دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لأوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* تجاه بعض العزلات البكتيرية

شهباء حميد مجيد

الجامعة المستنصرية / كلية التربية الاساسية / قسم العلوم

الخلاصة

هدف البحث الى دراسة فعالية المستخلص الكحولي لأوراق نبات الحناء*Lawsonia inermis* في تثبيط نموثلاث عزلات من البكتيريا المرضية وهي *Klebsiella pneumonia* ، *Klebsiella oxytoca* و *Klebsiella planticola* بطريقتي الأنتشار بالحفر والتركيز المثبط الادنى(MIC)،وقد بيّنت نتائج الاختبارات الكيميائية للمواد الفعالة لأوراق الحناء عن وجود التانينات، الفلافونات،الكلايكوسيدات،الكومارينات و الراتنجات وعدم احتواءهاعلى الصابونيات والقلويدات وبلغ الرقم الهيدروجيني لها(5.2)،وعند دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي للنبات قيد الدراسة ضد العزلات البكتيرية المختبرة فقد تراوح قطراعلى منطقة تثبيط هو(2.9)سم عند تركيز 100 ملغم / مل للبكترياالمختبرة، *في حين بلغ اقل قطر للتثبيط هو(0.2)* سم بتركيز 25ملغم/ مل للبكترية المختبرة في حين تراوح التركيز المثبط الادنى(MIC) للمستخلص الكحولي (20–30) ملغم/مل ضد البكتريا المختبرة.

المقدمة

ينتمي نبات الحناء *Lawsania inermis* الى العائلة الحنائية Lythraceae وهي نباتات شجيرية مستديمة الخضرة شديدة التفرع،التفريع قائم يتميز باللون الاحمر البني ويصل طولها الى ثلاثة امتار، واوراقها بسيطة رمحية او بيضوية الشكل يصل طولها بين(2-4)سم ،جالسة وجلديه الملمس وذات حافة ملساء،لونها اخضر داكن،الازهارصغيرة طرفية الموقع لونها احمر خفيف او ابيض مصفر.تزرع الحناء في المناطق الحارة وشبه الحارة ،وتأخذ منها قطفتان من الاوراق الخضراء الاولى خريفية والثانيه شتوية (1);(2) .وقد استخدمت مستخلصات اوراق الحناء منذ الآف السنين فأستعملها البابليون وقدماء المصريين والهنود للأغراض العلاج

المختلفة(3). لقد سجّل الباحثون الكفاءة العالية لمكونات اوراق الحناء على تثبيط نمو بعض انواع الفطريات الجلدية وتأثير مستخلصاتها ومركب اللاوسونLawsone المعزول منها (4).كما ادى استخدام المستخلص المائي للحناء الى تثبيط فعالية الفطر *Aspergillus fumigatus* المسبب لمرض الرشاشيات في الدواجن بنسبة 80%،(5).كما بينت نتائج استخدام المستخلص الكحولي لاوراق الحناء أزاء بعض الفطور المرضية وهي *Fusarium oxysporum* ، *Rhizoctonia solani* ، *Mauginiella scaettae* و *Thielaviopsis paradoxa* الكفاءة التثبيطية العالية لهذا المستخلص (6) وتمت دراسة الفعاليه التثبيطية لمستخلص الحناء المائي ضد انواع مختلفة من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام اذ كان افضل تأثير ضد بكتريا *Xanthomonas compestris* و *Bacillus anthracis* بينما كان اقل فعل تثبيطي ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* (7) وبما ان بكتيريا *Klebsiella sp.* من العصويات المعوية السالبة لصبغة كرام حيث توجد في القناة المعوية،وتسبب عدد من الاصابات المكتسبة من المستشفيات مثل اصابة القناة البولية والقناة التنفسية والجروح المرافقة للعمليات الجراحية (8)،وبهذا الصدد اشار Brissوجماعته (9)و Jazani وجماعته (10)الى ان بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* تعد من العوامل المرضية الأنتهازية وتسبب ذات الرئه وخراج الكبد ولفعالية مستخلص اوراق الحناء التضادية العالية وسهولة تحطمها وقلة تأثيراتها الضارة في البيئة (11). نفذت هذه الدراسة لتحديد تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق الحناء ضد نمو ثلاث عزلات من البكتريا المرضية .

