

## دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات الآس *Myrtus communis* في بعض انواع البكتيريا المرضية

شيماء نعيمش مزعل  
كلية العلوم /الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2008/8/6 - تاريخ قبول البحث 2009/4/15

### ABSTRACT

Explored about The active groups in the leaves of *Myrtus communis* aqueous extract that contains tannins, flavonoides, glycosides, oil, resins, saponin and phenolic. The effect of cold and hot aqueous extract on some pathogenic bacteria was studied also , the results showed that the *Myrtus communis* aqueous extract has wide spectrum anti-bacterial effect on gram positive and gram negative bacteria by using agar diffusion method and the hot aqueous extract of leaves was more active when compared with the cold aqueous extract as well as The gram negative bacteria less effect than the gram positive bacteria.

### الخلاصة

تم الكشف عن المجاميع الفعالة الموجودة في المستخلص المائي لأوراق نبات الآس و الحاوي على التانينات، الفلافونويدات، الكلايكوسيدات، الزيوت الطيارة، الراتنجات، الصابونيات والفينولات. حيث تم دراسة تأثير المستخلص المائي البارد والحر في بعض انواع البكتيريا المرضية ضمن التراكيز (3,6,12,24)% واطهرت النتائج ان لنبات الآس مدى واسع من الفعاليه المضادة للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام وذلك باستخدام طريقة الانتشار عبر الحفر واطهر المستخلص المائي الحار لأوراق الآس فعالية افضل مقارنة بالمستخلص المائي البارد بينما كان تأثير المستخلص ذاته في البكتريا السالبة اقل من الموجبة.

### المقدمة

ظهر في السنوات الاخيره اتجاه متزايد في استعمال الاعشاب الطبيه فرضته عدة عوامل منها خلو النباتات من الاثار الجانبية التي تسببها المواد الكيميائية الصناعيه و كذلك التقدم العلمي الذي وفر فعالية في حفظ النباتات الطبية (1) . ومن هذه المواد الطبيعيه هي الفلافونويدات و هي عباره عن مركبات متعددة الفينول تذوب بالماء و يكثر وجودها في الاجزاء النباتيه كالثمار و الجذور و الاوراق و لها نشاطات فسيولوجيه متعددة منها عملها كمضادات للفطريات و البكتريا و الفايروسات(2)

يعد نبات الآس *Myrtus communis* مهما من الناحيه الطبيه و ينتمي للفصيله الآسيه Myrtaceae و هي عباره عن شجيرات صغيره دائمه الخضره تنمو غالبا في الاماكن الرطبه و الظليه و للنبات افرع كثيره تحمل اوراق جلديه القوام ذات رائحه عطريه فواحه تحمل الاغصان ازهار بألوان بيضاء و له ثمار لبيه سوداء و هوه نبات دائم الخضره و يتكاثر بالعقل والبذور(3).

يحتوي النبات على مواد كيميائيه مثل الزيوت الطياره و اهمها السينيول، الغاباينين، مارتينول، ليمونين، الفاتربينول، جيرانيول و مايرتول و يحتوي كذلك على مواد عفصيه (3). وقد تم عزل مادتين من اوراق الآس Myrto و Myrto commulone-A و Myrto commulone-B حيث كان لها فعاليه واسعه ضد البكتريا الموجبه لصبغه غرام(4).

