الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للخلاصات النباتية من النوعين Inula graveolens و Inula viscosa

عبد العليم بلّو، عدنان قشلان*

ملخص

تمّ استخلاص أوراق النوعين Inula graveolens و Inula viscosa التابعين للفصيلة المركبة Asteraceae بواسطة إيثير البترول والكلوروفورم والإيثانول. تم حساب أوزان الخلاصات النباتية والنسبة المئوية لكل خلاصة من الوزن الجاف، وتراوحت هذه النسبة ما بين 7.68% لخلاصة إيثير البترول لنبات Inula graveolens و22.55% لخلاصة الكلوروفورم لنبات Inula viscosa.

تم الكشف عن أهم المكونات الفعّالة الموجودة في هذه الخلاصات، حيث تبين وجود الفلافونوئيدات والتانينات والتربينات الثلاثية الستيروئيدية في كلا النباتين، أما السابونينات والكومارينات والقلويدات والغليكوزيدات القلبية فلم تلاحظ في أيّ منهما.

دُرست الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لهذه الخلاصات باستخدام طريقة الانتشار من الحويضات Agar Well Diffusion Method بوضع 20 أو 40 أو 80 ميكروليتر من الخلاصة النباتية (بتركيز 5%) في كل حويضة.

أظهرت النتائج أن كل الخلاصات المفحوصة كان لها فعالية ما ضد الأحياء الدقيقة، وتبيّن أن أشدّ الخلاصات فعالية كانت خلاصة إيثير البترول لنبات Inula viscosa حيث بلغ قطر منطقة التثبيط الجرثومي لجراثيم Bacillus subtilis حوالي 30مم عند استخدام 80 ميكروليتر من هذه الخلاصة. كما وجد أن الجراثيم سالبة الغرام كانت مقاومة لكل الخلاصات المفحوصة.

سجلت الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لنبات Inula graveolens هنا للمرة الأولى.

الكلمات الدالة: الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة، النباتات الطبية، الخلاصات النباتية، الفصيلة المركبة.

المقدمـة

الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة في النباتات الطبية

أثارت الكثير من النباتات الطبية الاهتمام كمصادر للمنتجات الطبيعية، واختبرت استخداماتها كعلاجات بديلة alternative remedies للعديد من العدوات infections، وكعوامل حافظة للأغذية مما يوحي بوجود مكونات فعالة مضادة للأحياء الدقيقة فيها antimicrobial constituents (Panovska *et al.*, 2005).

تشكل العدوات الجرثومية والفطرية تهديداً متعاظماً للصحة وأسباباً بارزة لضعف المناعة، ولهذا السبب هناك حاجة ماسة لإيجاد عوامل مضادة للأحياء الدقيقة، مؤثرة وقليلة التكلفة (Rasooli and Mirmostafa, 2003).

وتشكل العلاجات العشبية المستخدمة في الطب الشعبي التقليدي مصدراً مهماً، وما يزال غير مكتشفٍ بشكل كبير، للعقاقير النباتية الجديدة التي يمكن أن تساعدنا في حلّ مشكلتي المقاومة لدى الجراثيم من جهة، وسمّية المضادات الحيوية التجارية المتوفرة حالياً من جهة أخرى.

حذّر الكسندر فلمنغ في مقابلة أجرتها معه نيويورك تايمز عام 1945 من أن سوء استخدام البنسلين يمكن أن يؤدي إلى نمو أشكال طافرة من الجراثيم المقاومة (ماك كينا، 2003).

درست فعالية بعض الخلاصات النباتية ضدّ الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية (Nascimento et al., 2000).

يقدّر عدد النباتات الراقية في العالم بحوالي 250,000 نوع تقريباً، درست القيمة العلاجية لأقل من 15% منها فقط، حيث أن القسم الأعظم منها مازال بحاجة إلى البحث والاستقصاء. وهناك عدة تقارير في المراجع العلمية العالمية تتعلق بالفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للخلاصات النباتية الخام والتعرف على مكوناتها للحصول على المواد الفعالة (Souza *et al.*, 2004).

اهتمت العديد من الدول بدراسة الفعالية المضادة للأحياء

* قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة حلب، سورية. تاريخ استلام البحث 2010/12/5 وتاريخ قبوله 2013/5/19.

© 2013 عمادة البحث العلمي/ الجامعة الأردنية. جميع الحقوق محفوظة.

الدقيقة لخلاصات بعض النباتات الطبية كالمغرب (Larhsini *et al.*, 2001)، واسكتلندا (Kumarasamy *et al.*, 2002)، وإيطاليا (Izzo *et al.*, 1995)، وباكستان (Zaidi *et al.*, 2005)، والبرازيل (Souza *et al.*, 2004)، واليمن (Mothana and Lindequistb, 2005)، وتركيا (Dugler and Gonuz, 2004 و Uzun *et al.* 2004)، والأردن (Abu-Irmaileh and Afifib, 2003)، وفلسطين (Abu-Shanab *et al.*, 2004)، والسعودية (Al-Yahya *et al.*, 1990)، ولبنان (Barbour *et al.*, 2004)، وسورية (قشلان وآخرون، 2004) و(بلّو وشلبي، 2008).

الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة في النباتات التابعة للفصيلة المركبة Asteraceae:

دُرست الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لخلاصات بعض النباتات المستخدمة في الطب الشعبي في فلسطين والتي جمعت من نابلس وجنين ومن هذه النباتات: *Inula viscosa* و*Phagnalon rupestre* التابعان للفصيلة المركبة (Ali-Shtayeh *et al.*, 1998).

ثبطت خلاصات *Achillea millefolium* و *Matricaria chamomilla* بشكل قويّ نمو *Staphylococcus aureus* ولم تبد تثبيطاً واضحاً للجراثيم سالبة الغرام *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* (Romero *et al.*, 2005).

كما درست الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للزيت العطري وللخلاصات الميثانولية لنبات *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. استخدمت طريقة الانتشار من الحويضات ضمن الأغار Agar Well Diffusion Method لدراسة فعالية الخلاصات النباتية، وطريقة الأقراص المشرّبة Disk Diffusion Method لدراسة فعالية الزيت العطري، وكُرّرت كل تجربة مرتين.

تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 10 و21 مم، والتراكيز المثبطة الأصغرية بين 4.5 و72 مغ/مل، وكان الزيت العطري أقوى فعالية من الخلاصات (Candan *et al.*, 2003).

كما درست الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للأحياء الدقيقة للزيت العطري وللخلاصة الميثانولية لنبات *Achillea biebersteini* Afan. باستخدام طريقة الانتشار من الحويضات ذات قطر 8 مم. تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 10 و60 مم، والتراكيز المثبطة الأصغرية بين 0.15 و36 مغ/مل حسب أنواع الأحياء الدقيقة المفحوصة، وكانت فعالية الزيت العطري أقوى من الخلاصات (Sokmen *et al.*, 2004).

ودرست الفعالية المضادة للفطريات Antifungal لنبات الأرضي شوكي *Cynara scolymus* L.، حيث تمّ فحص خلاصات الكلوروفورم والإيثانول وإيثيل أسيتات لكل من الأوراق والرؤوس الزهرية والسوق باستخدام طريقة الانتشار من الحويضات ذات قطر 6 مم. وتبيّن أن مردود خلاصات الأوراق أعلى وفعاليتها أقوى من خلاصات الأزهار والسوق ضد كل الفطريات المفحوصة، كذلك لوحظ أن مردود الخلاصات الإيثانولية أعلى وفعاليتها أقوى من الخلاصتين الأخريين. وتراوح مردود الخلاصات بين 5.5 و24.4%، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 0 و13 مم (لا تتضمن قطر الحويضة) (Zhu *et al.*, 2005).

درست الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لبعض النباتات المستخدمة في الطب الشعبي في تركيا، كانت أقوى الخلاصات فعالية هي خلاصة إيثير البترول، وتراوحت قيم MIC بين 39.1 و625 ميكروغرام/مل، وسجلت الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لبعض النباتات مثل *Senecio vulgaris* من الفصيلة المركبة للمرة الأولى (Uzun *et al.*, 2004).

درست الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الإيثانولية الخام من الأجزاء الهوائية والجذور لنبات *Arctium lappa* L. الذي يستخدم كمعرق diaphoretic ومدر للبول diuretic ومضاد للقرحة anti-ulcer، حيث كانت خلاصة الجذر أشدّ فعالية، وبلغت MIC 62.5 مغ/مل لكل من *Bacillus cereus* و*Staphylococcus aureus*، بينما لم تكن الخلاصتان فعالتين على كل من *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Candida albicans* (Kokoska *et al.*, 2002).

درست الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الإيثانولية الخام من الأجزاء الهوائية والريزوم لنبات *Tussilago farfara* L. الذي يستخدم كمطهر Antiseptic ومضاد للالتهاب، حيث كانت خلاصة الأجزاء الهوائية أشدّ فعالية، وبلغت MIC 15.63 و62.5 مغ/مل لكل من *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* على الترتيب، بينما لم تكن الخلاصتان فعالتان على كل من *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Candida albicans* (Kokoska *et al.*, 2002).

درست الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للنوع *Helichrysum italicum* وتم اختيار الخلاصات الأكثر فعالية التي أعطت قطر تثبيط ≤ 12 مم لحساب MIC. كانت الجراثيم موجبة الغرام والفطريات أكثر تحسساً للخلاصات النباتية من الجراثيم سالبة الغرام، وتبين أن هذه الفعالية يمكن أن تعزى إلى وجود الفلافونوئيدات والتربينات (Nostro *et al.*, 2000).

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تم تصنيف العينات النباتية المجموعة بالاعتماد على أهم الفلورات المتاحة (Post 1934) و(Mouterde 1983)، يبين الجدول رقم (1) الأسماء العلمية والعربية للنباتين المدروسين ومكان الجمع ورقم العينة المجفّفة والمحفوظة لدى قسم علم الحياة النباتية.

الجدول (1)
النباتان المدروسان التابعان للفصيلة المركبة: Asteraceae

الاسم العلمي للنبات	الاسم المحلي	مكان الجمع	تاريخ الجمع	رقم العينة
***Inula graveolens* (L.) Desf.**	إينولا	عندان (حلب)	حزيران 2004	BD-1024
***Inula viscosa* (L.) Ait.**	طيّون	كسب (اللاذقية)	حزيران 2004	BD-1025

الجدول (2)
النسبة المئوية لكل خلاصة من الوزن الجاف لمسحوق النبات (50 غ)

الاسم العلمي للنبات	الخلاصة P		الخلاصة C		الخلاصة E	
	الوزن (غ)	النسبة%	الوزن (غ)	النسبة%	الوزن (غ)	النسبة%
Inula graveolens	3.84	**7.68**	8.42	**16.84**	5.68	**11.36**
Inula viscosa	5.40	**10.81**	11.27	**22.55**	5.88	**11.76**

P: خلاصة إيثير البترول، **C:** خلاصة الكلوروفورم, **E:** الخلاصة الإيثانولية.

