تقييم فعالية المستخلص المائي والزيتي لنبات أكليل الجبل *Rosmerinus officinalis* في تثبيط بعض الأحياء المجهرية المرضية

عروبة محمد سعيد إبراهيم مجيد محمود عبد علاء الدين عبد المنعم
كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

تضمنت الدراسة تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والزيتي لنبات آكليل الجبل *Rosmerinus* وبتراكيز مختلفة بطريقة الانتشار بالحفر في بعض الأحياء المجهرية المرضية وهي *Salmonella typhi*، *Escheichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Klebsiella pneumoniae*، *Aeromonas hydrophila* ، *Candida albicans* أظهرت نتائج المستخلص الزيتي أكثر فعالية بتركيز (40mg/ml) في تثبيط نمو الجراثيم حيث بلغ قطر منطقة التثبيط (26 ،24 ،22، 18 ،18 مليمتر) على التوالي مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل (12،12،10،8 ،9 مليمتر) على التوالي بتركيز (200mg/ml). أما بالنسبة لخميرة *C.albicans* فقد بلغ قطر منطقة التثبيط (14) مليمتر بالنسبة للمستخلص الزيتي أما المائي فلم يسجل أي تثبيط للنمو .كما تم إجراء الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المركبات الفعالة في نبات أكليل الجبل إذ أوضحت النتائج أحتواء النبات على الكلايكوسيدات والقلويدات والفلافونات والفينولات والتانينات والراتنجات والصابونيات والكومارينات.

Evaluation of Inhibition Activity of *Rosmerinus officinalis* plant watery and oily extracts on some pathogenic Microorganisms

Auroba M.S. Ibrahim Majeed M. Abid Alla Aldean A. alumni
College of Veterinary Medicine - University of Baghdad

summery

This study included evaluation of inhibition activity of watery and oily extracts of *Rosmerinus officinalis* plant on some pathogenic microorganisms like *Salmonella typhi*، *Escheichia coli* ،*Staphylococcus aureus* ،*Klebsiella pneumoniae*،*Aeromonas hydrophila* ، *Candida albicans*. The results of oily extract showed more activity at concentration (40mg/ml) of microorganisms growth inhibition (26, 24,22,18,18)mm respectively, compared with aqueous extract which recorded (12,12,10,9,8)mm respectively at concentration (200mg/ml). And procedure the qualitative chemical test of some active ingredients in *Rosmerinus officinalis* plant. The results showed that the plant contan glycosides, alkaloids, flavonoides , phenols, tannins , resins, saponins and comarins.

المقدمة

يعود استعمال الإنسان للصيدلة الطبيعية منذ آلاف السنين والتي تعتبر من النعم الآلهية التي أودعها الله في هذا المخزن العلاجي. وقد ربط الإنسان العلاقة بين النباتات البرية وبين الأمراض التي يصاب بها واستعملها للعلاج أو أجزاء منها. يعد نبات أكليل الجبل أو حصا البان من النباتات الطبية العطرية وهو نبات عشبي معمر دائم الخضرة من الفصيلة الشفوية أزهاره صغيرة نيلية أو زرقاء اللون يصل ارتفاعه إلى حوالي مترين الجزء المستعمل في الطب القمم الزهرية والأوراق التي تجمع في فترة الإزهار وتجفف، نبات ذو رائحة شذية مفضلة منذ القدم وعطره أرخص العطور ثمنا ورائحته أكثر إنعاشا وكان يرمز به قديما للأمانة والإخلاص ، ويدخل زيته في صناعة العطور ومستحضرات التجميل والصابون المعطر[1] يحتوي نبات أكليل الجبل على مواد مضادة للاكسدة وكان يستعمل كحافظ للحوم من التعفن حيث يضاف إليها لمنع التأكسد والتلف. [2] ويعتبر أكليل الجبل من الأدوية العشبية الآمنة الاستعمال وعُرف منذ قديم الزمن.. فيذكر أن الطلاّب الإغريق كانوا ينثرونه على رؤوسهم لاعتقادهم بأنه مقوٍ للذاكرة ، ويمكن إضافة قطرات من خلاصة أكليل الجبل على الشامبو وفرك فروة رأس المصابين بمرض الزهيمر بهذا المستحضر فقد وجد انه يعيد الذاكرة تدريجياً، كما يمكن استعمال مغلي من أوراق وأغصان النبات في تحضير العديد من مستحضرات التجميل مثل الروائح ، وغسول الشعر، ومضادات القشرة. كما له تأثير في محاربة بعض البكتيريا والفيروسات وخاصة عند الإصابة بالجروح ، لذا يمكن

طحنه ووضعه ككمادات على الجروح.[3] يساعد تناول إكليل الجبل على تهدئة عضلات الجهاز الهضمي وتحسين عملية هضم الطعام .يساعد على تخفيف الالتهابات والإصابة بالرشح والأنفلونزا والحساسية كما يساعد على تخفيف التشنجات والآلام الروماتيزم.

