متوفرة على الموقع: http://www.basra-science-journal.org

ISSN –1817 –2695

عزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجنول Eugenol من الزيت الطيار لنبات القرنفل *Syzygium aromaticum* ودراسة فعاليته الضد بكتيرية

*رشيد رحيم حتيت **كاظم جاسم حمّادي **توفيق محمد محسن

*قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعه ميسان – العراق

**قسم علوم الحياة –كلية التربية – جامعةالبصرة – العراق

الاستلام 4-8-2013 ، القبول 3-12-2013

الخلاصة

تضمنت الدراسه استخلاص الزيت الطيار من نبات القرنفل Sayzygium aromaticum وعزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجينول Eugenol منه, باستخدام بعض التقنيات الكيمائيه الطيفيه منهاكروماتوغرافيا الطبقه الرقيقه Thine Layare Chromatography وطيف الاشعه تحت الحمراء(IR) وطيف النين النووي الغناطيسي (H^1NMR) وجهاز طيف الكتله (GC\Mass) , قيمتالفعاليهالضد بكتيريه تجاه ستة انواع من البكتيرياهي *Acinetobacter Sp,* (*P.mirabilis* , *S.typhi* , *P.aeruginosa* ,(ATCC) *S.aureus* , *E.coli* (25922)) والذي اظهر فعالية ضد بكتيريه عاليه وباقطار تثبيط مختلفه تراوحت بين (41.6-34.6 mm).كما تضمنت الدراسه الحاليه تحديد التركيز الثبط الادنى (MIC) لمركب Eugenol حيث كان اقل تركيز مثبط هو (1.6 µg\ml) تجاه البكتريا(ATCC)*S.aureus* بينما كان اعلى تركيز مثبط هو (6.5 µg\ml) تجاه كل من الانواع البكتيريه(*P.mirabilis* , *S.typhi* , *P.aeruginosa*).كما اختبرت السميه الخلويه للمركب والذي لم يظهر أي سميه عند التراكيز المختبره.

الكلمات المفتاحيه:الزيوت الطياره, القرنفل , اليوجنول, الفعاليه الضد بكتيريه, السميه الخلويه

1.المقدمة

1.1.الزيوت الطيارهوالاهمية الطبية لها.

وهي مركبات توجد كمواد ايضيه في النبات وتتميز هذه الزيوت بانها تتبخر اوتتطاير دون تحللها عند تعرضها للحراره [1].

تسمى بالزيوت الطياره (Voatile oils)او الزيوت الايثريه (Ether oils) او الزيوت الاساسيه (Essential oils) والتسميه الاخيره تعود لكون الزيوت الطياره تمثل العطور (Essences) الموجوده في النبات [2].تتواجد الزيوت الطياره بشكل واسع في المملكهالنباتيه وتستخلص من اجزاء متعدده من النبات كالاوراق مثل نبات اليوكالبتوز او في الازهار مثل الورد او في الثمار مثل الكراويه او قشور الثمار مثل البرتقال وقد تتواجد في جميع اجزاء النبات كما في النعناع . وتتواجد الزيوت الطياره بنسب قليله في النباتات ولكنها تمتلك فعاليهمضاده قويه [3] فقدبلغت النسبهالمئويه للزيت الطيار المعزول من اوراق نبات البطنج في امريكا الشماليه 2.4%[4] وكانت النسبهالمئويه للزيت الطيار المعزول من نبات النعناع في امريكا 1.5%[5].وهذة الزيوت هي عباره عن مزيج معقد من المركبات والمكونات الرئيسيه لها هي التربيناتالاحاديه(Monoterpenes C_{10})والسسكوتيربينات(C_{15}) Sesquiterpens وهي عباره عن هيدروكاربونات صيغتها العامه n (C_5H_8).

وتشير الدراسات الى ان هناك ما يقارب (1000) شكل تركيبي للتربيناتالاحاديه و(3000) شكل تركيبي للسسكوتربينات .تتباين خصائص الزيوت الطيارة بالاعتماد على مكوناتها الكيميائيه والمركبات الداخله في تركيبها ، وهناك توازن بين مكونات الزيت المختلفهوذلك في اغلب النباتات كما ان فعاليتها البايلوجيه تنتج عن التاثير المشترك لكلا المكونات الفعاله وغير الفعالهالداخله في تركيب الزيت حيث ان المكونات غير الفعاله توثر في امتصاص وانتشار وتفاعلات المكونات الفعاله للزيت [6]اذ يتضمن تصنيع الزيوت الطياره داخل الخلايا النباتيه ثلاث مسارارت :**الاول** : تكوين الوحدات البنائيهللتربنويدات (C_5).**الثاني** : ارتباط وحدتين او ثلاث وحدات من (C_5)لتكوين مركبات (C_{10} او C_{15}).**الثالث** :يتضمن تحويل المركبات السابقه الى التربيناتالنهائيه وهذه بدورها تتجمع وتتحد مع المكونات الاخرى الداخلهفي تركيب الزيوت الاساسيهوالعطريه [7] .للزيوت النباتية تاثيرات طبية متعددة حيث تمتلك فعالية مضادة للبكتريا حيث تستخدم في علاج امراض الجهاز البولي وتستعمل كذلك كمطهرات في علاج الجروح والقروح التي تحدث في الجلد وكمواد معقمة كما في الثوم والبصل [8]كما اشارت دراسات عديدة منها [9]الى امتلاك الزيوت المعزولة من بعض النباتات فعالية مضادة للفايروسات مثل الزيت المعزول من نبات *Houttuyniacordata*حيث تم اختبار فعاليتها ضد فايروسات *horpes simplex virus*و *HIV-1,influenza*وقد وجد ان الفعالية المضادة للفايروسات يمكن ان تحدث عن طريق التداخل الذي يحدث بين الزيت والقلاف البروتيني للفايروس .ان الاستخدامات الطبية للزيوت النباتية عديدة ومتنوعة حيث ان بعضها يستخدم في معالجة امراض السكروارتفاع ضغط الدم كما ان بعضها يستخدم كمحفز للجهاز المناعي لجسم الانسان وفي معالجة الاختلالات العصبية ومعالجة الروماتزم كما لها القدرة على قتل الطفيليات كما في زيت الخردل [10]

