دراسة الفعالية المضادة للبكتريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*

العابد إبراهيم [1]* – غراف نور الدين[1]– يوسفي محمد[2]

مخبر VPRS جامعة قاصدي مرباح ورقلة [1]– مخبر العلوم الأساسية بجامعة الأغواط [2]

* Email : bahi6600@gmail.com

مختصر: نبات *Traganum nudatum* (الضمران) من الأعشاب الطبية التي تستخدم كعلاج تقليدي ، تطرقنا إلى استخلاص القلويدات في صورتها الملحية لجذور و أوراق و سيقان النبات ، ثم دراسة الفعالية البيولوجية . (الفعالية المضادة للبكتيريا و الفعالية المضادة للأكسدة) لهذه المستخلصات من خلال النتائج المتحصل عليها من دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و الفعالية المضادة للأكسدة تبين أن مستخلص الجذور في كلتا الدراستين له فعالية أحسن من مستخلص الأوراق و هذا الأخير له فعالية أحسن من مستخلص السيقان .

كلمات دليلية: النباتات الطبية *Traganum nudatum*، (الضمران) استخلاص القلويدات – الفعالية المضادة للأكسدة ، الفعالية المضادة للبكتيريا.

RÉSUMÉ : La *Traganum nudatum* est une plante médicinale largement employée dans les thérapeutes traditionnelles. Dans cette étude, nous avons entrepris l'étude de l'activité biologique (antibactérienne et antioxydant) de l'extrait brut des alcaloïdes de cette plante. Nous avons ainsi procédé à l'extraction des alcaloïdes sous leur forme de sel – à partir des racines, des feuilles et des tiges de la plante, puis à l'étude de leur activité. A partir des résultats, il s'est avéré que les extraits des racines dans les deux études possède une meilleure efficacité que l'extrait des feuilles et que celui - ci est à son tour est plus efficace que l'extrait des tiges.

MOTS-CLÉS : Plantes médicinales – *Traganum nudatum* – extraction des alcaloïdes –activité antibactérienne –activité antioxydant.)

ABSTRACT: *Traganum nudatum* is a medicinal plant widely used in folk medicine. In this study, we have undertaken the biological effects of the crude alkaloid content of the plant as far as the antibacterial and antioxidant activities are concerned. The results revealed that the plant involves an important biological effect towards a set of defined bacteria. The different plant parts extracts behave more or less activ. It was found that the extract of the roots in both studies has efficiency better than the extract of the leaves and this in turn is more effective than the extract of the stems.

KEYWORDS: Medicinal plants - *Traganum nudatum* - extraction of alkaloids-antibacterial activity- antioxidant activity

مقدمة:

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي وتلقى عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها. والنباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير النباتية (أو مصدر المواد الفعالة) التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات أو مواد فعالة أو مواد خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية التي تعتبر النواة للتخليق الكيميائي لبعض المواد الدوائية الهامة. لذلك فإن النباتات الطبية من أهم لمواد الإستراتيجية في صناعة الدواء وتمثل أساسا هاما في إنتاجه [1] نظرا لأهمية القلويدات في مجال الطب ،و إحتواها على ذرة الأزوت النشطة كميائيا، إرتأينا أن نتعرف على التأثير البيولوجي و الفعالية لمضادة للأكسدة لمستخلصات القلويدات الخام في جذور وسيقان وأوراق نبات*Traganum nudatum*.

العابد إبراهيم – غراف نور الدين- يوسفي محمد

الوسائل و طرق البحث :

المادة النباتية:

Traganum nudatum عبارة عن شجرة معمرة من العائلة الرمرامية ***Chénopodiacées*** [2] [3] قطفت أجزاء النبات (جذور و أوراق وسيقان)من منطقة جامعة بولاية الودي التي تقع في الجنوب الشرقي الجزائري و تم التعرف على النبات من طرف الدكتور **شحمة عبد المجيد** مختص في الأعشاب و النباتات الصحراوية بجامعة قاصدي مرباح بورقلة.

الفحص الفيتوكيمائي :

يعتمد أساسا على الكواشف الكيمائية لإجراء الاختبارات الكيفية و الفائدة منه البحث على المنتوجات الطبيعية في مختلف أعضاء النبات فبل إجراء الفحص الكمي و نتائج الكشف مدونة في الجدول رقم (1) .