سحقت الأوراق المجففة بشكل ناعم جداً، وتم نقع 50 غ من مسحوق النبات بحوالي 250 مل من المذيب (المحلّ) إيثير البترول P أو الكلوروفورم C أو الإيثانول E لمدة 24 ساعة ولثلاث مرات متتالية، وذلك في قوارير عاتمة سعة 1 لتر، تمّ ترشيح الخلاصة وتبخير المذيب في كل مرّة في درجة حرارة أقل من 50° م وتحت ضغط مخفّف باستخدام المبخّر الدوّار للحصول على الخلاصات الجافّة (Geyid *et al*., 2005).

تمّ حساب النسبة المئوية لكل خلاصة بتقسيم وزن الخلاصة الجافة على وزن مسحوق النبات (وهو 50 غ) مضروباً بـ 100.

استخدمت طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC) والتألق اللوني بالأشعة فوق البنفسجية ذات طول موجي 254 و365 نانومتر للكشف عن القلويدات Alkaloids والأنثراكينونات Anthraquinone والفلافونوئيدات Flavonoids والكومارينات Coumarins والتانينات Tannins. واستخدم كاشف دراجندورف Dragendorff reagent للكشف عن القلويدات, وكاشف كيد Kedde reagent للكشف عن الغليكوزيدات القلبية Cardiac Glycosides، وفانيلين حمض الكبريت Vanillin-sulphuric acid للكشف عن الصابونينات Saponins والتربينات الثلاثية الستيروئيدية Steroidal Triterpenoides في الخلاصات النباتية المدروسة (Wagner and Bladt, 1996).

تم اختبار الفعالية المضادّة للأحياء الدقيقة بطريقة الانتشار بالحويضات Agar Well Diffusion Method (Debnath, 2008)، حيث أذيبت الخلاصات النباتية الجافة في ثنائي ميثيل سفوكسيد DMSO ليصبح تركيز كل منها 5% وأضيف 20 أو 40 أو 80 ميكروليتر الخلاصة في كل حويضة باستخدام ماصة دقيقة Micropipette ذات رؤوس عقيمة. وتمّ تقييم

فعالية خلاصات النباتات المدروسة (تحسّس الأحياء الدقيقة تجاهها) بقياس قطر منطقة التثبيط Zone of Inhibition (Liasu and Ayandele, 2008).

استخدمت طريقة التمديد Agar dilution method لحساب التركيز المثبّط الأصغري Minimal Inhibitory Concentration (MIC) كأقل تركيز للخلاصة النباتية لا تبدي فيه الأحياء الدقيقة المفحوصة نمواً مرئياً (Kumarasamy et al., 2002) حيث تم زرع الأحياء الدقيقة المفحوصة بالطريقة الشعاعية Radial Pattern (Mitscher *et al.*, 1972).

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

1- مردود الخلاصات النباتية *Yeilds of Plant Extracts*

تراوحت النسبة المئوية للخلاصات من الوزن الجاف ما بين 7.68% لخلاصة إيثير البترول لنبات Inula graveolens و22.55% لخلاصة الكلوروفورم لنبات Inula viscosa، الجدول رقم (2).

ونلاحظ من الجدول السابق أن مردود الخلاصات المختلفة بالنسبة للنباتين *Inula graveolens* و*Inula viscosa* كان مرتفعاً بشكل واضح، ويمكن تفسير ذلك بارتفاع نسبة المواد الفعالة في هذين النباتين أو بنوعية المذيبات المستخدمة في الاستخلاص.

وبالمقارنة مع أبحاث أخرى نجد أن مردود الخلاصة الميثانولية لنبات *Vernonia cinerea* من الفصيلة المركبة Asteraceae بلغ 3.7%، أما الخلاصة الكلوروفورمية فكان مردودها 1.1% فقط (Gupta *et al.*, 2003).

وتراوح مردود الخلاصات المختلفة لنبات *Loranthus micranthus* بين 5.5% لخلاصة إيثير البترول و16.6% لخلاصة الميثانول (Osadebe and Akabogu 2006).

2- الكشف الكيميائي النباتي *Phytochemical Screening*

أظهر الكشف الكيميائي النباتي وجود الفلافونوئيدات والتانينات والتربينات الثلاثية الستيروئيدية في كلا النباتين، أما السابونينات والكومارينات والقلويدات والغليكوزيدات القلبية فلم تلاحظ في أيّ منهما، الجدول رقم (3).

عزلت المكونات الفعالة المضادة للالتهاب من خلاصات *Inula viscosa* وهي: ثلاثة فلافونوئيدات أهمها رامنوسيترين rhamnocitrin واثنان من السيسكوتربينوئيدات هما inuviscolide و ilicic acid (وهما الأكثر فعالية) (Hernández *et al.*, 2001).

