$) ظهرت حزمة ضعيفة متعددة تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C=C) الأروماتية. كما ظهرت حزمة قوية الشدة عند ($1210\ cm^{-1}$) و العائدة إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-O) الكاربوكسيلية الحامضية و أيضاً ظهرت حزمة ضعيفة عند العدد الموجي 765) (cm^{-1}) تعود إلى الإهتزاز الإنحنائي لمجموعة(C-H=) الأليفاتية [25]



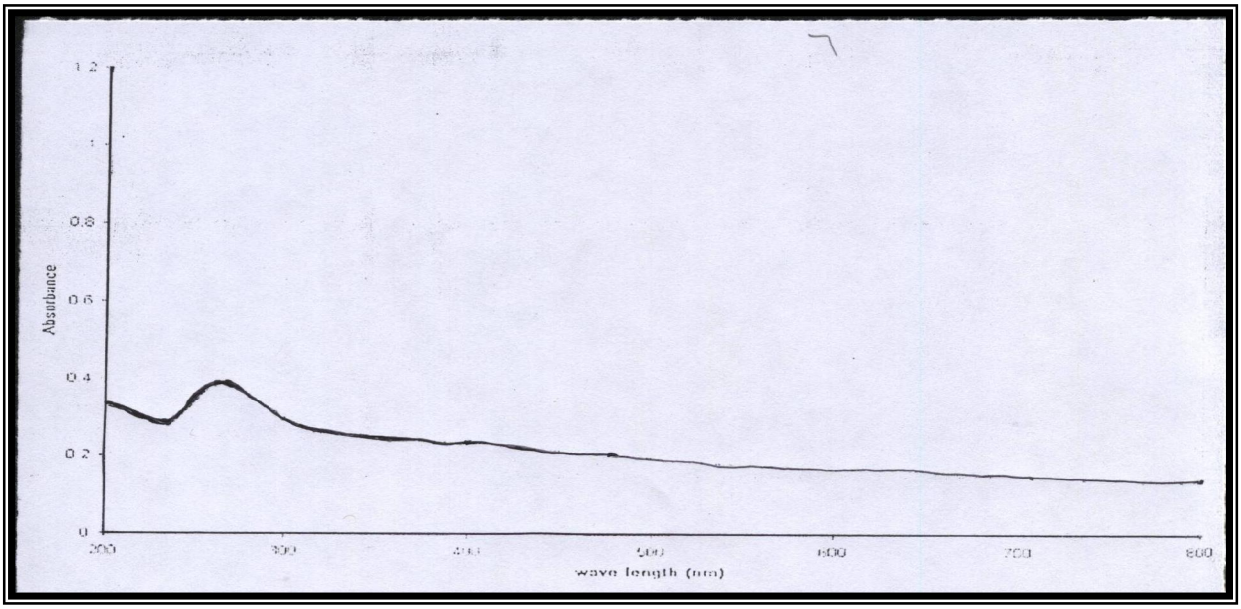
شكل(4)طيف الاشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي *A

جدول (7) حزم الإمتصاص و المجاميع التركيبية في طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي *A

المجموعة الفعالة	نوع الإهتزاز	المجموعة التركيبية	شكل الحزمة	العدد الموجي (cm^{-1})
الهيدروكسيل الفينولية	إتساعي	O-H	عريضة و قوية	3396
أروماتية أو ألكينية	إتساعي	C-H	ضعيفة جداً	3010
الكاربوكسيل	إتساعي	C=O	قوية	1706
أليفاتية	إتساعي	C=C	متوسطة	1612
أروماتية	إتساعي	C=C	ضعيفة و متعددة	1525
الكاربوكسيل	إتساعي	C-O	قوية	1210
أليفاتية	إنحنائي	=C-H	ضعيفة	765

تشخيص المركب الفينولي *B بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية

يوضح الشكل (5) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية للمركب الفينولي *B و لمدى من الأطوال الموجية (200 – 800 nm) إذ ظهرت قمة واحدة ضعيفة الشدة عند الطول الموجي (272 nm) و يعزى ظهورها إلى الإنتقال الإلكتروني من نوع (π^*-π) العائدة لألكترونات π في الحلقة الأروماتية [25]

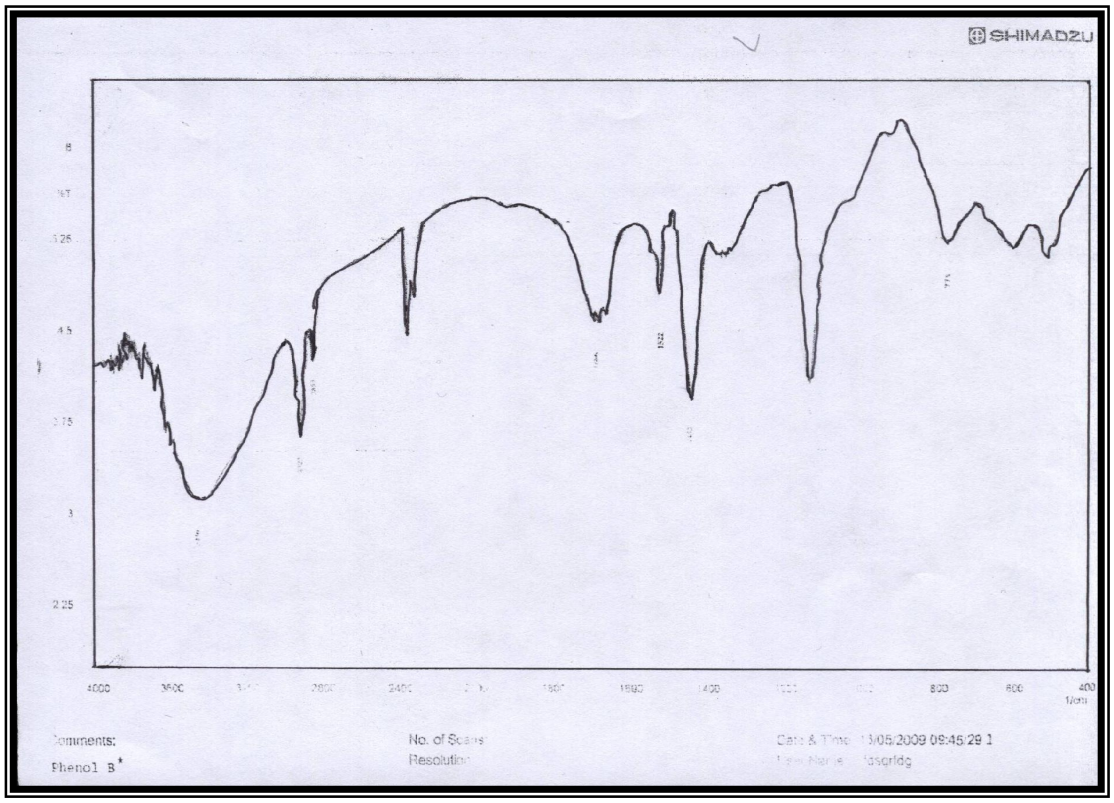


شكل (5) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV – Vis) للمركب الفينولي *B

