علوم و تكنولوجيا C، رقم 20، ديسمبر (2003)، 11-18.

دراسة مقارنة للنشاطية ضد مكروبية وللتركيب الكيميائي للزيت الأساسي للجزء الهوائي ولثمار نبات النوخة *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr.

تاريخ استلام البحث 10/02/2002 - تاريخ قبوله 04/09/2003

ملخص

باستعمال تقنية الأقراص تم اختبار فعالية الزيوت الأساسية للثمار وللجزء الهوائي لنبات النوخة (*Ammoides pusilla*) على 13 سلالة بكتيرية وخميرة وفطر. بينت النتائج أن التخفيف ½ للزيت كان له أكبر أثر على كل الأنواع الميكروبية باستثناء السلالة *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. كان تأثير زيت الجزء الهوائي بالتخفيفين 1/5 و1/10 أكبر نسبيا من تأثير زيت الثمار. كما سمحت كروماتوغرافيا الطور الغازي (CG) وكروماتوغرافيا الطور الغازي مع طيف الكتلة (CG/SM) بتحديد 53 مكونا في الزيت بحيث تحتوي على نسب عالية من التيمول (thymol) (41.1 %، 44.5 %) وقاما تربينان (γ-terpinène) (15.0 %، 32.9 %) وبارا سيمان (*p*-cymène) (25.5 %، 13.5 %) على التوالي في زيت الثمار وزيت الجزء الهوائي. ويجدر بالإشارة أن دراسة السمية على الخلايا البشرية الخالدة المأخوذة من الحنجرة (Hep 2 cells) وخلايا ظهارة كلى القردة الإفريقية الخضراء (Vero cells) أظهرت أن المستخلصات الزيتية المحضرة التي تحتوي على أقل من 13000 ميكروغرام من الزيت الأساسي لا تؤثر على حيوية المزارع الخلوية.

الكلمات المفتاحية: النوخة، *Ammoides pusilla* ، الأثر ضد البكتيري وضد الفطري، الزيوت الأساسية، التيمول thymol، قاما تربينان γ-terpinène، بارا سيمان *p*-cymène ، السمية الخلوية.

لعور حسين[1]، زروق محمد ميهوب[1]، شاكر عادل نجيب[1]، خنشوش عبدالحليم[1]، سلطي فريدة[2]، بوعبدالله بركاهم[1]، عباسة أحلام[1]
M. Grande [4]، R. Biondi [3]، G. Valentini [3]

[1] قسم البيولوجيا، كلية العلوم، جامعة سطيف، الجزائر

[2] مخبر الطفيليات والبكتريولوجيا المستشفى الجامعي، سطيف، الجزائر

Dipartimento di Scienze Chimiche [3]
Univsersita degli Studi di Camerino
Via S. Agostino n. 1
62032 Camerino, Italy

Departamento de Quimica Organica [4]
Facultad de Quimica
37008 Salamanca, Spain

Résumé

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des fruits et de la partie aérienne d'*Ammoides pusilla* a été réalisée selon le test de diffusion dans l'Agar vis à vis de 13 souches bactériennes, un champignon et une levure. Les résultats montrent une activité antimicrobienne très importante de la dilution ½ de l'huile essentielle vis à vis de l'ensemble des microbes sauf contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Il a été noté également l'effet antimicrobien plus important de la dilution 1/5 et 1/10 de la partie aérienne par rapport à l'huile des fruits. La chromatographie phase gaz (CG) et la chromatographie phase gaz couplée à la spectroscopie de masse (CG/SM) a permit d'identifier 53 constituants dans ces huiles. Ces dernières sont très riches en thymol (41,1% et 44,5 %), en γ-terpinène (15,0 et 32,9 %) et en *p*-cymène (25,5 et 13,5 %) respectivement dans l'huile des fruits et celle de la partie aérienne. Par ailleurs, la toxicité de ces huiles sur les cellules Hep 2 et les cellules Vero est insignifiante dans les solutions contenants moins de 13000 µg.

Mots clés: *Ammoides pusilla, effets antibactérien et antifongique, huile essentielle, thymol, γ-terpinène, p-cymène, toxicité cellulaire*

Abstract

By the use of the agar diffusion test essential oils of fruits and aerial parts of *Ammoides pusilla* were tested against 13 bacteria strains, a yeast and a fungus. The results showed that the 1/2 dilution of the oil has the most highest effect against all species except *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. However the 1/5 and 1/10 oil dilutions of the aerial part were more effective than the fruits ones. In both oils 53 constituents were identified by gas chromatography (GC) and gas chromatography mass spectrophotometry (GC/MS), among them a high percentage of thymol (41.1 %, 44.5 %), γ-terpinène (15.0 %, 32.9 %) and *p*-cymène (25.5 %, 13.5 %) for fruits oil and aerial parts oil. The toxicity of these oils was tested on transformed human larynx cells (Hep 2) and African monkey epithelial kidney cells (Vero) in a microplate titration. The results showed that the plant extracts which contain less than 13000 µg of oil had no effect on cell viability.