بالاضافة الى ما تقدم فان الزيوت المعزولة من بعض النباتات يمكن استخدامها في معالجة امراض السرطان وكمواد مانعة لعمليات التسرطن كما في الزيوت المعزولة من نبات حبة البركة *Nigella sativa*ونبات الكمون [11]*Cuminumcymicum* .

2.المواد وطرق العمل

1.2عزل الزيت الطيار

تم عزل الزيت الطيار من العينة النباتية للبراعم الزهرية لنبات القرنفل حسب [12] و ذلك بمزج 70 غم من العينة النباتية مع 750 مل من الماء المقطر في دورق سعته 2 لتر، و تم تحضير الزيت بطريقة التقطير البخاري، جمع بعدها الزيت و فصل عن الماء بإستخدام قمع فصل بواسطة المذيب n-hexane ، و بخر بعدها المذيب بإستخدام المبخر الدّوار Rotary Evaporator بدرجة حرارة 40 ْم.

بعدها تم حساب وزان الزيت المعزول و حساب النسب المئوية للزيت حسب المعادلة التالية.

$$\text{النسبة المئوية للزيت} = \frac{\text{وزن الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

2.2تحديد فعالية الزيت الطيار ضد البكتريا المدروسة.

أتبعت طريقة الأنتشار من الأقراص على الوسط الصلب Disk diffusion method اذ حضرت الاقراص المشبعة بالزيت الطيار اعتمادا على طريقة [13]اذ عملت أقراص بقطر 6 ملم من ورق الترشيح ثم وضعت في قنينة زجاجية وعقمت بالفرن بدرجة حرارة 150°م ولمدة 60 دقيقة, ثم شبعت الاقراص ب 10مايكروليتر/قرص ثم خزنت هذه الأقراص في الثلاجة لحين الأستعمال .وضعت الاقراص المشبعة على أطباق بتري حاوية على وسط MHA وملقحة بـ0.1 مل من العالق البكتيري لكل سلالة من البكتريا.والمنشورة بواسطة ناشر زجاجي ,ثم حضنت الاطباق في الحاضنة وتحت درجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة بعدها فحصت الاطباق وقيست الفعالية التثبيطية بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالمليمتر .

3.2تحديد التراكيز المثبطة الدنيا(MIC)للزيت الطيار.

أذيب 8 ملغم من الزيت الطيارفي4 مل من المذيب العضوي Dimethylsulphoxide(DMSO) (100%) ليصبح تركيز المحلول 2000 مايكرو غرام/مل ثم حضرت سلسله من التخافيف 1000, 500, 250 , 125 ,15,32.5,65 , 7, 3 مايكرو غرام /مل ومن ثم أخذ 2مل من كل تخفيف وأضيف إلى قناني حاويه على 18 مل من وسط MHA قبل تصلبه ليكون التركيز النهائي لكل قنينة 0.7,0.3 , 1.5, 3.1, 6.5, 25,12.5 و 50 ,100 و 200 مايكرو غرام/ مل ثم سكب محتوى كل قنينة في طبق بتري معقم وترك ليتصلب . لقح كل طبق بـ 0.1 مل من البكتريا المختبرة أي مايعادل 10^6خليه /مل والمنماة على وسط NB لمدة 24 ساعة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة ثم حدد التركيز المثبط الأدنعلى أساس أوطأ تركيز لايظهر فيه نمو[14].

4.2 اختبار السمية الخلوية.

استخدمت كريات الدم الحمر للإنسان لحساب السمية الخلوية للزيت المعزول من النبات المختبر بالاعتماد على طريقة [15] إذ تم سحب 2 مل من دم الإنسان و وضع في أنبوبة حاوية على مادة مانعة للتخثر. تم

تحضير التراكيز (20، 50، 100) مايكرو غرام/ مل من محلول الفوسفات المنظم الملحي Phosphate Buffer Saline للزيت و أستخدم معامل سيطرة سالب يحوي المحلول الملحي فقط و معامل سيطرة موجب (ماء الحنفية) تم بعدها وضع 0.8 مل من الزيت في أنبوبة معقمة و أضيف 0.2 مل من كريات الدم الحمر ليصبح الحجم 1 مل. حضنت الأنابيب في حاضنة بدرجة حرارة 37°م و لمدة ثلاث ساعات، فحصت بعدها الأنابيب لملاحظة تحلل كريات الدم الحمر.

5.2 الاختبارات الكيميائية التشخيصية للزيت الطيار .

1.5.2 اختبارات طيف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectrum (IR)

شخص طيف الأشعة تحت الحمراء للمادة بجهاز Infra Red Spectrophotometer نوع Pye – unicam 3005 – 3 – sp عند الأطوال الموجية (200 – 4000) نانوميتر بطريقة Thin film.

