الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة المنارة
كلية الصيدلة

تحري الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الميتانوليةلنبات العطرة(*Pelargonium graveolens*) المنتشر محليا

مشروع تخرج أعد لنيل درجة الإجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية

إعداد الطالبتين

إيمان إبراهيم كنج

جودي علي حسون

إشراف

د. ديما نبيل محمد

العام الدراسي 2021-2020

الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة المنارة
كلية الصيدلة

تحري الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الميتانوليةلنبات العطرة(*Pelargonium graveolens*) المنتشر محليا

مشروع تخرج أعد لنيل درجة الإجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية

إعداد الطالبتين

إيمان إبراهيم كنج **جودي علي حسون**

إشراف

د. ديما نبيل محمد

العام الدراسي 2020-2021

أستاذنا العزيز د. محمد هارون..

لم تبخل علينا يوماً بجهدك ووقتك وكنت مثالاً للتفاني والعطاء

الدكتورة الغالية ديما محمد..

زرعت فينا بذور المثابرة وحب العمل والتميز نرجو أن نكون عند حسن ظنك بنا دائماً وأبداً

إلى من كنت فراشته... وأصبحت ذكراه اليوم قنديل طريقي

أبي

إلى الصخرة التي أستند إليها كلما شعرت بالتعب

أمي

صديق الطفولة والأحلام الجميلة وشريك الآلام والآمال والسند الحقيقي في الأيام الصعبة

أخي أحمد

سنديانة العائلة الوارفة التي تظلنا جميعاً بظلها

جدتي سهام

عائلتي الجميلة التي أحاطتنا دوماً بالمحبة والرعاية والاهتمام

أخوالي.. خالتي.. معكم للضحكة معنى آخر

سهرنا معاً.. درسنا معاً.. وتشاركنا لهفة ترقب النتائج معاً.. ومعاً ننهي مرحلتنا الجامعية بهذا المشروع المشترك

صديقة أيام الجامعة الحلوة إيمان

أصدقائي الذين أهداني إياهم الله ليزيد من رصيد نعمه علي شكراً لوجودكم في حياتي

رند،حسين،ميار،زينة،نديم،عبد،سارة،جودي،لين،

مضر،ديالا،ريم،لين، عليا

إلى من بالحب غمروني وبجميل السجايا أدبوني.. إلى من كان حبهما يجري في عروق دمي

ان قلت شكراً فشكري لن يوفيكم، حقاً سعيتم فكان السعي مشكورا إن جف حبري عن التعبير يكتب لكم قلبٌ به صفاء الحب تعبيراً

والداي

إلى نجوم براقة لا يخفت بريقها عنا لحظة واحدة نترقب إضاءتها بقلوب ولهانة ونسعد بلمعانها في سمائنا كل ساعة

أختي وأخي

إلى ملائكة السماء إلى من فراقهم كسر قلبي ولكنكم لم تغادروا وحدكم لقد غادر جزءُ مني معكم

جدتي-شفيق

إلى فراشة الربيع والحضن الدافئ إلى من هوَن على دربي

سيدة ماريلين كنج

إلى من كانت بجانبي وساندتني.. إلى من رسمت سمائي بالألوان

جودي

إلى نور أيامي وشمس سمائي

شمس

إلى من قضيت معهم أجمل أيامي وتقاسمنا التعب والسهر

براءة، جلنار، مها

إلى أصدقاء الطفولة وصديقات الدرب

جوى،داليا، دانيا،روعة،ريمي، سنا،نينورتا، ميرا

تمثل الطبيعة مصدراً للمواد الطبية العلاجية منذ آلاف السنين، حيث أن عدداً كبيراً من الأدوية الحديثة هي مشتقة من مصادر طبيعية، وذلك بناء على الاستخدامات التقليدية لتلك النباتات.

عدد كبير من الأدوية الأكثر مبيعاً في القرن الماضي هو عبارة عن أدوية مطورة من المركباتالطبيعية، مثل: الفنكريستين من زهرة الفينكا، والمورفين من نبات الخشخاش، والتاكسول من نبات العليق. ظهر حديثاً الاهتمام بالنباتات كمصدر للعديد من الأدوية الحديثة، حيث أن الكثير من الأدوية المستعملة حالياً هي من منشأ طبيعي (حوالي 40% من الأدوية).

مع التزايد المستمر والملحوظ للمقاومة الجرثومية على الصادات الحيوية كان من المهم البحث عن مركبات جديدة لها خواص مضادة للجراثيم. حيث تعد العقاقير الحاوية على الزيوت العطرية مجالا واعداً لاستخدامها كمضادات للجراثيم. بناء على ذلك تم اختيار نبات العطرة المنتمي للفصيلة الغرنوقية لاختبار فعاليته ضد جراثيم:*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

تم استخلاص القمم المزهرة (أوراق مع أزهار) لنبات العطرة عبر النقع في الميتانول، وتم فلترة الخلاصة ومن ثم تجفيفها باستخدام المبخر الدوار.درست الفعالية المضادة للجراثيم للخلاصة الجافةباستخدام طريقة انتشار القرص المعيارية حيث أظهرت فعالية هامة ضد الجراثيم العصيات الكولونية *Escherichiacoli* و العنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus*وبلغ قطر منطقة التثبيط بالترتيب على النحو التالي 20 mm و17mm

