دراسة تأثير مستخلصات نباتي الزعتر .*Thymus vulgaris* L (Labiatae) وجوز الطيب *Myristica fragrans* Hout (Myristicaceae) على بعض الأحياء المجهرية الجلدية الممرضة

Study the effect of *Thymus vulgaris* L.(Labiatae) and *Myristica fragrans* Hout(Myristicaceae) extract on the growth some isolated Skin pathogenic microorganism

بلقيس هادي هاشم الموسوي
قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة كربلاء

الخلاصة :

بينت الدراسة الحالية أستخدام طريقتين لأستخلاص أوراق نبات الزعتر .*Thymus vulgaris* L وبذور جوز الطيب *Myristica fragrans* Hout بنوعيها المائية والكحولية. وتمخضت نتائج الكشوفات الكيميائية التمهيدية لمستخلص أوراق الزعتر عن احتوائه على التانينات والجلايكوسيدات والزيوت وعدم احتوائه على القلويدات. أما مستخلص بذور جوز الطيب فقد بين الكشف الكيميائي عن احتوائه على الزيوت الأساسية والجلايكوسيدات وعدم احتوائه على القلويدات والتانينات. أما أختبار الفعالية البايولوجية فقد أظهرا كفاءة عالية للمستخلصين في تثبيط نمو كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus pyogens* و الفطر الجلدي *Trichophyton mentagrophytes* وبلغت قيم التركيز المثبط الأدنى(5،10) ملغم/مل لكل من البكتريا والفطر الجلدي على التوالي. كما وجد أن المستخلص الكحولي لأوراق الزعتر وبذور جوز الطيب كان أعلى تأثيرا من المستخلص المائي على تثبيط نمو البكتريا.

Abstract:

The study showed that the two methods were used for extraction *Thymus vulgaris* L. leaves and *Myristica fragrans* Hout seeds aqueous and alcoholic extracts. Biochemical detection showed the contains of tannins, glycosides and oils that the *Thymus* leaves, with no alkaloids. Whereas, *Myristica* seeds extract contains essential oils and glycosides,with no alkaloids and tannins. As regards biological test, Both extract, have higher activity on the growth of dermatophytic fungi: *Trichophyton mentagrophytes, Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogens* in both concentration (5 ,10) mg/ml

Also revealed the results that alcoholic extract for *Thymus* and *Myristica* were more effective than aqueous extract in inhibition effects on the bacteria.

المقدمة Introduction:

على الرغم من التقدم في صناعة الأدوية المركبة كيميائيا الأ أن النباتات الطبية أحتلت مكانتها مرة أخرى في صناعة الأدوية الحديثة ، ذلك لما تمتاز به من مميزات خاصة حتى أصبح حوالي (60%) من المواد الداخلة في صناعة العقاقيرمن أصل نباتي(Dallali &AL-Hakeem,1987). وتلقى النباتات الطبية حاليا عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها لأنها المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية النباتية أو مصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء على شكل مستخلصات اومواد فعالة أو تستعمل كمادة خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية والتي تعتبر النواة للتخليق الكيميائي (قطب ,1981). أن تفاقم مشكلة مقاومة البكتريا والفطريات للعقاقير المختلفة نتيجة للأستخدام الواسع للمضادات الحياتية جعل من الضرورة البحث والتقصي لأيجاد عقاقير علاجية تحمل صفات مضادة للميكروبات من مصادر أخرى ولعل من أهم هذه المصادر هي مستخلصات النباتات الطبية (Diamond,1993).

وتمثلت المصادر الجديدة باستعمال النباتات الطبية كمضادات مايكروبية ومنها استعمالات نبات الزعتر *Thymus* والذي ينتمي الى العائلة الشفوية (Labiatae) في الاستعمالات العلاجية لما يمتلكه من مجاميع فعالة ذات اهمية علاجية كمادة هاضمة وعلى طرد الغازات وإزالة المغص الناتج منها وفي علاج التخمرات المعدية والمعوية . كما ويدخل في صناعة الادوية المضادة للفطريات التي تصيب الجلد واللثة وفي ادوية الهضم والمشهيات والسعال (المياح ،2001).كما ويستعمل مستحلب نبات الزعتر في معالجة تشققات حلمة الثدي والتهاباتها ولتسكين الآلام اللوزتين (غرغرة) ولتقوية القلب وطرد الديدان المعوية (الكاتب 2000). فضلا عن استعماله في تنظيف وتطهير الجروح والقروح وحالات ظهور سيلان المهبل (رويحة ،1987) إما فيما يخص نبات جوز الطيب أو (جوزة بوا) *Myristica fragrans* والذي يعود الى العائلة المرستيكية (Myristicaceae) التي تمتلك العديد من الاستعمالات العلاجية منها استعمال زيت المرستين في صناعة