## المواد و طرائق العمل

- 1- جمع عينات الدراسة:-  
تم جمع عدد من العزلات البكتيرية من مختبرات قسم علوم الحياة في الجامعة المستنصرية و كانت البكتيريا المعزولة هي *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus* , *E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* و تم اجراء فحص الحساسيه لها
- 2- جمع العينات النباتيه:-  
جمعت اوراق نبات الأوس *Myrtus communis* من حدائق الجامعة المستنصرية خلال شهر تشرين الاول.غسلت الاوراق و تركت لتجف بدرجة حراره الغرفه مع مراعاة تقليب الاوراق بين فتره و اخرى و طحنت بواسطة مطحنه كهربائيه( Electric blender) و حفظت في مكان جاف لحين الاستعمال.
- 3- طريقه تحضير المستخلص المائي البارد للنبات:-  
استخدمت طريقه ( 5 ) في تحضير المستخلص المائي البارد لنبات الأوس و كالآتي:-  
- وزن 15 غم من مسحوق النبات و وضع في دورق معقم و اكمل الحجم الى 250مل باستخدام الماء المقطر وضعت الدوارق في حاضنه هزازه لمدة 24 ساعه و بدرجة حراره 35م رشح محتوى الدورق بورقه ترشيع (whatman No.1) عرض الراشح الى الانتباز بقوة 2500 دوره\الدقيقه لمدة 10 دقيقه بجهاز المنبذه ثم جفف الراشح بتعريضه للجو للحصول على ماده صلبه (المستخلص الخام).
- 4- طريقه تحضير المستخلص المائي الحار للنبات:-  
استخدمت طريقه ( 6 ) في تحضير المستخلص المائي الحار و كالآتي:-  
- سخن حجم 250 مل من الماء المقطر في دورق لدرجه الغليان ثم اضيف 15 غم من مسحوق النبات اليه ثم ترك ليبرد في حراره الغرفه ثم رشح محتوى الدورق بورق ترشيع نوع (Whatman No.1) عرض الراشح الى الانتباز بقوة 2500 دوره\دقيقه لمده 10 دقائق بجهاز المنبذه ثم جفف الراشح بتعريضه للجو للحصول على ماده صلبه(المستخلص الخام).
- وزن (24,12,6,3)غم من المستخلصات الجافه و اكمل الحجم الى 100 مل باستخدام الماء المقطر للحصول على تراكيز نهائيه (24,12,6,3)% عقت محتويات الدوارق بواسطه Millipor Filter (0.2ملم) و حفظت بدرجة حراره 4 م لحين الاستعمال.
- 5- دراسه تأثير مستخلصات نبات الأوس في نمو البكتيريا:-  
بعد ان حضرت التراكيز النهائيه للمستخلصين المائين(الحار و البارد) وهي(24,12,6,3)% استخدمت طريقه الانتشار عبر الحفر The agar diffusion method لملاحظه تأثير التراكيز اعلاه للمستخلصات النباتيه ضد البكتيريا.  
وتم تحضير العالق البكتيري لكل عزله لقح وسط الاكار المغذي بكميه 0.1 مل من العالق البكتيري و نشر بواسطه الناشر المعقم و عملت 5 ثقوب بواسطه الثاقب الفليني المعقم بقطر 6 ملم و اضيف في كل حفره 1.0 مل من التراكيز المحضره للمستخلص النباتي.  
وضع 1.0 مل من الماء المقطر المعقم في احدى الحفر الخمسه كمجموعه سيطره حفظت الاطباق بدرجة حراره 37م و لمده 24 ساعه بعدها تم قياس منطقه التنشيط حول كل حفره بالمليمتر(7).

**التحليل الاحصائي:-**

تم تحليل النتائج المستمدة من تجارب المستخلص النباتي على نمو البكتيريا بطريقة التحليل الاحصائي للاختلافات (ANOVA) وعند مستوى احتمالية (0.05).

**الكشف الكيميائي عن بعض المركبات الفعالة في مستخلص نبات الآس**

1-الكشف عن التانينات:- Tanins  
غليت 10 غم من المسحوق النباتي في 50 مل من الماء المقطر ترك المحلول يبرد ثم رشح . اضيف الى الراشح 1% خلات الرصاص يظهر راسب ابيض هلامي وهذا دليل على وجود التانينات (8).

2-الكشف عن الراتنجات :- Resins  
وزن 10 غم من المسحوق النباتي واضيف له 50 مل من الكحول الايثيلي بتركيز 95% وضع المحلول في حمام مائي يغلي لمدة دقيقتين رشح المحلول واضيف الى الراشح 100 مل من ماء مقطر محمض بحامض الهيدروكلوريك بتركيز 4% يستدل على وجود الراتنجات ظهور عكورة (8).

3-الكشف عن الكلايكوسيدات :- Glycosides  
استخدم كاشف بندكت والذي يتكون من اذابة 137 غم من سترات الصوديوم Sodium citrate و 100 غم من كاربونات الصوديوم المائية Monohydrate sodium carbonate في 800 مل ماء مقطر رشح المحلول واضيف له محلول كبريتات النحاسيك curpric sulfate (17.3 غم في 100 مل ماء مقطر) واكمل الحجم النهائي الى 1000 مل ماء مقطر وضع 1 مل من المستخلص النباتي في انبوبة اختبار واضيف له 2 مل من كاشف بندكت وضعت الانبوبة في حمام مائي يغلي لمدة عشرة دقائق بردت الانبوبة يستدل على الكشف الموجب بظهور راسب احمر (9).