تشخيص المركب الفينولي *B بمطيافية الأشعة تحت الحمراء

يبين الشكل (6) و الجدول (8) حزم الإمتصاص و المجاميع التركيبية العائدة لها في طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي *B. إن ظهور حزمة عريضة و قوية عند العدد الموجي ($3450\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة الهيدروكسيل الفينولية ذات التآصر الهيدروجيني كما يتضح من الجدول و الشكل ظهور حزمة إمتصاص ضعيفة جداً عند العدد الموجي ($3010\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-H) الأروماتية أو الألكينية، كما ظهرت حزمتان قويتان متباينتا الشدة عند العددين الموجيين ($2923\ cm^{-1}$ و $2853\ cm^{-1}$) تعودان إلى الإهتزاز الإتساعي المتماثل و غير المتماثل لمجموعة

CH_2 الأليفاتية ، و أيضاً وجود حزمة إمتصاص ضعيفة و متعددة عند ($1686\ cm^{-1}$) عائدة إلى الإهتزاز الإنحنائي للآصرة (C=C) الأليفاتية في حين ظهرت حزمة إمتصاص ضعيفة عند العدد الموجي (1522 cm^{-1}) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C=C) الأروماتية، و حزمة إمتصاص متوسطة عند (1452 cm^{-1}) و العائدة إلى الإتساع الإنحنائي لمجموعة (CH_2) الأليفاتية كما ظهرت حزمة إمتصاص متوسطة عند العدد الموجي ($1149\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-O) الإيثرية و أيضاً ظهرت حزمة إمتصاص ضعيفة عند العدد الموجي ($775\ cm^{-1}$) و العائدة إلى الإهتزاز الإنحنائي لمجموعة (=C-H) الأليفاتية [25].



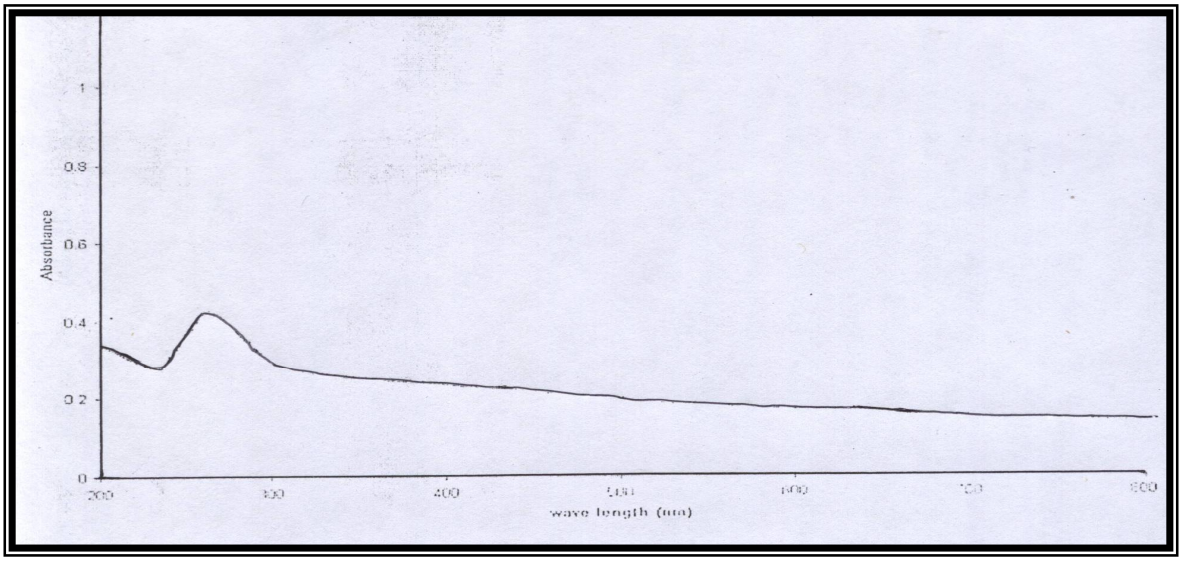
شكل (6) طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للمركب الفينولي *B

جدول (8) حزم الإمتصاص و المجاميع التركيبية في طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي*B

المجموعة الفعالة	نوع الإهتزاز	المجموعة التركيبية	شكل الحزمة	العدد الموجي (cm^{-1})
الهيدروكسيل الفينولية	إتساعي	O-H	عريضة و قوية	3450
أروماتية أو ألكينية	إتساعي	C-H	ضعيفة جداً	3010
أليفاتية	إتساعي غير متماثل	CH_2	قوية	2923
أليفاتية	إتساعي متماثل	CH_2	متوسطة الشدة	2853
أليفاتية	إتساعي	C=C	ضعيفة	1686
أروماتية	إتساعي	C=C	ضعيفة	1522
إليفاتية	إنحنائي	CH_2	متوسطة	1452
إيثرية	إتساعي	C-O	متوسطة	1149
أليفاتية	إنحنائي	=C-H	ضعيفة	775

تشخيص المركب الفينولي *C بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية و المرئية

