تقييم فعالية المستخلص الكحولي للصمغ المنتج من نبات *Boswellia Carterii* كمضاد بكتيري لبعض أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام

عمار حقي سلمان
كلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار

الخلاصة

استهدفت الدراسة فحص فعالية الخلاصة الكحولية للصمغ المنتج من نبات *Boswellia Carterii* ضد بعض أنواع البكتيريا حيث استخدم في الدراسة نوعان من البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وهي *Staphylococcus Aureus* (24عزلة) و *Streptococcus Pyogen* (20عزلة) ونوعان من البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي *Escherichia. Coli* (35 عزلة) و *Salmonella species* (20 عزلة)واستخدمت في الدراسة خمسة تراكيز هي (200,100,75,50,25 ملغم/مللتر) وأظهر المستخلص فعالية مضادة للجراثيم المستخدمة حيث كانت معدلات مناطق تثبيط النمو تتناسب طرديا مع التراكيز المستخدمة في الدراسة.

Evaluation of antibacterial activity of alcoholic extract of resin produced from *Boswellia Carterii* against some G- and G+ of bacteria

A. H. Salman
Collage of Veterinary Medicine/ University of Anbar

Abstract

In this study antibacterial of resin alcoholic extract produced from *Boswellia Carterii* evaluated by tested it's extract against four types of bacterial growth, two of them arm gram (+ve) bacteria which are *Staphylococcus aureus* (24 isolation) and *Streptococcus Pyogen* (18isolation), the other two or gram(-ve) bacteria which are *E. Coli* (35 isolation) and *Sall. Spp.* (20 isolation). Five concentrations of extract were used which are (25-50-75-100-200mg-ml).The extract showed antibacterial activity against all types of bacteria and that's exhibited zones of inhibition increased directly with increasing concentration of the extract.

المقدمة

عد نبات *Boswellia Carterii* من فصيلة Burseraceae ، يستخلص منه صمغ (راتنج) سمي بالعربية ب (اللبان الذكر) أو (الكندر) أو (المر) وبالانكليزية بـ (frankincense) أو (Olibanum)، إ ذ النبات متواجد المملكة العربية السعودية والصومال واليمن وكذلك دول شرق البحر المتوسط والسودان(1) كما تنمو أنواع أخرى من جنس *Boswellia* في كل من اريتريوا ثيوبيا والهند وكينيا وعمان ونيجيريا (2). اللبان الذكر مادة بيضاءدوية العشبية المستخدمة في تاريخ البشرية حيث تم استخدامه منذ أيام اليونان وفارس والرومان(3).

اللبان الذكر مادة بيضاء مصفرة أو مصفرة – برتقالية اللون مستخرجة من شق جذوع نباتات من جنس *Boswellia* حيث تتجمع على هيئة دموع يتم جمعها بعد تجفيفها)(2) وهناك حوالي 25 نوع من أنواع جنس *Boswellia*(1).

إ ذ للبان الذكر استخدامات طبية وغير طبية عديدة فهو يظهر فعالية كمنبه ومطهر للجهاز التنفسي ومدرر ومدر للطمث، وكما يستخدم في التجميل كمقوي للجلد وملين ومضاد للتجاعيد وكمثبت للعطور(2). كما أظهر اللبان الذكر فعالية ومضادة للالتهاب وألام المفاصل (antilnflammatory and antiarthritic pain) بعد استخلاصه كحوليا (4)، كما سجلت البحوث فعالية مضادة لبعض أنواع السرطانات مثل meningioma (5) وأشار ت البحوث بتأثيره على الجهاز التنفسي حيث اظهر 70% من الأشخاص المصابين بالربو القصبي تحسنا واضحا بعد استخدامهم اللبان الذكر مقابل 27% اظهر تحسنا واضحا في مجموعة السيطرة (6).

كما إ ذ لـ (اللبان الذكر) المستخرج من نوع *Boswellia Carterii* المستخدم في هذه الدراسة فعالية مضادة للجراثيم بسبب احتوائه على بعض المركبات المضادة للجراثيم (7) وهذا يفسر استخدامه قديما كمادة مطهرة عند ظهور الأوبئة بطريقة مباشرة أو عن طريق التبخير حيث يحول إلى مسحوق ويبخر به المكان الموبوء (7)(1). وقد أجريت الدراسة لتقييم فعالية اللبان الذكر ضد الجراثيم والتي ذكرتها بعض مصادر الطب البديل خصوصا وان اللبان الذكر من الأدوية النباتية المستخدمة بكثرة في العراق.

