الملخص

شملت الدراسة أستخلاص الجسم الكامل لنوعين من الحبار Loligo sp. و Sepia sp. اللذان يعودان إلى صنف رأسية القدم Cephalopoda باستخدام 50 % حامض الخليك ورمز لهما L و S على التوالي ، واستخلاص الجسم الكامل لنوعين من القواقع اللتان تعودان إلى صنف بطنية القدم Gastropoda نوعي Hexaplex sp. و Murex sp. بـإستخدام فوسفات الصوديوم الهيدروجينية ورمز لهما H و M على التوالي وجميعها تعيش في المياه المالحة ، وتم تحديد المجاميع الكيميائية في المستخلصات الخام من خلال أجراء الكشوفات اللونية بـإستخدام كواشف مختلفة وتم إثبات احتواء المستخلصات على البروتينات والببتيدات والأحماض الامينية و الكربوهيدرات والصابونيين والقلويدات والالديهايد و والكيتون وإحتواء المستخلصين L و S على الفلافونيدات في حين يحتوي المستخلصان H و M على المركبات الفينوليه وعدم احتواء المستخلصات على الكلايكوسيدات.

نقيت المستخلصات بـإستعمال تقنية كروماتوغرافيا العمود باستعمال سيفادكس G-100 وتم التأكد من نقاوة المركبات المفصولة بإجراء تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC ورمز لها L1 و S1 و H1 و M1وعدت كمركبات نقية ، وتبين أن المستخلصات الخام والنقية غنية بالحامض الاميني البرولين ، بـإستخدام تقنية TLC وبوجود عدد من الأحماض الأمينية القياسية من ضمنها الحامض الاميني البرولين .

وأكدت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء أن المركبات النقية تحتوي على مجاميع (OH- - C و-N H) الموجودة في الحامض الأميني البرولين .

وفي تجربة التحلل الدموي لم تظهر المستخلصات الخام أي تأثيرعلى كريات الدم الحمراء للإنسان طيلة فترة المراقبة لثمان ساعات .

كانت نتائج الفعالية الحيوية للمستخلصات الخام والنقية واسعة تجاه الفطريات الممرضة :

Aspergillus flavus و Aspergillus niger و Candida albicans و Cryptococcus neoformans و Epidermophyton floccosum .

وبينت النتائج أن المستخلصين H و M الخام ليس لهما أي تأثير على الفطريات المستخدمة في حين كان تأثير المستخلص S الخام واضحاً على كل من E. floccosum و A. niger ، وكذلك كان للمستخلص L تأثيرا واضحاً أيضا على E. floccosum في حين لم يكن له تأثيراً على الفطر A. flavus ، وكان تأثير المستخلصات البروتينية النقية L1 و S1 مشابها لتأثير المستخلصات الخام لكن بمناطق تثبيط قليلة .

كان التركيز المثبط الأدنى (MIC Minimal Inhibitory Concentration) للمستخلص S يتراوح من 10 ملغم / مل للفطر E. floccosum و 50 ملغم / مل للخميرة Cry. neoformans و70 ملغم / مل للخميرة C. albicans إلى 100 ملغم / مل تجاه A .niger و A. flavus ، أما التركيز المثبط الأدنى لـ S1 النقي يساوي 100 ملغم / مل للفطر E. floccosum و200 ملغم / مل للخمائر Cry. neoformans و C. albicans و300 ملغم / مل لكل من A. niger و A. flavus ، أما التركيز المثبط الادنى للمستخلص L الخام يساوي 10 ملغم / مل للفطر E. floccosum و70 ملغم / مل لكل من Cry. neoformans و C. albicans و100 ملغم / مل للفطر A .niger ، ويساوي التركيز المثبط الأدنى لـ L1 النقي 300 ملغم / مل للفطر A .niger و200 ملغم / مل لبقية الفطريات . كما تم أختبار الحساسية الدوائية لاثنين من المضادات الفطرية Ketoconazole و Nystatin ، واستخدامها للمقارنة مع المستخلصات قيد الدراسة .

تم تقدير تركيز البروتين في المركبات النقية وكان يساوي0.411 ملغم / مل لـ L1و 0.729 ملغم / مل لـ S1 و0.429 ملغم / مل لـ H1 و و0.101 ملغم / مل لـ M1 .

وبينت نتائج تقدير الوزن الجزيئي للمركبات النقية بـإستخدام تقنية كروماتوغرافيا العمود بـإستخدام سيفادكس G-100 وعددٌ من البروتينات القياسية ، أن الوزن الجزيئي التقريبي للمركب S1 يساوي 23988 دالتون تقريباً و31622 دالتون تقريباً للمركب L1 و H1 ويساوي 35481 دالتون تقريباً للمركب M1 .

وبينت نتائج حقن الحيوانات المختبرية بتراكيز(75 ، 150 ، 300 ، 600 ،700، 800) ملغم / كغم من المستخلص M الخام عدم هلاك أي حيوان مما يدل على عدم سمية هذا المستخلص .

Abstract

Within the interest in medical uses of marine natural products , two species belong to class Cephalopoda, Loligo sp. and Sepia sp. marked as L & S respectively and two species of snails belong to class Gastropoda, Hexaplex sp. & Murex sp. marked as H & M respectively were chosen .

The study includes extraction of tissue (whole body) of Cuttlefish and Squid using 50 % acetic acid , and using ammonium phosphate (Na2HPO4) for the marine snail .

A preliminary qualitative chemical test were carried out on the extracts and their chemical nature were identified .

The crude extraction were purified by column chromatography using sephadex G-100 . TLC technique were carried out and chemical analysis showed that it consist of one component with constant Rf values .The component marked as H1, M1, L1 & S1 for marine snail and Squid and cuttlefish samples, With using amino acids standard, the extract were found to be rich Proline.

Infrared Spectroscopy of purified extract shows that it contains (-C-OH , N-H) to emphasize on found Proline .

The crude extract showed no Hemolysis and had no effect on human blood corpuscles (RBCs) along the waiting period of eight hours . The spectrum of biological activity of crude and purified extract were broad against the fungi :

Aspergillus flavus , Aspergillus niger ,Candida albicans , Cryptococcus neoformans & Epidermophyton floccosum .

(S) extract has clear effect on E. floccosum and A. niger and (L) extract too but the later has no effect on A. flavus .The inhibition zone of crude extract was more than purified extract .

The minimal inhibitory concentration of S extract was 10 mg/ml on E. floccosum and 50 mg/ml on Cry. neoformans and 70 mg/ml on C. albicans and 100 mg/ml on A .niger & A. flavus . While for pure S1extract was 100 mg/ml for E. floccosum and 200 mg/ml for Cry. neoformans & C. albicans & 300 mg/ml for A .niger & A. flavus .The MIC for (L) crude extract was 10

mg/ml for E. floccosum and 70 mg/ml for Cry. neoformans & C. albicans and 100 mg/ml for A .niger. While the MIC of L1 was 300 mg/ml for A .niger & 300 mg/ml for other fungi . The antifungal susceptibility test of two of antifungal antibiotic, Nystatin & Ketoconazole , were compared with the present results .

The Protein concentration for pure extracts were determined, It was approximately 0.729 mg/ml for S1 ,0.429 mg/ml for H1 , 0.411 mg/ml for L1 & 0.101 mg/ml for M1. The molecular weight of the isolated pure compounds were calculated as well and found to be 23,988 Dalton for S1 and 35,481 Dalton for M1 and 31,622.77 Dalton for L1 & H1.

The M extract was not toxic for experimental mice by using concentration as(800,700,600,300,150,75)mg/Kg .