الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

تأثير مستخلصات بعض النباتات على عدد من الجراثيم الموجبة لملون كرام Streptococcus pyogenes. ,Staphylococcus aureus , والسالبة لملون كرام Klebsiella pneumonia Escherichia coli , وضد فطرية لـ Cryptococcus , Candida albicans neoformans Trichosoporon sp. , Rhodotorula rubra ,

عبدالرضا أكبر علوان المياح سناء جميل ثائر العلقي نجوى محمد جميل علي أبو مجداد
جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة

تم تقييم الفعالية ضد الجرثومية لمستخلصات أربعة أنواع نباتية هي الريحان وعين البزون والجرجير وبذورالحبة السوداء وبثلاث تراكيز هي ٥٠٠ ملغم/ مل , ٢٥٠ ملغم/ مل , ١٢٥ ملغم/ مل ولكل منها المستخلصات المائية المحمضة (٥٠ % حامض الخليك) والكحولية والبيوتانولية على الجراثيم الموجبة لملون كرام *Streptococcus pyogenes.* *Staphylococcus aureus*, , والسالبة لملون كرام *Escherichia coli* *Klebsiella pneumonia* وضد الفطرية لخميرة الـ *Candida albicans* , *Cryptococcus neoformans* , *Rhodotorula rubra* , *Trichosoporon sp.* , بطريقة الأنتشار من الحفر . حيث أظهرت النتائج أن أعلى معدل لأقطار التثبيط وبتركيز ٥٠٠ ملغم/ مل كان للمستخلص المائي المحمض لأوراق الريحان (٥٠ % حامض الخليك) وهو ٤٥,٣ ملم تجاه البكتريا الموجبة لملون كرام *Streptococcus pyogenes.* أما تاثيرها في الفطريات فقد أظهر المستخلص المائي المحمض لبذور الحبة السوداء ١٦,٣ ملم تجاه خميرة *Cryptococcus neoformans* ونتيجة لأعطاء الفاعلية العاليةللمستخلصات المائية والكحولية لنبات الريحان وعين البيزون فعالية عالية لذا حضر مستخلص بيوتانولي لهما , وتبين أن المستخلص البيوتانولي للريحان أعطى أعلى معدل لأقطار التثبيط بلغت ١٩,٦ ملم تجاه بكتريا *Escherichia coli* أما مستخلص عين البزون فقد أظهر فاعليه جيدة تجاه *Streptococcus pyogenes.* أذ كان أعلى معدل لأقطار التثبيط ٢١,٣ ملم ,و أظهر المستخلص البيوتانولي للريحان أعلى معدل لأقطار التثبيط ١٥ ملم تجاه *Rhodotorula rubra* . كذلك أظهر المستخلص البيوتانولي لعين البزون أعلى معدل لأقطار التثبيط ١٢,٦ ملم تجاه خميرة الـ *Streptococcus pyogenes.* , وكذلك عزلت المركبات الثانوية الفينولية والقلويدية وتم أختبار فاعليتها تجاه العزلات آنفة الذكر وبالتراكيز التالية : ٢٠٠ ملغم/ مل , ١٠٠ ملغم/ مل , ٥٠ ملغم/ مل و لم تظهر أي فاعلية تجاه جميع العزلات المختبرة .

فضلاً عن ذلك تم أختبار السمية الخلوية للمستخلصات النباتية وبتركيز ٥٠٠ ملغم / مل تجاه كريات الدم الحمراء إذ لم تظهر أي سمية خلوية لها .

المقدمة

يعد داء الفطار السطحي من اكثر الاصابات الفطرية حدوثاً في الانسان والمتسبب عن انواع مختلفة من الفطريات ومنها الـ *Candida albicans* , *Cryptococcus neoformans* , *Trichosoporon sp.* , *Rhodotorula rubra* ومن اهم الاصابات التي تسببها onychomycosis فطار الاظافر (Midgley وجماعته، ١٩٩٧) فضلاً عن الاصابات الجرثومية المتسببة عن الجراثيم الموجبة والسالبة لملون كرام مثل التهاب اللوزتين و المجاري البولية والتي نواجه في الوقت الحالي مشكلة في علاجها بسبب ظهور المقاومة في العديد من هذه العزلات (Alves وجماعته , ٢٠٠٠) الامر الذي قاد الى البحث عن مصادر علاج جديدة غير المصادر الكيمياوية وكانت الطبيعة هي المصدر التقليدي للمركبات الكيمياوية العضوية المستعملة في الطب (المرياني , ٢٠٠٦) ولاجل الحصول المستمر على مركبات كيمياوية جديدة وأكتشاف الأدوية الشافية تم دمج تقنيات علم الأحياء بكمياء المنتجات الطبيعية لتسهيل الحصول على منتجات طبيعية جديدة ونادرة (الحضري , ٢٠٠٢) وقد أجريت عدة دراسات مسحية حول الفعالية الضد ماكروبية للعديد من النباتات الطبية ومنها الريحان حيث اشار السعدون وجماعته (٢٠٠٧) فاعلية المستخلصات النباتية المائية و الكحولية لنبات الريحان تجاه ١٠ عزلات فطرية بينما بين (Chen , ١٩٩٧ ؛ Hammer , ١٩٩٩ ؛ Abdou وجماعته , ٢٠٠٧ ؛ Hanafy و Hatem , ٢٠٠٧) الفاعلية الضد فطرية و جرثومية للجرجير والريحان وعين البزون والحبة السوداء.

لذا هدفت هذه الدراسة الحالية الى تقييم الفاعلية التثبيطية للمركبات القلويدية والفينولية و لمستخلصات أربع نباتات طبية بأستخدام ثلاث مذيبات مختلفة القطبية وتحديد سميتها الخلوية .

