P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2009 ,( 3), ( 2 ) :52-56

(*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة**

Open Access

# الفعالية التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان *Punica granatum* تجاه البكتيريا المرضية المعزولة من الامعاء والمعدة في الإنسان

**أشواق طالب حميد*** **حماد نواف فرحان ****  **احمد محمد تركي*****

* جامعه الانبار – كليه التربية للبنات

**جامعة الانبار – كليه التربيه –القائم

*** جامعه الانبار –كليه العلوم

**معلومات البحث:**

تاريخ التسليم: 2009/08/01
تاريخ القبول: 2009/08/25
تاريخ النشر: 14/ 06 / 2012

DOI: 10.37652/juaps.2009.15307

**الكلمات المفتاحية:**

فعاليه تثبيطية ،
مستخلصات قشور الرمان ،
بكتيريا مرضيه،
امعاء ،
معده ،
الإنسان.

**الخلاصة:**

استهدفت الدراسة االكشف عن المواد الفعاله في قشور ثمار الرمان الحامض وتقديرها كمياً بالثمار واختبار فعاليه المستخلصات المختلفه لقشور الرمان على البكتريا المعزولة من الامعاء والمعده والتي حصل عليها من اصابات مرضية بالجهاز الهضمي عن طريق الخروج Stool والقئ وهي *E.coli* و *Salmonella* و *Shigella* و *Klebsella* التابعه للعائلة المعوية والتي ترجع لها اغلب الاضطربات الهضمية. صممت التجربة تصميماً عشوائياً وتم تحليلها احصائيا باستعمال اقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 5%، حضرت المستخلصات النباتيه بجهاز السكسوليت Soxlet باستعمال ثلاثة مذيبات وهي الماء وكحول المثيل والكلوروفورم وبواقع تركيزين10% و15% لكل مستخلص. اظهر الكشف النوعي على احتواء القشور على القلويدات والتانينات والفينولات والفلافونيدات والصابونين اذ بلغت كمية التانينات 14.7% والصابونينات 2.6%.أظهرت النتائج ان المستخلص الحكولي قد أعطى تاثيرا معنويا عاليا عند التركيز 15% على جميع أنواع البكتيريا ثم مستخلص الكلوروفورم اما المستخلص المائي فكان الاوطئ من ناحيه قطر التثبيط. تم مقارنه فعاليه المستخلص الكحولي ذات التركيز 15% مع المضادين الامبسلين والكلورفنيكول واظهر المستخلص فعاليه عاليه مماثله لفعاليه مضاد الامبسيلين المركز.

## المقدمة

شجيرات الرمان كثيرة التفرع ثمارها على درجه عالية من التنوع كثيره منها الحلو والحامض والمعتدل . ذكر الرمان عند الفراعنه واستخدم لعلاج ديدان الأمعاء وذكر الرازي ان قشور الرمان المدقوقه تستعمل لعلاج قروح المعده واستعملها الانطاكي لعلاج الاسهال المزمن(1و2).

تحوي قشور الرمان على مواد عفصيه Taninns بنسبه 25-28% على هيئه جاللوتيز galctoseواهم مركبات العفص بيونيكالين وجراناتين وترجع القيمه الدوائيه لقشور الرمان للاحتوائيه على التانين والقلويدات الطياره وعلى المواد المضاده للأكسده كالمركبات الفينوليه مثل النتوسانين التي تعيق عمليات تاكسد البروتينات الشحميه قليله الكثافه الحامله للكولسترول اضافه الى تواجد الاحماض الامينيه (3).

من أهم مسببات الإصابات المعويه والتقرحات المعديه هي البكتريا الانتهازية والمرضيه والتي تمثل مجموعه من الانواع التي يتم التميز بينها بالاختبارات الكيموحيويه وهي عصيات مستقيمه ذات نهايات مدوره مثل الايشريشيا كولاي *E.coli* و *Salmonella* و *Shigella* و *Klebsiella* التي تعد مسبب رئيسي ومساعد في اغلب الإصابات والتقرحات المعديه والإسهال وقد يتعدى ذلك الى الالتهابات في الجهاز البولي(4).