استخلاص القلويدات الخام في صورتها الملحية في مختلف أعضاء النبات :

تم استخلاص القلويدات من مختلف أعضاء النبات ***Traganum nudatum*** باستعمال المذيبات العضوية القطبية. [4]

الفعالية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية استخلاص القلويدات في صورتها الملحية (الجذور وأوراق وسيقان) النبات المدروس ، قمنا باختبار هذه المستخلصات على 5 أنواع من البكتيريا ونوع واحد من الخمائر ثلاثة سالبية الغرام واثنين موجبة الغرام.

دراسة نوعية للفعالية المضادة للبكتريا للمستخلصات النباتية ضد البيكتريا بطريقة الانتشار في وسط صلب:

هذه الطريقة تبين مدى فعالية المستخلص النباتي ضد البكتيريا المحضرة بتركيز 0.5 Mc Farland هذه القيمة توافق المجال التركيز (10^7-10^8) مل/بكتيريا المقاسة بواسطة جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية Spectrophotométre à UV-V الأقراص الممتصة والمعقمة تبلل بكمية من المستخلص النباتي وتوضع داخل علبة بتري على سطح الجيلوزي المحتوى على البكتيريا المختبرة .

- إنتشار المادة المستخلصة في الوسط الجيلوزي تمنع نمو البكتيريا حول القرص .
- في حالة وجود منع لنمو البكتيريا تظهر هالة (حلقة) حول القرص (منطقة التثبيط) .
- قراءة النتائج تكون بعد وضع علب بتري في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°C

لمدة 24 ساعة . « هذه الطريقة معتمدة من طرف مخبر البيولوجيا بصيدال الجزائر» والنتائج مدونة في الجدول رقم (02)

تحديد أدنى تركيز لتنشيط CMI في وسط صلب: [5]

- التركيز الأدنى للتثبيط CMI لعينات بكترية مختلفة يحدد عن طريق تخفيف المستخلص النباتي في وسط جيلوزي من (MH) . حيث يعرف CMI بأنه أدنى تركيز من المضاد الحيوي لتثبيط نمو البكتيريا تزرع في علب بتري بحقنة دقيقة (micro pipettes) ابتداءا من كل معلق بكتيري بمعدل 1µl بتركيز 10^4 UFC/ml توضع علب بتري في الحاضنة تحت 37°C لمدة 24 ساعة ، تحدد قيمة CMI بعد 24 ساعة نقرأ CMI أين لا يوجد نمو واضح للبكتيريا حيث تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول رقم (03) .

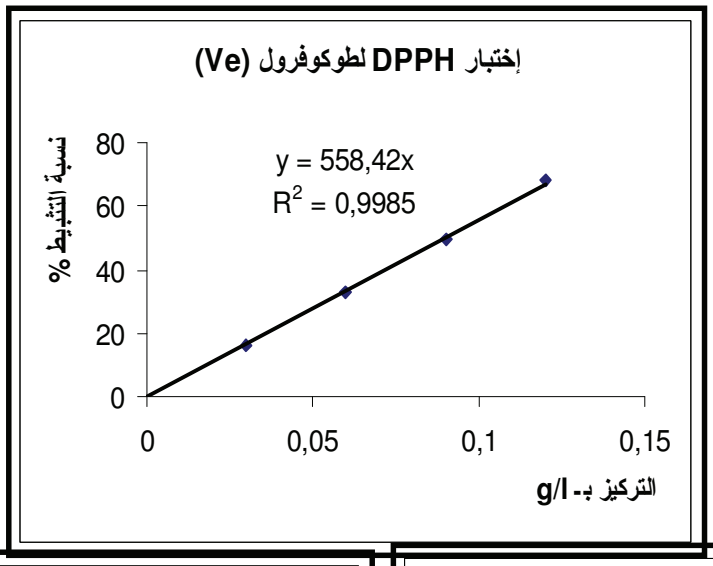
الفعالية المضادة لأكسدة للمستخلصات النباتية :

