

تقييم المحتوى الكلي للمركبات الفينولية والنشاط المضاد للبكتيريا لبعض

نباتات الفصيلة الشفوية

إعداد طلاب في كلية الصيدلة - جامعة حمص

مريم نضال شندوخ - بشار عدنان الرفاعي - نورا ماجد رسلان - نانسي سامي الابراهيم

إشراف:

د. هاني سكاف: عضو هيئة تدريسية في كلية الصيدلة - جامعة حمص

المشرف المشارك:

د. ميساء توفيق علوش: مدير أعمال اختصاص أمراض فطرية - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء

الدقيقة - كلية الصيدلة - جامعة حمص

الصيدلانية تيماء سلامة: طالبة دراسات عليا قسم المراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة حمص

الملخص:

تعد نباتات الفصيلة الشفوية (Lamiaceae) من المصادر الطبيعية الغنية بالمركبات الفينولية ذات الأهمية الحيوية، لما تمتلكه من خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات، الأمر الذي يجعلها

محط اهتمام متزايد في مجالات الصناعات الدوائية والغذائية والبحث العلمي. هدفت هذه الدراسة إلى تقدير المحتوى الكلي للمركبات الفينولية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للخلاصات الإيثانولية لأوراق إكليل الجبل (*Salvia rosmarinus*)، والميرمية (*Salvia officinalis*)، والنعناع الفلفلي (*Mentha × piperita*)، والزعر الشائع (*Thymus vulgaris*). قُدر المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام طريقة (Folin-Ciocalteu)، في حين قُيِّم النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الانتشار في حفر الآغار (Agar Well diffusion) ضد بكتيريا (*Staphylococcus aureus*) و (*Escherichia coli*). أظهرت النتائج تبايناً واضحاً في المحتوى الكلي للمركبات الفينولية بين النباتات المدروسة، حيث سجل مستخلص إكليل الجبل أعلى قيمة بلغت (mg GAE/g) (57.46DW)، تلاه مستخلص الميرمية (38.75 mg GAE/g DW)، ثم النعناع الفلفلي (25.00mg GAE/g DW)، وأخيراً الزعر الشائع (22.26 mg GAE/g DW). كما أظهرت المستخلصات النباتية نشاطاً مضاداً للبكتيريا بدرجات متفاوتة؛ إذ سجل مستخلص الميرمية أعلى فعالية ضد *Staphylococcus aureus* بقطر منطقة تثبيط بلغ (22±1 mm)، يليه مستخلص إكليل الجبل (21±1 mm)، بينما أظهر مستخلصا النعناع الفلفلي والزعر الشائع نشاطاً أقل بلغ (13±1 mm) و (14±1 mm) على التوالي. أما تجاه *Escherichia coli*، فقد اقتصر النشاط على مستخلصي الميرمية وإكليل الجبل بمتوسط منطقتي تثبيط (12±1 mm) و (11±1 mm) على التوالي، في حين لم يظهر مستخلصا النعناع الفلفلي والزعر الشائع أي تأثير ملحوظ. وتشير هذه النتائج إلى إمكانية الاستفادة من هذه النباتات كمصادر طبيعية لمركبات حيوية واعدة يمكن توظيفها

في تطوير مستحضرات دوائية وغذائية، مع الحاجة إلى إجراء دراسات إضافية لتحديد المركبات الفعالة وآليات تأثيرها.

الكلمات المفتاحية : الفصيلة الشفوية - إكليل الجبل - الزعتر الشائع - الميرمية - النعناع الفلفلي - المحتوى الكلي للمركبات الفينولية - المكورات العنقودية المذهبة - الإيشريكية الكولونية - النشاط المضاد للبكتيريا.

Abstract:

Plants belonging to the Lamiaceae family are recognized as valuable natural sources of phenolic compounds with significant biological activities, particularly their antioxidant and antimicrobial properties. These characteristics have attracted considerable attention due to their potential applications in the pharmaceutical, food, and healthcare industries. The present study aimed to determine the total phenolic content (TPC) and evaluate the antibacterial activity of ethanolic extracts obtained from rosemary (*Salvia rosmarinus*), sage (*Salvia officinalis*), peppermint (*Mentha × piperita*), and common thyme (*Thymus vulgaris*). Total phenolic content was quantified using the Folin–Ciocalteu assay, while antibacterial activity was assessed by the agar well diffusion method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results revealed considerable variation in the total phenolic content among the investigated plant extracts. Rosemary exhibited the highest phenolic content (57.46 mg GAE/g DW), followed by sage (38.75 mg GAE/g DW), peppermint (25.00 mg GAE/g DW), and common thyme (22.26 mg GAE/g

DW). The extracts also demonstrated varying degrees of antibacterial activity. Sage extract showed the strongest inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone of (22 ± 1) mm, followed by rosemary (21 ± 1) mm), whereas peppermint and common thyme exhibited lower antibacterial activity, with inhibition zones of (13 ± 1) mm and (14 ± 1) mm), respectively. Against *Escherichia coli*, antibacterial activity was detected only in the sage and rosemary extracts, with inhibition zone diameters of (12 ± 1) mm and (11 ± 1) mm), respectively. No detectable antibacterial activity was observed for peppermint or common thyme extracts against this bacterium.. These findings highlight the promising role of selected Lamiaceae species as natural sources of bioactive compounds. Further investigations are recommended to identify the active constituents, clarify their mechanisms of action, and explore their potential use in developing novel pharmaceutical and functional food products.

Keywords: Lamiaceae - *Salvia rosmarinus* - *Thymus vulgaris* - *Salvia officinalis* - *Mentha × piperita* - Total phenolic content - *Staphylococcus aureus* - *Escherichia coli* - Antibacterial activity.

1. المقدمة

تُعد النباتات الطبية من أهم المصادر الطبيعية التي استعملها الإنسان منذ القدم في الوقاية من الأمراض وعلاجها، حيث اعتمدت عليها الحضارات القديمة في الطب الشعبي قبل تطور الصناعات الدوائية الحديثة.

