الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية التثبيطية للمستخلص الفينولي للعلك المر *Boswellia carterii* ضد بعض البكتريا المرضية

آمال كاظم غضبان عالية زيارة هاشم فليحة حسن حسين

قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة / جامعة البصرة

المستخلص

حضر مستخلص العلك المر *Boswellia carterii* بإجراء الاستخلاص بالماء البارد والحار والمذيبات العضوية الميثانول والايثانول والأسيتون . أظهرت الدراسة النسب المئوية لبعض مكونات العلك المر 8.07% رطوبة و1.96% رماد و17.8% بروتين و20.7% زيوت طيارة أما محتوى المركبات الفينولية فكان (5.68و 5.28و 1.048و 1.032 و 0.208) ملغم / غم لكل من المستخلص الميثانولي والمائي الحار والمائي البارد الاسيتوني والايثانولي على التوالي .اختبرت القدرة التثبيطية للمستخلصات ضد بعض أنواع ا لبكتريا المرضية وقد تفوق المستخلص المائي الحار إذ اظهر تثبيطاً كلياً 100% ضد بكتريا *Salmonella typhi* وتثبيط بكتريا *Micrococcus roseus* بنسبة 87.65% تلاه المستخلص الايثانولي الذي اظهر أعلى تثبيط ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* بنسبة98.8% و98.57% على التوالي ، وبعده المستخلص المائي البارد إذ كان أعلى تثبيط ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والذي بلغ 96.4% و *Staphylococcus aureus* بنسبة 88.97% وبعده المستخلص الميثانولي الذي اظهر أعلى تثبيط ضد بكتريا *B.subtilis* والذي بـلغ 98.07% ثم بكتـريـا *S. typhi* بنسبة 85.81% أما المستخلص الاسيتوني فكان اقلها تثبيطاً. أما أدنى تركيز مثبط للمستخلص الفينولي للعلك المر فكان 20ملغم / مل ضد بكتريا *B.subtilis* و40 ملغم/ مل ضد بكتريا *E. coli* و *P.aeruginosa*.. درس الفعل المضاد للأكسدة للمستخلص الفينولي للعلك المر وقد اظهر فعالية مضادة عند تركيز 0.02 مايكروغرام/ مل إلا إنها اقل من تلك للمادة المضادة للأكسدة الصناعية(Butylated Hydroxy Toluene (BHT.أخيرا تم تشخيص المركبات الفينولية الفعالة في المستخلص الفينولي بتقنية GC-MS **وهي** BHT ,1- Methyl-3,3- diphenylurea, 1,2- Dipheny 1-1-isocyanoethane, Benzene,1,1-(1,2-cyclobutanediyl) bis-,trans,Benzenonitrile, m-phenethy,(2,3-Diphenylcyclopropyl) methyl phenyl sulfoxide-trans, 1-Propene,3-(2-cyclopentenyl)-2-methyl-1,1-diphenyl. .

The antioxidation and the antimicrobial activity of phenolic extract of myrrh gum *(Boswellia carterii)*