المواد وطرائق العمل

صنف النبات في معشب كلية العلوم / جامعة بغداد وحفظت نماذج منه تحت الرقم 46580 ويمثل *Rosmerinus officinalis* النوع الوحيد المستزرع في العراق. صورة (1)،حضرت الكواشف حسب الطرائق المتبعة [4،5،6] وحضرت المحاليل حسب ما ذكرها Atlas *et al.*[7] و [8].

صورة (1) نبات أكليل الجبل *Rosmerinus officinalis*

تحضير مستخلصات نبات أكليل الجبل

تم استخلاص الزيت الطيار باستعمال التقطير المائي water distillation وحسب الطريقة التي ذكرها [9] إذ تم استخدام جهاز (Clevenger) والموصل إلى دورق زجاجي دائري حجم 1 لتر، غذ تم طحن النبات بعد تجفيفه حيث تم وزن (50) غم من مسحوق النبات ووضعت في الدورق الزجاجي الدائري وأضيف إليها (500) مللتر من الماء واستمر عملية التقطير (2.30) ساعة لحين الحصول على أكبر كمية من الزيت الطيار إذ تم الحصول على الزيت في أنبوب الجمع حيث ينفصل إلى طبقتين، الطبقة العليا هي الزيت الطيار أما الطبقة السفلى فهي المستخلص المائي تم نقل الزيت والمستخلص المائي إلى قناني خاصة ذات غطاء محكم وحفظت لحين دراسة تأثيرها على نمو الأحياء المجهرية المرضية.

الكشف عن المكونات الأساسية في نبات أكليل الجبل

تم الكشف عن بعض المركبات الفعالة التي يحتويها النبات حسب الطريقة التي ذكرها Calabrese [13].

دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات أكليل الجبل في نمو الأحياء المجهرية

تم تحضير تراكيز مختلفة (20,40,60,80,100) ملغم/مل للمستخلص الزيتي و(120,140,160,180,200) ملغم/مل للمستخلص المائي لنبات أكليل الجبل، كم تم الحصول على عزلات مشخصة من بكتريا *Salmonella typhi*، *Escheichia coli* ، *Staphylococcus aureus*، *Klebsiella pneumoniae*، *Aeromonas hydrophila* وخميرة *Candida albicans* من مختبر الإحياء المجهرية / كلية الطب البيطري. استخدمت طريقة الانتشار في الحفر (agar well diffusion method) لملاحظة تأثير مستخلصات النبات في تثبيط نمو الأحياء المجهرية، تم صب الأكار المغذي الملقح بـ (0.2) مليلتر من عالق الأحياء المجهرية والحاوي على (1×10^6 خلية/ مليلتر) في أطباق بلاستيكية وتم عمل حفر في الاكار وبإبعاد متساوية ثم تم وضع (0.1) مليلتر من المستخلص داخل كل حفرة وحسب التراكيز المحضرة مع بقاء حفرة واحدة كسيطرة تحوي على المخفف فقط. وبمعدل ثلاث مكررات لكل عزلة حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مo لمدة 24 ساعة. حددت فعلية المستخلص بقياس قطر منطقة التثبيط وتم حساب المعدل للمكررات الثلاثة[12].

النتائج

وجد من خلال استعمال عدد من الكشوفات الكيميائية لمستخلص النبات أنها تحوي على عدد من المكونات الفعالة مثل الكلايكوسيدات والقلويدات والفلافونات والكومارين والتانينات والراتنجات والصابونيات وكان الأس الهيدروجيني للمستخلص المائي 6.8 (جدول 1).

جدول (1): الكشف الكيميائي النوعي لبعض المركبات الفعالة في نبات أكليل الجبل

المركبات الفعالة	نوع الكاشف	نتيجة الكشف
الكلايكوسيدات	كاشف فهلنك	+
	كاشف بندكت	+
القلويدات	كاشف ماير	+
	كاشف واكنر	+
	كاشف دراجندوف	+
	حامض البكريك	+
التانينات	خلات الرصاص 1%	+
	كلوريد الحديديك 1%	+
الراتنجات	كحول أثيلي في ماء مقطر مغلي + حامض HCl	+
الصابونيات	كلوريد الزئبقيك	+
	رج المستخلص المائي	+
الكوماين	هيدروكسيد الصوديوم + ورق ترشيح+ مصدر UV	+
الفينولات	كلوريد الحديدك 1%	+
الفلافونات	كحول أثيلي + هيدروكسيد البوتاسيوم	+

