

فصل المركبات القلويدية من ثمار نبات القطب *Tribulus terrestris L.(fruit)* ودراسة تأثيرها البايولوجي في نمو عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام

محمد طه محمود و مثنى جاسم محمد

قسم العلوم الطبية الاساسية ، كلية التمريض ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ١٣ / ٤ / ٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ١١ / ٩ / ٢٠٠٨)

الملخص

تم في هذه الدراسة فصل وتشخيص بعض المركبات القلويدية المفصولة من ثمار نبات القطب *Tribulus terrestris L.* وتحديد التأثير التثبيطي لهذه المركبات في نمو عدد من البكتريا: *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Escherichia coli* و *Proteus vulgaris* و *Serratia marcescens* و *Pseudomonas aeruginosa* واستخدم المضاديين Gentamicin و chloramphenicol . كعينات سيطرة. وتم تشخيص المركبات القلويدية المفصولة باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء (IR) . اذ اظهرت هذه المركبات فعالية تثبيطية متفاوتة على جميع انواع الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: فصل قلويدات، نبات القطب، التأثير البايولوجي

المقدمة

وتعمل هذه المركبات على حماية غدة المثانة (Prostat) من التضخم واصابتها بالسرطان^(١١٠٠).

ويمكن استخدام ثمار نبات القطب كمقوي، مشهي، مسكن للالم، مادة قابضة، معالجة للاضطرابات المعوية وتليف الكبد ومعالجة ضغط الدم ومدرر^(٤٠١٣،١٢).

ان مادة Steroidasaponins الموجودة في هذه الثمار تزيد من فعالية الجهاز المناعي للانسان ضد البكتريا والفيروسات^(١٦٠٥) واحتواء هذه الثمار على العديد من المركبات القلويدية جعلها تستخدم في معالجة الحالات المرضية الناتجة عن الاصابة بالجراثيم، اذ تعد المركبات القلويدية من اكثر المركبات فعالية ضد الجراثيم^(١٨٠٧).

لقد ساهمت النباتات الطبية في معالجة مشاكل المقاومة المكتسبة للجراثيم ضد المضادات الحيوية ولذلك قللت من الاثار السمية المحتملة لهذه المضادات^(٢٠١٩). و اشارت العديد من الدراسات الى ضعف المضادات الحيوية بتقادم الزمن وهذا ما يجعلها غير فعالة تجاه الجراثيم وبالتالي ظهور مشكلة مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية، وهنا لا بد من وجود استراتيجيات بحث حيوي موجهة نحو اكتشاف وتطوير مضادات جديدة تعتمد بالاساس على النباتات الطبية^(٢١). ونظرا لاهمية نبات القطب وما يحتويه من مركبات فعالة بايولوجيا، تم استخدام الثمار للحصول على بعض المركبات بهدف معرفة الفعالية التثبيطية لها في نمو عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام.

المواد وطرائق العمل

انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة:

Staphylococcus aureus

Bacillus cerues

Escherichia coli

Protous vulgaris

Serratia marcescens

Pseudomonas aeruginosa

تم الحصول على البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام من قسم علوم الحياة/كلية التربية/جامعة الموصل، فيما ماعدا جرثومتي

يعد نبات القطب من الاعشاب الطبية المهمة التي تدخل في صناعة بعض الادوية، اذ ينتمي هذا النبات الى عائلة خنق الدجاج Zygophyllaceae^(١) وهو عبارة عن عشب حولي ينمو في المناطق الجافة، او الملحية، يبلغ طول النبات ١٠-٦٠ سم، الاوراق متقابلة مركبة ريشية، الثمرة علية، الزهرة صفراء اللون والثمار ذات اشواك^(٢).