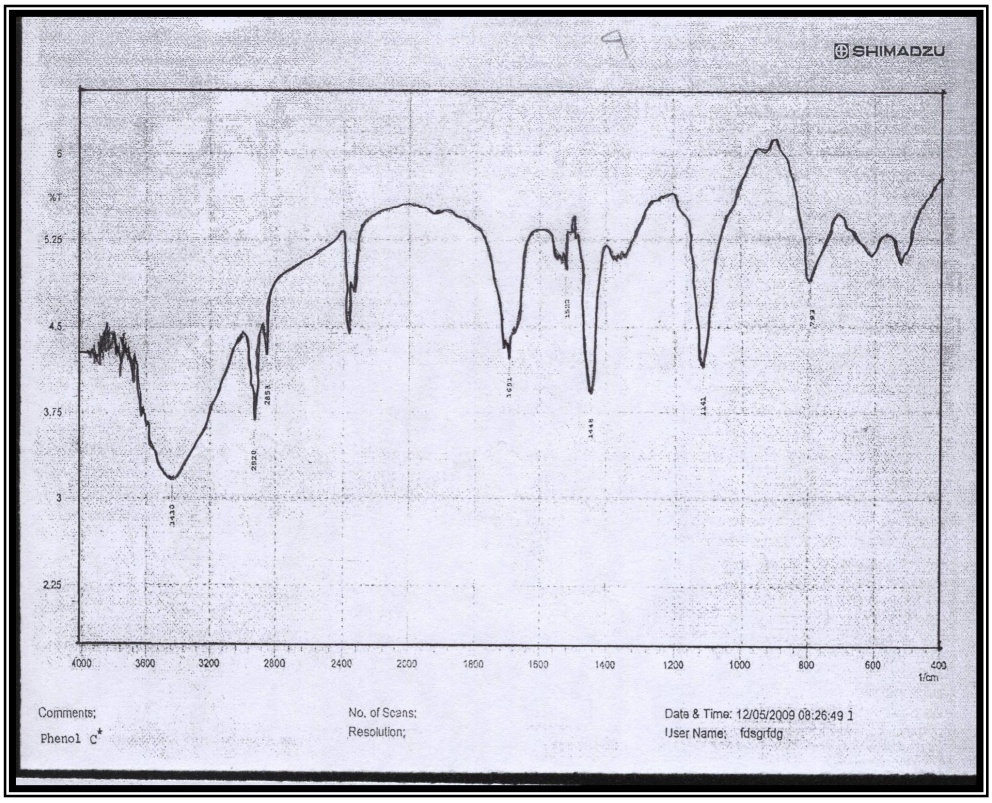
يبين الشكل (7) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية للمركب الفينولي *C و لمدى من الأطوال الموجية (200 – 800 nm) إذ ظهرت قمة ضعيفة الشدة عند الطول الموجي (270 nm) و التي تعزى إلى الإنتقال الألكتروني من نوع (π-π*) العائدة لألكترونات π في الحلقة الأروماتية [25]



شكل (7) طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV – Vis) للمركب الفينولي *C

تشخيص المركب الفينولي *C بمطيافية الأشعة تحت الحمراء

يشير الشكل (8) و الجدول (9) إلى طيف (IR)للمركب الفينولي *C. إذ ظهرت حزمة إمتصاص عريضة و قوية عند ($3430\ cm^{-1}$) تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة الهيدروكسيل الفينولية ذات التآصر الهيدروجيني و ظهور حزمتي إمتصاص قويتين عند ($2920\ cm^{-1}$ و $2853\ cm^{-1}$) و اللتين تعودان إلى الإهتزاز الإتساعي المتماثل و غير المتماثل على التوالي لمجموعة (CH_2) الأليفاتية. عند ($3010\ cm^{-1}$) ظهرت حزمة إمتصاص ضعيفة جداً تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-H) الأروماتية أو الألكينية، كما ظهرت حزمة إمتصاص ضعيفة عند ($1691\ cm^{-1}$) و العائدة لمجموعة (C=C) الأليفاتية ذات الإهتزاز الإتساعي، في حين ظهرت حزمة إمتصاص ضعيفة عند ($1522\ cm^{-1}$) تعود إلى مجموعة (C=C) الأروماتية. عند ($1448\ cm^{-1}$) ظهرت حزمة إمتصاص متوسطة الشدة عائدة إلى الإهتزاز الإنحنائي لمجموعة (CH_2) الأليفاتية. و ظهرت حزمة إمتصاص متوسطة الشدة عند (1141 cm^{-1}) و التي تعود إلى الإهتزاز الإتساعي لمجموعة (C-O) الإيثرية وحزمة إمتصاص ضعيفة عند (793 cm^{-1}) لمجموعة (=C-H) الأليفاتية [25].



شكل (8) طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للمركب الفينولي *C

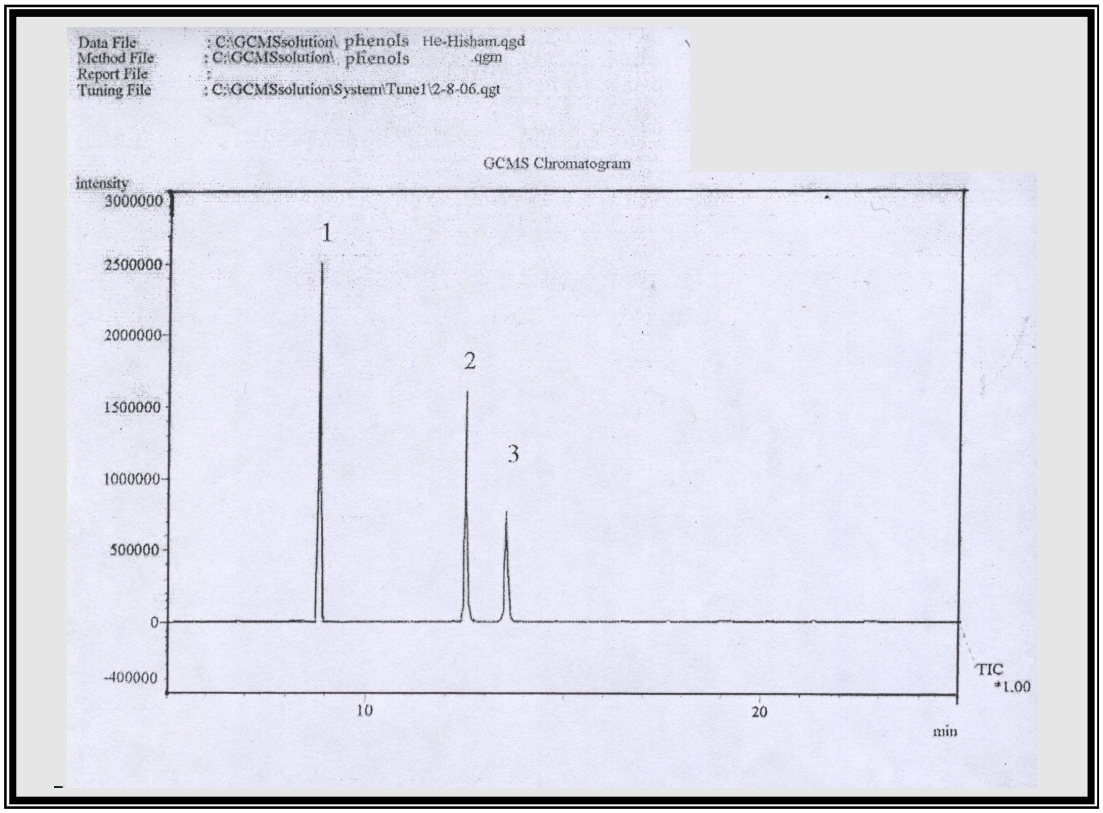
جدول (9) حزم الإمتصاص و المجاميع التركيبية في طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب الفينولي *C

