مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة . المجلد السابع ، العدد الثاني لسنة 2013
خاص بوقائع المؤتمر العلمي الثاني للعلوم الصرفة – جامعة الانبار 20-2012/11/22

ISSN: 1991-8941

عزل بعض المواد الفعالة في ثمار و بذور نبات الحنظل العراقي *Citrullus colocynthis* L. ودراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية للثمار والبذور على النمو البكتيري والخلايا السرطانية نوع L20B

سحر عامر أحمد
جامعة الأنبار - كلية التربية للبنات

الخلاصة

تضمن البحث إجراء الكشف الكيميائي للمواد الفعالة في ثمار وبذور نبات الحنظل.Citrullus colocynthis L حيث أظهرت نتائج الكشف الكيميائي احتواء الثمار على التانينات , الفلوباتانينات , الصابونينات , الفلافونيدات , الكلايكوسيدات , التربينات , الفينولات , الراتنجات , الكاربوهيدرات , القلويدات والكلايكوسيدات الايرويدية . اما البذور فقد احتوت على التانينات , الصابونينات , الفلافونيدات , التربينات , الفينولات , الراتنجات , الأحماض الامينية , الكاربوهيدرات , القلويدات بالإضافة إلى الكلايكوسيدات الايرويدية. كما تم عزل بعض هذه المواد الفعالة كالصابونينات والتانينات والزيوت الطيارة وكانت نسبها المئوية في الثمار 10.92% و 17.6% و 2.04% على التوالي , أما نسبها المئوية في البذور فكانت 3.77% و 7.39% و 18.7% على التوالي .اماالفعالية البيولوجية للمواد المعزولة والمستخلصات المائية و الكحولية لثمار وبذور الحنظل بالتراكيز (1 mg/ml و5 و12 و25 و50) باستعمال نوعين من البكتريا المرضية سالبة لصبغة كرام وهي Escherichia coli وموجبة لصبغة كرام وهي Staphylococcus aureus فكانت نتائجها متباينة , حيث بلغ أعلى قطر تثبيطي لصابونينات البذور وبتركيز 12mg/ml لبكتريا E.coli هو 18mm بينما كان أعلى قطر تثبيطي للزيوت الطيارة في البذور لبكتريا Staph.aureus وبتركيز 25mg/ml هو 20 mm . إضافة إلى دراسة تأثير المستخلصات المائية و الكحولية لثمار و بذور الحنظل على نمو الخلايا السرطانية نوع L20B في المختبر وهي خلايا فأر متحولة (Mice transformed cell) حيث اظهر المستخلص الكحولي للبذور أعلى نسبة لوقف نمو الخلايا السرطانية والتي بلغت 67.7% .

كلمات مفتاحية: ثمار ، بذور ، الحنظل العراقي .Citrullus colocynthis L ، بكتيريا ،الخلايا السرطانية نوع L20B

المقدمة

الحنظل نبات عشبي زاحف معمر اسمه العلمي *citrullus colocynthis L.* وهو نبات شديد المرارة , تحتوي ثماره *Cucurbitales* على لب إسفنجي وهو المادة الفعالة حيث يحتوي على مواد راتنجية وقلويدات ذات تأثير مسهل ومن أهم مركباته ايلاتيرين (A) وايلاتيريسين (B) .كما يحتوي على بكتين ومواد صابونية إضافة إلى احتوائه على مواد كلايكوسيدية تدعى كولوسنثيدين calocynthidin تكون مرة الطعم [1,2]. ولقد أظهرت التحاليل الكيميائية للنباتات إن معظمها غني بالمواد الفعالة مثل القلويدات والكلايكوسيدات القلبية والفلافونيدات والكومارينات والصابونينات والانثراكوينونات التي قد يكون لها قيمة علاجية عظيمة إضافة لوجود الزيوت الطيارة والصموغ والعفصيات[3], كما أثبتت الدراسات بان عددا من النباتات وبعض مكوناتها الكيميائية المعزولة تمتلك صفات مضادة للأكسدة وذات تأثير مانع لحدوث العديد من الأمراض ولاسيما السرطان عند الإنسان [4],أما الكلايكوسيدات فقد استعمل العديد منها كعقاقير ومنها الكلايكوسيدات الستيرويدية (Steroidal glycosides) مثل الدجيتوكسين (Digitoxin) الذي يستخرج من نبات الدجتالس (Digitals) والذي يستخدم كمنبه للقلب , اما التربينات (Terepenoids) فهي جزيئات زيتية ذات تركيب كيميائي ($C_{10}H_{16}$) وتوجد على هيئة تربينات ثنائية (Di terpenes C_{20})