تعد بلدان الهند والصين وبلغاريا واليونان الموطن الاصلي للنبات اما الان فقد انتشرت زراعته في الكثير من مناطق العالم^(٣). ولهذا النبات عدة

تسميات شائعة منها Gukhura Gohri، Gokshura، Cokhrn،

Goathead، Caltrop، Pubctue vine^(٤) وتحتوي ثمار نبات القطب

على مجموعة من المركبات منها الصابونينات مثل: glucopyranosyl، gitogenin، hecogenin، ruscogenin، galactopyrans

titogenin و protodioscin والفلافونويدات

مثل: tribuloside، kaempferol-3-glucoside، kaempferol،

quercetin والقلويدات مثل: harmol، harman، norharman،

harmine

harmaline، harmalol، 3-hydroxymethylnorharman

2- tetrahydroharman، tetrahydronorharman

ethyltetrahydro-norharman و tribulusterine^(٥).

وقد استخدم هذا النبات قديما في الهند والصين لمعالجة العقم والضعف الجنسي لكلا الجنسين^(٧،٦)، اما الان وبعد التقدم العلمي والتكنولوجي الذي

طرأ على استعمال النباتات الطبية كعلاج للكثير من المشاكل الصحية، فقد اكتشف ان ثمار نبات القطب تحتوي على مركبات فعالة مثل Dioscin و

Protodioscin لها تأثير كبير على الفعالية الجنسية للانسان كما تعمل على معالجة الاضطرابات الجنسية وتنظيم مستوى

الطاقة الجنسية من خلال زيادة افراز هرمون Testosterone وهرمون الشحمون الخصوي لدى الذكور^(٨)، كما تؤثر هذه المركبات على افراز

هرمونات Progesterone و Pregenolone و Estrogen الاثوية مما جعل هذه العشبة توصف كعلاج لتنظيم اعراض الطمث وانقطاعه^(٩)

Serratia marcescens و *Staphylococcus aureus* تم الحصول عليها من كلية التمريض/جامعة الموصل.

جمع النبات وتصنيفه:

تم جمع نبات القطن من اطراف الحقول في مدينة الموصل وتم التحقق من صنف هذا النبات في كلية الزراعة والغابات بالاعتماد على مصادر التصنيف المعتمدة^(٢٣،٢٢) ثم فصلت الثمار عن بقية الاجزاء الاخرى وتم تنظيفها مما علق بها من التراب وحفظت في ظروف خالية من الرطوبة لحين البدء بتحضير عملية الفصل.

فصل المركبات الفعالة: (القلويدات Alkaloids)

تم سحق ثمار نبات القطن بواسطة جهاز (Blender) كهربائي ثم نعتت بمحلول الميثانول لمدة اربعة ايام متتالية للتأكد من عدم بقاء أي نوع من انواع القلويدات في الاجزاء المتبقية من الثمار. ثم رشح الخليط باستخدام ورق الترشيح (Filter paper) ونقل الراشح الى جهاز المبخر الدوار (Rotary evaporator) لتبخير الميثانول من الراشح مع البقاء على كمية قليلة ليتسنى نقله الى قمع الفصل ثم معاملته بحامض الكبريتيك واستخلاصه بواسطة محلول الكلوروفورم، وتعاد العملية باضافة كاربونات الصوديوم واستخلاصه مرة ثانية بالكلوروفورم للحصول على قلويدات خام^(٢٤).

الكشف عن المركبات المفصولة:

تم الكشف عن القلويدات المفصولة باستخدام كاشف ماير Mayer's reagent وذلك باضافة عدة قطرات من الكاشف الى (٥ مل) من النموذج، فاذا ما تكون راسب ابيض نتيجة تفاعل الكاشف مع النموذج يعد الكشف موجب ويؤكد ان النموذج هو عبارة عن قلويد^(٢٤).

