Al-imad Journal of Humanities and Applied Sciences (AJHAS)
مجلة العماد للعلوم الإنسانية والتطبيقية
ISSN: 3106-0323
Volume 1 – Issue 2 – 2025
Pages 38-46

A Biochemical Study on the Effect of Alcoholic and Aqueous Extracts of Plantago ovata Leaves in Inhibiting the Growth of Antibiotic-Resistant Bacteria

Rabiaa Abuazoum Ali Khalil[1]*, Ilyas Amer Said Salem [2], Mohamed Omar Abdalla Salem [3]
[1,2] Department of Chemistry, Faculty of Education, Bani Waleed University, Libya
[3] Department of Biology, Faculty of Education, Bani Waleed University, Libya
*Corresponding author: rabiaaa231@gmail.com

دراسة كيميائية حيوية لتأثير المستخلصات الكحولية والمائية من أوراق نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*) في تثبيط نمو البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية

ربيعة أبو عزوم علي خليل [1]*، إلياس عامر سعيد سالم [2]، محمد عمر عبد الله سالم [3]
[2،1] قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة بني وليد، ليبيا
[3] قسم الأحياء، كلية التربية، جامعة بني وليد، بني وليد، ليبيا

Received: 11-10-2025; Accepted: 10-12-2025; Published: 27-12-2025

Abstract:
This study evaluated the antimicrobial efficacy of Plantago ovata leaves against multidrug-resistant bacterial strains, specifically *S. aureus* (MRSA) and *E. coli*. A comparative analysis was conducted between aqueous and alcoholic (70% ethanol) extraction efficiencies. The results revealed a qualitative superiority of the alcoholic extract in recovering phenolic compounds and iridoid glycosides (Aucubin and Catalpol). The alcoholic extract achieved a maximum inhibition zone of 22 mm against S. aureus, with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 31.25 µg/mL. The study concludes that the synergistic effect of phytochemical constituents works by destabilizing the bacterial cell membrane and inhibiting DNA replication enzymes, offering promising prospects for developing natural adjunct therapies to conventional antibiotics.

Keywords: Plantago ovata, Antimicrobial Resistance (AMR), Phytochemicals, Aucubin, Alcoholic Extract, Microbial Inhibition.

الملخص
تناولت هذه الدراسة تقييم الفعالية المضادة للميكروبات لأوراق نبات *Plantago ovata* ضد سلالات بكتيرية ذات مقاومة متعددة للعقاقير، وهي *S. aureus (MRSA)* و *E. coli*. تم إجراء مقارنة تحليلية بين كفاءة الاستخلاص المائي والكحولي (إيثانول 70%). أظهرت النتائج تفوقاً نوعياً للمستخلص الكحولي في استخلاص المركبات الفينولية والجليكوسيدات الإيريدويدية (الأوكوبين والكاتالبول). سجل المستخلص الكحولي أعلى منطقة تثبيط بلغت 22 ملم ضد بكتيريا *S. aureus* بتركيز مثبط أدنى (*MIC*) قدره 31.25 *µg/mL*. تخلص الدراسة إلى أن التأثير التآزري للمكونات النباتية يعمل على زعزعة استقرار الغشاء الخلوي البكتيري وتثبيط إنزيمات التضاعف الجيني، مما يفتح آفاقاً لتطوير علاجات طبيعية مكملة للمضادات الحيوية التقليدية.

الكلمات المفتاحية: لسان الحمل، المقاومة البكتيرية، الكيماويات النباتية، الأوكوبين، المستخلص الكحولي، التثبيط الميكروبي.

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. المقدمة

1.1 معضلة المقاومة البكتيرية: تحدي القرن الحادي والعشرين

تعتبر مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية (Antimicrobial Resistance - AMR) واحدة من أكثر الأزمات الصحية تعقيداً في العصر الحديث، حيث وصفتها منظمة الصحة العالمية بأنها "الوباء الصامت" الذي يهدد بتقويض أركان الطب الحديث. إن نشوء سلالات بكتيرية ذات مقاومة متعددة للعقاقير (Multidrug-Resistant Bacteria) لم يعد مجرد ظاهرة مخبرية، بل تحول إلى واقع سريري مرير يؤدي إلى زيادة معدلات الوفيات وإطالة فترة الاستشفاء وتفاقم التكاليف الاقتصادية (Cowan, 1999).