تأثير مستخلصات نبات أكليل الجبل في نمو الأحياء المجهرية

أختبرت فعالية المستخلص المائي والزيتي لنبات أكليل الجبل على نمو البكتريا والخميرة قيد الدراسة وذلك لمعرفة هل أن مكونات النبات تملك تأثيرا تثبيطيا على نمو الأحياء المجهرية ومن خلال الجدول (2،3) يتضح أن المستخلص الزيتي قد تفوق على المستخلص المائي حيث وجد تباينا ملحوظا في معدلات أقطار التثبيط بأختلاف التراكيز المستعملة فقد كان معدل قطر التثبيط للمستخلص الزيتي تجاه بكتريا *S.typhi* (26) مليلتر بتركيز (40) ملغم /مل في حين سجل المستخلص المائي (12) مليلتر بتركيز (200)ملغم/ملم، أما بكتريا *A. hydrophila* فقد أظهرت حساسية للمستخلص الزيتي إذ بلغ معدل قطر التثبيط (18)مليلتر مقارنة بالمستخلص المائي الذي لم يسجل أي تثبيط وبنفس التراكيز.

جدول (2): معدلات أقطار تثبيط المستخلص الزيتي في نمو البكتريا وخميرة الاختبار وبتراكيز مختلفة

الكائن المجهري الاختباري	تركيز المستخلص الزيتي ملغم /مل				
	20	40	60	80	100
Salmonella typhi	11	18	20	22	26
Escheichia coli	12	16	18	20	24
Staphylococcus aureus	11	17	19	21.5	22
Klebsiella pneumoniae	11	12.5	14	16	18
Aeromonas hydrophila	10	12	13.5	15	18
Candida albicans	Zero	zero	10	12	14

جدول (3): معدلات أقطار تثبيط المستخلص المائي في نمو البكتريا وخميرة الاختبار وبتراكيز مختلفة

الكائن المجهري الاختباري	تركيز المستخلص الزيتي ملغم /مل				
	120	140	160	180	200
Salmonella typhi	9	11	11	11.5	12
Escheichia coli	9	11	11	11.5	12
Staphylococcus aureus	0	9	9	9.5	10
Klebsiella pneumoniae	0	0	14	16	9
Aeromonas hydrophila	0	0	0	0	0
Candida albicans	0	0	0	0	0

المناقشة

أوضحت النتائج أن مستخلص النبات يحوي على عدد من المكونات الفعالة مثل الكلايكوسيدات والقلويدات والفلافونات والكومارين والتانينات والراتنجات والصابونيات وذو أس هيدروجيني 6.8 وهذه النتيجة متوافقة مع ما ذكره عدد من الباحثين الذين أكدوا ان نبات أكليل الجبل يحتوي على هذه المركبات بالإضافة إلى مركبات أخرى حيث يحتوي زيته الطيار على البورنيول والكامفين والكافور والسينيول. كما يحتوي على حمض الروزمارينيك وثنائي التربينات والروزميرسين[13].

أما فعالية المستخلص المائي والزيتي لنبات أكليل الجبل على نمو البكتريا والخميرة قيد الدراسة والتي أوضحت النتائج أنها تملك تأثيرا تثبيطيا على نمو الأحياء المجهرية وأن المستخلص الزيتي قد تفوق على المستخلص المائي حيث وجد تباينا ملحوظا في معدلات أقطار التثبيط بأختلاف التراكيز المستعملة حيث يمكن تفسير هذه النتائج إلى أحتواء المستخلص الزيتي على مركبات فعالة مثل الفلافونات والبوليفينولات والتانينات والقلويدات التي تمتلك تأثيرا تثبيطا لبعض البكتريا والخمائر[14] كما قد يعزى السبب إلى فعالية المركبات الفينولية التي يحتويها النبات والتي تعمل على تثبيط الأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأيضية الأساسية بتداخلها غير المخصص مع البروتينات مما يؤدي إلى مسخ البروتين ومن ثم عدم قدرة الإحياء المجهرية على الاستمرار بالنمو وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكر في دراسات مشابهة لعدة باحثون[15،16].