المراهم التي تستعمل في علاج الطفيليات الخارجية (قطب ، 1981).كما وتستعمل الزيوت الناتجة من خارجيا في علاج الروماتيزوم فضلا عن استعمال بذور جوز الطيب وزينتها لتقوية الناحية الجنسية عند الرجال وإذا زادت جرعتها تكون منومة او تؤدي الى الموت (المياح،2001).

وهدفت الدراسة الحالية الى :

-إجراء الكشف الأولي التمهيدي (الكيميائي) للمستخلصات المائية والكحولية لنباتي الزعتر وجوز الطيب وذلك للكشف عن المركبات الفعالة والأساسية فيهما.

-دراسة تأثير الفعالية الحيوية للمركبات الفعالة والمستخلصة (بالماء والكحول) لنباتي الزعتر وجوز الطيب على بعض أنواع البكتريا والفطريات الجلدية الممرضة.

(المواد وطرائق العمل)

- تحضير المستخلص النباتي:- تم الحصول على اوراق نبات الزعتر.*Thymus vulgaris* L وبذور جوز الطيب *Myristica fragrans* Hout من السوق المحليه ،بعد ذلك تم سحقها للحصول على مسحوق ناعم لتهيئتها لعملية الاستخلاص بنوعيها المائيه (باستخدام الماء المقطر) والكحوليه (باستخدام الكحول الاثيلي تركيز70%). وتضمنت كلتا الطريقتين مزج (20)غرام من المسحوق الناعم للعينات النباتيه مع إضافة 400 مل لكل من (الماء المقطر والكحول الاثيلي 70%) مع إتباع الخطوات التاليه:-

-وضع المزيج أو المستخلص في دوارقflasks (1L) وتم حضنها بوضعها في الحمام المائي وبدرجة حراره 40 مْ ولمدة 24 ساعه.

- بعدها أخرجت نماذج المستخلصات من الحمام المائي وإجريت لها عملية الترشيح بواسطة ورق الترشيح (Whatman No.1) وتم تجفيفها بوضعها في الحاضنة وبدرجة حرارة 37مْ ولمدة 24 ساعة .

- بعد اكتمال التجفيف للمستخلصات تم تسجيل وزن المستخلص وإعطاء النسبة المئوية ووصفا مظهريا له.

- إجراء الكشوفات الكميائية للمستخلصات النباتية الخام وذلك باستخدام الكواشف التالية :-

- كاشف Drangendroff للقلويدات (Alkaloids) (Harborne,1973).

- كلوريد الحديديك بتركيز 1%(Harborne,1984) وخلات الرصاص تركيز 1% (Shihata ,1951) للكشف عن التانينات (Tannins).

- كاشف فهلنك للكشف عن الجلايكوسيدات (Harborne ,1984).

- الكشف عن الزيوت الاساسية (Essential oil) باستخدام كاشف (Liberman-Bercharb) (Harborne,1984).

- قياس الرقم الهدروجيني (pH) بواسطة جهاز (pH-Meter) .

