مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (7) العدد (4) 2023

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (7) No. (4) 2023

دراسة فعالية بعض المستخلصات العضوية لأزهار وأوراق وبذور نبات العرن المثقوب *Hypericum perforatum* L. من منطقة العنازة (ريف طرطوس)–سوريا ضد بعض السلالات البكتيرية

د. عماد حويجة*

د. ياسر حماد**

د. نزار معلا***

هديل مسلم****

(تاريخ الإيداع 2/ ٩ / 2023 – تاريخ النشر 7/ 12/ 2023)

□ **ملخّص** □

اختبرت فعالية المستخلصات العضوية الآتية: (إيتانول، خلات الإيتيل، إيتر البترول) بالتراكيز (20،10،5) % لأزهار وأوراق وبذور نبات العرن المثقوب (عشبة القديس يوحنا) *Hypericum perforatum* L. ضد بكتيريا (المكورات العنقودية الذهبية *Staph.aureus*، الإيشيريكيا القولونية *E.coli*)، بإشباع الأقراص المستخدمة بـ(20µl) من تركيز كل مستخلص، ومقارنتها مع فعالية الصادين الحيويين (إيزيترونام، بنسلين).

أظهرت النتائج فعالية واضحة لجميع تراكيز مستخلص خلات الإيتيل لكافة أجزاء النبات ضد كلا نوعي البكتيريا، ولجميع أجزاء وتراكيز مستخلص الإيتانول باستثناء البذور ضد بكتيريا *Staph.aureus*، مع وجود فروق معنوية فيما بينها، وقد تفوقت أغلب التراكيز معنوياً على فعالية الصادين الحيويين (إيزيترونام، بنسلين)، في حين لم يعط مستخلص إيتر البترول أي تأثير تثبيطي يذكر.

كما بينت الدراسة الإحصائية تفوق المعاملتان (مستخلص خلات الإيتيل للأزهار عند التركيز 20%)، (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%)، معنوياً على جميع المعاملات الأخرى في تثبيط نمو بكتيريا *Staph.aureus*، بقطري تثبيط (20.60mm، ٢٠.٥٠) على التوالي دون وجود فرق معنوي بينهما، وتفوق المعاملة (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%) ضد بكتيريا *E.coli* بقطر تثبيط (26.76mm).

الكلمات المفتاحية: العرن المثقوب، مستخلصات عضوية، مكورات عنقودية ذهبية، الإيشيريكيا القولونية، إيزيترونام، بنسلين.

* أستاذ دكتور، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا

** دكتور، قسم التربة، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا

*** دكتور، قسم المحاصيل، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا

**** طالبة دراسات عليا (دكتوراه)، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (7) العدد (4) 2023

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (7) No. (4) 2023

Studying the effectiveness of some organic extracts of flowers, leaves and seeds of *Hypericum perforatum* L. from Ennaza area (Tartus countryside)- Syria against some bacterial strains

Dr. Imad Hwije*
Dr.Yaser Hammad**
Dr. Nizar Maalla***
Hadeel Mosalem****

(Received 2/9/2023.Accepted 7/12/2023)

□ABSTRACT □

The effectiveness of the following organic extracts was tested: (ethanol, ethyl acetate, petroleum ether) at concentrations (5,10, 20)% of flowers, leaves and seeds of the St. John's wort against (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*), by saturating the used dish with (20µl) of the concentration of each extract, and comparing it with the effectiveness of two antibiotics (Aztreonam, Penicillin).

The results showed clear effectiveness of all concentrations of ethyl acetate extract for all parts of the plant against both types of bacteria, and for all parts and concentrations of ethanol extract, except for seeds, against *Staph.aureus* bacteria, with significant differences between them. Most of the concentrations were significantly superior to the effectiveness of the two antibiotics (Aztreonam, Penicillin). While the petroleum ether extract did not give any significant inhibitory effect.

The statistical study also showed that the two treatments (ethyl acetate extract for flowers at a concentration of 20%) and (ethyl acetate extract for leaves at a concentration of 20%) were significantly superior to all other treatments in inhibiting the growth of *Staph.aureus* bacteria, with inhibition diameters of (20.60 , 20.50) mm respectively. There was no significant difference between them, and the treatment (ethyl acetate leaf extract at a concentration of 20%) was superior against *E.coli* bacteria with an inhibition diameter of (26.76mm).

Keywords: Hypericum perforatum L., organic extracts, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, isetreonam, penicillin.

*Professor,Departmentof Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria
**Doctor, Department of soil, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria
*** Doctor, Department of crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria,
***** Postgraduate Student, Dep. of Chemistry – Faculty of Sciences – Tishreen University.

1-المقدمة:

يعد نبات العرن المثقوب (عشبة القديس يوحنا) *Hypericum perforatum* L. من النباتات الطبية المهمة المستخدمة منذ القدم في الطب الشعبي، إذ يعود الاستخدام الطبي لأنواعه إلى 2400 سنة[1].ينتمي النبات إلى الفصيلة العرنية *Hypericaceae*، وجنس العرن *Hypericum*، الذي يحتوي 400 نوعاً [2]، ينتشر معظمها في المناطق المعتدلة من غرب آسيا[3 ,4]. يتميز نبات العرن المثقوب بوجود جذور زاحفة تمتد لمساحة واسعة، وساق مستقيمة يمكن أن تنمو إلى ارتفاع (1) متراً، وأوراق بيضوية الشكل ذات لون أخضر تحمل بقع شفافة واضحة عندما تكون باتجاه الضوء، مما يعطيها مظهر مثقب، وأزهار ذات لون أصفر فاقع ذات خمس بتلات [5]، وبذور بنية مغطاة بمادة لزجة تتشكل في نهاية فصل الصيف [6]، يزهر النبات ما بين شهري أيار وآب[7]،الشكل (1).

الشكل1 : نبات العرن المثقوب في سوريا (العنازة)

لقد نال نبات العرن بمختلف أنواعه الفترة الماضية اهتماماً كبيراً بسبب مستقلباته الثانوية الهامة من الناحية الدوائية، لما تملكه من فعالية بيولوجية ضد البكتيريا والفطريات وعوامل الأكسدة [8]، وفي معالجة الجروح والحروق والأكزيما وأيضاً في معالجة حالات الاكتئاب الخفيفة والمتوسطة[9]، تتضمن هذه المستقلبات مشتقات (نفتو داي أنترون، فلوروغلوسينول، الفلافونويدات) [12,11,10].