4-الكشف عن الصابونيات:- Saponin  
يتم بتحضير 5 مل من المستخلص المائي للنبات يضاف له 1-3 مل من محلول كلوريد الزئبق (Mercuric chloride) يستدل على ظهور راسب ابيض بوجود الصابونيات (8).

5-الكشف عن الفينولات :- Phenolics  
يستخدم محلول كلوريد الحديدك (ferric chloride) بتركيز 1% يعطي هذا الكشف لونا اخضر او ازرق عند مزجه مع محاليل حاوية على المركبات الفينولية (9).

6-الكشف عن القلويدات :- Alkaloid  
وزن 10 غم من المسحوق النباتي ووضع في دورق اكمل الحجم الى 50 مل ماء مقطر محمض بنسبة 9% حامض الهيدروكلوريك. وضع الخليط في هزاز كهربائي لمدة 10 دقائق ثم رشح .وضع 0.5 مل من الراشح في زجاجة ساعة واضيفت له قطرات من كاشف دراجندروف (Dragendroff) والمحضر حسب الطريقة التي ذكرها (9).

7-الكشف عن الفلافونويدات:- Flavonoides  
اعتمدت طريقة (10) تم تحضير محلول الكشف بمزج حجوم متساوية من الايثانول بتركيز 50% و KOH بتركيز 50% ثم مزج حجوم متساوية من هذا المحلول و المستخلصات النباتية اذ يدل ظهور اللون الاصفر على وجود الفلافونويدات.  
8-الكشف عن الزيوت الطيارة:-

رشح 10 مل من كل مستخلص من المستخلصات النباتية ثم عرضت ورقة الترشيح الى مصدر للاشعة فوق البنفسجية يدل ظهور اللون الوردي البراق على وجود الزيوت الطيارة (11).

## النتائج و المناقشة

### المواد الفعالة في نبات الآس :-

بعد الكشف الكيميائي للمستخلص المائي لنبات الآس لوحظ انه يحتوي على العديد من المواد الفعالة وكما موضح في جدول (1) ومنها الفلافونويدات والكلايكوسيدات والتانينات وهذا يتفق مع ما توصل اليه (12). اضافة الى احتوائه على الزيوت الطيارة والراتنجات والصابونيات والفينولات وهذا يتفق مع الدراسة (13) حيث اشارت الى احتواء اوراق وثمار نبات الآس على الزيوت الطيارة والزيوت الاساسية والراتنجات.

### تأثير مستخلص اوراق الآس في البكتيريا:-

لقد اظهر المستخلص المائي الحار لنبات الآس تأثير في نمو العزلات البكتيرية *E. coli, Staph. aureus, Streptococcus., Klebsiella, Pseudomonas* عند التراكيز (24,12,6,3) % فعند التراكيز 3% كان معدل التنشيط لبكتيريا *E. coli* (28) ملم على التوالي (1) اما عند التراكيز (24,12,6) % كانت معدلات التنشيط لهذه البكتيريا (39,35,29) ملم على التوالي اما بكتيريا *Staph. aureus* فقد كانت معدلات اقطار التنشيط (61,56,55,22) ملم على التوالي بينما اقطار التنشيط لبكتيريا *Streptococcus* عند التراكيز (24,12,6,3) % فقد بلغت (22,14,13,10) ملم على التوالي و كانت معدلات اقطار التنشيط لبكتيريا *Klebsiella* (34,30,28,25) ملم على التوالي حيث اكدت الدراسة (14) ان مستخلص نبات الآس يؤثر في بكتيريا *Klebsiella* مما يؤدي الى تغيير شكلها ويفقدها القابلية على تكوين الكبسولة . أما بكتيريا *Pseudomonas* فقد بلغت معدلات اقطار التنشيط (33,29,28,25) ملم على التوالي وهذا يتفق مع الدراسة (15). شكل (2,3,4).

وقد اظهر المستخلص المائي البارد لنبات الآس تأثير في نمو العزلات البكتيرية عند التراكيز (24,12,6,3) % حيث نلاحظ زيادة معدلات اقطار التنشيط مع زيادة تراكيز المستخلص وعموما اظهر المستخلص المائي الحار نتائج افضل مقارنة مع المستخلص المائي البارد شكل (1,2,3,4). قد يعود السبب الى ان طريقة الاستخلاص المائي الحار اكثر كفاءة في استخلاص المواد الفعالة من المائي البارد.