تعتمد البكتيريا في صراعها من أجل البقاء على ترسانة من الآليات الدفاعية الجزيئية التي طورتها عبر الانتقاء الطبيعي أو اكتساب الجينات عبر الانتقال الأفقي (Horizontal Gene Transfer). من أبرز هذه الآليات إنتاج إنزيمات "البيتا-لاكتاماز" (β-lactamases) التي تعمل على تحطيم حلقة اللاكتام في مضادات حيوية شهيرة مثل البنسلين والسيفالوسبورينات، مما يفقدها القدرة على الارتباط بهدفها الحيوي. علاوة على ذلك، تلجأ البكتيريا إلى تعديل نفاذية أغشيتها الخلوية عبر تقليل التعبير عن بروتينات "البورينات" (Porins) أو تنشيط "مضخات التدفق" (Efflux Pumps) التي تعمل كمحركات جزيئية لطرد العقاقير خارج الخلية قبل وصولها إلى التركيز القاتل(Salem, 2024) .

1.2 العودة إلى الطبيعة: الكيماويات النباتية كبدائل استراتيجية

أمام هذا التراجع في كفاءة الترسانة الدوائية الكيميائية، أعاد العلماء توجيه البوصلة نحو "الكيمياء النباتية" (Phytochemistry). تمتلك النباتات ميزة تطورية فريدة؛ فهي كائنات ثابتة لا تملك القدرة على الهروب من الميكروبات، لذا طورت "جهازاً مناعياً كيميائياً" يتكون من آلاف المركبات الأيضية الثانوية (Secondary Metabolites).

تتميز الكيماويات النباتية (Phytochemicals) بأنها مركبات "متعددة الأهداف" (Multi-target compounds). فبينما يستهدف المضاد الحيوي التقليدي موقعاً واحداً (مثل الجدار الخلوي أو ريبوسوم معين)، يعمل المستخلص النباتي الخام عبر ميكانيكيات متآزرة تشمل تدمير استقرار الغشاء، وتثبيط الإنزيمات الحيوية، وتعطيل التواصل البكتيري (Quorum Sensing). هذا التعدد في الأهداف يجعل من الصعب جداً على البكتيريا تطوير مقاومة فعالة ضد المستخلصات النباتية مقارنة بالعلاجات أحادية الهدف .Taştan, & Salem, (2021).

1.3 نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*): المنجم الكيميائي المهمل

ينتمي نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*) إلى العائلة الحملية (*Plantaginaceae*)، وهو نبات ذو أهمية طبية وتاريخية بالغة في الطب الشعبي العالمي. على الرغم من أن معظم الدراسات العالمية تركزت على قشور بذور هذا النبات (السيليوم) لفوائدها الهضمية، إلا أن الأوراق تمتلك ميزات كيميائية حيوية تجعلها مرشحاً استثنائياً في مجال مكافحة الميكروبات.

تحتوي أوراق *Plantago ovata* على مجموعات كيميائية معقدة تشمل:

1. **الجليكوسيدات الإيريدويدية (Iridoid Glycosides):** وأهمها مركبا "الأوكوبين" (Aucubin) و"الكاتالبول" (Catalpol). هذه المركبات تمتلك خواصاً مضادة للالتهابات وقاتلة للبكتيريا عبر التدخل في عمليات التضاعف الجيني للميكروبات (Samuelsen, 2000).
2. **الأحماض الفينولية والفلافونويدات:** مثل حمض الكافيك واللوتيولين، وهي جزيئات عطرية تمتلك مجموعات هيدروكسيل قوية قادرة على إحداث ثقوب مجهرية في الجدران الخلوية البكتيرية.
3. **التانينات (Tannins):** التي تعمل على ترسيب البروتينات الإنزيمية التي تفرزها البكتيريا، مما يعطل قدرتها على استعمار الأنسجة الحيوية.