تشخيص المركبات المفصولة

استخدم طيف الاشعة تحت الحمراء لتشخيص المركبات المفصولة^(٢٥)

بواسطة جهاز: Infrared Bruker Co., Germany Spectrophotometer Model Tensor 27

تعقيم المواد المفصولة:

تم اذابة المواد المفصولة في ثنائي مثيل السلفوكسيد (DMSO) بنسبة (٥:١) (V/W) للحصول على تركيز (٢٠٠ ملغم/مل) والذي استخدم في تحضير التراكيز (١٠٠ و ٥٠ و ٢٥ و ١٢,٥) ملغم/مل. ثم عقم المزيج بطريقة البسترة وبدرجة حرارة (٦٢ م°) لمدة (١٠ دقائق)^(٢٦).

اختبار الفعالية التثبيطية:

اتبعت طريقة Leven واخرون (١٩٩٧)^(٢٧) المعتمدة على طريقة Vandepitte واخرون (١٩٩١)^(٢٨)، اذ تم تلقيح وسط المرق المغذي بمستعمرات مفردة من الجراثيم التي سبق ذكرها كلا على حدى ثم حضن الوسط بدرجة حرارة (٣٧) م° لمدة (١٨-٢٤) ساعة، ثم خفف العالق الجرثومي بعد ذلك بالمحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline بالمقارنة مع انبوية الاختبار القياسية ماكفرلاند رقم (١) Macfrland No. 1 للحصول على ١٠^٨ خلية/مل من العالق الجرثومي ونشر على سطح وسط الاكار المغذي الاعتيادي باستخدام الناشر الزجاجي، ثم حضنت

الاطباق في الحاضنة مدة (٣٠) دقيقة لكي يحصل التثريب. ولدراسة الفعالية المضادة للمركبات المفصولة من النبات في نمو البكتريا فقد حضرت اقراص من ورق الترشيح (Whatman No. 1) بقطر (٦) ملم المشبعة بتركيز مختلفة من المواد المفصولة من النبات المراد اختبارها، ثم ثبتت الاقراص بواسطة ملقط معقم وحضنت بدرجة حرارة (٣٧) م مدة (٢٤) ساعة. بعدها تم قياس قطر التثبيط ومقارنته مع المضادات الحيوية القياسية (Gentamycin و Chloramphenicol) كعنتي سيطرة موجبة^(٢٩).

النتائج والمناقشة

لقد اجريت العديد من الدراسات حول الفعالية البايولوجية لعدد لا بأس به من النباتات الطبية ضد الاحياء المجهرية المرضية وغير المرضية باستخدام المركبات المفصولة منها. اذ تضمنت دراستنا التأكيد على هذا المحور، وعليه فقد استخدمت ثمار نبات القطن لفصل عدد من المركبات القلويدية ودراسة تأثيرها على نمو ستة انواع من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام. اذ اظهرت هذه المركبات تأثيرا تثبيطيا متباينا على البكتريا المستخدمة قيد الدراسة، حيث ظهر اعلى تأثير لهذه المركبات على بكتريا *Bacillus cereus* مقارنة بعينات السيطرة. فيما ظهر تأثير هذه المركبات متساوي على بكتريا *Staph. aureus* و *Proteus vulgaris* وعلى من تأثير عينات السيطرة. كما اظهرت هذه المركبات تأثير تثبيطيا على بكتريا *Ps aeruginosa* و *E. coli* مقارب لتأثير عينات السيطرة. فيما كان تأثير هذه المركبات على بكتريا *Serratia marcescens* اقل من تأثير عينات السيطرة. ومما تقدم يتبين ان للمركبات القلويدية المفصولة تأثير مضاد متباين في نمو البكتريا المستخدمة قيد الدراسة وهذا يدل على ان لهذا النبات فعالية بايولوجية لا بأس بها يمكن استخدامها لمعالجة العديد من الامراض. ان التأثير التثبيطي لنبات القطن في نمو عدد من البكتريا يعزى لوجود مركبات ذات فعالية بايولوجية جيدة او سموم لنواتج ايضية في جسم النبات تؤثر سلبا في نمو هذه البكتريا^(٣٠)، اذ تتميز ثمار نبات القطن باحتوائها على مدى واسع من المركبات القلويدية، اذ ان لهذه المركبات قابلية كبيرة في تثبيط نمو البكتريا^(٣١) من خلال تأثيرها على بناء DNA الخلية وبالتالي موتها^(٣٢).

