التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية بأستخدام نباتي التمر الهندي وقلف الجوز والتحري عن الفعالية (الضد البكتيرية، الضد اكسدة) والتأثيرات السمية

بثينة عبد الحمزة

الجامعة التكنولوجية

الملخص:

تضمنت الدراسة تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي الحار ولدقائق الفضة النانوية لنبات التمرهندي ونبات قلف الجوز لثلاثة انواع من االممرضات هي: *Escherichia coli,* *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aurous.* حضر نوعيين من المستخلصات النباتية اضافة الى دقائق الفضة النانوية , تم الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة لمستخلص الكحولي ولكلا النباتين، إذ اظهر النتائج الى وجود الستروريدات والتانينات والكلاكوسيدات والصابونيات والفلافونات والقلويدات في المستخلص الكحولي لنبات قلف الجوز بينما اظهرت نتائج الكشف الكيميائي لنبات التمر هندي على وجود الفلافونات والقلويدات والصابونيات الستروريدات والتانينات والكلاكوسيدات. كذلك تم اجراء فحص اختبار فوييرر لمطيافية الاشعة تحت حمراء وفحص المجهر الالكتروني الماسح SEM و .UV-vi, . درست الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي الحار ولدقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي ونبات قلف الجوز من خلال تحضير خمس تراكيزتراوحت بين (٢٠, ٤٠,٦٠,٨٠,١٠٠) ملغم/مليلتر لكل مستخلص ودقائق الفضة النانوية وقد تباينت المستخلصات في تأثيرها تجاه العزلات البكتيريا المرضية. اذ كان أعلى تأثير للمستخلص الكحولي لنبات التمر هندي على نمو بكتيريا *S . aurous* وذلك بمعدل قطر منطقة تثبيط بلغ (١٨ ملم) ودقائق الفضة النانوية بمعدل تثبيط ٢٠ ملم تليها في ذلك كلا من والبكتريا *E.coli* وبكتيريا*P. aeruginosa* بمعدل تثبيط بلغ (١٧ملم و ١٥ملم) على التوالي للمستخلص الكحولي وبمعدل تثبيط (١٩ملم) و(١٨ملم) ودقائق الفضة النانوية. أما بالنسبة للمستخلص الكحولي لنبات قلف الجوز فقد اظهر اعلى تأثير له على نمو بكتيريا *S . aurous* وذلك بمعدل تثبيط بلغ (١٧ملم) ودقائق الفضة النانوية بمعدل تثبيط (١٩ ملم), واقل تأثير في تثبيط كان في البكتريا المعوية *E.coli* وبكتيريا *P.aeruginosa* بمعدل قطر منطقة تثبيط بلغ (١٦ملم و ١٤ملم) على التوالي للمستخلص الكحولي وبمعدل تثبيط (١٨ ملم) و(١٧ملم) ولدقائق الفضة النانوية. كذلك اظهر تأثير عالي على البكتريا الموجبة بالمقارنة مع البكتريا السالبة

بالنسبة لنبات التمر هندي و نبات قلف الجوز. أيضاً تمت دراسة الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص الكحولي الحار ولدقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي ونبات قلف الجوز وبينت النتائج بأن جميع المستخلصات النباتية ودقائق الفضة النانوية تمتلك فعالية مضادة للاكسدة تباينت أعتماداً على نوع المستخلص والنبات اذ يمتلك المستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوية مركبات فعالة. كما تم دراسة تأثيرالسمي للمستخلص الكحولي الحار ولدقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي ونبات قلف الجوز على كريات الدم الحمراء للانسان (خارج الجسم الحي) وعلى الحيوانات التجريبية (داخل الجسم الحي)، وقد بينت النتائج لاتوجد فروقات معنوية في مستوى فعاليات الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وكذلك عدم أمتلاك المستخلص الكحولي الحار ودقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي ونبات قلف الجوز أي تأثير سمي يذكر.

الكلمات المفتاحية : التمر الهندي وقلف الجوز، المستخلص الكحولي، دقائق الفضة النانوية، الفعالية المضادة للميكروبات، الفعالية المضادة للاكسدة ، السمية .

المقدمة:

ساهمت تقنية الربط بين النانوتكنولوجي والبايلوجي على حل العديد من المشاكل الطبية الحيوية من خلال الحصول على مواد متناهية صغر (النانو) التي لها دور فعال في العمليات البايولوجية اذ لعبت جسيمات النانوية للمستخلصات النباتية دور مميز في الفعالية المضادة للجراثيم [١,٢] لذا توجه العلم للطبيعة لايجاد بدائل امينة وفعالة فزاد الاهتمام بالنباتات الطبية لعدة أسباب منها صحية واخرى اقتصادية. يعد نبات التمر هندي واحد من النباتات المهمة طبيا اذ يمتاز بانة نبات معمر ذو ازهار صفراء مركبة عنقودية, يحتوي على العديد من المواد الفعالة والزيوت الطيارة التي تجعل منه مضادا حيويا فعالا [٣]. يمتلك النبات العديد من الخواص العلاجية ويعود ذلك لمحتواه العالي من المركبات الكيميائية الفعالة والمتمثلة بالفلافونيدات والمركبات الفينولية [٤]. وتعد شجرة نبات التمر هندي من الاشجار المفضلة للهنود وسكان شرق اسيا اذ يعد النبات الاساسي في الطب التقليدي اذ يستفاد منه كملين ومضاد للقيء وطارد للغازات من الجهاز الهضمي ومقشع ومنشط للدم فضلا عن استعماله في علاج الحروق والجروح [٥], فضلا عن انه مادة غير سامة رخيصة الثمن ومادة مضادة للسرطان اذ اكدت الدراسات الحديثة ان للمستخلص المائي لبذور نبات التمر الهندي فعالية عالية في تخفيض مستوى السكر عند ذكور الفئران المصابة بالسكري[٦]، وقد لوحظ ان السكريات المعزولة من بذوره لها تأثير ايجابي على الجهاز المناعي [٧]. يعد نبات قلف الجوز *Juglans regia* Linn من الاشجار الأكثر انتشارا في العالم, وتسمى الشجرة عادة باسم الجوز الفارسي , والجوز الأبيض, والجوز الإنجليزية أو الجوز المشترك. اذ ينتمي إلى عائلةجوغلانداسيJuglandaceae . تكثر في منطقة

التي تمتد من البلقان شرقا إلى سلسلة جبال الهيمالايا الغربا [٨]. وقد استخدم الجوز عالميا في التغذية البشرية منذ العصور القديمة, وبسبب محتواه العالي من البروتين فانه يعد من الفاكهة التي لا غنى في تغذية الإنسان. وهو مدرج في قائمة منظمة الأغذية والزراعة للمصانع ذات الأولوية, الجوز غذاء غني بالمغذيات بسبب ارتفاع نسبة الدهون والبروتينات والفيتامينات والمعادن. وهي أيضا مصدر جيد للفلافونويدات، والستيرول، والمواد البكتينية، والأحماض الفينولية والبوليفينول ذات الصلة و جوغلانز ريجيا لين يحتوي على غلوبولينGlobulin ، جوغلانسين juglansin ، فيتامين (أ) و (ب)، حمض الاسكوربيك، حمض الأكساليكoxalic acid ، جوغلون، ١،٤–ناباثاكينون، الأحماض الأمينية، سيترولين citrulline – ريجيولون، حمض البيتولينيك، -βسيتوستيرولβ-sitosterol ، بربارينberberine . كذلك يحتوي على sakuranetetin سافورانيتيتين فلافونويد، جوغلون juglone ، سيكلوتريجوغلون، -β سيتوستيرول، مونوتربينس، اليوجينول. كذلك تحتوي الأوراق على كيرسيتين–٣ [١٠ ,٩].
quercitin-٣-α-L-arabinofuranoside[١] لمستخلص الإيثانولي لنبات قشور الجوز المستعمل في الطب الشعبي نشاط مضاد للبكتيريا [١١]ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية [١٢]. تأثيرات مضادة للفطريات[١٣].لقد اشارت الدراسة الى استعمال تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية والنانوية تظهر فعالية عالية ضد البكتريا والخمائر فهي تمتلك تأثير محطما للتركيب الخلوية ,كما تعد مصادر غذائية امنية تضاف الى الطعام لمنع نمو الجراثيم [١٤].

ولعدم توفر ادبيات ودراسات عراقية شاملة حول تأثير المستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوي المحضرة بواسطة ا لنباتات المستعملة في الدراسة في وزن الجسم وبعض معايير الدم الفسلجية والكيموحيوية والاستعمال الواسع لهذا النبات في علاج العديد من الحالات المرضية في مختلف المجالات الطبية , وفي ضوء ما ذكر اعلاه أقترحت الدراسة الحالية لدراسة الفعالية الضد مايكروبية لبعض النباتات المحلية المتوفرة في العراق تم اختيار نبات التمر هندي وقلف الجوز المتعارف أستخدامها في الطب الشعبي , كذلك التحري عن المركبات الثانوية في المستخلصات النباتية. والفعالية المضادة للاكسدة للنباتات قيد الدراسة وايضا الكشف عن سمية تلك النباتات داخل وخارج الجسم الحي .

المواد وطرائق العمل :

جمع النبات

تم جمع نبات (التمر هندي قلف الجوز) من المعاشب الصحية المجازة وقد صنفت من قبل المعشب الوطني العراقي/الهيأ العامة لفحص وتصديق البذور التابع لوزارة الزراعة, بعد جمع النبات ترك في الظل بدرجة حرارة الغرفة بعدها تم طحن النبات بمطحنة كهربائية ثم حفظت الاجزاء المطحونة في انابيب زجاجية معقمة بعيدة عن الضوء والحرارة لحين الاستعمال.

تحضير المستخلصات الكحولية

وزن ٥٠ غرام من مسحوق نبات (ثمرة نبات التمر هندي , قلف الجوز) ووضعت في كشتبان وأضيف إليه ٣٠٠ ملليتر من كحول الايثانول بتركيز ٨٠٪ واستخلص بجهاز السكسوليت لمدة سبع ساعات, وبعدها تم ترشيح المستخلص باستخدام ورق الترشيح ثم جفف بواسطة المبخر الدوار الى حين الحصول على الباودر. ثم وزن ١ غم من الباودر واذيب في ١٠ملليتر من الماء المقطر (D.W) للحصول على محلول الخزين stock ومن ثم حضرت منه التخافيف التالية (١,٠,٨,٠,٦,٠,٤,٠,٠,٢) ملغم/مل [١٥] .