***Amal,K.Ghadban **Alia,Z.Hashim ***Faleeha,H.Hussain**

Department of Food Science / College of Agriculture/ University of Basra

*** amalbasrah@gmail.com , ** alia_79@yahoo.com , *** fal14has@yahoo.com**

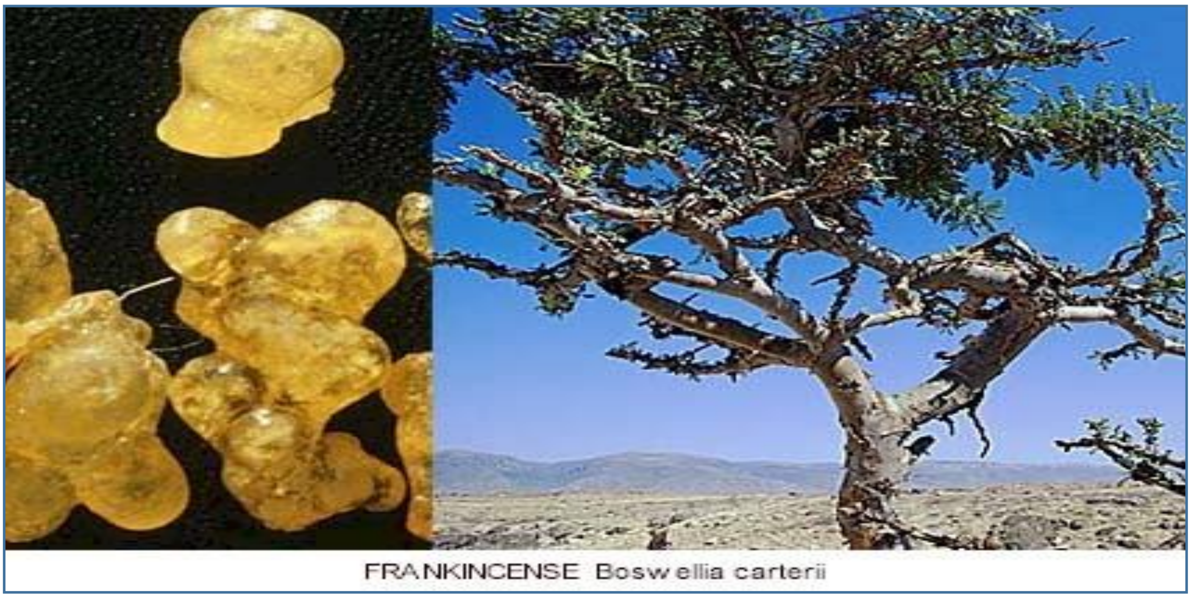
Abstract

The extract of the myrrh gum(*Boswellia carterii)* were prepared by extraction in cold water, hot water and organic solvent(methanol, ethanol and acetone).The percentage of some components of myrrh gum showed that 8.07% moisture,1.96% ash ,17.8% protein and 20.7% volatile oil. The total phenolic compounds contain(5.68, 5.28,1.048, 1.032 and 0.208) mg/g in methanolic ,hot water, cold water, acetonic and ethanolic extracts respectively. The inhibitory activity of these extracts were tested against some pathogenic bacteria, the hot water extract showed highest inhibitory 100% against *Salmonella typhi* and 87% against *Micrococcus roseus*. The ethanolic extract showed higher inhibition against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* 98.8% and 98.57% respectively. The cold water extract showed higher inhibition against *Pseudomonas aeruginosa* 96.42% and 88.97% against *Staphylococcus aureus* ,the ethanolic extract showed high inhibition 98.07% against *B.subtilis* and 85.81% against *S. typhi* but the acetonic extract was showed low inhibition. The MIC of the phenolic extract was 20 mg/ml against *B.subtilis* and 40 mg/ml against *P. aeruginosa* and *E. coli*. The antioxidant of phenolic extract of *Boswellia carterii* was studied and showed antioxidation activity at 0.02 mg/ml but less than the industrial antioxidant(BHT). Finally the active phenolic compounds in the phenolic extract were identified by GC-MS technology, the most important compounds were: BHT, 1-Methyl-3,3-diphenylurea, 1,2- Dipheny 1-1-isocyanoethane, Benzene,1,1-(1,2 – cyclobutanediyl) bis- ,trans,Benzenonitrile, m-phenethy,(2,3-Diphenylcyclopropyl) methyl phenyl sulfoxide – trans, 1-Propene,3-(2-cyclopentenyl)-2-methyl-1,1- diphenyl.

Key words: Myrrh, gum, extraction, antioxidant, antimicrobial, GC-MS

المقدمة

إن سيل العقاقير والعلاجات من النباتات كان ولايزال مصدرا مهما لاسيما في الدول المتطورة (32) ، ويعد العلك المر *Boswellia carterii* من النباتات الطبية المهمة والواسعة الانتشار في العالم ،فقد عرف اللبان أو العلك المر منذ عصور ما قبل الميلاد ، إذ اعتمدت تجارته في حضارات قديمة . اشتق اسم اللبان من اللبن (لبن الشجرة) إذ تحتوي شجرة اللبان على غدد لبنية تفرز مادة (الراتنج) الصمغية (2). إذ إن حوالي 60- 80% من سكان العالم لا زالوا يستعملون الأدوية التقليدية في علاج العديد من الأمراض (13 و18)، وحوالي 60-90% من المرضى المصابين بالتهاب الشرايين يستعملونها بشكل متمم أو كعلاج بديل (35).



شكل (1) شجرة نبات العلك المر وبلورات راتنج المير بعد تصلبه

يوجد نبات العلك المر Boswellia carterii و Commphora myrrhaفي بعض بلدان أفريقيا والتي تعد الموطن الأصلي له كأثيوبيا وكينيا وكذلك في الدول العربية مثل الصومال واليمن وعمان كما يوجد في الهند. ينتج هذا النبات راتنج صمغي أصفر غير متطاير يعرف بالمير Myrrh وهو مشتق ن كلمة عربية أو Hebrew وتعني مر bitter، والمير العربي أو الصومالي هو راتنج صمغي يتم الحصول عليه من لحاء أنواع عديدة من نبات الكوميفورا (Burseraceae) وهذا السائل اللزج المصفر يتصلب بسرعة الى بلورات ماسية ذات لون بني محمر. للمير استعمالات متنوعة فهو يدخل كمضاف للأغذية وفي صناعة العطور وفي الطب الشعبي لعلاج مشاكل المعدة والإسهال وعلاج التهاب الفم والتهاب اللثة وصعوبة التنفس وعلاج الجروح والجلد وآلام الصدر ومقوي للذاكرة.يتضمن الراتنج الصمغي (المير) العديد من المكونات : 9-17% زيت طيار(زيت أساسي essential oil)، 20-40% راتنج ذائب بالكحول ، وحوالي 30-60% راتنج ذائب بالماء. إن الزيت الطيار يحتوي على العديد من المركبات الطيارة مثل eugenol و cuminaldehyde و acadinene وغيرها(5). وأشارت دراسات عديدة أن الزيوت الأساسية لأنواع الكوميفورا تكون غنية بمركبات furanosesquiteterpenoides وتحتوي بشكل كلي على 20 مركب مختلف وتمتلك هذه المركبات في

المستخلص الخام على فعالية مضادة للبكتريا والفطريات ومضادة للأكسدة و مضادة للسرطان وتحمي القلب وتقاوم انخفاض مستوى الأنسولين ولها فعل مخدر، كما يحتوي راتنج المير على السيترويدات مثل guggusterol I ,II ,III (15و25 و39).يوضح الشكل (2 أ) الزيت الطيار للراتنج الصمغي،وقد أوضحت العديد من الدراسات السريرية أن السيترويدات النباتية تلعب دوراً كمضادات للالتهابات ويحتوي راتنج المير على أحماض الكوميفورا ألفا وبيتا وغاما وهذه تتضمن العديد من السكريات المتعددة الحامضية والتي تضم ضمن وحداتها الأساسية سكر الكالاكتوزوالزايلوز و أورثو 4- مثيل حامض الكلوكونيكوالأرابينوز، كما يحتوي راتنج المير على 18-20% بروتين (27).إن المادة العالية اللزوجة Mucilage هي مادة ثخينة تتكون بفعل الاصماغ الطبيعية والبروتين والسكريات المتعددة واليورانيدات وتمتاز بكونها تنتفخ لكنها لاتذوب بالماء وهذا ما جعلها تستعمل في مستحضرات التجميل منذ القدم والى اليوم. إن الأنواع المختلفة من راتنجات الكوميفورا غالباً ما تخلط كعينات تجارية وتستعمل في الصناعة(15) كما في الشكل(2ب).

شكل (2) أ- الزيت الطيار للراشح الصمغي (المير) ب-أنواع مختلفة من راتنجات الكومفورا كعينات تجارية

إن المركبات المضادة للميكروبات المشتقة من النباتات تمتلك قدرة على تثبيط الأحياء المجهرية بآليات مختلفة وتستعمل كمضاد حيوي ،وقد ازداد الاهتمام بها نظراً لزيادة مقاومة الأحياء المجهرية المرضية للمضادات الحيوية التي كانت قبل عدد من العقود هي الحل الأفضل (18) .فقد لوحظ في السنوات الأخيرة وبشكل مفاجئ زيادة مقاومة البكتريا وعدم تأثرها بالعلاجات بالمضادات الحياتية (040). لذا برزت الحاجة الى استعمال العديد من المستخلصات النباتية والوصفات العشبية كعلاج بديل وآمن واقتصادي لعلاج الحالات المستعصية للعلاج بالمضادات الحيوية .