المواد وطرق العمل

أستخدمت في هذه الدراسة أربع عزلات خميرية هي :

الـ *Candida albicans* , *Rhodotorula* , *Cryptococcus neoformans* , *Trichosporon sp.* , *rubra* تعود الى انواع عزلت من مرضى يعانون من اعراض سريرية للاصابة بامراض الفطار السطحي يراجعون مستشفى الزبير العام وبعض المختبرات للتحليلات المرضية في قضاء الزبير للفترة من ٢٠٠٩/١/١-٩/١ / ٢٠٠٩اذ شخصت العزلات الخميرية بالاعتماد على المرجع (McGinnis , ١٩٨٠) وكذلك استخدمت اربع من العزلات الجرثومية ثلاثة منها مرجعية و واحدة سريرية التي تم الحصول عليها من مختبر أبحاث البكتريا – كلية العلوم – جامعة البصرة هي :

Staphylococcus aureus (NCTC 5671) و *Streptococcus pyogenes* و *Escherichia coli* (NCTC 5933) و *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031)

جمع وتصنيف نباتات الدراسة

جمعت أوراق الريحان *Ocimum basilicum L.* والجرجير *Eruca sativa L.* وعين البزون *Vinca rosea L* من منطقة كرمة علي والزبير / محافظة البصرة أما بذور الحبة السوداء *Nigella sativa L* فقد تم الحصول عليها من الأسواق المحلية وصنفت النباتات وحفظت في معشب قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة البصرة BSRA

تحضير المستخلصات المائية المحمضة والأيثانولية والبيوتانولية لنباتات الدراسة

حضرت المستخلصات بأتباع طريقة Harborne (١٩٨٤) والتي تتلخص بوضع ٢٠ غم من الجزء النباتي المجفف والمطحون في أوعية ورقية Thimbles ثم وضعت في جهاز الأستخلاص Soxhelet extractor بأستخدام ٤٠٠ مل من (الماء المحمض ٥٠% حامض الخليك والأيثانول ٩٥% البيوناتول) لتحضير المستخلص ولمدة ٢٤ ساعة . بعدها رشح المستخلص بأستخدام أوراق ترشيح Whatman –No–١ وترك ليجف في طبق بتري بدرجة حرارة المختبر وكررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص النباتي وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مْ لحين الأستخدام .

الكشوفات النوعية للمستخلص المائي المحمض والأيثانولي والبيوتانولي لنباتات الدراسية

أجريت عدة كشوفات نوعية للتعرف على المكونات الكيميائية الأساس للمستخلصات المائية والأيثانولية والبيوتانولية لنباتات الدراسة بالأعتماد على (Harborn , 1984 ; Adedayo وجماعته ، ٢٠٠١) .

أستخلاص المركبات الثانوية

أ- أستخلاص المركبات الفينولية

أتبعت طريقة Gayon (١٩٧٢) حيث وضع ٢٠ غم من المسحوق النباتي في أناء زجاجي سعة ٢٥٠ مل وأضيف ١٠٠ مل من ٢% من حامض الخليك وجرت عملية الأستخلاص بواسطة المكثف العاكس بأستخدام حمام مائي بدرجة حرارة لا تتجاوز ٥٠ مْ ولمدة ٨ ساعات وبعد أنتهاء الأستخلاص ترك المحلول ليبرد ثم رشح بواسطة أوراق ترشيح Whatman –No–١ بعدها أضيف له حجم مساو لحجمه من البرونابول وكمية من كلوريد الصوديوم حتى الأشباع فتكونت طبقتان عزلت الطبقة العليا الحاوية على المركبات الفينولية بأستخدام قمع فصل وجفف بأستخدام المبخر الدوار وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مْ لحين الأستخدام .

ب- أستخلاص المركبات القلويدية

أستخلصت المركبات القلويدية حسب طريقة Harborne (١٩٨٤) حيث أخذ وزن ٢٠ غم من المسحوق النباتي وأستخلص بواسطة المكثف العاكس بأضافة ٢٠٠ مل من الكحول الأثيلي لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٥٠ مْ وبعدها جفف المستخلص بالمبخر الدوار ثم أضيف له ٥ مل من الكحول الأثلي لاذابة المستخلص وبعدها أضيف ٣٠ مل من حامض الكبريتيك ٢% من ثم تم التخلص من الكحول الاثيلي بأستخدام المبخر الدوار مرة ثانية وبهذا يبقى المحلول الحامضي فقط . أضيف له كمية كافية من هيدروكسيد الأمونيوم ١٠% حتى أصبح الأس الهيدروجيني ٩ . بعدها تم أستخلاص المحلول بواسطة قمع الفصل ٤ مرات بأستخدام ١٠ مل من الكلوروفورم في كل مرة . جمع المستخلص الكلوروفورمي وأضيف له ١٠ غم من كبريتات الصوديوم اللأمائية لسحب الرطوبة . ثم أعيد تجفيفه بالمبخر الدوار مرة ثانية , وجمعت المادة القلويدية وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة ٤ مْ لحين الأستخدام .

المسح التمهيدي لمستخلصات نباتات الدراسة والمركبات الفينولية والقلويدية

لأجل التقييم الأولي للمستخلصات والمركبات الفينولية والقلويدية تجاه بعض العزلات الفطرية والجرثومية خلال الدراسة أستخدمت طريقة الأنتشار في الأگار بواسطة الحفر (Mekbib وجماعته , ٢٠٠٧) . وبأستخدام ثلاث تراكيز هي : ٥٠٠ ملغم/ مل , ٢٥٠ ملغم / مل , ١٢٥ ملغم / مل للمستخلصات و ٢٠٠ ملغم / مل و ١٠٠ ملغم / مل و ٥٠ ملغم / مل للمركبات الفينولية والقلويدية وتتلخص الطريقة كما يأتي :-

١- أستخدام وسط أگار ر السابرود ووسط الأگار المغذي (شركة Oxoid) لغرض تنشيط العزلات الفطرية والجرثومية على التوالي وحضنت الفطريات في درجة حرارة ٢٧ مْ ولمدة ٣-٥ أيام أما العزلات الجرثومية فقد حضنت في درجة حرارة ٣٧ مْ ولمدة ٢٤ ساعة .