أما بالنسبة للفارق الواضح في معدلات أقطار التثبيط بين المستخلص الزيتي والمائي فقد يعزى هذا إلى التأثير إلى احتواء زيته الطيار على البورنيول والكامفين والكافور والسينيول. كما يحتوي على حمض الروزمارينيك وثنائي التربينات والروزميرسين إضافة إلى القلويدات والكامورين[17] وأن هذه المركبات لها فعالية قاتلة للأحياء المجهرية وذلك لقدرتها على التأثير على الحامض النووي (DNA) للخلية [18] وكذلك لها القدرة على تحطيم الغشاء البلازمي للخلية البكتيرية وتحطيم ما يحويه من بروتينات ودهون أو قد تتداخل مع سلسلة التفاعلات الأيضية الضرورية لنمو الكائن الحي. و يتضح أن اختلاف نوع المستخلص كان له الأثر الواضح في تباين أنواع وكمية المركبات الفعالة المعزولة والتي أثرت بالتالي على قابلية المستخلصات في تثبيط النمو الجرثومي بالنسبة للجراثيم قيد الدراسة.

المصادر

1 Miresmailli S, Bradbury R, and Isman MB. (2006) Comparative toxicity of Rosmarinus officinalis L. essential oil and blends of its major constituents against Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. Pest.Manag.Sci.62(4):366-371.

2 Burkhard, P. R, Bandoni, A. L, and Aranda FJ. (1999). "Plant-induced seizures: reappearance of an old problem". *Journal of Neurology*. 246 (8): 667–670.

3 Tuker, A. O. and Maciarello, M. J. (1986), The essential oils of some rosemary cultivars. Flavourand Fragrance Journal, 1, 137-142.

4 Martinez L, Cilla I, Beltran JA. (2006) Combined Effect of Modified Atmosphere Packaging and Addition of Rosemary (Rosmarinus officinalis), Ascorbic Acid, Red Beet Root (Beta vulgaris), and Sodium Lactate and Their Mixtures on the Stability of Fresh Pork Sausages. J Agric.Food Chem;54(13):4674-4680.

5 Perez-Fons L, Aranda FJ, Guillen J. (2006) Rosemary (Rosmarinus officinalis) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipid membranes. Arch Biochem Biophys. 9-15-453(2):224-236.

6 Chalchat, J. C.; Garry, R. P.; Michet, A.; Benjilali, B. and Chabat, J. L. (1993), Essential oils of rosemary (Rosmarinus officinalis L.. The chemical composition of oils of various origins (Maroccom Spain, France). Journal of Essential Oils Research, 5, 613-618.

7 Mizrahi, I.; Juarez, M. A. and Bandoni, A. L. (1991), The essential oil of Rosmarinus officinalis growing in Argentina. Journal of Essential Oils Research, 3, 11-15.

8 Ramirez P, Garcia-Risco MR, Santoyo S, and Chabat, J. L.(2006) Isolation of functional ingredients from rosemary by preparative-supercritical fluid chromatography (Prep-SFC). J Pharm Biomed.Anal. 8-28-41(5):1606-1613.

9 Cuvelier ME, Richard H, Berset C. (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. J Am Oil Chem Soc 73:645-65.

10 Paris A, Strukelj B, Renko M, Turk V, Pukl M, Umek A, and Korant BD (1993) Inhibitory effect of carnosolic acid on HIV-1 protease in cell-free assays. J Nat Prod 56:1426-1430.

11 Moss, M (2003). "Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults". *International Journal of Neuroscience* 113 (1): 15–38.

12 Moreno S, Scheyer T, Romano CS, and Wang, Z. Y.(2006) Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radic.Res.40(2):223-231.

13 Calabrese, V., Scapagnini, G., Catalano, C., Dinotta, F., Geraci, D & ,.Morganti, P. (2000). Biochemical studies of a natural antioxidant isolated from rosemary and its application in cosmetic dermatology .*International Journal of Tissue Reactions* .13-5 :(1) 22 .

14 Perez-Fons L, Aranda FJ, Guillen J. (2006) Rosemary (Rosmarinus officinalis) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipid membranes. Arch Biochem Biophys. 9-15-453(2):224-236.

15 Huang, M. T., Ho, C. T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y. R., Stauber, K ,.Ma, W., Georgiadis, C., Laskin, J. D & ,.Conney, A. H. (1994). Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid .*Cancer Res*.8-701:(3)54 .

16 Sancheti G, Goyal P. (2006) Modulatory influence of Rosemarinus officinalis on DMBA-induced mouse skin tumorigenesis. Asian Pac J Cancer Prev. 7(2):331-335.

17 Burnham Institute for Medical Research (2007). Rosemary Chicken Protects Your Brain From Free Radicals. ScienceDaily. Retrieved November 2, 2007, from http://www.sciencedaily.com

18 Almela L, Sanchez-Munoz B, Fernandez-Lopez JA. (2006) Liquid chromatograpic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. J Chromatogr.A. 1120(1-2):221-229.