ان استعمال النباتات والاعشاب الطبيه في مجال الوقايه الصحيه لايسبب اثارا جانبيه اذما التزم المريض بشروط تناولها، ونظرا لارتفاع اسعار المواد الكيمائيه وما يصاحبها من مضاعفات مستقبليه سلبيه على الجسم ازداد التداول والتعامل بالبدائل الطبيعيه والتي تكون بمتناول الجميع ولذلك هدفت دراستنا القاء الضوء على أهم المكونات الكيميائيه في القشور وتقدير كميتها واختبار الفعالية الحيوية

* Corresponding author at: Anbar University - College of Education for women, Iraq;
ORCID:
E-mail address:

لمستخلصات قشور الرمان في نمو بعض البكتيريا المعزولة من إصابات مرضيه بالأمعاء.

**المواد وطرائق العمل:**

**1.جمع ثمار الرمان:**

تم الحصول على ثمار الرمان من حديقه منزلية مزروعة الرمان في مدينه الخالدية قطفت الثمار بعد النضج ثم صنفت حسبما ورد في (1) فرطت الحبوب منه واخذت القشور مع اللب جففت بدرجه حراره الغرفه 25مْ لمدة سبعة ايام ودقت ثم وضعت في قناني بلاستيكيه لحين الاستعمال.

**2-الكشف النوعي لأهم المكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان:**

لغرض التعرف على أهم المكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان فقد اجري تحليل كيميائي نوعي باخذ 100غم من قشور الثمار المدقوقه واضافتها الى 200 مل من الماء المقطر وبعدها جففت بدرجة حرارة 50مْ لمده 12 ساعه واذيب الراسب في 200 مل من الماء مقطر مره اخرى واستخدم في الكشوفات النوعيه (5) لكل غرام من التانينات والقلويدات والستيرويدات والفلافونيدات والكلايكوسيدات والصابونين والتربينات وحسب الطرق المعتمده في (6).

**3-الكشف الكمي المكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان:**

1. **تقدير الفينولات:** تم أضافه 5 مل من المستخلص الخام المحضر في الفقره السابقه الى محلول يتكون من10 مل من الماء المقطر و2 مل من هيدروكسيد الامونيوم و5مل من اميل كحول مركز وترك نصف ساعة وتقرا بالسبكتروفوتوميتر عند 505 نانوميتر حضر محلول قياسي من هيدروكسيد الامونيوم واميل الكحول للمقارنه(7).
2. **تقدير القلويدات:** اذيب 5 غم من العينه في 200 مل من مزيج حامض الخليك والايثانول بنسبة (15:1) واضيف هيدوركسيد الامونيوم تدريجياً لحيت تكون الراسب ورشح المحلول واذيب الراسب ورشح مره اخرى وصنف الراسب والذي يمثل القلويد ويوزن(6).
3. **تقدير التانينات:** اذيب 500 ملغم من العينه في 50 مل من الماء المقطر ويوضع بالحامل الهزاز لمده ساعه واحده وترشح ثم يضاف لها الماء مرة اخرى وترشح ويضاف لها بعد ذلك 2 مل من كلوريد الحديد الثلاثي المذاب في حامض الهيدروكسيد وسيانيد البوتاسيوم وتقاس الامتصاصيه عند 120نانوميتر (8).
4. **تقدير الصابونين:** يؤخذ 20 غم من العينه ويضاف لها 80 مل من الايثانول الى الراسب ويعمل له اعادة استخلاص من 20 مل ايثر ثنائي تعاد العمليه عده مرات ويضاف بعد ذلك 60 مل من البيوتانول ويرشح ويغسل الراسب بمادة كلوريد الصوديوم 5% ويبخر المستخلص ويوزن الراسب والذي يمثل مادة الصابونين الموجوده بالعينه (9).
5. **تقدير الفلافونيدات:** تؤخذ 10 غم من العينه النباتيه وتضاف الى 100 مل من كحول الميثانول 80% ويرشح المحلول بورقه ترشيح من نوع Whatman NO 42 يبخر المستخلص ووزن الراسب والذي يمثل الفلافونيدات الموجوده بالعينه (7 ).