وثلاثية (Tri terpenes C_{30}) ورباعية (Tetra terpenes C_{40}) ومن الأمثلة على ذلك تربين (Capsaicin) الذي يمتلك فعالية حيوية عالية في الإنسان إذ يؤثر على الاعصاب , الأوعية القلبية , الجهاز الهضمي , ويعد مسكنا للالام وكذلك يعزز خميرة Candida albicans لكنه يثبط مختلف انواع البكتريا[5] , كما تعزى فعاليتها ضد الكائنات الحية لامتلاكها خاصية محبة للدهون وتتمكن من الارتباط مع جدار الخلية الحية والنفوذ عبره الى داخلها والعمل على تكوين معقدات وارتباطات مع مكونات الخلية مؤدية الى اضعاف حيويتها وهلاكها[6]. توصف الفلافونيدات بانها مضادات حيوية اذ وجد من الدراسات ان لها فعالية ضد البكتريا والفطريات وتعمل الفلافونات كمادة مضادة مؤثرة على الكثير من الاحياء المجهرية والفيروسات[7], وان سمية الفينولات للاحياء المجهرية تعود الى حدوث عملية تثبيط انزيمي بفعل المركبات المؤكسدة[5] , ولأهمية النبات الطبي بوصفه مصدرا طبيعيا للمواد الفعالة ولاحتواء الحنظل على العديد من هذه المواد فقد كان الهدف من البحث الكشف عن بعض هذه المواد الفعالة وعزل البعض منها كالتانينات والصابونينات والزيوت الطيارة , ودراسة تأثيرها والمستخلص المائي والكحولي لثمار وبذور الحنظل على نوعين من البكتريا المرضية هما *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* إضافة إلى دراسة مدى تأثير المستخلصات ضد الخلايا السرطانية للخط الخلوي نوع $L_{20}B$ في المختبر والتي هي خلايا فار متحولة .(Mice Transformed Cell Line)

المواد وطرائق العمل

أولا: تصنيف النبات : يصنف نبات الحنظل ضمن رتبة القرعيات , الفصيلة القرعية *Cucurbitacae Juss.* جنس *Ecbalium* [2].

ثانيا: جمع النبات :جمع نبات الحنظل من المنطقة الغربية لمحافظة الانبار , نظف وغسل من الأتربة بالماء المقطر ثم جفف بدرجة حرارة المختبر مع التقليب المستمر لمنع تعفنه , بعدها تم فصل البذور عن الثمار , طحنت وجمعت في أكياس جافة لحين استخدامها .

ثالثا: الكشوف الكيميائية: اعتمدت الطرائق المبينة في الجدول 1 للكشف عن بعض المواد الفعالة في ثمار وبذور نبات الحنظل:

رابعا: تقدير بعض المواد الفعالة :

1 - تقدير الصابونينات وزن (5gm) من مسحوق النبات (ثمار , بذور) وأضيف (250ml) من الايثانول (25%) سخن المزيج في حمام مائي لمدة (4h) مع التحريك المستمر بوساطة الهزاز (Shaker) وبدرجة حرارة(60˚C) رشح المزيج وأضيف للراشح (200ml) من الايثانول (20%) ركز الراشح في حمام مائي بدرجة حرارة (90˚C) إلى أن اصبح حجم المحلول (40ml) نقل الراشح إلى قمع فصل سعة (250ml) وأضيف إليه (20ml) من Diethyl ether مزج المحلول جيدا ثم فصلت الطبقة المائية وأهملت طبقة الايثر. أضيف (10ml) من (n-Butanol) إلى الطبقة المائية ثم بخر المحلول الناتج في حمام مائي وجفف للحصول على الصابونينات [10,11].