المواد وطرائق العمل

جمع العينه النباتية

تم شراء مسحوق اوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* من الاسواق المحلية في مدينة بغداد ، ووضعت العينة في علبة زجاجية محكمة الغلق الى حين استعمالها.

تحضير المستخلص الكحولي للنبات قيد الدراسة

تم وزن 100غم من مسحوق اوراق نبات الحناء ونقع في 500مل من كحول الايثانول(99.99%) ،مزج المخلوط جيدا بواسطة مازج مغناطيسي (Magnetic Stirrer) مده ساعة واحدة وترك بعدها مده يوم واحد في درجة حرارة الغرفة، ثم رشح المخلوط عبر ورق الترشيح نوع (Whatman No.1) ،واوزيل المذيب باستعمال جهاز المبخر الدوار (Rotery

Evaporator) نوع(SwitzerLand) Buchi تحت الظغط ال مخلخل وفي درجه حرارة 45 م° ،ومن ثم حصل على سائل كثيف خفف في حرارة 37 م° وحفظ الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال . (4)

الكشف الكيميائي العام للنبات قيد الدراسة :

تم التعرف على قيمة الاس الهيدروجيني(pH) للمستخلص الكحولي لاوراق نبات الحناء حسب ما جاء في الطريقة الواردة في (12)، حيث مزج 10غم من المسحوق النباتي الجاف مع 30 مل ماء مقطر بواسة مازج مغناطيسي (Magnetic Strrer) لمدة 10 دقائق،رشح المحلول ثم قيس الاس الهيدروجيني بأستعمال اوراق زهرة الشمس وبجهاز (PH-meter) بعدها اجريت بعض الاختبارات الكميائية لتحديد بعض المجاميع والمكونات الفعالة في المستخلص الكحولي وكمايلي:-

اجري الكشف عن الكلايكوسيدات(Glycosides)بأستخدام كاشف فهلنك(Fehlin reagent) كما تم الكشف عن الفينولات(Phenols) باستخدام محلول كلوريد الحديديك (Ferric chloride)، واجري الكشف عن التانينات(Tannis)حسب ما جاء في(13)، وللكشف عن الراتنجات(Resins)والصابونيات(Saponins)فقد تم استخدام الطريقة المذكورة من قبل (12)،وللكشف عن الكومارينات(Coumarins)فقد استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل (14) وللكشف عن الفلافونات(Flavones) فتم الكشف عنها حسب ماجاءفي(15) وجماعتة،اما الكشف عن القلويدات(Alkaloids)فقد اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل(16) .

العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة

تم الحصول على العزلات البكتيرية النقية من طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة كلية العلوم/الجامعة المستنصرية،وذلك لاجراء الاختبارات اللازمة عليها،وقد شملت العزلات على بكتريا *Klebsiella pneumonia* ، *Klebsiella oxytoca* و *Klebsiella planticola*

أختبار المستخلص الكحولي لأوراق نبات الحناء في فعالية نمو العزلات البكتيرية قيد الدراسة:

استخدمت طريقة الانتشار بالحفر(Well Diffusion)التي ذكرها Giani وجماعتة(17)، لأختبارفعالية المستخلص الكحولي للنبات قيد الدراسة في تثبيط نمو البكتريا الأختبارية،أذ أستخدمت التراكيز المتدرجة من التركيزالأصلي للمستخلص الكحولي المحضر سابقا والمخفف بالماء المقطروالمعقم والتي هي(100,75,50,25)ملغم/مل،وقد حدد فعالية تركيز المستخلص النباتي بقياس قطر منطقة التثبيط(Inhibition Zone)حول كل حفرة.