المجموعة الفعالة	نوع الإهتزاز	المجموعة التركيبية	شكل الحزمة	العدد الموجي (cm^{-1})
الهيدروكسيل الفينولية	إتساعي	O-H	عريضة و قوية	3430
أروماتية أو ألكينية	إتساعي	C-H	ضعيفة جداً	3010
أليفاتية	إتساعي غير متماثل	CH_2	قوية	2920
أليفاتية	إتساعي متماثل	CH_2	متوسطة	2853
أليفاتية	إتساعي	C=C	ضعيفة	1691
أروماتية	إتساعي	C=C	ضعيفة	1522
أليفاتية	إنحنائي	CH_2	متوسطة	1448
إيثرية	إتساعي	C-O	متوسطة	1141
أليفاتية	إنحنائي	=C-H	ضعيفة	793

فصل و تشخيص المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز – طيف الكتلة (GC-Mass)

فصل المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز

يبين الشكل (9) كروماتوغرام المركبات الفينولية التي تم عزلها من ثمار نبات الخرنوب و التي فصلت بتقنية كروماتوغرافيا الغاز Gas chromatography على شكل قمم ، إذ ظهرت ثلاث قمم أي وجود ثلاثة مركبات فينولية و كل قمة تمثل مركب فينولي مفصول و بأزمان إحتباس هي 7.812 دقيقة للمركب الفينولي *A و 12.483دقيقة للمركب الفينولي *B و13.543 دقيقة للمركب الفينولي *C. إن طبيعة الفصل لهذه المركبات الفينولية قد تم بظروف خاصة و قياسية مثل نوعية الغاز و قياس الأنبوب الشعري و نوعية الطور الثابت و معدل جريان الغاز و درجة الحرارة [26].

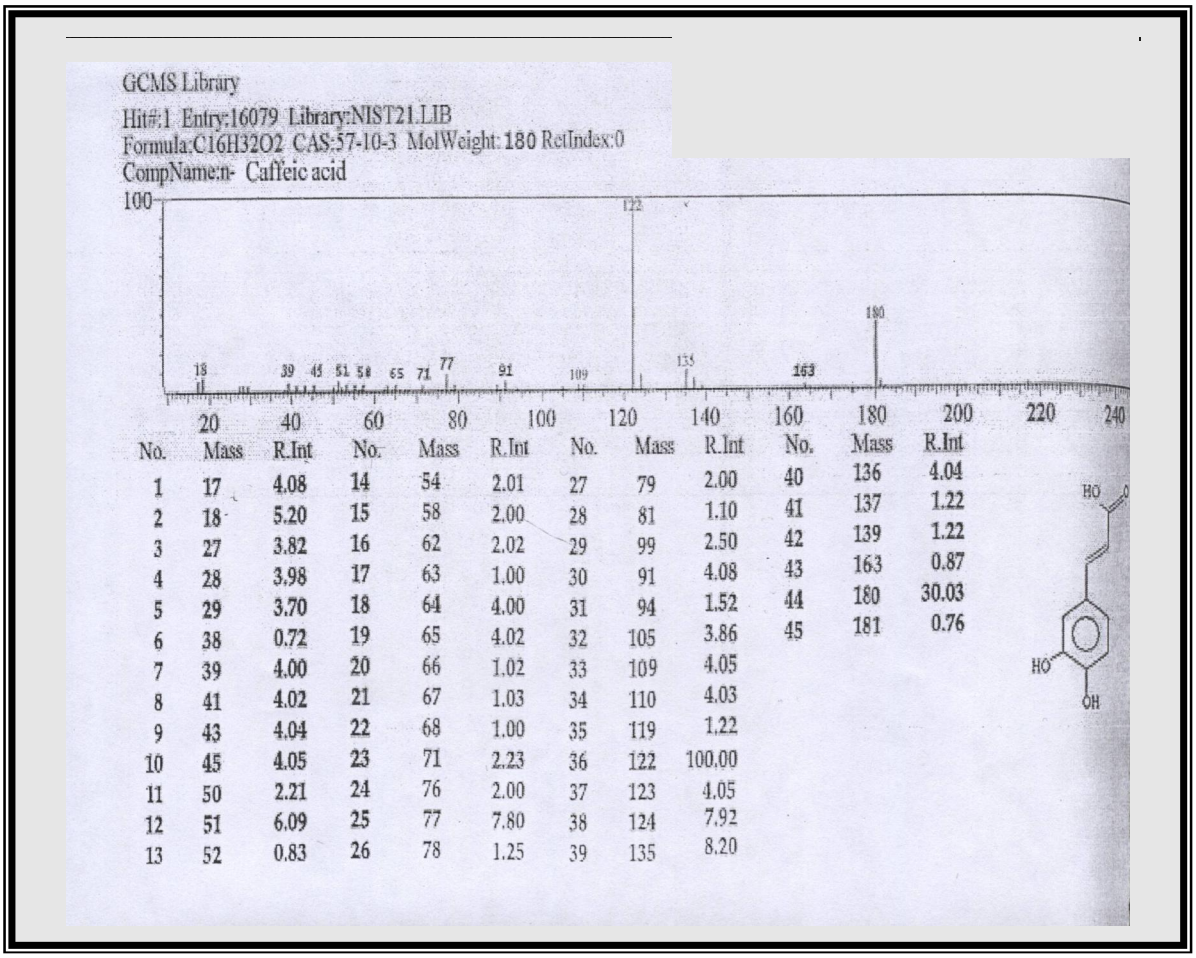


شكل (9) كروماتوغرام المركبات الفينولية (C*, B*, A*) المفصولة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز

نتائج أطياف الكتلة للمركبات الفينولية المفصولة بتقنية كروماتوغرافيا الغاز

طيف الكتلة للمركب الفينولي *A

بين الشكل (10) طيف الكتلة للمركب الفينولي *A و الذي تم فصله بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بـــزمن احتباس7.812 دقيقة و من خلال مطابقة هذا المركب مع قاعدة المعلومات حاســوبياً فـــي جهـــاز (GC- mass spectrophotometer) ، تبـــين بـــأن هـــذا المركـــب الفينولي هو حامض الكافائيـــك Caffeic acid (3 ،4- ثنائي هيدروكسي حامض السيناميك) كما موضح تركيبه الكيميائي الموجود في طيف الكتلة العائد لهذا المركب.