2.5.2 طيف الرنين النووي المغناطيسي و طيف الكتلة NMR and GC Mass

أستخدم جهازي طيف الرنين النووي المغناطيسي و طيف الكتلة لتشخيص المواد الفعالة و لمعرفة وزنها الجزيئي و الصيغة الجزيئية و تركيبها الكيميائي إذ تم التحليل في مختبرات جامعة أهل البيت في المملكة الأردنية الهاشمية.

3.النتائج

1.3النسبه المئوية للزيت الطيار المعزول

حسبت النسبة المئوية للزيت الطيار المعزول كما و قد تحققت نسبه عالية للزيت الطيار وبلغت (18.83) % .

2.3 الكشوفات النوعية للزيت الطيار المعزول من النبات قيد الدراسة

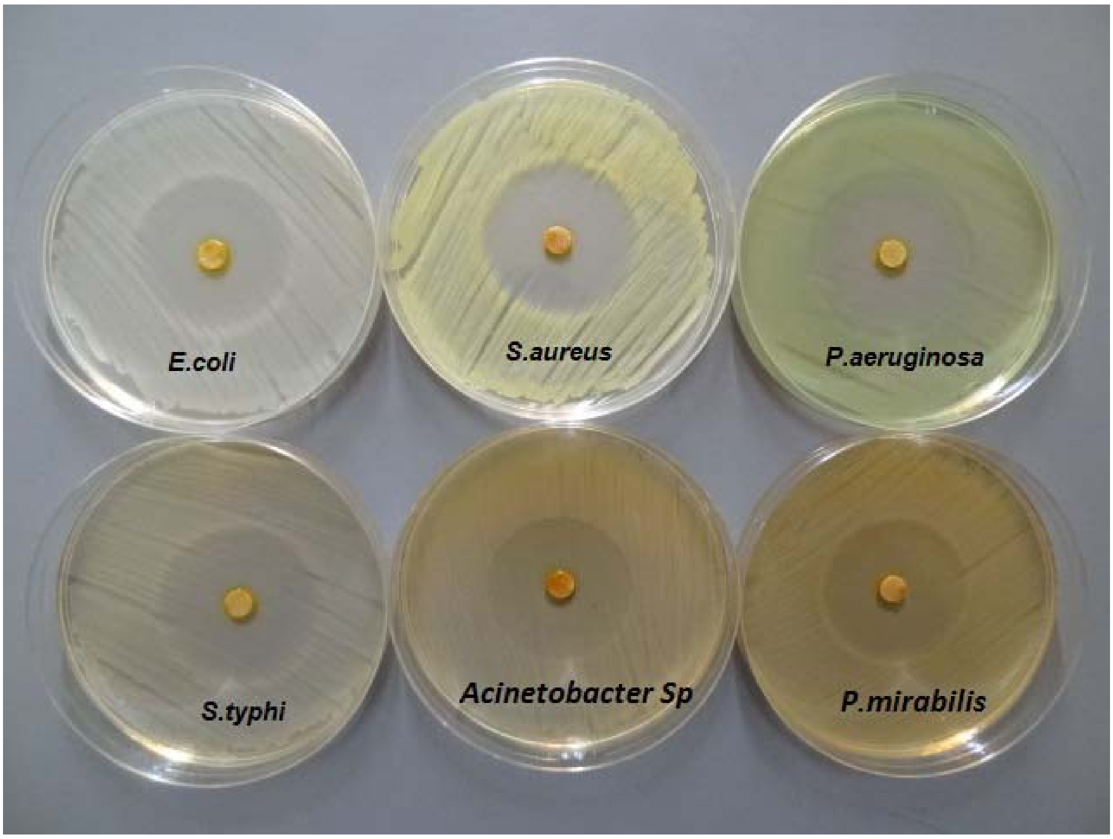
أظهرت هذه الكشوفات إحتواء الزيت المعزول من نبات القرنفل على التربنويدات الثلاثية و التربينات الثلاثية أو الأسترولات و عدم إحتواءه على الكلايكوسيدات و الكاربوهيدرات و المركبات الببتيدية و الفلافونيدات و القلويات و الصابونيات و التانينات .كما أظهرت النتائج إحتواء الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* على المركبات الفينولية جدول (1) .

جدول(1)الكشوفات النوعيه للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

الكواشف الكيميائيه	النتيجة
Alkaloids test	–
Flavinoids test	–
Carbohydrate test	–
Tripeptinoids test	+
Triterpens test	+
Sapopnin test	–
Tannins test	–
Phenolic compound test	+
Glycosides test	–

3.3 فعالية الزيت الطيار ضد البكتريا المختبره.

اظهرت النتائج ان الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* يمتلك فعاليه عاليه ضد البكتريا الموجبه لصبغة غرام والسالبه لصبغة غرام قيد الدراسة. اذ اظهراعلى فعاليه تثبيطية ضد البكتريا *S.aureus* وبقطر منطقة تثبيط مقدارها (41.6ملم) تلتها في ذلك البكتريا *Ps.aeruginosa* وبمنطقة تثبيط مقدارها (41.3ملم). كما اظهرت كل من البكتريا *P.mirabilis, Acinetobacter Sp, S.typhi* حساسيه عاليه تجاه الزيت الطيارالمعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* وباقطار تثبيط بلغت (39.6 ,35.6 ,34.6ملم) على التوالي (شكل 1) (جدول 2).