أختبار التركيز المثبط الادنى MIC للمستخلص الكحولي لاوراق نبات الحناء في نمو العزلات البكتيريا الاختبارية:

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل Mounchid وجماعته (18)، في تقدير فعالية أقل تركيز مثبط لنمو البكتريا الأختبارية من المستخلص الحكولي لاوراق نبات الحناء ضدالبكتريا الأختبارية، وقد استخدمت تراكيز مختلفة بلغت(50,40,30,20,10,5)ملغم/مل وحدد أقل تركيز مثبط من عدم وجود هالة حول القرص الحاوي على المستخلص النباتي.

النتائج والمناقشة

الكشف الكيميائي العام عن المركبات الفعالة للنبات قيد الدراسة :

أظهرت نتائج الكشف الكميائي الاولي للمركبات الفعالة في اوراق الحناء المحلية *Lawsonia inermis* عن وجودالراتنجات والفلافونات والتانينات والكلايكوسيدات والتي اعطت نتائج موجبة للكشف، فيمااعطت القلويدات والصابونيات نتيجية سالبه مع الكواشف. دلالة على وجود هذه المجاميع الفعالة في اوراق نبات الحناء جدول (1)، وهذا يتفق مع ما اشارت الية معظم الدراسات التي تناولت المكونات الكميائية لاوراق الحناء (19)،(20)،ان احتواء اوراق الحناء على التانينات والراتنجات يتوافق مع ما اشارت الية الدراسات (21)،(22)، بأحتواء اوراق الحناء على نوع التانينات تعرف بتانينات الحناء Henna tannin ،(23)،ان اهمية التانينات للنبات تعود في كونه مصدر للطاقة يستهلكه النبات في عملية الآيض الخلوي، وفضلا عن اهميتهاالطبية فهي تعتبرمواد مطهره للجروح والقروح(1) ، كماتتفق النتائج على احتواء اوراق الحناء على الفلافونات مع ماذكره(24) وتتطابق النتيجة الموجبة لكشفي فهلنك وبندكت مع ما أشارااليه(1)، بينما تتفق النتيجة الموجبة للكشف عن الكومارينات حسب ما قام به(25)وجماعته،كما تبين ان قيمة الاس الهيدروجيني كانت 5.2 .

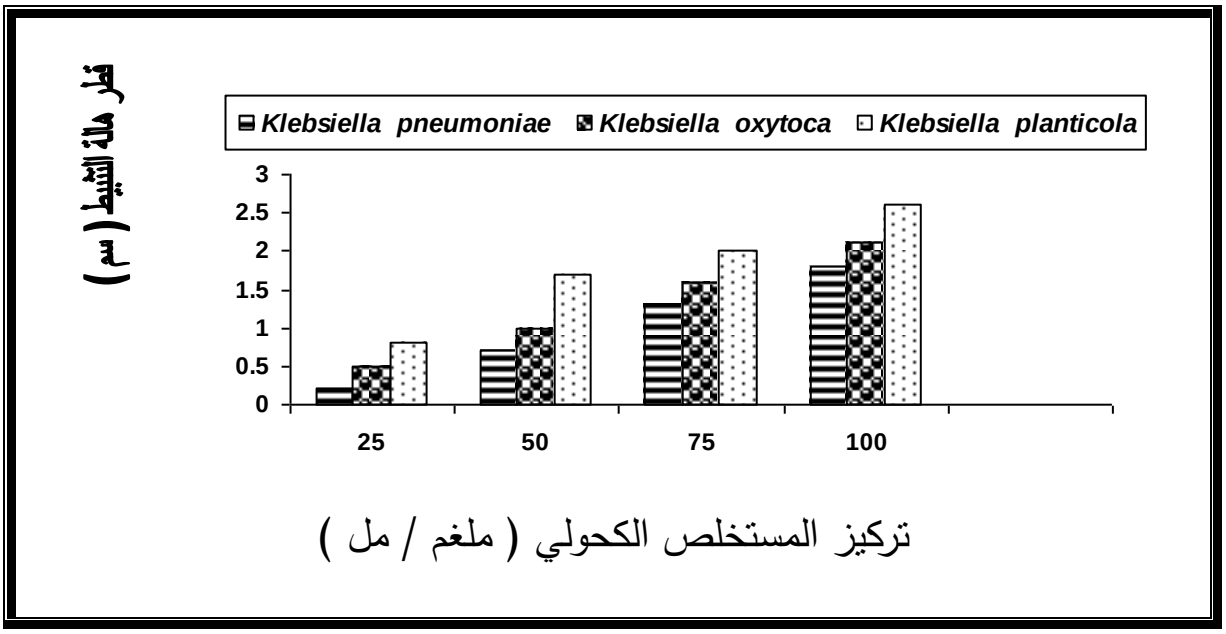
جدول (1) نتائج الكشف الكيميائي العام للنبات قيد الدراسة .