4- **تحضير التراكيز المختلفه من المستخلص الخام:** تم تحضير المستخلص المائي لقشور الرمان بتركيز 10% باذابة 10 غم من العينه في 100 مل من الماء المقطر وبتركيز 15% بأذابه 15 غم في 100 مل من الماء المقطر بعد ان تم استخلاصه بجهاز السكسوليت باستعمال ثلاث مذيبات الكحول الاثيلي والكلورفورم والماء ( 10).

5- **تحضير العزلات المرضيه:** اخذت العزلات البكتيريه من مختبرات مستشفى الرمادي العام من مرضى مصابين بمشاكل صحيه في الجهاز الهضمي وعزلت من الخروج والقيء واجريت لها فحوص تأكدية في مختبرات علوم الحياة بكليه العلوم جامعه الانبار.

**6- الفعاليه الحيويه للمستخلص الكحولي والكلورفورمي والمائي لقشور الرمان ضد البكتريا المرضيه المعويه:**

استعملت طريقة الانتشار حول الحفر في قياس الفعاليه الحيويه لمستخلصات قشور الرمان ضد نمو بعض عزلات البكتريا، اذ لقح وسط الاكار المغذي بالعالق البكتيري الحاوي على 4 x 910 وحده تكوين مستعمرة/ مل بواسطه مسحة قطنية معقمه في طبق بتري قطره 90ملم وعملت حفر بقطر 4 ملم مركزية على سطح الوسط الزرعي بواسطه ثاقب الفلين ووضع 200 مايكروليتر من المستخلص المحضر مسبقاً في كل حفرة، حضنت الأطباق لمده خمسه ايام على درجه حراره 37 م وسجلت النتائج بقياس قطر التثبيط بالملميتر حول كل حفره(11). وحفر السيطرة تمثل الماء والكلوروفورم والكحول فقط.

**7- مقارنه الفعاليه الحيويه للمستخلص الكحولي 15% مع المضادين الامبسلين والكلورمنفينكول ضد البكتريا المرضيه:**

اختبرت فعاليه التركيز 15% من المستخلص الكحولي بالمقارنه مع المضادين الامبسيلين والكلورمنفنكول والذي تم الحصول عليه من

معمل ادويه سامراء بتركيز مطلق( بدون اضافه أي ماده اخرى) وعمل تركيز 50 ملغم/100مل واجري الاختبار كما في الفقرة السابقه (12).

8- **التحليل الاحصائي:**

تم اعتماد التصميم العشوائي الكامل في تصميم التجارب البايولوجيه وتمت مقارنه الفروق عند مستوى احتمال 5% واجري التحليل باعتماد البرنامج الاحصائيMinitab عند اقل فرق معنوي.

**النتائج والمناقشة:**

1. **الكشف النوعي لأهم المكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان:**

يوضح الجدول(1) نتائج الكشف الكيميائي النوعي للمكونات الفعاله في مستخلص قشور الرمان الذي يوضح احتواء المستخلص الخام على القلويدات والتانينات والفينولات والفلافونيدات والصابونين والتي تعد مواد مثبطة لنمو البكتريا اذ تعمل التانينات والقلويدات على تثبيط نمو البكتريا المعزولة من اصابات مرضيه من اماكن متعدده من الجسم (12) وان اغلب الاعشاب الطبيه ترجع فعاليتها الى احتوائها على المواد والمكونات الفعاله والتي استفاد منه اغلب الباحثين في المجال الصيدلي في استخلاص هذه المواد وتنقيتها لجعلها مادة فعالة مستقل، ان قشور الرمان يعد مخزون مثالي لأغلب المواد التانينيه والقلوديه والتي ترجع فعاليته لاحتوائه على هذه لمواد وغيرها من الأحماض الامينيه والعضوية( 13). تحوي قشور الرمان على انواع متعدده من المواد الفعاله التي تعطي الرمان اهميته الطبيه والعلاجيه(**14**).