شكل (1)فعالية الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* ضد بعض البكتريا المختبره

جدول(2) اقطار التثبيط للزيت الطيار العزول من نبات *S.aromaticum* مقاسة بالملم(*mm*).

اقطار التثبيط	العزلات البكتيرية
40	*E.coli*(ATCC 25922)
41.6	*St. aureus*(ATCC 23922)
41.3	*Psedomonas aerginosa*
38.6	*Salmonella typhi*
36.6	*Acinetobacter Sp*
34.6	*Proteus mirabilis*
RLSD	2.85

4.3 التراكيز المثبطة الدنيا للزيت الطيار (MIC) .

أكدت نتائج إختبارات التراكيز المثبطة الدنيا للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* بانه يمتلك فعالية مضاده لحميع العزلات البكتيريه المختبره إذ أظهر أقل تركيز مثبط للنمو والذي بلغ 1.5 µg\ml تجاه العزله القياسيه لبكتريا *S.aureus*(ATCC) تلاه في ذلك التركيز 3.5 µg\ml ضد كل من العزله القياسيه *E.coli*(25922) وبكتريا *Acinetobacter* Sp في حين اظهر التركيز 6.5 µg\ml والذي يمثل اعلى تركيز مثبط ادنى فعالية مضاده تجاه كل من البكتريا *P.aeruginosa*, *S.typhi* , *P. mirabilis*.

جدول(3) التراكيز المثبطه الدنيا للزيت الطيار العزول من نبات القرنفل(µg\ml)

التركيز المثبط الادنى	العزلات البكتيرية
3.5	*E.coli*(ATCC 25922)
1.5	*St. aureus*(ATCC 23922)
6.5	*Psedomonas aerginosa*
6.5	*Salmonella typhi*
3.5	*Acinetobacter Sp*
6.5	*Proteus mirabilis*

5.3اختبار السمية الخلوية للزيت الطيار المعزول

لم يظهر الزيت المعزول من النبات المدروس القدرة على تحلل كريات الدم الحمر عند التراكيزالمستخدمه.

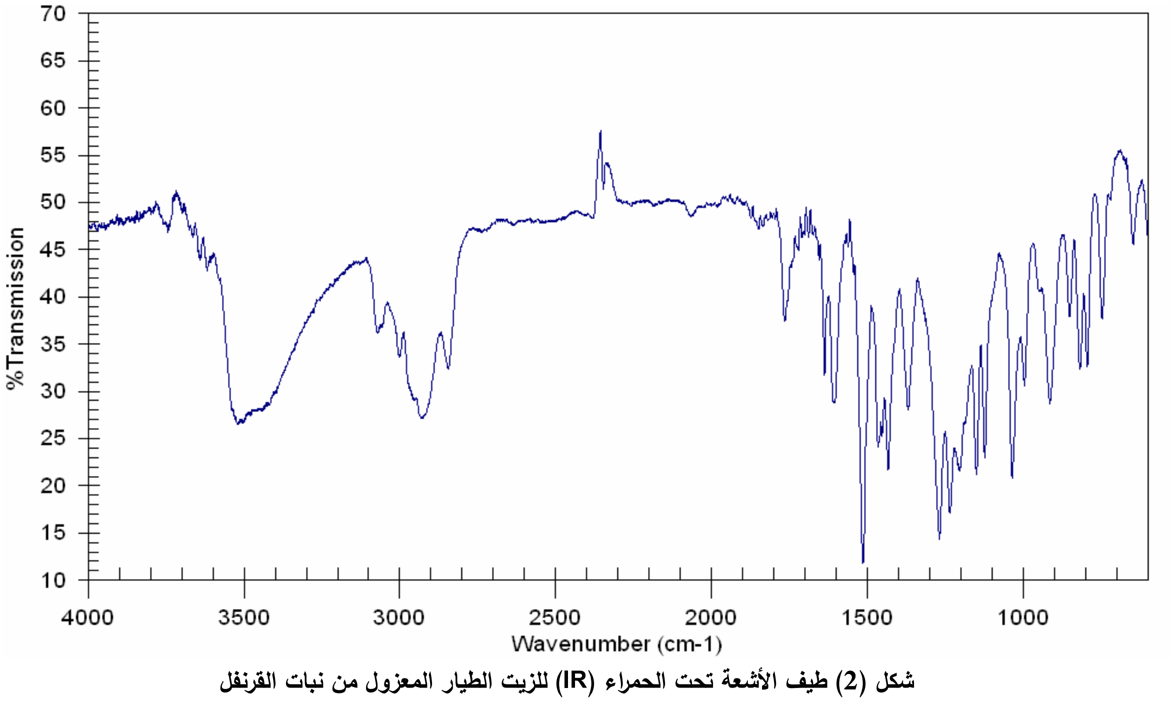
6.3التشخيص الكيميائي للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

1.6.3 التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR).

يوضح الشكل (2) نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S. aromaticum* ، أما حزم الامتصاص و المجاميع التركيبية الفعالة فموضحة في جدول (4)

جدول (4) حزم الامتصاص و المجاميع التركيبية الفعالة العائدة لها في طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل.

