

تقييم فعالية المستخلص الكحولي للصبغ المنتج من نبات Boswellia carterii ضد نوعين من الفطريات المسببة لالتهاب الضرع الفطري في المختبر

عادل كعيد خلف ، عمار حقي سلمان و صلاح محمود عاشور
كلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار

الخلاصة

استهدفت الدراسة اختبار فعالية الخلاصة الكحولية للصبغ المنتج من نبات Boswellia carterii ضد نوعين من الفطريات المعزولة من أبقار مصابة بالتهاب الضرع الفطري وهي: Aspergillus niger و Blastomycis dermatidis ومقارنتها مع بعض الأدوية المضادة للفطريات وهي : Nystatin و Clotrimazol و Tolnaftate ، وقد استخدمت في الدراسة سبعة تراكيز من المستخلص ومضادات الفطريات هي (5,10,15,25,50,75,100 ملغم/ملتر) وقد أظهر المستخلص فعالية مثبطة لنمو الفطريات حيث كانت معدلات نمو الفطر تتناسب عكسيا مع ازدياد التراكيز المستخدمة من المستخلص.

Activity evaluation of alcoholic extract of resin produced from Boswellia carterii against two types of fungi which cause fungal mastitis in-vitro

Adel K. Khalaf , Ammar H. Salman and Salah M. Ashoor
Collage of Veterinary Medicine– University of Al-Anbar

Abstract

In this study the antifungal activity alcoholic extract of resin produced by the plant Boswellia carterii was evaluated on two types of fungi isolated from milk of cows infected with mycotic mastitis: Aspergillus niger and Blastomycis dermatidis compared with some potent antifungal drugs : Nystatin, Clotrimazol and Tolnaftate. seven concentrations of the plant extract and antifungal drugs were used (5,10,15,25,50,75,100 mg/ml). the plant extract showed antifungal activity against both types of fungi elicited by decrease in the diameter of their growth zone inversely related with increasing concentrations of the extract.

المقدمة

يندرج تحت جنس Boswellia (عائلة Burseraceae) عدد من الأنواع الواسعة الانتشار حول العالم، حيث يوجد حوالي 23 نوع من الأشجار الصغيرة التي تنمو بصورة رئيسية في الجزيرة العربية والشاطئ الشرقي لإفريقيا والهند تنتمي لهذا الجنس، اللبان الذكر هو صمغ ينتج من خلال شق جذوع أشجار هذا النوع ثم يجف ويجمع (1)، للبان الذكر استخدامات طبية عديدة حيث إن الكثير من الدراسات أشارت إلى فعاليته المضادة للالتهاب anti inflammatory والمضادة لليكوترين anti leukotriene (2) والمضادة للإنزيمات المحللة للأستيل كولين anti acetylcholine esterase (3) والمضادة للسرطان (4). وتبعاً للدراسات المنشورة فإن للبان الذكر فعالية مضادة للبكتريا والفطريات (5). إن نوع اللبان الذكر المستخدم في الدراسة هو

النوع المنتج من نبات *Boswellia carterii* الذي ينمو في جنوب الجزيرة العربية حيث يستورده العراق من اليمن وعمان. ويحتوي اللبان الذكر في تركيبه الكيميائي على مواد فينولية وتريبنية إضافة إلى مواد أخرى. إن مضادات الفطريات المستخدمة في الدراسة لغرض المقارنة تعود إلى عوائل مختلفة من مضادات الفطريات حيث إن Nystatin مصنف ضمن عائلة Polyene macrolide وهو مضاد واسع الطيف يستعمل كثيرا في علاج Muco-cutaneous candidiasis وهو فعال أيضا في علاج بعض أنواع الخمائر والفطريات، ويعود Clotrimazol إلى عائلة Imidazol وهو أيضا مضاد فطري واسع الطيف ويستعمل في علاج candidiasis and dermaotphytosis كما انه يستعمل في حالة الإصابة بالفطريات الجهازية وإن أفراد من هذه العائلة تستخدم لعلاج الـ Aspergillosis والـ pencillinium. ويصنف Tolnaftate ضمن عائلته thiocarbamate وهو واسع الطيف ويستعمل في علاج الفطريات الجلدية (6).