2- تقدير التانينات اضيف (120ml) من الماء المقطر الى (2gm) من مسحوق النبات (ثمار , بذور) ووضع المزيج في حمام مائي مغلي لمدة (.30min) ثم اجري للمزيج نبذ مركزي بسرعة (2000 rpm) ولمدة (.20 min) بعدها وضع الرائق في دورق حجمي سعة (400ml) أكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر ثم اضيف للمزيج (80ml) من خلات الرصاص (4%) مع الرج المستمر بوساطة الهزاز لمدة ساعة واحدة . رشح المحلول ووضع الراسب في جفنه خزفية لتجفيفه في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة (60˚C) , وزن الراسب ونقل إلى حاويات معقمة ثم حفظ في مكان بارد وبعيدا عن الضوء[8] .

3- تقدير الزيوت الطيارة

وزن (10gm) من مسحوق النبات(ثمار , بذور) ووضع في جهاز (Soxholet) وباستخدام (150ml) من مذيب الايثر لمدة (24h) بعدها أوخذ المستخلص وبخر المذيب باستعمال المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل [14] .

خامسا: تحضير المستخلصات :

1- تحضير المستخلص المائي تم مزج (40gm) من مسحوق النبات (ثمار , بذور) مع (160ml) من الماء المقطر , حرك المزيج بوساطة الهزاز لمدة ثلاث ساعات ثم ترك في الثلاجة للنقع لمدة (24h) رشح بعدها من خلال عدة طبقات من الشاش ثم رشح ثانية باستخدام اوراق الترشيح (Whatman No.1) للتخلص من الأجزاء النباتية والألياف المتبقية ثم وضع المستخلص في الفرن بدرجة حرارة (40˚C) ليتبخر الماء بأكمله وبقاء المستخلص في قعر البيكر ثم وضع المستخلص في قنينة زجاجية ذات غطاء محكم وحفظ بالتجميد لحين استخدام[15] ويعتبر هذا المستخلص خام (crude) حيث حضرت منه التراكيز (1,5,12,25,50 mg/ml).

2- تحضير المستخلص الكحولي حضر المستخلص الكحولي بنفس طريقة تحضير المستخلص المائي السابقة عدا استبدال الماء المقطر بالكحول الاثيلي (98%) [16] .

سادسا: الدراسة الحيوية :

1- الدراسة الحيوية المضادة للبكتريا:

استخدمت طريقة الانتشار في الاكار Agar diffusion method بوساطة الحفر (wells) لاختبار حساسية البكتريا للمركبات الفعالة و المستخلصات عند التركيز (1 mg/ml

و5 و12 و25 و50) حيث اتبعت طريقة Perez et al. والتي تتمثل بصب 25ml من Mollar Hentton Agar ثم نشر 0.1ml من العالق البكتيري المحتوي على ($1.5*10^8$cell/ml) على الوسط , عملت حفر بقطر (5mm) في الوسط المزروع بوساطة ثاقب فليني معقم (Sterile cork borer). استعمل (0.2ml) من التراكيز المتدرجة المحضرة للمستخلصات والمركبات الفعالة باستعمال ماصة دقيقة معقمة ثم حضنت الأطباق عند (37˚C) لمدة (48h) في الحاضنة , حددت فعالية كل تركيز بقياس قطر التثبيط (Inhibition zone) والذي يمثل المنطقة الخالية من النمو البكتيري [17].