1.4 ميكانيكية التأثير الجزيئي وتحديات الاستخلاص

إن الفعالية البيولوجية لهذه المركبات لا تعتمد فقط على وجودها، بل على طريقة "تحريرها" من المصفوفة النباتية. تبرز هنا معضلة اختيار المذيب المناسب؛ فالمركبات النباتية تتفاوت في قطبيتها (Polarity). المذيبات القطبية كالماء تستخلص السكريات والمعادن وبعض الأحماض، بينما المذيبات العضوية كالإيثانول والميثانول تمتلك القدرة على اختراق الجدران الخلوية النباتية اللجنينية وتحرير المركبات "شبه

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

القطبية" مثل الفلافونويدات والإيريدويدات التي تعتبر رأس الحربة في النشاط المضاد للميكروبات . (Salem, et al.,2025).
تعتبر العلاقة بين بنية المركب ونشاطه (Structure-Activity Relationship) هي المفتاح لفهم كيف يمكن لمستخلص لسان الحمل أن يثبط سلالات عنيدة مثل *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين (MRSA). فالبنية الكيميائية للإيريدويدات تسمح لها بالارتباط بإنزيمات حيوية مثل " DNA Gyrase" المسؤولة عن فك التفاف الحمض النووي البكتيري، وهو ما يؤدي إلى شلل كامل في قدرة البكتيريا على الانقسام(Soof, et al 2025) .

1.5 مبررات وأهداف الدراسة الحالية

على الرغم من ثراء أوراق لسان الحمل بهذه المركبات، إلا أن هناك فجوة معرفية فيما يتعلق بالمقارنة الدقيقة بين كفاءة الاستخلاص المائي والكحولي ضد السلالات المقاومة تحديداً. تأتي هذه الورقة البحثية لسد هذه الفجوة عبر دراسة كيميائية حيوية تحليلية تستخدم تقنيات قياس دقيقة.

تتمحور أهداف هذه الدراسة حول:

1. إجراء مسح كيميائي نباتي (Phytochemical Screening) للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق *Plantago ovata*.
2. تحديد الفوارق الجوهرية في مناطق التثبيط (Inhibition Zones) والتركيز المثبط الأدنى (MIC) لكل مستخلص ضد سلالات بكتيرية موجبة وسالبة لصبغة جرام.
3. مناقشة ميكانيكيات "التآزر الكيميائي" بين مكونات المستخلص وكيف يمكن استغلالها لتطوير عقاقير طبيعية آمنة وأقل سمية من المضادات الحيوية التقليدية.

إن البحث في هذا الاتجاه لا يخدم فقط الجانب الصحي، بل يساهم في تعظيم الاستفادة من الموارد الطبيعية المحلية، ويدفع باتجاه تطوير كيمياء دوائية "خضراء" ومستدامة قادرة على مواجهة التحديات الميكروبية المستقبلية.

2. المنهجية (Materials and Methods)

2.1 جمع وتصنيف المادة النباتية (Plant Collection and Authentication)

تم جمع أوراق نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*) من مناطق بيئية مختارة لضمان جودة المحتوى الكيميائي. جرى التحقق من الهوية التصنيفية للنبات من قبل مختصين في علم النبات. لضمان سلامة المركبات الأيضية الثانوية الحساسة للحرارة والضوء (مثل الجليكوسيدات الإيريدويدية)، نُظفت الأوراق بعناية بالماء المقطر لإزالة العوالق، ثم جُففت هوائياً في مكان مظلل وجيد التهوية عند درجة حرارة لا تتجاوز 25°C حتى ثبات الوزن. بعد التجفيف، طُحنت الأوراق باستخدام مطحنة كهربائية مختبرية للحصول على مسحوق ناعم بقطر حبيبات متجانس، وحُفظ المسحوق في أوعية زجاجية معتمة ومفرغة من الهواء لمنع التأكسد.

2.2 بروتوكولات الاستخلاص (Extraction Protocols)

2.2.1 الاستخلاص الكحولي المستمر (Soxhlet Extraction)

لتحضير المستخلص الكحولي، استُخدم جهاز "سوكليت" (Soxhlet) لضمان الاستخلاص الكامل للمكونات النشطة. وُضع 50 غراماً من مسحوق الأوراق في كبسولة سلولوزية، واستُخدم الإيثانول بتركيز 70% كمذيب عضوي. تم اختيار هذا التركيز تحديداً لقدرته العالية على اختراق الأنسجة النباتية واستخلاص المركبات ذات القطبية المتوسطة والمرتفعة. استمرت عملية الاستخلاص لمدة 8 ساعات عند درجة غليان المذيب، مما سمح بالتدوير المستمر للمذيب النقي فوق المادة النباتية(Bilen, et al (2020 ..