إن التهاب الضرع يعد من أكثر الأمراض شيوعا في الأبقار البالغة الحلوبة وتصل نسبة الإصابة به إلى 38% وإن 1% من الأبقار المصابة تموت بسبب المرض وإن 25% من الخسائر الاقتصادية بسبب الأمراض تعود إلى التهاب الضرع وهناك ما يقرب من 30 نوع من الخمائر والفطريات تسبب التهاب الضرع الفطري (7). وقد أجريت هذه الدراسة لتقييم فعالية اللبان الذكر ضد الجراثيم والتي ذكرتها بعض مصادر الطب البديل خصوصا وأنه من الأدوية النباتية المستخدمة بكثرة في العراق.

المواد وطرائق العمل

أولاً:- تحضير الخلاصة الكحولية

تم الحصول على صمغ اللبان الذكر *Boswellia carterii* من السوق المحلية. طحن اللبان الذكر وحفظ النموذج المطحون في عبوات زجاجية محكمة الغلق ومعتمة لحين تحضير الخلاصة الكحولية والذي تم بنقع اللبان المطحون في وعاء يحتوي على الكحول الإيثيلي 96% وترك لمدة أسبوعين مع التحريك بواسطة خلاط كهربائي ثم تم ترشيحه بواسطة ورق الترشيح ثم تبخير الكحول بواسطة جهاز التبخير الدوار Rotary evaporator.

ثانياً:- إضافة الخلاصة النباتية وزرع الفطريات

تم عزل وتشخيص الفطريات من حليب أبقار مصابة بالتهاب الضرع الفطري في مختبر التشخيصات المرضية في كلية الطب البيطري /جامعة الأنبار وهي: *Aspergillus niger* و *Blastomycis dermatidis*. تم إضافة التراكيز التالية: 5،10،15،25،50،75،100 ملغم/ ملتر إلى الوسط الزرعي السبارود-دكستروز من كل من الخلاصة النباتية والأدوية المضادة للفطريات. ثم صب الوسط الزرعي في أطباق بتري بعد إضافة 0.05 غم/لتر من الكلورامفينيكول لمنع نمو البكتيريا، وضعت الأطباق في الثلاجة لحين تصلب الأوساط الزرعية، بعد ذلك أخذ loop full من كل فطر ووضعت على سطح الوسط الزرعي في وسط الطبق ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة (37م) لمدة (5) أيام (8). بعد ذلك تم قياس قطر منطقة نمو الفطر بالمليمتر وقد استخدمت (5) أطباق لكل تركيز من المستخلص لكل من الفطريات والأدوية المضادة للفطريات.

تم إجراء التحاليل الإحصائية اللازمة حيث تم احتساب معدل قطر مناطق النمو واحتساب (SE) وإجراء (F-test/2way analysis) و (LCD) للمقارنة بين فعالية الخلاصة النباتية ومضادات الفطريات.