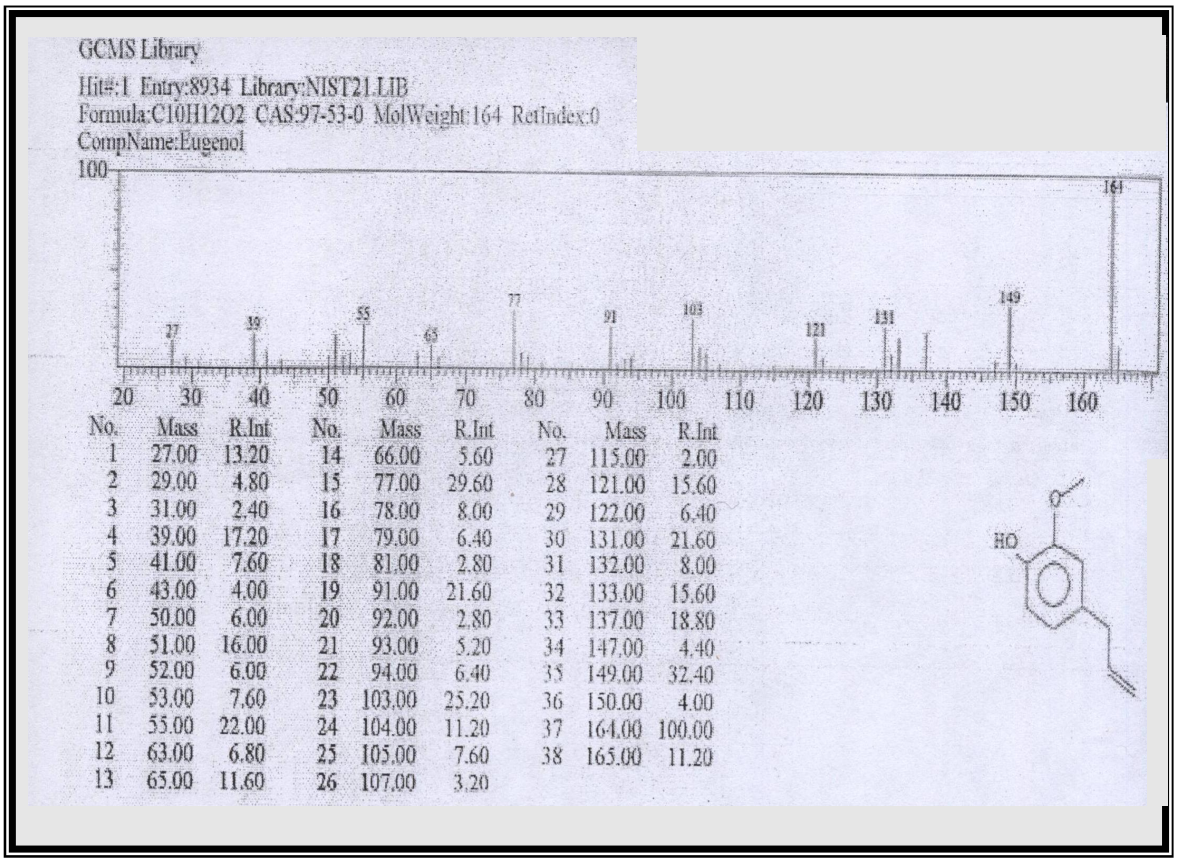


No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int
1	17	4.08	14	54	2.01	27	79	2.00	40	136	4.04
2	18	5.20	15	58	2.00	28	81	1.10	41	137	1.22
3	27	3.82	16	62	2.02	29	99	2.50	42	139	1.22
4	28	3.98	17	63	1.00	30	91	4.08	43	163	0.87
5	29	3.70	18	64	4.00	31	94	1.52	44	180	30.03
6	38	0.72	19	65	4.02	32	105	3.86	45	181	0.76
7	39	4.00	20	66	1.02	33	109	4.05			
8	41	4.02	21	67	1.03	34	110	4.03			
9	43	4.04	22	68	1.00	35	119	1.22			
10	45	4.05	23	71	2.23	36	122	100.00			
11	50	2.21	24	76	2.00	37	123	4.05			
12	51	6.09	25	77	7.80	38	124	7.92			
13	52	0.83	26	78	1.25	39	135	8.20			

شكل (10) طيف الكتلة لحامض الكافائيك المعزول من ثمار نبات الخرنوب مع تركيبه الكيميائي

طيف الكتلة للمركب الفينولي *B

يبين الشكل (11) طيف الكتلة للمركب الفينولي *B الذي فصل بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بزمن إحتباس هو 12.483دقيقة و من خلال مطابقة هذا المركب مع قاعدة المعلومات حاسوبياً في جهاز (GC-mass spectrophotometer) ثبت أن هذا المركب الفينولي هو يوجينول (Eugenol) و الموضح تركيبه الكيميائي في طيف الكتلة العائد لهذا المركب.