2.2.2 الاستخلاص المائي (Aqueous Extraction)

تم تحضير المستخلص المائي عبر طريقة النقع الحراري (Infusion)؛ حيث أُضيف الماء المقطر المغلي إلى مسحوق الأوراق بنسبة (1:10 w/v). وُضع الخليط في حمام مائي هزاز (Shaking Water Bath) عند درجة حرارة 80°C لمدة 60 دقيقة. تهدف هذه الطريقة إلى استخلاص السكريات المتعددة، المواد المخاطية، والأحماض الفينولية الذائبة في الماء.

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

2.2.3 التركيز والتجفيف (Concentration and Lyophilization)

رُشحت جميع المستخلصات باستخدام ورق ترشيح (Whatman No. 1). استُخدم المبخر الدوار (Rotary Evaporator) تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة 40°C لإزالة المذيب العضوي، بينما جُمد المستخلص المائي وجُفف بجهاز التجفيد (Freeze-dryer) للحصول على مسحوق جاف فائق النقاوة، حُفظ عند -20°C لحين استخدامه في الاختبارات الحيوية.

2.3 السلالات الميكروبية وظروف المزرعة (Microbial Strains)

شملت الدراسة سلالات بكتيرية معزولة سريرياً ومتميزة بمقاومتها للمضادات الحيوية التقليدية:

1. **بكتيريا موجبة لصبغة جرام:** *Staphylococcus aureus* المقاومة للميثيسيلين (MRSA)، وهي سلالة معروفة بتعقيد جدارها الخلوي وقدرتها على إنتاج إنزيمات محللة للعقاقير.
2. بكتيريا سالبة لصبغة جرام: Escherichia coli، والتي تمتلك غشاءً خارجياً مزدوجاً يشكل عائقاً أمام نفاذ العديد من المواد الكيميائية.

تم تنشيط السلالات في مرق المغذيات (Nutrient Broth) عند 37°C لمدة 24 ساعة، وضُبطت الكثافة الميكروبية لتطابق معيار (McFarland 0.5)، وهو ما يعادل تقريباً 1.5×10^8 وحدة تشكيل مستعمرة/مل (CFU/mL).

2.4 تقييم النشاط المضاد للبكتيريا (Antibacterial Assays)

2.4.1 اختبار انتشار الأقراص (Disk Diffusion Assay)

وُزعت المزارع البكتيرية بانتظام على أطباق أجار "مولر هينتون" (Mueller-Hinton Agar). وُضعت أقراص ورقية معقمة (قطر 6 ملم) مشبعة بتركيزات محددة من المستخلصات (المائية والكحولية). استُخدمت أقراص مضادات حيوية قياسية (مثل الفانكومايسين والسيبروفلوكساسين) كعناصر تحكم إيجابية، بينما استُخدم المذيب النقي (إيثانول أو ماء) كعنصر تحكم سلبي. بعد الحضن لمدة 24 ساعة عند 37°C، تم قياس أقطار مناطق التثبيط (Inhibition Zones) بدقة مليمترية.

2.4.2 تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC)

لتقدير الكفاءة الجزيئية الدقيقة، استُخدمت طريقة التخفيف المتسلسل (Microdilution method) في أطباق معايرة دقيقة (96-well plates). تم تحضير سلسلة من التخفيضات المتضاعفة للمستخلصات في مرق مولر هينتون. أُضيف المعلق البكتيري لكل حفرة، وبعد فترة الحضن، تم تحديد أقل تركيز للمستخلص يمنع تماماً النمو الظاهري للبكتيريا (العكارة). أُجريت جميع التجارب في ثلاث مكررات لضمان الدقة الإحصائية وحساب الانحراف المعياري.

3. النتائج (Results)

3.1 التوصيف الكيميائي النوعي والمسح النباتي (Phytochemical Screening)

كشف المسح الكيميائي النوعي لمستخلصات أوراق نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*) عن تباين جوهري في طبيعة وتركيز المركبات الأيضية الثانوية، وهو ما يعكس بشكل مباشر تأثير قطبية المذيب (Solvent Polarity) على كفاءة عملية الاستخلاص.

أظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي (الإيثانول 70%) كان الأكثر شمولاً في استخلاص الفصائل الكيميائية النشطة بيولوجياً. فبفضل معامل العزل الكهربائي للإيثانول وقدرته على اختراق المسام الخلوية النباتية، تم رصد وفرة عالية جداً من الفينولات الكلية والفلافونويدات، وهي مركبات تلعب دوراً محورياً في زعزعة استقرار الأغشية الميكروبية. كما سجل المستخلص الكحولي تفوقاً في استخلاص الجليكوسيدات الإيريدويدية (مثل الأوكوبين والكاتالبول)، بينما غابت التربينات تماماً عن المستخلص المائي نظراً لطبيعتها الكارهة للماء (Hydrophobic).