Keywords: *Ammoides pusilla, antibacterial and antifungal effects, essential oils, thymol, γ-terpinène, p-cymène, cells toxicity*

H. LAOUER[1], M.M. ZERROUG[1]
A.N. SHAKIR[1], A. KHANCHOUCHE[1]
F. SAHLI[2], B. BIRKAHAM[1],
A. ABBAS[1], G. VALENTINI[3],
R. BIONDI[3], M. GRANDE[4]

[1] Département de Biologie
Faculté des Sciences
Université de Sétif, Algérie

[2] Laboratoire de Parasitologie
et de Bactériologie
Hôpital Universitaire
Sétif, Algérie

[3] Dipartimento di Scienze Chimiche
Univsersita degli Studi di Camerino
Via S. Agostino n. 1
62032 Camerino, Italy

[4] Departamento de Quimica Organica
Facultad de Quimica
37008 Salamanca, Spain

تهدف الدراسة إلى مقارنة المكونات الكيميائية والأثر ضد الميكروبي وسمية الزيوت الأساسية للثمار وللجزء الهوائي المزهر لنبات النوخة (*A. pusilla*) المستعمل في الطب الشعبي بالشرق الجزائري ضد آلام الرأس والمعدة والمعي الغليظ [20] وبالغرب الجزائري ضد الحمى والزكام والإسهال [15،19]. فيبدو من هذا أن لنبات النوخة خاصية ضد مكروبية حسب تأثيرها ومن ثم إمكانية استعمالها كبديل لبعض المضادات الحيوية التي تستعمل لعلاج

© جامعة منتوري، قسنطينة، الجزائر، 2003.

الأمراض الميكروبية إلا أن بعض الأنواع البكتيرية أبدت مقاومة لها، لذا تجرى العديد من الأبحاث لاستبدال هذه المضادات بمواد طبيعية فعالة مثل المستخلصات النباتية [13،21] والزيوت الأساسية التي تملك نشاطية ضد مكروبية [2،9،26،28،38] التي تناولت بالدارسة الأثر القاتل أو الأثر التثبيطي الجزئي أو الكلي للزيت الأساسي. بالإضافة إلى الأثر ضد الميكروبي تمتلك الكثير من الزيوت أثرا ضد تأكسدي وهذا ما تؤكده أعمال كل من Pratt وMiler [29] وSchmidt وKirby [16] وBucar وBurits [4]. فما مدى تأثير زيت نبات النوخة على كل نوع بكتيري؟ وما هي المكونات الأساسية المسؤولة عن هذا التأثير الإيجابي أو السلبي؟ وهل يمكن في خطوة أولى التفكير في استعمال هذه الزيوت لأغراض طبية؟ وهل هذه الزيوت سامة؟ بغية التفكير في الخطوة الثانية والمتعلقة في دراسة الأعراض الجانبية المحتملة.

1- المواد والطرق

1-1- المواد

أ- النبات

تم جني النبات في شهري ماي وجوان في مرحلة الإزهار ومرحلة الإثمار على التوالي من ضواحي مدينة عموشة (سطيف) على ارتفاع 1000م. فصل في المرحلة الأولى الجزء الهوائي عن الجذور بعد تنقية النبات من التربة وأجزاء بعض النباتات العالقة به، كما فصلت الثمار عن الجزء الهوائي ثم جففت إلى جانب الجزء الهوائي في غرفة مظلمة مهواة. في المرحلة الثانية قطع الجزء الهوائي إلى أجزاء صغيرة جدا، كما سحقت الثمار بمطحنة كهربائية.

ب- الأنواع البكتيريا والفطرية

تم جلب جل الأنواع البكتيرية *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Klebsiella pneumoniae*، *Klebsiella ozaenae*، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Staphylococcus aureus*، *Enterococcus faecalus* ATCC 29212، *Enterobacter cloacae*، *Haemophilus parainfluenzae*، *Salmonella enteritidis*، *Serratia marcescens*، وخميرة *Candida albicans* من مخبر علم البكتيريا والطفيليات بالمستشفى الجامعي بسطيف باستثناء *Pseudomonas syringae* pv. *mosprunorum* و *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* وفطر *Aspergillus niger* التي تم التحصل عليها من مخبر علم الأحياء الدقيقة بقسم البيولوجيا بكلية العلوم، جامعة سطيف.