المواد وطرائق العمل

أولا:تحضير الخلاصة الكحولية

تم الحصول على اللبان الذكر من السوق المحلية وهو النوع المنتج من نبات *Boswellia Carterii* الذ ي ينمو جنوب الجزيرة العربية حيث يستورده العراق من اليمن وعمان، طحن اللبان الذكر مباشرة لكونه جاف وحفظ النموذج المطحون في عبوات زجاجية محكمة الغلق ومعتمة لحين تحضير الخلاصة الكحولية بوضع 200 غم من اللبان المطحون في وعاء سعة 1000 مللتر وأضيف إليه 400 مللتر من الكحول الاثيلي 96% وترك لمدة أسبوعين مع التحريك المستمر بواسطة خلاط كهربائي ثم تم تبخير الكحول بواسطة جهاز التبخير الدوار Rotary evaporator.

ثانيا:تحضير البكتيريا والأوساط الزرعية

استخدمت عزلات بكتيرية من مختبر الأحياء المجهرية في كلية الطب البيطري/جامعة بغداد مشخصة كما يلي: *Staph. Aureus* (24عزلة)، *Strept. Pyogen* (18عزلة)، *E. Coli* (35 عزلة)، *Sall. Spp.* (20 عزلة)، بذرت 0.02 مللتر من العالق الجرثومي لكل 100 مللتر من الوسط الزرعي بعد وصوله إلى درجة حرارة 50م لإضافة العالق الجرثومي دون قتل البكتريا. بعد ذلك تم عمل (6) ثقوب في الوسط الزرعي بقطر (6 مليمتر) لكل ثقب و ذلك لغر ض استخدام طريقة الانتشار عبر الاكار (agar diffusion method) بعد تحويرها (8).

ثالثا: تحضيروا ضافة التراكيز من الخلاصة الكحولية

حضرت خمسة تراكيز من الخلاصة الكحولية وهي 25,50,75,100,200 ملغم/مللتر بإذابة الأوزا ن المذكورة في 1مللتر من الماء المقطر لمعقم واستخدمت التراكيز بو اقع طبق واحد لكل تركيز لكل عزلة.

تم وضع التراكيز في الثقوب ثم حفظت لمدة 24 ساعة بدرجة 37م ثم تم قياس نطاق منع النمو باستخدام zone reader.

رابعا:احتساب معدلات مناطق تثبيت النمو(9)

نظرا لاستخدام طبق لكل تركيز لكل عزلة ولان الطبق الو احد يحوي 6 ثقوب فقد تم احتساب معدلات مناطق التثبيط بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمترات كالأتي:

الخطوة الأولى:معدل التثبيط في الطبق الواحد (لكل عزلة)=مجموع قياسات مناطق التثبيط مقسوما على 6.

الخطوة الثانية: معدل التثبيط لكل نوع من أنواع البكتيريا= مجموع معدلات التثبيط لكل الأطباق مقسوما على عدد الأطباق.

اجري التحليل الإحصائي للمقارنة بين استجابة البكتيريا للخلاصة باستخدام مجال الثقة 5%حيث تم احتساب أعلى تثبيط واقل تثبيط في المجال المذكور بين أنواع البكتيريا المستخدمة في الدراسة.

النتائج

إ ن للبان الذكر فعالية مضادة لجميع أنواع البكتيريا المستخدمة واختلفت هذه الفعالية في استهدافها البكتيري من نوع إلى أخر من البكتريا ولكنها كانت تتشابه في تناسبها طرديا مع زيادة التركيز المستخدم من الخلاصة حيث بلغت معدلات تثبيط النمو بتركيز 25 ملغم/مللتر 9.2 مليمتر لبكتريا *Staph. Aureus*, 9.5 مليمتر لبكتيريا *Strept. Pyogen*، 10 مليمتر لبكتيريا *Sall. Spp*، 10.2 مليمتر لبكتيريا *E. Coli* في حين بلغت هذه المعدلات بتركيز 200 ملغم/مللتر 22، 6 مليمتر 18ملمتر، 24.1 مليمتر و 20ملمتر لأنواع البكتيريا على التوالي (جدول 1).