في المقابل، برز المستخلص المائي بوفرة استثنائية في المواد المخاطية (Mucilage)، وهي كربوهيدرات معقدة ذات وزن جزيئي عالٍ، تمتلك خصائص غروية وقدرة على الارتباط بالماء، إلا أن فاعليتها المضادة للبكتيريا تظل محدودة مقارنة بالفينولات.(Salem, & Lakwani, (2024 .

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

جدول (1): المحتوى الكيميائي الحيوي لمستخلصات أوراق *Plantago ovata*

المجموعة الكيميائية	المستخلص الكحولي (إيثانول 70%)	المستخلص المائي	الدلالة الكيميائية الحيوية
الفينولات الكلية	+++	++	اقتناص الجذور الحرة وتخثير بروتين البكتيريا
الفلافونويدات	+++	+	تثبيط إنزيمات الأيض البكتيري
الجليكوسيدات الإيريدويدية	+++	++	كسر شيفرة التضاعف الجيني (DNA)
المواد المخاطية (Mucilage)	+	+++	حماية الأنسجة وتكوين طبقات غروية
التربينات	++	-	اختراق الغشاء الدهني للسلالات المقاومة

3.2 تقييم النشاط التثبيطي ضد السلالات المقاومة (Antibacterial Efficacy)

أظهرت الاختبارات الميكروبيولوجية تفوقاً معنوياً ($P < 0.05$) للمستخلص الكحولي في تثبيط نمو السلالات البكتيرية المختبرة مقارنة بالمستخلص المائي، مما يؤكد أن المركبات الأكثر فاعلية ضد المقاومة البكتيرية هي تلك التي تذوب في المذيبات العضوية القطبية.

3.2.1 مناطق التثبيط (Inhibition Zones)

عند اختبار المستخلص الكحولي بتركيز معياري، سجلت سلالة *Staphylococcus aureus* (MRSA) أعلى استجابة بقطر تثبيط بلغ 22 ± 1.2 ملم. وتعد هذه القيمة مؤشراً قوياً على حساسية هذه البكتيريا الموجبة لصبغة جرام للمركبات الفينولية والإيريدويدية الموجودة في أوراق لسان الحمل. أما سلالة *Escherichia coli*، فقد سجلت قطر تثبيط قدره 18 ± 1.5 ملم، وهو ما يعتبر نتيجة استثنائية بالنظر إلى الطبيعة المعقدة للغشاء الخارجي لهذه البكتيريا السالبة لصبغة جرام، والذي يعمل عادةً كحاجز منيع ضد الأدوية التقليدية.

3.2.2 التركيز المثبط الأدنى (MIC)

أكدت نتائج MIC الكفاءة الجزيئية للمستخلص الكحولي؛ حيث سجلت قيمته 31.25 µg/mL ضد *S. aureus*. هذا التركيز المنخفض يشير إلى قوة تثبيطية تضاهي بعض المضادات الحيوية التجارية. وفي المقابل، تطلبت سلالة *E. coli* تركيزاً أعلى (62.5 µg/mL) لتحقيق التثبيط الكامل، وهو ما يفسر حاجتها لميكانيكية اختراق أكثر تعقيداً.

أما المستخلص المائي، فقد أظهر قيم MIC مرتفعة وصلت إلى 250 µg/mL ضد *E. coli*، مما يعكس ضعف قدرة المكونات المائية (مثل المواد المخاطية) على التداخل المباشر مع المسارات الحيوية العميقة للبكتيريا مقارنة بالمستخلص الكحولي.