كما شخصت المركبات المفصولة (القلويدات) باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء (IR) اظهرت قيم امتصاص واضحة تعود للمجاميع الوظيفية والواصر الموجودة في مثل هذه المركبات وهي كما يلي:

٣٣٨٢,٧٧ سم^{-١} (متوسطة) تعود للاصرة (N-H)

١٧٤٢,٥١ سم^{-١} (قوية) تعود للاصرة (C=O)

١١٤٥، ١٠٥٣ سم^{-١} (متوسطة) تعود للاصرة (C-O)

١٦٠٠-١٤٦٣ سم^{-١} (متغيرة) تعود للحلقة الاروماتية (C=C)

٢٩٢٦-١٨٥٥ سم^{-١} (قوية) تعود للاصرة (C-H) (مط)

١٣٧٧ سم^{-١} (متوسطة) تعود للاصرة (C-H) (ثني)

وكما موضح في الشكل رقم (١)

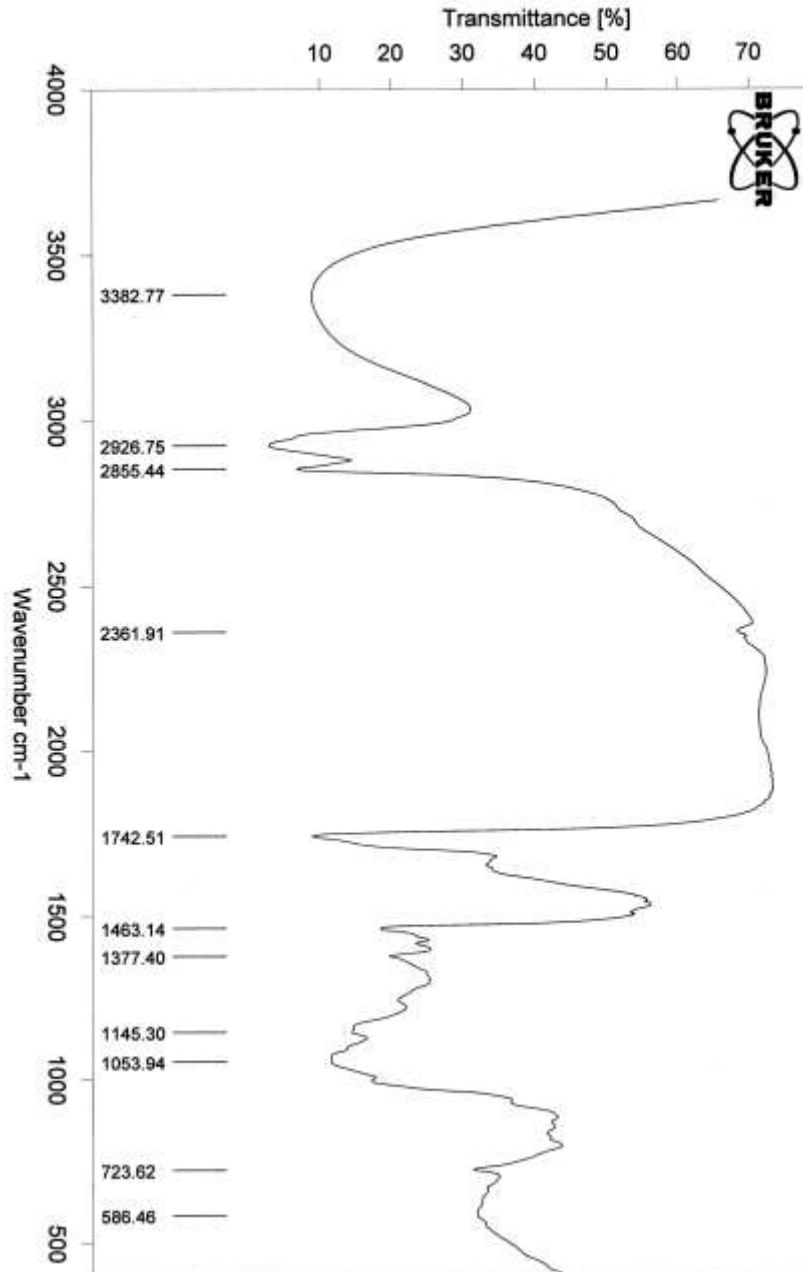
الجدول (١): الفعالية التثبيطية للمركبات القلويدية المفصولة من ثمار نبات القطب في نمو عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام (قطر دائرة التثبيط مقاس بالملم)