تشير الدراسات والأبحاث إلى أن الاستخدام المستمر والعشوائي للعقاقير الكيميائية أدى إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة للعقاقير والصادات الحيوية، حيث أدى ذلك إلى إضعاف تأثير فعالية الأدوية ضد تلك البكتيريا، لذلك يتم استخدام المستخلصات النباتية الخام من النباتات الطبية ومنها نبات العرن المثقوب نظراً لعدم وجود آثار جانبية لها [13].

تعد المكورات العنقودية الذهبية من البكتيريا موجبة الغرام، كروية الشكل، والتي تنتمي إلى عائلة العنقوديات *staphylococcaceae*، درجة الحرارة المثلى لنموها($35C^{o}$)، تعيش هذه البكتيريا على الجلد و في جوف الأنف والعين والجهاز البولي، ولا تسبب أي أمراض إلا إذا دخلت إلى مجرى الدم، كما أنها تنتقل بالعدوى خصوصاً في المستشفيات من خلال جرح أو شق جراحي [14].

تعد بكتيريا الإيشريكيا القولونية من البكتيريا سالبة الغرام، عصوية الشكل، والتي تنتمي إلى العائلة المعوية *Enterobacteriaceae*، درجة الحرارة المثلى لنموها($37C^o$)، تعيش هذه البكتيريا في الأمعاء الغليظة للإنسان، تنتقل بشكل أساسي عن طريق الغذاء وخصوصاً الخضراوات ولحوم الأبقار، وتسبب إسهالاً وتقلصات شديدة في المعدة[15]. تمت دراسة فعالية المستخلصات الإيتانولية لنبات العرن المثقوب ضد مجموعة من السلالات البكتيرية سالبة الغرام (*E.coli*)، وبينت النتائج أن التراكيز المثبطة لنمو البكتيريا تراوحـــت بين (50–3.1 ppm) [16].

وجرى في دراسة أخرى تحضير مزيج لمستخلصات نباتين طبيين هما: العرن المثقوب والأوريغانو ، وتبين أن فعالية المزيج كانت أكبر ضد المكورات العنقودية الذهبية بقطر تثبيط وصل إلى(21mm)، عند التركيز (625µg/ml)، بينما أعطى كل مستخلص بمفرده عند ذات التركيز قطر تثبيط (12.66mm) للعرن المثقوب، (15.66mm) للأوريغانو[17].

٢- أهمية البحث وأهدافه:

تعد النباتات مصدراً أساسياً لصحة الإنسان، وازداد الاهتمام بها في الوقت الحالي نظراً لأهميتها الطبية والاقتصادية، وعدم وجود آثار جانبية لها، ونظراً لانتشار نبات العرن المثقوب في المناطق الجبلية للساحل السوري، وخصوصاً في ريف طرطوس، واستخدامه في مجالات كثيرة في الطب الشعبي كمعالجة آلام المفاصل والحروق والجروح الخفيفة، كان من الضروري التعرف على فعالية بعض المستخلصات العضوية لأزهار وأوراق وبذور هذا النبات ضد بعض السلالات البكتيرية الممرضة للإنسان، ومقارنتها ببعض الصادات الحيوية.

يهدف البحث إلى:دراسة فعالية ثلاثة مستخلصات عضوية: (الإيتانول، خلات الإيتيل، إيتر البترول) لأزهار وأوراق وبذور نبات العرن المثقوب الذي تم جمعه من منطقة العنازة (ريف طرطوس) ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية، وبكتيريا الإشيريكيا القولونية ، وإجراء المقارنة بين فعالية المستخلصات مع الصادات الحيوية (بنسلين، إيزيترونام).

٣- المواد وطرائق العمل:

٣. ١. العينات النباتية المستخدمة:

تم جمع عينات لأزهار وأوراق وبذور نبات العرن المثقوب من منطقة العنازة (٤٥٠ متر فوق سطح البحر) ـ طرطوس ـ سوريا، وذلك خلال الفترة (حزيران ـ آب ٢٠٢١) حيث جففت العينات في الظل لمدة (15) يوماً وبدرجة حرارة ($25C^o$)، ثم طحن كل جزء على حدة، ووضع في أوعية زجاجية داكنة محكمة الإغلاق، في الثلاجة بدرجة حرارة ($4C^o$) لحين الاستخلاص، والشكل (2) يوضح العينات النباتية المجففة.

الشكل 2 : أجزاء نبات العرن المثقوب المدروسة: ١:أزهار، ٢: أوراق، ٣: بذور

٣. ٢. البكتيريا المستخدمة:

تم استخدام نوعين من العزلات البكتيرية المشخصة والمصنفة في مختبر الأحياء الدقيقة بمشفى تشرين الجامعي في اللاذقية لمرضى المشفى، وهما: المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) موجبة غرام، والإيشيريكيا القولونية(*Escherichia coli*) سالبة غرام.

٣. ٣. الصادات الحيوية:

تم استخدام اثنين من الصادات الحيوية: البنسلين (Pencillin 10µg)، إيزيترونام (Aztreonam 30µg) للمقارنة.

٣. ٤. تحضير المستخلصات العضوية للنبات:

تم الحصول على المستخلصات العضوية للنبات باستخدام جهاز سوكسليه (Soxhelet extractor)، حيث وضع (30 غرام) من الجزء النباتي المدروس لنبات العرن المثقوب المطحون في أوعية ورقية (thumbles) ثم وضعت في الجهاز، وأضيف إليها (٤٠٠ml) من أحد من المذيبات العضوية (إيتانول، خلات الإيتيل، إيتر البترول) لمدة (5) ساعات بدرجة الغليان وفق كل مذيب (الإيتانول: ٧٨، خلات الإيتيل: ٧٧، إيتر البترول: ٤٥ درجة مئوية)، حيث استمرت عملية الاستخلاص إلى أن أصبح المذيب المستخدم عديم اللون، بحيث لاتزيد درجة الحرارة المستخدمة في الجهاز عن C^o(80) لمنع تفكك المادة العضوية، تم تبخير المذيب العضوي بالمبخر الدوار (Rotary evaporator) بدرجة حرارة C^o(40) لتركيز العينة، ثم وضعت كل عينة في طبق بتري تحت الساحبة، ثم في مجفف يحوي كلوريد الكالسيوم لتجف بالكامل [19,18]، وكانت جميع المستخلصات لزجة، حيث لاحظنا أن المردود الأعلى للمستخلصات العضوية للنبات كان للمستخلص الإيتانولي للأوراق والبذور والأزهار بالنسب الآتية (55.50%, 58.26%, 58.13%) على التوالي، الجدول (1).