جـ- أوساط الزرع

استعمل المرق المغذي (المحضر بمعهد باستور-الجزائر) لغرض تنمية البكتيريا، في حين استعمل وسط ميلر هنتن (المحضر بنفس المعهد) للزرع البكتيري. كما استعمل وسط أغار سكروز مستخلص البطاطس (Potato Sucrose Agar) (المحضر بمخبر علم الأحياء الدقيقة بقسم البيولوجيا) لزرع *Aspergillus niger* بينما استعمل وسط Sabouraud chloranphenicol (المحضر بمعهد باستور-الجزائر) لتنمية *Candida albicans*.

1-2- الطرق

1-2-1- استخلاص و تحديد مكونات الزيوت الأساسية

تم استخلاص الزيت الأساسي باستعمال جهاز تقطير من نوع Clevenger لمدة 4 ساعات. تمت دراسة مكونات الزيوت الأساسية بكروماتوغرافيا الطور الغازي (CG) وبمزاوجة التحليل الكروماتوغرافي للحالة الغازية ومطيافية الكتلة (CG/SM). تجمع هذه المزاوجة بين قدرة تفريق كروماتوغرافيا الطور الغازي والكشف النوعي الجد حساس لمطيافية الكتلة، حيث لكل مكون طيف كتلة خاص قورن مع أطياف معيارية محتواة في برنامج Wiley 275 L.

استعمل في كروماتوغرافيا الطور الغـازي جهـاز Varian صنف 33000 مجهز بكاشف تأين (flame ionization detector) 300°م وحاقن (injector) 250°م مع مسجل (Varian computing integrator) صنف 4270. هذا الجهاز مزود بأنبوب شعري InnoWax (30م x 0.25 ملم ذي سمك 0.25 مكرو متر) من صنع Hewlet Packard. حددت في البداية درجة الحرارة بـ 60°م لمدة 3 دقائق ثم رفعت من 60°م إلى 210°م بمعدل 4 درجات حرارة في الدقيقة. استعمل الهليوم كغاز ناقل بتدفق 1.5مل/ ثانية وتم حقن 1 مكرولتر من الزيت المذاب في الإيثيل إيثر (40 %) بتدفق (split ratio) 1:50.

عند مزاوجة كروماتوغرافيا الطور الغازي مع طيف الكتلة استعمل جهاز طيف الكتلة Hewlet Packard صنف 5971 A مزاوج مع كروماتوغرافيا الطور الغازي من نوع Hewlet Packard صنف 5890 مزود ببرنامج Wiley 275 L وتم التحليل في نفس الظروف السابقة من أنبوب شعري وبرنامج الحرارة. وكان الغاز الناقل هو الهليوم بتدفق 1 مل/دقيقة. تم التعرف على المكونات بمقارنة زمن ومعامل احتباسها وطيف كتلتها مع تلك لشواهد معيارية [1،6،10،18،17،23،24،30،34].

1-2-2- الزرع البكتيري

تنمى الأنواع البكتيرية في المرق المغذي لمدة 18 ساعة. يسكب 1 مل من المعلق البكتيري (ذي التركيز 10^5 خلية/مل) على وسط ميلر هنتن ويترك 5 دقائق حتى تترسب الخلايا البكتيرية ثم يزال الفائض باستعمال ماصة باستور وتترك الأطباق لتجف. وباستعمال تقنية الأقراص كما هو معمول به في إدارة الغذاء والدواء بالولايات المتحدة الأمريكية [22]، اختبرت فعالية الزيوت الأساسية للجزأين النباتيين وذلك باستعمال أقراص من ورق Wattman رقم 1

الحاوي على 10 مكرولتر من الزيت الأساسي المخفف بالإيثانول بتخفيف ½ و 1/5 و1/10 (حجم/حجم) ومقارنتها بالشاهد السالب المحتوي على نفس الكمية من الإيثانول والشاهد الموجب جنتاميسين (10 وحدة دولية). تكرر التجربة ثلاث مرات لكل نوع بكتيري. تحضن الأطباق في درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة. تقرأ النتائج بقياس منطقة التثبيط. لمعرفة طبيعة النشاطية ضد البكتيرية (فعل قاتل أو فعل مثبط) أخذت مسحة من منطقة التثبيط بالقرب من القرص لتزرع في مرق مغذي وتحضن في 37°م لمدة 18 ساعة.

1-2-3- الزرع الفطري

ينمى فطر *Aspergillus niger* على وسط Potato Sucrose Agar لمدة 72 ساعة في درجة حرارة 25 م°، أما خميرة *Candida albicans* فتنمى على وسط Sabouraud chloranphenicol لمدة 72 ساعة في درجة حرارة 37 م°.