2- اختبار تأثير المستخلصات ضد نمو الخلايا السرطانية

تم استخدام الخط الخلوي السرطاني نوع $L_{20}B$ وهو عبارة عن خلايا سرطان لأمعاء إناث الفئران نوع Balb/c . تم تجهيز هذا الخط وتحضير جميع المحاليل حسب الطريقة المتبعة في مركز بحوث التقنيات الإحيائية /جامعة النهرين.وقد تم إدامة الخط الخلوي السرطاني وذلك بتنميته في الوسط الزرعي MEM والمجهز بـ 10% من مصل جنين البقر Fetal Calf Serum وذلك بملاحظة هذه الخلايا وعند تكوينها لطبقة أحادية كاملة Confluent monolayer المغطية لكل أرضية الوعاء الزرعي , يتم معاملة الخلايا بمحلول التربسين / فرسين بمقدار (2ml-5) مع تحريك قنينة الزرع برفق لمدة 5- (10) دقائق وذلك لتهيئة المزرعة الثانوية .

تهيئة الوسط الزرعي والخط الخلوي

تم تهيئة الوسط الزرعي وذلك لتنمية الخط الخلوي السرطاني $L_{20}B$ وفقا" لطريقة Freshney [18] ومن ثم عقم الوسط باستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 µm , وزع الوسط الزرعي في قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 ml وحفظت القناني بدرجة 20 ˚م وذلك بتوفير كل ما يحتاجه الخط لإجراء الزرع الثانوي.

اختبار سمية المستخلصات المائية والكحولية على نمو خط الخلايا الخلوي $L_{20}B$.

عقمت محاليل المستخلصات المائية والكحولية لثمار وبذور نبات الحنظل وذلك باستعمال مرشح ذي ثقوب بقطر0.22µm ثم جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة محتوى قنينة الزرع النسيجي حجم 25ml بمحلول التربسين/ فرسين ثم اضيف له 20ml من الوسط الزرعي الحاوي على المصل بنسبة 10% , تم مزج عالق الخلايا جيدا" ونقل0.2ml بعد كل مزج جيد الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح باستعمال ماصة اوتوماتيكية ثم ترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 ˚م لمدة 24 ساعة لحين التصاق الخلايا في الحفر مكونة الطبقة الاحادية . وبعدها يتم التخلص من الوسط الزرعي القديم الموجود في الحفر ومن ثم يتم اضافة 0.2ml من مستخلصات نبات الحنظل المحظرة والمعقمة سابقا" وبواقع ثلاث مكررات . فضلا عن تحضير ثلاث مكررات كسيطرة سالبة (خلايا الخط الخلوي ومحلول منظم) , حضنت الأطباق بدرجة 37˚م .بعد مرور مدة التعريض المحددة للحضن , 72) (24 , 48 ساعة يخرج الطبق من الحاضنة وأزيل الوسط الزرعي ثم أضيف له محلول صبغة البنفسج البلوري للحفر الحاوية على الخلايا جميعها وبحجم 0.2µL لكل حفرة . يعاد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة لمدة 20 دقيقة , بعدها يخرج الطبق ويجري التخلص من المحلول بالماء المقطر لحين زوال الصبغة الزائدة التي تكون الخلايا الحية قد اصطبغت بها.بعد ذلك تجفف الاطباق لتهيئتها للقراءة وذلك باستخدام جهاز الاليزا Elisa بطول موجي 492nm.

قياس معدل نسبة التثبيط % تم تحويل قيم التأثير التثبيطي في الخط الخلوي السرطاني الى نسب مئوية وفقا" للمعادلة التالية [19].

$$\text{لتثبيط الخلايا} = \frac{\text{النسبة المئوية امتصاصية خلايا السيطرة- امتصاصية خلايا المعاملة}}{\text{امتصاصية خلايا السيطرة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة :

بينت نتائج الكشف الكيميائي للمجاميع الفعالة وجود المواد الفعالة من التانينات (Taninns) , الصابونينات (Saponins) , القلويدات (Alkaloid) , التربينات (Terepens) , الفينولات (Phenols) , الكاربوهيدرات (Carbohydrat) , الاحماض الامينية (Amino acids) , الراتنجات (Resins) , الكلايكوسيدات الايرويدية (Iridoidglycosids) والفلافونيدات (Flavonoids) في بذور الحنظل , أما الثمار فقد احتوت على التانينات (Taninns) , الصابونينات (Saponins) ,القلويدات (Alkaloids) , التربينات(Terepens) ,الفينولات (Phenols) , الكاربوهيدرات (Carbohydrat), الكلايكوسيدات (Glycosids) , الراتنجات (Resins) , الكلايكوسيدات الايرويدية (Iridoidglycosids)