يمكن أن يعود التأثير الفعال لمستخلص اوراق الآس في البكتيريا المعزولة الى احتواء المستخلص على المجاميع الفعالة (التانينات ، الفلافونويدات ، الكلايكوسيدات ، الزيوت الطيارة، راتنجات والصابونيات) (17).

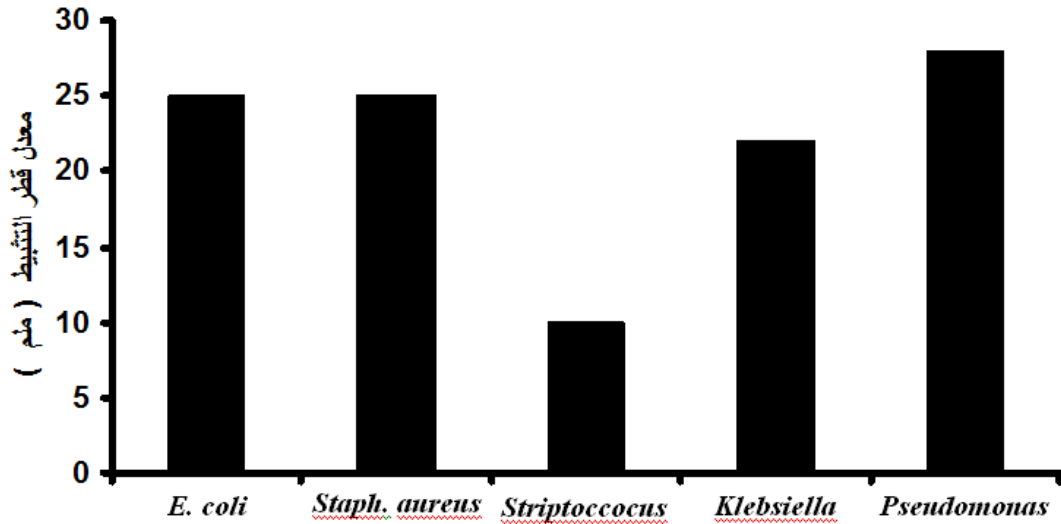
كان تأثير المستخلص في البكتيريا السالبة اقل من الموجبة لان البكتيريا السالبة تحوي طبقة من الاغشية الخارجية Outer membrane تجعل نفوذية المواد اقل مقارنة بالبكتيريا الموجبة (16) او قد يكون تركيز المواد الفعالة في المستخلص قليلة.

تتفق هذه النتائج مع الدراسة (17) حيث بينت ان المواد الفينولية المعزولة من المستخلصات النباتية لها تأثير في بكتيريا *Staph. aureus, Pseudomonas, E. coli, Klebsiella* كما بينت الدراسة (18) ان الزيوت الطيارة الموجودة في الاوراق مطهرة ومفيدة في علاج التهاب القصبات المزمن والتهاب المثانة والتهاب الكلية. في حين بينت الدراسة (4) ان المركبات الفينولية الموجودة في اوراق الآس تكون فعالة ضد البكتيريا الموجبة نتيجة احتوائها على مادة Acylphloroglucinols وبين (19) ان نبات الآس له فعالية مضادة لكثير من انواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام .

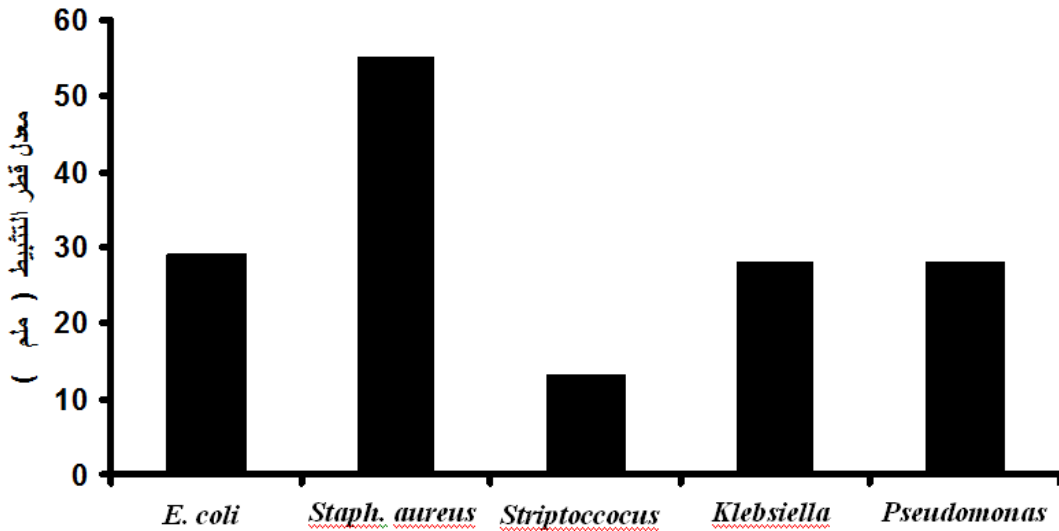
جدول 1- المركبات الفعالة في مستخلص اوراق الّاس