Functional groups	Frequency cm−1
OH st	3400 – 3500
CH st	3000
CH_3CH_2 st	2930
C=O st	1630
CH b	1475
C – O st	1280
C – O st	1150



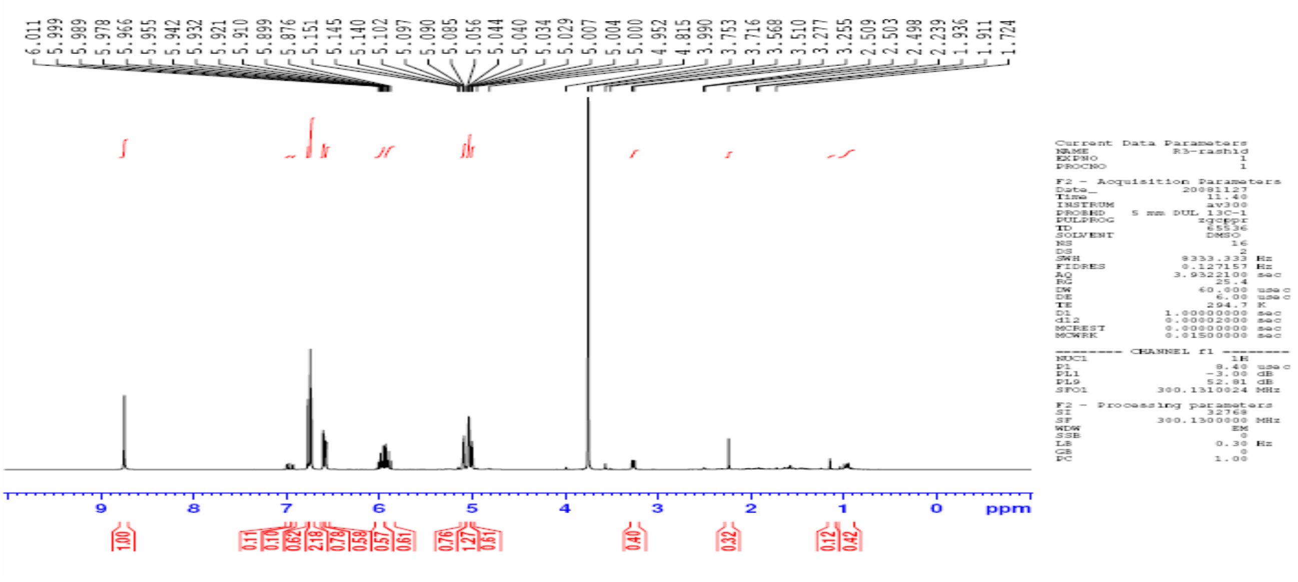
شكل (2) طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

2.6.3 التشخيص بمطيافية الرنين النووي المغناطيسي (H^1NMR)

أظهرت نتائج طيف الرنين النووي المغناطيسي للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S. aromaticum* باستعمال الـ DMSO كمذيب قيم الإزاحات الكيميائية للمركب كما يوضح الجدول (5) و شكل (3).

جدول (5) قيم الإزاحات الكيميائية في طيف الرنين النووي المغناطيسي (H^1NMR) للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

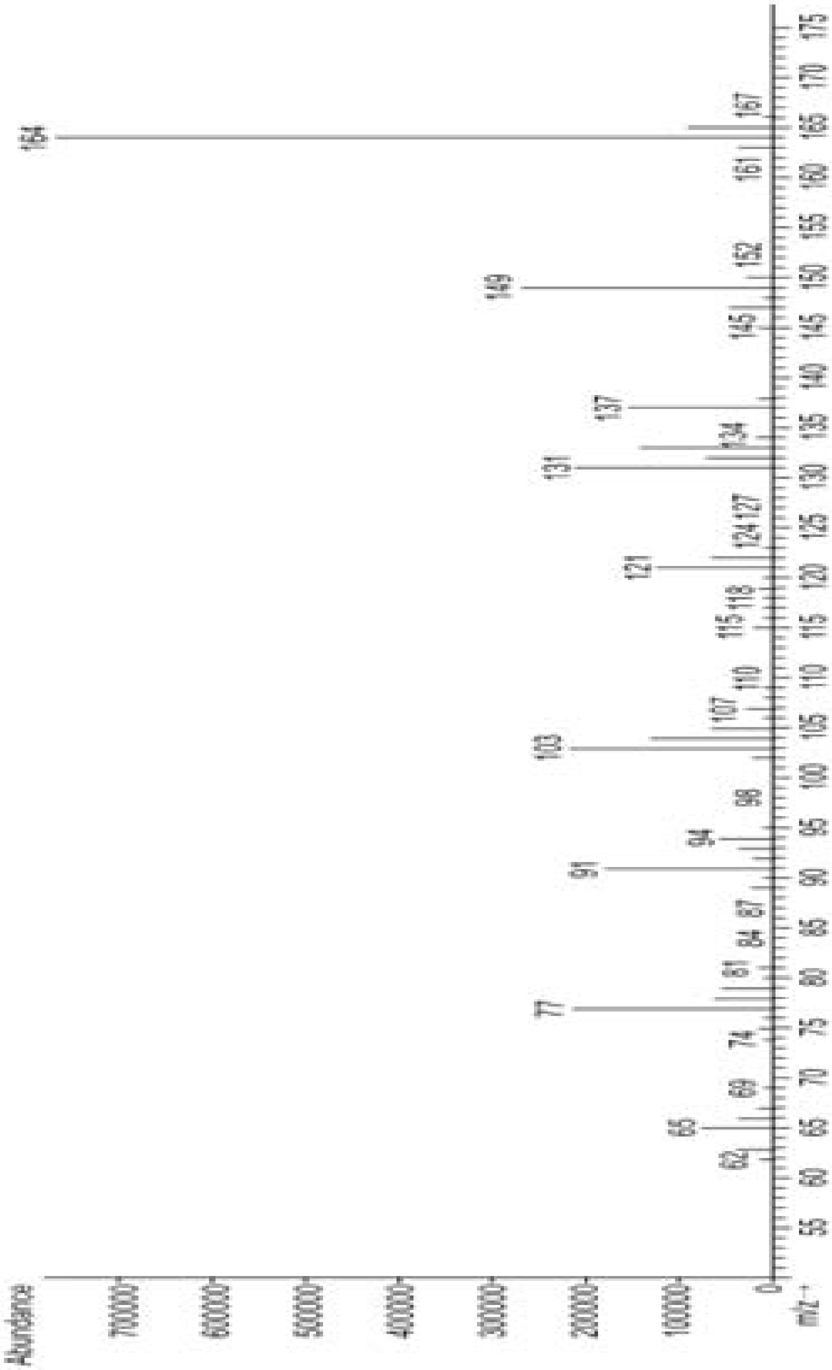
Assignment	Chemical shift (ppm)
CH_2	3.27
OCH_3	3.71
CH_2	5.0
CH	6.0
H. including in ring	6.60
OH	8.74