يؤخذ قرص من المزرعة الفطرية حديثة التبوغ وتوضع في 10 ملل من الماء الفسيولوجي المعقم ويرج الأنبوب جيدا ثم يخفف الوسط حتى الحصول على تركيز 10^5 بوغة /1مل، في حين تؤخذ مسحة من مزرعة حديثة لـ *Candida albicans* لتكرر نفس الخطوات السابقة للحصول على نفس التركيز الخلوي. يسكب 1 مل من المعلق الفطري على الوسط المناسب ويترك 5 دقائق حتى تترسب الأبواغ أو الخلايا ثم يزال الفائض باستعمال ماصة باستور ثم يختبر تأثير الزيوت باستعمال طريقة الأقراص. تحضن الأطباق في درجات حرارة مختلفة 25 م° و37 م° حسب النوع المدروس وتقرأ النتائج بقياس منطقة التثبيط عبر فترات 48 و72 ساعة.

1-2-4- تحديد السمية

تمت دراسة سمية الزيوت الأساسية تبعا لطريقة Sidwell [31]. بعد تحضير في حجم كلي يقدر بـ 50 ميكرولتر كميات متدرجة بالنصف، تراوحت بين 50 ملغ إلى 0.05 ملغ بالنسبة لزيت الجزء الهوائي ومن 52 ملغ إلى 0.05 ملغ بالنسبة لزيت الثمار بعد إذابتها في محلول ثنائي المثيل سلفو أوكسيد (.D.M.S.O). حضنت إثر ذلك في صفائح المقايسة الدقيقة (Falcon, USA) بوجود 25000 خلية ظهارية لكل حفرة من كلى القردة الإفريقية الخضراء (Vero cells) وبوجود 25000 خلية ضهارية من البلعوم البشري (Hep 2 cells) لكل حفرة لمدة 48 ساعة في محيط رطب في درجة 37 م° وبوجود 5 % من CO_2. وقد خصصت 4 مكررات لكل كمية من الزيت من أجل الدلالة الإحصائية. في الأخير تم التأكد من السمية الخلوية أو عدمها بإضافة الأحمر المتعادل لكل حفرة أين تظهر المزارع الخلوية الحية ملونة أما الميتة فلا تتلون باللون الأحمر.

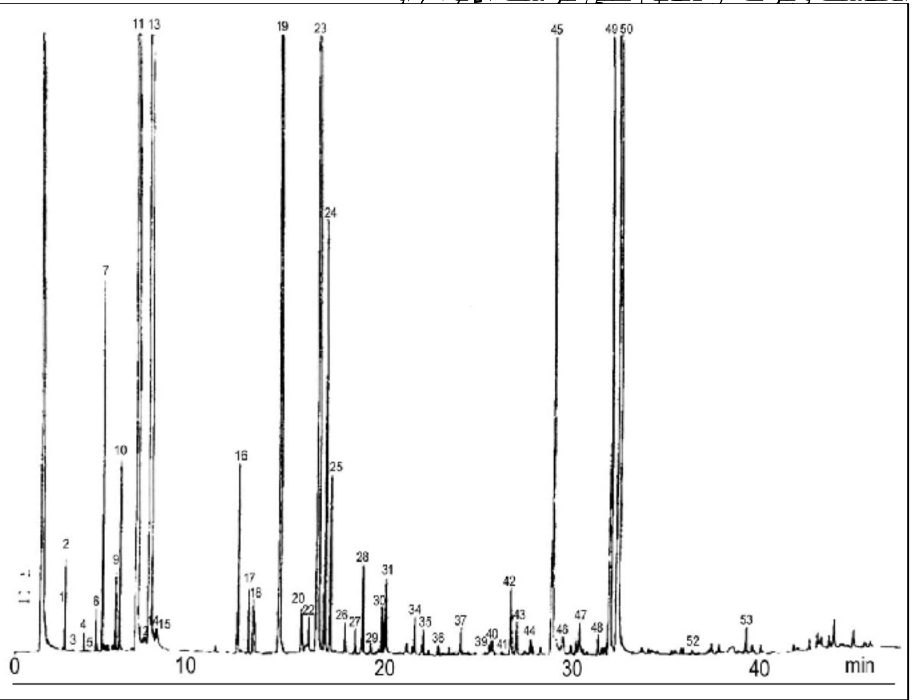
2- النتائج

2-1- التحليل الكيميائي للزيت

أعطى استخلاص الزيت مردودية تقدر بـ 3.2 % و7.3 % على التوالي في الجزء الهوائي وفي الثمار، كما بينت نتائج كروماتوغرافيا الطور الغازي للزيت الأساسي لجزئي نبات النوخة (شكل 1 و2) أنه يحتوي على 53 مكونا، حيث يحتوي زيت الثمار على 49 مكونا أما الجزء الهوائي فيحتوي على 45 مكونا (الجدول 1).