الجدول 1 : لون ووزن ومردود المستخلصات العضوية الناتجة عن الاستخلاص بجهاز سوكسليه من منطقة العنازة

المستخلص العضوي	المستخلص الإيتانولي			مستخلص خلات الإيتيل			مستخلص إيتر البترول		
الجزء المدروس	أزهار	أوراق	بذور	أزهار	أوراق	بذور	أزهار	أوراق	بذور
لون المستخلص	خمري	أخضر فاتح	بني فاتح	أحمر فاتح	زيتي	أحمر غامق	أصفر فاتح	أصفر مخضر	برتقالي
وزن المستخلص	16.65g	17.48g	17.44g	16.11g	14.98g	14.94g	6.55g	6.06g	6.78g
المردود	55.50%	58.26%	58.13%	53.70%	49.95%	49.80%	21.83%	20.20%	22.60%

٣. ٥. تحضير تراكيز المستخلصات:

استخدمت ثلاثة تراكيز من كل مستخلص (5،10،20) % على أساس المادة الجافة لكل مذيب مستخدم (إيتانول، خلات الإيتيل، إيتر البترول)، أشبعت الأقراص المستخدمة بـ (20µl) من تراكيز المستخلصات المحضرة وأشبعت أقراص الشاهد بـ (20µl) من المذيب، ووضعت جانباً حتى تجف بالكامل.

٣. ٦. اختبار الفعالية البيولوجية للمستخلصات:

تم أخذ مستعمرات بكتيرية مفردة نقية من سطح آغار الدم: المكورات العنقودية الذهبية، الإيشيريكيا القولونية، بوساطة ناقل جرثومي (Loop) معقم، ووضعت في أنابيب اختبار يحوي كل أنبوب(4 ml) من وسط المرق المغذي (Nutrient Broth)، ورجت جيداً، ووضعت الأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة ($37\ C^o$)، لمدة (48) ساعة. استعملت الأوساط الزرعية: مولار هينتون (Mueller Hinton Agar) لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية، أزرق يوزين ميثيلين (Eosin Methylene Blue) لبكتيريا الإيشيريكيا القولونية، حيث تمت إذابة وتعقيم كل وسط في جهاز التعقيم بالبخار(Autoclave) بدرجة حرارة ($121C^o$)، وضغط جوي (2)، لمدة ١٥ دقيقة. سكبت البيئات في أطباق بتري معقمة بمعدل (20ml) في كل طبق ، وتركت حتى تتصلب، ثم نشرت المعلقات البكتيرية على سطح البيئة بوساطة الناشر الزجاجي (Spreader) المعقم بالكحول واللهب، بأخذ (20µl) من كل معلق بكتيري، وتوزيعها بشكل متساوي على كامل الطبق، ثم تركت الأطباق لتجف لمدة (30) دقيقة، نقلت الأقراص المشبعة بالصادات الحيوية (بنسلين، إيزيترونام)، والأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية للمذيبات العضوية (الإيتانول، خلات الإيتيل، إيتر البترول)، بوساطة ملقط معقم على سطح الآغار، وقد تم استخدام ثلاثة مكررات لكل معاملة، وضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة ($37C^o$)، لمدة (24) ساعة، تم قياس قطر الهالة الشفافة حول القرص والتي تمثل قطر منطقة تثبيط نمو البكتيريا مقاسة بالميليمتر [21,20].

٣. ٧. التحليل الإحصائي:

اتبع في تصميم التجربة المخبرية نظام القطاعات العشوائية الكاملة Completely Randomized Dwsign (CRD)، بثلاثة مكررات لكل معاملة من المعاملات المدروسة، وتم تحليل البيانات بعد جمعها وتبويبها إحصائياً باستخدام برنامج Genstat 12 وحساب أقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant Difference Test، عند مستوى احتمال 1%.

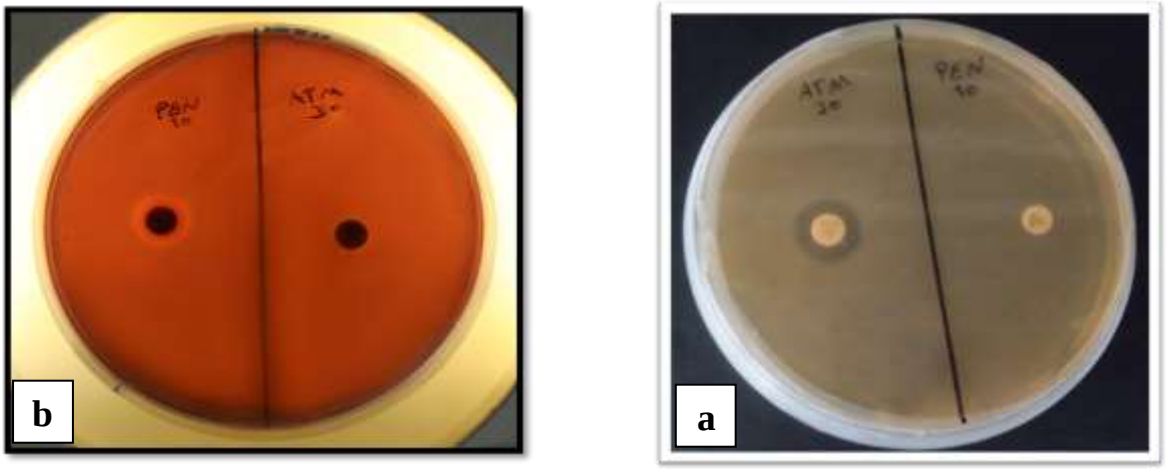
٤. النتائج والمناقشة:

٤. ١. تأثير المستخلصات العضوية لأجزاء النبات المدروسة ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية:

يظهر الجدول (2) والشكلين (3)،(4) فعالية الصادات الحيوية وفعالية مستخلصي الإيتانول وخلات الإيتيل بجميع التراكيز المستخدمة لأجزاء النبات المدروسة، باستثناء مستخلص الإيتانول للبذور فلم يعط أي فعالية، كما أن مستخلص إيتر البترول لجميع أجزاء النبات لم يعط أي تأثير تثبيطي يذكر عند أي تركيز، وبينت النتائج تفوق بعض المستخلصات على فعالية الصاد الحيوي الإيزيترونام والذي أعطى قطر تثبيط (8.00mm) ضد البكتيريا، كما بينت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية بين تراكيز مستخلصات الأجزاء النباتية في فعاليتها ضد البكتيريا، وبالمقارنة بينها نجد أن المعاملتان (مستخلص خلات الإيتيل للأزهار عند التركيز 20%)، (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%)، قد تفوقتا معنوياً على جميع المعاملات الأخرى في تثبيط نمو البكتيريا، بقطري تثبيط (20.60mm، ٢٠.٥٠) على التوالي دون وجود فرق معنوي بينهما، ثم تلتهما المعاملتان (مستخلص خلات الإيتيل للبذور بتركيز 20%)، (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 10%)، بقطري تثبيط (19.99mm، ١٩.٨٦) على التوالي دون وجود فرق معنوي بينهما، ثم المعاملة (مستخلص خلات الإيتيل للأزهار بتركيز 10%) إذ سجل قيمة (19.10mm)، وقد تفوقت جميع المعاملات السابقة على بقية المعاملات وعلى فعالية الصاد الحيوي (إيزيترونام)، والشاهد.

الجدول 2 : فعالية المستخلصات العضوية لأجزاء نبات العرن المثقوب (منطقة العنازة) ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية بعد 24h وعند درجة حرارة $37C^{O}$

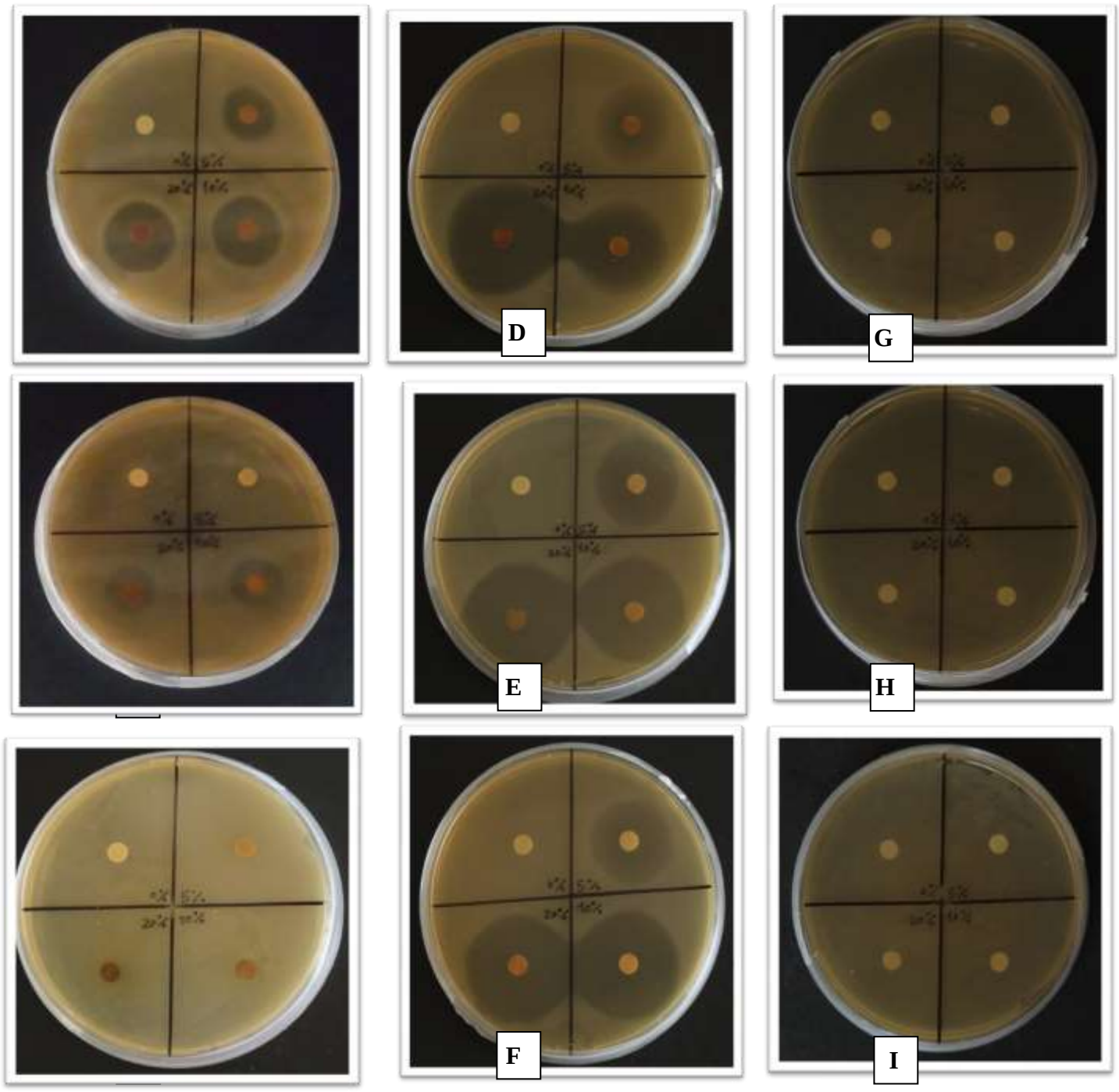
	معدلات أقطار تثبيط المستخلصات (mm) التراكيز %														
الجزء	مستخلص الإيتانول				مستخلص خلات الإيتيل				مستخلص إيتر البترول				الصادات الحيوية	
المدروس	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	%٥	%١٠	%٢٠	ATM	PEN
أزهار	m٠.٠١	ij٩.٠٤	h ١١.٩٠	84 g١٢.	m٠.٠١	f١٤.٠٣	c ١٩.١٠	a ٢٠.٦٠	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	8.00 k	m٠.٠١
أوراق	m٠.٠١	0 ١٦.٦	j ٨.٨٩	i٩.٢٠	m٠.٠١	e١٦.٠٦	b١٩.٨٦	a٢٠.٥٠	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	8.00 k	m٠.٠١
بذور	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	f١٤.٢٠	d١٦.٩٣	99 b١٩.	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	m٠.٠١	8.00 k	m٠.٠١
LSD 1%	***٢٨٥.													
CV%	٢.٥٠													