المركبات الفعالة							المستخلص المائي لاوراق الّاس
فينولات	صابونيات	راتنجات	زيوت طيّارة	كلايكوسيدات	فلافونويدات	قلويدات	
+	+	+	+	+	+	-	+

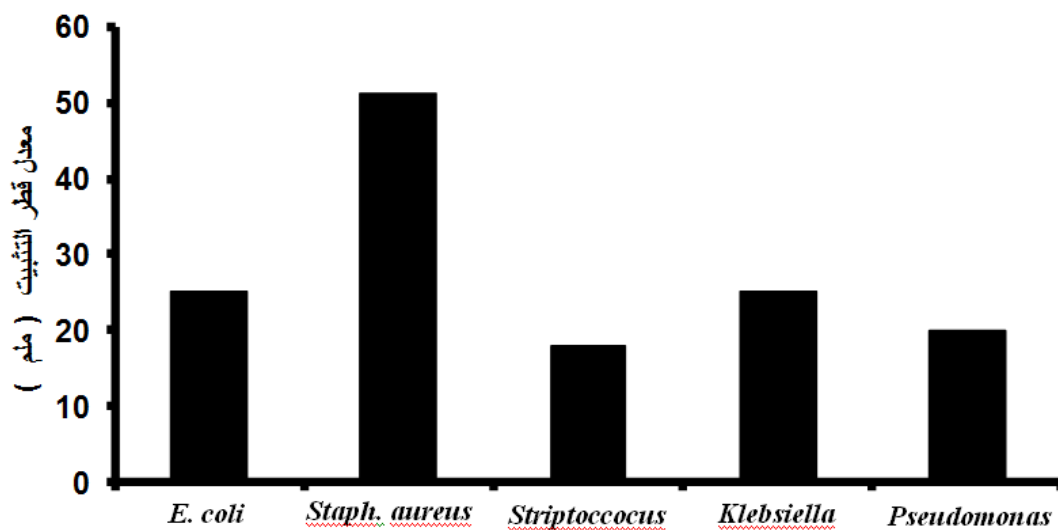
+ وجود المركب  
- عدم وجود المركب



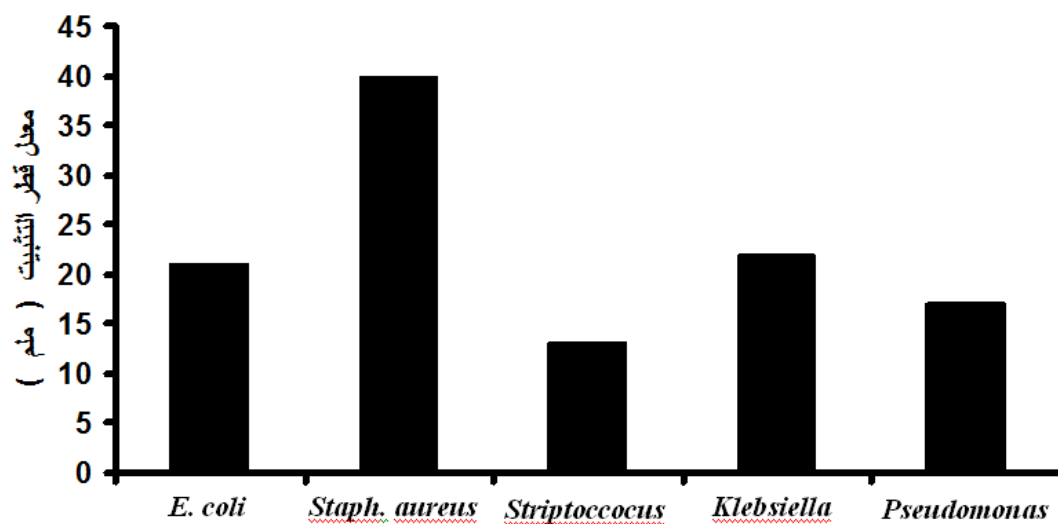
شكل 1: يوضح تأثير المستخلص المائي الحار في العزلات البكتيرية عند تركيز (3%)