2-2- النشاطية ضد الميكروبية

أعطت التجارب نتائج مختلفة باختلاف الجزء النباتي وباختلاف الأنواع الميكروبية وتركيز الزيت الأساسي. بالنسبة للجزء النباتي وبصفة عامة كان زيت الجزء الهوائي أكثر تأثيرا مقارنة بزيت الثمار. أما بالنسبة للنوع البكتيري فقد اختلف من تأثير قاتل



شكل 1: كروماتوغرام الزيت العطري لثمار نبات النوخة *Ammoides pusilla.*

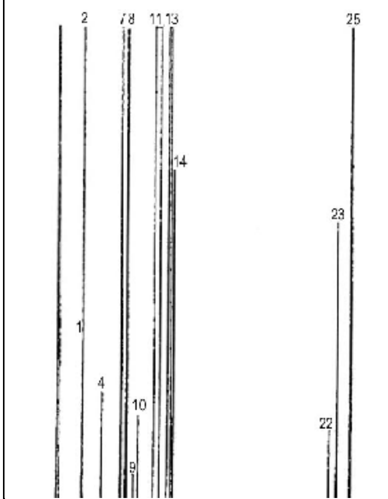
على الأنواع البكتيرية التالية *Escherichia coli* ATCC 25922، *Klebsiella ozaenae*، *Klebsiella pneumoniae*، *Enterobacter cloacae*، *Enterococcus faecalis* ATCC 29212، *Serratia marcescens*، *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* و *Pseudomonas syringae* pv. *mosprunorum* إلى تأثير مثبط على الأنواع *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Staphylococcus aureus*، *Haemophilus parainfluenzae* و*Salmonella enteritidis* . فيما يتعلق بتخفيف الزيت فقد كان التخفيف ½ أكثر تأثيرا مقارنة ببقية التخافيف على البكتيريا والخميرة والفطر(جدول 2).

3-2- دراسة السمية

أظهرت دراسة سمية التخافيف المختلفة للزيت العطري لنبات النوخة بتخافيف مختلفة على المزارع الخلوية لخلايا ظهارة كلى القردة الإفريقية الخضراء (Vero cells) وللخلايا الظهارية البشرية للبعلوم (Hep 2 cells) سمية زيوت الثمار بتركيز 50 ملغ والجزء الهوائي بتركيز 52 ملغ في حين الجرعات الحاوية على أقل من 25000 ميكروغرام لم تبد أيه سمية (جدول 3 و4).

3- مناقشة النتائج

لوحظ أن الثمار تعطي مردودية أكبر من الجزء الهوائي. اختلفت كذلك المكونات الأساسية للزيت الأساسي للجزئين المدروسين، فقد تميز زيت الثمار بغناه بـ p-cymène و الميثيل تيمول methyl thymol مقارنة بزيت الجزء الهوائي، أما هذا الأخير فتميز بدوره باحتوائه على كميات أكبر من التيمول Thymol والقاما تربينان γ-terpinène . لوحظ غياب المركبات التالية، α-tepinène، cis sabinène hydrate، 4-terpinèol، cis piperitol، γ-



germacrène D، muurolène، E,E- α-farnesène في زيت الثمار. بالمقابل لوحظ في زيت الجزء الهوائي غياب كل من nonanal، cis-pulégol، 2’,4’,6’-trimethyl acetophénone، β-sesquiphellandrène، piperiténone، (Z)-nerolidol، humulène époxide II و2-ter-butyl-5-methyl anysole.

أثر الزيت الأساسي للنبات على كل الأنواع الميكروبية باستثناء *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 وهذا ما تؤكده نتائج Didry وآخرون [7] وPanizzi وآخرون [25] وSivropoulou وآخرون [32] التي تبين أن هذا النوع مقاوم للزيوت الحاوية على التيمول لكن حساس للمركبات pulégone وisopulégol وpiperitone وللزيوت الحاوية عليها. اختلف تأثير الزيت باختلاف مصدره تخفيفه والنوع الميكروبي بحيث تبين أنه كلما زاد تركيز الزيت كلما كان التأثير التثبيطي أكبر، حيث أبدت الميكروبات حساسية أكبر للتخفيف ½ وتناقصت هذه الحساسية بتناقص هذا التركيز كما تباينت هذه الحساسية من حين لآخر حسب مصدرالزيت. سجل أيضا اختلاف في نوعية التأثير حيث كان قاتلا ضد الميكروبات المستعملة باستثناء *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ، *Staphylococcus aureus* ، *Haemophilus parainfluenzae* ، *Salmonella enteritidis* أين كان مثبطا. تعود فعالية الزيت الأساسي للنوخة بالدرجة الأولى إلى وجود المركبات الفينولية thymol وcarvacrol وهذا ما تؤكده دراسات Biondi وآخرون [3] وSivropoulou وآخرون [33] وDidry وآخرون [7] وPellecuer وآخرون [27] وGergis وآخرون [11]، أما Thompson [36] فقد تعرض بالدراسة إلى الأثر الضد فطري لـ carvacrol. كما تؤكده جزئيا دراسة Tassou وNychas [35]، حيث ذكروا عن Katayama وNagai (1989) أن القسم النشط للزيوت