الفهرس

العناوين	**رقم الصفحة**
الفصل الأول : المقدمة النظرية	
1.1 المقدمة	1
1.2 الأهداف و أهمية البحث	3
1.3 توصيف النبات	5
1.4 الفعالية الطبية	6
الفصل الثاني : الدراسة المرجعية	7
2.1 الدراسة الكيميائية	8
2.2 الدراسة الحيوية	11
الفصل الثالث: الدراسة العملية	13
3.1 تحضير العينة	14
3.2 الدراسة المجهرية	14
3.3 الاستخلاص	14
3.4 الدراسة الحيوية	15
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	18
4.1 النتائج والمناقشة	19
4.2 التوصيات والخلاصة	22
المراجع	23

فهرس الصور

الشكل رقم 1: خارطة التوزع الجغرافي للمناطق الغنية بالتنوع الحيوي 4
الشكل رقم 2 نبات العطرة 5
الشكل رقم 3 عملية الاستخلاص و التجفيف 15
الشكل رقم 4 العناصر التشخيصية في مسحوق النبات 19
الشكل رقم 5 البشرة السفلية لورق نبات العطرة 20
الشكل رقم 6الفعالية المضادة لجراثيم *staphylococcus aureus* 20

فهرس الجداول

الجدول رقم 1 الصيغ الكيميائية لمكونات الزيت العطري 9
الجدول رقم 2 الصيغ الكيميائية لمكونات الخلاصة الميتانولية 10
الجدول رقم 3 القدرة المثبطة للعطرة لنمو الجراثيم بفعل الزيت العطري 11
الجدول رقم 4 القدرة المثبطة للعطرة لنمو الجراثيم بفعل الزيت العطري 12
الجدول رقم 5 القدرة المثبطة لخلاصة العطرة الميتانولية لنمو الجراثيم 31

الفصل الأول

مقدمة نظرية

إن الاستفادة من المستقلبات الثانوية عبر استخدام النباتات الغذائية أو الطبية من أجل العلاج ظهر مع نشوء البشرية على وجه الأرض. كما وأن تطور المداواة بالنباتات يتم ضمن إطار النظام الشعبي شديد التنوع والمتعلق بالجوانب الدينية والثقافية والذي ساهم بشكل أو بآخر بتطوير المعارف العلمية الحديثة ويشهد التداوي بالنباتات اهتماماً كبيراً، حيث تمثل النباتات والأعشاب الطبية مصادر رئيسة لإنتاج العقاقير الطبية أو كمصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تركيب الدواء بشكل مباشر أو بشكل غير مباشر كمادة خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية بالاصطناع النصف صنعي أو الاصطناع الكامل.

تحتوي النباتات على عدد كبير من المستقلبات الثانوية كالمركبات الفلافونوئيدية والقلويدات والمواد العفصية والتربينية التي تملك الخواص المضادة للأحياء الدقيقة * بشكل خاص هذه المركبات الكيميائية الطبيعية يمكن أن تخترق جدار الخلية الجرثومية وتتداخل مع استقلاب الخلية الجرثومية بغية تثبيط اصطناع الجدار الخلوي أو البروتين أو الأحماض النووية مضعفة بذلك الفوعة الجرثومية أو حتى معدلة عميلة إنتاج الذيفانات.

وجد العلماء أن الاتجاه نحو الطب البديل أصبح أقل ضرراً على صحة الإنسان وأقل تكلفة نظراً لتوفر النباتات وقلة تكلفتها في استخلاص المواد الخام منها لتدخل ، وخاصة بعد الانتشار الكثيف لاستخدام في صناعة الأدوية المضادات الحيوية التي لها العديد من الأضرار الجانبية على صحة الإنسان كالحساسية والتسمم وغيرها، والتي أدت إلى اكتساب الميكروبات المسببة للأمراض مناعة بسبب تكوينها لطفرات ضدها ، فضلاً عن ظهور السلالات الجرثومية المقاومة لها مقاومة الصادات الحيوية هي من أكبر المخاطر التي تحيط اليوم بالصحة العالمية والأمن الغذائي والتنمية، يمكن أن تلحق مقاومة الصادات الحيوية الضرر بأي شخص بصرف النظر عن السن وبلد الإقامة، وهي أدوية تستعمل للوقاية من عدوى الالتهابات البكتيرية وعلاجها وتحدث مقاومة للصادات الحيوية عندما تغير البكتيريا نفسها استجابة لاستعمال تلك الأدوية.

وتبدي الجراثيم وليس الإنسان أو الحيوان مقاومة للصادات الحيوية وقد تسبب للإنسان أو الحيوان عدوى التهابات يكون علاجها أصعب من تلك التي تسببها نظيرتها غير المقاومة للصادات. وتؤدي مقاومة المضادات الحيوية إلى ارتفاع التكاليف الطبية وتمديد فترة الاستشفاء وزيادة معدل الوفيات.

لاحظنا في الفترات الأخيرة تدهور الأوضاع الصحية للمرضى رغم تلقيهم العلاج وذلك بسبب أن الجراثيم التي كانوا يحملونها قد طورت نفسها بحيث أصبحت مقاومة على الصادات الحيوية نتيجة الصرف العشوائي لهذه الصادات من قبل الأطباء والصيادلة.