هناك العديد من مضادات الأكسدة التجارية منها BHA,BHTوالتي تكون خطرة الى حد لا يضطر الى استعمالها في الغذاء (28) لذا بات ضرورياً البحث عن مضادات أكسدة طبيعية تمتلك زيادة معنوية في السنوات الجارية لان الأكسدة تسبب إمراض للإنسان كالسرطان والتهاب المفاصل وتصلب الشرايين وغيرها (24و34)، ويتركز الاهتمام على الجذور الحرة وكفاءة تسربها أو تحررها وبالتالي تسبب أمراضا مزمنة للإنسان فقد وصف Methew and Abraham (29) مضادات الأكسدة بأنها مركبات فينولية تؤدي دورا مهما في الحماية من الآثار السلبية للجذور الحرة

وفصائل الأوكسجين الفعالة وبذلك توفر حماية ضد أكسدة الغذاء فضلا عن عملها كمضادات أكسدة داخل الجسم *Invivo*. تمثل مضادات الأكسدة صنفاً من المركبات الكيميائية الواسعة الانتشار في الطبيعة التي تمتلك ميكانيكيات عمل متنوعة والميكانيكية الأكثر أهمية هي تفاعلها مع الجذور الحرة في الدهون وتكوين نواتج مستقرة وغير فعالة(33) . ونظرا لعدم وجود دراسة مفصلة في العراق عن العلك المر وأهم مركباته الفعالة ، لذا هدفت الدراسة الى تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص العلك المر ضد بعض أنواع البكتريا ودراسة فعله المضاد للأكسدة وتشخيص أهم مركباته الفعالة.

المواد وطرائق البحث

العينات:

جلبت عينات العلك المر (الأبيض المصفر) من السوق المحلية في لمدينة البصرة ، وقد تم تنظيف العينات وسحقها وطحنها بمطحنة كهربائية ودراسة تركيبها الكيميائي من رطوبة ورماد وبروتين بأتباع الطريقة الواردة في (10). أما الزيوت الطيارة استخلصت بطريقة التقطير المائي كما في طريقة (1و3).

تحضير المستخلصات:

المستخلص المائي: حضرت المستخلصات المائية بطريقتين :

الاستخلاص بالنقع في الماء البارد:

أجريت عملية الاستخلاص وفقا للطريقة المذكورة من قبل (8) إذ أضيف 20 غم من المادة المطحونة الى 200 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي وترك على المسخن الدوار Magnetic stirrer عند درجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة، رشح المستخلص باستعمال أوراق ترشيح Whatman No.1، ركز الراشح بالمبخر الدوار Rotary evaporator وبعد الحصول على المستخلص حضر المستخلص النهائي بإذابة 0.15 غم في 1مل من الماء المقطر المعقم ووضع في قناني بلاستيكية وترك في الثلاجة لحين الاستعمال .

لاستخلاص بالغليان:

حضر حسب طريقة (9) بإضافة 20غم من المادة المطحونة الى 200مل من الماء المقطر وغلي لمدة خمس ،رشح المستخلص باستعمال أوراق ترشيح Whatman No.1 ، ركز الراشح بالمبخر الدوار وبعد الحصول على المستخلص حضر المستخلص النهائي بإذابة 0.15 غم من مسحوق المستخلص في1مل من الماء المقطر المعقم وحفظ في قناني بلاستيكية في الثلاجة لحين الاستعمال.

المستخلصات الكحولية :

حضرت وفقا لطريقة(8) بإذابة 20 غم من المسحوق في 200مل من الكحول بتركيز 70% كررت الخطوات السابقة الموضحة في تحضير المستخلصات المائية.

تقدير الفينولات الكلية :

قدر المحتوى الكلي للفينولات لكل من المستخلصات المائية والكحولية وفقا للطريقة الموضحة من (36) وذلك بأخذ 0.125 مل من المستخلصات المائية والكحولية المحضرة بتركيز 0.15 غم / مل وأضيف له 0.5 مل من الماء المقطر و0.125 مل كاشف فولن Folin- Ciocalteu، خلط المزيج جيدا وترك لمدة 6

دقائق بعدها أضيف1.25 مل كاربونات الصوديوم بتركيز 7% وخفف الخليط بالماء المقطر الى 3 مل وترك لمدة 90 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة مع التحريك المستمر ثم قيس الامتصاص الضوئي بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 760 نانومتر ، استخرجت النتائج من المنحنى القياسي لحامض الجاليك Gallic acid .

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

يؤخذ 1مل من كل مستخلص ويضاف له 1مل حامض اللينوليك و2مل محلول منظم و1مل ماء مقطر وتحضن بصورة معتمة داخل حاضنة على درجة حرارة 40 م لمدة24 ساعة بعد التحضين يؤخذ 0.1 مل من الخليط ويضاف له 9.7 مل كحول اثيلي بتركيز 75% و 0.1 ثايوسينات الامونيوم بتركيز 30% ويضاف له 0.1 كلوريد الحديدوز ثم يقاس الامتصاص على طول موجي 500 نانومتر.

الاختبارات البكتريولوجية :

العزلات البكتيرية المستعملة في اختبار فعالية التثبيط:

تضمنت بكتريا الاختبار ستة أنواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهي *Staphylococcus Escherichia coli, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, aureus, Salmonella typhi* و*Micrococcus roseus* والتي تم الحصول عليها من قسم علوم الأغذية ،كلية الزراعة، جامعة البصرة إذ تم تنشيط المزارع وحضرت سلسلة من التخافيف المناسبة لها قبل الاختبار حسب(11).

اختبارالتاثير التثبيطي لمستخلصات العلك المر حسب طريقة (11) :

أخذ 100 مايكرولتر من التخفيف 10^{-5} للعالق البكتيري وأضيف له 100مايكرو لتر من المستخلص بتركيز 0.15 غم/ مل وفي الوقت نفسه عملت عينة سيطرة (بدون المستخلص) ثم صب الوسط الزرعي Nutrient Agar في أطباق بتري وحركت الأطباق وتركت لتتصلب كما استعملت طريقة النشر للعالق البكتيري على سطح الوسط الزرعي ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 م لمدة 24 -18ساعة .بعد التنمية حسبت المستعمرات النامية وطبقت المعادلة الآتية لحساب النسبة المئوية للتثبيط:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{عدد البكتريا النامية في طبق السيطرة بدون مستخلص} - \text{عدد البكتريا النامية في الطبق المضاف له المستخلص}}{\text{عدد البكتريا النامية في طبق السيطرة (بدون مستخلص)}} \times 100$$

تقدير أدنى تركيز مثبط للمستخلصات (MIC):

أذيب 40 ملغم من المستخلص الفينولي المحفوظ في الثلاجة في 1مل ماء مقطر معقم وحضرت التخافيف2.5 ،5،10،20،40 ملغم/ مل وكما في الطريقة السابقة استعمل 100 مايكرولتر من كل تخفيف.