المركبات الكميائية الفعالة	نتيجه الكشف
التانينات	+
الكلايكوسيدات	+
الراتنجات	+
الفلافونات	+
الكومارينات	+
الصابونبات	–
القلويدات	–

تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات الحناء في تثبيط فعالية نمو البكتيريا الاختبارية

يتضح من الشكل(١)الى ان اعلى قطرهالة للتثبيط سجلت بتركيز 100ملغم/مل اذا بلغت1.8سم ، 2.1 سم 2.9 سم للبكتريا *K . pneumoniae* ، *K. Oxytoca* و *K planticola*. على التوالي في حين بلغت اقل قطر هالة للتثبيط عند التركيز 25 ملغم/مل اذا بلغت 0,2 سم و 0,5 سم و 0,8 سم للبكتيريا *K.pneumonia* ، *K.Oxytoca* و *K.planticola* وعلى التوالي وتتفق هذه النتائج مع ما اشاراليه(6) الى الكفاءة العالية لاوراق نبات الحناء في الحد من نمو البكتيريا المسببة لالتهابات الجروح ومع مابينه(26) من التاثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية ضد عدد من الانواع البكتيرية الممرضة.ان الفعالية التثبيطية العالية لمستخلص اوراق الحناءتعود الى تاثير المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص مثل الراتنجات والفلافونات والتانينات والكومارينيات ومركب اللاوسون Lawsone وهي المادة الملونة ذات الفعالية التثبيطية العالية في النبات والمستخلص ضد الفطريات الممرضة كما احتواء النبات على هذه المركبات الكيميائية الفعالة لها اهمية في تثبيط عمل الانزيمات واللبروتينات الناقلة في غشاء الخلية بالاضافة الى فعاليتها الاخرى التي تمتاز بتأثيره على نمو بعض انواع من البكتيريا (4) ,(6)كما تتفق نتائج البحث مع(27)الذي اشارالى الكفاءة العالية لمسحوق اوراق نبات العفص في تثبيط نمو بعض الانواع من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام المسببة لالتهاب الجروح كما تتفق النتيجة مع ما بينته نتائج الدراسات (28)،من دراسة الفعالية المثبطة للنبات الحناء ضد

انواع عديدة من البكتيريا المرضية السالبة والموجبة لصبغة كرام وخاصة تلك المعزولة من الاصابات المكتسبة من المستشفيات والمعزولة من الاصابات المزمنة بالقناة البولية مثل بكتيريا *Pseudomona aeroginosa*، *Klebsiella pneumonia* ، *Proteus mirabilis* ، *Esherichia coli* و *Staphylococcus aureus* .



شكل (1): تاثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات الحناء على نمو العزلات البكتيريه الاختبارية

تقدير فعالية اقل تركيز للتثبيط (MIC) لنمو البكتيريا الاختبارية من المستخلص الكحولي للنبات قيد الدراسة:-