عزلت من *Inula graveolens* لاكتونات سيسكوتربينية sesquiterpene lactones وفلافونوئيدات flavonoids وفلافونولات dihydroflavonol وفلافونات flavones (Abid and Qaiser 2003).

الجدول (3)
الكشف الكيميائي النباتي للخلاصات النباتية

Plant	Alk.	C.G.	Anth	Fla.	Sap.	Cou.	Tan.	St.T.
Inula graveolens	-	-	-	+	-	-	+	+
Inula viscosa	-	-	-	+	-	-	+	+

Alk.: Alkaloids, **C.G.**: Cardiac Glycosides, **Anth.**: Anthraquinone, **Fl.**: Flavonoids, **Sap.**: Saponins, **Cou.**: Coumarins, **Tan.**: Tannins, **St.T.**: Steroidal Triterpenoides.

3- تقييم الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة بطريقة الانتشار
Agar Well Diffusion Method

تمّ تقييم الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة بطريقة الانتشار بالحويضات، حيث سُجّل قطر منطقة التثبيط الجرثومي مقدراً بـ مم متضمناً 6 مم قطر الحويضة، وأخذ المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، الجدول رقم (4) والجدول رقم (5).

نلاحظ من الجدولين السابقين أن خلاصات نبات *Inula viscosa* أكثر فعالية من خلاصات نبات *Inula graveolens*، ففي حين تجاوز قطر منطقة التثبيط 30 مم لجراثيم *Bacillus subtilis* عند استخدام 80 ميكروليتر من خلاصة إيثير البترول للنبات الأول، لم تصل هذه القيمة إلى 20 مم عند تطبيق الجرعة نفسها من الخلاصة نفسها للنبات الثاني.

كذلك بلغ قطر منطقة التثبيط 23 مم لجراثيم *Staphylococcus aureus* عند استخدام 80 ميكروليتر من الخلاصة الإيثانولية لنبات *Inula viscosa*، بينما بلغت 15.67

مم عند تطبيق الجرعة نفسها من الخلاصة نفسها لنبات *Inula graveolens*.

الجدول رقم (4)

الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لنبات Inula graveolens

Plant	Extract	Conc. (µl)	B.s	M.l	S.a	E.c	K.p	P.a	C.a
Inula graveolens	P	20	9.67	9.33	11.00	-	-	-	9.00
		40	16.33	13.33	13.67	-	-	-	13.00
		80	19.67	17.67	15.67	8.00	9.67	7.33	17.00
	C	20	10.67	9.67	10.33	-	-	-	7.33
		40	14.33	10.67	11.67	-	-	-	11.33
		80	19.00	16.00	14.00	8.33	8.67	-	15.67
	E	20	8.33	8.00	8.67	-	-	-	-
		40	17.33	11.67	12.33	-	-	-	9.00
		80	20.33	16.00	15.67	7.00	9.00	-	12.00

P: Petroleum ether extract, **C**: Chloroform extract, **E**: Ethanol extract.

B.s: *Bacillus subtilis*, **M.l**: *Micrococcus luteus*, **S.a**: *Staphylococcus aureus*,

E.c: *Escherishia coli*, **K.p**: *Klebsiella pneumoniae*, **P.a**: *Pseudomonas aeruginosa*, **C.a**: *Candida albicans.*

الجدول رقم (5)

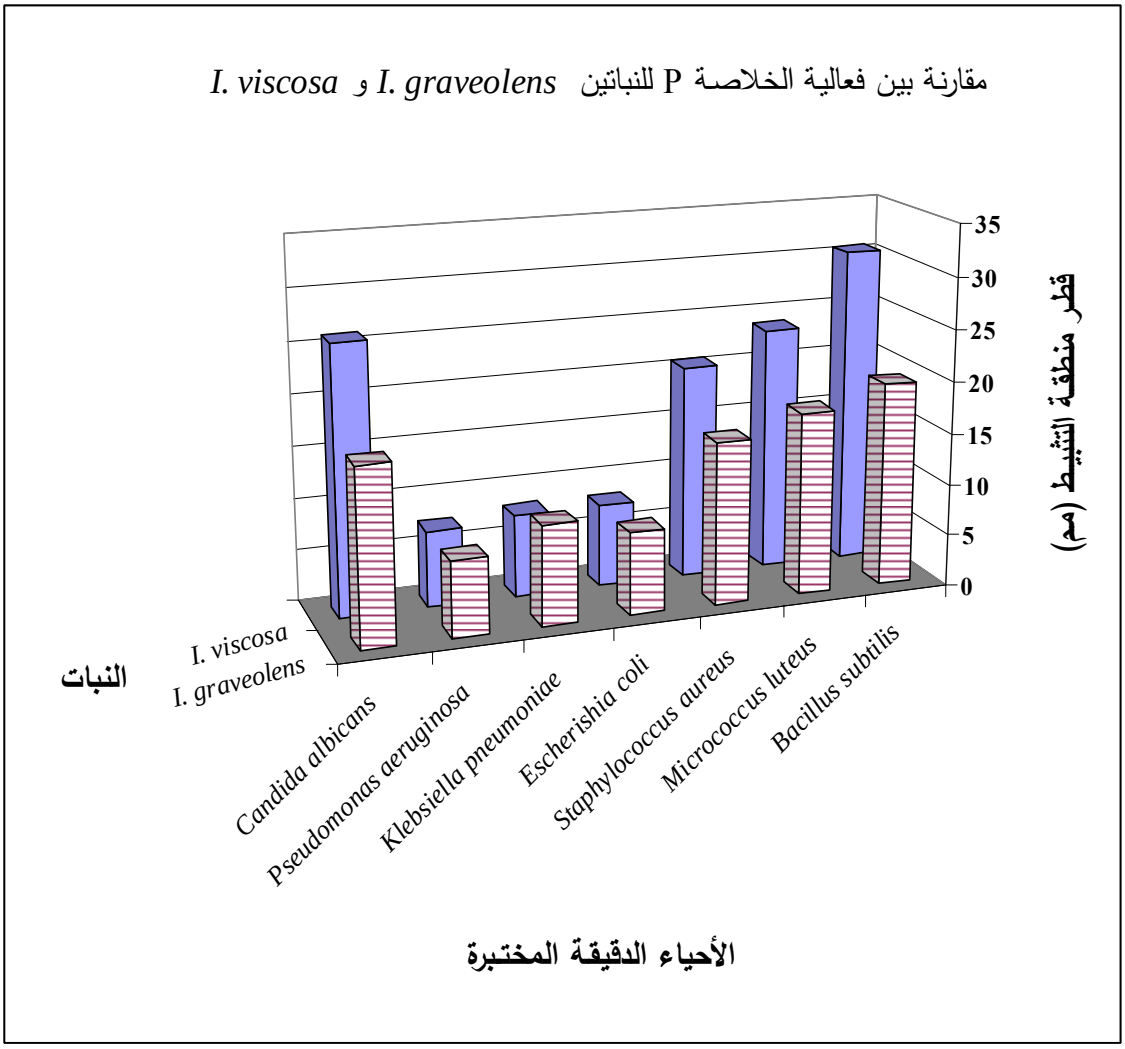
الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لنبات *Inula viscosa*