والفلافونيدات (Flavonoids) كما مبين في الجدول(2) وقد اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من Ambi (13) و Najafi(12) من حيث احتواء مستخلصات الحنظل على المواد الفعالة المشار إليها في أعلاه . وكانت النسبة المئوية للصابونينات المعزولة في الثمار أعلى من نسبتها في البذور حيث كانت 10.92% للثمار و 3.77% للبذور, أما نسبة التانينات المعزولة في الثمار كانت 17.6% وهي أعلى من نسبتها في البذور

والتي كانت 7.39% وبالنسبة للزيوت أعطت أعلى نسبة في البذور والتي بلغت 18.7% وفي الثمار 2.04% (جدول (3)) وهذه النسب متوافقة مع ما توصل إليه Asyaz (11) .

ولقد اظهرت المركبات فعالية ضد بكتريا E.coli حيث اعطت الصابونينات في البذور والثمار اعلى قدرة تثبيط (17mm,18mm) عند التركيز 12mg/ml و 25mg/ml واعطت التانينات والزيوت والمستخلصات المائية والكحولية للبذور والثمار نسب متقاربة في التثبيط تتراوح بين (9-14mm) كما موضح في الجدول (4)

ان وظيفة الصابونينات في النباتات وقائية ضد الحشرات والأحياء المجهرية , وتقوم التانينات بحماية الأجزاء النباتية الموجودة فيها من الإصابات الميكروبية (20). أما زيوت البذور فقد

اعطت اعلى قدرة تثبيط عند التركيزين (25,50mg/ml) والتي بلغت (20,18mm) ضد بكتريا Staph.aureus .اما بقية المركبات فكانت اقطار التثبيط لها تتراوح بين (10-16mm) كما موضح في الجدول (5) .

ويبين الشكل (1) تأثير المستخلصات المائية والكحولية لبذور وثمار الحنظل في تسمم الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي عند مدة تعريض 72h وذلك لاحتوائه على مواد فعالة قد يكون لها دور مباشر او غير مباشر في إحداث التأثير السمي وعدت على أساسها كمواد علاجية للسرطان (21) ومن هذه المواد الفلافونيدات وأهمها Quercetin و Taxifolin حيث يعمل هذان المركبان كمضادات للتكاثر من خلال تثبيط مجموعة من الخطوط الخلوية السرطانية منها Squamous Cell Carcinoma (22) كما ويحوي النبات على التانينات والتربينات التي زادت من فعالية المستخلص في هذا المجال حيث توصل Yozdanparastو Sadeghi إلى أن للتربينات المعزولة من نبات Daphne mucronata دورا تثبيطيا على الخط الخلوي السرطاني Myelogenous human و Leukemia K562 من خلال عملها على ايقاف الدورة الخلوية عند الطور G1-Phase(23) , ولاحتواء الحنظل على الفلافونيدات التي تدخل في ايقاف النمو الخلوي اما في بدء عملية الانقسام او تقدم الانقسام إضافة إلى احتوائه على الفينولات التي لها تأثيرات مهمة مضادة للأورام وهي قد تثبط تقدم نمو الخلايا السرطانية من خلال تأثيرات سامة للخلايا السرطانية , كما توجد آليات غير مباشرة لإيقاف نمو السرطان أو إيقاف بدء تحفيز الانقسامات(24).