تحضير الدقائق الفضة النانوية

١-حضر ١ غم من المستخلص السابق (الكحولي) الى ١٠ مل من الماء المقطر مع المزج المستمر .

٢-وزن ٠,٠٣٤ غم من نترات الفضة والتي اذيبت في ١٠٠مل من الماء المقطر المعقم وغلفت القنية الحاوية علية الامنيوم فويل . ثم اخذ من المحلول السابق بالفقرة (١) وضيفت الى ٩٠ مل من المحلول بالفقرة (٢) وتركت في حمام مائي الى حصول التغير اللوني للمحلول دلالة على الحصول على المستخلص النانوي . وبعد ذلك تم تحضير التخافيف(١,٠,٨,٠,٦,٠,٤,٠,٠,٢) ملغم/مل المطلوبة في التجربة .

الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة لنبات(التمر هندي قلف الجوز)

الكشف عن الفلافونات: تم ذلك من خلال الاعتماد على الطريقة [١٦] من خلال مزج ١٠مل من الكحول الايثانول بتركيز ٥٠% و١٠ مل من هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز٥٠% ثم مزج حجوم متساوية من هذا المحلول والمستخلصات النباتية, اذ يدل ظهور اللون الاصفر على وجود الفلافونات.

الكشف عن القلويدات :تم الاختبار بأضافة ٣ مل من المستخلص النباتي في انبوبة اختبار واضيف له ٢ مل من كاشف دراجندروف وعند رج الانبوبة يعطي لون ابيض محببا يدل على ايجابية الفحص .

الكشف عن التانينات: تم ذلك باضافة بضع قطرات من محلول خلات الرصاص بنسبة ١% الى ٥٠ مل من المستخلص النباتي ظهور راسب هلامي القوام دلالة على ايجابية الفحص[١٧].

الكشف عن الصابونيات: تم اجراء الكشف بإضافة ١ مل من كلوريد الزئبقيك الى ٥ مل من المستخلص في أنبوبة اختبار يدل ظهورالراسب الابيض على وجود الصابونيات [١٦].

الكشف عن الترينيات : تم اجراء الكشف بإضافة ١ مل المستخلص الى ٢مل الكلوروفورم في انبوبة اختبار مع المزج وبعدها تم اضافة قطرة من حامض الخليك وحامض الكبربيتيك المركز تكون او ظهور حلقة بنية فاتح دلالة على ايجابية الكشف[١٨].

الكشف عن الستيرويدات :من خلال الاعتماد على الطريقة Al-Maisry M. ١٩٩٩ يدل تكون حلقة ذات لون ازرق على ايجابية الفحص.

الكشف عن الكلايكوسيدات : باضافة ٥مل من كاشف بندكت في أنبوبة اختبار وبعدها تم اضافة ٢ مل من المستخلص وبعدها وضعت الأنبوبة في حمام مائي مغلي لمدة خمس دقائق ,ظهور راسب بني يدل على وجود الكلايكوسيدات [١٩]

توصيف دقائق الفضة النانوية

فحص SEM assay

الغرض منه لفحص سطوح الاغشية للمستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوية بعد ترسيبها على قطعه من السليكون تم التصوير باستخدام مجهرالالكتروني الماسح نوع Nova-Nano SEM ٤٣٠-USA.اجري هذا الاختبار في الجامعة التكنولوجية – مركز النانوتكنولوجي.

فحص Ultraviolet-visible Spectroscopy (UV- Vis)

تم استخدم جهاز UV- Vis من النوع Metertech, SP٨٠٠١ spectrophotometer, Japan , تم اجراء الفحص في الجامعة التكنولوجية – قسم العلوم التطبيقية – فرع الكيمياء التطبيقية(المختبر الخدمي).

قياس مطيافية Fourier transfer infrared (FTIR)

لدراسة الاواصر الكيميائية والمركبات الفعالة في المادة قيد الدراسة, اجري الاختبار في الجامعة التكنولوجية – قسم العلوم التطبيقية – فرع الكيمياء التطبيقية(المختبر الخدمي).

دراسة الفعالية المضادة للبكتريا لنبات(التمر هندي قلف الجوز)

تم الحصول على العزلات البكتيرية والمشخصة من مستشفى الزعفرانية العام / مختبر الاحياء المجهرية وهي *E.coli , S. auras ,P. aeruginosa* وقد نشطت البكتريا في وسط نقيع القلب والدماغ Moller Hinton broth إذ تم تحضير عالق بكتيري عن طريق أخذ عدد

من المستعمرات البكتيرية ونقلت الى انبوبة حاوية على المحلول الملحي الفسلجي Normal physiological Saline ورجت ألأنبوبة باستعمال المازج Vortex وقيس تركيزه حتى اصبح مساوياً لـ (٠,٥ من McFarland Standard) ثم نقل ٥٠µl على طبق المولر هنتون أكار Muller Hinton Agar باستعمال ناشر زجاجي ,وترك ليجف نشرت خلايا العالق الميكروبي بواسطة Swab على وسط Moller Hinton Agar, ثم تم عمل ست حفر Wells بواسطة ثاقب فليني معقم بالكحول لوضع المستخلصات النباتية (الكحولية ودقائق الفضة النانوية) حفظت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة يوم واحد وقيست أقطار منطقة التثبيط بالمليلتر [٢٠] .

دراسة الفعالية المضادة للاكسدة لنباتات (التمر هندي وقلف الجوز)

تم ذلك من خلال تحضير مادة :(١,١-Diphenyl-٢-picryl-hydrazyl) DPPH بوزن ٢,٣ غم وأذيبت في ٣,٣ مل من الايثانول بتركيز ١٠٠% ورجت ألأنبوبة باستعمال المازج Vortex وحفظت في انابيب اختبار نظيفة وغلفت بورق الالمنيوم لمنع الاكسدة الضوئية. حضر بعد ذلك تراكيز مختلفة من مستخلصات (الكحولية ودقائق الفضة النانوية) وهي(٢٠,٤٠,٨٠) ميكروغرام/مليلتر بثلاث مكررات لكل تركيز اضافة الى حامض الاسكوربك (فيتامين C) كسيطرة موجبة . اذ تم اخذ كمية ١٠ميكرو ليتر من كل تركيز(للمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي وقلف الجوز) واظيف لها كمية ٤٩٠ ميكرو ليتر من الايثانول الى ان أصبح الحجم ١٠٠٠ مايكروليتر باضافة ٥٠٠ ميكروليتر من DPPH وحضن بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة نصف ساعة وبعدها قيس الكثافة اللونية عند الطول الموجي ٥١٧ نانومتر وتم من خلال المعادلة التالية [٢١].

$$\text{الكثافة البصرية} = \frac{\text{الكثافة البصرية للسيطرة} - \text{الكثافة البصرية للعينة}}{\text{الكثافة البصرية للسيطرة}} * ١٠٠\%$$

دراسة التأثيرات الجانبية لنبات(التمر هندي و قلف الجوز)

درست التأثيرات الجانبية للمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي وقلف الجوز داخل الجسم الحي باستخدام الحيوانات التجريبية (الفئران) إذ تم الحصول عليها من مركز التقنيات الاحيائية جامعة النهرين بعمر ٨ اسابيع وباوزان تراوحت بين ٢٥-٢٠ غرام قسمت عشوائيا الى ثلاث مجاميع بواقع ثلاث فئران لكل مجموعة اي بواقع٢٧ فارة:

المجموعة الاولى جرعت الفئران بمحلول الفوسفات الفسيولجي (PBS) (سيطرة سالبة).

المجموعة الثانية جرعت ١ مليغرام/كغم بمستخلصات(الكحولية ودقائق الفضة النانوية) للنباتين وتركت لمدة اسبوعين .

المجموعة الثالثة جرعت ١ مليغرام/كغم بمستخلصات(الكحولية و ودقائق الفضة النانوية) للنباتين وتركت لمدة اربعة اسابيع.

وزنت الفئران جميعها قبل و بعد انتهاء التجربة باستعمال الميزان.وبعدها تم تخدير الحيوانات بتعريضها الى كمية من مادة ثاني اثيل الايثر {$(C_2H_5)_2O$ } تم سحب الدم من القلب مباشرتا عن طريق طعنة القلب Heart puncture للحصول على اكبر كمية من الدم ووضعت عينات الدم في انابيب اختبار خالية من مانع التخثر وتركت لمدة ٢٠-١٥ دقيقة في درجة حرارة المختبر ثم نقلت الانابيب الى جهاز الطرد المركزي لغرض الحصول على المصل الدم [٢٢].

دراسة المعايير الكيموحيوية للدم

لقياس تأثير المستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية لنباتي التمر هندي وقلف الجوز على فعاليات وظائف الكبد تم اجراء التجربة حسب طريقة العمل المجهزة من الشركة . حيث تم قياس تأثير المستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية لنباتين على فعالية الكبد، إذ ستعملت kit المجهز من شركة (Randox Company) لقياس مستوى Alanine Amino-Transferase(GPT) وعلى الطول الموجي ٥٤٦ نانومتر و Aspartate Amino-Transferase (GOT) على الطول الموجي ٥١٠ نانومتر و Alkaline Phosphatase (ALP)وعلى الطول الموجي ٥١٠ نانومتر.