وتُعد سوريا من البلدان الغنية بالتنوع النباتي نتيجة تنوع مناخها وبيئاتها الطبيعية، حيث تنتشر فيها أعداد كبيرة من النباتات الطبية والعطرية المستخدمة في الطب الشعبي والعلاج التقليدي، وتبرز الفصيلة الشفوية كواحدة من أهم الفصائل النباتية المنتشرة في سوريا، إذ تضم العديد من النباتات المعروفة بأهميتها الطبية والاقتصادية وتتميز أنواعها بخصائص مورفولوجية متنوعة، إضافةً إلى احتوائها على مزيج معقد من المركبات النشطة بيولوجياً، كالزيوت العطرية الفلافونويدات، التي تُعد من أبرز المركبات الحيوية الفعالة لما تمتلكه من خصائص مضادة للأكسدة والالتهابات، إضافةً إلى فعاليتها ضد البكتيريا والفيروسات ودورها المحتمل في مقاومة بعض أنواع السرطان، وعلاوةً على ذلك، تعد النباتات التي تنتمي إلى هذه الفصيلة ذات قيمة عالية في صناعات الأغذية، ومستحضرات التجميل، والمنكهات، والعطور، والمبيدات الحشرية، والأدوية وغيرها [1،2].

تُعد المركبات الفينولية (Phenolic Compounds) من أهم المركبات الطبيعية المنتشرة في المملكة النباتية، حيث تصنف ضمن مجموعة واسعة من المركبات الكيميائية الناتجة عن عمليات الاستقلاب الثانوي في النباتات، وتختلف تراكيز المركبات الفينولية تبعاً لاختلاف النوع النباتي، والظروف البيئية، وطرائق الاستخلاص المستخدمة، وتُعد نباتات الفصيلة الشفوية من أغنى النباتات بالمركبات الفينولية والزيوت الطيارة، التي تمنحها قدرة عالية مضادة للأكسدة وللبيكتيريا، لذلك يعد تقدير المحتوى الفينولي من المؤشرات الكيميائية المهمة المستخدمة في تقييم المستخلصات النباتية لهذه الفصيلة ودراسة خصائصها الكيميائية ومقارنة الفعالية الحيوية للنباتات الطبية المختلفة [3].

وفي ظل تزايد مقاومة السلالات البكتيرية للمضادات الحيوية التقليدية، اتجهت الدراسات الحديثة إلى البحث عن مصادر طبيعية ذات فعالية مضادة للبكتيريا، وتُعد النباتات الطبية بشكل عام و نباتات الفصيلة الشفوية بشكل خاص من أبرز هذه المصادر حيث تعزى الفعالية المضادة للبكتيريا في نباتات هذه الفصيلة بشكل رئيسي لاحتوائها على مركبات فعالة كالثيمول (Thymol) والكارفاكرول (Carvacrol) وحمض الروزمارينك، حيث أظهرت الدراسات قدرتها على تثبيط نمو العديد من البكتيريا، وتحقيق تأزراً ملحوظاً مع المضادات الحيوية كالسيبروفلوكساسين، والجنتاميسين ضد مسببات الأمراض المختلفة مثل (*Staphylococcus aureus*) و(*Escherichia coli*) و (*Pseudomonas aeruginosa*)، التي تعد من أكثر أنواع البكتيريا الممرضة للإنسان والمقاومة للمضادات الحيوية التقليدية [4,5].

ومن أهم النباتات المستخدمة بشكل شائع لفوائدها الطبية:

إكليل الجبل (*Salvia rosmarinus*): وهو شجيرة معمرة، دائمة الخضرة، ومتخشة كثيرة التفرع، يبلغ ارتفاعها حوالي 0.6-2 m، أوراقها عطرية لونها أخضر داكن، عديدة، ومتقابلة، العصب الرئيس بارز على الوجه السفلي، يبلغ طولها حوالي 3.5 cm، وهي جلدية ذات حواف مجعدة، وهي التي تمنح إكليل الجبل الرائحة المميزة نتيجة غناها بالغدد الزيتية. أزهارها زرقاء أو بنفسجية اللون، ونادراً بيضاء، تتجمع في عناقيد صغيرة وتجذب النحل [6]، ينتشر إكليل الجبل بشكل أساسي في حوض البحر المتوسط [7]، وتعود أهميته إلى احتوائه على مجموعة واسعة من المركبات، مثل أحادييات وثلاثيات

وثلاثيات التربين، والفلافونويدات، والأحماض الفينولية، بالإضافة للألياف الغذائية، والمغذيات الكبيرة والمعادن، والفيتامينات، التي تمنحه القيمة الغذائية الكبيرة [8,9].

الزعر الشائع (*Thymus vulgaris*): نبات معمر شبه شجيري يبلغ ارتفاعه 10 - 30 cm، كثير التفرع، ساقه زاحفة ومنقرعة وتكون خشبية عند القاعدة، ومغطاة بشعيرات دقيقة، الأوراق صغيرة خطية إلى بيضوية الشكل، لونها أخضر رمادي، طولها حوالي 3 - 10 mm، وعرضها 2 - 4 mm، يكسوها بغزارة غدد مفرزة لزيت عطرية. الأزهار وردية إلى بنفسجية اللون، تتجمع في حزم حول أطراف الساق. وينمو النبات طبيعياً في الأراضي الجافة والصخرية والمروج الرملية، يعتبر الموطن الأصلي له في أوروبا، وشمال إفريقيا، لكن تم إدخاله وزراعته في جميع أنحاء العالم، تم تحديد المواد الكيميائية النباتية الرئيسة في الزعر في الأجزاء الهوائية من النبات، وتشمل مجموعة واسعة من الزيوت العطرية، والأحماض الفينولية أهمها الثيمول، والكارفاكرول)، وهذا ما أكسبه أهميته الطبية والاقتصادية [10].