**جدول(1) الكشف النوعي لاهم المكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان.**

| الماده الفعاله | القلويدات | التانينات | الفينولات | الكلايكوسيدات | الستيرويدات | الفلافونيدات | الصابونين |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| النتيجه | + | + | + | - | - | + | + |

**الكشف الكمي للمكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان:**

يظهر الجدول(2) النسبه المئويه للمكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان والذي يبين ان ماده التانيين كانت الاكثر نسبه في المستخلص اذ وجد Voravuthikunchai واخرون (15) ان ألمادة الفعاله لها أهميه في زياده الفعاليه الحيويه في الأعشاب التي تتواجد فيها وتعمل على تثبيط انواع من البكتريا وتعمل كلا من التانينات والقلويدات على علاج الإسهال والمغص المعوي وتختلف نسبه تواجد المواد الفعاله حسب نوع ثمار والرمان ومكان تواجده وفترة نموه (نضجه) ويعد الرمان الحامض هو الأفضل في علاج المشاكل الهضميه فقد ابدى فعالية حيوية ضد بكتريا معوية مثل *E.coli* والتي تعد انتهازيه تهاجم الجسم اذا زاد عددها وتساهم في زياده الامراضية والضراوه مع بكتريا مرضيه اخرى(16)، وتحدد كميه الماده ألفعالة في النباتات الطبيه والعلاجيه كفاءة هذا الثمار في كبح نمو الأحياء المجهريه المرضيه (17).

**جدول(2) النسبه المئويه للمكونات الكيميائيه للمستخلص الخام لقشور الرمان.**

| الماده الفعاله | القلويدات | الصابونيات | التانينات | الفينولات | الفلافونيدات |
|---|---|---|---|---|---|
| % | 0.76 | 2.6 | 14.7 | 0.88 | 0.45 |

**الفعاليه الحيويه للمستخلص الكحولي والكلوروفورمي والمائي لقشور الرمان ضد البكتريا المرضيه:**

أظهرت نتائج الدراسه وكما هو موضح في الجدول(3) تاثير المستخلصات الكحولية والكلوروفورمية والمائية المحضرة من قشور الرمان الحامض في نمو بعض الاجناس البكتيريه المعوية التابعة للعائلة Enterbacteraceae والمعزولة من المرضى الراقدين في مستشفى الرمادي العام وهي *E.coli* و *Salmonella* و *Shigella* و *Klebsella* وجود تثبيط معنوي واضح في هذه الانواع من البكتريا المرضيه وهذا يتفق مع درسات اخرى بنفس المجال(18).

**جدول(3) الفعاليه الحيويه للمستخلص الكحولي والكلوروفورمي والمائي لقشور ثمار الرمان تجاه نمو بعض أجناس البكتريا المعويه مقاسابالملميتر.**

| الغزلات | اقطار تثبيط البكتريا (ملم) | | | | | | | | | المعدل |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | المستخلص الكحولي | | | المستخلص الكلوروفورمي | | | المستخلص المائي | | | |
| | صفر | 10% | 15% | صفر | 10% | 15% | صفر | 10% | 15% | |
| *E.coli* | 13 | 17 | 22 | 12 | 13 | 16 | 0 | 15 | 17 | 13.8 |
| *Salmonella* | 15 | 20 | 20 | 10 | 15 | 19 | 0 | 11 | 15 | 13.7 |
| *Shigella* | 12 | 20 | 21 | 9 | 16 | 19 | 0 | 14 | 18 | 14.3 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Klebsiella* | 16 | 19 | 22 | 13 | 14 | 16 | 0 | 12 | 16 | 14.2 |
| المعدل | 14 | 19 | 21 | 11 | 14.5 | 17 | 0 | 13 | 16 | |
| LSD 5% | بين التراكيز الثلاثه=1.5بين المستخلصات الثلاثه=0.8 | | | | | | | | | |