ومن هنا تأتي أهمية البحث عن مركبات ذات فعا لية مضادة للجراثيم من منشأ طبيعي مثل النباتات التي قد تكون بديلة عن أو داعمة للصادات الحيوية من أجل مشاركتها معها للتقليل من احتمال تطوير الجراثيم لمقاومة عليها.

وفي هذا المجال يمكن الإشارة إلى أنه تم ترخيص 141 مركب مضاد للجراثيم بين عامي 1981 و2014 وكان من بينها حوالي 58% من المشتقات الطبيعية وفي الأعوام الماضية كانت نسبة المشتقات الطبيعية بشكل مباشر أو غير مباشر (صنعي أو نصف صنعي) حوالي 33% تشير هذه الأرقام إلى أهمية النباتات الطبية كمصدر غني بالمشتقات ذات الفعالية المضادة للجراثيم وخاصة مع تطوير الجراثيم لمقاومات عديدة ضد الصادات الحيوية. وتبرر هذه التطورات الاهتمام المتجدد في اكتشاف الأدوية من منشأ طبيعي حتى ولو كان المركب الناتج غير مستخدم بشكل مباشر في التطبيقات العلاجية ولكن يمكنه أن يساهم في عملية تصميم واصطناع الأدوية حيث يخدم كنموذج كيميائي لاصطناع المركبات العلاجية الجديدة.

1.1 أهمية البحث وأهدافه:

1.1.1 أهمية البحث

أصبح الاستخدام العشوائي المتزايد للصادات الحيوية مشكلة حقيقية للإنسان وذلك بسبب تطوير الجراثيم الممرضة للمقاومة المتزايدة تجاه العديد من الصادات حيث أن السبب الرئيسي لانتشار الجراثيم المقاومة هو الاستخدام العشوائي غير المضبوط للصادات الحيوية مما يؤدي إلى حدوث طفرات على المورثات الجرثومية، وهذا يمثل عامل الخطر الأكثر أهمية في نشوء وانتشار المقاومة الجرثومية وبالتالي انخفاض الفعالية العلاجية لتلك الصادات.

يعرف حوض البحر الأبيض المتوسط بأنه واحد من أغنى الأماكن في العالم من حيث التنوع الحيوي وخاصة الغطاء النباتي وتمثل بلدنا سورية جزء غني من هذا الحوض لتمتعها بتنوع جغرافي ومناخي يتميز بغناها بالجبال والأنهار والصحاري والغابات. (Cuttelod *et al* .)

تشتهر سورية بثروتها من الأنواع النباتية ذات الخصائص الطبية والتي تم استخدامها منذ وقت مبكر حيث تم تصنيف أكثر من 3500 نوع من النباتات العائدة لحوالي 131 عائلة نباتية ويعرف المئات منها بخواصه الطبية والعلاجية(Alachkar *et al*.)

تشكل هذه الثروة الطبيعية مجال واسع للاستثمار في مجال الصناعات الصيدلانية والتجميلية والغذائية؛ ومن هنا انطلقت فكرة البحث بتسليط الضوء على أهمية أحد النباتات المنتشرة محليا وهو نبات العطرة *Pelargonium graveolens* L'Her وهو نبات عطري مستخدم في المجالين الغذائي والعلاجي مما يرجح إمكانية استخدامه كمادة مضادة للجراثيم في العلاج أو كمادة حافظة في الصناعات الغذائية.

مما يعود بفائدة اقتصادية كبيرة آخذين بعين الاعتبار انتشاره الكبير في المنطقة وسهولة وقلة تكاليف زراعته ففي حال ثبت فعاليته كمادة طبيعية ذات فعالية مضادة للجراثيم. وضمن إطار التنمية المستدامة للموارد الطبيعية يفضل انتقاء أعضاء نباتية متجددة كالأوراق والأزهار والثمار مما يمكن من الحفاظ على الغطاء النباتي لمواسم عديدة.

الشكل رقم (1) :خارطة التوزع الجغرافي للمناطق الغنية بالتنوع الحيوي.

1.1.2 أهداف البحث:

تتلخص أهداف بحثنا في دراسة إمكانية استثمار نبات واسع الانتشار في المجال الصيدلاني والغذائي كمادة أولية بفعالية مضادة للجراثيم قابلة للاستخدام في الحالات الانتانية البسيطة و/أو المتوسطة أو كعلاج داعم للصادات الحيوية المسوقة أو كمادة حافظة في الصناعات الغذائية.

وتتلخص مراحل البحث بالخطوات التالية:

- تحضير العينة النباتية (جني وتجفيف وحفظ)
- دراسة مورفولوجية ومجهرية لنبات العطرة
- الاستخلاص (تحضير الخلاصة الميتانولية وتجفيفها)
- تحري التأثير المضاد للجراثيم للخلاصة المحضرة.

1.2 توصيف النبات:

نبات العطرة هو نوع من النبات مستوطن في جنوب افريقيا (منتشر بشكل خاص في منطقة Cape Town) من عائلة ال Geraniaceae تم إدخاله إلى الجزء المتوسطي من أوروبا في القرن الثامن عشر. (Galea *et el*.)

يتميز النبات بأنه من النباتات دائمة الخضرة ذو أوراق مفصصة ومتناوبة مغطاة بشعيرات غدية مفرزة للزيت العطري المميز عند لمس النبات أو تغير درجة الحرارة

يملك النبات ساق مستقيمة شديدة التفرع تحمل أزهار وردية اللون خماسية البتلات والازهرار بشكل تجمع عنقودية خيمية (Umbel-like clusters)تتوضع بشكل انتهائي على الأفرع.