٢- أخذ شراج ناقل (Loopful) من العالق البوغي ذو التركير ٣ أو ٦ × ١٠^{٦} وحدة تكاثرية / مل المقارنة بأنبوبتي مكفر لاند رقم ١ ، ٢ على التوالي بواسطة Loop وخطط على الوسط الزرعي ثم تركت الأطباق لمدة ساعة واحدة ليجف العالق

مقياس مكفرلاند القياسي Standard McFarland و(Collee وجماعته ,1996)

يتكون من مزج حجوم مختلفة من:

حامض الكبريتيك 1%

كلوريد الباريوم 1%

جدول (1)الحجوم المختلفة لكل من كلوريد الباريوم و حامض الكبريتيك.

رقم الأنبوب	كلوريد الباريوم $BaCl_2$(ml)	حامض الكبريتيك H_2SO_4 (ml)	تركيز الخلايا 10^6/ml×
1	0.1	9.9	3
2	0.2	9.8	6

٣- تم عمل حفرتين بقطر ٦ ملم لكل طبق وأستخدام ثاقب فلين معقم (Cork borer) .

٤- تم أضافة ١٠٠ مايكرو لتر من كل تركيز من المستخلصات والمركبات الفينولية والقلويدية في الحفرة وبأستخدام ماصة دقيقة ذات أغطية معقمة وبحذر شديد لتلافي تناثر المستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي .

٥- حضنت الأطباق بدرجة ٢٧ مْ لمدة ٣- ٥ أيام للعزلات الفطرية وبدرجة ٣٧ مْ لمدة ٢٤ ساعةللعزلات الجرثومية وذلك لملاحظة تكون الهالة الشفافة حول الحفرة والتي تمثل قطر منطقة تثبيط النمو مقاسة بالملم .

السمية الخلوية للمستخلصات النباتية المختارة

أستخدمت كريات الدم الحمراء للأنسان لحساب السمية الخلوية للمستخلصات وذلك طبقاً لطريقة (Xian – guo و Urasella , ١٩٩٤) حيث تم تحضير تركيز ٥٠٠ ملغم / مل من محلول الملح الفسيولوجي phosphate buffer saline لجميع المستخلصات وأستخدم معامل سيطرة موجب يحوي محلول الملح الفسيولوجي فقط ومعامل سيطرة سالب

(ماء حنفية) , تم بعدها وضع ٠,٨ مل من كل المستخلصات في أنبوبة معقمة وأضيف ٠,٢ مل من كريات الدم الحمراء ليصبح الحجم النهائي ١ مل . بعدها حضنت الأنابيب في الحاضنة وبدرجة حرارة ٣٧ مْ ولمدة ٣ ساعة بعدها تم ملاحضة التحليل الدموي Hemolysis .

التحليل الأحصائي Statistical Analysis

أجري التحليل الأحصائي للنتائج بأستخدام برنامج Minitab لاختبار تحليل التباين Anova general line model بأستخدم أقل فرق معنوي معدل (Revised Least Significant Difference) R.L.S.D. لمقارنة المتوسطات .

النتائج و المناقشة

جدول (١) الكشف الكيميائي التمهيدي للمستخلصات النباتية المختارة

المركبات الفعالة لنباتات الدراسة	مستخلصات أوراق الريحان			مستخلصات أوراق عين البزون			مستخلصات أوراق الجرجير		مستخلصات أوراق الحبة السوداء	
الدالة الحامضية	٢,٥	٥	٣	٣	٣	٤	٤	٥	٣,٥	٤
القلويدات	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
الكلايكريدات	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+
الفينولات	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
التانينات	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+
الصابونينات	+	−	−	+	−	−	+	+	+	+
البوكومارينات	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
الكومارينات	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+
الفلافونيدات	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
الراتنجات	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−
الأحماض الأمينية	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

(+) : وجود المركب الفعال

(−) : عدم وجود المركب الفعال

جدول (٢) معدلات أقطار التثبيط (ملم) لأوراق الريحان وعين البزون

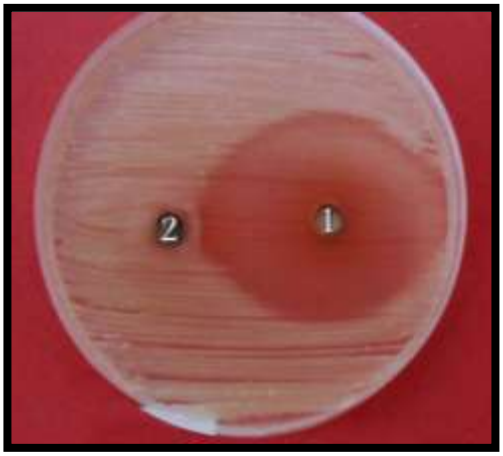
الريحان																								
	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الأيثانولي								المستخلص الميثانولي							
العزلات / التراكيز	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
٥٠٠ ملغم / مل	٥٠	٣٦	٣٠	٣٠	١٧	١٩	١٢	١٥	٢٠	١٥	١٨	١٨	٠	٠	٨	١١	١٠	١٣	٢٣	١٦	٨	٠	٢٥	١٢
٢٥٠ ملغم / مل	٤٦	٣١	٢٦	٢٣	١٥	١١	٩	١٣	١٨	١٠	١٥	١٣	٠	٠	٦	٠	٨	١٢	٢٠	٩	٠	٠	٢٠	٨
١٢٥ ملغم / مل	٤٠	٢٥	٢٠	١٩	١٣	٨	٧	١١	١٥	٨	١٠	٦	٠	٠	٠	٠	٦	١٠	١٦	٧	٠	٠	٠	٦
المعدل	٤٥,٣	٣٠,٦	٢٥,٣	٢٤	١٥	١٢,٦	٩,٣	١٣	١٧,٦	١١	١٤,٣	١٢,٣	٠	٠	٤,٦	٣,٦	٨	١١,٦	١٩,٦	١٠,٦	٢,٥	٠	١٥	٨,٦
عين البزون																								
	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الأيثانولي								المستخلص الميثانولي							
العزلات / التراكيز	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
٥٠٠ ملغم / مل	١٥	٢٢	١٥	١٦	٠	٠	٠	٠	١٩	٢٤	١٠	١٥	٠	٠	١٠	٨	١٠	٢٥	١٦	٢٣	١٦	١٦	١٢	١٧
٢٥٠ ملغم / مل	١٣	١٩	١٢	١٣	٠	٠	٠	٠	١٦	٢١	٨	١٣	٠	٠	٦	٥	٨	٢١	١٢	١٣	١٥	١٤	١١	١٠
١٢٥ ملغم / مل	١٠	١٥	١٠	٩	٠	٠	٠	٠	١٢	١٧	٦	١٠	٠	٠	٠	٠	٧	١٨	١٠	٩	٠	٨	٣	٨
المعدل	١٢,٦	١٨,٦	١٢,٣	١٢,٦	٠	٠	٠	٠	١٥,٦	٢٠,٦	٨	١٢,٦	٠	٠	٥,٣	٤,٣	٨,٣	٢١,٣	١٢,٦	١٥	١٠,٣	١٢,٦	١٠,٦	١١,٦

- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : *Staphylococcus aureus* =St ، *Streptococcus pyogenes* =Sr ، *Escherichia coli* =E ، *Klebsiella pneumonia* =K
- العزلات الخميرية: *Candida albicans* =Ca ، *Cryptococcus neoformans* =Cr ، *Rodotorula rubra* =R ، *Trichosporon sp.* =T
- R.L.S.D للتراكيز = ٠,٣٢٤ ، R.L.S.D للعزلات = ٠,٥٢٩ ، R.L.S.D المستخلصات = ٠,٣٢٤ ، R.L.S.D لنوع النبات = ٠,٢٦٤

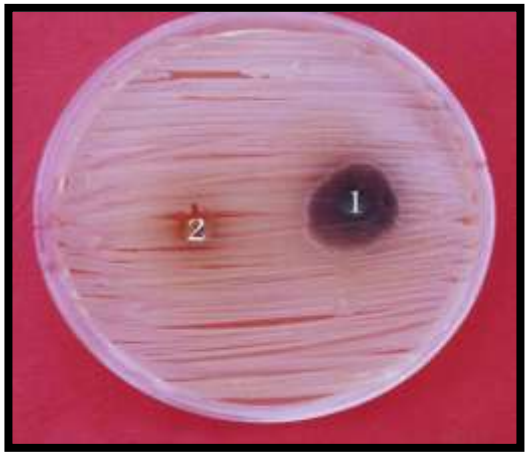
جدول (٣) معدلات أقطار التثبيط (ملم) لأوراق الجرجير والحبة السوداء

الحبة السوداء																
	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الأيثانولي							
العزلات / التراكيز	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
٥٠٠ ملغم / مل	٢٣	٢٥	١٥	٢٠	٠	٢٢	١٥	٠	٨	٢١	١٠	١٥	٠	٠	١٣	٠
٢٥٠ ملغم / مل	١٨	٢٠	٩	١٧	٠	١٧	١٣	٠	٦	١٧	٨	١٣	٠	٠	١٠	٠
١٢٥ ملغم / مل	١٥	١٥	٧	١٠	٠	١٠	٩	٠	٠	١٥	٠	٩	٠	٠	٧	٠
المعدل	١٨,٦	٢٠	١٠,٣	١٥,٦	٠	١٦,٣	١٢,٣	٠	٤,٦	١٢,٦	٦	١٢,٣	٠	٠	١٠	٠
الجرجير																
	المستخلص المائي المحمض								المستخلص الأيثانولي							
العزلات / التراكيز	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T	St	Sr	E	K	Ca	Cr	R	T
٥٠٠ ملغم / مل	٦	١٠	١٥	٢٠	٠	٠	٨	١٣	١٠	١٨	١٠	٠	٠	٠	١٠	٧
٢٥٠ ملغم / مل	٠	٨	١٣	١٨	٠	٠	٦	١١	٧	١٥	٨	٠	٠	٠	٦	٠
١٢٥ ملغم / مل	٠	٦	٧	١٤	٠	٠	٠	٧	٠	١١	٠	٠	٠	٠	٠	٠
المعدل	٢	٨	١١,٦	١٧,٣	٠	٠	٤,٦	١٠,٣	٥,٦	١٤,٦	٦	٠	٠	٠	٥,٣	٢,٣

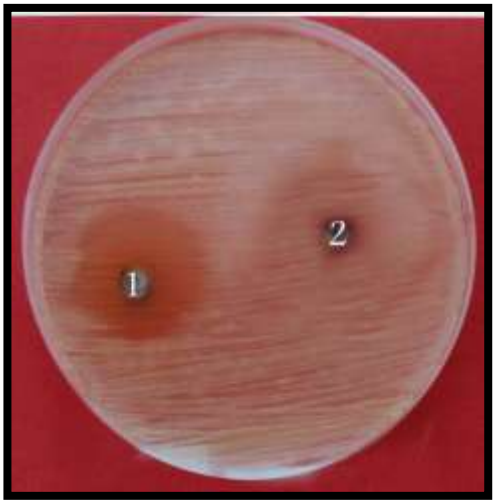
- كل قيمة هي معدل لثلاث مكررات
- العزلات الجرثومية : St= *Staphylococcus aureus* ، Sr= *Streptococcus pyogenes* ، E= *Escherichia coli* ، K= *Klebsiella pneumonia*
- العزلات الخميرية: Ca= *Candida albicans* ، Cr= *Cryptococcus neoformans* ، R= *Rodotorula rubra* ، T= *Trichosporon sp.*
- R.L.S.D للتراكيز = ٠,٢٥ ، R.L.S.D للعزلات = ٠,٤١٨ ، R.L.S.D للمستخلصات = ٠,٢٠٩ ، R.L.S.D لنوع النبات = ٠,٢٠٩