النتائج والمناقشة

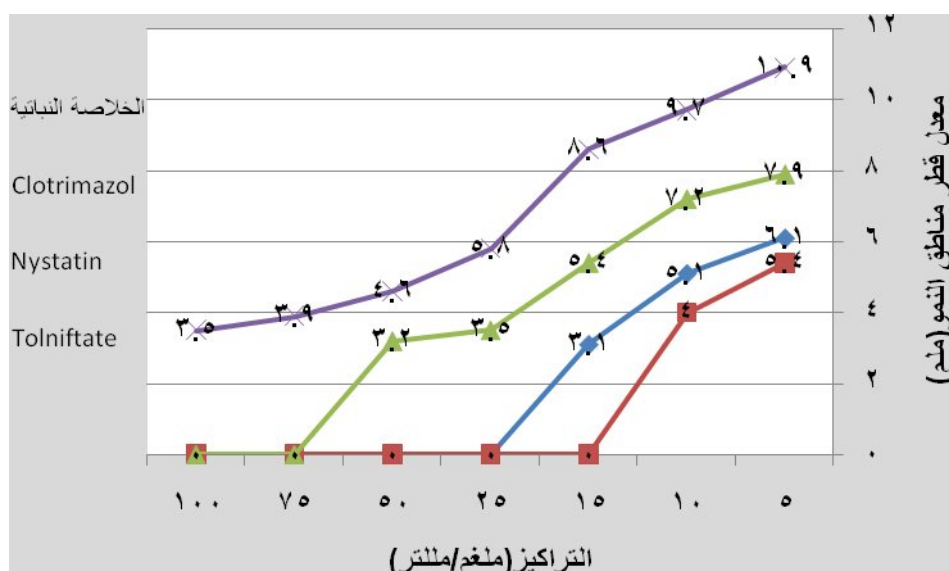
أظهرت النتائج وجود فعالية لخلاصة نبات *Boswellia carterii* ضد فطر *Aspergillus niger* وبلغت معدلات قطر منطقة نمو الفطر في الزجاج: 0,0,0,0,3.1,5.1,6.1 ملليمتر للتركيز 100,75,50,25,15,10,5 ملغم/مللتر على التوالي في حين تباينت فعالية مضادات الفطريات المختلفة المستخدمة فيما بينها (جدول رقم 1).

جدول (1) تأثير خلاصة صمغ نبات *Boswellia carterii* والأدوية المضادة للفطريات على نمو فطر *Aspergillus niger* في الزجاج (بالمليمتر) والخطأ القياسي

| التركيز ملغم/مللتر | 100 | 75 | 50 | 25 | 15 | 10 | 5 | الدواء |
|-----------------------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|-----------|--------|
| الخلاصة النباتية* | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.1±0.24 | 5.1±0.24 | 6.1±0.33 | |
| Clotrimazol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4±0 | 5.4±0.29 | |
| Nystatin | 0 | 0 | 3.2±0.12 | 3.5±0.43 | 5.4±0.29 | 7.2±0.12 | 7.9±0.24 | |
| Tolnaftate | 3.5±0.15 | 3.9±0.1 | 4.6±0.18 | 5.8±0.12 | 8.6±0.1 | 9.7±0.25 | 10.9±0.18 | |

* وجود فرق معنوي بين الخلاصة والأدوية المضادة للفطريات المستخدمة (P≤0.05)

ويظهر لنا المخطط رقم (1) إن العلاقة بين نمو الفطر والتركيز المستخدمة كانت عكسية لكل من الخلاصة النباتية والأدوية حيث إن نمو الفطر كان يتناقص بازدياد التركيز المستعملة ولم يكن هناك نمو للفطر ابتداءً من التركيز 25 ملغم/مللتر فأكثر بالنسبة للمستخلص الكحولي.



مخطط (1) العلاقة العكسية بين نمو فطر *Aspergillus niger* وتركيز خلاصة صمغ نبات *Boswellia carterii* والأدوية المضادة للفطريات المستخدمة

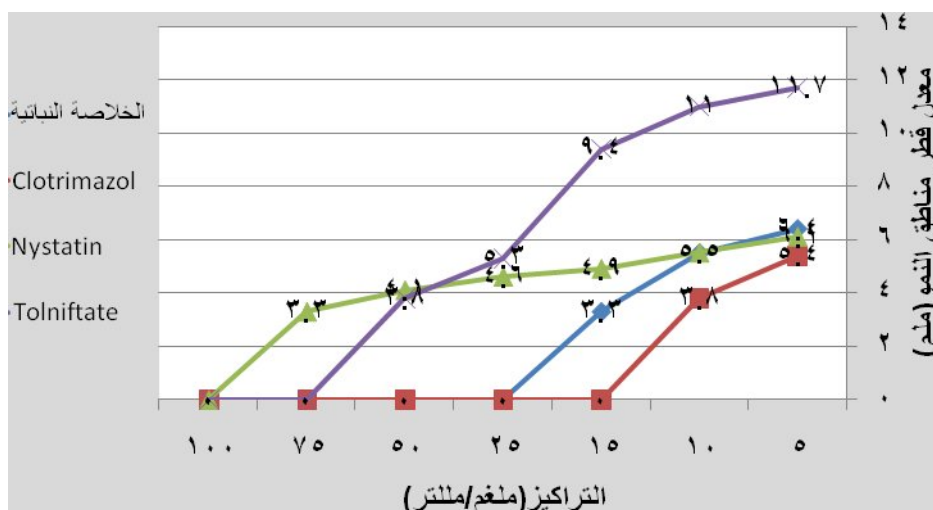
كان تأثير الخلاصة النباتية ضد فطر *Blastomycis dermatidis* مقاربا لتأثيرها على فطر *Aspergillus niger* حيث بلغت معدلات نمو الفطر: 0,0,0,0,3.3,5.5,6.4 مللتر للتركيز 100,75,50,25,15,10,5 ملغم/مللتر على التوالي، في حين اختلفت فعالية الأدوية المضادة للفطريات من دواء إلى آخر (جدول رقم 2).