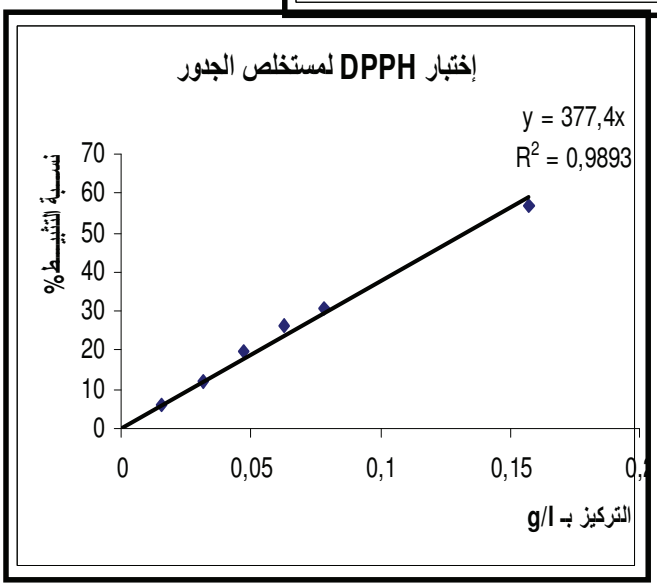
بعد عملية استخلاص القلويدات الخام في صورتها الملحية (جذور اوراق سيقان) النبات قمنا باختبار هده المستخلاصات بالفعالية المضادة للاكسدة باختبارين DPPH و FRAP و مقارنة هده المستخلاصات بالمركبات القياسية حمض الاسكوربيك (Vc) و الطوكوفرول (VE) المستعملين في الصناعة الغذائية كمواد حافظة .

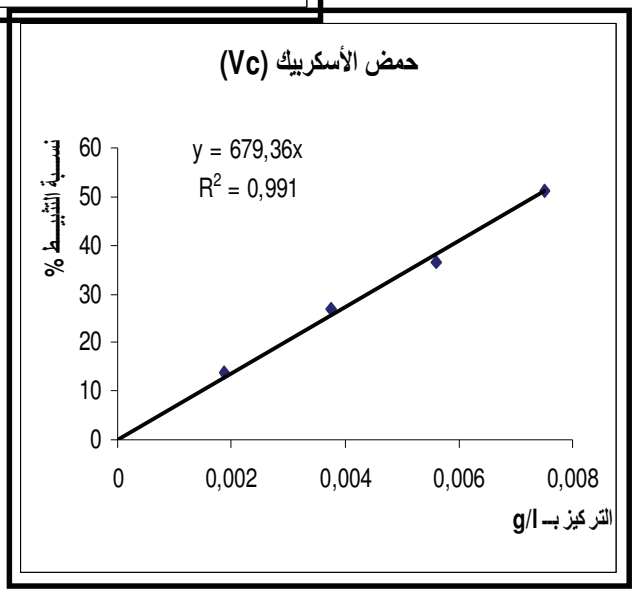
إختبار DPPH :

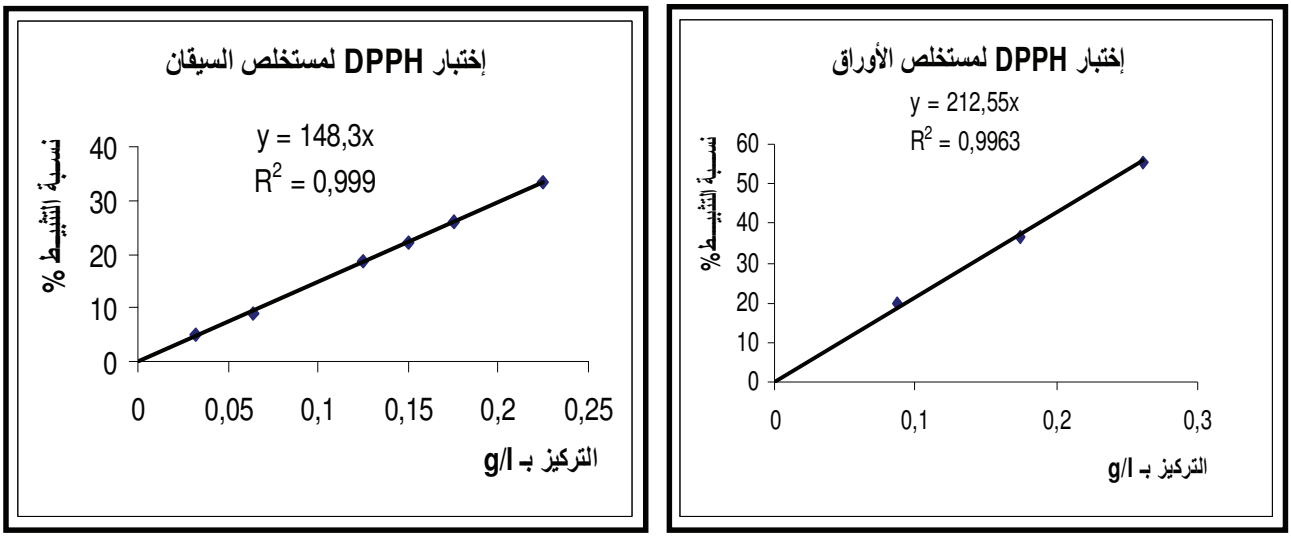
وهو اختبار مضاد للجدور الحرة يعتمد هذا الإختبار على قدرة هذه المستخلصات لتثبيط 50% من جذور DPPH وتحسب من منحنيات تغير نسب التثبيط بدلالة تركيز المستخلصات، والنتيجة يعبر عنها بـ Ic50 فكلما كانت قيمة Ic50 صغيرة كانت فعالية المستخلص كبيرة.[6] [7] [8]