Plant	Extract	Conc. (µl)	B.s	M.l	S.a	E.c	K.p	P.a	C.a
Inula viscosa	P	20	20.33	18.00	18.00	-	-	-	18.33
		40	27.00	21.33	19.33	-	-	-	21.33
		80	30.67	23.67	20.67	8.00	8.00	7.33	26.00
	C	20	19.00	15.67	17.00	-	-	-	17.33
		40	24.33	18.00	19.33	-	-	-	21.33
		80	28.67	21.67	21.33	8.00	8.67	7.67	25.33
	E	20	19.33	13.33	17.00	-	-	-	18.33
		40	24.33	18.00	20.33	-	-	-	21.33
		80	27.67	22.67	23.00	-	9.00	7.00	24.33

P: Petroleum ether extract, **C**: Chloroform extract, **E**: Ethanol extract.

B.s: *Bacillus subtilis*, **M.l**: *Micrococcus luteus*, **S.a**: *Staphylococcus aureus*,

E.c: *Escherishia coli*, **K.p**: *Klebsiella pneumoniae*, **P.a**: *Pseudomonas aeruginosa*, **C.a**: *Candida albicans.*



الشكل رقم (1): مقارنة بين فعالية *Inula graveolens* و*Inula viscosa* عند استخدام 80 ميكروليتر من الخلاصة P

الجدول (6)

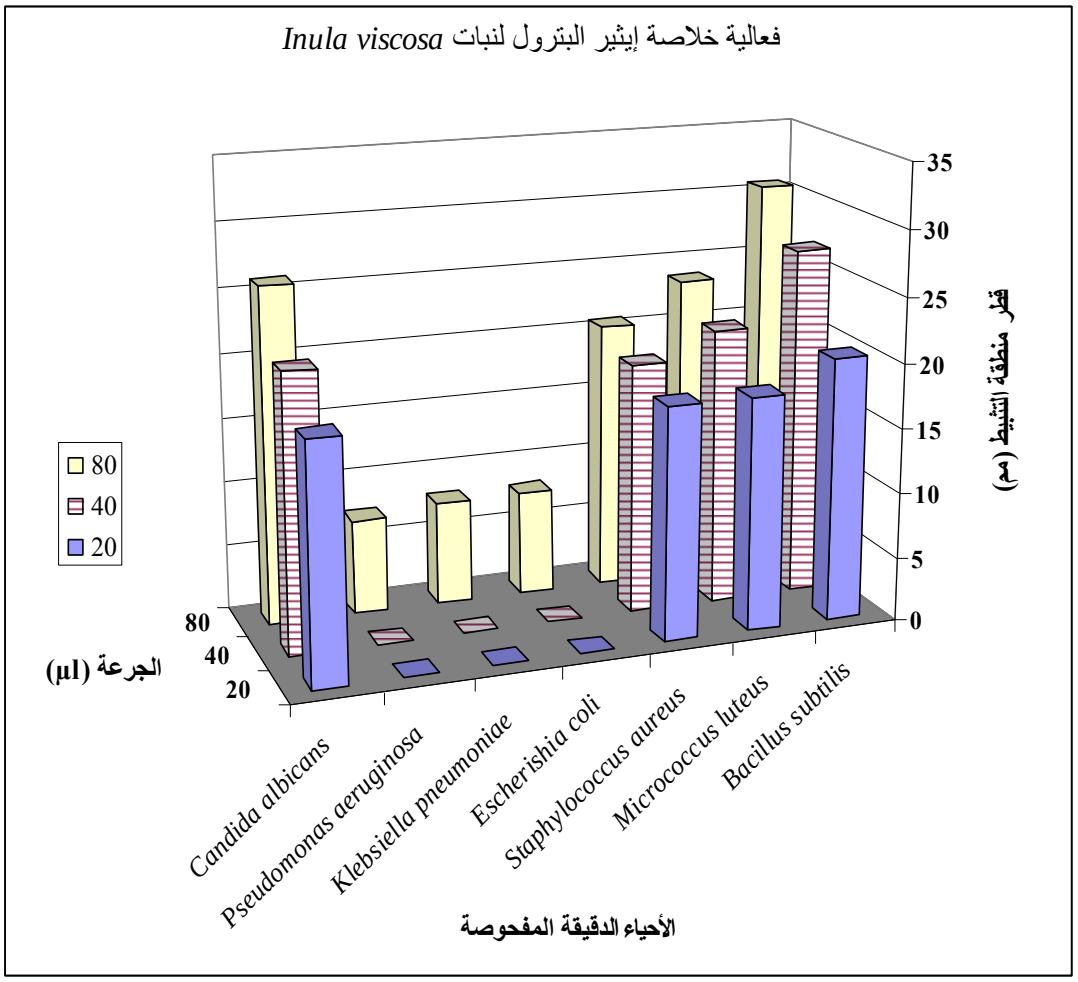
التركيز المثبّط الأصغري (MIC) لأكثر الخلاصات النباتية فعالية (مقدراً بـ مغ/مل)