يلاحظ في الجدول(3) ان المستخلص الحكولي تركيزه15% اعطى معدل قطر تثبيط عالي مقارنه مع المستخلص المائي والكحولي وبمعدل 21 ملم يقابله 17مم في المستخلص الكلوروفورمي و16ملم في المستخلص المائي عند التركيز 15% وقد يعود ذلك الى كمية ونوعية المواد الفعالة المتحررة والمذابه بالكحول تكون اكبر مقارنة مع الكلوروفورم والماء اذ يعد الكحول مذيب ممتاز لأغلب الأعشاب الطبية المراد دراسه تاثيرها فقد تفوق المستخلص الكحولي عند اغلب الباحثين في مجال الفعالية الحيوية على المستخلصات المائيه والكلورفورميه لكون المادة الفعالة التي تؤثر على البكتريا تذوب في المذيبات العضويه اكثر من ذوبانها في الماء (18,19,20).

من التحليل الاحصائي وجد ان هناك فروق معنويه بين التراكيز الثلاث . ان كميه الماده الفعاله بالمستخلص تحدد الفعاليه الحيويه فقد وجد (15) ان التراكيز العاليه من قشور الرمان عملت على تثبيط انواع عده من البكتريا المعويه والفطريات ايضاً.ان للمستخلصات النباتيه المختلفه تاثير مثبطا على عدد كبير من الأحياء ألمجهريه وخاصه البكتريا المرضيه لما تحتويه من مواد مضاده لنمو هذه الاحياء(20).

**مقارنه الفعالية الحيوية للمستخلص الكحولي 15% مع لمضادين الامبسيلين والكلورومنفنيكول ضد البكتريا المرضيه:**

| البكتريا | المستخلص الكولي 15% | الامبسيلين | الكلورومنفنيكول |
|---|---|---|---|
| ***E.coli*** | ***13*** | **11** | **10** |
| ***Salmonella*** | ***21*** | **21** | **14** |
| ***Shigella*** | ***21*** | **21** | **17** |
| ***Klebsiella*** | ***19*** | **18** | **19** |
| **LSD 5%** | **2.386** | **1.588** | **1.87** |

تم مقارنه فعالية المستخلص الكحولي 15% مع المضادين الامبسلين والكلورومنفنيكول والتي تستعمل بكثرة في علاج اغلب الإصابات البكتيريه ، ويظهر الجدول(4) ان المستخلص الكحولي ابدا فعاليه تثبيطيه واضحه في حاله البكتريا *Salmonella* و *Shigella* اذ اعطى المستخلص فعاليه مماثله للامبسلين بمعدل قطر 21 ملم لكل منها مع الاخذ بعين الاعتبار ان التركيز المستعمل للمضاد عالي ولا يستعمل في الادويه العاديه والمتداوله ويتفق هذا مع (11) الذي أكد تفوق وكفاءة المستخلصات الطبيه النباتيه على المضادات الحيويه اذ ما استعملت بشكل صحي ودقيق.

**المصادر**


1_ الجوزيه، شمس الدين عبدالله بن القيم(1988). معجم التداوي بالاعشاب والنباتات الطبيه. مطبعه الرايه، بغداد.

2_ الدجوي، علي(1996). موسوعة النباتات الطبية والعطرية. مكتبه مدبولي، مصر.

3- وصفي، عادل سعيدزجانيت، توفيق قصير(1982). كيمياء النواتج الطبيعيه. كليه العلوم/ جامعه بغداد،ص 314.

4_ Warren,J.R. & Marshall,B.J.(1983). Unidentified bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis Lancet1(8336),1273_1275.

5_ Sofowara,A.(1993). Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Spectrum 6_books Ltd, lbadan, Nigeria. P 289.

6-Harborne, J.B.(1973). Phytochemical methods.London.Champrman & Hall.Ltd pp.49-188.

7_ سركيس، جورج جوناثان والراوي، قاسم محمد وكاطع محمد(1980). تشخيص المركبات العضويه بالطرق الكيميائيه. مطبعه جامعه بغداد.