جدول(1): طرائق الكشف الكيميائي للمواد الفعالة في نبات الحنظل

نوع الاختبار	الطريقة المعتمدة
التانينات	الجوعاني [8]
الفلوباتانينات	الجوعاني [8]
الصابونينات	Al-Khazragi [9]
القلويدات	Harborne [10]
الكلايكوسيدات	الجوعاني [8]
التربينات	الجوعاني[8]
الفينولات	Azyaz *et al*.[11]
الكاربوهيدرات	Najafi *et al*.[12]
الاحماض الامينية	الجوعاني[8]
الراتنجات	الجوعاني[8]
الكلايكوسيدات الايرويدية	Ambi *et al*.[13]
الفلافونيدات	Al-Khazragi [9]

جدول (2) : نتائج الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة الموجودة في نبات الحنظل

(+) وجود المادة الفعالة (-) عدم وجود المادة الفعالة

ت	المادة الفعالة	الكاشف المستخدم	التغير في اللون	البذور	الثمار
1	التانينات	1%كلوريدالحديديك	اخضر مزرق	+	+
2	الفلوباتانينات	1%حامضHCl	راسب احمر	-	+
3	الصابونينات	1%كلوريد الزئبقيك	راسب ابيض	+	+
4	القلويدات	1%حامض التانيك	راسب ابيض مسمر	+	+
5	الكلايكوسيدات	كاشف بندكت	راسب احمر	-	+
6	التربينات	سالكوفسكي	احمر داكن	+	+
7	الفينولات	فيروسيانيد البوتاسيوم	اخضر مزرق	+	+
8	الكاربوهيدرات	الفا – نفثول	لون بنفسجي	+	+
9	الاحماض الامينية	النهيدرين	ارجواني واصفر	+	-
10	الراتنجات	4%حامضHCl	عكرة	+	+
11	الكلايكوسيدات الايرويدية	تريم- هيل	ازرق او احمر مائل للبنفسجي	+	+
12	الفلافونيدات	محلول امونيا 3M	لون اصفر	+	+

جدول (3): النسب المئوية للمواد الفعالة

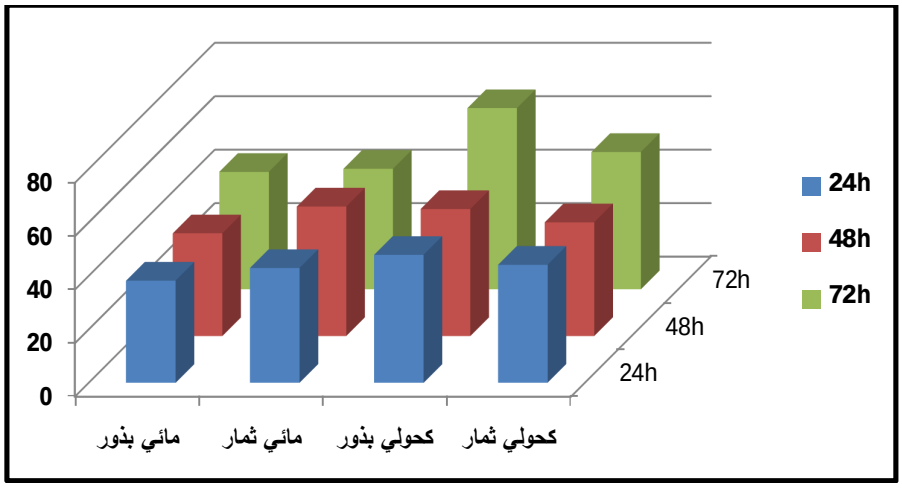
ت	المادة الفعالة	الثمار	البذور
1	الصابونينات	10.92%	3.77%
2	التانينات	17.6%	7.39%
3	الزيوت	2.04%	17.8%

جدول (4): أقطار تثبيط المركبات الفعالة في نبات الحنظل لبكتريا E.coli

ت	المادة الفعالة	التركيز				
		1mg\ml	5mg\ml	12mg\ml	25mg\ml	50mg\ml
1	التانينات(بذور)	7	10	14	13	14
2	التانينات (ثمار)	9	10	14	14	13
3	الصابونينات(بذور)	9	11	18	14	14
4	الصابونينات(ثمار)	10	13	12	17	15
5	الزيوت الطيارة (بذور)	10	9	13	12	13
6	الزيوت الطيارة (ثمار)	9	9	10	9	11
7	مستخلص مائي(بذور)	11	11	14	13	13
8	مستخلص مائي(ثمار)	9	9	11	11	13
9	مستخلص كحولي(بذور)	11	12	11	13	13
10	مستخلص كحولي(ثمار)	10	10	11	11	10