الميرمية (*Salvia officinalis*): شجيرة كثيفة معمرة شديدة التفرع، السوق عشبية بقواعد متخشبة منتصبه، لها رائحة عطرية مميزة يصل ارتفاعها إلى نحو متر، أوراقها ثخينة، تملك حواف حادة، ولونها أخضر رمادي نظراً لغزارة الأوبار على سطحها، بيضوية الشكل قطرها من 1 - 4 cm، ويتراوح طولها من 4 - 10 cm، أزهارها طولها نحو 2 cm، زرقاء أو بنفسجية اللون، تتجمع بشكل عنائيد تحتوي من 2 - 10 أزهار أو أكثر، موطنها في الشرق الأوسط وانتشرت لجميع دول العالم، وتشمل الميرمية مجموعة واسعة من القلويدات، والكربوهيدرات، والأحماض الدهنية والفينولية، ومشتقات الغلوكوزيدات

(الغلوكوزيدات القلبية، والصابونين)، ومركبات فينولية (الكومارين، والفلافونويدات، والتانينات)، والستيرويدات، والتربينويدات/ التربينات (أحاديات التربين، وتثنائيات التربين) [11].

النوع الفلفلي (*Mentha×piperita*): وهو نبات عشبي معمر ذو جذور زاحفة، يصل ارتفاعه إلى 30 cm، بسيقان ملساء مربعة المقطع العرضي. جذوره الزاحفة واسعة الانتشار وسميكة، أوراقه خضراء داكنة، يمكن أن يصل طولها إلى 4 cm وعرضها إلى 1.5 cm، ذات عروق محمرة، وقمة حادة وحواف مسننة خشنة. عادةً ما تكون الأوراق والسيقان مغطاة بشعيرات دقيقة. أزهارها بنفسجية اللون، طولها 6 cm، ولها بتلات رباعية الفصوص قطرها حوالي 5 mm، وتتمو في دوائر (أزهار عمودية) حول الساق، النوع الفلفلي نوع هجين ناتج عن تهجين النوع المائي والنوع الأخضر. موطنه الأصلي أوروبا والشرق الأوسط، وهو الآن منتشر على نطاق واسع ويُزرع في العديد من مناطق العالم. يحتوي النوع على نسبة عالية من المنثول. كما يحتوي على كحوليات (Alcohols)، وألكانات (Alkanes)، وألدهيدات (Aldehyde) ومجموعة واسعة من المركبات الفعالة المهمة طبياً [12].

2. الهدف من البحث

يُعدّ تزايد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية (Antibiotic Resistance) من أبرز التحديات الصحية العالمية في العصر الحديث، إذ أدى الاستخدام المفرط وغير المنظم للمضادات الحيوية إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة تقل فيها فعالية العلاج التقليدي، مما يفرض الحاجة إلى البحث عن بدائل طبيعية وآمنة وفعّالة. وفي هذا السياق، يكتسب البحث في النباتات الطبية والعطرية أهمية متزايدة نظراً

لما تحتويه من مركبات فعالة حيويًا مثل المركبات الفينولية والزيوت الطيارة التي تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا ومضادة للأكسدة.

3. مواد وطرائق العمل:

- المواد المستخدمة: يبين الجدول 1 المواد المستخدمة في البحث ومصدرها

الجدول 1 : المواد المستخدمة وبلد المنشأ والشركة المصنعة

بلد المنشأ والشركة المصنعة	المواد المستخدمة
-	ماء مقطر
(Eurolab),UK	الإيثانول المطلق
Titan biotech, India	كربونات الصوديوم Na_2CO_3
-	كاشف Folin-Denis
Titan biotech, India	حمض الغاليك Gallic acid
(HiMedia), India	وسط موللر_ هينتون آغار Muellur Hinton Agar
(Roth), Germany	محلول ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) Dimethyl Sulfoxide

• الأجهزة المستخدمة: يبين جدول 2 الأجهزة المستخدمة في انجاز البحث

ومصدرها.

الجدول 2: الأجهزة المستخدمة وبلد المنشأ والشركة المصنعة

بلد المنشأ والشركة المصنعة	الجهاز
–	مطحنة كهربائية
Sartorius TE214, Germany	ميزان حساس Sensitive balance
(Hwashin Technology), Germany	حوض الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic bath
(Shimadzu), Japan	جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer
JSR-JSAK-100	الصاد الموصد Autoclave
(Mammert), Germany	حاضنة جرثومية Incubator

• السلالات الجرثومية المستخدمة:

تم استخدام سلالات جرثومية منمّطة مصدرها معمل ميديكو - حمص - سوريا.

الجدول 3: السلالات الجرثومية المستخدمة

المصدر	الاختصار	السلالة الجرثومية
مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الصيدلة – جامعة حمص	<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الصيدلة – جامعة حمص	<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538

• جمع النباتات وتحضيرها:

تم جمع النباتات في مدينة حمص خلال فصل الربيع خلال شهري نيسان وأيار، حيث تم اختيار العينات السليمة والخالية من أي إصابات مرضية أو حشرية ظاهرة، وغُسلت الأوراق جيداً بالماء الجاري لإزالة الأتربة والغبار والمواد العالقة، ثم تُركت لتجف في مكان جيد التهوية بعيداً عن أشعة الشمس المباشرة (في الظل) لمدة تراوحت بين 10 و 15 يوم حتى تمام الجفاف، ثم طُحنت باستخدام مطحنة كهربائية حتى الحصول على مسحوق ناعم ومتجانس، وحُفظت في أكياس معقمة لحين الاستخدام.

• تحضير الخلاصات النباتية:

تم تحضير المستخلصات النباتية بأخذ 20 g من مسحوق الأوراق الجافة لكل من الأنواع النباتية موضوع الدراسة وإضافة 200 ml من الإيثانول 99% إلى المسحوق، ثم خضعت العينات لعملية استخلاص باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic Bath) لمدة ساعتين، ثم تُرك المزيج للتعتين (النقع) عند درجة حرارة الغرفة لمدة ثلاثة أيام مع التحريك الدوري لضمان التلامس المستمر بين المذيب والمسحوق النباتي وتعزيز عملية الاستخلاص [13]، بعد انتهاء فترة النقع، رُشح المزيج باستخدام ورق ترشيح مناسب لفصل البقية النباتية عن الرشاحة الحاوية على المركبات المستخلصة، ثم جرى التخلص من مذيب الإيثانول من الرشاحة عن طريق التجفيف عند درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع كامل حتى تبخر المذيب بشكل تدريجي والحصول على المستخلص الخام الجاف.

