الكشف عن الفعالية البايولوجية والتاثير التثبيطي لمستخلص اوراق نبات لسان الحمل *Plantago lanceolata* على البكتريا المسببة للالتهابات الجلدية ودوره في ترميم الجروح العميقة

اخلاص كمر عبد مصطفى مثنى عبد الرزاق اطلال ناجي منجي
وزارة العلوم والتكنولوجيا
atlal.najim@gmail.com ahmedbio553@yahoo.com ikhlassgumer@yahoo.com

الخلاصة

كشفت الفعالية البايولوجية والتاثير التثبيطي لمستخلص الاوراق الطازجة لنبات لسان الحمل *Plantago lanceolata* من خلال اتباع طريقة محورة عن الطريقة الميكانيكية المعتمدة على سحن الاوراق الطازجه والاستخلاص البارد للعصير ثم تحضير تراكيز متدرجة من المستخلص النباتي ودراسة تاثيره على نمو البكتريا المرضيه المسببه للالتهابات الجلدية وهي (المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، المكورات المسبحيه *streptococcus pneumonia* ، بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonus aeruginosa*، بكتريا الايكولاي *Esherichia coli*) من خلال قياس قطر منطقة تثبيط النمو حيث كان قطر منطقة التثبيط عندالتركيز 50 mg/ml هو (12 ,15, 10 ,11 ملمتر) للبكتريا اعلاه على التوالي , اما عند التركيز 100 mg/ml فكان قطر منطقة التثبيط(20,26,13,15,ملمتر) للبكتريا اعلاه على التوالي وللتركيز 200 mg / ml فكان قطر منطقة التثبيط (30,32,20,17 ملمتر) للبكتريا اعلاه على التوالي اما عند التركيز 300 mg / ml فكان قطر منطقة التثبيط (35,38,22,18ملمتر) للبكتريا اعلاه على التوالي . تم قياس الدالة الحامضيه للمستخلص وكانت تتراوح بين 5.4– 5.6 كما تم قياس ومقارنه تراكيز العناصر المعدنية في المستخلص لفترتين من حياة اوراق النبات وهي الاوراق الفتيه والاوراق الناضجه حيث كان قياس تراكيز العناصر للاوراق الفتيه (الحديد 1.26 ppm , الكالسيوم 12.5ppm البوتاسيوم 34.2ppm , الزنك 0.198 ppm) ، اما في الاوراق الناضجه فكان تراكيز العناصر (الحديد 0.125ppm , الكالسيوم 5.11 ppm , البوتاسيوم 1.1 g/L ,الخارصين 3.50 ppm , النحاس 0.31ppm) .

الكلمات المفتاحية : الفعالية التثبيطية ،الالتهابات الجلدية ، العناصر المعدنية .

Detection of biological activity and inhibitory effect of the extract of *Plantago lanceolata* L. leaves on the bacteria that cause skin inflammation and the role of extract in deep wound repair

Ekhlas Gumar Abed Mustafa Muthana Abdalrazak Atlal Naje Manjy

Abstract

The biological activity and inhibitory effect of the young leaf extract of the plant *Plantago lanceolata* was detected By using a modified method inestate of mechanized method for digestion of young leaves and cold extraction of juice and then preparation of gradient concentrations of the plant extract and study its effect on the growth of skin pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* , *Streptococcus pneumuonia* , *Esherichia coli* and *Pseudomonus aeruginosa*) by measuring the diameter of the growth inhibiting region .The diameter of the inhibition zone for *Pseudomonus aeruginosa* at the concentration of 50 mg / ml were (12,15,10,11 mm), respectively, at 100 mg / ml, the diameter of the inhibition zone were (20, 26,13,15 mm) while the diameter of inhibition zone at 200 mg/ml were (17,20,30,32 mm) respectively, the diameter of the inhibition zone were (35,38,22,18 mm). The extracted pH was measured and ranged between 5.4 - 5.6 . The mineral contents was determind and compared with two life periods of plant leaves young leaves and mature leaves in young leaves were (iron 1.26 ppm, calcium 12.5ppm, potassium 34.2ppm, zinc 0.198 ppm) in matuere leaves were (iron 0.125ppm, calcium 5.11 ppm, potassium 1.1 g/L Zinc 3.50 ppm, copper 0.31ppm).