تتميز أزهارها بكونها أحادية التناظر (zygomorphic) جانبية التناظر وهذا ما يميزها عن باقي أنواع العطرة.

1.2.1 تصنيف نبات العطرة:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Viridiplantae

Superdivision : Embryophyte

Division : Tracheophyta

Class: Magnoliopsido

Order: Geranials

Family: Geraniaceae

Genus: *Pelargonium*

Species: *Plargonium graveolens*

الشكل رقم (2): نبات العطرة

1.2.2 الفعالية الطبية:

تستخدم نواتج التقطير المستخرجة من أنواع العطرة بشكل متكرر في العلاج بال زيوت العطرية والعلاج بالتدليك . كما و تستخدم أحياناً كمكملات وللحفاظ على التوازن الهرموني وفي ترميم الجروح وأمراض الجهاز التنفسي.

أظهرت العديد من الدراسات فعالية للزيت العطري لنبات ا لعطرة في المساعدة على التوازن الهرموني ووظائف الكبد والكلى حيث يساهم في تفريغ السموم من الكبد التي تؤثر على صحة الإنسان بشكل عام وله خصائص مطه رة تستخدم في التهابات المعدة والأمعاء بفضل أثرها المضاد للجراثيم (Galea *et al.*).

تستخدم أيضاً في العديد من حالات الجلدية، الاضطرابات العصبية، أمراض الجهاز الهضمي والتنفسي والقلبي الوعائي بالإضافة إلى أمراض العظام والمفاصل(Sadiki *et al*.) .

1.2.3 الاستخدامات الغذائية

- تستخدم في تحضير الحلويات مثل الرز بالحليب
- تستخدم في صناعة المربيات
- توضع أوراقه مع الشاي لإعطاء طعم ورائحة شهية

ننوه إلى وجود أنواع من العطرة مهمة في صناعة العطور بالإضافة إلى أنها تزرع كنبات للزينة نظرا لجمالها

الفصل الثاني

الدراسات المرجعية

الدراسات المرجعية

2.1 الدراسة الكيميائية:

2.1.1 تحليل مكونات الزيت العطري: (Agha *et al.*)

قام الباحث محمد عصام آغا مع زملائه بإجراء اختبار لتحديد المركبات الكيميائية في الزيت العطري للأجزاء الهوائية لنبات العطرة (*Pelargonium graveolens*) تم جمع العينات من عدة مواقع في مدينة دمشق وتم استخلاص الزيت العطري عبر جهاز كليفنجر بآلية التقطير ببخار الماء.

تم تحليل العينة بالكروماتوغرافيا الغازية مع مقياس طيف الكتلة. كانت النتيجة احتواء الزيت العطري بشكل رئيسي على مركبات مثل: citronellol, geraniol, بالإضافة إلى مشتقاتهم الألدهيدية والكيتونية

2.1.2 تركيب الزيت العطري المستخلص من الأجزاء الهوائية (Galea *et al.*)

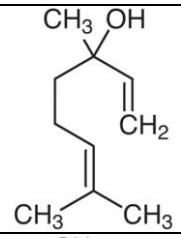
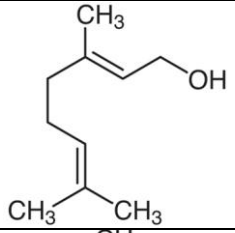
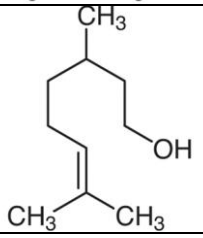
قام الفريق البحثي في رومانيا بالكشف عن المركبات الفعالة الموجودة في الزيت العطري لنبات العطرة (*Pelargonium graveolens*).

حيث تم جني النبات في جامعة الطب والصيدلة في منطقة Targu Muresفي رومانيا في موسم الإزهار. تم تجفيف الأوراق وتقطيعها واستخلاص الزيت العطري منها بتقنية التقطير المائي.

تم تحليل الزيت العطري عبر الكروماتوغرافيا الغازية حيث كشف عن وجود 61 مركب فيه، تمكنوا من تحديد هوية 43 مركب منهم ومن ضمنهم:

Citronellol (39.97-43.67%), geraniol (2.57-9.66%), linalool (1.41-4.4.77%), citronellyl formate (11.23-13.55%), geranyl formate (1.15-2.21%), citronellyl butyrate (1.01-1.54%), geranyl tiglate (1.22-1.75%).

