P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2009 ,(3), (3) :58-65

عزل وتشخيص وتنقية مركب Nicotine ودراسة تأثيره والمستخلصات المائية لنبات التبغ على بعض الأجناس البكتيرية المرضية

ثائر عبد القادر صالح* أنمار نزار حسن ** إبراهيم جليل ابراهيم*

* جامعة الأنبار – كلية العلوم
** جامعة الأنبار – كلية الزراعة

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦
تاريخ النشر: ١٤/ ٦ / ٢٠١٢
DOI: 10.37652/juaps.2009.15577

الكلمات المفتاحية:
عزل ،
تشخيص ،
تنقية ،
Nicotine ،
تأثير،
المستخلصات المائية ، ا
لتبغ ،
الأجناس البكتيرية المرضية.

الخلاصة:

تم استخلاص وتنقية قلويد Nicotine من أوراق النبات الطبي التبغ *Nicotiana tobacum* باستخدام بعض الطرق الطيفية التشخيصية Infra Red ,Ultra Violate , Thin Layer Chromatography , Melting point وبعض الكشوفات الكيمياوية وتم دراسة تأثير فعاليتها ضد بعض أنواع البكتريا المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و قياس أقطار التثبيط لفعالية هذا المركب إضافة إلى معرفة تأثير المستخلص المائي لنبات التبغ *Nicotiana tobacum* ، أظهرت النتائج تفوق قلويد Nicotine على المستخلص المائي لنبات التبغ ولجميع التراكيز وعلى كل أنواع البكتريا ، إذ أعطى المركب أعلى قطر للتثبيط وقدره ٢٥ ملم في التركيز ٥٠ ملغم/ مل على بكتريا *Pseudomonas* بينما بلغ اقل قطر للتثبيط في التركيز ١ ملغم /مل وكان ٢ملم لبكتريا *Staphylococcus* و *E. coli*.

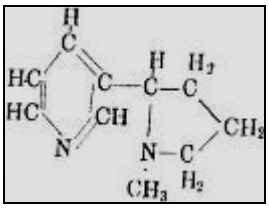
المقدمة

عرف الإنسان أهمية المركبات الايض الثانوية النباتية في مكافحة الآفات منذ زمن بعيد ، فكان يستخدم أزهار وأوراق وجذور وثمار وبذور بعض النباتات الحاوية على مواد سامة أو قاتلة أو طاردة [١] . أعتمد الطب قديمه وحديثه على النباتات الطبية الطبيعية منها والمستزرعة والتي أستخدمت للعلاج قبل أكتشاف معظم العلاجات الحديثة كالمضادات الحيوية والهرمونات المستعملة حالياً في الطب الحديث [٢] . كانت الحاجة إلى تحضير الأدوية وأستعمالها لحالات مرضية في الواقع وراء البحث عن الأجزاء المختلفة للنبات وطرق تحضيرها ومعرفة خصائصها الطبية ومفعولها ، لذلك نجد في الآثار البابلية والمصرية ما يدل بوضوح على معرفتهم الدقيقة بالأدوية إذ وردت على هيئة وصفات طبية لعلاج ما عرفوه من الأمراض ، ففي الألواح الطبية الخاصة بالتشخيص والعلاج نجد ثلاثة أعمدة ، إذ تظهر في العمود الأول أسم النبات وفي العمود الثاني يذكر أسم المرض الذي يُعالج بذلك العشب وفي العمود الثالث تذكر الكميات والإرشادات [٣] .

وقد أتجه البحث العلمي في الوقت الحاضر لعلاج الكثير من الأمراض المختلفة بأستعمال العقارات من أصل نباتي، لأن الكثير من المواد والمركبات المتكونة صناعياً والمُنتجة مختبرياً ذات فاعلية عالية ضد الكثير من الأمراض مع رخص ثمنها وكثرة إنتاجها ألا أنها ذات أثار جانبية خطيرة مما دفعت الدول المتقدمة صناعياً إلى اللجوء إلى النباتات الطبية والعطرية لأستخدامها في علاج الأمراض المختلفة [٤] . استخدم التبغ منذ زمن بعيد في علاج الصداع والزكام والقرح ، ومن المركبات الثانوية المهمة الموجودة في نبات التبغ هي القلويدات وأهمها قلويد النيكوتين ذات الصيغة التركيبية $C_{10}H_{14}N_2$ ويتكون النيكوتين من حلقتين هي Pyridine و Pyrrolidine [٥] . تكون الأوراق المصدر الرئيسي لاستخلاص النيكوتين ، عرف النيكوتين منذ عام ١٩٣٨ كمركب فعال يستخدم للتخلص من الآفات والحشرات لتأثيره الفعال في الجهاز العصبي ، وقد تقلص استخدامه بسبب التعرف على خواصه الدوائية Pharmacological Properties [6] . يشكل النيكوتين بعد خلطه مع بعض المركبات الأخرى دواءاً جيداً لعلاج أمراض الدماغ كالزهايمر أو الخرف ، وايضاً أشكال مختلفة من الأدوية المحتوية على