تم حساب مردود الاستخلاص (Extraction yield) للمستخلصات الإيثانولية للنباتات المدروسة بعد الانتهاء من عملية الاستخلاص، وذلك للتعرف على كمية المستخلص الخام الناتج عن كل عينة، بالاعتماد على المعادلة القياسية المستخدمة في حساب النسبة المئوية للاستخلاص [14]:

$$Extraction\ yield\ (\%) = \frac{(W_{extract}) \text{ وزن البقية الجافة}}{(W_{plant}) \text{ وزن العينة النباتية الجافة}} \times 100$$

حيث: (W_{plant}) وزن العينة النباتية الجافة = 20 غرام

• تحضير المحاليل و العينات لتحديد الفينولات الكلية:

تحضير المحاليل: تم تحضير محلول كربونات الصوديوم بتركيز 2% من خلال إذابة 2 g من كربونات الصوديوم في كمية مناسبة من الماء المقطر حتى تمام الانحلال، ثم اكمل الحجم إلى 100 ml باستخدام ورق معياري.

أُعد محلول أم لحمض الغاليك بتركيز 5 g/L، وذلك بوزن 125 mg من حمض الغاليك وإذابته في ورق حجمي سعة 25 ml، ثم استكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة، أعقب ذلك إجراء مسح طيفي للمحلول الأم ضمن المجال 200–800 nm بهدف تحديد الطول الموجي الأعظمي المعتمد في القياسات.

وانطلاقاً من المحلول الأم، حُضرت سلسلة عيارية من حمض الغاليك بتركيزات متزايدة من 0.01 إلى 0.05 g/L، وذلك لاستخدامها في إنشاء منحنى المعايرة اللازم لتقدير المحتوى الكلي للمركبات الفينولية بطريقة فولين [13].

تحضير العينات: حُضرت العينات بإذابة 0.1 g من الخلاصة الجافة في 10 ml من الماء المقطر، وذلك للحصول على تراكيز تقع ضمن مجال القياس المحدد بواسطة السلسلة العيارية لحمض الغاليك.

نُقل 0.1 ml من محلول العينة إلى أنبوب اختبار، ثم أُضيف إليه 2 ml من محلول كربونات الصوديوم بتركيز 2%، تلا ذلك إضافة 0.1 ml من كاشف فولن-دينيس الممدد بالماء المقطر بنسبة (1:1).

مُزجت محتويات الأنبوب جيداً لضمان تجانس التفاعل، ثم تُرك المزيج لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لإتمام تطور اللون الناتج عن التفاعل. بعد انتهاء فترة الحضانة، تم قياس الامتصاصية عند طول موجي مقداره 750 nm باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي، حيث تتناسب قيمة الامتصاصية المسجلة مع تركيز المركبات الفينولية الموجودة في العينة. كما حُضِرَ محلول شاهد باتباع الخطوات نفسها مع استبدال حجم العينة بكمية مماثلة من الماء المقطر بهدف تصحيح القراءات وإلغاء تأثير الكواشف المستخدمة. حُسب المحتوى الكلي للمركبات الفينولية (Total phenolic content-TPC) بالاعتماد على معادلة منحني المعايرة الناتج عن السلسلة العيارية لحمض الغاليك، وتم التعبير عن النتائج بوحدة ميلي غرام مكافئ حمض الغاليك (Gallic Acid Equivalents-GAE) لكل غرام من من مسحوق الأوراق الجافة لكل نبات [13].

• تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للعينات المدروسة

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للعينات المدروسة باستخدام طريقة الانتشار في حفر الآغار (Agar Well Diffusion)، وأجري الاختبار على نوعين من البكتيريا، هما المكورات العنقودية المذهبة (*Staphylococcus aureus*) باعتبارها بكتيريا موجبة الغرام، والإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) باعتبارها بكتيريا سالبة الغرام، وذلك بهدف مقارنة استجابة كلا النوعين للمستخلصات المدروسة.

• تحضير أوساط الزرع الجرثومية:

تحضير وسط مولر-هينتون (Mueller-Hinton Agar): تم تحضيره وفقاً لتوصيات الشركة المصنعة، ثم جرى تعقيم الوسط والأدوات الزجاجية اللازمة باستخدام جهاز الصاد الموحد (Autoclave) عند درجة حرارة 121°م وضغط 15 psi لمدة 15 دقيقة، بعد انتهاء عملية التعقيم، تُرك الوسط ليبرد إلى درجة حرارة مناسبة، ثم صُبَّ في أطباق بتري معقمة ضمن ظروف عمل عقيمة. وبعد تصلب الوسط، حُفظت الأطباق في الثلاجة لحين استخدامها في التجارب.

تحضير الخلاصات النباتية: تم تحضير المستخلصات لكل من إكليل الجبل (*rosmarinus*)، *Salvia*، والميرمية (*Salvia officinalis*)، والزعر الشائع (*Thymus vulgaris*)، والنعناع الفلفلي (*Mentha×piperita*)، وذلك بأخذ 50 mg من كل حلاصة من الخلاصات الجافة وحلها في 1 ml من مذيب ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) للحصول على تركيز 50 mg/ml.

تحضير المعلق الجرثومي: حُضِر المعلق الجرثومي لكل من جرثومة الإشريكية الكولونية (*Escherichia coli*) وجرثومة المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، ثم عُدَّت كثافة المعلق الجرثومي لتتوافق مع معيار 0.5 ماكفارلاند (McFarland Standard) بهدف الحصول على كثافة جرثومية موحدة. أُجريت جميع مراحل العمل ضمن شروط عقيمة لمنع حدوث أي تلوث قد يؤثر على النتائج.