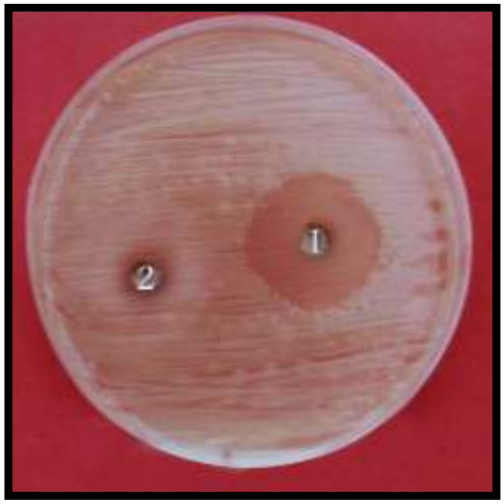
a- *Staphylococcus aureus*



b- *Klebsiella pneumonia*



d- *Streptococcus pyogens*



c- *Streptococcus pyogens*

لوحة (١) : اعلى معدلات اقطار التثبيط لمستخلصات نباتات الدراسة تجاه العزلات الجرثومية

a- تأثير المستخلص المائي المحمض لاوراق الريحان تجاه *Staphylococcus aureus*

b- تأثير المستخلص المائي المحمض لاوراق الجرجير تجاه *Klebsiella pneumonia*

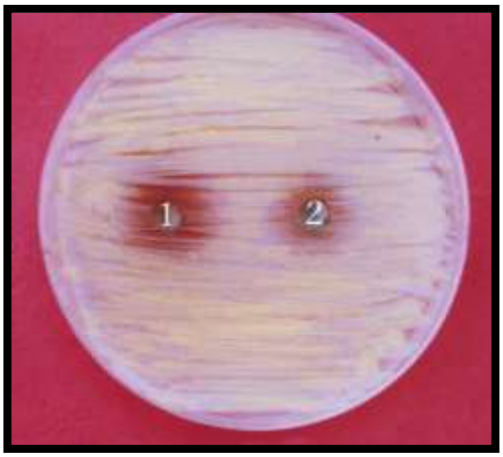
c- تأثير المستخلص المائي المحمض لبذور الحبة السوداء تجاه *Streptococcus pyogens*

d- تأثير المستخلص البيوتانولي لاوراق عين البزون تجاه *Streptococcus pyogens*

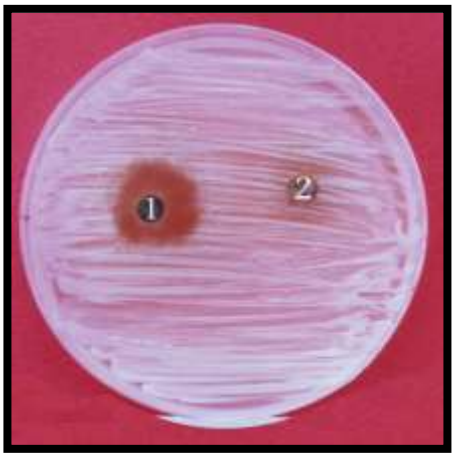
التركيز (١): ٥٠٠ ملغم/مل

(٢):سيطرة

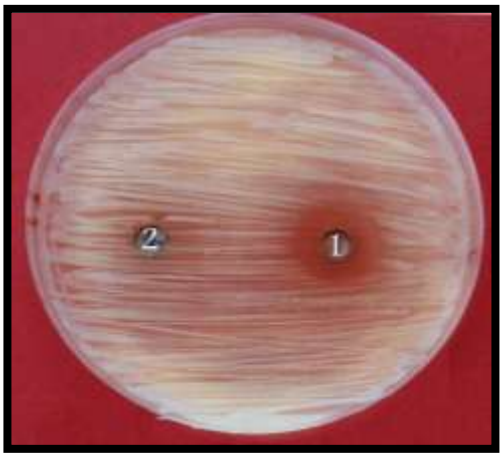
a- *Rhodotorula rubra*



b- *Trichosporon sp*



c- *Cryptococcus neoformans*



b- *Trichosporon sp*

لوحة (٢) : اعلى معدلات اقطار التثبيط لمستخلصات نباتات الدراسة تجاه العزلات الفطرية

a- تأثير المستخلص البيوتانولي لاوراق الريحان تجاه *Rhodotorula rubra*

b- تأثير المستخلص المائي المحمض لأوراق الجرجير تجاه *Trichosporon sp.*

c - تأثير المستخلص المائي المحمض لبذور الحبة السوداء تجاه *Cryptococcus neoformans*

d- تأثير المستخلص البيوتانولي لاوراق عين البزون تجاه *Trichosporon sp*

التركيز (١): ٥٠٠ ملغم/مل

(٢):سيطرة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (جدول ١) أحتواء نباتات الدراسة على أغلب المركبات الفعالية التي تم الكشف عنها ومنها القلويدات , الفينولات والفيوكومارينات وغيرها من المركبات الأخرى ولكن أظهر الخليط (ماء + حامض الخليك) ٥٠% قابلية أكبر على أذابة المركبات الفعالة مقارنة بكحول الأيثانول والبيوتانول وقد يعزى السبب الى أن أستخدام الخليط من مذيبين بدلاً من مذيب واحد يجعل من عملية الأستخلاص أكفأ أذ يمكن لهذا الخليط أستخلاص مركبات فعالة أكثر مقرنة فيما لو تم أستخدام أحدى المذيبين على حدة ؛ أذ أن الماء مذيب قطبي لا عضوي وحامض الخليك مذيب عضوي أقل قطبية من الماء فعندما تم مزجهما معاً أصبح للخليط القابلية على أذابة المركبات الفعالة العضوية والقطبية والتي قطبيتها مشابهة لقطبية الخليط (تريز و إفانز , ٢٠٠٣) وتتفق نتائج هذه الدراسة مع (الموسوي , ٢٠٠٦) حول قابلية الماء المحمض على أذابة أكثر المركبات الفعالة .