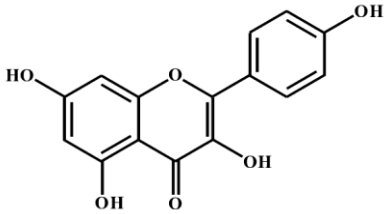
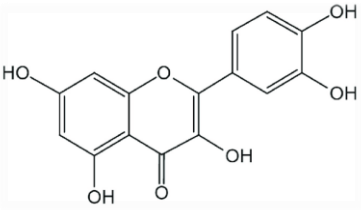
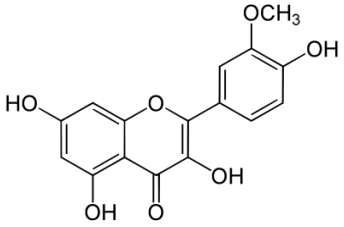
الجدول رقم (1)

المركبات الرئيسية في الزيت العطري	الصيغة الكيميائية
Linalool	
Geraniol	
Citronellol	

2.1.3 تركيب الخلاصة الميتانولية للأجزاء الهوائية: (Boukhris *et al.*)

قام العالم ماهر بوخريس وزملاؤه ب دراسة مقارنة لتركيب كل من الزيت العطري والخلاصات الميتانولية والمائية ل لنبات العطرة (*Pelargonium graveolens*). حيث تم الكشف عن أهم المركبات فينولية مثل: الأحماض الفينولية، الفلافونوئيدات، التانينات، الكومارينات. منها 9 فلافونوئيدات في الخلاصة الميتانولية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء وهي عبارة عن غليكوزيدات للفلافونوئيدات التالية كامفيرول وكيرسيتين وايزورامنتين:

الجدول رقم (2):

Aglycone of flavonnoids	الصيغة الكيميائية
Kaempferol	
Quercetin	
Isorhamnetin	

2.2 الدراسة الحيوية:

2.2.1 دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للزيت العطري: (Sadiki *et al*)

قام الفريق البحثي في المغرب بجني نبات العط رة (*P. graveolens*) في نيسان 2015 في منطقة عين شقا ق حيث تم قطف الأجزاء الهوائية ومن ثم تجفيفها في الظل لمدة 8 أيام. تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي لمدة 3 ساعات بواسطة جهاز كليفنجر. تم الاحتفاظ بالخلاصة (الزيت العطري) في الظلام بدرجة حرارة 4 درجة مئوية لحين الفحوص الحيوية.

قام الفريق با ختبار فعالية الزيت العطري على 5 جراثيم منها *E. coli – Staph. Aureus* أخذت من مخبر الأحياء الدقيقة في المشفى العسكري مولاي إسماعيل، وكانت التجربة اختبار انتشار القرص حيث تم اختبار تراكيز مختلفة من الزيت العطري

حيث أ ظهرت النتائج أن للزيت العطري لنبات (*P. graveolens*) العطرة خواص مضادة للجراثيم وكان يزداد قطر التثبيط عند زيادة تركيز الزيت العطري. كان التركيز الأدنى المثبط للنمو الجرثومي MIC = 1.25 – 10 µl/ml

جدول رقم (3): القدرة المثبطة لنمو الجراثيم بفعل الزيت العطري (Sadiki *et al*)

Bacterial strains	Sample Concentration	
	5 µL	15 µL
E.coli	18 ±0.5mm	32.16 ±1.23mm
Staph. aureus	16.33 ±0.57mm	21.33 ±2.21mm

2.2.2 دراسة كيميائية وحيوية لنبات *P. odoratissimum* (Andrade *et al*)

تم استخلاص الزيت العطري من الأوراق في موسم الإزهار بعد أن تم الجني في شهر حزيران عام 2007.

حيث قام الفريق بتحديد المركبات الفعالة في الزيت العطري الخاص به بعد استخلاصه بتقنية التقطير المائي (جهاز كليفنجر) بالإضافة إلى الاستخلاص بمحل دي كلور ميتان الذي تم تبخيره بالمبخر الدوار.

تم تحديد المركبات عبر الكروماتوغرافيا الغازية الملحق بمطياف الكتلة CG/MSو بينت النتائج أن من أهم المركبات التي تم الكشف عنها:

Citronellol (33.6%), geraniol (26.8%), linalool (10.5%), citronellyl formate (9.7%), p-menthone (6.0%).

كان الهدف الثاني للدراسة أيضا التحقق من الخواص المضادة للجراثيم والفطور لدى النبات على عدة أنواع من الفطور والجراثيم منها: فطر الاسبرجيلوس، وجراثيم العصيات القولونية، وجراثيم العنقوديات الذهبية.

جدول رقم (4): القدرة المثبطة لنمو الجراثيم بفعل الزيت العطري (20%) (Andrade *et al*)

نوع الأحياء الدقيقة	قطر التثبيط (500 µl/ml)
Staphylococcus aureus	0.80 cm
E. coli	0.95 cm

الفصل الثالث

الدراسة العملية

الدراسة العملية:

3.1 جني النبات وتحضير العينة المجففة.

تم الجمع في فترة الإزهار (العينة أوراق وأزهار) من منطقة زغرين بتاريخ 1 حزيران 2021

تم التجفيف في البداية في الظل وللتأكد من إتمام التجفيف تم الاستعانة بفرن التجفيف المخبري على درجة حرارة 50 مئوية. ثم تمت مجانسة العينة وطحنها باستخدام طاحونة مخبرية.