جدول (2) تأثير خلاصة صمغ نبات *Boswellia carterii* والأدوية المضادة للفطريات على نمو فطر *Blastomycis dermatidis* في الزجاج (بالمليتر) والخطأ القياسي

| التركيز ملغم/مللتر | 100 | 75 | 50 | 25 | 15 | 10 | 5 | الدواء |
|-----------------------|-----|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|--------|
| الخلاصة النباتية* | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.3± 0.2 | 5.5±0.22 | 6.4± 0.24 | |
| Clotrimazol | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.8±0.46 | 5.4± 0.24 | |
| Nystatin | 0 | 3.3±0.12 | 4.1±0.18 | 4.6±0.18 | 4.9± 0.1 | 5.5±0.15 | 6.1± 0.1 | |
| Tolnaftate | 0 | 0 | 3.8±0.12 | 5.3± 0.2 | 9.4±0.18 | 11± 0.15 | 11.7±0.37 | |

* وجود فرق معنوي بين الخلاصة والأدوية المضادة للفطريات المستخدمة (P≤0.05)

يبين المخطط رقم(2) أدناه العلاقة العكسية بين نمو الفطر والتركيز المستخدمة في الدراسة حيث انخفضت معدلات نمو الفطر بازدياد التركيز المستخدمة ولم يكن هناك نمو للفطر ابتداءً من التركيز 25 ملغم/مللتر فأكثر للمستخلص الكحولي.



مخطط (2) العلاقة العكسية بين نمو فطر *Blastomycis dermatidis* وتركيز خلاصة صمغ نبات *Boswellia carterii* والأدوية المضادة للفطريات المستخدمة

وأظهرت النتائج إن أفضل فعالية بين الأدوية المستخدمة في الدراسة كان Clotrimazol وهذا يدل على سبب استعمال هذا الدواء وباقي أفراد العائلة التي ينتمي إليها في علاج الإصابات الفطرية الجهازية كما ان

لها فعالية واضحة ضد Aspergillus Spp (6) ، في حين كان Nystatin ذو فعالية ضعيفة ضد الفطريات المستخدمة في الدراسة وهذا ربما يدل على إن فعاليته عالية ضد الفطريات الجلدية وخصوصا candidacies وليست الجهازية(6)، في حين كانت فعالية Tolnaftate مقارنة لفعالية Nystatin لكونه اثبت فعالية ضد الفطريات الجلدية وليس الجهازية(6).

وأظهرت التحاليل الإحصائية وجود فرق معنوي عالي عند احتمال ($P \leq 0.05$) بين قطر نمو الفطريات في الدراسة وتأثرها بخلاصة نبات Boswellia carterii الكحولية وبين الأدوية المستعملة وكذلك فيما بين الأدوية المضادة للفطريات.