* Corresponding author at: Anbar University - College of Science, Iraq;
E-mail address: *scianb@yahoo.com*

النيكوتين تستخدم في المساعدة لترك التدخين مثل دواء شانتكس Chantix ، ويستخدم النيكوتين ايضاً لعلاج تقرحات الغشاء المخاطي للقولون وتخفيف الألم لهذا التقرح ، ومن أكسدة النيكوتين بحامض النتريك يمكن الحصول على فيتامين B_3 [8][7] .



شكل (١) الصيغة التركيبية لقلويد النيكوتين

المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* تعود إلى عائلة Micrococaceae وهي عبارة عن مكورات موجبة لصبغة كرام ، تتواجد بشكل منفرد او مزدوج او على شكل تجمعات تشبة العناقيد غير منتظمة ، تنتج أنزيم coagulase الذي يختثر البلازما ، تتراوح أقطارها (0.5 – 1) مايكرو ملميتر، غير متحركة ، لا تحمل اسواط ، غير مكونة للسبورات ، تمتاز بلون اصفر ذهبي ، إن امتلاكها لخميرة التجلط يعد دليلاً مهماً على امراضيتها وكذلك الغلاف capsule الذي يؤدي الى تثبيط عملية البلعمة كما إنها تحوي العديد من الذيفانات Toxins وتسبب التسمم الغذائي العنقودي [9] . وهي المسؤولة عن العديد من الخمجيات القيحية في الإنسان والحيوان وان من أهم الأمراض إلى تسببها هي الآفة Lesion الجلدية والدبلة Boil والخراجات تحت الجلدية بالإضافة إلى الالتهابات لأعضاء عديدة من جسم الإنسان [11][10] . اما الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* فهي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة كرام منتظمة بشكل خلايا مفردة او سلاسل قصيرة ومتحركة بسوط قطبي ، وان معظم سلالاتها تنتج صبغات تنتشر في بعض الأوساط الزرعية المناسبة ومنها البايوسيانين Pyocyanine ، تعتبر من البكتريا الهوائية الإجبارية تنتشر في التربة والماء كما عزلت من العينات المرضية مثل الجروح والحروق وإصابات المجاري البولية ، إن عوامل الضراوة التركيبية تتمثل باللويحقات pili والسكريات المتعددة المخاطية والسكريات الشحمية وأيضا النواتج خارج الخلايا مثل الخميرة الحالة للبروتينات والذيفان الخارجي Exotoxin A ، وتعتبر انتهازية في طبيعتها وغالبا ما توجد في الغائط وقد توجد في الخمجات المزمنة للمجاري البولية والأنف والإذن الوسطى وتمتاز بالمعيشة في أي بيئة تتوفر بها رطوبة مناسبة وبقدرتها العالية على مقاومة المضادات الحيوية والمطهرات [١٢][١١] . واخيراً الاشريشية القولونية *Escherichia coli* هي عصيات سالبة لصبغة كرام ، تمتلك اسواط حولية ، غير مكونة للابواغ كما تمتلك قسم من سلالاتها القدرة على تكوين الاغلفة Capsules ، تنمو على وسط الماكونكي إذ تصطبغ مستعمراتها بلون وردي نتيجة تخميرها سكر اللاكتوز وبذلك يمكن تمييزها عن بقية أفراد العائلة المعوية ، تسبب التهابات المجاري البولية ، والجروح ، والحروق وقد تكون سببا في التهاب السحايا والدماغ عند الأطفال ، الجرعات الكبيرة منها ممرضة للمعدة والأمعاء في حالات الإسهال للبالغين ويعتبر البالغين أكثر مقاومة للإصابة بالإسهال[11] .