تلقيح وسط الزرع: تم تلقح أطباق مولر-هينتون بالمعلق الجرثومي باستخدام ماسحة قطنية معقمة، حيث وُزِعَ المعلق الجرثومي على كامل سطح الوسط بثلاثة اتجاهات متعامدة لضمان الانتشار والتوزيع المتجانس للخلايا البكتيرية على سطح الآغار، بعد ذلك قُسم كل طبق - افتراضياً- إلى ستة أقسام متساوية، وتم إنشاء خمسة آبار باستخدام ثاقبة معقمة، حيث خصصت أربعة آبار للخلاصات النباتية، وبئر واحد للشاهد السلبي (مذيب DMSO)، في حين خُصص القسم السادس للشاهد الإيجابي (الصاد الحيوي)، حيث تم استخدام أقراص أزيثرومايسين (Azithromycin) بتركيز $15 \mu\text{g}$ للبكتيريا موجبة الغرام، وأقراص أميكاسين (Amikacin) بتركيز $30 \mu\text{g}$ للبكتيريا سالبة الغرام. أُضيف $70 \mu\text{l}$ من كل مستخلص نباتي إلى البئر المخصص له باستخدام ماصة دقيقة معقمة (Micropipette)، كما تم تطبيق الشاهد السلبي والشاهد الإيجابي في المواقع المخصصة لهما. بعد ذلك حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°C لمدة 20 ساعة، ثم جرى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للخلاصات النباتية من خلال قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي المتشكلة حول الآبار بوحدة المليمتر (mm) ومقارنتها مع الشاهدين الإيجابي والسلبي لكل من جرثومتي الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية [15]. أُجريت جميع التجارب بثلاثة مكررات مستقلة لضمان موثوقية النتائج وتم حساب متوسط قطر الهالة وتحليل النتائج.

تم استخدام شاهد سلبي يمثل المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات (DMSO)، وتم التأكد أن التأثير المثبط يعود للمستخلصات النباتية وليس إلى المذيب.

4. النتائج والمناقشة:

بلغ مردود الاستخلاص لإكليل الجبل 21.5% (جدول 4) وهو ضمن القيم المرتفعة نسبياً لهذا النبات، حيث أظهرت دراسة أجرتها سلامة، (2026)، قيمة قريبة بلغت 22.26%، باستخدام نفس الظروف التجريبية، وهذا ما يعكس كفاءة استخلاص المركبات الفعالة في إكليل الجبل تحت تأثير الأمواج فوق الصوتية والإيثانول عالي التركيز [13].

وسجل النعناع الفلفلي مردوداً بلغ 7.5% (جدول 4)، وهو ضمن النطاق (6.43% - 24.17%) الذي أظهرته دراسة Gavarić وآخرين، (2026)، والتي بينت تبايناً واسعاً في مردود الاستخلاص لهذا النبات تبعاً لاختلاف الظروف التجريبية [16].

أما الميرمية والزعر الشائع، فقد أظهرت النتائج أن كلا النباتين سجلا مردود أقل مقارنة بدراسة مرجعية (جدول 4)، وحسب Roby وآخرين، (2013)، بلغ مردود الميرمية 18.24% مقابل 11.5% في هذه الدراسة، بينما بلغ مردود الزعر 14.80% مقابل 7% في هذه الدراسة [17].

الجدول 4: يوضح نتائج مردود الاستخلاص للنباتات المدروسة

مردود الاستخلاص %	وزن البقية الجافة	العينة النباتية
21.5 %	4.3 g	إكليل الجبل

الميرمية	2.3 g	11.5 %
النعناع الفلفلي	1.5 g	7.5 %
الزعر الشائع	1.4 g	7 %

يمكن تفسير هذا التباين في مردود الاستخلاص بين النباتات المدروسة لاختلاف تركيبها الكيميائي، إضافة إلى اختلاف البنية التشريحية للنسيج النباتي الذي يؤثر على سهولة تحرير المركبات أثناء عملية الاستخلاص، كما أن اختلاف قابلية الذوبان لهذه المركبات في الإيثانول يؤدي إلى تفاوت واضح في كمية المواد المستخلصة.

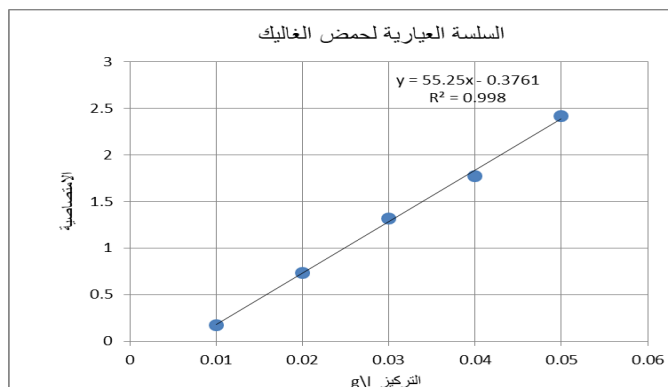
أما التباين بين هذه الدراسة والدراسات المرجعية فيعزى إلى اختلاف الظروف التجريبية المستخدمة، بما فيها اختلاف تقنيات الاستخلاص وزمن الاستخلاص، وكذلك اختلاف المصدر والمرحلة العمرية للمادة النباتية وظروف التجفيف، كما تساهم أيضا نسبة المادة إلى المذيب في إحداث فروقات في مردود الاستخلاص [16].



الشكل 1: الخلاصات الإيثانولية الجافة للنباتات المدروسة.

• محتوى الفينولات الكلي (Total phenolic content):

أظهر المنحنى العياري علاقة خطية بين الامتصاصية وتركيز حمض الغاليك ضمن المجال المدروس (الشكل 2)، حيث تم الحصول على معادلة خط مستقيم تصف العلاقة بين المتغيرين على الشكل التالي:



الشكل 2: المخطط البياني لتركيز حمض الغاليك مقابل الامتصاصية

بعد تطبيق التفاعل اللوني على العينات المدروسة، وتعويض قيم الامتصاصية في معادلة الخط البياني تم حساب محتوى الفينولات الكلي كمكافئات من حمض الغاليك. سجل إكليل الجبل أعلى قيمة بلغت (57,46 mg GAE/g DW) (جدول 5)، وهي قيمة مرتفعة تشير إلى غنى هذا النبات بالمركبات الفينولية ذات النشاط الحيوي. بالمقارنة، أظهرت دراسة أخرى أجرتها سلامة، (2026)، قيمة مقارنة بلغت (21.129 mg GAE/g DW)، وذلك باستخدام نصف الكمية المستخدمة في هذه الدراسة [13].

أما الميرمية فقد بلغت القيمة المسجلة (38.75 mg GAE/g DW) (جدول 5)، في حين أظهرت دراسة Mocan وآخرين، (2020)، نطاق واسع من محتوى الفينولات الكلي بين (20.32 - 65.02 mg GAE/g DW) وذلك لأنواع مختلفة من الميرمية [18].