8_ Edeoga,H.O.,Okwu, D.E. & Mbaebile, B.O.(2005). Pptochemical constituents of some Nigerian medicinal plants.African. J.Biotech.vol.4(7)pp605-644.12

9 Van-Burden,T.P.Robinson W.C.(1981). Formation of complexes between protein & tannin acids.Agtic. Food Chem.1:77.

10-Boham,B.A.,Kocipai-Abyazan(1974). Flavonoids and condensed tannins from leaves of Hawaiian vaccinium and v. calycinium pacific. Sci. 48:458-463.14_

11- المحنه، ايناس كريم هادي(2002). تأثير مستخلصات بعض النباتات العراقيه على الاحياء المجهريه المعزوله من مناطق جسميه مختلفه. رساله ماجستير، كليه العلوم، الجامعه المستنصريه.

12-Bauer RW, Kirby MDK, Sherris JC, Turck M: Antibiotic susceptibility testing by standard single disc diffusion method American Journal of Clinical Pathology 1966,45:493-496.

13- عبد الباقي، انعام عبد المنعم عبد الحميد(2001). التاثير التثبيطي لعدد من النباتات الطبيه في بعض انواع الجراثيم المعزوله من الجروح الخمجيه. رساله ماجستير، كليه التربيه، جامعه الموصل.

14PrashanthD,AshaMK,AmitA.(2001).Antibacterial activity of Punica granatum. Fitoterapia J.Biotec. Feb;72(2):171-3).

15-Voravuthikunchai S, Lortheeranuwat A, Jeeju W, Sririrak T, Phongpaichit S, Supawita T: (2004), Effective medicinal plants against Enterohaemorrhagic E.coli O157: H7 Journal of Ethnopharmacology 94:49-54.

16- Rosella De Salv (2005 iPunica granatum L. whole fruit extract as a protection against the hydrogen peroxide-induced damage. Rev Cubana Plant Med. 10(2)

17- Parekh J, Jadeja S, Chanda S: Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity.Turkish Journal of Biology 2005, 29:203-210.

18- Buwa LV, Staden JV: (2006), Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa Journal of Ethnopharmacology 103:139-142.

19- العاني، محمد قيس، عبد،،ادهام علي، تركي،احمد محمد(2003). تـأثير بعـض المستخلصـات النباتيـه علـى نمـو بعـض الاجنـاس المرضـيه البكتيريـه والفطريـه. مجلـه الانبـار للعلـوم الزراعيـه. المجلد(1)، العدد(1):8-13.

20- زنكنـه، شـكريه علـي محمـد(2004). تـأثير مستخلصـات عدد من النباتات على نمو بعض انواع البكتريا المرضيه. رساله ماجستير، كليه العلوم، جامعه الانبار.

# THE INHABATION ACTIVITY OF EXTRACT PUNICA GRANTUM CORTEX ON GROWTH SOME PATHOGENIC BACTERIA WHICH ISOLATE FROM HUMAN STOMACH AND INTESTINAL

**ASHWAQ T.HAMEED HAMAD N.FARHAN AHMED M.TURKEY**

ABSTRACT:

The aim of study was investigation about compound activity in the acid Pomegrante fruite cortex estimate amount it and testing antimicrobial activity from extract of this cortex on Enteropathogenic bacteria which found in stomach and intestinal and causing infection bacteria isolate from stool and vometing was *E.coli* ,*Salmonella* sp., *Shigella sp*. And *Kiebsella sp*. Of family Enterobactericeae which cause high of digestive complicated. Results are statistic analysis by less signficant differences in level 0.05. The plant extract is prepared by soxlet system using three solvent was water, methel alcohol and chloroform these solvent divided to two concentration 10% and 15% per one extract. The investication appeare the cortex was contian compound of alkaloides, taninnis,phenols, flavonida and saponins, all these compound gave postive test aginst bacteria. Result of estimate compounds activity in extract was followed taninnis high ratio(14.7%) Saponins (2.6%).The resuit are appear the alcoholic extract gave high signficants effect about 15% concentration on the all species of bacteria, second effect was chloroform extracted while water extracted was lower effect by inhibition diameter. Results of comparing activity of alcoholic extract 15% with two antibiotic (ampicillin and chloramphenicol) appear the activity of extract was very high and similar to activity of two antibiotics concentration.