شكل 2: يوضح تأثير المستخلص المائي الحار في العزلات البكتيرية عند تركيز (6%)



شكل-3: يوضح تأثير المستخلص المائي الحار في العزلات البكتيرية عند تركيز (12%)



شكل-4: يوضح تأثير المستخلص المائي الحار في العزلات البكتيرية عند تركيز (24%)

## المصادر

1. شمس الدين، احمد. قاموس التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية، الطبعة الأولى بيروت. (1990).
2. الكوري، طلال عبد الرزاق. عزل بعض المركبات الفلافونويدية من اوراق السدر واستعمال مواد مضادة للاكسدة ومفيدة في الزيوت، اطروحة دكتوراه مقدمة الى قسم الصناعات الغذائية-كلية الزراعة- جامعة بغداد (2000).
3. الزهيري، احمد. (1982). دراسة بعض الصفات الكيميائية والدوائية لنبات الآس. رسالة ماجستير/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد، العراق.
4. Rotstein, A.; Lifshitz, A. And Kashman, Y. Isolation and antibacterial activity of Acylphloroglucinols from *Myrtus communis*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 6(5): 539-542. (1974).
5. Anesinic, C. and Perez, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for Antimicrobial Activity, J. of Ethanopharmacology. 39(2):119-128. (1993)
6. Armagan, M. Evaluation of Valonia, production of Valex and Its usage Areas. Undergraduation thesis, pub. No. 8534, KTU publication, Trabzon.
7. Mahmoud, M. J.; Jawad, A. J.; Hussain, A. M.; AL-Omeri, M.; and Al-Naib, A. Invitro. Antimicrobial activity of *Salsolia rosmarinus* and *Adiantum capillusveneris*. Int., J. Crude. Drug. Res.27:14-16(1989).
8. Shihata, I .M. Apharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. D.Vet, thesis Cairo Univ.(1951).
9. Harbone, J. B. Phytochemical methods. chapman and Hall. London.(1973).
10. Jaffer, H. J.; Mohamod, M. J.; Jawad, A. M.; Naj, A.; Al-Naib, A. Phytochemical and biological screening of some Iraqi plant, Fitoterapialix. 229 pp. (1983).
11. Indian Herbal pharmacopoeia(vol-1). A. joint publication of Reagional Research. laboratory, council of scientific and industrial Research Jammatawi. P1-10. (1998).
12. Yoshimura, M.; Amakura, Y.; Tokuhara, M. and Yoshida, T. Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis*. Department of pharmaceutical science. (2008).
13. Balsam, M. Study about the causative agents of skin Disease and the effect of *Myrtus communis* L. and *Myristica fragrans* houtt. on its growth. Athesis. Baghdad university. p20. (2004).

14. Shakibaiee, M. R.; Heydari, M. R.; Ahmadinezhad, M. and Mohammadi, M. Plasmid curing activity of five plant extracts on multiple resistant plasmid bearing *Klebsiella pneumonia* strain. (2007).
15. Shahidi, B. Anti-Pseudomona and anti-Bacilli activity of some medicinal plants of IRAN. DARU.11(4):157-163.(2003).
16. Jawetz, E.; Melnick, J. L. Adelberg, E. A.; Brooks, G. E.; Butel, J. S. and Ormson, L. M. Review of medical microbiology.17 ed. Middle East, Edition Application and lange. Norwalk, Connection, Los Altos. (1987).
17. Miski, M.; Ulubelen, A. and Johansson, J. Antibacterial Activity studies of flavonoids from *Salvia palestina*. Activity prod. 46(6): 874-875. (1993).
18. الراوي، علي وجاكرة وفاراتي، ج. ل. النباتات الطبية في العراق. الطبعة الثانية، مطبعة اليقظة. (1964).
19. Shahla, M.; Alireza, F.; Teimour, G. and Ahmad, G. N. Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis*. Pharmaceutical Biology. 39(5): 399-401. (2006).