بالنسبة للنوع الفلفلي بلغت القيمة (25.00 mg GAE/g DW) (جدول 5)، بينما تراوحت القيم في دراسة سابقة أجراها Gavarić وآخرين، (2026)، بين (24.14 - 38.73 mg GAE/g DW).

يشير هذا التقارب النسبي إلى أن محتوى الفينولات في النعنع أكثر استقراراً مقارنة ببعض النباتات الأخرى [16].

أما الزعتر الشائع فقد سجل قيمة (22.26 mg GAE/g DW) (جدول 5) في هذه الدراسة، في حين أبلغت دراسة أخرى أجراها Gedikoğlu وآخرون، (2019)، قيمة أقل بلغت mg GAE/g (13.57 DW) باستخدام الإيثانول 80%، في حين تم استخدام الإيثانول المطلق في الدراسة الحالية [19].

الجدول 5: محتوى الفينولات الكلي في النباتات المدروسة

العينة النباتية	محتوى الفينولات الكلي TPC mg GAE/g
إكليل الجبل	57.46
الميرمية	38.75
النعناع الفلفلي	25.00
الزعتر الشائع	22.26

تبين النتائج وجود اختلافات في محتوى الفينولات الكلية بين النباتات المدروسة، كما تبين أن قيم هذه الدراسة كانت متناسبة مع العديد من الدراسات السابقة، في حين ظهرت بعض الاختلافات في قيم أخرى، ويمكن تفسير هذه الفروقات باختلاف النوع النباتي، والظروف البيئية التي نمت فيها النباتات،

ووقت الجمع، بالإضافة إلى طرائق الاستخلاص ونوع المذيب وتركيزه وظروف الاستخلاص، وهي عوامل معروفة بتأثيرها المباشر في كفاءة استخلاص المركبات الفينولية [18]. وتشير هذه النتائج إلى أن النباتات المدروسة تعد مصدراً جيداً للمركبات الفينولية، مع تفوق إكليل الجبل في محتواه الفينولي مقارنة ببقية النباتات، مما يعزز فعاليته الحيوية (جدول 5).

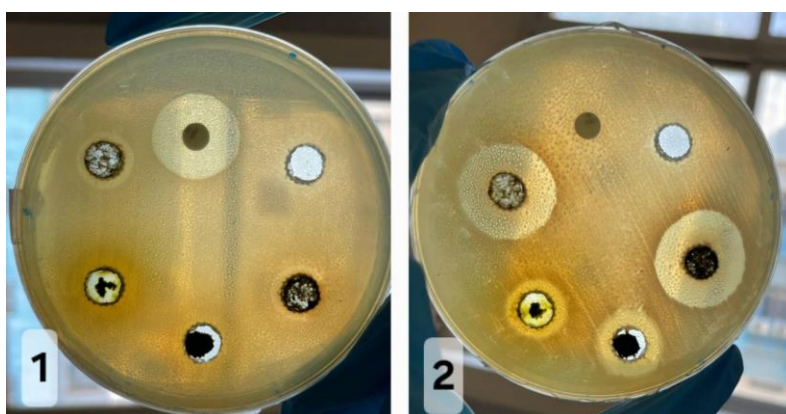
• تقييم التأثير المضاد للبكتيريا:

أظهرت النتائج أن المستخلصات النباتية امتلكت تأثير مضاد للبكتيريا بدرجات متفاوتة ضد العزلات البكتيرية المستخدمة، وتم قياس قطر الهالة لكل مستخلص عند تركيز 50 mg/ml (الشكل 4، الجدول 6).

Zone of Inhibition (mm)		العينة	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>		
21±1	11±1	إكليل الجبل	A
13±1	–	النعناع الفلفلي	B
14±1	–	الزعتر الشائع	C
22±1	12±1	الميرمية	D
–	20±1	Amikacin	Con +
25±1	–	Azithromycin	Con +

-	-	DMSO	Con -
---	---	------	----------

الجدول 6 : تأثير المستخلصات النباتية في السلالات الجرثومية المستخدمة:



الشكل 4 : 1- *E. coli* ، 2- *S. aureus*

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن مستخلص الميرمية حقق أعلى نشاط مضاد للبكتيريا (جدول 6)، إذ بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (22 mm) ضد المكورات العنقودية المذهبة، وبالمقارنة مع الدراسات السابقة، فقد كانت مناطق التثبيط ضد العنقوديات كما أشار Bălăsoiu وآخرين، (2023) تتراوح بين (11.66- 13.16 mm)، مما يوضح أن فعالية المستخلص في الدراسة الحالية كانت أعلى، أما بالنسبة للإشريكية الكولونية فقد بلغت منطقة التثبيط في الدراسة الحالية (12 mm)، وهي تقع ضمن المجال الذي أوردته الدراسة السابقة (10-17 mm) وذلك بالنسبة لأنواع مختلفة من الميرمية، مما يدل على توافق النتائج [20].

وتقاربت نتيجة مستخلص إكليل الجبل من نتائج الميرمية، حيث سجل منطقة تثبيط بلغت (21 mm) ضد المكورات العنقودية المذهبة (جدول 6)، وتطابقت النتيجة مع دراسة سابقة أجرتها El-Hofy وآخرون، (2015)، وهذا ما أكد فعالية المستخلص ضد البكتيريا الموجبة الغرام [21].

أما بالنسبة للإيشريكية الكولونية، فقد كانت منطقة التثبيط (11 mm) (جدول 6)، وهي تقع ضمن المجال الذي أشار إليه Alrasheed وآخرون، (2023)، ويتراوح هذا المجال بين (8 - 15 mm) مما يعكس توافقاً في فعالية المستخلص تجاه هذه البكتيريا [22].

بلغ قطر منطقة التثبيط لمستخلص الزعتر (14 mm) ضد المكورات العنقودية المذهبة، وتتفق هذه النتيجة مع نتيجة سابقة لـ Zarringhalam وآخرون، (2013)، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط (14± mm)، مما يدل على توافق النتائج [23].