تشخيص المركبات الفينولية بتقنية GC-MS:

شخصت المركبات الحلقية في المستخلص الفينولي للعلك المر بوساطة تقنية كروموتوكرافيا

في مختبر GC/MS كلية الزراعة / جامعة البصرة .

النتائج والمناقشة

توضح نتائج جدول(1) بعض مكونات المادة الصمغية للعلك المر ، إذ احتوت هذه المادة على نسبة بروتين 1.76%وزيوت طيارة 20.7%.

أما نسبة الرطوبة 8.07%والتي كانت اقل مما توصل إليه (7)عند دراستهم للعلك المر *Boswellia serratia* ،إذ وجدوا إن نسبة الرطوبة تراوحت ما بين 10-11% أما بالنسبة الى الرماد فبلغت نسبته 1.96% يعود التنوع في التركيب الكيميائي الى تنوع المادة الصمغية للعلك المر واختلاف أماكن تواجد النبات في دول العالم.

جدول(1) بعض مكونات العلك المر المستعمل في الدراسة الحالية

المكون	الكمية غم/100غم
رطوبة	8.07
رماد	1.96
بروتين	17.8
زيوت طيارة	20.7

محتوى الفينولات الكلية:

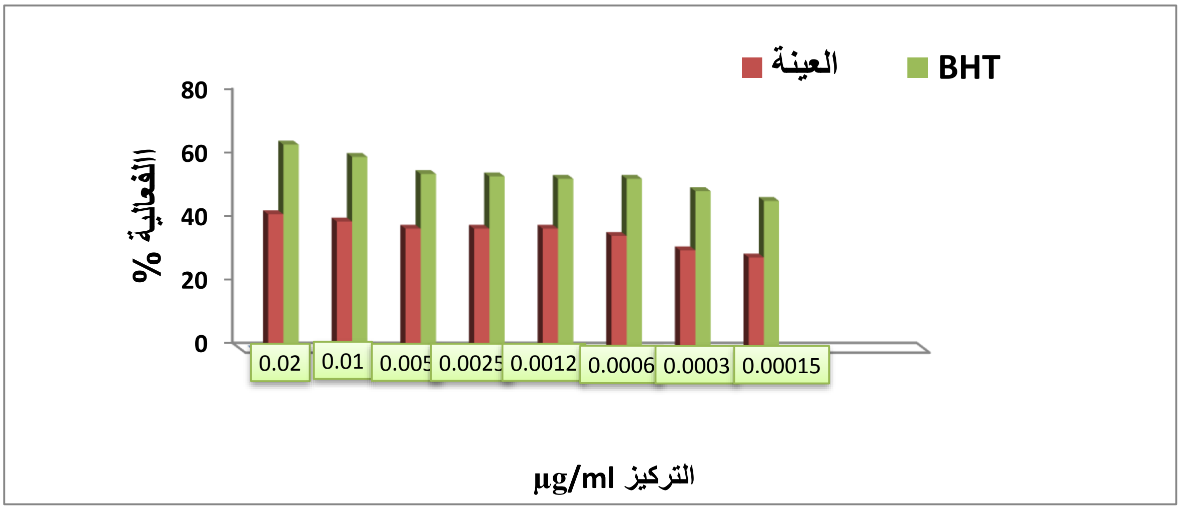
تبين النتائج في جدول(2) إن المحتوى الكلي للفينولات تباين بتباين طريقة الاستخلاص ونوع المذيب المستعمل. فالمستخلص المائي اثر في قيمة المركبات الفينولية إذ ازدادت هذه المركبات عند تحضير المستخلص مائيا بطريقة الغلي مقارنة بطريقة النقع إذ بلغت قيم الفينولات الكلية (5.28و 1.048) ملغم/ غم للحار و البارد على التوالي. وفي الوقت ذاته تفوقت كلتا الطريقتين في قيم الفينولات الكلية على طريقة الاستخلاص الكحولي بالأسيتون والايثانول والتي بلغت (1.032و0.208) ملغم/ غم على التوالي .في حين تقاربت قيمة المركبات الفينولية بالمستخلص المائي الحار مع تلك للمستخلص الميثانولي من هذا يتبين إن المستخلص الميثانولي يحتوي علي أعلى كمية من الفينولات الكلية والتي بلغت 5.68 ملغم/ غم. وقد يعود سبب ذلك قدرة الميثانول العالية في استخلاص المركبات الفينولية من المواد النباتية وهذا ماأكده (30) ،كما يعود الى طبيعة المركبات المفصولة والى نوع وقطبية المذيبات المستعملة في الاستخلاص (17و26) تؤدي المركبات الفينولية دورا مهما في نمو وتكاثر النباتات فضلا عن أنها تحميها من الإصابة بالأمراض وبالتالي تعد عوامل مقاومة طبيعية للنباتات (16) ، وان لموقع وعدد مجاميع الهيدروكسيل في الفينولات علاقة مع الفعالية المضادة لهذه المركبات تجاه الأحياء المجهرية والفعالية المضادة للأكسدة (20). وان دور المركبات الفينولية كمضادات أكسدة طبيعية ناشئ عن خصائصها في الأكسدة والاختزال Redox Properties وبالتالي تعد أما عوامل مختزلة أو مانحة للهيدروجين كذلك قدرتها على إخماد الجذور الحرة (23) ،والتي تتضمن إضافة ذرة الهيدروجين وجعل تلك الجذور في حالة مستقرة غير فعالة Hydroquinane (31).