3.2 الدراسة المجهرية:

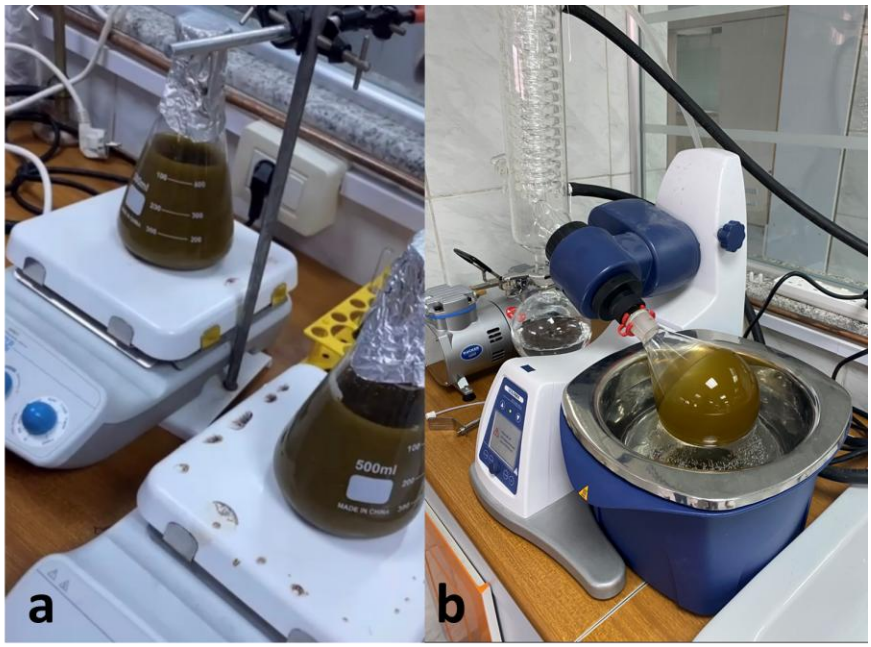
بعد طحن العينة المؤلفة من أوراق وأزهار العطرة المجففة ومجانستها قمنا بوضعها على شريحة زجاجية مع نقطة من الكحول ومن ثم وضعنا الغطاء الزجاجي على العينة وفحصناها تحت المجهر باستخدام العدسة 4Ox.

3.3 الاستخلاص:

وزن العينة في كل إرلينماير 15 مغ ونضيف 400 مل ميتانول لكل إرلينماير (أي ما يعادل 30 إلى 40 مرة حجم العينة)، ونستخلص بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين بمساعدة الخلاط المغناطيسي. أثناء الاستخلاص تمت تغطية العينات منعاً لخسارة المحل نتيجة ارتفاع الحرارة النسبي أثناء التحريك.

تلتها عملية الفلترة على ورق ترشيح وتجميع الخلاصات وتبخيرها على المبخر الدوار. بعد الانتهاء من عملية التبخير تم جمع الخلاصة الجافة من بالون المبخر الدوار ووضع العينة تحت الساحبة وتم وزنها لحساب المردود.

وزن العينة الجافة 45 غرام، أي المردود يعادل 21.77%.



الشكل رقم (3): عملية الاستخلاص (a) والتجفيف (b)

3.4 الدراسة الحيوية وفحص الفعالية المضادة للجراثيم:

تم التحري باستخدام تقنية الانتشار بالأقراص Antibiogram

3.4.1 تحضير المعلق الجرثومي:

تعلق مستعمرتين صغيرتين (مستعمرة كبيرة واحدة) بمساعدة عروة الزرع العقيمة في أنبوب حاو على 10 مل ماء مقطر وعقيم لتحضير المعلق الجرثومي من سلالات جرثومية مدروسة ثم تعدل لتوافق 0.5ماكفيرلاند ($1.5x10^8$ CFU/ml) وذلك بقياس الكثافة بمقياس الطيف عند طول الموجة 600 نانومتر حيث لا تتجاوز ال OD=0.08-0.1

3.4.2 تحضير أطباق البتري الزرعية

تم تحضير الأطباق بسكب 20 مل من محلول مولر هنتن المغذي في كل طبق وتم التلقيح باستخدام طريقة التعويم حيث يسكب 2-3 مل من المعلق الجرثومي على سطح الهلام ويسحب الفائض من المعلق بماصة بلاستيكية مناسبة.

تم حل الخلاصة الجافة باستخدام المحل ديميتيل سولفوكسيد DMSOللحصول على محاليل بتراكيز 20ملغ/1 مل.

تجفف الأطباق تحت ساحبة لمدة 15 دقيقة توضع الأقراص من قطر 6 مم باستخدام ملقط عقيم على سطح الهلام ويوضع 25 ميكروليتر من العينة على سطح القرص بالإضافة إلى شاهد إيجابي قرص معد مسبقا حاو على ل مضاد الحيوي المناسب (سفترياكسون) و25 ميكروليتر من المحل كشاهد سلبي تترك الأطباق لمدة نصف ساعة للانتشار ثم تحضن لمدة 18-24 ساعة على الدرجة 37 درجة مئوية. ثم قيست القدرة المضادة للجراثيم بقياس قطر منطقة التثبيط للنمو الجرثومي.

3.5 المواد والأجهزة المستخدمة:

3.5.1 الدراسة المجهرية

- مجهر ضوئي
- مجفف كهربائي
- طاحونة كهربائية

3.5.2 الاستخلاص

- خلاط مغناطيسي
- ميزان حساس
- مبخر دوار
- محل (ميتانول)

3.5.3 الدراسة الحيوية

- أقراص 6 مم
- ماصات بلاستيكية
- عروة زرع
- ملقط معدني
- مصباح بنزن
- ميكروبيبيت 100 ميكرو ليتر وميكروبيبيت 1 مل
- أنابيب حاوية على ماء مقطر 10 مل