Plant	Extract	B.s	M.l	S.a	E.c	P.a	K.p	C.a
Inula graveolens	P	1	2	2	>2	>2	>2	2
	E	2	2	2	>2	>2	>2	2
Inula viscosa	P	0.5	0.5	0.5	>2	>2	>2	0.5
	E	0.25	0.5	0.5	>2	>2	>2	0.5

P: Petroleum ether extract, **C**: Chloroform extract, **E**: Ethanol extract.

B.s: *Bacillus subtilis*, **M.l**: *Micrococcus luteus*, **S.a**: *Staphylococcus aureus*,

E.c: *Escherishia coli* , **K.p**: *Klebsiella pneumoniae*, **P.a**: *Pseudomonas aeruginosa*, **C.a**: *Candida albicans.*



الشكل رقم (2): فعالية خلاصة إيثير البترول لنبات *Inula viscosa* بجرعات متزايدة

يبين الشكل رقم (1) مقارنة بين فعالية *Inula graveolens* و *Inula viscosa* عند استخدام 80 ميكروليتر من الخلاصة P.

ويبين الشكل رقم (2): فعالية خلاصة إيثير البترول لنبات *Inula viscosa* بجرعات متزايدة.

وبشكل عام تجاوزت أقطار مناطق التثبيط 20 مم لكل الجراثيم موجبة الغرام ولخميرة *Candida albicans* عند تطبيق 80 ميكروليتر من الخلاصات P أو C أو E لنبات *Inula viscosa*، بينما لم تصل إلى هذه القيمة عند جرعة مماثلة من أي من خلاصات *Inula graveolens*.

أما الجراثيم سالبة الغرام فكانت مقاومة لكل الخلاصات النباتية P وC وE لكلا النباتين *Inula graveolens* و *Inula viscosa*، وكان قطر منطقة التثبيط أقل من 10 مم.

نلاحظ أيضاً من الجدولين السابقين أن الخلاصات المختلفة P أو C أو E للنباتين وكانت ذات فعالية متقاربة ضد الأحياء الدقيقة المفحوصة، سواء في نبات *Inula graveolens* أو في نبات *Inula viscosa*، ولم تسجل أفضلية واضحة لخلاصة ما على الخلاصتين الأخريين. ولكن تظهر أفضلية نبات *Inula viscosa* بشكل واضح على نبات *Inula graveolens*. ويبدو أن هذه الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة لنبات *Inula viscosa* تفسّر سبب استخدامه شعبياً في العديد من البلدان، ومنها سورية، لعلاج الجروح والتئامها.

لم نعثر على أية دراسة نبّهت إلى فعالية نبات *Inula graveolens* المضادة للأحياء الدقيقة، أو أية فعالية حيوية أخرى، وذلك من خلال البحث في المجلات العلمية المعنية، وقواعد البيانات العلمية المتخصصة على شبكة الانترنت. ولذلك نعتقد أن هذا البحث يمثّل سابقة باعتباره الإشارة الأولى إلى الخواص الحيوية لهذا النبات.

تم هنا فحص خلاصات نباتية بتركيز 5% (50 مغ/مل) وأعطت بعض هذه الخلاصات فعالية قوية جداً ضد بعض الأحياء الدقيقة, وبالمقارنة مع أبحاث أخرى نجد أن بعض الباحثين استخدموا خلاصات بتركيز مرتفع 20% (200 مغ/مل) (Celotto *et al.* 2003) أو 30% (300 مغ/مل)

(Dugler and Gonuz 2004).

وضعنا في كل حويضة 20 أو 40 أو 80 ميكروليتر، أي ما يعادل 1 أو 2 أو 4 مغ/حويضة، وهو أقل من الجرعات المستخدمة في بعض الأبحاث حيث وُضع 5 مغ/حويضة (Alves *et al.* 2000) و6 مغ/حويضة (Celotto *et al.*, 2003).