جدول (2) محتوى الفينولات الكلية للعلك المر

المستخلص	الفينولات الكلية ملغم/غم
مائي بارد	1.048
مائي حار	5.28
ايثانولي	0.208
اسيتوني	1.032
ميثانولي	5.68

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

قدرت فعالية المستخلص الفينولي كمضاد للأكسدة اعتمادا على العلاقة البيانية بين الامتصاص والتركيز ومقارنة هذه الفعالية مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT (الشكل3). إذ اظهر التركيز 0.02 مايكرو غرام/مل أعلى فعالية مضادة للأكسدة 42.73% واقل من مضاد الأكسدة الصناعي BHT.إن التركيب الكيميائي للعلك المر ساهم في امتلاكه الفعالية المضادة للأكسدة (6) إذ تتكون المادة الصمغية من مزيج من التربينات الأحادية والثنائية ومن السكريات الخماسية والسداسية مع مواد مؤكسده وإنزيمات هاضمة (14) من خلال هذه الدراسة تبين إن المستخلص الفينولي للعلك المر يمتلك فعالية مضادة للأكسدة في تنازعها أو تنافسها على الجذور الحرة معتمدة على التركيز المستعمل.



شكل (3) فعالية المستخلص الفينولي للعلك المر كمضاد أكسدة بالمقارنة مع مضاد الاكسدة الصناعي BHT .

التأثير التثبيطي لمستخلص العلك المر تجاه البكتريا المرضية:

يتضح من جدول (3)إن المستخلصات المائية والكحولية للمادة الصمغية للعلك المر تمتلك فعالية مضادة للبكتريا تباينت حسب نوع البكتريا وطريقة الاستخلاص .إذ وجد إن تأثير المستخلص الكحولي الايثانولي بلغ أعلاه(98.8و98.58 %) ضد بكتريا *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* وانخفض ليعطي اقل نسبة تثبيط 12.03% ضد بكتريا *Micrococcus roseus* بينما انعدم تأثير المستخلص في بكتريا *aeruginosa Pseudomonas*و *Salmonella typhi* . واختلف تأثير المستخلص الميثانولي إذ ارتفعت النسبة المئوية للتثبيط لتصل الى 98.07 % ضد بكتريا*Bacillus subtilis* واقل نسبة تثبيط 63.63% ضد بكتريا *Escherichia coli* في حين لم تظهر بكتريا *Micrococcus roseus* و*Pseudomonas aeruginosa* أي حساسية لهذا المستخلص .أما بالنسبة للمستخلص الاسيتوني يلاحظ إن بكتريا *Staphylococcus aureus* قد تثبطت بنسبة 88.28% أما بكتريا *Salmonella typhi* فكانت اقلها تحسساً إذ بلغت نسبة التثبيط 28.88 % كما لم تتأثر بكتريا *Bacillus subtilis* بهذا المستخلص.أما المستخلص المائي البارد فكان له التأثير الأكثر تجاه بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والذي بلغ 96.42% واقل تأثير كان تجاه بكتريا *Micrococcus roseus* بنسبة 21.87 % ولم يؤثر هذا المستخلص تجاه بكتريا *Bacillus subtilis* وأعطى المستخلص المائي الحار تثبيطاً تاماً تجاه بكتريا *Salmonella typhi* أي 100% واقل تثبيط كان 36.36 % ضد بكتريا *Escherichia coli* كما لم يؤثر في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وقد توافقت النتائج مع ما أكده (12) إن مستخلصات المادة الصمغية للعلك المر تكون فعالة ضد أنواع من البكتريا هي *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis*و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* لكون العلك المر يحتوي على مركبات كيميائية طبيعية مثل القلويدات والصابونيات والتانينات التي تعرف بفعاليتها المضادة للميكروبات (19) كما إن للسعة الاستخلاصية دورا مهما في التثبيط فقد يكون الاستخلاص المائي بالغليان حرر العديد من المركبات الفعالة ساهمت في الفعالية التثبيطية ،كما إن الزيوت الأساسية للمادة الصمغية تحتوي على مركبات طيارة معقدة وتمتلك عناصر تستعمل كعوامل بايولوجية لأجل الإصابة بالحشرات والفطريات (42) فهناك العديد من الدراسات التي تؤكد إن الزيوت من المحتمل أن تؤثر في منع انتشار الأحياء المجهرية (21).

إذ وجد .Schillaei *et al* (38) إن زيت العلك المر *Boswellia papyrifera* و *Boswellia rivae* يمتلك دوراً فعالاً في تثبيط *Staphylococci* واتفقت النتيجة مع (22) الذي وجد اختلافا في الفعالية المضادة للميكروبات باختلاف نوع المادة الصمغية للعلك المر للأنواع الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

جدول (3) التأثير التثبيطي لمستخلصات العلك المرتجاة بعض أنواع البكتريا المرضية

البكتريا	الايثانولي	الميثانولي	الاسيتوني	المائي البارد	المائي المغلي
	نسبة التثبيط للمستخلص %				
Bacillus subtilis	98.8	98.07	-	-	66.66
Staphylococcus aureus	85.34	84.64	88.28	88.97	79.72
Micrococcus roseus	12.03	-	56.66	21.87	87.65
Escherichia coli	98.57	63.63	50.65	73.48	36.36
Pseudomonas aeruginosa	-	-	73.21	96.42	-
Salmonella typhi	-	85.81	28.88	80.93	100

أدنى تركيز مثبط لمستخلص العلك المر :(MIC)