لقد بينت نتائج البحث ان اقل تركيز مثبط للمستخلص الكحولي لاوراق الحناء ضد نمو العزلات البكتيريا الاختبارية،اذ بلغ اقل تركيز مثبط(MIC) لنموالبكتيريا *Klebsiella pneumoniae* هو 30ملغم/مل، بينما بلغ اقل تركيز مثبط (MIC) هو 20ملغم/مل ضد بكتيريا *Klebsiella oxytoca* و *Klebsiella planticola* لقد اوضحت العديد من الدراسات في امكانية عمل المستخلصات الكحولية للنباتات في فعاليتها كمضادات ميكروبية من خلال تاثيرها الفعال على نمو هذه الممرضات من خلال ما تمتلكه هذه النباتات من مواد ومركبات فعالة تعمل كمثبيطات لأنزيمات الاحياء المجهرية، ان اختلاف درجة حساسية الاحياء المجهرية تجاه المستخلصات النباتية يعود الى طبيعة المقاومة التي تبديها هذه الكائنات تجاه هذه المؤثرات سيما امتلاك بكتيريا *Klebsiella sp.* من مواد دهنية وسكرية معقدة التركيب في جدارها الخارجي مما يزيد من مقاومتها ضد العديد من المضادات الحيويه المستخدمة (29; 30) .

المصادر

1) قطب، فوزي طه (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ. الرياض. المملكة العربية السعودية ، 250صفحة.

2) الصراف، عبد الحسن محمد جواد(1989)، الحناء زراعتها وأستعمالاتها. الهيئة العامة للتعاون والتدريب والارشاد الزراعي، بغداد. 25 صفحة.

3) عبد اللطيف، عاشور.(1985). التداوي بالاعشاب والنباتات. مكتبة ابن سينا، القاهرة. ١٥٧صفحة .

4) العبادي، اسامة علي محسن.(2003) ، دراسة مكونات اوراق الحناء المحلية *Lawsoni inermis L.* وتأثير مستخلصاتها ومركب اللاوسون المعزول منها في بعض الفطريات الجلدية، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الاحيائية، جامعة بغداد، 100 صفحة

AL_mayah, A.A.S and AL_waly, D,S.(2002). Inhibitory effect of some aqueos plant extract on *Aspergillus Fumigaus* of chickens in vitro. AL_Qadisiya J.Vet. Met. Sci.1(2):54-57 p.

6) عباس، محمد حمزة.(2007) دراسة الفعالية التضادية لمستخلص اوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis L.* ضد بعض الفطور الممرضة للنبات، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد(23). العدد(1) –(113–125) صفحة

7) Malekzadeh, F.(1968).Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis L.* Applied Microbilogy , 16 (4): 663-664 p.

8) Douglas, F.(2008). coliforms. Medical Microbiology BooK. U.S.A.

9) Briss, S.Fevre; C.passet; V.sylvie; I.J.R.T. , Laure ,D. & Patrick, G.(2009). virulent clones of *klebsiella pneumaniae* identification and Evolutiannary scenario Based on Genomic and phenotypic characterization. J. innat immunity .

10) Jazani, N.H, Ghasemnejad- Berenji, H.,& Sadegpoor, S,(2009). Antibacterial effects Iranian *Mentha Pulegium* essential oil on isolates of Klebsiella sp. Pakistan Journal of Biological sciences,12(2):183-185.

11) Shihata, I.M. (1951). Apharmacological stady of *Anagallis arvensis.* Msc. Thesis, Faculty of vet. Med. Cairo university. Egypt.

12) Suberu, H. (2004) Preliminary studies of inhibitions in *Aspergillus flavus* with extracts of two lichens and Bentex – Tfungicides . African J. of Biotech.3(9): 468-472.p .

13) دلالي ، باسل كامل والحكيم، صادق حسن.(1987). تحليل الأغذية، مطبعة دار الكتب ، جامعة الموصل .

14) Geisman, T. (1962).chemistey of Havonoids compounds. Macimillan. Co.,New York, PP.90. 101. p .

15) Jaffer, H.T., Mahmoud, M. and AL-Naillb, A.(1983). photochemical and biological screening of some Iraqi Plant. Fitoterapialix,.299. p.

16) Harborne, J.B.(1973). phytochemical method. Champman and Hall. London, New York.

17) Giani,F.; Maria, D. ; Cardoso,L.; Menna, B. and Maurili, J.(2006). Effect of oregano *origanum Vulgarel.* And thyme*(Thymus Vulgavis L.)* essential oils on Trypanosoma cruzi cprotozoo: kinetoplastida, growth and ultrastructure. Parasitology Research. 100(u): 788-790 .p.