- اختبار الفعالية البايولوجية للمستخلصات النباتية :-

- دراسة تأثير المستخلصات النباتية على نمو الفطريات الجلدية :-

إذ تم الحصول على الفطر الجلدي (*Trichophyton mentagrophytes*) في مختبر علوم الحياة /كلية العلوم/جامعة كربلاء وتم تهيئة الفطر وذلك بزرعه على وسط السابروید الصلب Sabourauds dextrose agar (SDA) ولمدة (7-10) أيام وبدرجة حرارة 28مْ (EL-kady,*et al;* 1993) واستخدمت في الدراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية بمزجها مع الوسط الغذائي (SDA) وبتركيز (10,5) ملغم /مل وبمعدل (3مكررات) لكل نبات وبعد تصلب الوسط الغذائي تم عمل حفرة في وسط الطبق وبقطر (5) ملم بواسطة الثاقب الفليني بعدها تم نقل قرص من اللقاح الفطري مقطوع من مستعمرة الفطر *Trichophyton* ونقله الى حفرة المعدة في وسط الطبق الحاوي على الوسط الغذائي الصلب (SDA) والممزوج مع المستخلص النباتي،كما وتم عمل سيطرة موجبة بإضافة مادة Clotrimazole بتركيز (2) ملغم /مل من الوسط الزرعي إلى طبق يحوي وسط السابروید الصلب،كما تم عمل سيطرة سالبة وذلك باستخدام طبق حاوي على الوسط الزرعي فقط (بدون إضافة أي مادة) ومزروع بالفطر نفسه،وحضنت الإطباق في الحاضنة بدرجة حرارة (28)مْ لمدة (10-14) يوم ثم بعد ذلك تم قياس قطر مستعمرة الفطر النامية وتم استخراج نسبة التثبيط وكالاتي:-

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة} - \text{معدل قطر الفطر في أطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة}} \times 100$$

- دراسة تأثير المستخلصات النباتيه على نمو البكتريا :-

إذ تم الحصول على أربع عزلات بكتيريا سريريه من مختبر البكتريا في مستشفى الحسيني/كربلاء و المعزوله من إصابات الحروق.اثنان موجبه لصبغة جرام (G+ve) واثنان منها سالبه للصبغه (G-ve) والعزلات هي:-

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Streptococcus pyogens*
3. *Escherichia coli*
4. *Pseudomonas auroginosa*

وتم تنشيط العزلات على وسط من المرق المغذي (Nutrient broth) وحضنت الأنابيب الحاويه على العزلات البكتيريا في الحاضنه وبدرجه حراره37 مْ ولمدة(18) ساعه بطريقة الأنتشار بالأكار(Egorove,1985).كما وتم تحضير المستخلصات النباتيه بنوعيها المائيه و الكحوليه ،ثم بعد ذلك تم تحضير وسط الاختبار للفعالية البكترية باستخدام وسط (Muller-Hinton Agar) وتم زرع البكتريا على هذا الوسط، وبعدها أضيف 25 مايكرولتر من المستخلص النباتي ذو التركيز (25) ملغم / مل في حفر الاكار. وكما تم عمل نموذج مقارنة باستخدام المضاد القياسي (Gentamicin) وبتركيز (15) مايكروغرام /مل،

بعدها حضنت الأطباق في الحاضنة وبدرجة حرارة (37) مْ ولمدة 24 ساعة وأخرجت الأطباق بعد انتهاء مدة الحضن وتم قياس قطرمنطقة التثبيط بواسطة المسطرة،

النتائج والمناقشة :-Ruslts & Discussion

- الكشف الكيميائي عن بعض المواد الفعالة في النباتات :-

اظهرت نتائج الكشف الكيميائي عن وجود بعض المواد الفعالة في النباتات المستخدمة في الدراسة , اذ يتضح من الجدول رقم (1) احتواء الزعتر *Thymus* على التانينات والجلايكوسيدات والزيوت وعدم احتوائه على القلويدات .كما ويتضح من الجدول نفسه احتواء بذور جور الطيب *Myristica* على الزيوت والجلايكوسيدات وعدم احتوائه على القلويدات والتانينات وهذا يتفق مع ما أشار اليه كل من (قطب , 1981) و (المياح , 2001).

وكذلك يبين الجدول رقم (1) قيمة الهدروجيني (pH) للمستخلصات .

جدول رقم (1) يوضح الكشوفات الكيميائية عن بعض المواد الفعالة في المستخلصات النباتية

النبات	كشف القلويدات	كشف التانينات		كشف الجلايكوسيدات	كشف الزيوت	PH
		خلات الرصاص	كلوريد الحديديك			
الزعتر	-	+	+	+	+	6.09
جوز الطيب	-	-	-	+	+	5.92

إما النسب المئويه للمستخلصات النباتيه ،فقد بلغت النسبه المئويه للمستخلص المائية لاوراق الزعتر21 % بينما بلغت 12% للمستخلص الكحولي للنبات نفسه.في حين بلغت النسبه المئويه للمستخلص المائي لبذور جوز الطيب 20% و26% للمستخلص الكحولي. جدول رقم (2) كذلك يبين الجدول نفسه أوزان المستخلصات المائيه و الكحوليه والمظهر.