كذلك بينت نتائج الدراسة الحالية(جدول ٣،٢ ولوحة٢،١) فعالية مستخلصات النباتات المختارة تجاه العزلات الجرثومية والخمرية المختبرة إذ بتركيز ٥٠٠ ملغم / مل كان أعلى معدل لقطر التثبيط ٥٠ ملم للمستخلص المائي المحمض لأوراق الريحان تجاه الجرثومة*Staphylococcus aureus* وللمستخلصين البيوتانولي لأوراق نبات عين البزون والمائي المحمض لبذور الحبة السوداء ٢٥ ملم تجاه جرثومة *Streptococcus up.* وللمستخلص المائي المحمض لأوراق نبات الجرجير ٢٠ ملم تجاه جرثومة *Klebsiella pneumonia* . أما أعلى معدلات لأقطار التثبيط تجاه العزلات الخمرية فكانت للمستخلص البيوتانولي لأوراق الريحان ٢٥ ملم تجاه *Rhodotorula rubra* وللمستخلص البيوتانولي لأوراق عين البزون والمستخلص المائي المحمض لأوراق الجرجير تجاه *Trichosporon sp.* وكانت (١٣،١٧) ملم على التوالي أما المستخلص المائي المحمض لبذور الحبة السوداء فكان ٢٢ ملم تجاه *Cryptococcus neoformans* .

وقد تبين من النتائج أن تأثير المستخلصات النباتية تجاه العزلات المختبرة يقل كلما قل تركيزها وتتفق هذه النتائج مع (Hammer وجماعته , ٢٠٠٣) .

ويوضح الجدول (٣،٢) أن المستخلصات المائية المحمضة كانت أكثر فاعلية تجاه العزلات المختبرة وقد يعود السبب الى قابلية الخليط على أذابة المركبات الفعالة أكثر لنفس السبب المذكور أعلاه أو ربما الى أنخفاض دالته الحامضية جدول (١) بسبب أحتواء نباتات الدراسة على الحوامض النباتية ومنها Caprylic acid ، Oleanic acid ، Ursolic acid ، Capric acid (Rizk و El-Ghazaly , ١٩٩٥) ، أذ أن الحامضية تعمل على تغيير طبيعة البروتينات في الأغشية الخلوية ومنها الأنزيمات فتفقد وظيفتها ما يؤدي الى تهشم الغشاء الخلوي وقتل الخلية الجرثومية أو الفطرية (الصراف ، ١٩٩٥) كذلك بينت النتائج أن أوراق نبات عين البزون والريحان أظهرت مستخلصاتها المائية المحمضة والأيثانولية فاعلية تثبيطية أكثر من مستخلصات أوراق الجرجير وبذور الحبة السوداء لذا حضرت مستخلصات بيوتانولية لهذه النباتات ؛ إذ أظهر المستخلص البيوتانولي لأوراق عين البزون فاعلية تثبيطية أعلى من المستخلص المائي المحمض والأيثانولي تجاه العزلات المختبرة وقد يعزى السبب الى أحتواء هذا النبات على مركبات فعالة ذات قابلية على الذوبان بالبيوتانول قليل القطبية أكثر من الماء المحمض والأيثانول مثل القلويدات الفينولات

الفيوكمارينات وأصبح تركيزها أعلى في هذا المستخلص مما أدى الى أظهاره فاعلية تثبيطية أكثر (ساجدي وعلي ، ١٩٨٧) .

أما مستخلص البيوتانولي لأوراق الريحان فقد أظهر أعلى فاعلية تثبيطية تجاه خميرة الـ *Rhodotorula rubra* وقد يعود السبب الى أحتواء هذه الخميرة على مستقبلات خاصة للمركبات الفعالة التي يذيبها البيوتانول مقارنة ببقية العزلات الخمرية والجرثومسية (Phongpaichit وجماعته , ٢٠٠٤).

ومن نتائج التحليل الاحصائي واختبار اقل فرق معنوي معدل بين المتوسطات ظهر وجود فروق معنوية وبفارق عالٍ في المعنوية ($p<0.05$) بين المستخلصات النباتية للنباتات الأربعة تجاه الثمان عزلات المختارة وكان نبات الريحان أكثر فاعلية بايلوجية يليه الحبة السوداء ثم عين البزون و الجرجير اما بالنسبة للمستخلصات فقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية وبفارق عالٍ في المعنوية ($p<0.05$) تفوق المستخلص المائي المحمض على المستخلصين الايثانولي و البيوتانولي في الفاعلية البايلوجية بينما بالنسبة لحساسية العزلات المختارة كانت الجرثومة *Streptococcus pyogenes*. اكثر تحسس بالمستخلصات وللنباتات الاربعة .

كذلك بينت النتائج و بصورة عامة ان الفطريات كانت اقل حساسية تجاه المستخلصات النباتية مقارنةً بالجراثيم وقد يعود السبب الى اختلاف مكونات الجدار الخلوي للخمائر اذ تحوي الخمائر على الكايتين ومكونات اخرى تجعل جدارها اكثر سمك و اكثر مقاومة للمستخلصات مقارنة مع الجراثيم (Kiple , ١٩٩٧).