المضادات الحيوية		التركيز (ملغم/مل)					البكتريا
GN	C	١٢,٥	٢٥	٥٠	١٠٠	٢٠٠	
١٦	١٨	-	-	١٣	١٥	٢٠	<i>Staph. aureus</i>
١٨	٢٠	-	١٠	١٤	١٦	٢٢	<i>Bacillus cereus</i>
١٧	١٨	-	-	-	١٢	١٨	<i>E. coli</i>
١٦	١٨	-	-	١٣	١٦	٢٠	<i>Proteus vulgaris</i>
١٩	٢١	-	-	-	١٠	١٤	<i>Serratia marcescens</i>
١٧	١٩	-	-	١٠	١٤	١٨	<i>Ps. aeruginosa</i>

C- Chloramphenicol (30 mg/disc)

GN- Gentamicine (10 mg/disc)

الشكل (١): طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للقلويدات المفصولة من ثمار نبات القطب *Tribulus*



- Chemical Pharmaceutical Research Institute, Sofia, 1985.
19. Viktorov IV, Kaloyanov AL, Lilov L, et al. Clinical investigation on Tribestan in males with disorders in the sexual function. *Med-Biol Inf.* 1982.
 20. Walsh, W. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 2000, 406, 775-781.
 21. Mitscher, L. A.; Pillai, S. P.; Gentry, E. J.; Shankel, D. M. Multiple drug resistance. *Med. Res. Rev.* 1999, 19, 477-496.
 22. Baily L.H. (1977). Manual of cultivated plant. 15th ed., Macmillan Publishing Co., New York, USA.
 23. Townsend C.C. and Guest E. (1980). Flora of Iraq. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad, 22.Iraq, 3: 402-405.
 24. Pelletier S.W. and Aneja R. (1968). The alkaloids from Aconitum Leucostomum. *J. Nat. Prod.*, 59: 277-279
 25. Silverstein R.M , Bassler G.C and Morill T.C, Spectrometric Identification of Organic Compounds. 4th Ed., John Wiley and Sons, USA, 1981
 26. Riose J.L., Recio M.C. and Villar A. (1987). Antimicrobial activity of selected plant employed in the Spanish Mediterranean and area. *J. Ethnopharmacol.*, 12: 139-152.
 27. Leven, M D.A. Vandenberghe, F. Metens, A. Vlietinck and E. Lammens, J. Antibacteria Activity *Planta Medica*. 36 (1997) 311-10.
 28. Vandpitte. j, K. Englaback, P. Piote, and Heukc, Basic Laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization, Geneva 1991.
 29. Todar.K, J. *Med. Microbiol.*, (2002) 1-9.
 30. Bourke CA, Stevens GR, Garriqan MJ. Locomotor Effects in Sheeps of Alkaloids Identified in Australian Tribulus terrestris. *Aust*
 31. Schupp, P.; Poehner, T.; Edrada, R.; Ebel, R.; Berg, A. et al. Eudistomins W and X, Two new \square -carbolines from the Micronesian tunicate *Eudistoma* sp. *J. Nat. Prod.* 2003, 66, 272-275.
 32. Bonjean K, De Pauw-Gillet M-C, Defresne M-P, Colson P, Houssier C, Dassonneville L, Bailly C, Greimers R, Wright C, Quentin-Leclercq J, Tits M, Angenot L (1998). *Biochemistry* 37: 5136-5146.
 1. Tomova M., Gjulemetova R., Zarkova S., Peeva S. Pangarova T. and Simova M. Proceedings, Varna, September, (1981), Vol.3, p.299D303.
 2. Terra, E. A Simpler Way: *Tribulus terrestris*; A Simpler Way; Website:, 2002.
 3. Ganzera, M.; Bedir, E.; Khan, I. A.. *J. Pharm. Sci.* 2001, 90, 1752-1758.
 4. Bourke, C. A. Hepatopathy in sheep associated with *Tribulus terrestris*. *Aust. Vet. J.* 1983, 60, 189