جدول (1) معدلات أقطار التثبيط لنمو البكتريا بالتراكيز المستخدمة من المستخلص النباتي مقاسة بالمليمترات

Conc. / Bact.	25 mg/ml	50 mg/ml	75 mg/ml	100 mg/ml	200 mg/ml
Staph. Aureus	9.2	12.7	13.4	16	22.6
Strept. Pyogen	9.5	10.3	12.8	13.1	18
Sall. Spp.	10	12.3	14.1	18.6	24.1
E. Coli	10.2	12.8	14.4	16.3	20

لوحظ وجود فرق معنوي بمستوى $P\leq0.05$ بتركيز25ملغم/مللتر حيث إ ن اقل نطاق للتثبيط كان ضد بكتيريا *Staph. Aureus* في حين كان أعلى نطاق تثبيط ضد بكتيريا E. Coli بفارق معنوي عن بقية أنواع البكتيريا بمستوى$P\leq0.05$.

أما بتراكيز 50,75,100 ملغم/مللتر فقد كان نطاق التثبيط ضد بكتيريا *Strept. Pyogen*_ اقل من بقية أنواع البكتيريا وبفارق معنوي بمستوى $P\leq0.05$ في حين لم يكن هناك فارق معنوي بنفس المستوى بالنسبة لأعلى تثبيط للنمو.

وبتركيز 200 ملغم/مللتر كان اقل تثبيط ضد بكتيريا *Strept. Pyogen* بفارق معنوي بمستوى $P\leq0.05$ عن بقية أنواع البكتيريا في حين كان هناك فارق معنوي بنفس المستوى لأعلى نطاق تثبيط والذي كان ضد بكتيريا *Sall. Spp*.

المناقشة

يحوي اللبان الذكر مواد قد تكون ذا ت الفعالية المضادة للبكتيريا ومن هذه المواد boswellic acid والذ ي يتضمن في تركيبه الكيميائي مواد فينولية phenolic compounds (10) والتي من المعروف عنها منع نمو البكتيريا كما أشار Mothana و Lindequist (11) إلى إ ن الزيوت التي تتكون من مونوترين و دايتربين وسيسكوتربين هي المسؤولة عن هذه الفعالية في حين ذكر Basar (7) إلى احتواء اللبان الذكر مواد مثل -24 norursa-3,12dieneg و incenole acetate و cembrene A ذا ت الفعالية المضادة للجراثيم وحيث إ ن هذه المواد تدخل في تركيب الزيوت الطيارة فهذا يفسر استخدام اللبان الذكر بالتبخير لتطهير المناطق الموبوءة (4). وهذه النتائج تتفق مع مذكر ه Mothana و Lindequist (11) و Mikhecil وجماعته (12) و Umezu (13) و Abbas وجماعته(14) و Canarda وجماعته(15) و من إ ن للبان الذكر فعالية مضادة للجراثيم.

إ ن الفوارق المعنوية لأعلى واقل تثبيط يمكن تفسيره بان البكتيريا المستخدمة تتحسس لأنواع المركبات الموجودة في اللبان الذكر بدرجات مختلفة بين نوع وآخر وبالتالي فان استجابة البكتيريا لهذه المواد تختلف باختلاف التراكيز وهذا يشاهد في *Spp .Sall* حيث زاد تأثرها بالخلاصة بتركيز 200 ملغم‌مللتر بحيث كان هناك فارق معنوي عن بقية الأنواع الأخرى في حين ظلت البكتيريا *.Strept* هي الأقل تأثرا مع فارق معنوي عن بقية الأنواع الأخرى في كل التراكيز أما بكتيريا *E. Coli* فقد كانت الأكثر تأثرا بالخلاصة مع الفارق المعنوي عن بقية أنواع الجراثيم بتركيز 25ملغم‌مللتر ثم زال هذا الفارق بالتراكيز 50، 75، 100 ملغم/مللتر أما بتركيز 200 مللتر/مللتر فقد كان الفارق لصالح *.Sall. Spp* مما يشير إلى إ ن بكتيريا *E. Coli* تأثرت أكثر من غيرها في التركيز الأقل ولكـ ن أنواع البكتيريا الأخرى زاد تأثرها مع زيادة التراكيز حتى كانت *.Sall. Spp* هي الأعلى تأثرا في التركيز الأعلى.