المكون الكيميائي	الجزء الهوائي	الثمار	تقنية التعرف
α- thujène	0.2	0.1	a,b,c
α- pinène	0.4	0.1	a,b,c
camphène	tr	tr	a,b,c
β-pinène	0.2	tr	a,b,c
sabinène	0.1	tr	a,b,c
Δ3- carène	0.1	0.1	a,b
myrcène	0.9	0.4	a,b,c
α-terpinène	1.0	-	a,b,c
limonène	0.2	0.1	a,b,c
1.8-cinéole	0.3	0.3	a,b,c
γ-terpinène	32.9	15.0	a,b,c
β-phellandrène	0.1	tr	a,b,c
p-cymène	13.5	25.5	a,b,c
terpinolène	0.4	0.1	a,b,c
nonanal	-	0.1	a,b
α-*p*-dimethyl stirène	tr	0.3	a,b
1-octen-3-ol	tr	0.1	a,b,c

الأساسية لـ *Pistacia lentiscus* يحتوي على eugénol، carvacrol، isobornéol، thymol، vanillin وalicylaldehyde، أما Hammerschmidt وآخرون [14] و Carson وRiley [5] فيعتبرون كلا من thymol، eugéno، carvacrol، α-pinène، 1.8-cinéole، β-pinène، linalool وα-terpinèol من المركبات الزيتية النشطة لأنواع الجنسين *Psidium* و*Pilocarpus* والتي قد يرجع لها الأثر التثبيطي ضد عدة أنواع بكتيرية وفطرية. كما بينت نتائج دراسة Sivropoulou وآخرون [33] للزيوت الأساسية لنبات *Origanum* نشاطية ضد ميكروبية للمركبين thymol و

	تركيز زيت الثمار (ح/ح)			تركيز زيت الجزء الهوائي (ح/ح)		
	½	1/5	1/10	½	1/5	1/10
	31 ق	17 ق	11 ق	29 ق	22 ق	13 ق
P	8 م	7 م	6 م	8 م	7 م	6 م
	38 م	27 م	13 م	38 م	35 م	27 م
	20 م	14 م	13 م	24 م	18 م	13 م
	14 ق	11 ق	10 ق	16 ق	14 ق	13 ق
	20 ق	13 ق	12 ق	18 ق	17 ق	12 ق
	24 ق	15 ق	12 ق	20 ق	16 ق	13 ق
	26 ق	12 ق	10 ق	26 ق	17 ق	15 ق
	14 م	11 م	8 م	12 م	10 م	7 م
	22 م	8 م	7 م	23 م	10 م	9 م

carvacrol في حين نفيت فعالية γ-terpinène و *p*-cymène. أما سنة 1995 وفي دراسة أخرى ذكروا بأن الأثر الضد بكتيري يعود إلى المكونات التالية 1.8-cinéole، linalool، linalyl acétate، α-terpinéol، isobornéol، trans-dihydrocarvone، cis-dihydrocarvone و trans carveol. أما بنك معلومات الدكتور Duke [8] فقد ذكر الكثير من المركبات الزيتية ذات الأثر الضد بكتيري احتوى منها زيت النوخة كل من α-pinène، myrcène، limonène، 1,8 cinéole، *p*-cymène، linalool، terpinène-4-ol، pulégone، thymol وcarvacrol وأثناء دراسة Wilson وآخرون [37] للنشاطية ضد الفطرية للزيت الأساسي للعديد من النباتات على *الفطر Botrytis cinerea* بين فعالية المكونات التالية D-limonèn، cinéole، β-myrcène، α-pinène، β-pinène وCamphor.

تبعا لنتائج التحليل الكيميائي لزيت النوخة التي تبين بأن التيمول (thymol) هو أحد المكونات الأساسية بنسبة 44.5 و41.1 في زيت الجزء الهوائي وفي زيت الثمار على التوالي، كما أظهر الاختبار النوعي للتيمول الصناعي نشاطية أكبر من نشاطية التخفيف ½ تقريبا على كل الأنواع البكتيرية والفطرية، لذا نستنتج أن التأثير التثبيطي يعزى لهذا المركب، أما المكونات الأخرى، α-pinène، myrcène، limonène، 1,8 cinéole، β-pinène، linalool، isobornéol، terpinene-4-ol، pulégone، α-terpinéol، thymol وcarvacrol فقد تشارك في هذا الأثر نظرا لقلة نسبتها.