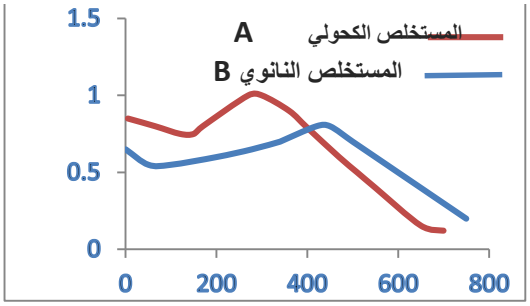
دراسة تاثير مستخلصات الكحولية و دقائق الفضة النانوية لنباتي التمر هندي وقلف الجوزعلى مكونات الدم للانسان

اعتمدت الطريقة الواردة في [٢٣] وذلك من خلال سحب الدم من اشخاص اصحاء (ذكور) تتراوح اعمارهم بين ٢٥ - ٤٠ سنة وتم الاختبار من خلال اضافة مستخلص نبات (التمر هندي وقلف الجوز) الكحولي و دقائق الفضة النانوية الى عينات الدم بتركيز ١٠ مايكوغرام/ مليليتر في انابيب الاختبارالحاوية على مانع تخثروترك الانبوب الاخر بدون معاملة بمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية (انبوب السيطرة) تم حضن الانابيب لمدة ساعة وبدرجة حرارة ٣٧ م° تم بعدها اختبارالعد الكامل للدم(Complete Blood Count test(C.B.C .

النتائج والمناقشة

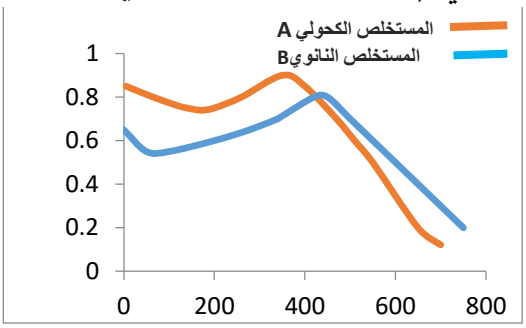
الخواص البصرية (UV- Vis)

اظهرت نتائج الفحص الاشعة المرئية UV- Vis كما موضح في الشكل (١) لمستخلصي نبات التمر هندي (A) المستخلص الكحولي (B) ودقائق الفضة النانوية تقع ضمن المدى المرئي .



الشكل (١) لمستخلصي نبات التمر هندي (A) المستخلص الكحولي (B) ودقائق الفضة النانوية

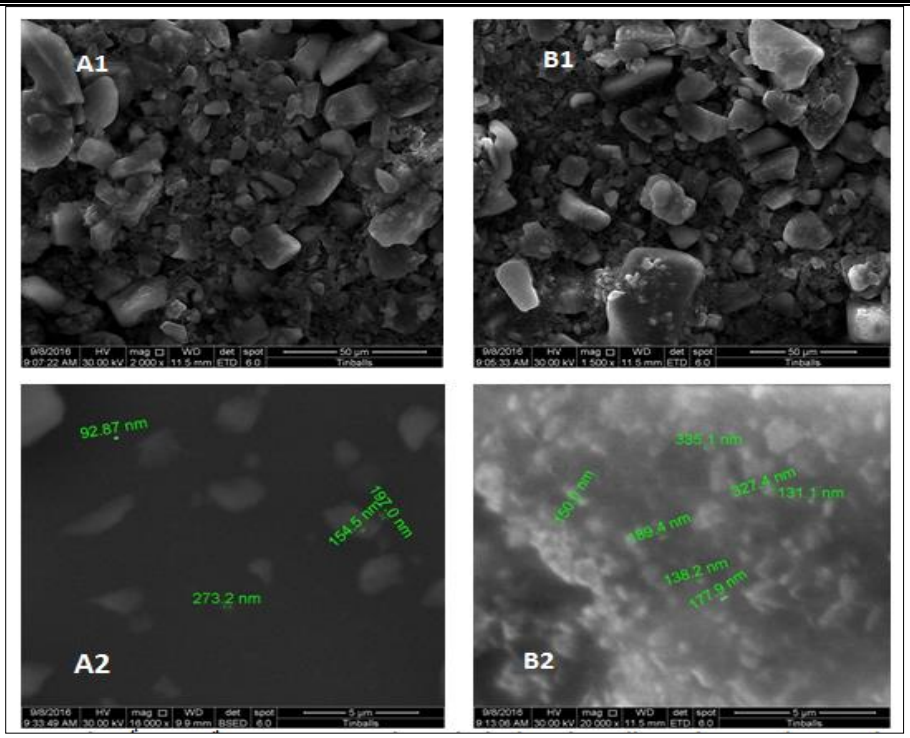
بينما كانت نتائج فحص UV-Vis كما موضحة في الشكل (٢) لمستخلصي نبات قلف الجوز (A) المستخلص الكحولي (B) ودقائق الفضة النانوية.



الشكل (٢) UV- Vis لمستخلصي نبات قلف الجوز (A) المستخلص الكحولي (B) ودقائق الفضة النانوية.

المجهر الاكتروني الماسح

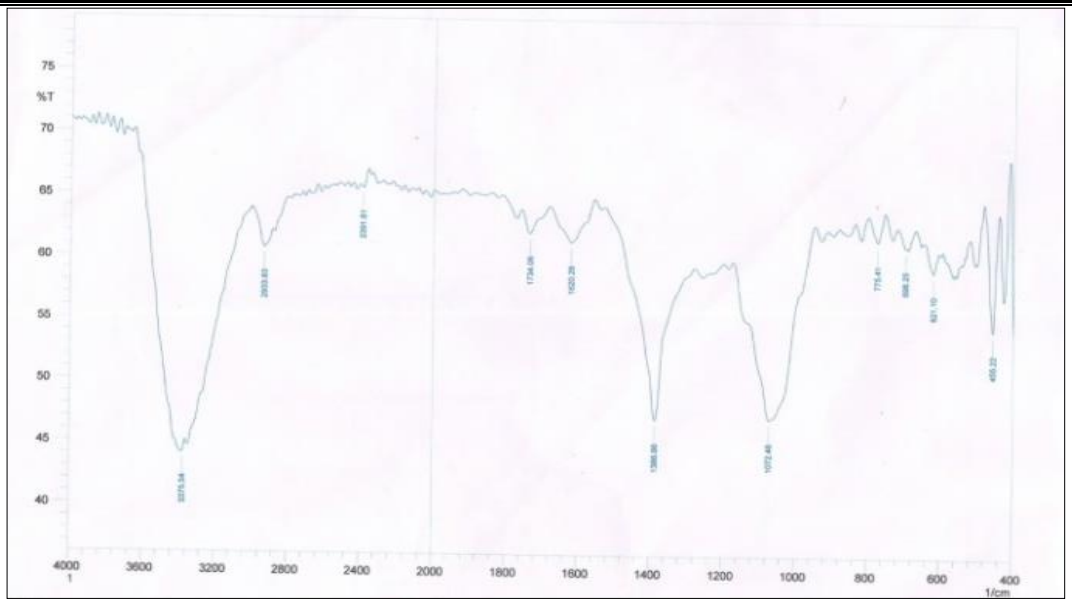
اظهرت نتائج المجهر الاكتروني الماسح ان معدل الجسيمات دقائق الفضة النانوية يتراوح قيمتها من ٩٢ الى٢٧٣ نانومتربالنسبة لنبات التمر هندي و١٥٠الى٣٣٥ نانومتر بالنسبة لنبات قلف الجوز اذ تم تحليل وتحديد حجم الجسيمات من خلال برنامج Image J اما المستخلصات الكحولية لكلا النباتين كانت بالقياسات الميكرومتر كما في الشكل (٣).



الشكل (٣) المجهر الالكتروني الماسح للمستخلص الكحولي لنبات التمر هندي (A١)وقلف الجوز(B١) دقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي (A٢) وقلف الجوز(B٢).

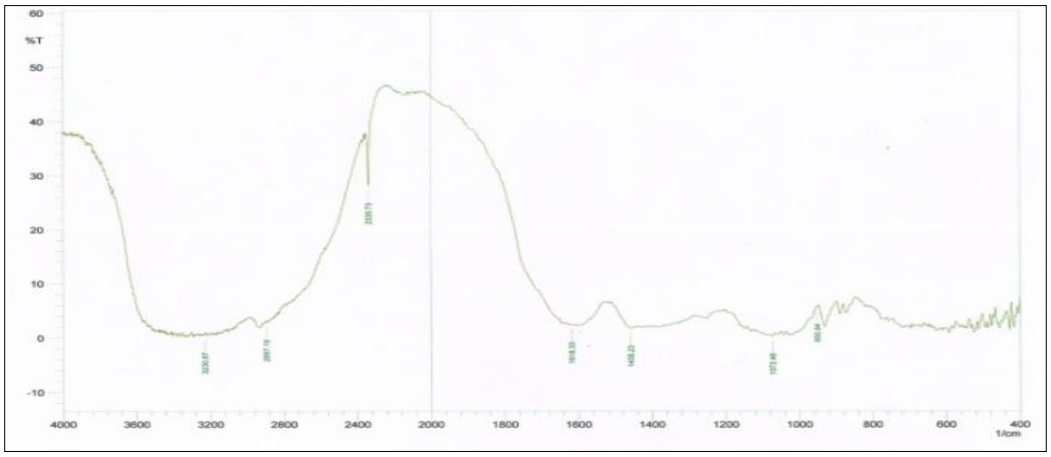
مطيافية الاشعة تحت الحمراء (FTIR)

يعد فحص مطيافية الاشعة تحت الحمراء من الفحوصات المختبرية المهمة والتي تستخدم في تعيين المجاميع الفعالة (الاواصر) الكيميائية في المركب قيد الدراسة , حيث يتم تحديد هوية المركب بناء على كيفية امتصاص الاواصر الكيميائية عند المدى ٤٠٠-٤٠٠٠ سم$^{-١}$, اذ يمتلك كل مركب امتصاصية خاصة به. تم فحص العينات (المسحوق) بواسطة جهاز FTIR. أظهرت نتائج الامتصاص الطيفي للمستخلص الكحولي لنبات التمر هندي وجود حزم ٣٣٧٥,٥٤سم$^{-١}$) الذي يدل على وجود الاصرة OH- , يدل وجود الحزم عند ٢٩٣٣,٨٣ سم$^{-١}$ على وجود وجود تشبع وجود حلقة غير مشبعة كما في حامض Hydroxamic . بينما تدل الحزم ٢٣٩١,٨١ سم$^{-١}$ على وجود aromatic C=O, والحزم عند ١٧٣٤,٠٦ سم$^{-١}$ ١٦٢٠,٢٦ تدل على وجود C=Cجود حزم عند المدى (١٣٨٦,٨٦ سم$^{-١}$) أذ يدل على وجود مجموعة C-H bending, يدل وجود الحزم عند–١٠٧٢,٤٦ سم$^{-١}$ يدل على ٧٧٥,٤١ سم$^{-١}$ على C-Oبينما يدل سم$^{-١}$ ٦٩٨,٢٥ على وجود مجموعة (S=O).