 5. Bedir, E.; Khan, I. K.. *J. Nat. Prod.* 2000, 63, 1699-1701.
 6. Yan, W.; Ohtani, K.; Kassai, R.; Yamasaki, K.. *Phytochemistry* 1996, 42, 1417-1422.
 7. Zafar, R.; Nasa, A. K.. *Indian J. Nat. Prod.* 1987, 3, 17-18.
 8. Wang B, Ma L, Liu T. 406 cases of angina pectoris in coronary heart disease treated with saponin of *Tribulus terrestris* [in Chinese; English abstract] . *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih.* 1990;10:85-87.
 9. Adimoelja A. Phytochemicals and thebreakthrough of traditional herbs in the management of sexual dysfunctions [abstract]. *Int J Androl.* 2000;23:82-84.
 11. Antonio J, Uelmen J, Rodriguez R, et al. The ffects of *Tribulus terrestris* on body composition and exercise performance in resistance-trained males [abstract]. *Int J. Sport Nutr Exerc Metab.* 2000; 10: 208-215.
 12. Bourke CA, Stevens GR, Carrigan MJ. Locomotor effects in sheep of alkaloids identified in Australian
 13. *Tribulus terrestris* [abstract]. *Aust Vet J.* 1992;69:163-165.
 14. Bourke CA. Staggers in sheep associated with the ingestion of *Tribulus terrestris* [abstract]. *Aust Vet J.* 1984;61:360-363.
 15. Bourke CA. A novel nigrostriatal dopaminergic disorder in sheep affected by *Tribulus terrestris* staggers [abstract]. *Res Vet Sci.* 1987;43:347-350.
 16. Kumanov F, Bozadzhieva E, Andreeva M, et al. Clinical trial of the drug "Tribestan." *Savr Med.* 1982;4:211-215.
 17. Protich M, Tsvetkov D, Nalbanski B, et al. Clinical trial of the preparation Tribestan in infertile men. *Akush Ginekol.* 1983;22(4):326-329.
 18. Tanev G, Zarkova S. Toxicological studies on Tribestan. Cited in Zarkova S. *Tribestan: Experimental and Clinical Investigations.*

Separation the Alkaloid Compounds From the fruit of *Tribulus terrestris*, and Study the Biological Effect on Some Gram Positive and Negative Bacteria

Mohammed T. Mahmood¹, Muthana J. Mohammed²

¹ Basic Medical Science College of Nursing, University of Mosul, Mosul, Iraq

² Department of Biology, College of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq

(Received 13 / 4 / 2008, Accepted 11 / 9 / 2008)

Abstract

This study is designed for isolation and identification of some alkaloid compounds from *Tribulus terrestris*, and to determine the inhibitory effect of these compounds were investigated on the growth of some bacteria, which include: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* and used the antibiotics (Gentamicin, chloramphenicol) as control samples. The alkaloid compounds were further analyzed by IR. The alkaloid compounds showed significant inhibiting effect on the the tested bacteria which were used in this study compared incomperision with control.

Keywords: isolation , alkaloids, *tribulus terrestris*, Biological effect