المواد وطرق العمل

لقد تم الحصول على بذور نبات التبغ من كلية الزراعة في جامعة بغداد وتم زراعتها ونموها في سنادين داخل المختبر خلال شهر آب عام ٢٠٠٦ وتم اخذ أوراق النبات على شرط إن لا تكون النباتات مزهرة وقد شخص النبات المذكور من قبل الدكتور علي حسين الموسوي مسؤول معشب قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة بغداد وتم غسلها وتجفيفها وطحنها وحفظها بدرجة ٢٠ مْ، وتم الحصول على العزلات البكتيرية المرضية من كلية العلوم / جامعة النهرين ولقد تم التأكد منها من خلال تشخيصها بوساطة الفحوصات المجهرية والكيموحيوية واعتمادا على المصادر العلمية المتبعة عالميا لتشخيص البكتيريا . وقد شمل التشخيص الفحوصات الآتية : الفحص المجهري ، الصفات الزرعية ، فحص الحركة ، واختبار الكاتاليز ، اختبار الاوكسديز [13][١٤] . واختبار الاندول ، اختبار المثيل الأحمر ، اختبار فوكس بروسكاور ، اختبار استهلاك السترات ، اختبار اليوريا، اختبار اختزال النترات ، اختبارانزيم التجلط ، اختبار الجيلاتين ، اختبار تخمر السكريات[١٥] . أما بالنسبة لتنقية وتحضير قلويد النيكوتين Nicotine المستخلص من أوراق نبات التبغ *Nicotiana tobacum* فقد تم أستخلاص المركبات القلوانية أولا بإتباع طريقة [١٦] ، إذ تم أخذ ١٠غم من الأوراق الجافة المطحونة ووضعها في حاوية الأستخلاص وتم أدخالها في جهاز soxhlet ثم أضيف لها ٢٠٠ مل من الكحول الأثيلي ، وجرى الأستخلاص تحت درجة حرارة ٤٠ مْ لمدة ٦ ساعة وبعد الأنتهاء من عملية الأستخلاص تم تركيز المستخلص بالمبخر الدوار ثم أذيبت المادة الجافة الناتجة في ٥ مل من الكحول الأثيلي

بعدها أضيف إلى المستخلص الكحولي ٣٠ مل من حامض الكبريتيك ٢% ثم أستخدم المبخر الدوار للتخلص من الكحول الأثيلي ليتخلف المحلول الحامضي فقط والذي عدل إلى pH=9 بإضافة هيدروكسيد الأمونيوم ١٠% . بعد ذلك وضع المحلول في قمع فصل وأعيد أستخلاصه ٤ مرات بالكلوروفورم (الطبقة السفلى لقمع الفصل) وركزت بالمبخر الدوار وجففت العينة في الفرن الكهربائي تحت درجة حرارة ٥٠ مْ ، بعدها تم استخلاص النيكوتين بأخذ ٥ غم من مسحوق القلوانيات المجفف وأضيف له ٥ مل من ١٠% محلول آمونيا و ٥ مل من الكحول المثيلي ٩٥% ووضع المزيج في حمام مائي هزاز Shaker Water Bath بدرجة حرارة ٦٠ م^{o} لمدة ١٥ دقيقة بعدها تبرد النموذج ورشح بأستعمال ورقة ترشيح واتمان رقم ١١ ، ركز الراشح في جهاز المبخر الدوار التفريغي Vacuum Rotary Evaporator إلى أن وصل حجم الراشح إلى ١ مل [١٧] . وأستخدمت الأوساط المغذية التالية الاكار المغذي Nutrient agar، الماكونكي أكار Macconkey agar ، المرق المغذي Nutrient broth ، أكار الدم Blood agar ، أكار المولر هنتون Muller hinton agar ، حضرت هذه الأوساط حسب تعليمات شركة Mast ، وسطMR-VP حسب تعليمات Biolife ، أكار اليوريا حسب تعليمات Oxiod ، اكارالجيلاتين ، أكار النشاة ، وسط أكسدة وتخمير السكريات ، ولغرض تحضير أطباق فحص الفعالية استعمل القاطع الفليني المعدني وبقطر ٥ ملم لعمل حفر في الوسط الزرعي Muller Hinton agar ولقحت الأطباق الحاوية على المولر هنتون بالبكتيريا تحت الدراسة وذلك بنشر عدد تقريبي من الخلايا ١.٥×١٠ ^{٨} خلية / مللتر وباستخدام ماكفرلاند لغرض المعايرة وبعد ذلك وضعت المستخلصات بالحفر بالتراكيز التالية (١ ملغم\مل ، ١٠ملغم\مل ، ٢٥ ملغم\مل ، ٥٠ ملغم/مل) وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ مئوي لمدة ١٨ ساعة وتم قراءة النتائج بقياس قطر التثبيط بالمسطرة المدرجة (المنطقة الخالية من النمو الجرثومي)[١٨] . أما الكواشف المستخدمة في التشخيص والصبغات فهي كاشف فوكس بروسكاور ، كاشف كوفاكس ، كاشف المثيل الأحمر ، كاشف الاوكسديز، كاشف الكاتاليز ، كاشف اختزال النترات ، صبغة كرام . أما تحضير المستخلص المائي لنبات التبغ فقد تم باخذ 20 غم من مسحوق المادة الجافة لأوراق النبات المدروس ، ووضعت في دورق مخروطي زجاجي سعة 500 سم^{٣} يحتوي على 200سم^{٣} ماء مقطر . خلطت المادة النباتية بأستخدام الخلاط المغناطيسي (Magnetic Stirrer) لمدة نصف ساعة وبدرجة حرارة المختبر ، بعد ذلك رشح المحلول بقطعة قماش من التول للتخلص من المخلفات النباتية أو بقطعة شاش ، وبعدها استعمل جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) وبسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة للحصول على مستخلص نباتي رائق [١٩] . وضع المحلول الرائق في المجفف Dryer أو في الحاضنة Incubator وبدرجة حرارة 35 مْ لحين جفاف المستخلص ، بعدها تم اخذ وزن (1 غم) من المستخلص الجاف وأكمل الحجم إلى 10 سم^{٣} ماء مقطر وبذلك تم الحصول على محلول أصلي Stock solution تركيزه 100000 ppm إذ مزج بواسطة دورق حجمي بعد إغلاقه أو بوساطة الخلاط المغناطيسي لمدة 15 دقيقة لحين الذوبان الكامل للمستخلص .