الشكل 3 : فعالية الصادات الحيوية ضد نمو البكتيريا

a: فعالية الصاد الحيوي (إيزيترونام) ضد بكتيريا *Staph.aureus*.

b: فعالية الصاد الحيوي (بنسلين) ضد بكتيريا *E.coli*.



الشكل ٤ : فعالية المستخلصات العضوية لنبات العرن المثقوب ضد بكتيريا *Staph.aureus*.

A: مستخلص الإيتانول للأزهار، B: مستخلص الإيتانول للأوراق، C: مستخلص الإيتانول للبذور، D: مستخلص خلات الإيتيل للأزهار،

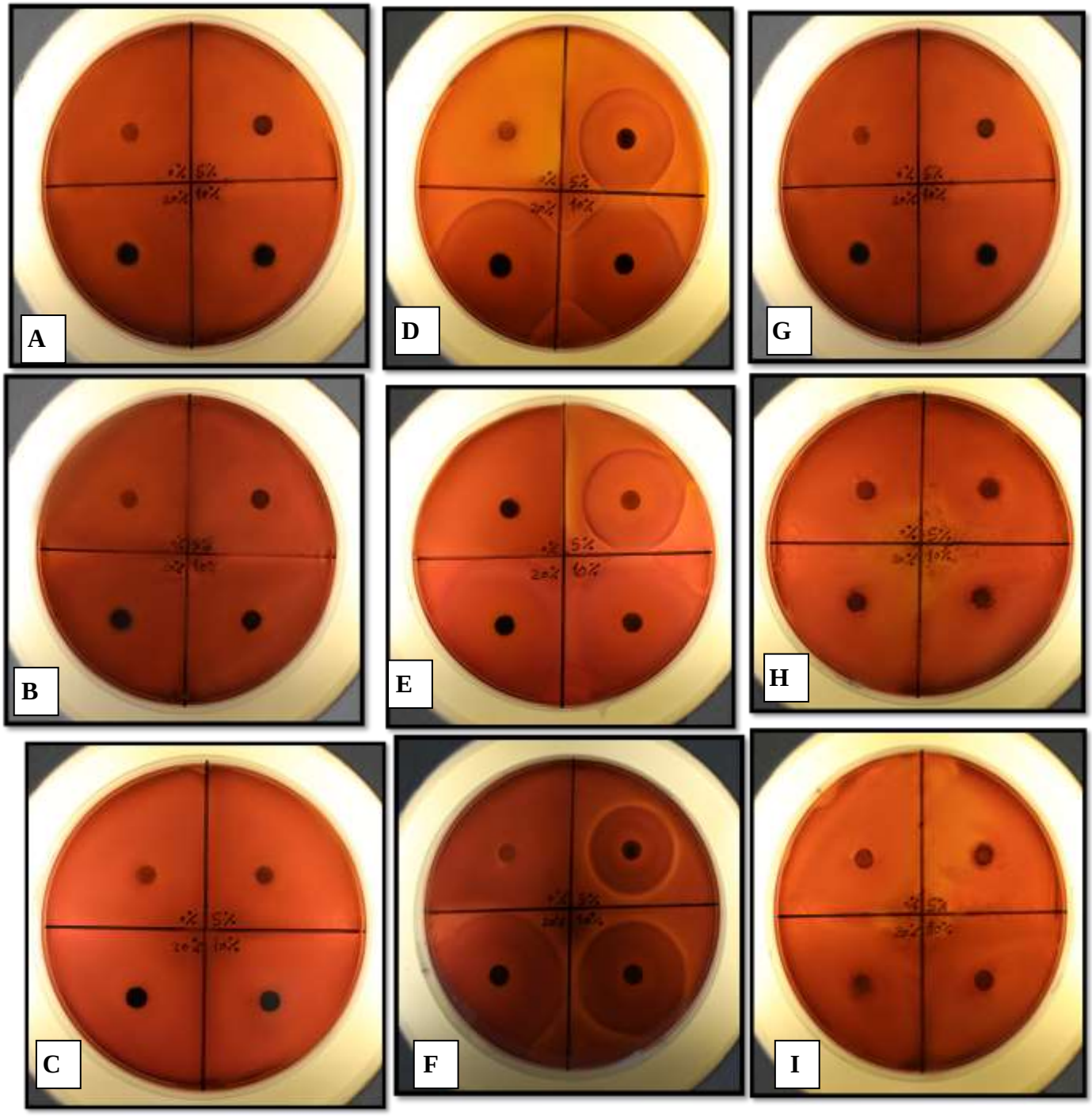
E: مستخلص خلات الإيتيل للأوراق، F: مستخلص خلات الإيتيل للبذور، G: مستخلص إيتر البترول للأزهار، : H: مستخلص إيتر البترول للأوراق، : I: مستخلص إيتر البترول للبذور.