جدول (2): البيانات التحليلية لنشاط المستخلصات ضد السلالات المقاومة

السلالة البكتيرية المختبرة	قطر التثبيط (كحولي) ملم	MIC (كحولي) µg/mL	قطر التثبيط (مائي) ملم	MIC (مائي) µg/mL
***S. aureus* (MRSA)**	22 ± 1.2	31.25	14 ± 0.9	125
E. coli	18 ± 1.5	62.5	11 ± 0.7	250

3.3 التحليل الإحصائي والعلاقة الارتباطية

أظهر التحليل الإحصائي وجود ارتباط طردي قوي بين تركيز المركبات الفلافونويدية المحددة بواسطة HPLC (بيانات غير مدرجة) وقطر منطقة التثبيط. وتشير النتائج إلى أن التآزر بين مركب "الأوكوبين" والفينولات في المستخلص الكحولي يعمل كـ "معدل للمقاومة" (Resistance Modifier)، مما يسمح بخرق الدفاعات البكتيرية بتركيزات ضئيلة جداً. وتؤكد هذه البيانات الجدوى العلمية لاستغلال أوراق

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Plantago ovata كركيزة لتطوير عقاقير طبيعية تستهدف البكتيريا التي فشلت المضادات الحيوية التقليدية في السيطرة عليها.

4. المناقشة (Discussion)

4.1 التحليل الجزيئي لميكانيكية عمل المستخلصات

تُعزى الفعالية التثبيطية الاستثنائية لمستخلص أوراق *Plantago ovata*، وخاصة المستخلص الكحولي، إلى التآزر الكيميائي الحيوي بين مجموعات متنوعة من الأيضات الثانوية. الميكانيكية الجزيئية هنا لا تعتمد على هدف واحد، بل هي هجوم متعدد الجبهات يستهدف المكونات البنيوية والوظيفية للخلية البكتيرية.

أ. تدمير سلامة الغشاء الخلوي (Membrane Disruption)

تمتلك المركبات الفينولية والفلافونويدات الموجودة بوفرة في المستخلص الكحولي مجموعات هيدروكسيل (OH-) نشطة. كيميائياً، ترتبط هذه المجموعات بالبروتينات الهيكلية والفسفوليبيدات المكونة للغشاء السيتوبلازمي عبر روابط هيدروجينية وتفاعلات كارهة للماء. هذا الارتباط يؤدي إلى:

1. **زيادة النفاذية:** حدوث تغييرات فراغية في البروتينات الغشائية، مما يخلق قنوات غير طبيعية تؤدي إلى فقدان السيطرة الأسموزية.
2. **تسرب المكونات الحيوية:** خروج الأيونات الهامة مثل البوتاسيوم (K^+) والبروتينات والأحماض النووية، وهو ما يفسر قيم MIC المنخفضة (31.25 µg/mL) ضد بكتيريا *S. aureus*.

ب. تثبيط إنزيمات التضاعف (Enzymatic Inhibition)

يعتبر مركب "الأوكوبين" (Aucubin) وزميله "الكاتالبول" (Catalpol) من الجليكوسيدات الإيريدويدية الفريدة في لسان الحمل. تشير الدراسات الكيميائية الحيوية إلى أن هذه المركبات قادرة على اختراق سيتوبلازم البكتيريا والارتباط بإنزيم DNA Gyrase. هذا الإنزيم هو المسؤول عن فك التفاف الحمض النووي أثناء عملية التضاعف.(Salem, & Salem, (2025 . وبمجرد تثبيط هذا الإنزيم، يتوقف الانقسام الخلوي تماماً، مما يحول التأثير من مجرد تثبيط للنمو (Bacteriostatic) إلى قتل بكتيري (Bactericidal).

4.2 تفسير التباين في الحساسية بين السلالات

أظهرت النتائج أن بكتيريا *S. aureus* (الموجبة لصبغة جرام) كانت أكثر حساسية للمستخلصات مقارنة بـ *E. coli* (السالبة لصبغة جرام). هذا التباين يعود كيميائياً إلى بنية الجدار الخلوي:

البكتيريا الموجبة لصبغة جرام: تمتلك طبقة سميكة من الببتيدوجليكان لكنها تفتقر إلى غشاء خارجي واقٍ، مما يسهل نفاذ الفينولات مباشرة إلى الغشاء السيتوبلازمي.

البكتيريا السالبة لصبغة جرام (*E. coli*): تمتلك غشاءً خارجياً غنياً بالسكريات الدهنية (Lipopolysaccharides) التي تعمل كحاجز كيميائي يمنع دخول الجزيئات المحبة للدهون. ومع ذلك، فإن نجاح المستخلص الكحولي في تحقيق منطقة تثبيط 18 ملم يشير إلى أن التربينات والفلافونويدات الموجودة فيه تمتلك القدرة على إذابة هذا الغشاء الخارجي أو المرور عبر بروتينات "البورينات".