تشخيص المركبات المعزولة

قياس درجة الانصهار : استعمل جهاز Gallenkamp Melting Point Apparatusلقياس درجة الانصهار للمركب المعزول إذ وضعت كمية قليلة من المركب المراد قياس درجة انصهاره في أنبوب شعري Capillary tube مغلق من احد جانبيه وضغط في داخل الأنبوب جيداً ثم وضع في الجهاز المذكور ومن ثم تم قياس درجة الانصهار للمركب من خلال متابعتها داخل الجهاز لحين حصول انصهار المركب الموضوع في الجهاز المذكور [٢٠] .

مطيافية الأشعة تحت الحمراء : تم دراسة أطياف الأشعة تحت الحمراء للمركب المعزول باستعمال جهاز مطياف الأشعة تحت الحمراء نوع Pye unicam sp 3-300 infra red spectrophotometer من شركة Philips إذ شخصت المركبات بعد مزجها بقرص من بروميد البوتاسيوم (KBr) إذ تم اخذ وزن ٠.١ ملغم من المركب المعزول مع كمية من بروميد البوتاسيوم وتم وضعها داخل الجهاز وملاحظة تكون الانحناءات Charts على ورق الجهاز البياني المخطط [٢٠] .

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية :تم قياس طيف قلويد النيكوتين ضمن طول موجي ٢١٠ – ٥١٠ نانوميتر وذلك بإذابة ٥ ملغرام من المركب في ١٠ مل من الكحول الاثيلي ٩٦% [٢٠][٢١] .

كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة :تم الكشف عن وجود النيكوتين باستخدام تقنية TLC ، إذ استعملت صفائح زجاجية ٢٠ X٣ سم مطلية بمادة

Silica gel نوع ٦٠ Merck F_{254} بسمك ٠.٢٥ ملم ، الصفائح تمثل الطور الثابت حيث تم وضع النموذج بعد إذابته بالكحول المثيلي بواسطة أنابيب شعرية وتم وضع الصفيحة في حوض زجاجي Jar حاوي على المذيب : Methanol : Acetic acid (60 : 10: 1) Chloroform : على التوالي .

وتم فحص الصفيحة بطيف الأشعة فوق البنفسجية على طول موجي ٢٥٤ نانوميتر وتم حساب R_f وتم رش الصفيحة بكاشف دراجندورف والذي اظهر البقعة بلون اصفر مائل للبني وتم مقارنة البقعة المفصولة مع القيمة القياسية للنيكوتين [١٩][٢٠][٢١] .