- بيشر مع ماء حاوي على كلور
- كحول للتعقيم
- مسطرة
- قلم تخطيط على الزجاج
- حاضنة جرثومية Autoclave
- الجراثيم المدروسة ***Staphylococcus aureus*** و ***Escherichia coli*** حضرت من عزلات لمراجعي مشفى تشرين وتم تحري هويتها من قبل المقيمين في قسم المخابر بالمشفى باستخدام الفحوص الكيمياحيوية.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

4.1 الدراسة المجهرية:

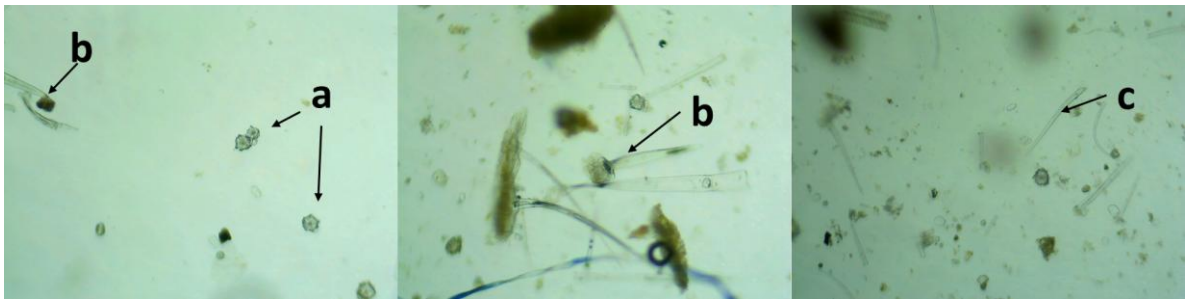
تضمنت الدراسة المجهرية دراسة كل من المسحوق الجاف والبشرة لكل من الساق والأوراق وكانت العناصر التشخيصية الملاحظة على الشكل التالي:

4.1.1 دراسة مسحوق العقار:

لوحظ وجود الأوكزالات الكالسيوم المتجمعة بشكل وردي**(4.a)** .

كما لوحظ وجود نوعين من الأوبار :الأولى هي الأوبار اللامسة **(4.c)** أما النوع الثاني فهو الأوبار المفرزة التي تكون بقاعدة متعددة الخلايا وتحوي في القمة خلية مفرزة تملك قشيرة cuticle يوجد تحتها الزيت العطري**(4.b)** .

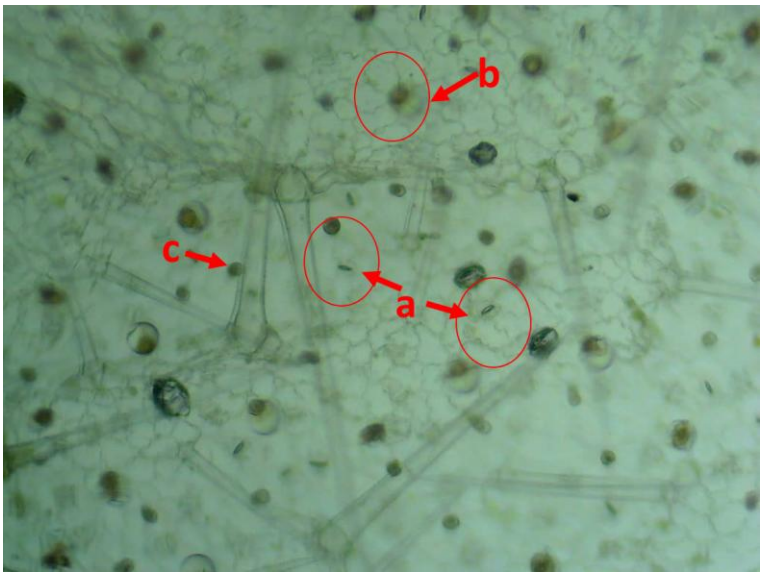
وهذا ما يؤكد النتائج التي توصلت إليها الباحثة Galea وزملاؤها حيث وجد الفريق أن الأوبار المفرزة تكون بالأوراق الغضة تكون ثنائية الخلية، أما بالأوراق الناضجة تكون ثلاثية الخلية (Galea *et al)*



الشكل رقم (4): العناصر التشخيصية في مسحوق النبات المجفف أوكزالات الكالسيوم (a) الأوبار المفرزة (b) واللامسة(c) .

4.1.2 دراسة البشرة للأوراق:

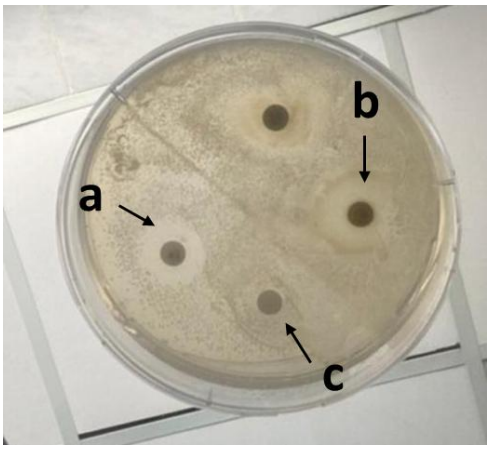
دراسة البشرة السفلية والعلوية أظهرت خلايا بجدران متموجة والمسام غير منتظمة anomocytic مع خليتين حارستين كما بينت توضع وغزارة الأوبار المفرزة واللامسة.



الشكل رقم (5): البشرة السفلية لورقة نبات العطرة موضحا المسام (a) والأوبار المفرزة (b) واللامسة (c).