٤. ٢. تأثير المستخلصات العضوية لأجزاء النبات المدروسة ضد بكتيريا الإيشيريكيا القولونية:

يظهر الجدول (٣) والشكل (5) فعالية مستخلص خلات الإيتيل بجميع التراكيز المستخدمة لأجزاء النبات المدروسة، وعدم وجود أي تأثير تثبيطي لمستخلصي الإيتانول، إيتر البترول لجميع أجزاء النبات وبكافة التراكيز، وبينت النتائج تفوق جميع التراكيز المستخدمة لمستخلص خلات الإيتيل على فعالية الصاد الحيوي البنسلين والذي أعطى قطر تثبيط (12.00mm) ضد البكتيريا، كما بينت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية بين تراكيز مستخلصات الأجزاء النباتية في فعاليتها ضد البكتيريا، وبالمقارنة بينها نجد أن المعاملة (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%) بقطر تثبيط (26.76mm)، تلتها المعاملتان (مستخلص خلات الإيتيل للأزهار بتركيز 20%)، (مستخلص خلات الإيتيل للبذور بتركيز 20%)، بقطري تثبيط (25.66mm، ٢٥.٤٦) على التوالي دون وجود فرق معنوية بينهما، ثم المعاملة (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 10%) إذ سجلت قطر تثبيط (23.63mm)، وقد تفوقت جميع المعاملات السابقة على بقية المعاملات وعلى فعالية الصاد الحيوي (البنسلين) والشاهد.

الجدول (3): فعالية المستخلصات العضوية لأجزاء نبات العرن المثقوب (منطقة العنازة) ضد بكتيريا الإيشيريكيا القولونية بعد 24h وعند درجة حرارة $37C^{o}$

	معدلات أقطار تثبيط المستخلصات (mm) التراكيز %													
الجزء المدروس	مستخلص الإيتانول				مستخلص خلات الإيتيل				مستخلص إيتر البترول				الصادات الحيوية	
	0%	5%	10%	20%	0%	5%	10%	20%	0%	٥%	١٠%	٢٠%	ATM	PEN
أزهار	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٦.٤٣g	20.٥٣ d	٢٥.٦٦ b	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٢.٠٠ i
أوراق	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٧.٨٣ f	٢٣.٦٣ c	٢٦.٧٦ a	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٢.٠٠ i
بذور	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٥.٦٠ h	١٩.٢٣ e	٢٥.٤٦ b	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	٠.٠١ j	١٢.٠٠ i
LSD 1%	0.65***													
CV%	5.50													



الشكل ٥ : فعالية المستخلصات العضوية لنبات العرن المثقوب ضد بكتيريا *E.coli*.

A: مستخلص الإيتانول للأزهار، B: مستخلص الإيتانول للأوراق، C: مستخلص الإيتانول للبذور، D: مستخلص خلات الإيتيل للأزهار،

E: مستخلص خلات الإيتيل للأوراق، F: مستخلص خلات الإيتيل للبذور، G: مستخلص إيتر البترول للأزهار، : H: مستخلص إيتر البترول للأوراق، : I: مستخلص إيتر البترول للبذور.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ومن خلال النتائج التي حصلنا عليها والملخصة في الجدولين السابقين (3,2)، فعالية مستخلصي الإيتانول وخلات الإيتيل ضد *S.aureus* بجميع التراكيز المستخدمة لأجزاء النبات المدروسة، باستثناء مستخلص الإيتانول للبذور فلم يعط أي فعالية، كما أظهرت الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية بين تراكيز مستخلصات الأجزاء النباتية في فعاليتها ضد البكتيريا، وبالمقارنة بينها نجد أن المعاملتان (مستخلص خلات الإيتيل للأزهار عند التركيز 20%)، (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%)، قد تفوقتا معنوياً على جميع المعاملات الأخرى في تثبيط نمو البكتيريا، بقطري تثبيط (20.60mm، ٢٠.٥٠) على التوالي دون وجود فرق معنوي بينهما، وقد تفوقتا على بقية المعاملات وعلى الشاهد وعلى فعالية الصاد الحيوي (إيزيترونام) والذي أعطى قطر تثبيط (8.00mm)، كما أظهرت النتائج فعالية مستخلص خلات الإيتيل بجميع التراكيز المستخدمة لأجزاء النبات المدروسة ضد بكتيريا *E.coli*، إذ تفوقت المعاملة (مستخلص خلات الإيتيل للأوراق بتركيز 20%) بقطر تثبيط (26.76mm)، وقد تفوقت على بقية المعاملات وعلى الشاهد وعلى فعالية الصاد الحيوي (البنسلين) والذي أعطى قطر تثبيط (12.00mm).

ولم يظهر مستخلص إيتر البترول أي تأثير تثبيطي يذكر لأي مستخلص ضد أي نوع من البكتيريا المدروسة، ولم يعط المستخلص الإيتانولي لأي جزء في النبات أي فعالية ضد بكتيريا *E.coli*، يمكن تفسير النتائج السلبية للمستخلص كما وضحها [22] إلى أن المركبات الفعالة قد تكون موجودة بكميات غير كافية في المستخلصات لإعطاء الفعالية بالتراكيز المستخدمة، أو من الممكن أن توجد المادة الفعالة بكميات كبيرة، ولكن يوجد مركبات أخرى تظهر فعالية عكسية مثبطة للمركبات الفعالة، أو قد تكون المستخلصات فعالة ضد أنواع أخرى من السلالات البكتيرية غير مستخدمة في دراستنا الحالية.

عند مقارنة الفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لأجزاء النبات في دراستنا الحالية ببعض الدراسات المرجعية [١٠-٢٦] التي درست في بلدان أخرى نجد أن المقارنة تمت بين المستخلصات العضوية لأزهار وأوراق وبذور نبات العرن المثقوب السوري مع المستخلصات العضوية للأجزاء الهوائية للنبات لعدم وجود دراسات مرجعية لكل جزء على حدة، لاحظنا وجود تشابه في الفعالية ضد الأنواع البكتيرية المدروسة، والاختلاف في أقطار التثبيط، فعند مقارنة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الكحولية لأجزاء النبات في دراستنا الحالية مع الدراسة [10] التي قامت بدراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات نفسها للأجزاء الهوائية ولأنواع مختلفة من جنس العرن، لاحظنا تقارب النتائج فيما بينها، حيث أظهرت فعالية واضحة ضد بكتيريا(*S.aureus*)، وعدم وجود أي تأثير تثبيطي يذكر ضد بكتيريا(*E.coli*)، وقد يعود السبب في ذلك إلى أن جدار البكتيريا سالبة الغرام أكثر تعقيداً، مما يجعل نفوذية المواد إلى داخل الخلية سالبة الغرام أقل مقارنةً بموجبة الغرام، وهذا مايفسر كونها أكثر مقاومة [23].