وبخصوص بكتيريا *.Staph* فقد كانت الأقل تأثرا بتركيز 25 ملغم/مللتر مع الفارق المعنوي عن بقية التراكيز لكن تأثرها ازداد مع زيادة التراكيز فأصبحت البكتيريا *.Strept* هي الأقل تأثرا.

إ ن هذا الاختلاف يعزى إلى إ ن الأنواع المختلفة من البكتيريا تتأثر بشكل مختلف عن الأنواع الأخرى فبعض البكتيريا قد تكون حساسة لمادة معينة أكثر من غيرها كما إ ن حساسية البكتيريا لمادة معينة تختلف باختلاف تركيز المادة(16).

المصادر

1. جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية.(1988). النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوط ن العربي، الطبعة الأولى، الخرطوم، دار مصر للطباعة،ص 176–177 .
2. Tony Bufield, (Jan 2009), Frankincense- A Brief catch-up, Cropwatch newsletter, P.1-3.
3. Bowker, J. (1998). The complete bible hand book, Dorling Kindersleg, London, U.K.
4. Handa, S.S. (2007). Introduction Phytoterapia, 63(10): 3.
5. Hostanske, K.; Daum, G. & Saller, R. (2006). Cytostatic and apoptosis including activity of Boswellic acid towards malignant cells in vitro, anticancer Research 22: 2853-2862.
6. Gupta, I.; Gupta, V.; Parihar, A.; Gupta, S.; Ludtke, R.; Safayhi, H. & Ammon H.P. (2000). Effect of Boswella serrata gum resin in patients with bronchial asthma, Eur. J. Med. Res., 3: 511-514.
7. Basar, S. (2005). Phytochemical investigations on Boswellic species: Comparative studies on the essential oils, Pyrdystes and boswellic acids of Boswella Carterii Birdw., Boswella Serrata Roxb., Boswella Frereana Birdw.,

Boswella neglecta S.Moore and Boswellia Rivae, PhD Thesis, university of Hamburg, Engl.
8. Grove, D. C. & Randall, W. A. (1995). Assay methods of antibiotic monograph, No.2, Inc. New York, 22 N.Y.
9. Salman, A. H. (1997). Pharmacological and toxicological study on Ruta Chalepenses and Zizphus Spina-Cristi and their effect on Ascaridia Galli in vitro, MSc. Thesis, Collage of Veterinary Medicine, University of Baghdad.
10. Buchele, B.; Zugrnaier, W.; Simmet, T. (2003). Analysis of pentacyclic triterpenic acids from frankincense, gum resins and related phyto pharmaceuticals by HPLC. J. of Chromatography B., 791: 21-30.
11. Mothana, R. A. A.; Lindequist, U. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Socotra, J. Ethnopharmacol, 96: 177-181.
12. Mikhecil, B. R.; Maatooq, G. T.; Badria, F. A.; Amer, M. M. A. (2003). Chemistry and immunomodulatory activity of frank9incense oil, Zeitschrit fur Naturaforshung Biosciences, 85: 230-238.
13. Umezu, T. (2000). Behavioral effect of plant-derived essential oils in the Geller-type conflict test in mice. Jpn. J. Pharmacol.,83: 150-153.
14. Abbas, F.; Al-Massarany, S. M.; Khan, S.; Al-Howiriny, T. A. & Mossa, J. S. (2007). Phytochemical and biological studies on Saudi commiphoraopo balsamum L. Nat Prod. Res., 21(5): 383-391.
15. Canarda, L.; Dayton, T.; DiStefano, V.; Pitonzo, R. & Schillaci, D.(2007). Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from Boswella Spp(Burseraceae). Ann Chim., 97(9): 837-844.
16. Cynthia, M. K. (Editor), (2005). Merck veterinary manual, Merck & co., INC, U.S.A., P. 2053-2055.