جدول (5): أقطار تثبيط المركبات الفعالة(mm) في نبات الحنظل لبكتريا *Staph.aureus*

المادة الفعالة	التركيز				
	1mg\ml	5mg\ml	12mg\ml	25mg\ml	50mg\ml
التانينات(بذور)	12	13	12	11	12
التانينات (ثمار)	11	12	10	12	11
الصابونينات(بذور)	13	13	15	14	17
الصابونينات(ثمار)	14	14	15	14	15
الزيوت الطيارة (بذور)	13	13	13	20	18
الزيوت الطيارة (ثمار)	14	13	16	15	16
مستخلص مائي(بذور)	13	13	12	13	13
مستخلص مائي(ثمار)	14	13	13	12	11
مستخلص كحولي(بذور)	12	11	15	14	14
مستخلص كحولي(ثمار)	12	12	11	13	12



شكل(1): نسب تثبيط المستخلصات ضد الخلايا السرطانية نوع $L_{20}B$

المصادر

1- السعدي, محمد (2006), خفايا وأسرار النباتات الطبية والعقاقير في الطب القديم والحديث , عمان ,الأردن, دار اليازوري, ص156-160

2- بابوجيان, جورجيت و القاضي , عماد (2010) ,أساسيات التصنيف النبات(الفصائل النباتية) منشورات جامعة دمشق- سوريا, ص241-250

3- الطنبري, غسان شحاذة أيمن و الهجر ,إبراهيم علي الحسين (2006), الطب البديل ,كلية الطب البيطري- سوريا, ص85.

4- Tsao,A.S; Kim.,E.S.; and Hong , W.K.(2004).Chemoprevention of cancer.CA cancer J.clin.54:150-168

5 - Cowan ,M.M.(1999).Plant products as antimicrobial agents . Clin.Microbial.Rev.12 (4)564-582.

6 - Lima E.O.; Gorupertz .O.F.; Paulo.M.G.and Glesbrecht. A.M. (1992).Invitro antifungal activity of essential oils against clinical Isolates of dermatophystes.Rev .Microbial. Sao.Paulo.23(4):235-238.

7- Harborne,J.B.(1991).The Chemical Basic of Plant Deferens .Plant Deferens Against Mammalian Herb ivory.(edspalo.R.T.

and Robbins,C.T.)pp.45-59.CRC press. New York.

8- الجوعاني, ايمان حسام محمد خلف(2007) .استخلاص بعض المركبات الفعالة من نبات الكبر ودراسة فعاليتها ضد البكتيريا, رسالة ماجستير, كلية العلوم ,جامعة الانبار, العراق , ص48-52.

9 - Al-Khazragi,S.M.(1991). "Biopharmacology study of aremision herha",Alba.Unpublished.M.Sc.Thesis. college of pharmacology,university of Baghdad.

10 - Harborne , J.B . (1973). Pytochemical Methods . A guide to modem techniq – use of plant analysis . pp. 113-165. Chapman and Hall Ltd. London.

11- Azyaz,S.;Ullahkhan,F.;Hussain, I.;Alikhan ,M.and Ullahkhan,I (2010) Evaluation of Chemical Analysis Profile of Citrullus colocynth is Growing in southern areas of Khyber pukhtunkhwa , Pakistan. World Applied Sciences Journal 10(4):402-405.

12- Najafi S.;Sanadgol N.; Nejad B.S.; Beiragi M.A. and Sanadgol E.(2010), Phytochemical screening and antibacterial activity of citrullus colocynthis (Linn.)Schrad against staphylococcus aureus.journal of medicinal plants research. vol. 4 (22),pp.2321-2325,18 November.

13- Ambi A.A.;Abdurrahman E.M.;Sule M.I.;Pateh U.U.; Abdurrahman Y.R. and Ibrahim N.D.G.(2007), Phytochemical screening and histopathological studies on the seed of colocynthis citrullus in albino rats . Nigerian Journal of pharmaceutical Sciences Vol.6,No.2,October.

14- Indian herbal pharmacopeia .(1998) .A Joint publication of regional research laboratory counce of scientific and industrial research.jammataw.1: 1-10.