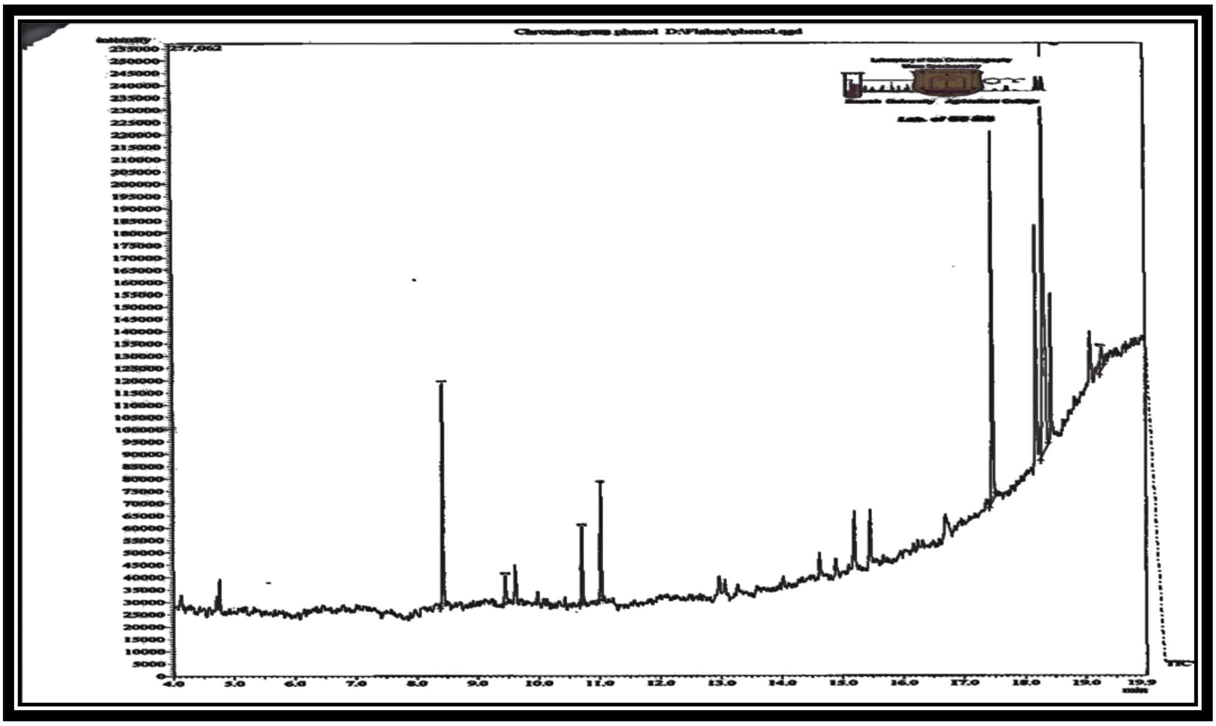
يظهر الجدول (4) التأثير التثبيطي للتركيز الأدنى (MIC) للمستخلص الفينولي للعلك المر تجاه البكتريا المرضية إذ إن اقل تركيز مثبط للمستخلص الفينولي كان 20 ملغم/مل تجاه بكتريا *Bacillus subtilis* فقط . أما اقل تركيز مثبط للمستخلص الفينولي تجاه بكتريا *Micrococcus roseus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* كان 40 ملغم/مل. إن التأثير المثبط الأدنى للمستخلص الفينولي أعطى نسباً منخفضة وقد تعود نسب التثبيط الى المركبات الفعالة في المستخلصات التي تتواجد بأقل تركيز أو بسبب طريقة الاستخلاص والمستخلص ذاته حسب ماذكر (37).

جدول (4) التأثير التثبيطي للتركيز الأدنىMIC للمستخلص الفينولي للعلك المر تجاه بعض أنواع البكتريا المرضية

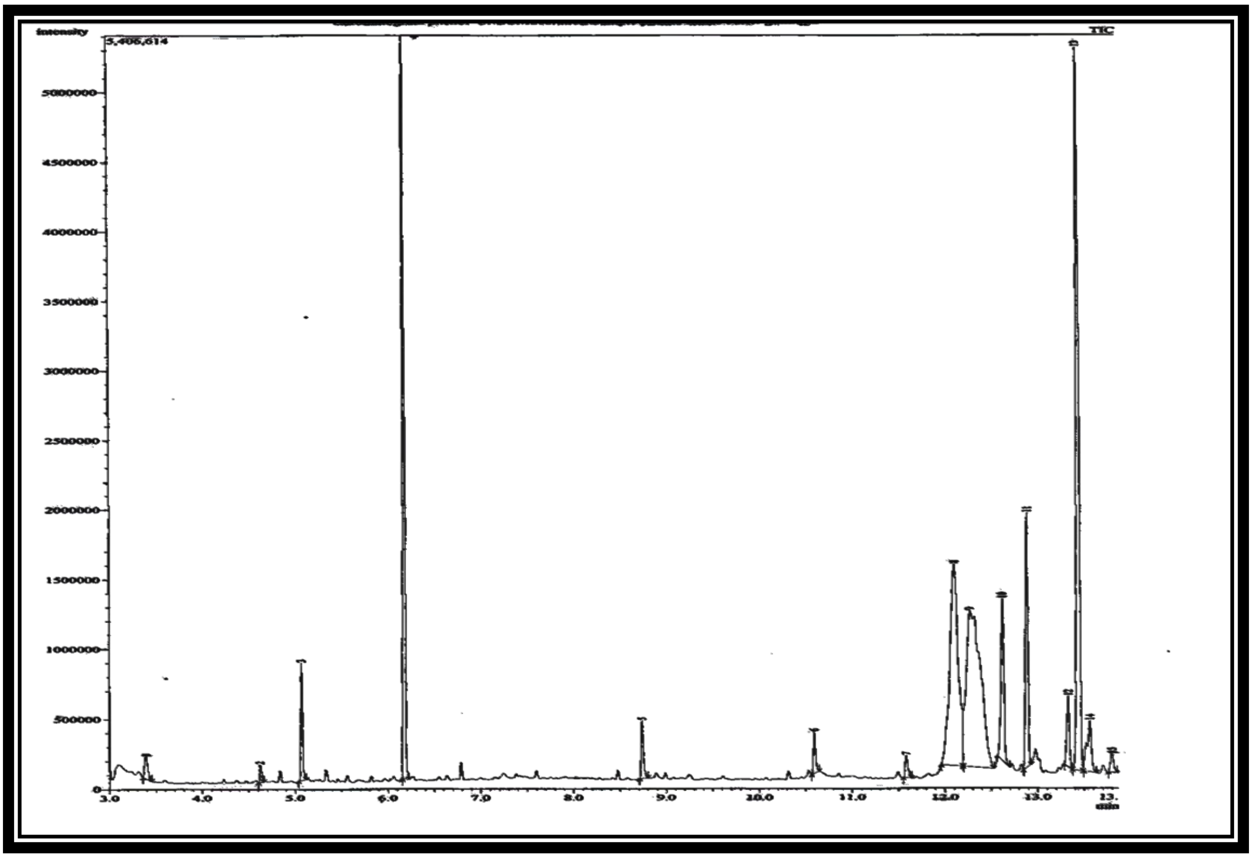
mg/ml التركيز / البكتريا	نسبة التثبيط للتركيز الأدنى %				
	2.5	5	10	20	40
Bacillus subtilis	-	-	-	20.83	29.54
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	1.78
Micrococcus roseus	-	-	-	-	40.56
Escherichia coli	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-	21.05
Salmonella typhi	-	-	-	-	-

تشخيص المركبات الفينولية بتقنية GC-MS:

يشير الشكل (4) الى أهم المركبات الفينولية المتواجدة في مستخلص العلك المر . فقد اظهر التحليل الكيميائي للمستخلص الفينولي للعلك المر باستعمال تقنيةGC-MS احتواءه على العديد من المركبات الفعالة وهي Butylated Hydroxytoluene,1-Methyl-3,3-diphenylurea, 1,2- Dipheny 1-1-isocyanoethane, Benzene,1,1-(1,2-cyclobutanediyl) bis-,trans,Benzenonitrile, m-phenethy,(2,3-Diphenylcyclopropyl) methyl phenyl sulfoxide-trans, 1-Propene,3-(2-cyclopentenyl)-2-methyl-1,1-diphenylوكانت المركبات ButylatedHydroxytoluene,Benzenonitrile, m-phenethy,1-Propene,3-(2-cyclopentenyl)-2- methyl-1,1-diphenyl تحتوي على اكبر كمية 14.92و 27.57 و40.45 على التوالي .