شكل (3) طيف الرنين النووي المغناطيسي (H^1NMR) للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

التشخيص بمطيافية الكتلة

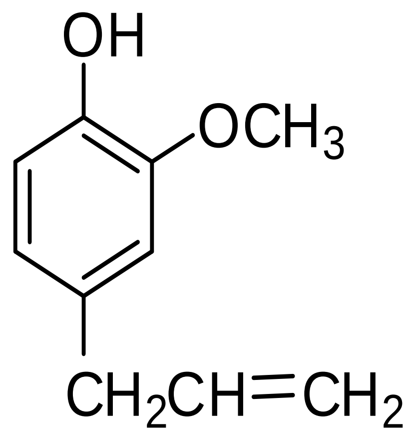
أظهرت نتائج طيف الكتلة للزيت الطيار المعزول من نبات*S. aromaticum* بأن الوزن الجزيئي للمركب هو 164 دالتون (شكل 4).



شكل (4) طيف الكتلة (GC/ Mass) للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

3.6.3 استنتاج المركب المتوقع

استنادا إلى الطرق التشخيصية السابقة الذكر فأن المركب المتوقع هو (4-allyl-2-methoxyphenol) شكل (5).



شكل (5) التركيب الكيميائي للمركب المتوقع للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل

4 .المناقشة

1.4 النسبه المئويه للزيت الطيار المعزول من النبات قيد الدراسة

اظهرت النتائج أن نبات القرنفل قد أعطى نسبة زيت طيار بلغت 18.83% و هي مقاربة لنتائج[16] حيث أشار إلى أن نسبة الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل تتراوح بين (14-20)% و لكن تختلف مع ما توصل إليه[17] حيث بلغت النسبة المئوية للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل 2.78%.

2.4 الكشوفات النوعية للزيت الطيارالمعزول من نبات القرنفل.

أظهرت النتائج المبينة في جدول (1) إحتواء الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل على المركبات الفينولية ، و هذا يتفق مع دراسات أخرى منها دراسة [18].كما أشار [8] إلى إحتواء زيت نبات القرنفل على التربينات الثلاثية و التربنويدات و المركبات الفينولية.

3.4 فعالية الزيت الطيار المعزول ضد البكتريا المختبره.

من خلال النتائج الحالية تبين أن للزيت الطيار المعزول فعالية مضادة عالية تجاه البكتريا المختبره. إذ أظهر الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل فعاليةمضادة لهذه العزلات البكتيرية. أن الفعالية الضد بكتيرية لهذا الزيت يمكن أن تعود إلى ما يحتويه هذا الزيت من المركبات الفينولية المعروفة بفعاليتها المضادة للبكتريا، إذ أشارت دراسات عديده منها دراسة [19] إلى أن الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل غني بمركب Eugenol الفينولي الذي يمتلك فعالية مضادة للفطريات، و ذكر الباحث أن هذه المركبات تسبب التحطم الكامل للأغشية و الجدران الخلوية للاحياء المجهرية كما أشار[21] إلى إحتواء الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل في تركيا على مركبات Eugenol بنسبة 87% و مركب Eugenol acetate و مركب β-caryophyllenen بنسبة 3.56%.

4.4التراكيز المثبطة الدنيا(MIC) للزيت الطيار المعزول تجاه البكتريا المختبره.

أكدت نتائج إختبارات التراكيز المثبطة الدنيا للزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل *S.aromaticum* أظهر فعالية مضاده لحميع العزلات البكتيريه المختبره إذ أظهر أقل تركيز مثبط للنموالذي بلغ 1.5 µg\mlتجاه العزله القياسيه لبكتريا *S.aureus*(ATCC)في حين اظهر التركيز 6.5 µg\ml والذي يمثل اعلى تركيز مثبط ادنى فعالية مضاده تجاه كل من البكتريا *P.aeruginosa* , *P.mirabilis*,*S.typhi* وقد يعزى ذلك إلى احتواءه على مركب Eugenol الذي يمتلك قدره تثبيطية عاليه ضد بعض أنواع البكتريا[22]ان نوعية المركبات الكيميائية المستخلصه وما تحويه من مجاميع فعاله لها قابلية الارتباط في مواقع خاصة ضمن الخلية المستهدفة تؤدي إلى التنوع فى قيم MIC ارتفاعا أو انخفاضا[23] . او ربما يعود تفاوت قيم التركيز المثبط الادنى الى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام حيث أن جدران البكتريا السالبة لصبغة كرام بسبب احتواء جدارها على مركبات Lipopolysaccharides ، Lipoprotein و Protein-lipid بينما تمتاز جدران البكتريا الموجبة لصبغة كرام بمحتواها الدهني الذي يجعلها أكثر نفاذية للمركب الفعال ولذلك تكون أكثر تأثرا من البكتريا السالبة لصبغة كرام [24].