بينت الدراسة [24] الفعالية البيولوجية للمستخلصات الكحولية للأجزاء الهوائية لنوع آخر من جنس العرن وهو *Hypericum heterophyllum*، تم استخدام المستخلص الكحولي بالتراكيز الآتية (20,10,5,2.5)% وعند إجراء المقارنة بين نتائج هذه الدراسة والنتائج الحالية لاحظنا تقارب النتائج إلى حد كبير، حيث أنه لم يعط المستخلص في الدراسة المرجعية أي فعالية ضد بكتيريا (*E.coli*)، وهذا يتفق مع نتائجنا فلم تعط المستخلصات أي فعالية، أما بالنسبة لفعالية المستخلص في الدراسة المرجعية ضد بكتيريا (*S.aureus*) فكان له تأثير تثبيطي عند التركيزين (20,10%) بأقطار تثبيط (12.66,10.33mm)، وهذه

النتائج مقاربة لنتائج بحثنا بالمقارنة بالفعالية عند التركيزين المذكورين، حيث أظهر مستخلص الأوراق تأثير تثبيطي بأقطار (9.20,8.89mm)، بينما أعطى مستخلص الأزهار فعالية أكبر من الدراسة المرجعية حيث أعطى كل من التركيزين السابقين قطر تثبيط (12.84,11.90mm)، ولم يعط مستخلص البذور أي فعالية تذكر.

وفي البحث [25] تمت دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الإيتانولية للأجزاء الهوائية ضد البكتيريا لأنواع مختلفة لجنس العرن وهي (*H. Rupestre, H.Vacciniifolium, H.Imbricatum*)، وعند مقارنة النتائج مع نتائج دراستنا وجدنا أنه لا يوجد أي تأثير تثبيطي يذكر لتلك المستخلصات ضد بكتيريا (*E.coli*) وهذا يتفق مع نتائج بحثنا، كما بينت النتائج في البحث المرجعي فعالية المستخلصات ضد بكتيريا (*Staph. aureus*)، وقد ازدادت الفعالية بازدياد التركيز، إذ تراوحت أقطار التثبيط لأنواع النبات المدروسة ضمن المجال mm(١١-٢٠) ، وفي المرجع [26] تمت دراسة فعالية المستخلصات الإيتانولية للأجزاء الهوائية ضد بعض السلالات البكتيرية لنبات *H.Lydium* ، أظهرت النتائج عدم وجود أي فعالية للمستخلص ضد بكتيريا (*E.*coli) عند أي تركيز مستخدم، بينما كان له فعالية واضحة ضد بكتيريا (*Staph. aureus*)، وهذه النتائج مقاربة لنتائج بحثنا.

الاستنتاجات:

1- بينت هذه الدراسة أن المردود الأعلى كان للمستخلص الإيتانولي للأوراق والبذور والأزهار بالنسب الآتية (58.26%، 58.13%، 55.50%) على التوالي.

٢- بينت هذه الدراسة فعالية المستخلص الإيتانولي لأزهار وأوراق النبات بجميع التراكيز المستخدمة ضد بكتيريا (*S.aureus*)، وعدم وجود أي فعالية لمستخلص البذور ضد ذات البكتيريا، إذ أعطى مستخلص الأزهار أفضل فعالية عند التركيز (20%) بقطر تثبيط (12.84mm)، وقد تفوقت معنوياً على تراكيز جميع المستخلصات الإيتانولية الأخرى، وعلى فعالية الصاد الحيوي (إيزيترونام) والشاهد، بينما لم يبد المستخلص لأي جزء من أجزاء النبات أي فعالية ضد بكتيريا (*E.coli*).

٣- كما بينت هذه الدراسة فعالية مستخلص خلات الإيتيل لكافة أجزاء النبات بجميع التراكيز المستخدمة ضد بكتيريا (*S.aureus*)، و(*E.coli*)، إذ تفوق مستخلصي (للأزهار والأوراق) عند التركيز (20%) معنوياً على جميع المعاملات الأخرى بقطري تثبيط (20.60mm، ٢٠.٥٠) على التوالي ضد (*S.aureus*)، دون وجود فرق معنوي بينهما، كما تفوق مستخلص الأوراق عند التركيز 20% معنوياً على جميع المعاملات الأخرى في فعاليتها ضد بكتيريا *E.coli*، بقطر تثبيط (26.76mm)، وقد تفوقت معنوياً على تراكيز جميع المستخلصات الأخرى، وعلى فعالية الصاد الحيوي (بنسلين) والشاهد.

4- بينت هذه الدراسة أن مستخلص إيتر البترول لجميع أجزاء النبات المدروسة ليس لديه أي فعالية ضد السلالتين البكتيريتين المذكورتين.

التوصيات: نوصي بمتابعة دراسة الفعالية البيولوجية لنبات العرن المثقوب ضد سلالات بكتيرية أخرى ممرضة للإنسان، وضد الفطريات، كما نوصي بدراسة الفعالية البيولوجية لأنواع أخرى من جنس العرن.

المراجع:

[1]-Çirak,C.; Kurt,D.(2014), *Önemli Tıbbi Bitkiler Olarak Hypericum Türleri ve Kullanım Alanları*. Anadolu, J.of Aari, Vol.24,No.1, 38–52.

[2]-Chimshirova,R.;Karsheva,M;Diankov,S;Hinkov,I.(2019), *Extraction of valuable compounds from Bulgarian St. John's wort (Hypericum Perforatum L.). Antioxidant capacity and total polyphenolic content.* Journal of Chemical Technology and Metallurgy, Vol. 54,No.5, 952-961.

[3]- Özkan,E.; Mat,A.(2014), *An overview on Hypericum species of Turkey.* Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, Vol.5,No.3, 38-46.

[4]-Ergin,K,N.;Karakaya,S.;Göger,G.;Sytar,O.;Demirci,B.; Duman,H.(2022), *Anatomical and Phytochemical Characteristics of Different Parts of Hypericum scabrum L. Extracts, Essential Oils, and Their Antimicrobial potential.* Molecules, Turkey,Vol.27,No.4,1-20.

[5]-Tatsis,E,C.;Boeren,S.; Exarchou,V.;Troganis,A.(2007), *Identification of the major constituents of Hypericum perforatum by LC/SPE/NMR ,and/or LC/MS.* Phytochemistry,Vol.68,No.3, 383-393.