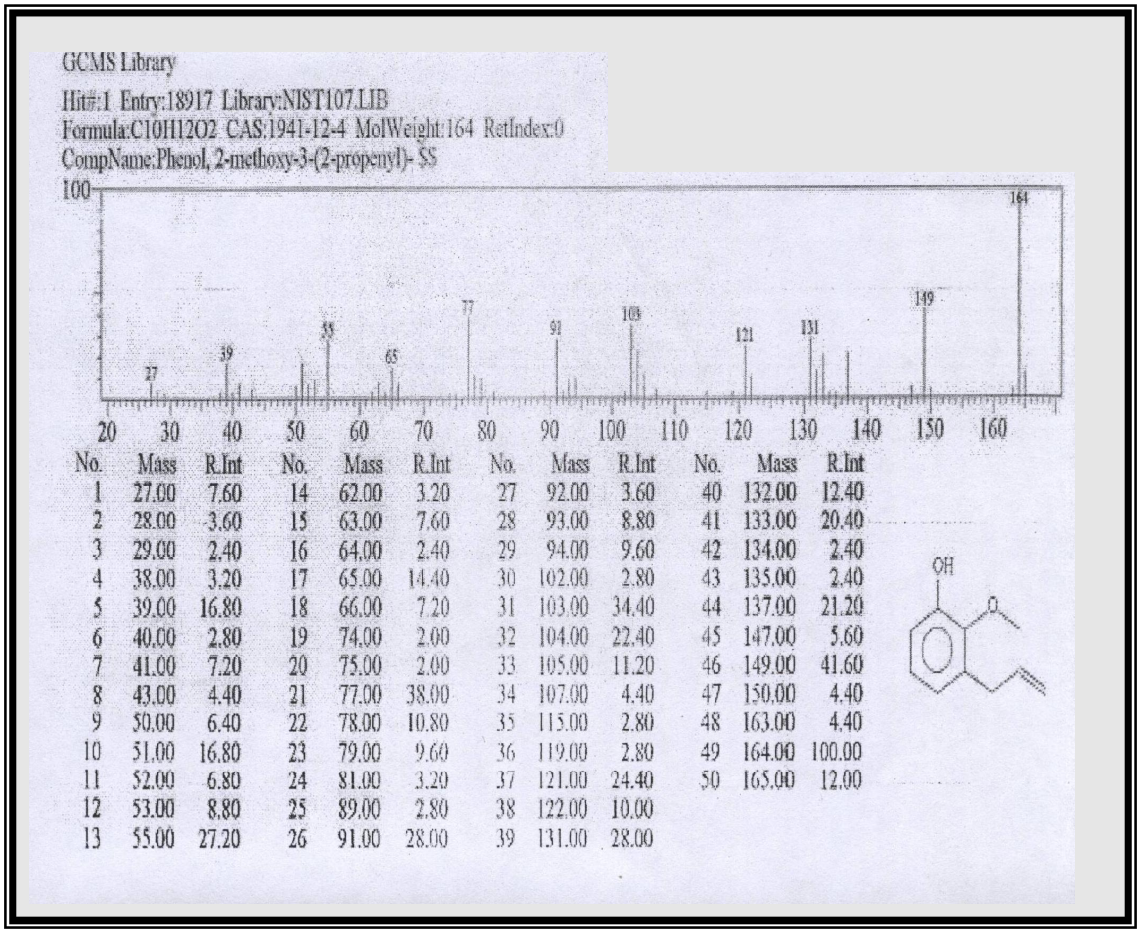


No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int
1	27.00	13.20	14	66.00	5.60	27	115.00	2.00
2	29.00	4.80	15	77.00	29.60	28	121.00	15.60
3	31.00	2.40	16	78.00	8.00	29	122.00	6.40
4	39.00	17.20	17	79.00	6.40	30	131.00	21.60
5	41.00	7.60	18	81.00	2.80	31	132.00	8.00
6	43.00	4.00	19	91.00	21.60	32	133.00	15.60
7	50.00	6.00	20	92.00	2.80	33	137.00	18.80
8	51.00	16.00	21	93.00	5.20	34	147.00	4.40
9	52.00	6.00	22	94.00	6.40	35	149.00	32.40
10	53.00	7.60	23	103.00	25.20	36	150.00	4.00
11	55.00	22.00	24	104.00	11.20	37	164.00	100.00
12	63.00	6.80	25	105.00	7.60	38	165.00	11.20
13	65.00	11.60	26	107.00	3.20			

شكل (11) طيف الكتلة للمركب الفينولي يوجينول المعزول من ثمار نبات الخرنوب مع تركيبه الكيميائي

طيف الكتلة للمركب الفينولي *C

يبين الشكل (12) طيف الكتلة للمركب الفينولي *C الذي تم فصله بتقنية كروماتوغرافيا الغاز بزمن إحتباس 13.543 دقيقة و قد ثبت أن هذا المركب هو فينول - 2- ميثوكسي-3-(2- بروبينيل) و ذلك من خلال مطابقة هذا المركب الفينولي مع قاعدة المعلومات حاسوبياً في جهاز طيف الكتلة، كما موضح التركيب الكيميائي لهذا المركب و المسجل في طيف الكتلة العائد له.



No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int	No.	Mass	R.Int
1	27.00	7.60	14	62.00	3.20	27	92.00	3.60	40	132.00	12.40
2	28.00	3.60	15	63.00	7.60	28	93.00	8.80	41	133.00	20.40
3	29.00	2.40	16	64.00	2.40	29	94.00	9.60	42	134.00	2.40
4	38.00	3.20	17	65.00	14.40	30	102.00	2.80	43	135.00	2.40
5	39.00	16.80	18	66.00	7.20	31	103.00	34.40	44	137.00	21.20
6	40.00	2.80	19	74.00	2.00	32	104.00	22.40	45	147.00	5.60
7	41.00	7.20	20	75.00	2.00	33	105.00	11.20	46	149.00	41.60
8	43.00	4.40	21	77.00	38.00	34	107.00	4.40	47	150.00	4.40
9	50.00	6.40	22	78.00	10.80	35	115.00	2.80	48	163.00	4.40
10	51.00	16.80	23	79.00	9.60	36	119.00	2.80	49	164.00	100.00
11	52.00	6.80	24	81.00	3.20	37	121.00	24.40	50	165.00	12.00
12	53.00	8.80	25	89.00	2.80	38	122.00	10.00			
13	55.00	27.20	26	91.00	28.00	39	131.00	28.00			

شكل (12) طيف الكتلة للمركب الفينولي فينول - 2- ميثوكسي - 3 - (2- بروبينيل) المعزول من ثمار نبات الخرنوب مع تركيبه الكيميائي

الفعالية الدوائية لمركبات حامض الكافائيك و يوجينول و فينول -2- ميثوكسي - 3 - (2- بروبينيل) المعزولة من ثمار نبات الخرنوب ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

يوضح الجدول (10) و الشكل (13) أن المركب الفينولي حامض الكافائيك قد أظهر قدرة تثبيطية ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escerichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Kelbsiella* sp.، و بأقطار تثبيط هي (22 و 18 و 14 و 9 ملم) على التوالي و لم يظهر أي فعالية تثبيطية ضد بكتريا *Proteus* sp. يتميز حامض الكافائيك بأن له قدرة تثبيطية دوائية عالية و ذلك لإحتوائه على نوعين من المجاميع الفعالة و هما حامض الأكريليك و مجموعتي الهيدروكسيل المرتبطة بالحلقة الأروماتية [27].