5.4 السمية الخلوية للزيت الطيار المعزول من النبات قيد الدراسة

أستخدمت كريات الدم الحمر للكشف عن سمية الزيت الطيار المعزول كونها طريقة غير مكلفة و سهلة التطبيق و سريعة النتائج، و يعد هذا الإختبار الخطوة الأولى التي تحدد الإستمرار أو التوقف عن العمل [25].كماأوضحت نتائج إختبار السمية الخلوية أن الزيت الطيار المعزول من نبات القرنفل لم يحلل كريات الدم الحمر عند التراكيز المستخدمة إذ يعتمد تحلل كريات الدم الحمر على تركيز المادة و مدة الحضن و درجة الحرارة و يحدث تحلل الدم نتيجة تحطم غشاء الكرية الحمراء بسبب الإرتباط التساهمي بين المواد السامة و الجذر الحر للبروتين (SH)[26].

6.4 التشخيص الكيميائي للمركب المعزول من النبات المختبر

1.6.4المركب *Eugenol*

يعدمركبEugenolالمعزولمن الزيت الطيار لنبات القرنفل و المشخص في الدراسة الحالية ذو فعالية حيوية واضحة تجاه البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة غرام. ربما يعود السبب إلى تركيبه الكيميائي العائد إلى مجموعة الفينولات Phenol[21] و التي لها تأثير قاتل للبكتريا و ذلك لأن الفينولات مركبات حلقية تتكون من حلقة أروماتية واحدة (C6) تحمل مجموعة واحدة أو أكثر من مجموعة الهيدروكسيل و التي لها خواص ضد مايكروبية [27], أن سمية المركبات الفينولية للأحياء المجهرية الدقيقة تعتمدعلى عدد المجاميع الهيدروكسيلية إذ كلما زاد عدد هذه المجاميع كلما زادت قدرتها السمية [28] و تتميز هذه المركبات بقابليتها على تكوين معقدات مع البروتينات يصعب هضمها إضافة إلى قدرتها على الإرتباط مع الإنزيمات وتثبيط عملها[21][29] من خلال تفاعلها مع المجاميع ثنائية الكبريت في الإنزيم أو من خلال تفاعلات داخلية غير متخصصة مع البروتين [30].

المصادر

[1] Boranowaska, K.; Marekmar, D. and Morian, W. (2002). Antifungal activity of the essential oils from some species of the genus pinus. *Z. natureforcsh*., 57: 478 – 482.

[2]Rodrigues - concepcion, M. and Boronal, A. (2002). Elucidation of the methyl - erythritol phosphato path way for isoprenoid biosynthesis in bacterial and plastids. A metabolic milestone achieved through genomic. Plan. Physio. 130: 1079 - 1081.

[3]Deans, S. G.; Svoboda, K. P.; Gandidza, M. and Brechany, E. X. (1992). Essential oil profiles of several temperate and tropical aromatic plants: their antimicrobial and antioxidant activities. Acta. Hortic., 306: 229 - 232.

[4]Ravid, U.; Bassat, M. ; Putieskt, E.; Weinstein, V. and Ikon, R. (1987). Isolation and determination of optically pure carvone encentiomeres from caraway (*Carmcavril*), dill (*Aenthumgraveolensl*), and *Mentha longifolia* Huds Flav. Fragr. J. 2: 95 – 97.

[5]Ravid, U.; Bassat, M.; Baticvskt, E. and Katzir, I. (1999). Entiomeric distribution of piperition in essential oils of some *Mentha* spp., *Calamintha incana* (sm.) Heldr. And Artemisia Judical. Flav.

[6]Lis – Balchin, M.; Simmonds, M.; Hart, S. and Deans, S. G. (1992). Agrochemical and medicinal usage of essential oils of representative species of the Geraniaceae. Journal Appli. Microbiology, 28: 759 – 762.

[7] Bouvier, F.; Suire, C. D.; Harligue, A.; Backhaus, R. A. and Gamra, B. (2000). Molecular cloning of geranyl diphosphate synthesis in plant cells. Plant J., 24: 241- 252.

[8]Dorman, H. J. and Deans, S. G. (1999). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils, J. Appl. Micro., 88: 308 – 316.

[9]Hayashi, K.; Kamiya , M.and Hayashi , T.(1995).Virucidal effect of the steam distillate from *Houttunia cardata* and its Componentson HIV-1 , influenza virus and: HSV. Planta .med.,61(3) : 1268-1271.

[10]الزبيدي ،زهير نجيب وبابان،هدى عبد الكريم وفليح،فارس كاظم.(1996).دليل العلاج بالاعشاب الطبية العراقية .وزارة الصحة – منظمة الصحه العالمية ،شركة اب للطباعة ،بغداد.