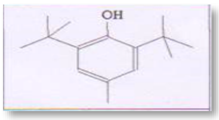
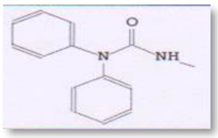
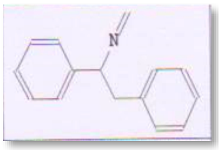
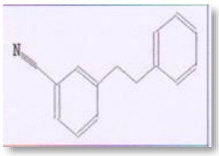
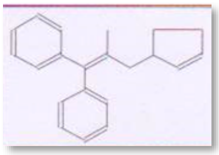
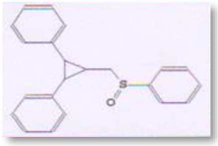


شكل(4) تشخيص المركبات المتواجدة في المستخلص الفينولي للعلك المر

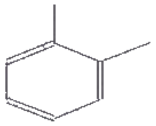
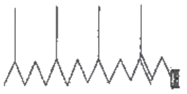
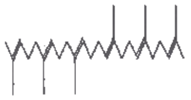
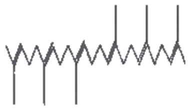


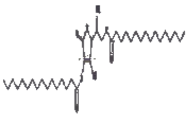
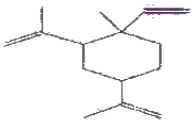
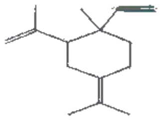
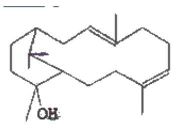
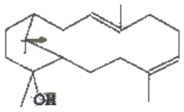
شكل(5) تشخيص المركبات المتواجدة في المستخلص الخام للعلك المر

جدول (5) تشخيص اهم المركبات الفينولية المتواجدة في مستخلص العلك المر باستخدام GC-MS

No.	compund	Mol. weig ht	R.T	Area%	Similar ity%	Structures
1	ButylatedHydroxytoluene	220	8.43	14.92	96	
2	1-methyl-3,3-diphrnylurea	226	9.45	2.20	85	
3	1,2-Diphenyl-1-isocyanoethane	207	10.72	4.95	78	
4	Benzene,1,1’-(1,2-cyclobutanediyl)bis	208	11.03	7.58	96	
5	Benzonitrile,m-phenethl	207	17.48	27.57	76	
6	2,3-Diphenylcyclopropyl)methyl phenyl sulfoxide,trans	332	18.32	40.45	84	
7	1-propene, 3-(2-cyclopentenl)-2-methyl-1,1-diphenyl-	274	19.27	2.33	53	

جدول (6) تشخيص أهم المركبات المتواجدة في مستخلص العلك المر باستخدام GC-MS

No.	Compound	Mol. weight	R.T	Area%	Similarity %	Structure
1	o-Dimethylbenzene	106	3.40	0.74	96	
2	3,5Dimethyloctan	142	4.63	0.37	93	
3	Caprylic alcohol	130	5.07	2.14	98	
4	Octyl acetate	172	6.18	14.44	98	
5	Lauric acid	200	8.74	1.36	95	
6	Myristic acid	228	10.60	1.02	94	
7	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-01	296	11.59	0.65	88	
8	Trans-Squalene	410	12.11	18.28	95	
9	Trans-Squalene	410	12.28	23.67	95	

10	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	652	12.63	4.88	91	
11	Cyclohexane,2,4-disopropenyl-methyl-1-vinyl	204	12.89	6.48	88	
12	Cyclohexane,1-ethenyl-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(methylethylidene)	204	13.33	1.87	85	
13	Verticillol	290	13.44	21,04	91	
14	Verticillol	290	13.57	2.43	90	
15	4-Isopropyl-1,7,11-trimetyl 2,7,11-cyclotetradecatrien-1-o1	290	13.80	0.63	93	

المصادر:

1- أحمد،جمال الدين فهمي ؛السيد ،عبد الغفور عوض وبدوي، السعدي محمد .(1993). النباتات الطبية والعطرية - جامعة القاهرة .

2- برهم، عادل حامد (2009).الكندر او اللبان ،موسوعة النباتات الطبية ومستحضراتها (الانترنت).

3- رومو، احمد (2005).الدليل الى المعالجة بالعطور (الزيوت العطرية دليل – طرق الاستعمال– دليل التوليف) الطبعة الاولى - دار علاء الدين – دمشق.

4- Abdallah, E.M. (2011).Plants: an alternative source for antimicrobials .J.Appl.Pharma.Sci.,1(6):16-20.

5- Al-Ahmadi, S.M. (2006).Chemical analysis and study the biological activity of gums resin oil of *Commiphora myrrh*. A thesis for MSc, of Dept. of Chemistry, Faculty of Science, King.Abdulaziz University. Jedda.

6- Alam, M.; Javed, K. and Jafri, M.A.(2011).Effect of oleo-gum-resin of *Boswellia serrata* (Kunder) on renal Functions in Albino rats. Indian J. Traditional knowledge,10(4):736-740.

7- Alam, M.;Khan,H.; Samiullah, L. and Siddiaue, K.M.(2012). Areview on phytochemical and pharmacological studies of kundur (*Boswellia serrata* Roxb ex Colebr).A Unani drug. J. Applied pharmaceutical Science, 2(3):148-156.

8- Alarcom - Aguilar, F.J.; Roman-Romos,R.; Perez -Gutierrez,S.; Conteras -Weber, C.C. and Flores - Saenz, J. (1997).Study of antihyperglycemic effect of plants used as antidiabetics.S. Ethnopharmacology.39:119-128.