الشكل(٤) مطيافية الاشعة تحت الحمراء (FTIR) للمستخلص الكحولي لنبات التمر هندي .

بينما أظهرت نتائج الامتصاص الطيفي للمستخلص الكحولي قلف الجوز وجود حزم عند المدى (٣٢٣٠,٨٧ سم$^{-١}$) الذي يدل على وجود الاصرة O-H , يدل وجود الحزم عند ٢٨٩٧,١٨ سم$^{-١}$ على وجود وجود تشبع في الهيكل C-H .تدل الحزم عند ٢٣٣٩,٧٣ سم$^{-١}$ على وجود C-S,كما يدل ظهور الحزم (١٦١٨,٣٣سم$^{-١}$) على وجود aromatic بينما تدل الحزم ١٤٥٨,٢٣ سم$^{-١}$ على وجود bending C-H , والحزم عند ١٠٧٢,٤٦ سم$^{-١}$تدل على وجودC-O



الشكل(٥) مطيافية الاشعة تحت الحمراء (FTIR) للمستخلص الكحولي لنبات قلف الجوز .

يبين الجدول (١) نتائج الكشف الكيميائي عن االمركبات الفعالة في المستخلصات الكحولية لنباتي التمر هندي وقلف الجوز واظهرت النتائج بان مستخلص الكحولي لنبات التمر هندي يحتوي على مركبات الكلايكوسيدات القلويدات والفينولات والفلافونيدات والتانينات والتربينات والصابونيات وهذه النتائج تتفق مع نتيجة [١٨] الذي اشار الى احتواء النبات على المركبات

الفينولات والفلافونيدات والتربينات, كذلك الجال في المستخلص الكحولي لنبات وقلف الجوز يحتوي على الفينولات و الصابونيات و الكلايكوسيدات ,القلويدات والفلافونيدات والتانينات كذلك تتفق مع نتيجة [٢٤] باحتواء النبات على مركبات الراتنجات والكلايكوسيدات والصابونبات والقلويدات.

الجدول : (١) نتائج الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة في المستخلصات الكحولية لنباتي التمر هندي وقلف الجوز

ت	المركبات الفعالة لنبات التمر هندي	نتيجة	المركبات الفعالة لنبات قلف الجوز	نتيجة
١-	الكلايكوسيدات	+	الكلايكوسيدات	+
٢-	الفلافونيدات	+	الفلافونيدات	+
٣-	القلويدات	+	القلويدات	+
٤-	التربينات	+	التربينات	-
٥-	الصابونيات	+	الصابونيات	+
٦-	الستروبدات	-	الستروبدات	+
٧-	التانينات	+	التانينات	+

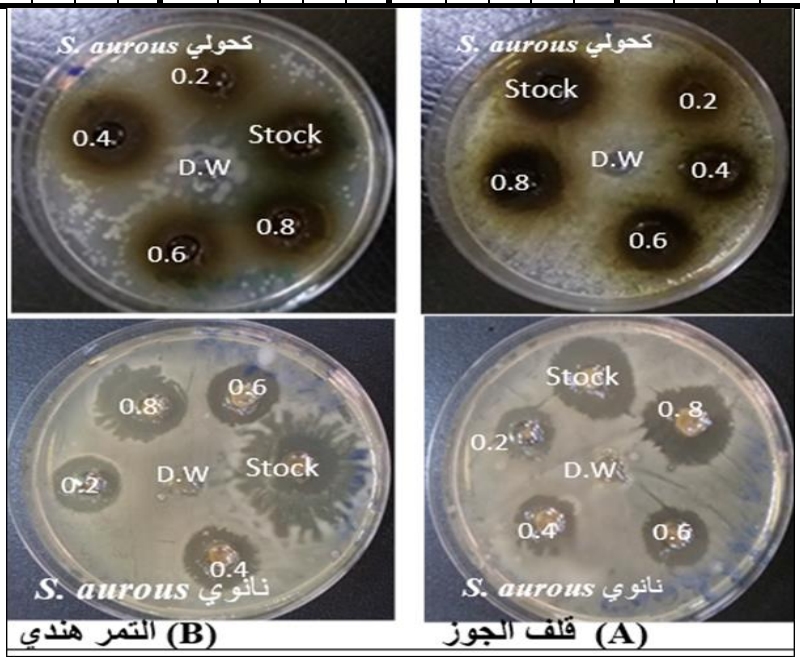
دراسة الفعالية الضد ميكروبية

اظهرت نتائج دراسة الفعالية الضد ميكروبية ضد ثلاثة انواع من الاحياء المجهرية وهي الاحياء الموجبة لصبغة كرام هي المكورات العنقودية *S.aurous* والسالبة لصبغة كرام هي البكتريا القولونية *E.coli* والزوائف الزنجارية *P aeruginosa* . وبطريقة الانتشار بالحفركما في الاشكال (٦, ٧, ٨,) فعالية واضحة ولكلا مستخلصي النباتين الكحولي ودقائق الفضة النانوية . اذ كان تأثير دقائق الفضة النانوية لنبات تمرهندي في *S. aurous* عالي بالمقارنة مع المستخلص الكحولي كما في الشكل (٦) والجدول (٢). اذ كان بمعدل تثبيط للمستخلص الكحولي (١٨) ملم ودقائق الفضة النانوية (٢٠) ملم. اما نبات قلف الجوز اذ اظهر تثبيط مقاربا لنبات التمر هندي وذلك (١٧) ملم للمستخلص الكحولي و(١٩) ملم لدقائق الفضة النانوية كما في الشكل (٦) والجدول(٢). في حين عند اختبار تأثير المستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوية ضد بكتريا القولونية *E.coli* اذ اظهر تأثير اقل لكلا لنباتين المستخدمين في الدراسة اذ كان بمعدل تثبيط (١٧) ملم للمستخلص الكحولي و(١٩) ملم في نبات التمر هندي , اما نبات قلف الجوز اذ كان معدل التثبيط (١٧) ملم المستخلص الكحولي و لدقائق الفضة النانوية (١٩) . في حين عند اختبار تأثير المستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوية ضد بكتريا القولونية *E.coli* اذ اظهر تأثير اقل لكلا لنباتين المستخدمين في الدراسة اذ كان بمعدل تثبيط (١٧) ملم

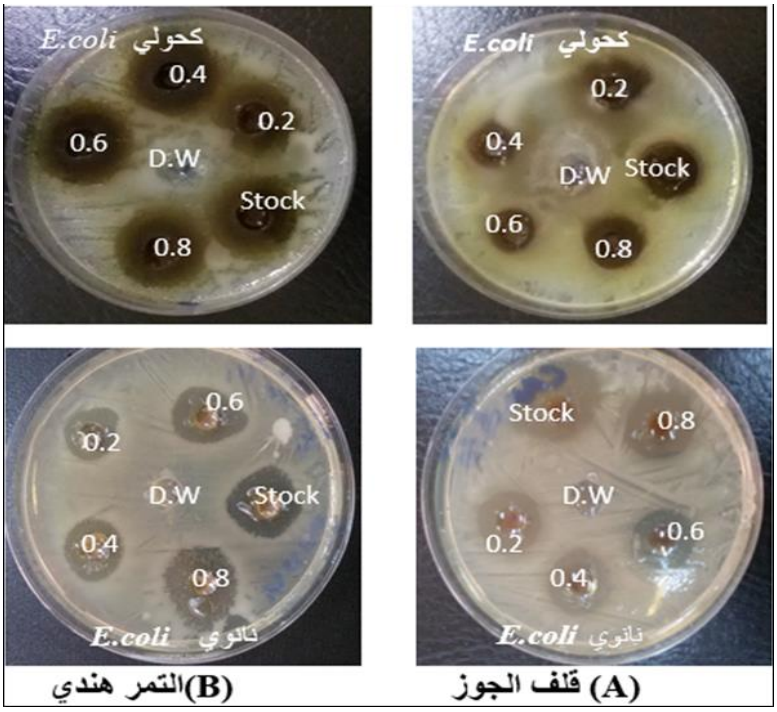
للمستخلص الكحولي و(١٩) ملم في نبات التمر هندي , اما نبات قلف الجوز اذ كان معدل التثبيط (١٦) ملم المستخلص الكحولي و لدقائق الفضة النانوية (١٨) كما في الشكل (٧) والجدول(٢). بينما في حالة اختبار فعالية البكتيرية للمستخلص الكحولي ودقائق الفضة النانوية ضد بكتريا الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* اذ اظهر تأثيرا واضحا لكلا لنباتين المستخدمين في الدراسة اذ كان اعلى تأثير للمستخلص النانوي في نبات التمر هندي بالمقارنة مع المستخلص الكحولي كما في الشكل (٨) والجدول (٢). اذ كان بمعدل تثبيط للمستخلص الكحولي (١٥) ملم ودقائق الفضة النانوية (١٨) ملم. اما نبات قلف الجوز اذ اظهر تثبيط مقاربا لنبات التمر هندي وذلك (١٤) ملم للمستخلص الكحولي و(١٧) ملم لدقائق الفضة النانوية كما في الشكل (٨) والجدول(٢).