أما المركب الفينولي يوجينول فكان له تأثير دوائي تثبيطي ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escerichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Kelbsiella* sp. و *Proteus* sp. و بتثبيط هي (19و 17 و 15 و 10 و 7 ملم) على التوالي.

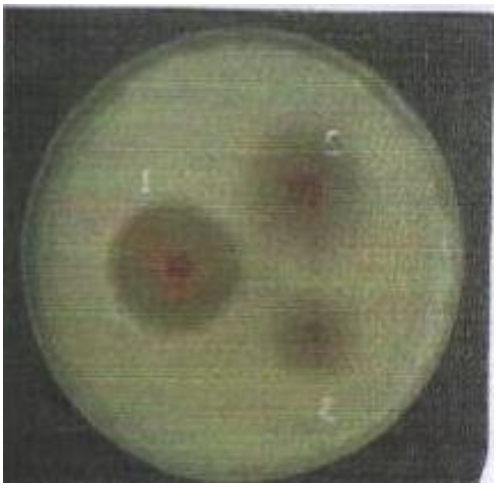
و لقد أكدت بعض الدراسات أن اليوجينول له فعالية عالية ضد بكتريا *Klebsiella* sp. و *Enterobacter* المعزولة من أشخاص مصابين بأمراض متنوعة [28، 29]. و فيما يخص المركب فينول- 2- ميثوكسي - 3- (2- بروبينيل) فقد سجلت له فعالية دوائية تثبيطية ضد

بكتريـــــــــــا *Pseudomonas aeruginosa* و 12 و 10 ملم) على التوالي في حين لم يظهر أي فعالية *Staphylococcus aureus* و *Proteus* sp. و ضد بكتريا *Klebsiella* sp. و *Escherichia coli* و بأقطار تثبيط هـــي (20و 13 و

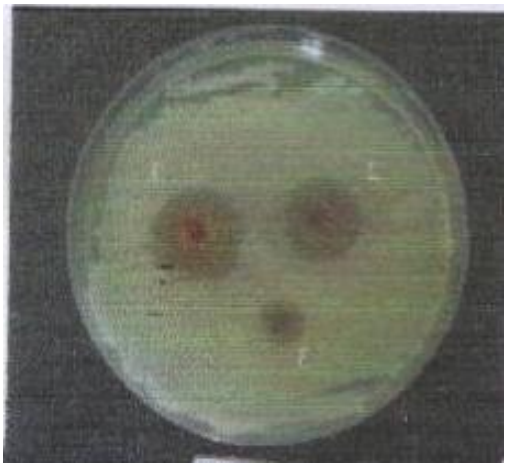
جدول (10) الفعالية الدوائية لمركبات حامض الكافائيك و يوجينول و فينول- 2- ميثوكسي - 3 - (2-بروبينيل) بتركيز (150 mg/ml) ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

البكتريا / المركبات الفينولية المعزولة	أقطار منطقة التثبيط (mm)				
	Staph. aureus	*E. coli*	*P. aeruginosa*	*Klebsiella* sp.	*Proteus* sp.
حامض الكافائيك	22	18	14	9	-
يوجينول	19	17	15	10	7
فينول- 2- ميثوكسي - 3 - (2-بروبينيل)	13	10	20	-	12

Escherichia coli

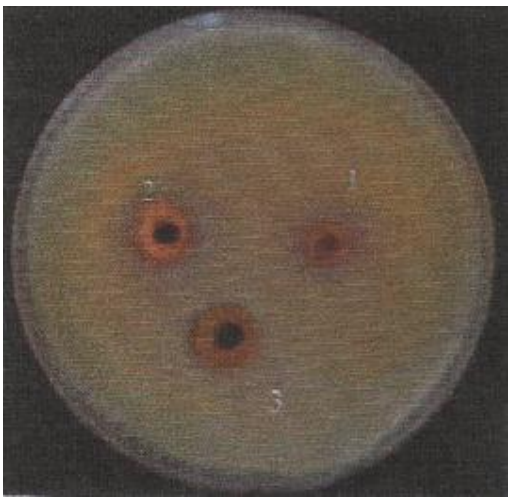


Staphylococcus aureus



***Klebsiella* sp.**

***Proteus* sp.**



Pseudomonas aeroginosa

شكل (13) الفعالية الدوائية ل1)حامض الكافائيك ، 2) يوجينول ، 3) فينول- 2- ميثوكسي - 3 - (2-بروبينيل) ضد البكتريا المرضية للمجاري البولية

الاستنتاجات

ان المركبات الفينولية المعزولة من ثمار نبات الخرنوب اثبتت ان لها فعالية دوائية عالية اذ أنها قامت بقتل البكتريا المرضية المسببة لإلتهابات المجاري البولية و بالإمكان إستعمال كل مركب فينولي معزول كدواء لعلاج إلتهابات المجاري البولية كما ان التداخل التآزري بين المركبات الفينولية الثلاث أعطاها فعالية تثبيطية أعلى من كل مركب فينولي معزول كما اثبتت الدراسة عدم وجود تأثيرات جانبية للمركبات الفينولية مجتمعة أو منفردة اذ ان ليس لها أية سمية مما يجعل إستعمالها كأدوية آمنة لجسم الكائن البشري.

References

1- H. L. Mobley and R. Belas (1995). Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tracts.New York, USA.P.851.

2- G. M. Fraser. and C. Hughes (1999). Swarming motility. Curr. Opin. Microbiol., 2: 630 – 635.

3- J. Semihayan and M. Gazi, (1999). Effect of preputial flora to urinary tract infection. Medical Journal, 10: 68 – 72.

4- M. H. Kolf and V. J. Fraser. (2001). Antibiotic resistance in intensivecarunit. J. Ann. Int. Med., 134: 298 – 314.

5- J. Orteze,.; C. Vilam,; G. Sariano,; J. Minana, and B. Myrlis, (1999). Infection caused by *Escherichia coli* resistance to norhipatolo in hospitalized cirrhotic patients. App. J., 99: 1065 – 1069.