كانت فعالية الخلاصات المفحوصة على الجراثيم موجبة الغرام أقوى من فعاليتها على الجراثيم سالبة الغرام, وهذا يتوافق مع نتائج (Mothana and Lindequistb, 2005) على بعض النباتات الطبية في جزيرة سوقطرة اليمنية، حيث أظهرت خلاصة واحدة فقط من 80 خلاصة نباتية مفحوصة فعالية مضادة لجراثيم *Escherishia coli* أما جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* فكانت مقاومة لكل هذه الخلاصات.

أما نتائج (Zaidi *et al.*, 2005) على بعض النباتات الطبية في باكستان فقد أظهرت أن جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* أكثر تحسّساً لخلاصة نبات *Grewia erythraea* من كل الجراثيم المفحوصة الأخرى سالبة وموجبة الغرام.

4-التركيز المثبط الأصغري Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

تم حساب التركيز المثبّط الأصغري MIC للخلاصتين P و E للنباتين *Inula graveolens* و *Inula viscosa*.

اختلفت قيم MIC من 0.25-2 مغ/مل وذلك حسب نوع الأحياء الدقيقة المفحوصة وتبعاً لنوع الخلاصة النباتية المستخدمة، أما الجراثيم سالبة الغرام فلم يتثبط نموها في التراكيز المفحوصة حتى 2 مغ/مل الجدول رقم (6).

بالنسبة لنبات *Inula viscosa* كان التركيز المثبط الأصغري 0.25 مغ/مل بالنسبة لجراثيم *Bacillus subtilis* و0.5 مغ/مل بالنسبة لخميرة *Candida albicans* عند استخدام الخلاصة الإيثانولية لهذا النبات.

وبالمقارنة مع الأبحاث التي أجريت في هذا المجال نجد أن قيمة MIC تراوحت بين 1.48 مغ/مل بالنسبة لجراثيم *Escherishia coli* عند استخدام الخلاصة الإيثانولية، و5.62 مغ/مل بالنسبة لجراثيم *Bacillus subtilis* عند استخدام خلاصة إيثير البترول لنبات *Loranthus micranthus*، كما وجد أن جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة لكل الخلاصات المفحوصة (Osadebe and Akabogu, 2006).

وتراوحت قيمة MIC بين 1.8 مغ/مل بالنسبة لجراثيم *Bacillus subtilis*، و62.5 مغ/مل بالنسبة لجراثيم *Staphylococcus aureus*، وذلك عند استخدام الخلاصة الإيثانولية لنبات *Solidago virgaurea* من الفصيلة المركبة (Thiem and Goslinska, 2002).

المصادر والمراجع

بلّو عبد العليم وشلبي محمد نبيل، 2008، دراسة بعض شفويات الفلورا السورية وفعاليتها المضادة للأحياء الدقيقة. ندوة البيئة بين الحماية والتلوث، جامعة حلب، 22- 23 تشرين الأول 2008.

قشلان عدنان وحلوبي أحمد وبلّو عبد العليم، 2004، الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة في خلاصات بعض النباتات الطبية السورية. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، العدد 43، ص 127-142.

ماك كينّا، جو، 2003، بدائل المضادات الحيوية. مكتبة العبيكان، الرياض، السعودية، الطبعة الأولى، 266 صفحة.

Abid, R. and Qaiser, M. 2003. Chemotaxonomic Study of *Inula* L. (S.Str.) and Its Allied Genera (Inuleae - Compositae) from Pakistan and Kashmir. Pak. J. Bot., 35 (2): 127-140.

Abu-Irmaileh, B. E. and Afifi, F. U. 2003. Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 193-197.

Abu-Shanab, B., Adwan, G., Abu-Safiya, D., Jarrar, N. and Adwan, K. 2004. *Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine*. Turk. J. Biol., 28: 99-102.

Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem, K, Al-Nuri M.A. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 265-271.

Al-Yahya, M. et al. 1990. Saudi Plants a phytochemical and biological approach. King Abdul Aziz City for Science and Technology, Riyadh, p524.

Barbour, E. K., Al Sharif, M., Sagherian, V. K., Habre, A. N., Talhouk, R. S. and Talhouk, S. N. 2004. Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93 (1): 1-7.

Candan, F., Unlu, M., Bekta S. Tepe, Dimitra Daferera, Moschos Polissiou, Atalay Sökmen, H. A., skýn Akpulat. 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium subsp. millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87: 215-220.

Celotto, A. C., Nazario, D. Z. and Cunha, W. R. 2003.

Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts from Tithonia diversifolia and Bryum Coronatum Collected from Ogbomoso, Oyo State. *Nigeria. Advances in Natural and Applied Sciences*, 2 (1): 31-34.

Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. N. Beal, J. L. and White, R. 1972. Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, Rationale, and Methodology. *Lloydia*, 35 (2): 157-166.

Mothana, R.A.A. and Lindequist, U. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 177-181.

Mouterde, P. 1983. *Nouvelle flora du Liban et de la Syrie*. Tome 3. Texte and Atlas. Dar el Mashreq, Beirut, p. 576.

Nascimento, G. G. F., Locatelli, Juliana, Paulo, C. Freitas1 and Giuliana, L. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 247-256.

Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A. and Cannatelli, M.A. 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, 30: 379-384.