4.3 المقارنة النقدية مع الدراسات السابقة (Comparative Analysis)

تؤكد نتائجنا ما توصل إليه Cowan (1999) من أن المذيبات العضوية (مثل الإيثانول والميثانول) هي الأكثر كفاءة في استخلاص المواد القاتلة للبكتيريا مقارنة بالماء، نظراً لقدرتها على إذابة الجزيئات الفينولية المعقدة.

أ. الاختلاف والتميز في النتائج:

عند مقارنة هذه الدراسة مع دراسة Samuelsen (2000)، نجد أن دراستنا سجلت فاعلية أعلى ضد سلالات MRSA. يعزو الباحثون هذا الاختلاف إلى "التروار" (Terroir) أو الظروف البيئية والجغرافية التي نبت فيها لسان الحمل المستخدم، حيث أن الإجهاد البيئي قد يحفز النبات على إنتاج تركيزات أعلى من الإيريدويدات كآلية دفاعية.

ب. التوافق مع دراسات التآزر:

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

تتفق نتائج MIC المحققة هنا مع ما طرحه Jayaprakasha et al. (2003) حول أن المستخلصات النباتية الخام غالباً ما تكون أكثر فاعلية من المركبات النقية المنعزلة. هذا التوافق يدعم فرضية "التآزر الكيميائي" (Chemical Synergism)، حيث تقوم الفلافونويدات بتسهيل دخول الإيريدويدات إلى داخل الخلية عبر إضعاف الجدار الخلوي أولاً.

جدول (3): مقارنة نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات المرجعية العالمية

وجه المقارنة	الدراسة الحالية (P. ovata)	دراسة Samuelsen (2000)	دراسة Nassiri-Asl (2009)
أعلى قطر تثبيط	22 ملم (*S. aureus*)	16 ملم (*S. aureus*)	15 ملم (*Bacillus*)
المذيب الأكثر كفاءة	الإيثانول 70%	الميثانول	الإيثانول
المركبات الفعالة الرئيسية	أوكوبين + فلافونويدات	أحماض فينولية	جليكوسيدات متنوعة
أدنى تركيز مثبط MIC	31.25 µg/mL	غير محدد بدقة	100 µg/mL

4.4 الآثار السريرية والتطبيقات المستقبلية

إن قدرة مستخلص لسان الحمل على تثبيط البكتيريا المقاومة بتركيزات منخفضة تفتح الباب أمام استخدامه كـ "معدل للمقاومة" (Resistance Modifier). فبدلاً من البحث عن مضادات حيوية جديدة تماماً، يمكن دمج هذه المستخلصات مع المضادات القديمة (مثل الأموكسيسيلين) لاستعادة فاعليتها عبر تثبيط مضخات التدفق البكتيرية.

علاوة على ذلك، تشير وفرة المواد المخاطية في المستخلص المائي إلى إمكانية استخدامه كـ "حامل دوائي طبيعي" (Natural Drug Carrier) في الجروح المصابة، حيث يوفر وسطاً رطباً يساعد على الالتئام بينما تقوم المكونات الفينولية المنبعثة منه بقتل البكتيريا المقاومة في موقع الإصابة.

5. الاستنتاجات (Conclusions)

بناءً على المعطيات التحليلية والاختبارات الميكروبيولوجية التي أجريت في هذه الدراسة، يمكن استخلاص النتائج الجوهرية التالية:

1. **ثراء المحتوى الكيميائي:** أثبتت أوراق نبات لسان الحمل (*Plantago ovata*) أنها خزان حيوي للمركبات الثانوية النشطة، حيث تفوق المستخلص الكحولي (70%) بشكل ملحوظ في استخلاص الفينولات، الفلافونويدات، والجليكوسيدات الإيريدويدية مقارنة بالمستخلص المائي.
2. **الفاعلية ضد المقاومة البكتيرية:** أظهرت الدراسة أن المستخلص الكحولي يمتلك قدرة تثبيطية فائقة ضد السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية، وخاصة بكتيريا *S. aureus* (MRSA)، مما يجعله مرشحاً قوياً كمضاد ميكروبي طبيعي.
3. **تعدد الآليات الجزيئية:** يعمل المستخلص عبر هجوم متعدد الأهداف يشمل زعزعة استقرار الأغشية البكتيرية وتثبيط الإنزيمات الحيوية، وهو ما يقلل من فرص البكتيريا في تطوير مقاومة مستقبلية ضده.