[6]- Zobayed,S,M,A.; Afreen, F.; Goto,E.; Kozai,T. (2006), *Plant–Environment Interactions: Accumulation of Hypericin in Dark Glands of Hypericum perforatum,* Annals of Botany, Japan, Vol.98, No.4, 793-804.

[7]-Caccia ,S.;Gobbi,M. (2009), *St. John's wort components and the brain: uptake, concentrations reached and the mechanisms underlying pharmacological effects*. Curr Drug Metab, Vol.10, No.9, 1055-1065.

[8]- Ilieva,Y.; Marinov,T.;Trayanov,I.; Kaleva,M.;Zaharieva,M,M.; Yocheva,L. (2023), *Outstanding Antibacterial Activity of Hypericum rochelii—Comparison of the Antimicrobial Effects of Extracts and Fractions from Four Hypericum Species Growing in Bulgaria with a Focus on Prenylated Phloroglucinols*,Life, Vol.13, No.274,1-25.

[9]- Rabanal, R.M.; Arias, A. Prado,B.; Hernández-Pérez,M.; Sánchez-Mateo.; C.C.(2002), *Antimicrobial studies on three species of Hypericum from the Canary Islands.* J. of Ethnopharmacology.Vol.81, No.2, 287-292.

[10]- Özkan,E.; Özbek,C,B.;Mat,A.(2019), *Antimicrobial activities of five endemic Hypericum species from Anatolia compared with Hypericum perforatum.* Journal of Research in Pharmacy, Vol.23, No,1 ,114-119.

[11]- Bernal,M.; Liorens,L.; Julkunen-Tiitto,R.; Badosa,J.; Verdaguer,D. (2013), *Altitudinal and seasonal changes of phenolic compounds in Buxus sempervirens leaves and cuticles*. Plant Physiol. Biochem.Vol.70, 471-482.

[12]- Seyis,F.;Yurteri,E.;Özcan,A.; Cirak,C.(2020), *Altitudinal impacts on chemical content and composition of Hypericum perforatum, a prominent medicinal herb*. South African Journal of Botany.Vol.135, 391-403.

[13]-Naderi,D.; Jami,R.; Ur rehman ,F. (2021), *A Review of RNA Motifs, Identification Algorithms and their Function on Plants*. Journal of Plant Bioinformatics and Biotechnology, Vol.1, No.1, 28-40.

[14]- Neopane,P.; Nepal,H,P.; Shrestha,R.; Uehara,O.; Abiko, Y. (2018), *In vitro biofilm formation by Staphylococcus aureus isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance*. International Journal of General Medicine, Vol.11, 25-32.

[15]- Kusalaruk,W.; and Nakano,H.(2021), *Hurdle Effects of Ethanolic Plant Extracts with Antimicrobials Commonly Used in Food against Food borne Pathogenic Escherichia* coli. Microbiology research,Vol.12, No.2, 288-298.

[16]- Fazeli-Nasab,B.; Valizadeh, M.; Beigomi,M. (2022), *Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of some medicinal plant extracts on escherichia coli isolated from poultry feces.* Journal of medicinal plants and by-products, Vol.11,No.2, 265-275.

[17]-Bahmani,M.; Taherikalani,M.;Khaksarian,M.; Rafieian-Kopaei,M.; Ashrafi ,B.; Nazer,M.; Soroush,S.; Abbasi,N.; Rashidipour,M. (2018), *The synergistic effect of hydroalcoholic extracts of Origanum vulgare, Hypericum perforatum and their active components carvacrol and hypericin against Staphylococcus aureus.* Future Science OA, Vol. 5, No. 3.

[18]- Derun,E,M.; Eslek,Z and Piskin,S. (2013), *Extraction and Analysis of Hypericum perforatum L. from Turkey*. World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Chemical and Molecular Engineering, Vol.7, No.7, 495-499.

[19**]-** Konstantina,L,M.;Panagiota,E,N.;Konstantina,T,G.; Magdalini, K,K. (2021), *Process Design for the Extraction of Bioactive Compounds from Several Mediterranean Medicinal Plants.* Chemical Engineering Transactions,Greece, Vol.86, No.6, 1327-1332.

[20]- Ernilasari,I.;WALIL,K.; Fitmawati,I.;Roslim,D,I.; Zumaidar.; Saudah.; Rayhannisa. (2021), *Antibacterial activity of leaves, flowers, and fruits extract of Etlingera elatior from Nagan Raya District, Indonesia against Escherichia coli and Staphylococcus aureus,*Biodiversitas, Vol.22, No.10, 4457-4464.

[21]- Camacho-Suntaxi,T.; Sánchez-Loja,S. (2020), *Antibacterial activity of the Agaricus pampeanus (Agaricaceae) ethanol extract against Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*, Actual. Biol. Vol.42, No.113, 1-10.

[22]- Jouad,H.; Haloui,M.; Rhiouani,H.; Elhilaly ,J.; Eddouks, M. (2001), *Ethno botanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane).*Journal of Ethnopharmacology,Vol.77(2-3), 175-182.

[23]- Huovinen,P.; Sundstrom,L.; Swedberg,G.; Skold,O. (1995), *Trimethoprim and Sulfonamide Resistance* . Antimicrobial agents and chemotherapy, Vol. 39, 279-289.

[24]-Hazman,O.; Aksoy,L.; Büyükben,A.; Kara,R.; Kargioglu, M.; Hakki cigerci,I.; Abdullah Yilmaz,M. (2022), *LC-MS/MS profiles, multielement levels and biological activities of Hypericum heterophyllum Vent.* Indian Journal of Experimental Biology ,Vol. 60, 743-752.

[25]- Dulger,B.; Gonuz ,A.; Bilen, S. (2005), *Antimicrobial studies on three Hypericum species from Turkey.* South African Journal of Botany.Vol.71, No.1,100-103.

[26]- Aygül ,A.; Şerbetçi ,T. (2020), *The antibacterial and antivirulent potential of Hypericum lydium against Staphylococcus aureus: Inhibition of growth, biofilm formation, and hemolytic activity.* European Journal of Integrative Medicine. Vol.35.