واخنبرت الفعالية الضد مايكروبية للمركبات الفينولية و القلويدية الخام لجميع نباتات الدراسة وبثلاث تراكيز هي : ٢٠٠ ملغم / مل , ١٠٠ ملغم / مل , ٥٠ ملغم / مل ولم يلاحظ أي فاعلية تثبيطية تجاه جميع العزلات المختبرة وقد يعود السبب الى عدم فصل و تنقية و تشخيص مركب فينولي او قلويدي بشكل نقي و اختبار قابليته التثبيطية اذ قد يؤدي تواجد المركبات الفينولية او القلويدية بشكل خام الى تاثير احد المركبات على الاخر بشكل سلبي او ان تواجد القلويدات و الفينولات في المستخلصات المائية المحمضة او الكحولية الخام تؤدي عمل تازري سوية مما يزيد من تاثيرها التثبيطي افضل من فصلها على حدة (Al-Rawi , ١٩٨٨).

أو ربما يعود السبب الى وجود مركبات فعالة أخرى أعطت كشف موجب خلال الدراسة الحالية مثل التانينات أذ ذكر (Tylor وجماعته ، ١٩٩٦) أن التنينات ترتبط مع بروتينات الخلية وتكون أواصر هيدروجينية وأيونية وتساهمية فضلاً عن تحليل الدهون في الأغشية الخلوية وتعمل ثقوب في جدار الخلية وأخراج محتوياتها الداخل خلوية ثم موت الخلية الحية وتتفق نتائج داستنا الحالية حول الفعالية الضد مايكروبية لمستخلصات نبات الريحان وعين البزون والجرجير والحبة السوداء مع (Zeianab وجماعتها , ٢٠٠١ ؛ Nayak و Pereira , ٢٠٠٢ ؛ Badee وجماعته , ٢٠٠٣ ؛ Rajakaruna وجماعته , ٢٠٠٦)

لم تظهر جميع المستخلصات النباتية وبتركيز ٥٠٠ ملغم/مل أي سمية خلوية تجاه كريات الدم الحمراء , وفي ضل الأستخدام الواسع للنباتات التقليدية كعقاقير مضادة للمايكروبات فأن عدم سميتها على خلايا المضيف تصبح ضرورية جداً أذ تعد هذه طريقة سهلة التطبيق وغير مكلفة وسريعة النتائج وتعد الخطوة الأولى أذا كانت أيجابية للأستمرار في أستخدام المستخلصات كعقاقير أما أذا كانت سلبية

فـيمكن التوقـف وبأقـل خسـارة ممكنـة (Ahmed وجماعته ، ١٩٩٨)

المصادر العربية

- تريـز وأيفـانز . (٢٠٠٣) . علـم العقـاقير . ترجمـة : السعيد , منصور بن سليمان ؛ اليحيى , محمد بن عبدالعزيز ؛ أغا , محمد عصام حسن و عمرين عبدالناصر . مطبعة دار القلم . بيروت .
- الحضري , أمين زكي . (٢٠٠٢) . العلاج بالأعشاب والنباتـات الطبيـة . مكتبـة مـدبولي المصـرية . القاهرة .
- ساجدي, عادل جورج وعلي ,علاء يحيى محمد(١٩٨٧) . الميكـر وبيـو لـو جـي الصـناعي (أساسـيات التخمـرات الصـناعة) . الجـزة الأول . مطبعـة جامعة البصرة . ٥٥٢ صفحة .
- السـعدون , عبداللـة حمـود ؛ الميـاح , عبدالرضـا اكبـر علوان و ابومجداد , نجوى محمد جميل (٢٠٠٧). المسح التمهيدي لتقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتيـة الخـام تجـاه بعض الفطريـات المسببة لداء الفطـار السـطحي .مجلـة البصـرة للعلـوم . المجلـد (٢٥), العدد (٢) :١٦٤-١٨٣ صفحة .
- الصـراف, عبدالحسـن محمـد جـواد (١٩٩٢) . النشـرة الأرشـادية فـي زراعـة الكجـرات . الهيئـة العامـة للخدمات الزراعية ، وزارة الزراعة . العراق
- المريـاني , مهـدي سـيد شـخينب (٢٠٠٦) . عـزل وتشـخيص الفطريـات المصـابة لـبعض الأشـاب الطبية المستخدمة في العراق وأختبار قدرة عزلات الفطـر *Aspergillus flaves* علـى أنتـاج الأفلاتوكسينات رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة البصرة ٦٧ صفحة .
- الموسوي , علا محمد نور عبد الله . (٢٠٠٦) . دراسـة الصـفات التثبيطيـة والكيميائيـة لمركـب Vinblastine المستخلص من نبات *Vinca rosea* فـي السـلالات البكتريـة . رسـالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة .

المصادر الاجنبية

- **Abdou , A.; Abou –Zeid , A.A.; El-Sherbeeny, M.R_ and Abou – Elgheat,Z.H.(2007).** Antimicrobial activity of *Allium sa -um Allium cepa , Raphanus sativus , Capsicum frutescens . Eruca sativa , Alium kurrat* . Plant food for Human Nutrition J. 22(1):29-35,
- **Adedayo , O. ;Anderson , W.A. ; Moo-Young , M. ; Sncickus . V. ; Patil , P.A. & Kolawole , D.O. (2001).** Phytochemistry and anti bacterial activity of *Senna alata* flower.Pharmaceutical Biology 39:1-5 .
- **Ahmed , I. ; Mehmood,Z . & Mohammad, F.(1998).** Screening of some Indian Medicinal plants for their anti microbial –properties. J. Ethnopharmacole.62: 183-193.
- **Al-Rawi , A. (1988).** Poisonous plants of Iraq. 3`d ed. Al-Yakada. Baghdad. 138 p.
- **Alves , M.A. ; Silda, A.F. ;Drandao , M. :Grandi , T. S.M . ; Smania, E.F.A. ; Junior , A.S. & Zani , C.L. (2000)** . Biological screening of Brazilian medical plants. Men. Inst. Oswaldo. Cruz, Riodejanerio. 95(3) : 367-373.
- **Badee , A.Z.M. ; Hallabo , S.A. and Aal , M.A.A.(2003).** Antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian *Eruca sativa* seed volatiles oil . Egyptian Journal of food science . 31(1):7988.
- **Chen , K. (1997).** Antimicrobial activity of *Vinca rosea .J.* Med.Chem. 40 : 2266-2275.
- **Collee , J. ;Fraser , A. ; Marmion , B. & Simon , A. (1996)** .Makie and McCartney practical medical microbiology . 14th ed. Churchill Liverstone . New York .978p .
- **Gayon , G.A. (1972).** Plant phenolic. Oliver and Boyed Edinburg .254 p.