نرسم المنحني البياني للننسبة للتثبيط بدلالة التراكيز ، من المنحنيات نحصل على التركيز المناسب للقضاء على 50% من الجذور الحرة من كل مستخلص (جذور اوراق سيقان) و الطوكوفورول (VE) و حمض الاسكوربيك (Vc) النتائج مدونة في الجدول رقم 04 :









المنحنى رقم (01): المنحنيات القياسية لاختبار DPPH لحمض الأسكوربيك و الطوكوفرول وللمستخلصات النبتية

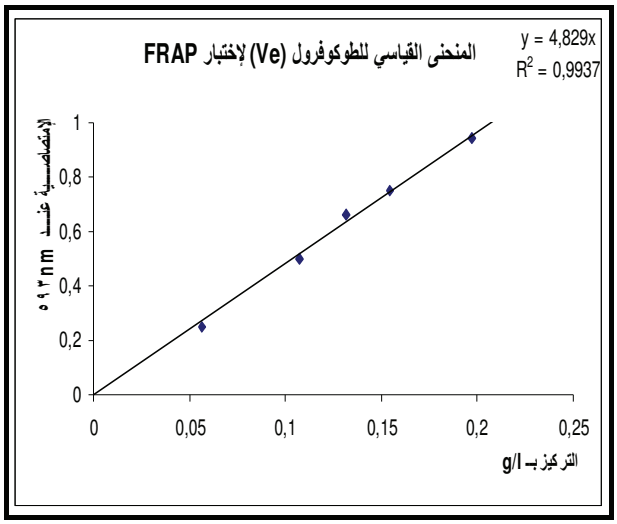
اختبار FRAP :

(Ferric Reducing / Antioxydant power) و هو اختبار مضاد للأكسدة يدرس فاعلية مضادات الأكسدة الإرجاعية في تفاعل الإرجاع اللوني ، أي يدرس مدى قدرة المستخلصات كمثبطات لعملية الأكسدة يعتمد مبدأ الطريقة على تلوين أو عدم تلوين للمعقد :

ثلاثي بيريديل ثلاثي أزين فريك (TPTZ) 2 , 4 , 6 -tripyridyl-s-triazine ferrique في الوسط الحامضي [9] [10] نحضر تراكيز مختلفة من المستخلصات الممدة في الإيثانول نأخذ من كل تركيز 100µl ونعاملها بنفس الكيفية التي عاملنا بها الطوكوفورول (VE)

(100µl من كل مستخلص) + 2ml من الميثانول + 1ml من خليط FRAP في نفس الوقت نجري نفس العملية على حمض الأسكوربيك (Vc) المستعمل في الصناعة الغذائية وذلك قصد مقارنة النتائج .

باستعمال المنحنى القياسي الطوكوفورول (VE) تحصلنا على النتائج الموضحة في الجدول: رقم (05):



المنحني رقم (02) المنحني القياسي للطوكوفرول (VE)لاختبار FRAP

نتائج ومناقشة:

– من خلال النتائج المدونة في الجدول رقم (01) ان نبات *Traganum nudatum* غني بالمواد الفعالة فيحتوي على الصبونيات و الفلافونيدات بصفة عامة و الغفصيات و القلويات و غياب الكردينولات و مشتقات الستر ويد

الجدول رقم 01 : **نتائج الكشف عن المركبات الكيميائية في مختلف أعضاء نبات *Traganum nudatum***

المـواد الفعالـة	جذور	سيقـان	أوراق
القلويدات	+	+	+
الفلافونيدات	+	+	+
الفلافونيدات الرة	+	+	+
الصابونيات	+	+	+
العفصيات	+	+	+
سيترولات والتربينات الثلاثية	+	+	+
مشتقات ستروييد	–	–	–
الكردينوليدات	–	–	–

_ من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول رقم (02) فإن المستخلص المائي للقلويدات في صورتها الملحية في جذور النبات الدروس له فعالية على البكتيريا *E. coli* و*Streptocoque* و *Staphylococcus aureus* أكبر مما عليه في مستخلص الأوراق وذو فعالية ضعيفة على البكتيريا نفسها في مستخلص السيقان .