Osadebe, P.O. and Akabogu, I.C. 2006. Antimicrobial activity of *Loranthus micranthus* harvested from kola nut tree. Fitoterapia, 77: 54-56.

Panovska, T. K., Kulevanova, S. and Stefova, M. 2005. In vitro antioxidant activity of some *Teucrium* species (Lamiaceae). Acta Pharm., 55: 207-214.

Post, G. E. 1932,1934. Flora of Syria, Palestine and Sinai. (2nd. ed), American University press, Beirut, 2: 928.

Rasooli, I. and Mirmostafa, S.A. 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (8): 2200-2205.

Romero, C. D., Chopin, S. F., Buck, G., Martinez, E., Garcia, M. and Bixby L. 2005. Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. *Journal of Ethnopharmacology*, 99 (2): 253-257.

Sokmen, A., Skmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Unlü, M. and Akpulat H.A. 2004. The in vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae). *Phytother. Res.,* 18: 451-456.

Souza, G.C. de, Haas, A.P.S., Poser, G.L. von, Schapoval, E.E.S. and Elisabetsky, E. 2004. Ethnopharmacological Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three Miconia species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 339-340.

de Souza, G. C., Haas, A.P.S., von Poser, G.L., Schapoval, E.E.S., Elisabetsky, E. 2004. *Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the South of Brazil Journal of Ethnopharmacology*, 90: 135-143.

Debnath, M. 2008. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant Stevia rebaudiana. Journal of Medicinal Plants Research, 2 (2): 045-051.

Dugler, B. and Gonuz, A. 2004. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Science*, 3 (1): 104-107.

Geyid, A., Abebe, D., Debella, A., Makonnen, Z., Aberra, F., Teka, F., Kebede, T., Urga, K., Yersaw, K. and Biza, T. 2005. Screening of some medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 421-427.

Gupta M., Mazumder U.K. , Manikandan L., Haldar P.K.,Bhattacharya S., Kandar C.C. 2003. Antibacterial activity of *Vernonia cinerea*. Fitoterapia, 74: 148-150.

Hernández, V., Recio, M. C., Máñez, S., Prieto, J. M., Giner, R. M. and Ríos, J. L. 2001. A Mechanistic Approach to the In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Sesquiterpenoid Compounds Isolated from *Inula viscosa*. Planta med; 67: 726-731.

Izzo, A. A., Di Carlo, G., Biscardi, D. and Capasso, F. 1995. Biological screening of Italian medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytotherapy Research*, 9: 281-286.

Kokoska, L., Polesny, Z., Rada, V., Nepovim, A. and Vanek, T. 2002. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 82: 51-53.

Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L. and Sarker, S.D. 2002. Screening Seeds of Scottish Plants for Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 83: 73-77.

Kumarasamy, Y., Cox, P.J., Jaspars, M., Nahar, L. and Sarker, S.D. 2002. Screening Seeds of Scottish Plants for Antibacterial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 83: 73-77.

Larhsini, M., Oumoulid, L., Lazrek, H.B., Wataleb, S., Bousaid, M., Bekkouche, K. and Jana, M. 2001. Antibacterial activity of some Moroccan medicinal plants. *Phytotherapy Research*, 15: 250-252.

Liasu, M.O. and Ayandele, A.A. 2008. Antimicrobial

Wagner, H. and Bladt, S. 1996. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2nd, p.384.

Zaidi, M. A., Crow, S. A. 2005. Biologically active traditional medicinal herbs from Balochistan, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 331-334.

Zhu, X.F., Zhanga, H.X. and Lo, R. 2005. Antifungal activity of *Cynara scolymus* L. extracts. Fitoterapia, 76: 108-111.

studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 135-143.

Thiem, B. and Goslinska, O. 2002. Antimicrobial activity of *Solidago virgaurea* from in vitro cultures. *Fitoterapia*, 73 (6): 514-516.

Uzun, E., Sariyar, G., Adsersen, A., Karakoc, B., Otuk, G., Oktayoglu, E. and Pirildar, S. 2004. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *Journal of Ethnopharmacology*, 95: 287-296.

Antimicrobial Activity of the Plant Extracts of Inula Graveolens and *Inula Viscosa*

AbdelAleem Bello and Adnan Qashlan*

ABSTRACT

The leaves of *Inula graveolens* and *Inula viscosa* related to Asteraceae were extracted with petroleum ether, chloroform and ethanol. The yield of extracts ranged between 7.68% in Petroleum ether extract of *Inula graveolens* to 22.55% in chloroform extract of *Inula viscosa*.

Phytochemical screening showed the presence of flavonoids, tannins, and steroidal triterpenes in the two species. Saponins, coumarins, alkaloids and cardiac glycosides was not observed in any of them.

Antimicrobial activities of these extracts were determined by agar well diffusion method. 20,40 or 80 microliters (µl) of the plant extract (at a concentration of 5%) were poured in the wells.

Most of tested extracts showed some Antimicrobial activities, but the greatest activity was exhibited by the petroleum ether extracts of *Inula viscosa*. when we used 80 µl of this extract the diameter of the inhibition zone was about 30 mm for *Bacillus subtilis*.

Gram negative bacteria were resistant to the tested plant extracts.

Keywords: Antimicrobial activity, Asteraceae, Plant extracts, Medicinal Plants.

* Department of Botany, Faculty of Science, University of Aleppo, Syria. Received on 5/12/2010 and Accepted for Publication on 19/5/2013.