في حين لم يظهر المستخلص أي فعالية ضد الإيشريكية الكولونية، واختلفت هذه النتائج مع إحدى الدراسات السابقة التي أجراها Alrasheed وآخرون، (2023) التي سجلت منطقة تثبيط بلغت $11.5 \pm$ (mm) ضد الإيشريكية الكولونية، وقد يُعزى هذا الاختلاف إلى اختلاف ظروف الاستخلاص، أو السلالة البكتيرية المستخدمة [22].

حقق مستخلص النعناع الفلفلي منطقة تثبيط بلغت (13 mm) ضد المكورات العنقودية المذهبة، وبالمقارنة مع الدراسة السابقة، سجلت دراسة Munirwan وآخرون، (2026) منطقة تثبيط مقدارها (12.43 mm) عند نفس التركيز، وتعتبر هذه النتائج مقاربة جداً مع تفوق طفيف في الفعالية [24].

أما بالنسبة للإيشريكية الكولونية، فقد بلغ قطر منطقة التثبيط (12.26 mm) حسب Saeed وآخرين، (2006) ،في حين لم يظهر أي نشاط في الدراسة الحالية، وقد يعود هذا التباين إلى اختلاف نوع المستخلص، أو تركيزه، أو ظروف إجراء التجربة، أو اختلاف السلالات البكتيرية المستخدمة [25].

وعند مقارنة فعالية المستخلصات النباتية بالشاهد الإيجابي المستخدم في الدراسة، تبين أن المضادات الحيوية أظهرت هالات تثبيط أكبر من معظم المستخلصات النباتية. ومع ذلك، أظهر مستخلص الميرمية نشاطاً ملحوظاً ضد (*Staphylococcus aureus*)، وكانت فعاليته قريبة من فعالية الأريثروميسين (1±25 مم)، كما أظهر مستخلص إكليل الجبل نشاطاً جيداً. أما ضد (*Escherichia coli*)، فقد كانت فعالية الأميكاسين (1±20 مم) أعلى من جميع المستخلصات، في حين سجل مستخلص الميرمية أعلى نشاط بين المستخلصات النباتية، يليه مستخلص إكليل الجبل. وتشير هذه النتائج إلى امتلاك بعض المستخلصات النباتية نشاطاً مضاداً للبكتيريا، وإن كان أقل من الشاهد الإيجابي المستخدم في الدراسة.

تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن المستخلصات النباتية المدروسة تملك نشاط مضاد للبكتيريا بدرجات متفاوتة، مع ملاحظة تفوق واضح في التأثير على البكتيريا موجبة الغرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام (جدول 6)، حيث تعتمد الفعالية المضادة للجراثيم للمركبات النباتية على ألفة هذه المركبات للماء أو للدسم و على تركيب الغشاء الميكروبي [26]، وتتوافق هذه النتيجة مع ما توصلت إليه علي، (2025) في دراسة أجريت على نباتات مختلفة، حيث أظهرت المستخلصات نشاط مضاد للبكتيريا موجبة الغرام بدرجة أكبر من سالبة الغرام [27].

5. الاستنتاجات:

1. أظهرت جميع المستخلصات النباتية المدروسة احتواءها على مركبات فينولية، مع اختلاف في إجمالي المحتوى الفينولي بين النباتات، مما يدل على اختلاف تركيبها الكيميائي وقدرتها على إنتاج المركبات الحيوية الفعالة.
2. أظهرت جميع المستخلصات فعالية مضادة للبكتيريا بدرجات متفاوتة، حيث سجل إكليل الجبل والميرمية أعلى فعالية وكانت نتائجهما مقاربة، في حين كانت فعالية الزعتر والنعناع أقل.
3. أظهرت النتائج وجود علاقة بين المحتوى الفينولي والنشاط المضاد للبكتيريا، إذ تميل المستخلصات ذات المحتوى الفينولي الأعلى إلى إظهار فعالية أكبر في تثبيط نمو البكتيريا، مما يشير للدور المهم للمركبات الفينولية في النشاط الحيوي للمستخلصات.
4. كانت البكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*) أكثر حساسية للمستخلصات النباتية مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام (*Escherichia coli*).
5. أظهرت المقارنة مع الدراسات السابقة توافقاً عاماً في النتائج، مع وجود بعض الاختلافات التي يمكن تفسيرها باختلاف نوع النبات، وطريقة الاستخلاص، ونوع المذيب المستخدم، وتركيز المستخلص، والسلالات البكتيرية المختبرة.

6. التوصيات:

1. إجراء دراسات إضافية لتحديد المركبات الفعالة المسؤولة عن النشاط المضاد للبكتيريا في المستخلصات النباتية، ولا سيما المركبات الفينولية والزيوت الطيارة.
2. دراسة تأثير طرائق الاستخلاص المختلفة والمذيبات المتنوعة على المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للبكتيريا، بهدف تحديد أفضل طريقة للحصول على أعلى نشاط حيوي.
3. توسيع نطاق الدراسة ليشمل أنواعاً أخرى من البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام، بالإضافة إلى الفطريات، لتقييم الطيف المضاد للميكروبات لهذه المستخلصات.
4. دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية وتحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC)، والتركيز الأدنى القاتل للبكتيريا (MBC)، للحصول على تقييم أكثر دقة للنشاط المضاد للبكتيريا.
5. تشجيع الاستفادة من النباتات الطبية المحلية كمصدر طبيعي للمركبات الحيوية، لما تمتلكه من إمكانات واعدة في الحد من الاعتماد على المضادات الحيوية التقليدية والمساهمة في مواجهة مشكلة مقاومة المضادات الحيوية.
6. إجراء اختبار الفعل التأزري بين المستخلصات النباتية المدروسة والصادات الحيوية.