هذا وقد تعزى الفعالية المضادة للفطريات للخلاصة النباتية إلى احتواء اللبان الذكر على مركبات مونوترين ودايتربين وسيكوتربين (15) والتي تم تحديد وجودها من قبل (11) . وأشار (12) إلى احتواء اللبان الذكر على Boswellic acid الذي يتضمن في تركيبه الكيميائي مواد فينولية وهذه المواد معروفة بفعاليتها المضادة للجراثيم (13) في حين أشار (5) إلى احتواء اللبان الذكر على مواد مثل 12diene، 24-cembrene A، incenole acetate، norura-3 يفسر فعاليته المضادة للجراثيم. إن نتائج هذه الدراسة تتفق مع ما ذكره كل من (1) و(13) و(10) و(11).

إن وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) بين تأثير الخلاصة النباتية والأدوية المستعملة يشير إلى فعالية واضحة للبان الذكر وربما هذا يفسر سبب استخدام اللبان الذكر بطريقه التبخير بعد ظهور الأوبئة في العصور القديمة (14) (15).

المصادر

- 1- Gangwal M.L. and vadhan D.K., (1995), Antifungal studies of volatile constituents of Boswellia serrata. Asian J.Chem.7:675-678.
- 2- Ammon H.P.T.; Singh T.and Safaghi H., (1991), Inhibition of leukotriene B4 formation in rat peritoneal neutrophils by an ethanolic extract of the gum resin exudates of Boswellia serrata. Planta Medica. 57:203-207.
- 3-Nasser A.; Awadh ٍA.; Martina W.; Norbert A.; Axel T.; Jurgen S.; Ulrike L. and Ludger W.,(2006), Chemical composition and biological activities of essential oils from oleogum resins of three endemic soqtraen Boswellia species . Record of Natural Product 2:1،6-12.
- 4-Akihisa T.; Tabata K.; Banno N.; Tokuda H.; Nishimura R.; Nakamura Y.; Kimura Y.; Yasukawa K. and Suzuki T.,(2006), Cancer chemo preventive effect and cytotoxic activity of the triterpene acids from the resin of Boswellia carterii . Biol. Pharm. Bull. 29:1926- 1996.
- 5-Basar S., (2005) , Phytochemical investigation on Boswellic species: comparative studies on the essential oils ، pyrdystes and Boswellic acids of Boswellia carterii Birdw, Boswellia serrata Roxb. Boswellia frereana Birdw. Boswellia neglecta S.moor and Boswellia rivae ، PhD. Thesis, University of Hamburg,(Engl.).
- 6-Merck C.O.,(2005), The MERCK veterinary manual ,Ninth edition, Pharmacology, National publishing, INC,USA
- 7-Bradford P. S.,(2002), Large Animal Internal Medicine, chapter 12, Mosby, USA, pp:1019 و1028.

- 8-Personal contact to Dr. (M.K.Faraj), College of Veterinary Medicine-University of Baghdad, 27/5/2009 .
- 9-Abdulwahab S.M.; Aboutalb E.A.; El-Zalabani S.M.; Fouad H.A.; Depooter H.L. and El-Fallaha D., (1987), The essential oil of olibanum, *Planta Medica*, 53:382-384.
- 10-Ramzi A.M.; Ulrike L.; Renate G. and Patrick J.B.,(2009) Studies of the in-vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants from the island Soqotra.*BMC Compl. and Altern. Med.*,9:7.
- 11-Camarda L.; Dayton T.; Di Stefano V.; Pitzonzo R. and Schihhaci D., (2007), Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oil from *Boswellia* spp.(*Burseraceae*)*Ann. Chim*,97:837- 844
- 12-Buchele B.; Zugnaier W., and Simmet T., (2003), Analysis of pentacyclic triterpenic acids from frankincense, gum resins and related phyto pharmaceutical by HPLC. *J. Chromatogr. B.*,791:21-30.
- 13- Mothana R.A.A. and Lindequist U.,(2006), Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra, *J. Ethnopharmacol.*,96:177-181
- 14-Gupta I.; Gupta V.; Parihar A.; Gupta S.; Ludtke R.; Safayhi H. and Ammon H.P., (2000), Effect of *Boswellia serrata* gum resin in patients with bronchial asthma, *Eu. J. Med. Res.*;3:511-14.
- 15-جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988)، النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي، الطبعة الأولى - الخرطوم ، دار مصر، للطباعة، 176-177.