وكل المستخلصات ليست لها فعالية اتجاه البكتيريا *Salmonella typhis* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Condida Albicans*

– من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول رقم (03) نلاحظ أن قيم CMI لمستخلص الجذور على البكتيريا E. Coli ، *Staphylococcus aureus*، *Streptocoque* ثابتة تقدر بـ 0.0625 g/l وتمثل نفس القيمة في مستخلص الأوراق على البكتيريا *E. Coli* ، بينما قيمة CMI على البكتيريا *Staphylococcus aureus* و*Streptocoque* تقدر بـ 0.10 g/l في مستخلص الأوراق ، وقيمة CMI في مستخلص السيقان على *E. Coli* ، *Streptocoque* تقدر بـ 0.125 g/l. كلما كانت قيمة CMI صغيرة كلما كان للمستخلص فعالية كبيرة اتجاه البكتيريا المختبرة .

وعليه نستطيع مقارنة المستخلصات بالنسبة لبعضها من حيث الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا حيث نجد أن مستخلص الجذور له فعالية على البكتيريا :

E.Coli ، *Staphylococcus aureus* ، *Streptocoque* أحسن من مستخلص الأوراق وهذا الأخير له فعالية على البكتيريا *E.Coli* و*Streptocoque* أحسن من مستخلص السيقان.

جدول: (02) دراسة الفعالية ضد البكتيريا المختبرة لمستخلص القلويدات في صورتها الملحية في جذور وأوراق وسيقان نبات *Traganum nudatum*

بتركيز الأم 5 mg/ml

المكروبات المختبرة	نوع الغرام	قطر المتوسط للتثبيط (ملم) للمستخلصات		
		مستخلص الجذور	مستخلص الأوراق	مستخلص السيقان
E. coli	-	24	16	11
Pseudomonas aeruginosa	-	0	0	0
Salmonalla typhis	-	0	0	0
Staphylococcus aureus	+	23	19	0
Streptocoque	+	17	16	12.5
Condida .Albican	فطر	0	0	0

جدول رقم (03): قيم CMI بـ (g/l) لكل المستخلصات المائية على البكتيريا المختبرة

البكتيريـا	قيـــم CMI بـ (g/l)		
	مستخلص الجذور	مستخلص الأوراق	مستخلص السيقان
E. Coli	0.0625	0.0625	0.125
Streptocoque	0.0625	0.10	0.125
Staphylococcus aureus	0.0625	0.10	- -
Salmonella typhis	-	-	-
Pseudomonas aeruginasa	-	-	-
Condida albicans	-	-	-

- من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل مستخلصات أملاح القلويات في جذور وأوراق وسيقان نبات *Traganum nudatum* وحمض الأسكوربيك (Vc) والطوكوفورول (VE) نحسب قيم IC50 والتي بلغت :

0.132g/l , 0.235g/l , 0.337g/l , 0.073g/l , 0.089g/l في مستخلصات جذور وأوراق وسيقان وحمض الأسكوربيك (Vc) والطوكوفورول (VE) على الترتيب .

يتضح من خلال هذه القيم أن الفعالية المضادة للأكسدة :

– لمستخلص الجذور أضعف بمرتين من حمض الأسكوربيك (Vc) والطوكوفورول (VE) و بمرة و نصف من الطوكوفورول (VE)

.

– ومستخلص الأوراق أضعف بـ 3 مرات من حمض الأسكوربيك (Vc) و بمرتين ونصف من الطوكوفورول (VE) .

– مستخلص السيقان أضعف بـ 4 مرات ونصف من حمض الأسكوربيك (Vc) و 4 مرات من الطوكوفورول (VE) .

حيث حمض الأسكوربيك (Vc) والطوكوفورول (VE) يستعملان كمواد حافظة في الصناعة الغذائية كما نلاحظ أن مستخلص الجذور له فعالية مضادة للأكسدة أعلى من مستخلص الأوراق وهذا الأخير له فعالية مضادة للأكسدة أحسن من مستخلص السيقان .