, M. (2004). Antifungal activity from leaf extracts of *Cassia alata* L , *Cassia fistula* L., *Cassiatotra* L.Songklanakarin .J.Sci.Technol.26(5):741-748.

- **Rajakaruna , N. ; Harris , C.S. and Towers , G. H.N.(2002).** Antimicrobial activity of plants collected from Serpentine outcrops in Srilanka .Pharmaceutical Biology .J.40 (3) : 235-244.
- **Rizk , A.M. and El-Ghazaly , G.A. (1995)** Medicinal and poisonous plants of Qatar . University of Qatar , Scientific and applied Research Center , Doha , Qatar . 306 p .
- **Tylor , R.S. ; Manadhar , N.P. ; Hudson , J. B. & Towers , G.H.N. (1996).** Anti microbial activity of Nepalese medicinal plants . J.Ethnopharmacol . 52 : 157-163 .
- **Xian-guo, H and Urasella, M. (1994).** Antifungal compound from *Solanum nigrum* . J . Ethnopharm. 43 : 173-177.
- **Zeinab , E.M. ; Farrag , H.A. ; El-Fouly , M. and El-Tablawy , S. (2001).** Inhibition effect of gamma radiation and *Nigella sativa* seed oil on growth spore germination and toxic production of fungi radiation . J. Physics and Chemistry . 60 : 181-189.
- **Hammer , K. A. ; Carson C.F. & Riley , T. V. (1999).** Anti microbial activity of essential oils and other plant extracts. J.Applied. Microbiol. 86 :985-990.
- **Hammer , K. A. ;Carson C. F. & Riley J. V. (2003).** Anti fungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil . J. Appli. Microviol. 86: 446-452.
- **Hanafy , M.S. and Hatem , M.E. (2007).** Studies on antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin **J.** Ethnopharmacol .34:275-278.
- **Harborn , J.B. (1984)** . Phytochemical methods aguide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed. Chapman and Hall . Locd= , New York . 288p.
- **Kiple,K.(1997).** Medical mycology . Academic press , NewYork.259-273p.
- **McGinnis , M.R. (1980) .** Laboratory Hand book of Medical Mycology .Academic press , NewYork , 661p
- **Mekbib , S.B.; Regnier , T.J.C. Zeeman , C.A.M. and Korsten , L.(2007)** *In Vitro* antimicrobial assay of some medicinal plants from Ethiopia against plant and food – borne pathogens .Pretoria University press , Pretoria .97-128 Pp .
- **Midgley , G.;Clayton , Y.M. & Hay, R.J.(1997)** . Diagnosis in color medical mycology. Mosby- wolfe , an imprint of mosby international , Spain 155 p.
- **Nayak , B.S. and Pereira , L.M.P.(2006).** *Catharanthus rosetis (Vinca rosea)* flower extract has wound – healing activity in Sprague Dawley rats . BMC Complementary and alternative medicine . 6 (41) : 1-3 .
- **Phongpaichit , S.; Pujenjob , N. ; Rukachaisirikul , V. and Ongsakul**

The effect of some medicinal plants extracts against bacteria *Staphylococcus aureus , Streptococcus pyogenes , Escherichia coli , Klebsiella pneumonia* and the yeasts *Candida albicans , Cryptococcus neoformans , Rhodotorula rubra , Trichosporon sp.*

Abd Ul-Ridha Akbar Alwan Al-Meyah Sanaa Jameel Thamer Al-Alag

Najaw Mohammed Jameel Ali Abu-Mejdad .

Biology Department-Collage of Science – University of Basrah .

Abstract

Antibacterial and antifungal effect of four medicinal plants extracts namely : *Ocimum basillicum* L , *Vinca rosea* L , *Eruca sativa* L and *Nigella sativa* L were tested . Three concentrations 500 mg/ml , 250 mg/ ml and 125 mg/ml of 50% water – acetic acid , alcoholic and butanolic extracts were prepared and tested against the bacteria *Staphylococcus aureus , Streptococcus pyogenes , Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia ,* and the yeasts *Candida albicans , Cryptococcus neoformans , Rhodotorula rubra* and *Trichosporon sp.* Agar wells diffusion method was used .

The results showed that the highest inhidition diameters (45.3)mm in 500 mg/ ml concentration was for the acidic water extract of *Ocimum basillicum* L leaves against gram positive bacteria *Streptococcus pyogenes* . But it was 16.3 mm for the acidic water extract of *Nigella sativa* L seeds against *Cryptococcus neoformans* . On the other hand the butanolic extracts showed highest inhibition against *Escherichia coli* (19.6)mm and *Rhodotorula rubra* (15)mm , while the butanolic extracts of *Vinca rosea* L had highest inhibition against *Cryptococcus neoformans* (12.6)mm and *Streptococcus pyogenes* . (21.3)mm .

Alkaloids and phenolic compounds were extracted and their biological activity effect against above isolates were tested , and the results did not show any inhibitory against isolates in the three concentrations 200 mg/ ml , 100 mg/ ml and 50 mg/ ml .

Also no sign for any cytotoxicity against red blood cells had been shown for all types of extracts in concentration 500 mg/ ml .