كما تبين أيضا من الدراسة أن أثر التخفيفين 1/5 و1/10 للزيت الأساسي للجزء الهوائي الغني بالتيمول مقارنة بزيت الثمار كان أكثر تأثيرا على كل الأنواع البكتيرية باستثناء على النوع *Haemophilus parainfluenzae* الذي أبدى حساسية أكبر لزيت الثمار.

أما دراسة السمية على الخلايا البشرية الخالدة المأخوذة من الحنجرة (Hep 2 cells) وخلايا ظهارة كلى القردة الخضراء الإفريقية (Vero cells) فأظهرت أن الزيوت المستخلصة من النبات ضعيفة السمية، إذ أنها لم تؤثر على نمو المزارع الخلوية المذكورة ولو بكميات كبيرة 25000 و13000 ميكروغرام بالنسبة للزيوت المستخلصة من الجزء الهوائي والمستخلصة من الثمار على التوالي.

وبهذا نستنتج في خطوة أولىأن زيت نبات النوخة فعال ضد الكثير من المكروبات وعديم السمية الخلوية ولو بكميات كبيرة جدا، لذا وجب التفكير في دراسة الأعراض الجانبية المحتملة عند الحيوان والإنسان.

المراجع

[1]- Adams R.P., "Identification of essential oils components by Gas Chromatography Mass Spectroscopy", Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois USA (1995).

[2]- Akgul A., "Antimicrobial activity of black cumin (*Nigella sativa*) essential oil", J. Fac. Pharm. Gazi, Vol. 6, N° 1 (1989), pp. 63 – 68.

[3]- Biondi D.C, ianci P., Geraci C. and Ruberto G., "Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Sicilian Aromatic Plants", *Flav. Fragr. J.*, Vol. 8, (1993), pp. 331- 337.

[4]- Burits M. and Bucar F., "Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil", *Phytotherapy Research*, Vol. 14, (2000), pp. 323-328.

[5]- Carson C. F. and Riley T. V., "Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melalenca alternifolia*", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 78, (1995), pp. 264-269.

[6]- Davies N.W., "Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on methylsilicone and carbowax 20 M phases", *J. Chromatogr.*, Vol. 503, (1990), pp. 1-24.

[7]- Didry N., Dubreuil L. and Pinkas M. A, "Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination", *Pharmazie*, Vol. 48, (1993), pp. 301-304.

[8]- Duke J.A., "phytochemical and ethnobotanical databases", USDA-ARS-NGRI, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. (www.ars-grin.gov/duke/), (2002).

[9]- El Kamali H.H.., Ahmed A.H., Mohammed A.S., Yahia A. A. M., El Tayeb I.H. and Ali A.A., "Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds, *cymbopogon citrates* leaves and *pulicaria undulata* aerial parts", *Fitoter. Apia*, Vol. 1, (1998), pp. 77-78.

[10]- Formaceck V. and K.H. Kubeczka, "Essential Oils Analysis by GC and ^{13}C NMR Spectroscopy", J. Wiley and Son's, New York, (1982).

[11]- Gergis V., Spiliotis V. and Poulos C., "Antimicrobial activity of essential oils from Greek Sideritis species", *Pharmzie*, (1990), pp. 45-70.

[12]- Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L. and Leach D.N., "the role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity", *Flavour Fragr. J.*, Vol. 14, (1999), pp. 322-332.

[13]- Habtemariam S. and Macphercson A.M., "Cytotoxicity and antibacterial activity of ethanol extract from leaves of herbal drug, bonest (*Eupatorium perfoliatum*)", *Phytotherapy Research*, Vol. 14, N° 7, (2000), pp. 575-577.

[14]- Hammerschmidt F.J., Clark A.M., Soliman F.M., El Kashoury E.S., Abdel Kawy M.M. and El Fishawy A.M., "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Josonia candicans* and *J. Montana*", *Planta Med.*, Vol. 59, (1993), pp. 68-70.

[15]- Kambouche N., El Abed D. et Fortas Z., "Mise en évidence de l'activité biologique de l'huile essentielle de *Ptychotis ajowan* « Noukha » de l'ouest algérien", les XIèmes Journées Nationales de Microbiologie, , Université d'Es Sania, Oran, 30 Nov.-01 Déc. (1998).

[16]- Kirby A.J. and Schmidt R.J., "the antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs", *J. Ethnopharmacol.*, Vol. 56, (1997), pp.103-108.