جدول رقم (2) يوضح نسب المستخلصات النباتيه من الوزن الجاف والنسب المئويه مع المظهر

النبات	وزن المستخلص الكحولي(غم)	النسبه المئويه للمستخلص الكحولي%	المظهر	وزن المستخلص المائي(غم)	النسبه المئويه للمستخلص المائي	المظهر
الزعتر	2.43	12	مسحوق اخضر حني	4.28	21	مسحوق اخضر حني
جوز الطيب	5.38	26	مسحوق زيتي بني	4.00	20	مسحوق بني

وتحوي اغلب النباتات على مركبات طبية فعاله وذات الفعاليه البايولوجيه والتي تستخدم في السيطره على الحالات المرضيه للانسان والحيوانات والمتسببه عن البكتريا والفطريات والفيروسات(Jawad, *et al*., 1985).

- تاثير المستخلصات النباتيه في نمو الفطر الجلدي *Trichophyton mentagrophytes*

بينت نتائج الجدول رقم (3) تأثير مستخلصات أوراق الزعتر وبذور جوز الطيب في نمو الفطر الجلدي *T.mentagrophytes* ،اذ يتضح من النتائج ان التركيزين (10,5) ملغم/مل المستخدمين في الدراسه قد اعطيا تثبيطاً تاماً وبنسبة 100% مقارنةً مع المضاد القياسي Clotrimazole .

ووجدت (نجم ,2003) ان المستخلص الكحولي والزيتي لاوراق نباتي الزعتر والسذاب *Ruta chalepensis* يمتلكان كفاءة عالية في التاثير على بعض الفطريات الجلدية ومنها الفطر *T.mentagrophytes* المستخدم في دراستنا هذه ,وقد يرجع السبب في القدرة التثبيطية لهذا المستخلص لوجود المواد الفعالة ومنها الجلايكوسيدات والدباغات والزيوت (في الزعتر) والجلايكوسيدات (في جوز الطيب) التي تعمل على تثبيط الانزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في الغشاء الخلية (Greulach,1973).

وقد أكد (Vonshak, *et al*.,2003) على ان الدباغات المعزولة من معظم النباتات الطبية تمتلك تاثيرا مضادا للفطريات الجلدية (Anti-Dermatophytic).

وقد أشار (Atta-ur-Rahman, *et al*.,1999) الى القدرة التثبيطية للمستخلص الزيتي لبذور جوز الطيب والتي أحدثت تثبيط لعدد من الفطريات الممرضة للانسان والحيوان ومنها *Microsporium canis* الذي بلغت نسبة تثبيطية بهذا الزيت (70%) وقد فسر (Knoblick, *et al*.,1986) قدرة هذه الزيوت على التثبيط الفطريات الى اضعاف الفعالية الايضية ومنه فعالية انزيم (Succinate denydrogenase) وارتباطة مع فضلا عن إيقاف الفسفرة التاكسدية وسلسلة انتقال الالكترونات التي تجري في عملية التنفس للخلية بسبب مجاميعة الفعالة التي تدخل مع التركيب البروتيني للانزيم الذي يؤدي الى إيقاف عمله .

إما (Tezuka, *et al*.,2001) فقد اعزى الفعل التثبيطي للمستخلص الميثانولي لبذور (جوز الطيب) الى احتوائه على مركبات تعمل على تثبيط(mRNA expression) وبالتالي إيقاف عملية انقسام الخلايا والنمو والتكاثر .