التحليل الإحصائي :أتبع نظام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D.) في تنفيذ التجارب ، ثم تبع ذلك تحليل التباين Analysis Of Variance (ANOVA) ، تبعه بعد ذلك أختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D.) للتأكد من معنوية الفروقات بين معدلات المعاملات المختلفة [٢٢] .

النتائج والمناقشة

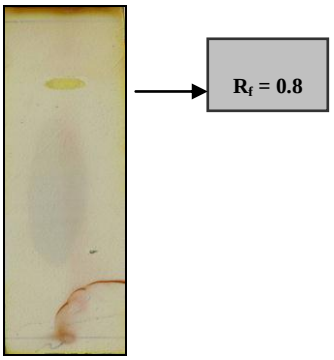
تشخيص البكتريا:شخصت هذه العزلات بواسطة العديد من الاختبارات وباستخدام الأوساط الزرعية لملاحظة شكل النمو والصفات التمييزية وقد صنفت إلى المجاميع التصنيفية حسب تصنيف Bergeys manual وتعود إلى ثلاثة مجاميع رئيسية حسب التصنيف العالمي للبكتيريا [١٤] .

جدول (١) نتائج الاختبارات الكيمو حيوية للعزلات البكتيرية المرضية

Isolates bacteria	Gram stain	Catalase	Oxidase	I	M	V	C	Urease	Gelatin	Nitrate reduction
Staphylococcus	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Pseudomonas	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
E. coli	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+

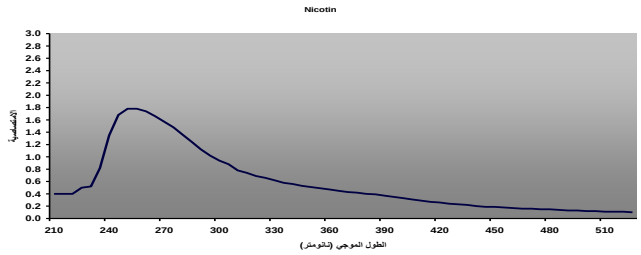
تشخيص وتنقية مركب النيكوتين

لقد تطابقت تقنية الطبقة الرقيقة TLC لمركب Nicotine مع القيمة القياسية حيث كانت R_f 0.8 = وعند تعريض البقعة الناتجة للأشعة فوق البنفسجية أظهرت تفلوراً اصفر اللون ، وكذلك تم رش الصفيحة بكاشف دراجندورف فأظهرت بقعة صفراء اللون مائلة إلى اللون البني الفاتح [٢٣] شكل (٢) .



شكل (٢) يمثل R_f لمركب Nicotine.

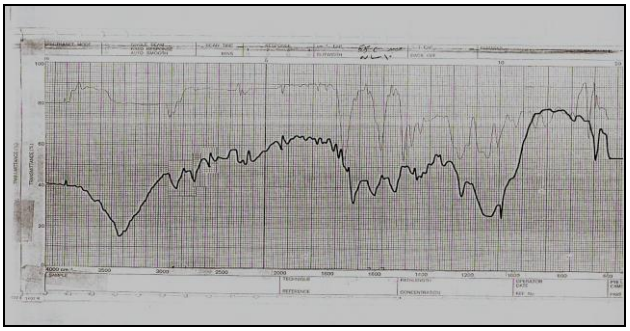
أما تنقيته فقد تمت بهيئة بلورات بنية إلى قهوائية اللون ويبلغ الوزن الجزيئي للنيكوتين ١٦٢.٢٣ وكانت درجة انصهاره(٢٤٧ م^{o}) ويتصف بسرعة ذوبانه في الماء والكحول . أما بالنسبة للأشعة فوق البنفسجية لمركب Nicotine فانه يتطابق مع الطول الموجي لقمة الامتصاص الأعظم (λ Max) للمركب مع طيف الأشعة للمركب القياسي ، والتي ظهرت عند الطول الموجي (254) نانوميتر وأظهرت قيمة امتصاص عظمى (λ Max) وقيمتها (١.٨) شكل (٣) .