9- Anesini, C. and Perez.(1993). Screening of plants used in Argentina folk medicine for antimicrobial activity.J.Ethnopharmacol.39:119-129.

10- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists).(1980).Official methods of analysis. 13th ed. Washington.

11- Asuzuiu. (1986).Pharmacological evaluation of folkore of sphenostylicslenocarpa.J.Ethnopharmacol,16: 236-23.

12- Baratta, M.T. ; Dorman, H.J. D.; Deans, S.G.; Flgueiredo, A.C.; Barrosa, .J.G. and Ruberto, G.(1998).Antimicrobial and antioxidant Properties of some commercial essential oils. J. Flavour Fragrance, 13(4):235-240.

13- Baris,O.,M.; Gulluce, F.; Shin, H.; Ozer, H.; Kilic, H.; Ozkan, M.; Sokmen, T. and Ozber, T. (2006).Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* (Asteraceae). Turkish J.Biol.,30: 65-73.

14- Bhargava, G.; Negi, J.J. and Ghua, H.R.D.(1978). Indian Forest, 104: 174.

15- Bone, K; FIMH and FNHAA. (2006). Myrrh: A Significant Development in the Treatment of parasites www.mediherb.com ,July.

16- Bulter,L.G.(1992). Antutritional effects of condensed and hydrolyte sable tannins in Hemingw,R.W. and Laks,P.E.(eds) plants polyphone, plenum press,Newyork City,:693-698.

17- Cai, Y., Z.; Luo, Q.; Sun, M. and Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci., 74: 2157-2184.

18- Cowan, M.M. (1999). Plants products as antimicrobial agents. Clin. Microbial. Rev.12:564-582.

19- Demirci ,F.;Baser,K.H.;Calis,I.and Gokhan,E.(2001). Essential Oil and Antimicrobial Evaluation of the *pistacia eurycarpa*. Chemistry of Natural compounds. July,37(4):332-335.

20- Devasagaym, T.P.A. and Sanis,K.B. (2002). Immune system and antioxidants, especially Those derived from Indian medicinal plants. Indian J.Exper.Biol.,40:639-655.

21- Dryden MS Daily S,Crouch M (2004). A randomized, controlled trail of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. Hospital Infect. 56: 283-286.

22- EL-Ashry,E.S.H.; Rashed, N.; Salama, O.M. and Saleh, A. (2003). Components, therapeutic value and uses of myrrh.Pharmazic.3:163-168.

23- Hakkim, F. L.; Arivazhagan, G. and Boopath, R. (2008). Antioxidant property of selected Ocimum species and their Secondary metabolite content. J. Med plant. Res., 2: 250- 257.

24- Hogg,N.(1998). Semin.Rep.Endocrinol,16: 241.

25- Jun,S.H.;Ha,Y.J.and Shin,E.K.(2007). Ansulin-mimetic and ansulin-sensitizing activities of apentacyclic triterpenoid ansulin receptor activator. Biochemical Journal,403:243-50.

26- Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Vuorela, H. J.; Rauha, J.; Pihlaja, K.; Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic. J. Agric. Food Chem., 47: 3954-3962.

27- Knottnerus, R.J Myrrh.The school of Natural healing and Christopher pulolieations website.

28- Madhavi D.L. and Salunkhe,D.K. In:Madhavi,D.L.;Deshpande,S.S. and Salunkhe,D.K.(1995).Food anti-oxidants. Dekker, New York,p.267.

29- Methew, S. and Abraham, T. E. (2006). In vitro antioxidant activity and Scavenging effects of *Cinnamonum verum* leaf extract assayed by different methodological. Food Chem., Toxicol., 44: 198-209.

30- Mongkolsilp, S.; Pongbupakit, I.; Sae-Lee, N. and Sitthithaworn, W. (2004). Radical Scavenging Activity and total phenolic content of medicinal plants used in primary health care. SWU. J. pharm. Sci., 9: 32-35.

extracts Japanese persimm on leaf tea (Kakinoha-Cha).Food Chemistry,89:569-575.

37- Salvat, A.; Antonacci, A.; Fortunato, R.H; .Suarez, E.Y. and Godo, H.M. (2004). Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plant species from Northen Argentina.Phytomedicine,11: 230-234.

38- Schillaci,D.;Arizza,V.;Dayton,T.;Camarda,L.and Stefano,V.(2008).In vitro anti-biofilm activity of Boswellia spp. Oleogum resin essential oils. Lett Appl. Microbiol.,47:433-438.

39- Syrovets, T.; Büchele, B.; Krauss, C.; Laumonnier,Y.and Simmet, T .(2005). Acetyl-boswellic acids inhibit lipopolysaccharide-mediated TNF-induction in monocytes by direct interaction with IKB kinases.Journal of Immunology,174:498-506.

40- Walsh,F.M. and Amyes,S.G.(2004).Microbiology and drug resistance microorganisms of fully resistant pathogens. Current Opinion in Microbiol.7: 439-444.

31- Nawar, W. W. (1985). Lipid. Ino. R. fennenma (Ed). Food Chem., 2:140-244.

32- Nwinyi,F.C.; Binda,L.; Ajoku,G.A.; ANiagu,S.O.; ENwerem,N.M.; Orisadipe,A.; Kubmarawa,D.and Gamaniel,K.S.(2004).Evalution of the aqueous extract of *Boswellia dalzielli* stem bark for antimicrobial activities and gastrointestinal effects.African Journal of Biotechnology,3(5):284-288.

33- Pok̆orny, J. and Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidant In: Pokorny, J. Yanishlieva, N., Gordon, M, editors. Antioxidants in food: Practical application. Cambridge England: Wood head publishing Limited. P41-311.

34-Pong,K.(2003).Expert Opinion Biol.Ther.,3: 127.

35- Rios, J.L. and Recio, M.C.(2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol.,100: 80-84.

36- Sakanaka,S.;Tachibana,Y.and Okada,Y.(2005).Preparation and antioxidant properties of

41- www Wikipedia.org/.

42- Zerroug,M.M.; Laouer,H.; Strange,R.N. and Nicklin,J. (2011).The Effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss.Et Dur. on the growth of and the production of Solanapyrone a by *Ascochyta rabiei* (pass.) Labr .Advances in Environmental Biology ,5(2): 501-506.