6. التوصيات (Recommendations)

بناءً على النتائج المتحصل عليها، توصي الدراسة بالآتي:

الدراسات السريرية (In vivo): ضرورة الانتقال من الاختبارات المخبرية (In vitro) إلى النماذج الحية لتقييم السمية الخلوية والتوافر الحيوي للمستخلص داخل جسم الكائن الحي.

تقنيات التوصيل الدوائي: استخدام تقنيات النانو (Nano-encapsulation) لتحميل المستخلصات الكحولية في جسيمات ليفية لتعزيز ثبات المركبات الفعالة وضمان وصولها للأنسجة المصابة بتركيزات دقيقة.

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

التآزر الدوائي: دراسة دمج مستخلصات *Plantago ovata* مع المضادات الحيوية التقليدية التي فقدت فاعليتها (مثل عائلة البيتا-لاكتام) لاستكشاف قدرتها على العمل كمعدلات للمقاومة.

7. المراجع

1. Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D. K., Ray, S. D., Kuszynski, C. A., Joshi, S. S., & Pruess, H. G. (2000). Free radicals and phytochemical antioxidants: Importance in human health and disease prevention. *Toxicology, 148*(2-3), 187–197. https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00210-9
2. Bilen, S., Altief, T. A. S., Özdemir, K. Y., Salem, M. O. A., Terzi, F., & Gunes, U. (2020). Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry, 46*(2), 471–481. https://doi.org/10.1007/s10695-019-00737-z
3. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews, 12*(4), 564–582. https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564
4. Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International, 36*(2), 117–122. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3
5. Kadak, A. E., & Salem, M. O. A. (2025). Antibacterial activity of chitosan, some plant seed extracts and oils against pathogenic organisms *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Alinteri Journal of Agriculture Science, 20*(1), 19–19.
6. Nassiri-Asl, M., & Hosseinzadeh, H. (2009). Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research, 23*(9), 1197–1204. https://doi.org/10.1002/ptr.2729
7. Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Ribeiro, J. P. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of red grape pomace from Brazil. *Food Research International, 44*(4), 897–901. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049
8. Salem, M., & Salem, I. (2025). Antimicrobial polymers: Mechanisms of action and applications in combating antibiotic resistance. *Al-Imad Journal of Humanities and Applied Sciences (AJHAS)*, 12–15.
9. Salem, M. O. A. (2024). Antimicrobial activity of aqueous methanolic extract of lichen (*Usnea barbata*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Libyan Journal of Ecological & Environmental Sciences and Technology, 6*(1), 19–23. https://doi.org/10.63359/j8639d64
10. Salem, M. O. A., Ahmed, G. S., Abuamoud, M. M. M., & Rezgalla, R. Y. M. (2025). Antimicrobial activity of extracts of dandelion (*Taraxacum officinale*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: Mechanisms, modern insights, and therapeutic potential. *Libyan Journal of Medical and Applied Sciences*, 37–40.
11. Salem, M. O. A., & Lakwani, M. A. (2024). Determination of chemical composition and biological activity of flaxseed (*Linum usitatissimum*) essential oil. *Journal of Biometry Studies, 4*(2), 91–96.
12. Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. and *Plantago ovata* Forssk. (syn. *P. ispaghula* Roxb.). *Journal of Ethnopharmacology, 71*(1-2), 1–21. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00212-9
13. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

14. Soof, S. A., Sauf, M. A., Salim, A. A. A., & Salem, M. O. A. (2025). GC-MS quantification of bioactive isothiocyanates in *Sinapis alba* essential oil and validation of rapid bactericidal kinetics against clinically relevant pathogens. *Scientific Journal for Publishing in Health Research and Technology*, *1*(2), 86–93. https://doi.org/10.65420/sjphrt.v1i2.20
15. Taştan, Y., & Salem, M. O. A. (2021). Use of phytochemicals as feed supplements in aquaculture: A review on their effects on growth, immune response, and antioxidant status of finfish. *Journal of Agricultural Production*, *2*(1), 32–43. https://doi.org/10.29329/agripro.2021.344.5
16. Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J., & Li, H. B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, *11*(2), 622–646. https://doi.org/10.3390/ijms11020622

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions, and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of **AJHAS** and/or the editor(s). **AJHAS** and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred to in the content.

 Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).