شكل (٣) توضح U.V. لمركب Nicotine

أما الأشعة تحت الحمراء IR وهي من الطرق المعتمدة في تشخيص المركبات العضوية الفعالة للاستدلال على نقاوتها من خلال مواقع الحزم وقممها ، أما امتصاص أطياف الأشعة تحت الحمراء الممتصة من Nicotine فقد كانت ترددات الاهتزاز لأهم المجاميع الفعالة في المركب يتطابق مع IR للمركب القياسي Nicotine حيث ظهر في ٢٩٠٠ حزمة قوية تدل على التآصر الهيدروجيني الضمني بين مجموعتي الهيدروكسيل والكاربونيل وظهرت أيضا حزمة ضعيفة بين

٢٨٧٠-٢٩٧٠ -٣١٠٠ للآصرة (C-H) الاروماتية وظهرت حزمة أخرى بين ١٦٥٠-١٧٠٠ قوية وحادة لمجموعة الكاربونيل (C=H) ، وحزمة أخرى بين ١٥٩٥-١٦١٠ متوسطة حادة وهي (C=C) الاروماتية ، كما ظهرت حزمة أخرى قوية وحادة للـ (C-N) بين ١٠٤٠-١١٣٠ وأخرى ١٦٧٥ قوية وحادة تردد الانحناء لمجموعة C=N [٢٠][٢٤][٢٥] . كما في الشكل (٤) .



شكل (٤) توضح IR لمركب Nicotine

الفعالية الحيوية لمركب النيكوتين ضد البكتيريا

اظهر المركب فروق معنوية وفعالية حيوية جيدة ضد العزلات البكتيرية ، إذ لوحظ أن المركب له تأثير مثبط ولكل التراكيز ، ومن خلال الدراسة الحيوية لوحظ أن التركيز ١ ملغم/مل مثبط لجميع العزلات سواء كانت موجبة او سالبة لصبغة كرام ، وبالمقارنة مع التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لأوراق التبغ نلاحظ أن التركيز الأدنى غير مثبط لكل العزلات البكتيرية ، ومن خلال النتائج لوحظ إن المركب أعطى أعلى تثبيط ضد *Pseudomonas* ففي التركيز الأعلى كان قطر التثبيط ٢٥ملم و ٢٠ملم للـ *E. coli* و ١٤ ملم للـ *St. aureus* كما في جدول (٢) .

جدول (2) يبين أقطار تثبيط النمو للبكتريا المدروسة لمركب النيكوتين والمستخلص المائي لأوراق التبغ

التركيز mg/ml	المستخلص المائي لنبات التبغ			مركب النيكوتين		
	Pseud.	*Staph.*	*E. coli*	*Pseud.*	*Staph.*	*E. coli*
1	*0 ± 0**	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0.816	2 ± 0.707	2 ± 0.001
10	7 ± 0.408	1 ± 0.001	2 ± 0.408	11 ± 0.816	5 ± 0.707	5 ± 0.408
25	15 ± 0.408	4 ± 0.408	6 ± 0.408	21 ± 1.08	10 ± 0.408	10 ± 0.408
50	24 ± 0.01	8 ± 0.816	10 ± 0.707	25 ± 0.41	14 ± 1.414	20 ± 0.01

* : النتائج وهي معدل لثلاث مكررات ** : تمثل الخطأ القياسي SE

جدول (3) قيم تحليل التباين ANOVA مع قيم L.S.D.

العوامل	*Pseud.*			*Staph.*			*E. coli*		
	قيمة F	الاحتمالية	قيمة L.S.D. P≤ 0.05	قيمة F	الاحتمالية	قيمة L.S.D. P≤ 0.05	قيمة F	الاحتمالية	قيمة L.S.D. P≤ 0.05
المستخلص المائي	75	‹ 0.001	0.894	81	‹ 0.001	1.032	309.43	‹ 0.001	0.557
التراكيز	522.11	‹ 0.001	1.264	78.67	‹ 0.001	1.459	517.43	‹ 0.001	0.788
التداخل بين المستخلص والتراكيز	5.67	0.004	1.787	3.67	0.026	2.064	44.29	‹ 0.001	1.115

ومن هنا تأتي أهمية المركب في كونه يثبط نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، إن فعاليته تعود إلى كونه مركب قلويدي والقلويدات معروفة بسميتها العالية[٥] . أو ربما يعود إلى عدم قدرة غشاء البكتيريا لمنع دخول المستخلص إلى داخل البكتيريا وتثبيط فعاليتها بما يحويه المستخلص من مواد مثبطة .