الجدول (٢) الفعالية الضد ميكروبية لمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية لنباتي قلف الجوزوتمر هندي انواع من الاحياء المجهرية

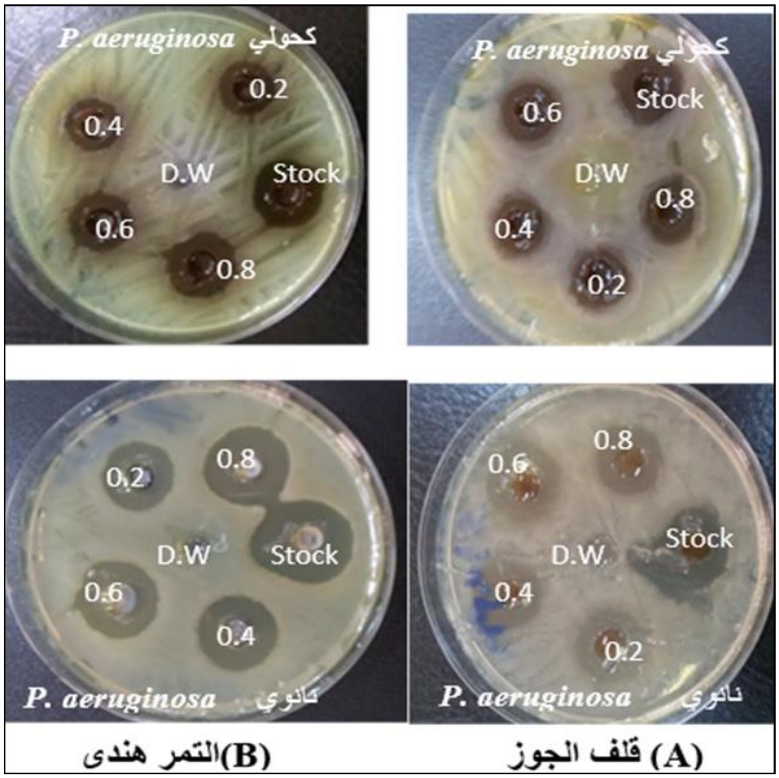
البكتريا المرضية	مناطق تثبيط المستخلص الكحولي لنبات التمر هندي (ملم)					مناطق تثبيط المستخلص الكحولي لنبات قلف الجوز(ملم)					مناطق تثبيط لدقائق الفضةالنانوية مع نبات التمر هندي (ملم)					مناطق تثبيط دقائق الفضة النانوية مع نبات قلف الجوز(ملم)					معاملة السيطرة ملم
	٢٠	٤٠	٦٠	٨٠	١٠٠	٢٠	٤٠	٦٠	٨٠	١٠٠	٢٠	٤٠	٦٠	٨٠	١٠٠	٢٠	٤٠	٦٠	٨٠	١٠٠	–
S. aurous	١٠	١٢	١٤	١٤	١٨	٩	١٠	١٢	١٥	١٧	١٢	١٣	١٧	١٨	٢٠	١٠	١١	١٢	١٦	١٩	
E.coli	١١	١٢	١٣	١٦	١٧	٩	١٠	١٢	١٤	١٦	١٢	١٣	١٥	١٧	١٩	١٠	١١	١٣	١٦	١٨	–
P.aeruginos	٩	١٠	١٢	١٣	١٥	٨	٩	١٠	١٢	١٤	١٢	١٤	١٥	١٦	١٨	١٢	١٣	١٤	١٥	١٧	–



الشكل (٦) الفعالية الضد ميكروبية للمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية(A) قلف الجوز, (B) تمر هندي *ضد بكتريا S. aurous*



الشكل (٧) الفعالية الضد ميكروبية للمستخلصات الكحولية و دقائق الفضة النانوية(A) قلف الجوز (B)تمر هندي ضد بكتريا *E.coli*.



الشكل (٨) الفعالية الضد ميكروبية للمستخلصات الكحولية و دقائق الفضة النانوية(A) قلف الجوز, (B) تمر هندي ضد بكتريا *P. aeruginosa*

تعزى الفعالية التثبيطية لنبات التمر هندي الى وجود عدد من المركبات الايض الثانوية منها الصابونينات، التانينات والزيوت الطيارة, وكذلك الى وجود الفلافونات من نوع rutin وquercetin وhyperoside و catechin بالاضافة الى وجود المركبات الفينولية التي لها دوراً مهماً في تثبيط النمو البكتيري[١٣] او بسبب وجود القلويدات والتانينات مثل فانيلين (Vanillin) والاوجينول (Eugenol) ذات الخاصية المطهرة [١٢]. ويمكن أن تفسر الفعالية التثبيطية لنبات قلف الجوز الى لأحتوائه على بعض المركبات الفعالة كالقلويدات ،التربينات ، التانينات ،الفلافونات الراتنجات والصابونيات . اذ تعمل الصابونيات على خفض السكر داخل الخلية البكترية من خلال الارتباط مع السكريات الاحادية وبالتالي موت الخلية [٢٥]. كما تمتاز القلويدات بقدرتها على إقتحام الخلية البكتيرية والتداخل مع الحامض النووي DNA، فيما تعمل التانينات على تثبيط الأنزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في غشاء الخلية [٢٦]. ايضا تمتاز الفلافونات بخاصيتها السمية تجاه كل من البكتريا والفطريات والفيروسات من خلال تكوين معقدات مع البروتينات [٢٧]. والفينولات مركبات لها القدرة على تكوين معقدات مؤدية إلى الأضرار بجدار الخلية البكترية وبذلك فهي تثبط واحد أو أكثر من التفاعلات الأيضية التي تسيطر عليها تلك الأنزيمات التي قد تكون ضرورية لنمو وتكاثر الخلايا البكتريا أو مسؤولة عن بناء البروتينات المختلفة [٢٨]. كما يعود سبب اختلاف تأثر البكتريا بالمستخلصات النباتية الى اختلاف التركيب الكيميائي للغلاف الخلوي للبكتريا, حيث يحتوي الغلاف الخلوي للبكتريا الموجبة لصبغة گرام على ٩٠%-٩٥% من الببتيدوكلايكان peptidoglycan وبذلك يسمح للمركبات الكارهة للماء hydrophobic للدخول بسهولة الى داخل الخلية, بينما الغلاف الخلوي للبكتريا السالبة لصبغة گرام اكثر تعقيد, حيث يحتوي على كمية اقل من الببتيدوكلايكان peptidoglycan بالاضافة الى جدار خارجي يحيط بالجدار الخلوي ويرتبط به وبذلك يزيد من مقاومة البكتريا السالبة لصبغة گرام يحد من نفاذية المواد الى داخل البكتريا [٢٨].

الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة DPPH

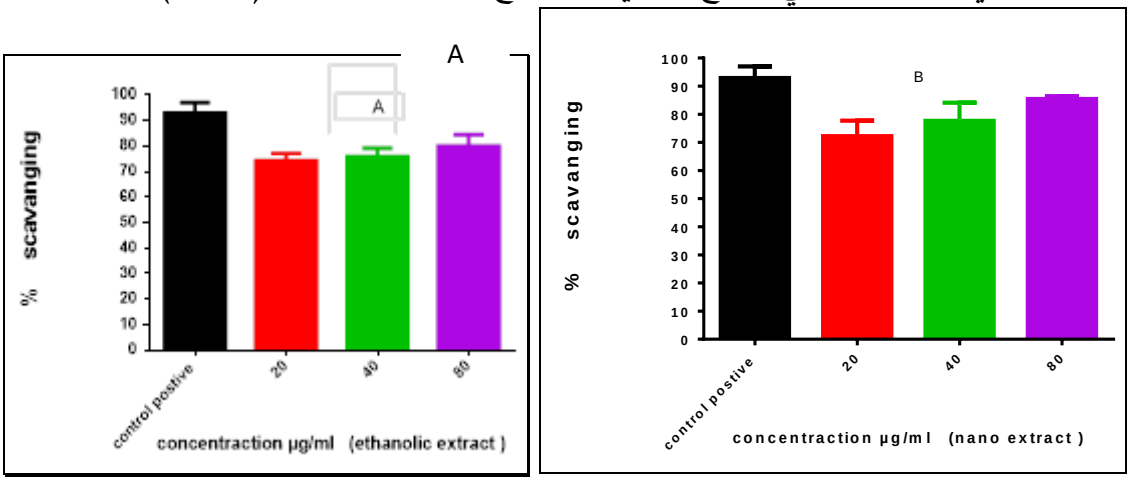
اظهرت نتائج الفعالية المضادة للاكسدة ان لدقائق الفضة النانوية لنباتي (التمرهندي و قلف الجوز) فعالية مضادة للاكسدة عالية بالمقارنة مع المستخلصات الكحولية ولكلا النباتيين , اذ تزيح جذر DPPH بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز. يعتبر إختبار التأثير الإزاحي من أكثر الإختبارات إستعمالا الذي هو عبارة عن جذر حر مستقر ذولون بنفسجي داكن، يتغير لونه إلى اللون الأصفر عند إرجاعه بواسطة المركبات المضادة للأكسدة بمنحه إلكترونا أوبروتونا

[٢٩] اذ اظهرالتركيز ٠,٨ , ٠,٤ مايكوغرام /ملليتر لدقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي ازاحة للجذور الحرة عالية مقارنا مع المستخلص الكحولي لنبات نفسه, اذ كان ٨٥,٩٤ ± ١,٠٠٪ , ١,٠٠٪ ± ٧٧.٦٢ على التوالي كما موضح في الشكل (A ٩).اما المستخلص الكحولي اظهر ١,٠٠٪ ± ٨٠ , ١,٠٠٪ .± ٧٥,٢٢ على التوالي كما موضح في الشكل (٩B).

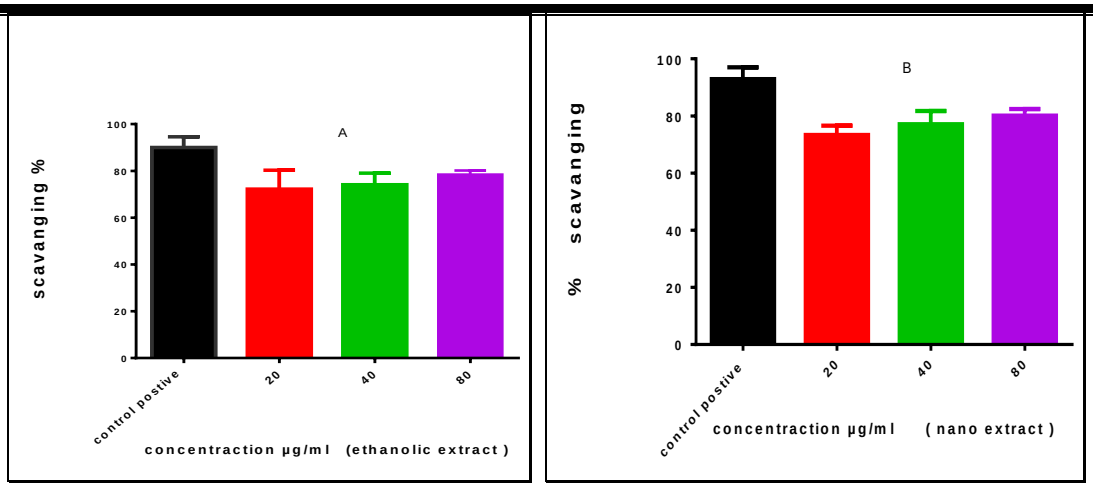
اما نبات قلف الجوز اظهر المستخلص الكحولي فعالية او ازاحة عالية عندالتركيز , ٠,٤ ٠,٨ مايكوغرام /ملليتر ١,٠٠٪ ± ٧٨,٣٤ , ١,٠٠٪± .٧٤,١١ ± على التوالي كما موضح في الشكل (١٠) بينما كانت دقائق الفضة النانوية لنبات قلف الجوزاظهر فعالية اكثر مقارنة مع المستخلص الكحولي عند التركيز ٠,٨ , ٠,٤ مايكوغرام /ملليتراذا اظهر ازاحة عند ٨٠. ± ١,٠٠٪, ١,٠٠٪ ± ٧٧,٧٧ على التوالي كما موضح في الشكل (١٠A,B).