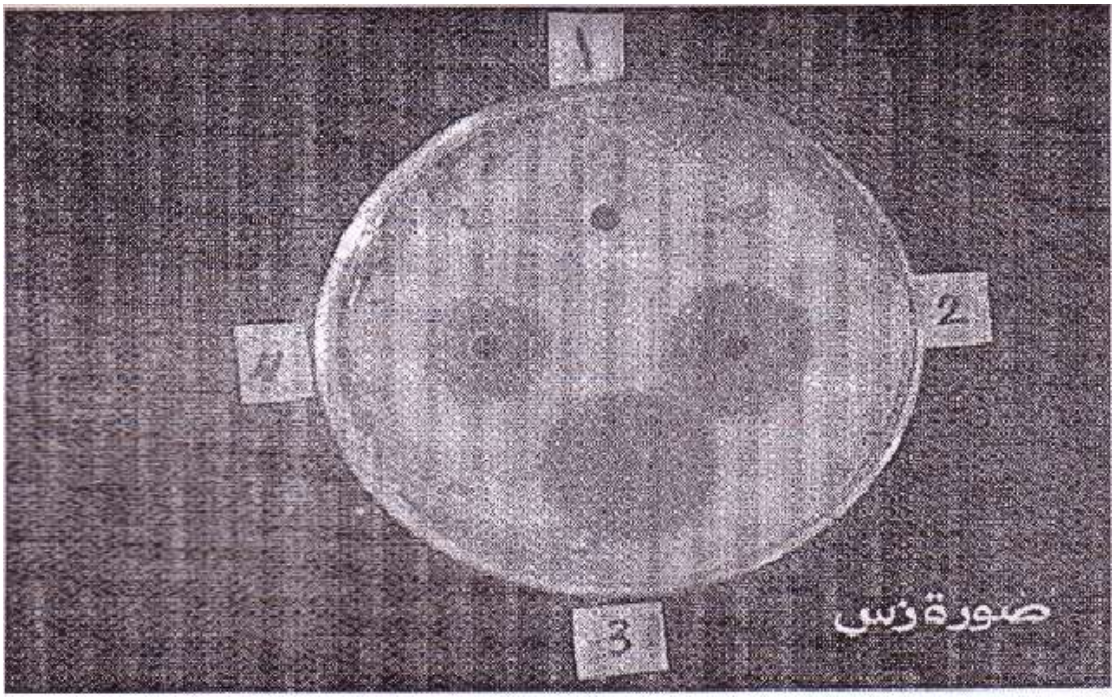
جدول رقم (3) يوضح تأثير المستخلصات النباتية
على نمو الفطر*T. mentagrophytes*

نوع المستخلص	التركيز (5 ملغم/مل)		التركيز (10 ملغم/مل)
	نمو الفطر	نسبة التثبيط %	
جوز الطيب (الكحولي)	0.00	100	0.00
جوز الطيب (المائي)	0.00	100	0.00
زعتر (الكحولي)	0.00	100	0.00
زعتر (المائي)	0.00	100	0.00

وبين(Al-janabi,1996) أن مُستخلصات الياس .*Myrtus communis* L تثبط الفطر *T. mentagrophytes* المستخدم في هذه الدراسة .

-تأثير المستخلصات النباتية في نمو البكتريا :-

يتضح من النتائج المبينة أعلاه أن المستخلص المائي للزعتر كان فعّالاً على البكتريا الموجبة لصبغة كرام فقط, إذ أعطى معدل أقطار تثبيط قدرها (17.3)و (19) ملم لبكتريا *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus pyogens*على التوالي مُقارنة بالمضاد القياسي الجنتامايسين الذي أعطى أقطار تثبيط (15,22) ملم. شكل **(1).**



شكل رقم (1)

إما المستخلص الكحولي في الكحول فقد بدت فعاليتة ضعيفة تجاه جميع السلالات البكترية المستخدمة في التجربة ,اذ كانت اقطار التثبيط هي (6.3,9.0,9.0,0.00) ملم بالنسبة للبكتريا *E.coli* و *Streptococcuspyogens* و *Staphylococcus aureous* و *Pseudomonas auroginosa*على التوالي

وفيما يتعلق بالمستخلص الكحولي (المذاب بالماء) فيتضح من عدم وجود أي تاثير له جميع انواع السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة .

ان النتائج هذه الدراسة لاتتفق مع ما أشار اليه (هميم ,2002) الذي اوضح عدم امتلاك المستخلص المائي لاوراق الزعتر فعالية تثبيطة ضد بكتريا *S.aureus* الانها تتفق مع ماتوصل اليه نفس البحث من عدم امتلاك المستخلص المائي لاوراق الزعتر فعالية تثبيطية ضد بكتريا *E.coli* .

إما فيما يخص (جوز الطيب) فقد تم استخدام المستخلص المائي منه للحصول على النتائج مماثلة لتاثير المستخلص المائي على الزعتر , اذ كانت اقطار التثبيط (17.6, 19.6, 0.0, 0.0) ملم بالنسبة للبكتريا *Staphylococcus aureous* و *Streptococcus pyogens* و *E.coli* و *Pseudomonas auroginosa* على التوالي. كما تم الحصول على نتائج مشابهة ايضا عند استخدام المستخلص الكحولي (بنوعية المذاب في الماء والمذاب في الكحول) الأإن نتائج فعالية المستخلص الكحولي (المذاب في الكحول) كانت أفضل من المستخلص الكحولي (المذاب في الماء) . وان الدراسة تتفق مع ماتوصل اليه (المحنه ,2004) . من حيث تأثير المستخلص المائي والكحولي لبذور (جوز الطيب) على البكتريا *Staphylococcus aureous* و *Pseudomonas auroginosa* .