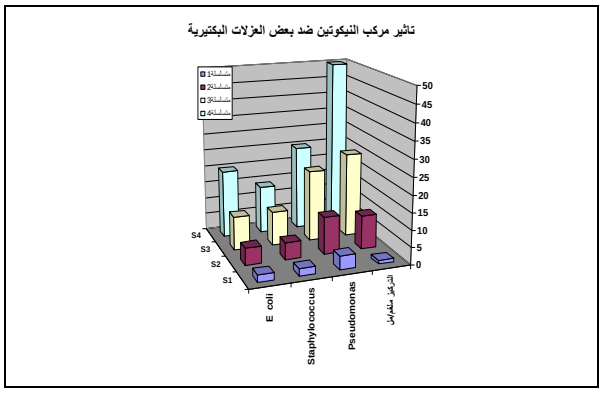
تم الحصول على المستخلص المائي لأوراق التبغ وقد حضر بتركيز ١٠٠ملغم/مل ومنه حضرت بقية التراكيز والتي تمثلت بـ ١ ملغم امل ، ١٠ملغم امل ، ٢٥ ملغم امل ، ٥٠ ملغم / مل وبصورة عامة فان الفعالية ضد البكتيرية للمستخلص اعتمدت على نوع الكائن المجهري ، نوع المستخلص ومقدار التركيز المستخدم .

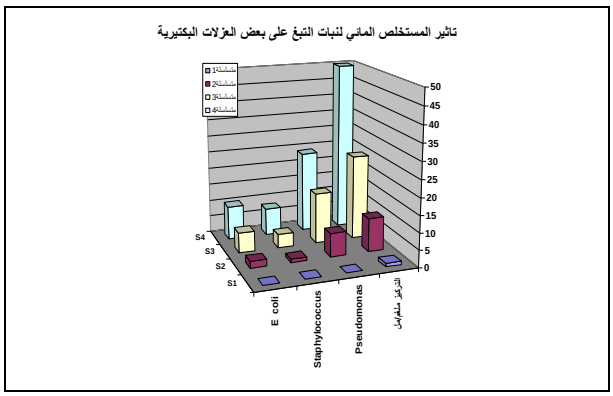
لوحظ من خلال النتائج إن المستخلص المائي أعطى تأثيرا تثبيطيا جيدا ضد البكتيريا المعزولة وخاصة السالبة لصبغة كرام منها إذ أعطى أعلى تثبيط ضد *Pseudomonas*. ففي التركيز الأعلى كان قطر التثبيط ٢٤ ملمتر ، ١٥ملمتر في التركيز ٢٥ملغم امل و ٧ملمتر في

التركيز ١٠ملغم /مل كما في جدول (٢) ، ولقد ثبت من خلال الدراسة بان المستخلص المائي ذو فعالية جيدة وان قدرة المستخلص المائي على التأثير الحيوي تعود إلى وجود المركبات القلويدية والتي تمتلك فعالية ضد الميكروبات [٥] .

صورة (١) التأثير التثبيطي للمستخلص المائي للتبغ ضد بكتيريا(١) ***E. coli*** (٢)، ***Pseudomonas***

صورة (٢)التأثير التثبيطي لمركب النيكوتين ضد بكتيريا ***Pseudomonas***





المصادر

[1] قريشي ، م. سعيد . (١٩٩٠) . المكافحة الكيميوحيوية وتأثيراتها على الاقتصاد والبيئة والانتخاب الطبيعي . (ترجمة) هاني جهاد العطار . مطبعة جامعة الموصل . ٣٦٣ صفحة .

[2] درويش ، مصطفى. (١٩٨٤). موجز علم العقاقير الطبية لطلاب معاهد المهن الصحية العالمية في العراق . المكتبة الوطنية . بغداد.

[3] خليل ، ياسين .(١٩٧٩). الطب والصيدلة عند العرب . مطبعة جامعة بغداد .

[4] الشحات ، نصر أبو زيد .(٢٠٠٠). النباتات والأعشاب الطبية . الدار البحار للنشر والتوزيع . بيروت.

[5] Mansk, R.H.F, .(1950). The alkaloids chemistry and physiology . vol . 1. Academic press , New york . Ine . p. 1950-1955.

[6] Chakravarty , H. L. (1976) . Plant wealth of Iraq . Adictionary of economic plants . Vol. 1 . Goverment press , Baghdad . ٥٠٠ PP .

[7] مجلة طب ودواء . (٢٠٠٠) . العدد الثامن جريدة العرب.

الدولية (الشرق الأوسط) .(٢٠٠٦) .إجازة دواء مبتكر لإيقاف التدخين

[8]. العدد ١٠١٣١ .