الجدول رقم (04): نتائج اختبار DPPH لكل مستخلصات أملاح الغلويدات للنبات المدروس و المركبات القياسية (v_c) و (v_E)

	متخلص الجذور	مستخلص الأوراق	مستخلص السيقان	حمض الأسكوربيك (Vc)	حمض والطوكوفورول (VE)
قيم IC50 بـ (g / l)	0.132	0.235	0.337	0.073	0.089

– بلغت القدرة المضادة للأكسدة المكافئة للطوكوفورول (VE) وللمستخلصات : 0.314g/l للجذور و 0.287g/l للأوراق و 0.133 g/l للسيقان و 0.582 g/l لحمض الأسكوربيك (Vc) .

تدل هذه النتائج أن حمض الأسكوربيك المستعمل في الصناعة كمادة حافظة ومضادة للأكسدة أكبر من مستخلص الجذور بمرتين ، ومن مستخلص الأوراق بمرتين ، ومن مستخلص السيقان بـ 4 مرات .

الجدول رقم (05): نتائج اختبار FRAP للمستخلصات وحمض الأسكوربيك (v_c)

	مستخلص الجذور	مستخلص الأوراق	مستخلص السيقان	حمض الأسكوربيك (Vc)
VEAC بـ (g / l)	0.314	0.287	0.133	0.582

الخلاصة

من دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الخام للقلويدات في مختلف أعضاء النبات في جذور و أوراق وسيقان نبات *Traganum nudatum* على المكروبات المختبرة عند تركيز الأم 5 mg/ml و حسب قيم CMI وجدنا أن لهذه المستخلصات فعالية على بعض المكروبات المختبرة دون الأخرى وهذه الفعالية اتجاه المكروبات تختلف من مستخلص إلى أخر.

لمستخلصات الخام للقلويدات في صورتها الملحية (لجذور وأوراق وسيقان) نبات *Traganum nudatum*. لها فعالية متوسطة وذلك بمقارنتها مع المركبات القياسية المستعملة في الصناعة الغذائية كمواد حافظة.

والجدير بالذكر عند دراسة الفعالية البيولوجية والفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للجذور الحرة وجدنا أنهما يتسايران في اتجاه واحد، حيث كان مستخلص الجذور في كلتا الدراستين له فعالية أحسن من مستخلص الأوراق وهذا الأخير له فعالية أحسن من مستخلص السيقان

المراجع :

[01] - FARAGALATTIYAT. Ahmed : Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe de l'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe. L'Institution arabe pour l'étude et édition, p. 21-22.

[02] – P .Ozenda : Flore du Sahara , Centre Nationale de la Recherche scientifique , Paris , 2ème édition , 1983 , p : 622 .

[03] – CHEHMA A , catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides Université de Ouargla Ed.Dar EL-Houda , 2006 , P : 146 .

[04] – CORDELLE G . A ., Introduction to alkaloids a biogenetic approach , edition. Canada, 1949, p. 1-1055.

[05] – BAURER A. W ., KIRRY W . M ..M .., SHERRES . J.C.A ., TURCH . M ., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method - Amer J. Clin Pathol., 1966, p. 45-493 - 496 .

[06] – BRAND WILLIAMS .W, BERSET.C,CUVELIER.M.E," Use of free redical method to evalute antioxidant activity lebens " Wissen .U.Tech , 1995 , p: 28 -30

[07] – BLOIS ," Détermination antioxydants de M .S . par l'utilisation d'un radical libre stable nature1958 , p : 181 , 2000 , pp : 1199 .

[08] – MARNEY BUTZ . " Use of the ferrie Reducing Antioxidant Power Test (FRAO) Assay as a Measurement of Antioxidant of Plant Phenylpropannoids , Undergraduate Research conference Centennial Studebt Union Minnesota State University , Mankatomars 2002 , p : 25 - 26 .

[09] – Uchiyama , Suzuki . Y, et fukuzawa Etude biochimiaues de K. " de la fonction physiologique du tcopherolactome Yakgaku Zasshi 88 , 1968 , pp : 68 – 683 .

[10] – I.F.F BENZIE , J.J.STAIN ." the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as A mesure of antioxidant power , ehe FRAP essay Anal Biochen . 1996 , p : 239 , 70 – 76 .