4.2 الدراسة الحيوية:

تم حساب أقطار تثبيط الخلاصة الميتانولية للقمم المزهرة لنبات العطرة ضد الجراثيم المختارة كمتوسط حسابي لثلاث مكررات وكانت القيم كماهي موضحة بالجدول رقم (5).



الشكل رقم (6): الفعالية المضادة للجراثيم *Staph. aureus* للخلاصة الميتانولية لنبات العطرة *P. graveolens*

بينت النتائج كما هو موضح بالجدول السابق أثر مضاد للجراثيم بنوعيها إيجابية وسلبية غرام للخلاصة الميتانولية المحضرة لنبات العطرة ويمكن أن يعزى هذا الفعل للمحتوى العالي بالمواد

الفينولية وبعض المكونات من الزيت العطري التي قد تستخلص باستخدام الميثانول، حيث بينت الدراسات المرجعية أهمية هذه المركبات في الاستخدامات الطبية ضد الجراثيم.

جدول رقم (5): القدرة المثبطة لنمو الجراثيم للخلاصة الميتانولية (500 µg/disc)

نوع الأحياء الدقيقة	قطر التثبيط (mm)
Staphylococcus aureus	17 mm
E. coli	20 mm

الاستنتاجات والتوصيات:

أبدت الجراثيم *Staphylococcus aureus* و*Escherichia coli* المعزولة من مراجعي مشفى تشرين الجامعي حساسية تجاه الخلاصة الميتانولية لنبات العطرة *P. graveolens* وكانت قيم التثبيط مشجعة مقارنة مع الشاهد الإيجابي (30 مم) المستخدم وبلغ أعلى تثبيط للخلاصة 20 مم ضد *E. coli* في حين بلغ قطر التثبيط تجاه جراثيم للسفترياكسون (17 مم) أما الخلاصة فأبدت قطر تثبيطي وقدره 17 مم ضد *Staphylococcus aureus*.

على ضوء النتائج السابقة نوصي بما يلي:

- متابعة العمل على الخلاصة نفسها لتحديد التركيز المثبط الأدنى ضد الجراثيم المدروسة.
- دراسة كيميائية للمحتوى الفينولي والتربيني للخلاصة الميتانولية للتأكد من نسب تواجد كل من هذه المشتقات في الخلاصة.
- متابعة الدراسة على سلالات جرثومية أخرى لتحري أشمل للطيف المضاد الجرثومي للخلاصة.

المراجع:

- AGHA M. I. CONTRIBUTION STUDY TO THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE VOLATILE OIL IN PELARGONIUM GRAVEOLENS, AN AROMATIC PLANT WIDLEY SPREAD IN DAMASCUS-SYRIA; EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND MEDICAL RESEARCH 6(5), 66-70 2019

- ALACHKAR A. TRADITIONAL MEDICINE IN SYRIA: FOLK MEDICINE IN ALEPPO GOVERNORATE; NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS JANUARY 2011

- ANDRADE M-A , ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF PELARGONIUM GRAVEOLENS; REVISTA BRASILERIA DE FARMACOGNOSIA BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACOGNOSY, 21(1): 47-52, JAN/FEB. 2011

- BOUKHRIS M. CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF POLAR EXTRACTS AND ESSENTIAL OIL OF ROSE-SCENTED GERANIUM, PELARGONIUM GRAVEOLENS; PHYTOTHERAPY RESEARCH 27 (8), 1206-1213, 2013

- CUTTELOD A. THE MEDITERRANEAN: A BIODIVERSITY HOTSPOT UNDER THREAT; JANUARY 2008

- GÂLEA I-C., IELCIU I., CRIŞAN G., TĂMAŞ M., HISTO-ANATOMICAL STUDIES ON THE VEGETATIVE AND REPRODUCTIVE ORGANS OF PELARGONIUM ROSEUM WILLD. (GERANIACEAE); Hop and Medicinal Plants, No. 1-2, 2017; 115-124.

- SADIKI F. ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF THE ESSENTIAL OIL OF PELARGONIUM GRAVEOLENS L'HER; RHAZES: GREEN AND APPLIED CHEMISTRY VOL. 4, 4, 2019, PP 17.23

Nature has been a source of therapeutic agents for thousands of years, and an impressive number of modern drugs have been derived from natural sources, many based on their use in traditional medicine. Over the last century, a number of top selling drugs have been developed from natural products (vincristine from *Vincarosea*, morphine from *Papaver somniferum*, Taxol from *T. brevifolia*, etc.). In recent years, a significant revival of interest in natural products as a potential source for new medicines has been observed among academia as well as pharmaceutical companies. Several modern drugs (~40% of the modern drugs in use) have been developed from natural products.

Given the continual increase in bacterial resistance it is important to search for new antimicrobial compounds. Essential oils are a promising field for the antimicrobial agent for that reason *Pelargonium graveolens, an aromatic plant of Geraniaceae,* was chosen to be tested against *Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus*.

The flowering tops (leaves and flowers) of the sweet scented geranium (*Pelargonium graveolens)* were subjected to maceration extraction using methanol, the extract was filtered and evaporated by the rotatory evaporator, then the activity of the dried extract was tested using the standarddisk diffusion technique.

The plant showed an interesting antibacterial activity against both; *Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone diameter of 20mm and 17mm respectively.