المصادر:-

-العربية:

- الكاتب، يوسف منصور (2000).تصنيف النباتات البذرية .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي،جامعة بغداد، العراق.

- المحنة ، بلسم ميري مزهر(2004).دراسة بعض مسببات الأمراض الجلدية وتأثيرمستخلصات نبات الاس *Myrtus communis* وجوزالطيبHout *Myristica Fragrans* في نموها. رسالة ماجستير/كلية الطب البيطري .جامعة بغداد.

- المياح ، عبد الرضا أكبر (2001).النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب. مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء ، اليمن.

- رويحة ،أمين (1987). التداوي بالأعشاب بطريقة علمية تشمل الطب الحديث والقديم .دار القلم –بيروت / لبنان . الطبعة السابعة .

- قطب ، فوزي طه (1981). النباتات الطبية ، زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر ، القاهرة ، جمهورية مصر العربية .

- نجم ، جنان محمود خلف (2003) .القوباء الحلقية (دراسات وبائية وعلاجية) أطروحة دكتوراه / كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.

- هميم ، سعد سلمان (2002) .فعالية بعض المستخلصات النباتية ضد الممرضات الشائعة في أخماج الجلد الجرثومية .رسالة ماجستير/كلية التربية .جامعة البصرة

- الأجنبية :-

-AL-Janabi,A.A.(1996). Effect of some plant extracts on the growth of Dermatophytes. M.Sc. thesis. College of Science. University of AL-Mustansiria.

-Atta-ur-Rahman, M., chindhary, l., farooq, A., Ahmed, A., Lqbal, Z., Demirci, B., Demirci, F. and Bawer, H. (1999). Anti fungal. Activites and essential oil constituents of some spices from Pakistan, Institute of chemistry, University of Thepunjab, Lahore, Pakistan. pp: 1-7.

-Dallali, B.K. and AL-Hakeem, S.H. (1987). Food Analysis. Dar AL-Kutub press, Mousil University.

-Diamond, R.D.(1993). The growing proplem of Mycosis in Patients infected with human immunodeficiency virus J.Inf Dis, 13L: 480-486.

-Egorove, N.S. (1985). Antibiotics. Ascientific approach. Mir publishers. Moscow.

-El-kady, J.A.; El-Maraghy, S.S. and MohamedE.M.(1993). Antibacterial and dermatophytes activity of essential oils from spices. Qatar Univ.Sci. J., 13(1):63-69.

-Greulach, V.a. (1973). Plant function and structure. The Macmillan Co., New York.

-Harborne, J.B. (1973). Phytochemical methods, Science paper blacks. Chapman and Hall. London.

-Harborne, J.B. (1984). Phytochemical methods aguide to modern techniques of plant analysis. 2 ed. Chapman and Hall, London, New York.

-Jawad, A.I; Dhahir, A.B.J. and Hussain, A.M. (1985). Lactones extracted from Iraqi composite. Part:1. J.Basrah. Sci. Res, 16(1):5-18.

-Knoblick, K., Wies, N. and Wig, H. (1987). Mechanism of anti micro-bial activity of essential oil. Planta Med., 52:556.

-Shihata, I.M. (1951). Apharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.Sc. Thesis, Faculty of Med. Cairo University. Egypt.

-Tezuka, .Y, Irikawa, S., Kaneko, T., Banskota, A.H. Nagdoka, T., Xiong, Q., Hase, K. and Kadota, S. (2001). Screening inhibitory activity on nitric oxide production and dentifi cation of anactive compound of zanthoxy lum bungeanum. J.Ethnopharma Col., 77(2-3):2.9-217.

-Vonshak, A.; Barazani, O.; sathiyamoorthy, p; Shalev, R.; Vardy, D.; Gola, N. and Goldhirsh,. (2003)-Screeni south Indian medicinal plants for antifungal activity against cutaneous pathogens. Phytother.Res., 17(9) :1123-1125.