[9] الجبوري ، محيميد مداللة (١٩٩٠) البكتيريا الطبية . مطابع التعليم العالي . جامعة الموصل . العراق .

[10] الطالب ، هشام احمد . السخن ، صاحب نظمي ، علي عزام (١٩٨٣) ، علم الجراثيم ، الطبعة العاشرة ، جامعة الموصل .

[11] Jawetz ,M.D.;Melinich ,J.L. and Adelberg ,E.A.(1995). Medical Microbiology . 12thed . Prentice-Hall.U.S.A.

[12] Bodey,G.B.(1983).Infections coused by Pseudomonas aeruginosa .Rev. Infaction Disease, 5:279-287.

[13] Baron ,E.J; and Finegold, S.M. and Baily Scott .(1990). Diagnostic Microbiology ;C.V mosby company Toronto.

[14] Holt ,J.H.,Krieg ,N.R.sneath,P.H.A.,staleg ,J.T.,and Williams,S.T. (1994). Bergeys manual of determinative bacteriology9th .ed U.S.A.

[15] جادالله . نزار فؤاد ، العزام عقاب ، الشاعر .عبد المجيد ، المنسي عرسان .(١٩٩٤). الأحياء الدقيقة العملية . سلسلة الطرائق الأساسية ، عمان .

[16] السامرائي،خلود وهيب عبود .(١٩٨٣). توزيع القلويدات وأهميتها التصنيفية في بعض الأنواع البرية من العائلة الباذنجانية Solanceae في العراق . رسالة ماجستير. كلية العلوم / جامعة بغداد .١٥٧ صفحة.

[17] Wagner, Roland ; Feth , Friedhelm and Wagner , Karl G. (1986). The regulation of enzyme activities of the nicotine pathway in tobacco. Physiologia Plantarum 68 (4) , 667–672 . [18] Egorov,N.S.(1985)Antibiotics scientific approach mir publisher ,Moscow.

[19] Harborne , J. B. (1973) . Phytochemical methods . Halsted press . John wiely & Sons , New York . 278 PP .

[20] Friedhelm, Feth and Karl , G. Wagner. (1989). Identification and purification of nicotine in tobacco tissue by high-performance liquid chromatography , NMR ., IR , mass spectrometry, CC . Physiologia Plantarum 75:1, 71–74

[21] Steven, J. Sinclair ; Richard , Johnson and John, D. Hamill. (2004). Analysis of activities compound in Nicotiana species with contrasting alkaloid profiles . Functional Plant Biology 31:7, 721.

[22] Little , T. M. and Hills. F. J. (1972): Statistical Methods in agricultural research. Agricultural extension. University of California.

[23] Stahl , R. (1969) . Thin layer Chromatography alaboratory handbook , ed. Trnslated by Ashworth , M. R. , Springer , Verlag . Berlin .

[24] روبرت ، بكسوك : شيلدز ، دونالد ومكوليام ، ايان . (١٩٨٨) . الطرائق الحديثة للتحليل الكيميائي . الطبعة الأولى – الدار العربية . بغداد .

[25] Jose M. Garrigues, Amparo Pérez-Ponce, Salvador Garrigues and Miguel de la Guardia.(2007). Flow injection Fourier transform infrared determination of nicotine in tobacco. Interdisciplinary detection science .

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2009 ,(3), (3) :58-65

ISOLATE AND PURIFY THE DIAGNOSIS AND COMPLEX STUDY OF NICOTINE AND ITS IMPACT AND WATER EXTRACTS OF THE TOBACCO PLANT TO SOME SPECIES OF BACTERIAL PATHOGENICITY

THAER A. ALALOOSI ANMAR N. ALALOOSI ABRAHEEM J.AL-KARBOLI

E.mail: *scianb@yahoo.com*

ABSTRACT

Extraction and purification were Nicotine alkaloid from leaves of tobacco plant Nicotiana tobacum medical use of some of the ways in diagnostic spectral IR, UV , TLC, Melting point and examined some of the chemical study of the impact of their effectiveness have been against some bacteria, the specter of disease and measure the inhibition of the effectiveness of this compound in addition to the abstract knowledge of the influence of the tobacco plant to the water, the results showed the superiority of Nicotine alkaloid extracted water to plant tobacco, and all concentrated on all types of bacteria . Gave the highest composite zone to discourage the amount of 25 mm to focus 50 mg / ml of Pseudomonas bacteria, while the less zone to discourage the concentration 1 mg / ml and 2 mm of the bacteria Staphylococcus and E. coli.