18) Mounchid, K.;Bourjilat, F.; Dersi, N.; Aboussaouira, T.; Rachidai, A, Tantauoi- Elaraki, A. and Alaoui- Ismaili, M.The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Rormmarirus officianlis* and *Eucalyptus globules*. African Journal of Biotechnobgy. (10), 1175-1176(2005).

19) Ali, M. and Grever, M.R.(1998). Acytotoxic naphthoquinone from *Lawsonia inermis* . fitoterapia. LXLX(2): 181-183.p.

20) Ali, M. 1996. Chemical and medicinal evalution of *Lawsonia inermis* (Henna). Hamdard Medicus, 39:43-48.p.

21) Bakkali, A.t., Jaziri. M., Foriers, A., Vanderheyden, y., Vanhaelen, M. and Homes, J. (1997). Lawsone accumulation in normal and transformed cultures of henna, *Lawsonia inermis.* Plant cell. Tissue and organ culture, 51:83-87 .p.

22)القاضي، عبد الله عبد الحكم والرماح صفية محمد.(1997). استعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي الليبي (الجزء الاول).

23) مجيد، سامي هاشم ومحمود، مهند جميل، (1988). النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي، مجلس البحث العلمي والطبعة الاولى. بغداد.

24)EL-Negoumy, S.I. (1991). Flavone glycosides of *Lawsonia inermis*, a(U): 1229-1233.p .

25) Afzal, M.,AL-oriquat, G., AL-Hassan,J.M. and Muhammad, N.(1984). Isolation of 1,2 dihydroxy-4-glycosyloxynaphthalene from *Lawsonig inermis*. Hoterocycles, 22(4):813-816.

26) عزيز، رغد اكرم; شهباء حميد وآمنة محمد علي(2010) التاثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية تجاه العزلات البكتيرية– مجلة علوم المستنصرية– مجلد21/ العدد2 .

27)عباس، زيد رعد،(2008). م تأثير المستخلصات المائية والكحولية لاوراق نباتي العفص *Thuja orientalis.* وآذان الصخلة *Plantago Lanceolata L.* على بعض البكتريا المسببة لالتهابات جروح الجلد، رسالة ماجستير ، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية .

28) Babu. p.D . & subhasree, R.S. (2009) . Antimicrobial Activities of *Lawsonia inermis* A review . Academic Journal of plant sciences 2 (4) : 231-23.

29) Josefina, C.E. ; Sandra, G.A.; Rafael, v.p. and Jesus, J.e.(2004). Antimutagenictiy of coriander(*coriandrum sativum*) juice on the mutagenesis produced by plant metabolites of aromatic amines. Toxicology letters. 153(2): 283-292.

30) Giani, F.; Maria, D.; Cardoso, L.; Menna, B. and Maurili, J. (2006). Effect of oregano (*Origanum vulgare L*.) and thyme(thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oils on trypanosome cruzi (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure.Parasitology Research. 100(4): 783-790 .p.

Study inhibitory effective of Alcoholic Extract of leaves of HENNA *Lawsonia inermis* on some bacterial species

Sh. H. Majeed
Dept. Of Science
College Of Basic Education
AL-Mustansiryah University

Abstract

This research aimed to study the effective of alcoholic extract of leaves of Henna *Lawsonia inermis* in inhibitory three species of bacteria causing illness like *Klebsiella pneumoniae*,*Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella planticola* , by well diffusion and determination of minimum inhibitory concentration (MIC),The generai chemicai composition of leaves of *Lawsonia inermis* indicated that they contain Tannins , Flavonoids , Glycosides , Coumarins and Resins however these leaves did not contain both Alkaloids and Saponis and the pH was (5.2). The Study of inhibitory effective of alcoholic extract of plant against the tested bacteria species ,indicate that the inhibition zone against bacteria were(2.9)cm in concentration 100 mg/ml for bacterial tested While the lower inhibition zone was (0.2) cm in concentration 25 mg/ml for bacterial tested , While the (MIC) for alcoholic extract were (20-30) mg/ml against the tested bacterial species .