[17]- Kovàts E. Sz., "Gas Chromatografic Characterization of Organic Substances in the Retention Index System", *Adv. Chromatogr.*, Vol. 7, (1965), pp. 229-247.

[18]- Kovats E. Sz., "Gas chromatographische characterisierung organischer verbindungen. Teil 1: Retention indices alifhatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone", *Helv. Chim. Acta*, Vol. 41, (1958), pp. 1915-1932.

[19]- Lacroix R., Merad M.R., Lacroix J., Abtroun N. and Schaebel M.F., "Algerian pharmacopea: 2 plants with antipyretic properties *Ptychotis Ammoides* and *Erythrea*

[26]- Ellecuer J., Allegrini J. and Simeon de Buochberg M., "Huiles essentielles bactéricides et fongicides", *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, France, Vol. 9, (1976), pp.135-159.

[27]- Pellecuer J., Jacob M., Simeon de Buechberg M. and Allegrini J., "Therapeutic value of the cultivated montain savory (*Satureia montana* L. : labiatae) ", *Acta Hortic*., Vol. 96, (1980), pp. 167 – 170.

[28]- Pomilio A.B., Buschi C.A., Tomes C.N. and Viale A.A., "Antimicrobial constituents of *comphrena martiana* and *Gomphrena boliviana*", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 36, (1992), pp. 155-161.

[29]- Pratt D.E. and Miller E.E., "A flavonoid antioxidant in spanish peanuts", *J. Am. Oil Chem. Soc*., Vol. 61, (1984), pp. 1064 – 1067.

[30]- Sandra P. and Bicchi C., "Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis", Edited by C. Bicchi-HuethigVerlag, Heidelberg, Germany, (1987), pp. 259-328.

[31]- Sidwell, R.W., "Determination of antiviral activity". Chap12 In Modern Analysis of Antibiotic, pp. 433-480, Ed. Adorjan Aszalos, maison d'edition Marcel Dekker, (1986).

[32]- Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T. and Arsenakis M., "Antimicrobial activity of mint essential oils", *J. Agric. Food Chem*., Vol. 43, N° 9 (1995), pp. 2384- 2388.

[33]- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaral T. and Arsenakis M., "Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils", *J. Agric. Food Chem.,* Vol. 44, N° 5, (1996), pp. 1202 - 1205.

[34]- Stenhagen E., Abrahamsson S. and Mc Lafferty F.W., "Registry of Mass Spectral Data. I and II", Eds. Wiley and Son's, New York (1974).

[35]- Tassou C.C. and Nychas G.J.E., "Antimicrobial activity of the essential oil of Mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. chia) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in model food system", *International Biodeterioration and Biodegradation*, (1995), pp. 411 – 420.

[36]- Thompson D.F., "Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi", *Mycologia*, Vol. 81 N° 1, (1989), pp. 151 – 153.

[37]- Wilson C.L., Solar J.M., El Ghaouth A. and Wisniewski M.E., "Rapid evaluation of plant extracts and essential oils from antifungal activity against *Botrytis cinerea*", *Plant Disease*, Vol. 81, N° 2, (1997), pp. 204 – 210.

[38]- Youssef R.T. and Tawil C.G., "Antimicrobial activity of volatil oils", *Pharmazie*, Vol. 35, (1980), pp. 698-701. ☐

centaurium", *Tunis Med*., Vol. 51, N° 5, (1973), pp. 327 – 331.

[20]- Laouer H., "Contribution à l'étude des plantes médicinales du massif de Boutaleb, phytmasse de *Rosmarinus tournefortii* de Noé, effet de l'altitude et de l'exposition sur la composition de ses huiles essentielles", Thèse de Magister, biologie végétale, université de Sétif, (1995), 186 p + Annexes.

[21]- Laouer H., Zerroug M. M.; Shakir A. N.; Mebarki S. et Ghomazi K., "Activité antibactérienne des extraits d'*Ammoides verticillata*", les XI^èmes^ journées nationales de microbiologie, Université d'Es Sania, Oran, 16 et 17 nov. (1998).

[22]- Lenette E.H., Balows A., Hausler W.J. and Shadomy H.J., "In Manual of clinical microbiology", 4th ed., American Society for Microbiology, Washington DC, (1985).

[23]- Massada Y., "Analysis of Essential oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry", J. Wiley & Son's, Inc. New York (1976).

[24]- Ohloff G., Seibl J. und Kovats E.Sz., "Zurkenntnis atherischer ole", *Helv. Chim. Acta*, Vol. 46, (1963), pp. 2705-2731.

[25]- Panizzi L., Flamini G., Cioni P.L. and Morelli I., "Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Laminaceae", *J. Ethnopharmacol*., Vol. 39, (1993), pp. 167-170.