7. المراجع References

1. Stankovic, M. (Ed.). (2020). *Lamiaceae species: Biology, ecology and practical uses*. MDPI. https://www.mdpi.com/journal/plants/special_issues/lamiaceae_species □
2. Da Silva, L. R. R., Ferreira, O. O., Cruz, J. N., Franco, C. de J. P., dos Anjos, T. O., Cascaes, M. M., Costa, W. A., Andrade, E. H. de A., & Oliveira, M. S. (2021). Lamiaceae essential oils: Phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article 6748052. <https://doi.org/10.1155/2021/6748052> □.
3. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313> □
4. Singh, G., Gupta, S., & Gupta, P. (2025). Antibacterials derived from the plants of Lamiaceae: Phytochemical framework and mechanistic insights. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 19(3), 1744–1754. <https://doi.org/10.22207/JPAM.19.3.42> □
5. Ghavam, M., Bacchetta, G., Castangia, I., & Manca, M. L. (2022). Evaluation of the composition and antimicrobial activities of essential oils from four species of Lamiaceae Martinov native to Iran. *Scientific Reports*, 12, 17044. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21509-5> □
6. Encyclopaedia Britannica. (2026). Rosemary (*Salvia rosmarinus*). In *Encyclopaedia Britannica*. Retrieved May 29, 2026, from <https://www.britannica.com/plant/rosemary> □
7. Downing, A., Atwell, B., Marais, K., Hiller, R., & Downing, K. (2021). *Salvia rosmarinus – Rosemary*. School of Natural Sciences

8. Meziane, H., Zraibi, L., Albusayr, R., Bitari, A., Oussaid, A., Hammouti, B., & Touzani, R. (2025). *Rosmarinus officinalis* Linn.: Unveiling its multifaceted nature in nutrition, diverse applications, and advanced extraction methods. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 11, 9–37. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00144-y>
9. Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 25(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>
10. Jarić, S., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2015). Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of *Thymus serpyllum* L. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, Article 101978. <https://doi.org/10.1155/2015/101978>□
11. Ghorbani, A., & Esmailizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(4), 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>□
12. Global Biodiversity Information Facility (GBIF). (n.d.). Species page (Taxon key: 113618160). GBIF. Retrieved June 2, 2026, from GBIF Species Page .
13. Salama, T. M. (2026). Study of the sun-protective capacity of rosemary leaf extracts prepared using different extraction methods and solvents. *Homs University Journal: Medical and Health Sciences Series*, 48(1).
14. Palmieri, S., Pellegrini, M., Ricci, A., Compagnone, D., & Sterzo, C. L. (2020). Chemical composition and antioxidant activity of thyme, hemp and coriander extracts: A comparison study of maceration, Soxhlet, UAE and

- RSLDE techniques. Foods, 9(9), 1221.
<https://doi.org/10.3390/foods9091221>□
15. Haralambie, O.-R., Novac, C.-Ş., Hodor, D., Ranga, F., & Andrei, S. (2025). Antibacterial activity of ethanolic extracts of *Origanum majorana*, *Salvia officinalis*, and *Ribes nigrum* against digestive pathogens: Polyphenolic composition and in vitro assessment. *Molecules*, 30(16), 3341. <https://doi.org/10.3390/molecules30163341>
16. Gavarić, N., Radovanović, K., Milošević, N., Jevtić-Babić, J., Mladenović-Popović, L., Smole Možina, S., & Šojimović, I. (2026). Chemical, biochemical, antimicrobial, and pharmacological assessment of postdistillation waste material extracts of *Mentha x piperita*. *Pharmaceuticals*, 19(2), 182. <https://doi.org/10.3390/ph19020182>
17. Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A.-H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827–833. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029>
18. Mocan, A., Babotă, M., Pop, A., Fizeşan, I., Diuzheva, A., Locatelli, M., Carradori, S., Campestre, C., Menghini, L., Sisea, C. R., Sokovic, M., Zengin, G., Păltinean, R., Bădăraş, S., Vodnar, D. C., & Crişan, G. (2020). Chemical Constituents and Biologic Activities of Sage Species: A Comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (Schur ex Griseb. & Schenk) Schur. *Antioxidants*, 9(6), 480. <https://doi.org/10.3390/antiox9060480>
19. Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical

- composition, antioxidant, and antimicrobial properties. Food Science & Nutrition, 7(5), 1704–1714. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1007>
20. Bălășoiu, R. M., Biță, A., Stănciulescu, E. C., Bălășoiu, M., Bejenaru, C., Bejenaru, L. E., & Pisoschi, C. G. (2023). In vitro Antimicrobial Activity of Some Extracts of *Salvia* spp Harvested from the Oltenia Flora Using Different Solvents. Current Health Sciences Journal, 49(3), 397–402. <https://doi.org/10.12865/CHSJ.49.03.12>
21. Ashraf, A.-E.-T., El-Hofy, F. I., Mobarez, E. A., Taha, H. S., & Tawkol, N. Y. (2015). Synergistic effect between some antimicrobial agents and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) toward *Staphylococcus aureus* – in-vitro. Benha Veterinary Medical Journal, 28(2), 195–201.
22. Alrasheed, A. A., Alrasheid, A. A., Abdalla, W. M., Saeed, S. M., & Ahmed, H. H. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Activities and Phytochemical Analysis of *Rosmarinus officinalis* L. Pod and *Thymus vulgaris* L. Leaf Ethanolic Extracts on *Escherichia coli* Urinary Isolates. International Journal of Microbiology, 2023, Article 9965825. <https://doi.org/10.1155/2023/9965825>
23. Zarringhalam, M., Zarringhalam, J., Shadnough, M., Safaeyan, F., & Tekieh, E. (2013). Inhibitory Effect of Black and Red Pepper and Thyme Extracts and Essential Oils on Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and DNase Activity of *Staphylococcus aureus*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12(3), 363–369.
24. Munirwan, P. G., Setiani, L., Kurnia, B., Rahmawati, N., & Ridwan, A. (2026). Chronic tonsillitis and its potential alternative treatment: Exploration of the antibacterial activity of ethanolic *Mentha piperita* leaf

- extract against bacterial isolates from patients. Narra J, 6(1), e3064.
<https://doi.org/10.52225/narra.v6i1.3064>□
- 25.Saeed, S., Naim, A., & Tariq, P. (2006). In vitro antibacterial activity of peppermint. Pakistan Journal of Botany, 38(3), 869–872.
- 26.Blando F, Russo R, Negro C, De Bellis L FS. Antimicrobial and Antibiofilm Activity against Staphylococcus aureus of Opuntia ficus-indica (L.) Mill. Cladode Polyphenolic Extr Antioxidants . 117:(5)8؛2؛2016
- 27.Ali, D. (2025). Evaluation of the biological activity of cypress and geranium plants widespread in Syria against some pathogenic factors. Homs University Journal of Medical and Health Sciences, 47(4).