اما عند المقارنة بين النباتين فقد لوحظ ان نبات التمر هندي يمتلك فعالية مضادة للاكسدة مقارنة مع نبات قلف الجوز ولكل المستخصات االكحولية ودقائق الفضة النانوية.

يمكن أن تعزى الزيادة في ازاحة جذور الحرة إلى ارتفاع محتوى النانوية من المركبات الفعالة مثل المركبات الفينولات والفلافونيدات والتربينات والصابونيات والكلايكوسيدات، القلويدات والتانينات والراتنجات [٣,٤] . وأظهرت النتائج ان جميع التراكيزلها نشاط مضادات اللأكسدة بسبب وجود محتوى عالي من المركبات الفعالة مثل الفلافونات، التانينات، القلويدات، الصابونيات، وقد تم اقتراح هذه المكونات لتكون بمثابة مضادات الأكسدة [٩,١٠]، حيث تلعب مضادات الأكسدة الأنزيمية دورا هاما في الدفاع الخلوي ضد أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) [٣٠].



الشكل(٩) الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص(A) الكحولي , (B) دقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي



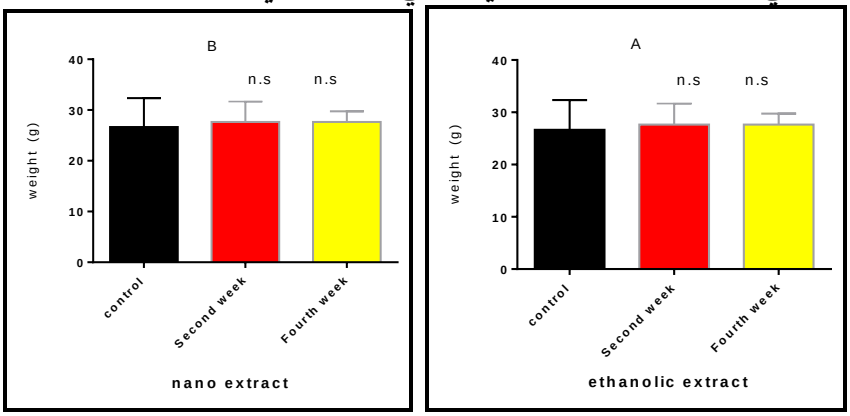
الشكل(١٠) الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص(A) الكحولي , (B)دقائق الفضة النانوية لنبات قلف الجوز

دراسة التأثيرات الجانبية السمية مستخلصات النانوي

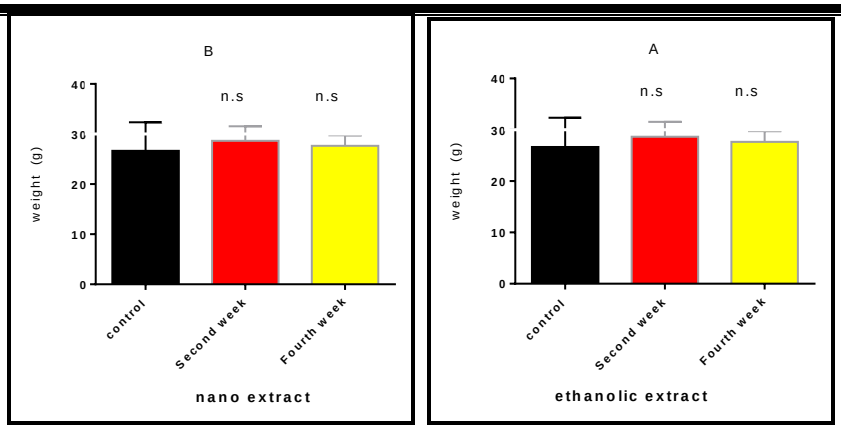
لمعرفة التأثيرات الجانبية (السمية) لمستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية على وزن الجسم وبعض التغيرات الكيموحيوية قسمت الى ثلاث مجاميع متساوية وبثلاث متكررات حقنت مجموعة السيطرة بمحلول الملح الفسلجي وحقنت المجاميع المتبقية بتركيز ١ ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة اسبوعيين , واربعة اسابيع بمستخلصات كحولية ودقائق الفضة النانوية ولكلا النباتين .

قياس وزن الجسم

تم قياس اوزان الحيوانات المختبرية قبل وبعد المعاملة بمستخلصات الكحولية و ودقائق الفضة النانوية بجرعة١ ملغم /كغم من وزن الجسم ولمدة اسبوعيين واربعة اسابيع اضافة الى مجموعة السيطرة . اذ اظهرت نتائج قياس وزن جسم الفئران عدم وجود اختلافات معنوية $P\leq ٠,٠١$في وزن الجسم بين مجاميع التجربة كما موضح في الشكل (١٢,١١) ولكلا مستخلصي الكحولي و ودقائق الفضة النانوي لنباتي التمر هندي وقلف الجوز.



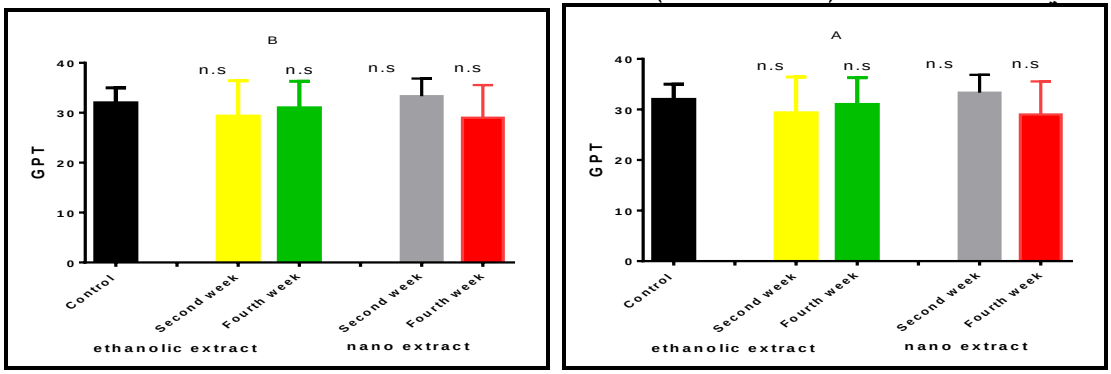
الشكل (١١) قياس اوزان جسم الفئران المعاملة ١ ملغرام / كغم (A) بمستخلص الكحولي و (B) دقائق الفضة النانوية لنبات التمر هندي وعلى مدى اربعة اسابيع .



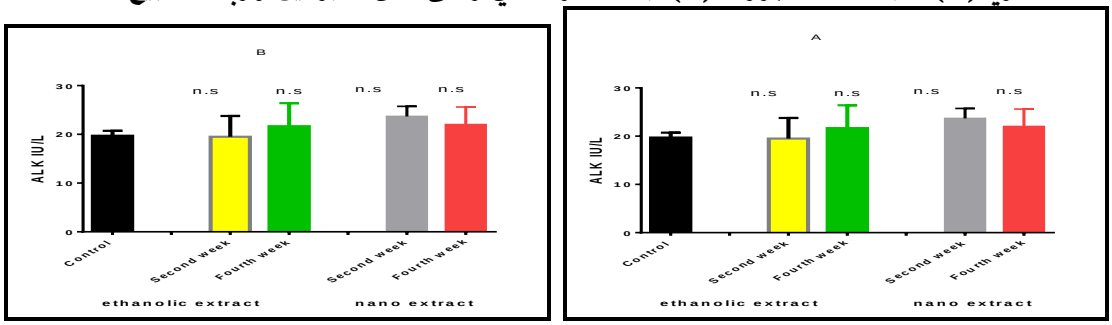
الشكل (١٢) قياس اوزان جسم الفئران المعاملة ١ ملغرام / كغم (A) بمستخلص الكحولي و(B) دقائق الفضة النانوية لنبات قلف الجوز وعلى مدى اربعة اسابيع .

الفحوصات الكيمياء الحياتية

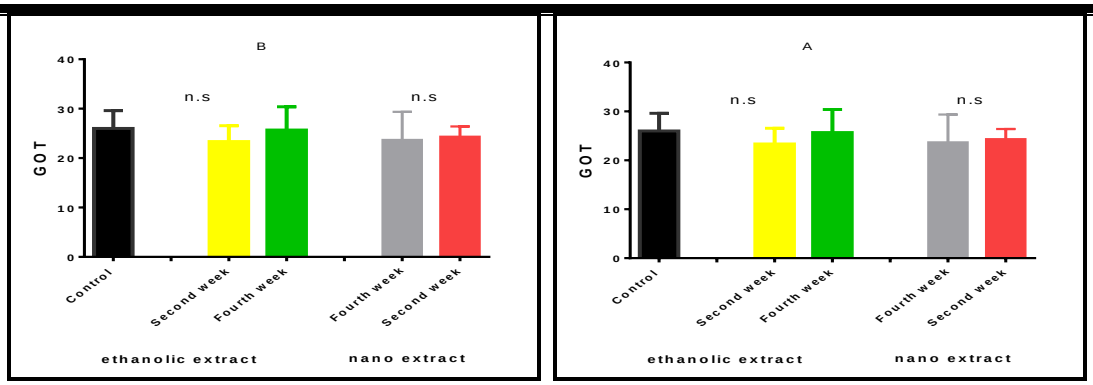
اظهرت نتائج الفحوصات الكيموحيوية للكبد بعد معاملة الفئران ١ ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة اسبوعين واربعة اسابيع بالمستخلصات الكحولية و ودقائق الفضة النانوية اضافة الى مجموعة السيطرة. اذ اظهرت النتائج الفحوصات وظائف الكبد المتمثلة GOT, GPT,ALT عدم وجود فروق معنوية بين المجاميع المعاملة والسيطرة ولكلا النباتين(تمر هندي وقلف الجوز) كما في الاشكال التالية (١٣,١٤,١٥) .