[11]Hammer,K.A,Carson,C.F,.and Riley,T.V.(1999).Antimicrobial activity of essential oilsand other plant extracts.J.,Applied Microbiol.,86:985-990.

[12]Farag, R. S.; Daw, Z. Y.; Hewedi, F. M. and El-Baroty, G. S. (1989). Antimicrobial activity to some Egyptian species essential oils. J. food prot., 52 (9): 665 - 669.

[13] Saeed, S. and P. Tariq. 2007. Antimi-crobial activities of *Emblicaofficinalis*and *Corian drum sativum*against Gram-positive bacte-ria and *Candida albicans*. *Pak. J. Bot.*, 39(3):913-917.

[14] Samuel ,P., Prince ,L. and Prabakaran,P.(2011).Fungal bioproespecting from south east coast of tamilnadu - india with special reference to antibacterial activity .International Journal Of Pharma World Research, 2:1-14 .

[15] Xian – you, H. and Ursula, M. (1994). Antifungal compound from Soluum. Nigerscons, J. of Euthopharm, 43: 173 – 177.

[16]Pengelly, A. (1995). The constituents of medicinal plants. 1st ed; CABI publishing: Singapore.

[17]جابر، نورس نوري (2005). دراسة الفعالية الضد مايكروبية للزيوت المعزولة من بعض النباتات. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة البصرة.

[18]El-Hossary, G. A. and Todros, S. H. (1993). Phytochemical study of leaves of *Mytrus communis* L. growth in Egypt. Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ., 24(1): 101 – 103.

[19]Bhattacharyya , P .N. and Jha , D.K. (2011) . Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a subsurface *aspergillus* strain tsf 146 ,International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology ,2:133-143 .

[20]Nonsee,K., Supitchaya,C., and Thawien, W.(2011) Antimicrobial activity and the properties of edible hydroxypropyl methylcellulose based films incorporated with encapsulated clove oil *International Food Re search Journal 18(4): 1531-1541*

[21]Alma, M. H.; Ertas, M. and Kollmannsberger, H. (2007). Chemical com position and content of essential oil from the Bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). Bio. Resources, 2 (2): 265 – 269.

[22]Faria, T. D. J.; Ferreira, R. S.; Yassumoto, L.; Souza, J. P. D.; Ishikawa, W. K. and Bardosa, A. M. (2006). Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (Eugenol chemo type). An international Journal, 6: 867 – 871.

[23] الكامل، محمد لطيف علي (2005). استخلاص و تشـخيص المركبـات الفينوليـة و دراسـة فعاليتها ضد بعض مسببات أخماج الجلد الجرثومية تجريبياً و سريرياً، كلية العلوم، جامعة البصرة، 211 صفحة.

[24]Chandrashekhara , S . (2010) . Isolation and charcterization of antibiotic production from soil isolates by fermentation . Ph.D. thesis ,Vinayaka Missions University ,India

[25]الحواني، إسراء علي عبد الحسن (2005). دراسة بيولوجية لتقييم مركب Oxadizolidine المحضر مختبرياً و استخدامه للقضاء على الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة.

[26]Sicinska, P.; Bukowska, B.; Michalowic, J. and Duda, W. (2005). Damage of cell membrane and oxidative system in human erythrocytes incubated with microcystin- L R *In vitro*. Toxico., 47 (4): 187 – 197.

[27]Zhang, L. and Tizard, I. R. (1996). Activation mouse macrophage cell line by acemannan: the major Carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. J. Immunopharmaco. 35: 119 – 128.

[28]Geissman, T. A. (1993). Flavonoid compound, tannins, lignins and related compound, P. 265. In florkin, M. and Statz, E. (ed) pyrde pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents, Elservier, New York.

[29]Feeny, P. (1998). Inhibitory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of proteins by trypine. J. Phytochemistry, 8: 2119 – 2126.

[30]Mason, T. L. and Wasserman, B. P. (1997). Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compound. J. Phytochemistry, 26: 2197 – 2202.

Islation and Purfication and diagnosis of compound Aleugnol from volatile oil of Cloves plant *Syzygium aromaticum* and study its antibacterial activity.

R.R.Hateet*, K.J.Humadi** and T.M.Muhsin**

**Department of Biology, College of Sciences, University of Missan, Iraq*

***Department of Biology, College of Education, University of Basrah, Iraq*

Abstact

The current study included volatile oil extraction from the cloves plant Sayzygium aromaticum isolate and purify the diagnosis composite Aleugenol Eugenol, Using some chemical spectral techniques such as Thine Layare Chromatography(TLC),Infra-Red spctrum (IR), Nuclear Magnetic Resonance(H^1NMR) and Gas Chromatography Mass (GC\Mass)evaluated the antibacterial activity against six bacterial species (*E.coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus*(ATCC),*Psedomonas aeurginosa,Salmonella typhi.Acinetobacter sp, Proteus mirabilis*),which showed the antibacterial activity of the against bacterial high and inhibion of different diameters ranged between (41.6-34.6 mm).The current study also included identifying Minimum Inhibition Concentration(MIC) to Eugenol compound,Wher was less minimum inhibitory concentration is (1.6 µg\ml) against *S. aureus* (ATTC), While the highest Minimum Inhibition Concentration(MIC) is (6.5 µg\ml) towards both bacterial species *P.aeurginosa,S.typhi,P.mirabilis* .It also tested the cellular toxocity of the compound ,Whichdid not show any toxic at theconcentrations tested.