15- Al-Joboory .A. and Al-Rawi. M. (1994). Natural pharmacology 1st ed .Al-Huria.Baghdad,pp56.

16- Marzouk B.; Marzouk Z.; Mastouri M.;Fenina N. and Aouni M.(2011), Comparative evaluation of the antimicrobial activity of citrullus colocynthis immature fruit and seed organic extracts. African journal of biotechnology vol.10(10) ,pp.2130-2134,14March.

17- Perez.L.:pauli.M. and Bazequse.P.(1990).Antibiotic assay by the agar-well diffusion method. journal of actabiology .15:113-115.

18 - Freshney, R.I. ,(2000), "Culture of animal cells: Amanual for basic techniqus" Wiley-less,A. John wiley and sons, Inc, publication, Newyork, 64-69.

19 - Betancur-Glavis, L.A. Saez, J.; Granados, H. Salazar, A.;Ossa, J.E., (1999),"Antitumor and Antiviral Activity of Colombian Medicinal Plant Extracts"; Men.Inst. Oswa. crez. 94, 5, pp531-535.

20- Tyler,V.E.; Brady,L.R .and Robbers, J.E.(1988).Pharmacognosy. 9th ed . PP227-237.

21- Birt, F.D.; Hendrich, S.; Wang, W. , (2001) "Dietary Agents in Cancer Prevention; Flavonoids and Isoflavonids"; Phar. Ther. 90, pp157-177.

22- Piantelli M.; Rinelli, A.; Macri, E.; Maggiano, N.; Larocca, L.M.; Scerrati, M.; Roselli, R.; Laconngeli,M.; Scambi , G.; Capelli, A.; Ranelltti, F.O. , (1993) "Type II Estrogen Binding Sites and Antiproliferative Activity of Quercetin in Human Meningiomas";Canc.71, pp193-198.

23- Sadeghi,H.; Yazdanparast, R. , (2003) "Anti- Tumor Activity and Cell Cycle Arrest of a New Diterpene Ester From Daphne Mucronata Using K562 Cells"; Biom., pp127-131.

24- Makita ,H.(1996),Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxid-induced rat oral carcinogenesis by the dietary flavonoids chalcone,2-hydroxychalcone ,and quercetin ,Cancer Res, 56:pp4904-4909.

مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة . المجلد السابع ، العدد الثاني لسنة 2013
خاص بوقائع المؤتمر العلمي الثاني للعلوم الصرفة – جامعة الانبار 20-2012/11/22

ISOLATION SOME ACTIVE MATERIALS IN THE IRAQI FRUITS AND SEEDS OF CITRULLUS COLOCYNTHIS L. AND STUDY OF THEIR EFFECTS ON AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF SOME PATHOLOGICAL BACTRIA AND CANCER CELLS TYPE L20B

SAHAR AMER AHMED
E.mail: dean_coll.science@uoanbar.edu.iq

ABSTRACT

The aim of this research is to detect and identify the functional chemical materials in the fruits and seeds of citrullus colocynthis L..The results show that the fruits contain Tannins , phlobatannins , Saponins , flavonoids , glycosides , terepens , phenols , resins , carbohydrates , alkaloids , and iridoiglycosids . while the seeds contain tannins , saponins , flavonoids , terepens , phenols , resin , amino acids , carbohydrates , alkaloids , and iridoidglycosides .The percentage of isolated saponins , tannins , and volatile oils in fruits 10.92% , 17.6% , and 2.04% whereas their percentage in seeds are 3.77% , 7.39% , and 18.7% respectively .The concentrations of isolated materials , aqueous extracts and alcoholic extracts (1 , 5 , 12 , 25 , 50 mg/ml)have been studied as a biological activities against E.coli and staph.aureus the results show the highest inhibition diameter is 18mm against E,coli using 12mg /ml while against staph.aureus is 20mm using 25mg/ml concentration .The aqueous and alcoholic extracts of fruits and seeds gave a good inhibition towards the growth of L20B cell line and the highest growth inhibition is 67.7% .