الشكل (١٣) مستوى GPT في جسم الفئران المعاملة ١ ملغرام / كغم بمستخلص الكحولي و ودقائق الفضة النانوية(A) لنبات قلف الجوز (B) نبات التمر هندي وعلى مدى اسبوعين واربعة اسابيع .



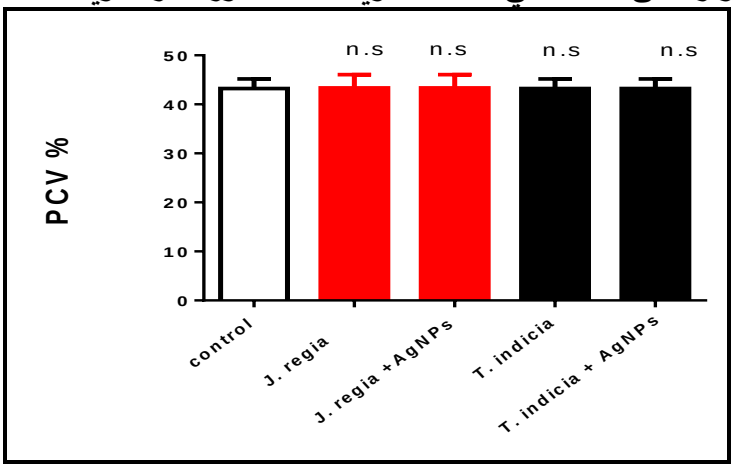
الشكل (١٤) مستوى ALK في جسم الفئران المعاملة ١ ملغرام / كغم بمستخلص الكحولي و ودقائق الفضة النانوية(A) لنبات قلف الجوز (B) نبات التمر هندي وعلى مدى اسبوعين واربعة اسابيع .



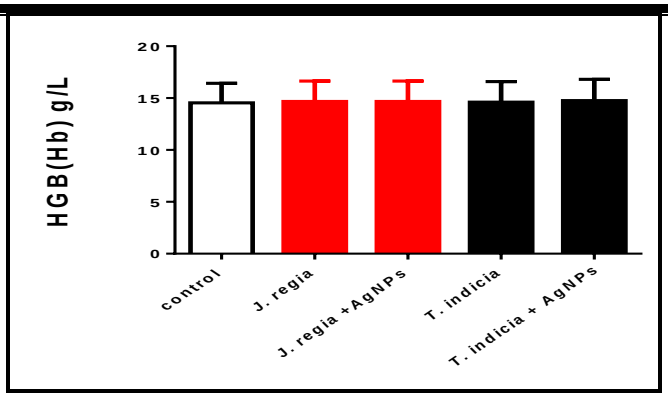
الشكل (١٥) مستوى GOT في جسم الفئران المعاملة ١ ملغرام / كغم بمستخلص الكحولي و ودقائق الفضة النانوي(A) لنبات قلف الجوز (B) نبات التمر هندي وعلى مدى اسبوعين واربعة اسابيع .

تاثير المستخلصات الكحولية ودقائق الفضة النانوية على مكونات الدم .

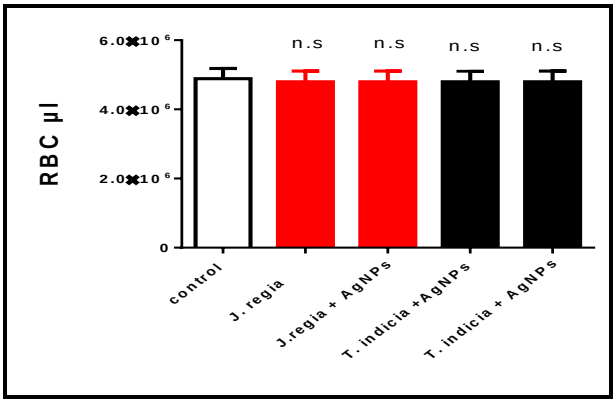
تضمنت دراسة تأثير المستخلصات النباتية (التمرهندي و قلف الجوز) الكحولية ودقائق الفضة النانوية على مكونات دم الانسان خارج الجسم الحي عن طريق استعمال جهاز العد الكامل للدم Complete Blood Count (CBC) لكل من كريات الدم الحمر والبيض والنسبة المئوية للخلايا الحمضة والقعدة والعدلة والخلايا الاحادية واللمفية والصفيحات الدموية وحجم الخلايا المضغوط حيث اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية عند احتمالية ٠,٠١≥ P في كل من كريات الدم الحمر والبيض والنسبة المئوية للخلايا البيض والصفيحات الدموية وحجم الخلايا المضغوط بالمقارنة مع مجموعة السيطرة كما موضح بالاشكال (٢١ and ١٦,١٧,١٨,١٩,٢٠). لم تظهر المستخلصات الكحولية و ودقائق الفضة النانوية اي تاثير على مكونات الدم البشري وهذا يتفق مع ماوجده كلا من [٣١]. حيث أظهرت دراستهم عدم سمية نبات تمر هندي وقلف الجوز , لكنه قد يؤثر على االكبد في حالة التداوي بقلف الجوز لفترة طويلة.



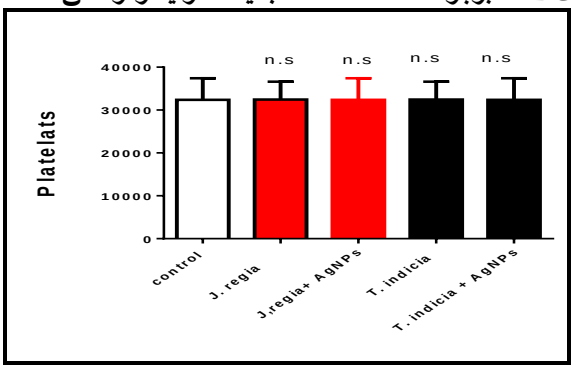
شكل (١٦) مستوى PCV بوجود المستخلصات نباتية الكحولية و ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها



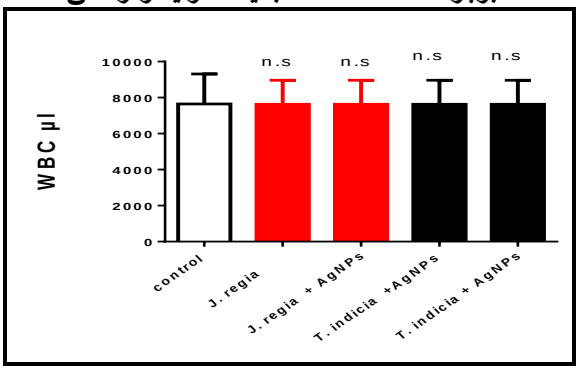
شكل (١٧) مستوى HGB بوجود المستخلصات نباتيةالكحولية و ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها .



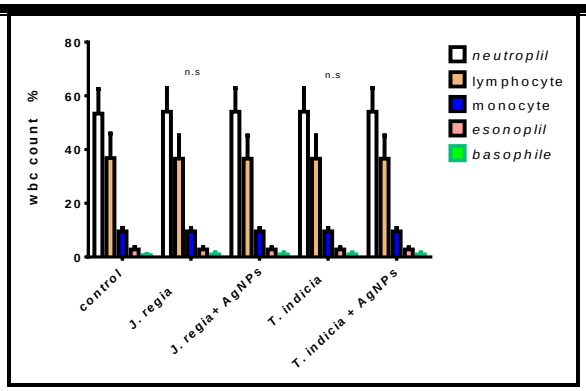
شكل (١٨) مستوى RBCs بوجو د المستخلصات نباتيةالكحولية و ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها



شكل (١٩) مستوىPLT بوجو د المستخلصات نباتيةالكحولية و ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها



شكل (٢٠) مستوى WBCs بوجو دالمستخلصات نباتيةالكحولية و ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها



شكل (٢١) مستوى العد التفريقي لكريات الدم البيض بوجود المستخلصات نباتية الكحولية ودقائق الفضة النانوية وعدم وجودها

الاستنتاجات:

ان المستخلص الكحولي و ودقائق الفضة النانوية لنباتي التمر هندي و قلف الجوز تمتلك فعالية مضادة للبكتيرية السالبة والموجبة لصبغة كرام.كذلك اظهرت النتائج امتلاك مستخلصي نباتي تمر هندي و قلف الجوزالكحولية و ودقائق الفضة النانوية المحضرة فعالية مضادة للاكسدة وفي كبح الجذور الحرة بنسبة عالية تجاوزت ٨٠%. في حين اظهرت النتائج ان لمستخلصي نباتي التمر هندي و قلف الجوز المحضرة لايمتلك تأثيرات جانبية او سمية داخل وخارج الجسم الحي مقارنة بمضادات الحياة والعلاجات الكيميائية والاشعاعية السائدة والمستخدمة على نطاق واسع في علاج الاصابات الميكروبية وحالات السرطان المختلفة.

References

[١]Indian Medicinal Plants a compendium of ٥٠٠ species. Orient Longman Private Limited, Chennai. ٢٠٠٥; (٣):٢٦٤-٢٦٥.

[٢]Citoglu GS, Atlanlar N. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University ٢٠٠٣; ٣٢(٣):١٥٩-١٦٣.

[٣]Romanij,K.; Kothari ,V.and Kothari,P., Vitro Antibacterial Activity of *Emblica officinalis* and *Tamarindus indica* seed Extracts against Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii*. IJEI ٢٠١٤; ٢(١):١-٦.