6- D. Daley,; L. Mulgrave,; S. Neville,; H. Smith, and W. Dimech, (1996). An evaluation of the *In vitro* activity of piperacilli. Tazobacta. Med. Path., 28: 167 – 172.

7- NIH (National Institute of Health) (2004). The problem of antibiotic resistance, NIH. Bethesda, MD. USA, P. 15.

8- E. Al-Camo, (1996). Chemotherapeutic action against antibiotic fund-amental of microbiology. 5th ed., Adilson Longman. Inc., USA. P. 339 – 720.

9- K. E. Lasser,; P. D. Allen,; S. J. Woolhandler,; D. U. Himmastein,; S. M. Wolfe, and D. H. Bor, (2002). Timing for new black box warnings and withdrawals for prescription medication. 287: 2215 – 2220.

10- K. Brandt, and J. P. Malgaurd, (2001). Organic agriculture: Dose it enhance or reduce the nutrition value of plant foods. J. Sci. Food Agri., 8: 924 – 931.

11- F. Afifi, (1993). Hypoglycemia effects of prospis farcta. International Journal of Pharmacognosy. 31: 161 – 164.

12- A. Jawad,; H. Jaffer,; A. Al-Naib, and A. Naji, (1988). Antimicrobial activity of sesquiterpene lactone and alkaloid fractions from Iraqi plants. International Journal of Crude Drug Research, 26: 185 – 195.

13- S. M. Al-Khazraji, (1991). Biopharmaecological study *Artemisia herba alba* . M. Sc. Theses , Pharm. College, Baghdad University, Iraq.

14- B. Freid, and J. Sherman, (1985). Thin layer chromatography techniques and applications. Chromatog. Sci. Series, Vol. 30, Marel dekker Inc., New York, USA.

15- S. Back, and J. Liag, (2005). Production of cyanophycin from blue – green algae. J. Yong Invest., 13: 56 – 62.

16- C. Perez,; M. Pauli, and P. Bazerque, (1990). An antibiotic assay by the agar – well diffusion method. J. Aotabilogia, 15: 113 – 115.

17-NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard). (2002). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests of bacteria that grow aerobically. In Approved Standard M100 – 512. Wayne.

18- H. Xian-Guo, and M. Ursula, (1994). Antifungal compounds from *Solanum nigrescens*. J. Ethnopharmacol., 43: 173 – 177.

19- F. Harzalla, and H. Ben Jannet, (2005). Flavonoids diversification in organs Prosopis farcta populations occurring in the

northeast and southeast Tunisia. Journal of Applied Science Research, 2: 130 – 136.
20- P. Feeny, (1998). Inhibition effect of oak leaf tannins hydrolysis proteins by trypsine. Journal Phytochemistry, 8: 2119 – 2126.
21- J. D. Reed, (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legmens. J. Animal Soc., 73: 3 – 28.
22- WHO (1996). Supplementary guidelines for the manufacture of herbal medicinal product. WHO tech. Repser, Geneva. Annex 8, p. 109 – 113.
23- J. Sapana,; R. Archna,; D. Prem,; K. Rita, and K. Anil, (2009). Synergistic interaction between synthetic and natural products. World Applied Sciences J., 5: 59 – 63.
24- B. Galmbosi,; K. P. Svoboda,; J. B. Hampson, and Y. Askawa, (1999). Agronomical and phytochemical investigations of pyenon themum officonalis. Agri. Sci., 12: 259 – 262.
25- R. M. Silverstein,; G. C. Bassler, and T. C. Morrill, (1981). Spectrometric identification of organic compounds. 4th ed., John Wiley and sons Fuc., USA.
26- M. L. Vincent, and D. G. Peters, (1992). Journal of Electroanalytical Chemistry Interfacial Electrochemistry, 327: 121 – 135.
27- P. C. Hollman, and M. P. Katan,. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acids are absorbed in human, J. Nutr., 131 (1): 66 – 71.
28- P. Suresh,; V. K. Ingle, and V. Vijaya Lakshimi, (1992). Antibacterial activity of eugenol in comparison with other antibiotics. J. Fd. Sci. Tech., 29: 254 – 256.
29- N. S. Shashidar, (2002). Studies on bioactive natural compounds for their antimicrobial and antioxidant properties. In Ph. D. Thesis, Department of Microbiology, Osmania University, Hyderabad, Pakistan.

Isolation and Identification of Phenol -2- methoxy-3-(2-propenyl) ,Eugenol and Caffeic Acid Compounds from *Prosopis farcta* Fruits and Study of Their Activity as Drugs Against Pathogenic Bacteria of Urinary Tracts

Abbas Dawwas Matter Al-Maliki Nezar Latif Shihab Al-Deen
Husham Mnahi Talib Al- Ryhani
Chemistry dept.-Education college-University of Basrah
Basrah-Iraq

Abstract

propenyl) were isolated and identified from *Prosopis farcta* fruits . The is recommended to use the phenolic compounds as herbal therapeutic substituents for treatment of urinary tracts infections instead of antibiotics physical and chemical methods were used in identification such as UV-vissible and infrared spectra , thin layer chromatography , column chromatography , fanctional groups test, gas-chromatography-mass spectrum and melting point . The medicinal The phenolic compounds (caffeic acid,eugenol and phenol -2- methoxy -3-(2-activity for compounds isolated with concentration (150 mg / ml) , were studied against five types of pathogenic bacteria of urinary tracts infections, are *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , *Proteus sp.* , *Klebsiella sp.* and *Pseudomonas aeraginosa* . The minimal inhibitory concentration and cellular toxicity of these compounds , were determined , also the medicinal activity of isolated phenolic compounds , was compared with some antibiotics such as ampicillin , cephlaxin , ciprofloxacin , streptomycin and tetracycline . The phenolic compounds showed that they have a highest medicinal effect for inhibition of bacteria growth than antibiotics . It was found that isolated compounds have no a toxic effect against red blood cells of human . As a result , it is recommended to use the phenolic compounds as herbal therapeutic substituents for treatment of urinary tracts infections instead of antibiotics having side effects but this work demands further clinical and pharmaceutical studies .

Keywords : *Prosopis farcta* , caffeic acid , phenol-2- methoxy-3- (2- propenyl) , eugenol, medicinal activity , pathogenic bacteria , urinary tracts infections