[٤] Khanna, M., Standardisation of *Tamarind* seed polyose for Pharmaceutical use. Indian Drugs, ١٩٨٧;٢٤: ٢٦٨-٢٦٩.

[٥]Phani, K.; Gangarao, b. and Kotha, N.S. , Isolation and Eualuation of Tamarind Seed Polysaccharide being used as a Polymer in Pharmaceutical Dosage Forms.RJPBCS:٢٠١١; ٢(٧٤):O٩٧٥-٨٥٨٥.

[٦] ٧-Maiti, R.; Jana, D. Das U.K. and Ghosh D.(٢٠٠٤). Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of Tamarindus indica in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology; ٩٢: ٨٥-٩١.

[٧] Fernando,G.; and Teresa, I., Altered proliferative response of normal and malignant cells exposed to a polysaccharide extract from Tamarindus indica pulp. J. Med. Sci. ٢٠٠٥; ٥(٣): ١٦٩-١٧٦.

[٨] Fernandez-Lopez J, Aleta N, Alıas R ., Forest Genetic Resources Conservation of Juglans regia L. IPGRI Publishers, Rome. ٢٠٠٥.

[٩]Caglarirmak N.,Biochemical and physical properties of somewalnut genotypes (Juglans regia L). Nahrung Food ٢٠٠٣; ٤٧:٢٨–٣٢.

[١٠] Martinez ML, Labuckas DO, Lamarque AL, Maestri DM ., Walnut (Juglans regia L.): genetic resources, chemistry, by-products. J. Sci. Food. Agric.,٢٠١٠; ٩٠: ١٩٥٩-١٩٦٧.

[١١] Qa'dan F, Al-Adham١ IS, Nahrstedt A. ,Characterization of antimicrobial polymeric procyanidins from Juglans regia leaf extract.Eur. J. Sci. Res., ٢٠٠٥a; ١١:٤٣٨-٤٤٣.

[١٢] Qa'dan F, Thewaini A, Ali D, Afifi R, Elkhawad A, Matalka K .,The Antimicrobial Activities of Psidium guajava and Juglans regia Leaf Extracts to acne-developing organisms. Am. J. Chin. Med., ٢٠٠٥b; ٣٣: ١٩٧–٢٠٤.

[١٣] Upadhyay V, Kambhoja S, Harshaleena K .,Antifungal activity and preliminary phytochemical analysis of stem bark extracts of Juglans regia linn. IJPBA., ٢٠١٠c; ١:٤٤٢-٤٤٧.

[١٤] Alkhawajah M, Abdulaziz. Studies on the Antimicrobial Activity of Juglans regia Linn. The American Journal of Chinese Medicine ١٩٩٧; ٢٥(٢):١٧٥-١٨٠.

[١٥] Weiss, E. A. ,Spice Crops, CABI Publishing, ISBN ٢٠٠٢; ٠-٨٥١٩٩- ٦٠٥-١.

[١٦]Evans W. Trease and Evans' Pharmacognosy. ed. W.B. Saunders Company Ltd.u.k., ١٩٩٩.

[١٧]Jaffer H., Mohmod M., Jawad A. and Alnaib A. "Phytochemical and Biological Screening of some Iraqi Plants, FitoterapoaLixzaq, ١٩٨٣.

[١٨]Al-Maisry M. Effect of Oil and Alcoholic Extract of Azdirachtaindica on some Pathogenic Fungi of Plants. M.SC. Thesis.Science college, Al-Mustansria University, ١٩٩٩.

[١٩]Vuddhakul V.,Bhoopong P., Hayeebilana F., and Subhadhirasakul S., *Inhibtory activity of Thai condiments on pandemic strain of Vibrio parahaemolyticus* .,FoodMicro.٢٠٠٧;٣٤,٤١٣-٤١٨.

[٢٠] Orhan I., Aydin A., Colkesen A., Sener B., I simer AI., *Free radical scavenging activities of sime edible fruit seeds* .Pharm. Biol.٢٠٠٣ ; ٤١,١٦٣-١٦٥.

[٢١]Pinon-Lataillade,G.; Thoreux- Manaly, A.; Coffigny,H.; Masse,R. And Soufir,J.C., Reproductive toxicity of chronic lead exposure biochemistry . Alang medical book ,prenticehall International Inc.١٩٩٥; ٢٢th ed., ٦٨٤- ٦٨٩.

[٢٢] Corina C., Flaviu T., Ioana I., Cristian M., Cornel I., Lucian M., Teodora " *assessment of silver nanoparticles toxicity in human red blood cells using ELISA and immunofluoresence microscopy technique* " BIOTEC. MOLE. BIOL. NANOMED.,٢٠١٣;١ (١) , ٢٣٣٠-٩٣١٨.

[٢٣]Tajamul I. Sh., Ekta Sh., Gowhar A." *Juglans regia* Linn: A Phytopharmacological Review" World Journal of Pharmaceutical Sciences,٢٠١٤; ٢٣٢١-٣٠٨٦,٢٠١٤.

[٢٤] Hassan, I. A.; Abdel-Barry, J. A. and Mahemmeda, S. T., The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect on citrullus colocynthis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. Journal of Ethnopharmacology. ٢٠٠٠; ٧١(٢): p. ٣٢٥-٣٣٠.

[٢٥] Cowan,M.M.., Plant products as antimicrobial agent . ClinMicrobiol Review, ١٩٩٩; ١٢(٤): ٥٦٤-٥٨٢.

[٢٦] Ramanathan, R.; Tan, C. and Das, N. ,cytotoxic effect of plant polyphenols and fat soluble vitamins on malignant human cultured cells. Cancer letters. ١٩٩٢; ٦٢: p. ٢١٧-٢٢٤.

[٢٧] Ozcan, T.; Akpinar-Bayizit, A.; Yilmaz-Ersan, L. and Delikanli, B. ,Phenolics in Human Health. International Journal of Chemical Engineering and Applications, ٢٠١٤; ٥, ٣٩٣-٣٩٦.

[٢٨]Michael, A.; Daniel, J. and James, J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Microbiology. ٢٠١٠; ٨, ٤٢٣-٤٣٥.

[٢٩]Goupy P., Dufour C., Loonis M. and Dangles O., Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J Agric Food Chem*. , ٢٠٠٣; ٥١: ٦١٥-٦٢٢.

[٣٠] FukudaT, ItoH, YoshidaT. Antioxidative polyphenols from *Juglans regia* Linn. Phytochemistry ٢٠٠٣; ٦٣(٧):٧٩٥-٨٠١.

[٣١] Komutarin, T;Azadi S.;Butterworth, L.;Keil, D.;Chitsomboon B.;Suttajit M.and Meade B.J .,Extract of the seed coat of *Tamarindus indica* Inhibits nitric oxide production by urine macrophages in vitro and in vivo.Food and Chemical Toxicology .,٢٠٠٤; (٤٢):٦٤٩-٦٥.

[٣٢] Xie, G., Sun, J., Zhong, G., Shi, L., and Zhang, D. , Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice . Arch. Toxicol. ٢٠١٠; ٨٤, ١٨٣–١٩٠,٢٠١٠.

Biosynthesis of silver nanoparticles by (*Juglans regia bark &Tamarindus indicia*) and detected of their antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity effects.

Buthenia Abd-Alhamza

Departments of Applied Sciences Biotechnology Branch, University of Technology, IRAQ.

Abstract

This study was done to evaluate the antibacterial activity of ethanolic and Nano extracts of *Juglans regia bark & Tamarindus indicia* against three pathogens*: Escherichia coli*, *Staphylococcus aurous* and *Pseudomonas aeruginosa***.** Plants extracts were prepared (hot alcoholic extract and Nano extracts) then qualitative detection of the active compounds of the plant extracts was done with chemical reagents. The result showed that the extracts of *Juglans regia bark* included steroids, tannins, glycosides, saponin, flavonoids, phenols, and alkaloids, while the extracts of *Tamarindus indicia* contained flavonoids, saponin, tannins, glycosides and alkaloids. Qualitative detection of the active groups was further verified with Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), SEM assay and UV-vi test. The antibacterial activity of the plant extracts was invested using five concentrations (١٠٠, ٨٠, ٦٠, ٤٠, ٢٠ mg/ml) of each of the extracts against bacterial strains. The plant extracts showed different effects on the growth of the bacterial strains. The highest effect was found in the ethanolic and nano extracts of the *Tamarindus indicia* on *S. aurous* with diameter inhibition zone of (١٨ mm) for ethanolic

extracts and inhibition zone of (٢٠ mm) for nano extracts. The inhibition zone for bacteria *P.aeruginosa* for the ethanolic and nano extracts was (١٥mm) and (١٩mm) respectively. *E.coli*, the inhibition zone reached to (١٧ mm) for the ethanolic extract, and (١٩ mm) for the nano extract. While the highest effect was found in the ethanolic and nano extracts of the *Juglans regia bark* on *S. aurous* diameter inhibition zone of (١٧ mm) for ethanolic extracts and inhibition zone of (١٩ mm) for nano extracts. The inhibition zone for bacteria *P.aeruginosa* for the ethanolic and nano extracts was (١٤mm) and (١٧mm) respectively. *E.coli*, the inhibition zone reached to (١٦ mm) for the ethanolic extract, and (١٨ mm) for the nano extract. Conclusion, the nano extract show highest effect an inhibition zone than ethanolic extract by positive Gram bacteria S. *aurous* than negative Gram bacteria *E.coli* and *P.aeruginosa*. The antioxidant activity of the plants in the study was investigated. Compiled results show that all plant extracts have antioxidant effect but that varied depending on the type of the plant and extract. The ethanolic and nanoparticles extracts of *Juglans regia* bark &*Tamarindus indicia showed* the highest content of DPPH. Finally, the toxicity of the plant extracts was examined on human red blood cells (*in vitro*) and laboratory animals *(in vivo*) use three groups each groups involve three diplicaties. Results show no significant differences in levels functions liver among the test groups *by* comparison with controls groups. It was concluded that the plants do not exhibit any toxicity.

Keyword: *Juglans regia bark &Tamarindus indicia*, Ethanolic extracts, AgNPs, Antimicrobial activity, antioxidant activity, toxicity.