Keywords: *Plantago lanceolata*, Dermal infection, Mineral elements

المقدمة

لسان الحمل السناني نبات عشبي معمر له عدة اسماء منها (اذان الجدي) او(زمارة الراعي) ويوجد منه العديد من الانواع منها ما يسمى السناني *plantago lanceolata* والمتوسط *plantago major*ينمو على جوانب الطرق والمدقات الزراعية ، واشهره العراقي والسوري واللبناني والتركي [1] والنوع الذي نحن بصدد دراسته هو السناني plantago lanceolata ، نبات لسان الحمل تابع لعائلة Plantaginaceaeاوراقه رمحية lanceola ويشار لها lanceolata وبالانكليزي Leaf plantago narrow تنمو لغاية 30 سم طولا و4 سم عرضا خضراء اللون ، plantago تعنيpalnta وباللاتيني معناها اخمص القدم foot sole ولربما جاءت هذه التسمية كون اوراقه مسطحة وعريضة الشكل وهي التي تستعمل للاغراض الطبية قبل وقت التزهير والنبتة باكملها عند الازهار[2] ، يحتوي لسان الحمل على-2 Mucilage 6.5% وهو عبارة عن سكريات متعددة ، tanines 6.5% كذلك يحتوي aucubin 0.3-2.5% و catalpol 0.3-1.1% وهو عبارة عن تربينات احادية وثنائية الحلقة وبصورة رئيسية aucubin و catalpol ، aucubigeوخمسة انواع من phenyleethanoids وهي (cistanoide F , acteeoide , isoacteoside , plantamajoside , lavandulifolioside) كذلك يحوي النبات على مايزيد عن 1% من حامض السلسك وكذلك phenolic carboxylic acid ومن الفلافونات يحوي على luteolin , apigenin [3] .ونظرا لاحتواء النبات على التانينات فقد استخدم في الطب الشعبي لعلاج البواسير والاسهال [4] واشير الى استعمال عصارة اوراق نبات لسان الحمل في دستور الادوية الاوربي كاستعمال خارجي لعلاج الجروح وايقاف نزف الدم للبشرة المتحطمة [5] اما المستخلص الكحولي منه فيستخدم لعلاج التهاب المجاري التنفسيه العليا [6] كذلك فان عدة بحوث تدعم الاستعمال التجاري للنبات حيث اثبتت ان له القدرة على معالجة الالتهاب antioxidant Anti – inflammatory , وهذا يعود لوجود الفلافونات مثل Luteolin الذي يلعب دورا في تنشيط الانزيمات المضادة للاكسدة بواسطة كبح مسار تنشيط العامل NF-KB17 (pro-inflammatory transciptiom factor) وتثبيط التصنيع الحياتي للعوامل الاخرى [7] .

يتعرض جلد الانسان لعوامل كيميائية وفيزيائية داخلية وخارجية طوال فترة حياته فتؤدي هذه العوامل في بعض الاحيان الى تشققات وجروح وتدمير طبقات الجلد السطحية والداخلية ، مما يؤدي الى هجوم انواع من الميكروبات الانتهازية التي تسبب امراض جلدية حادة او مزمنة تؤثر على صحته وحالته النفسية وتنتشر احيانا هذه المكروبات الى داخل الجسم مسببة امراض موضعية او جهازية وعائية خطيرة [8] تمثل البكترياغالبية الميكروبات التي تستوطن جلد الانسان لفترة عابرة او مستمرة،كما يستوطن جلد الانسان في حالات مرضية مثل السكري واخماج الجلد ونقص المناعة المختلفة انواع قليلة من البكتريا سالبة الكرام وبعض الفطريات من انواع الخمائر البيضية وقد اثبتت الد راسات ان استعمال المضادات الحيوية والمطهرات وتعرض الجسم لاشعة الشمس لفترات طويلة يؤدي الى تغييرات بين انواع واعداد بكتريا الجلد و بمقدار مقاومة البكتريا لهذه المواد تتكاثر انواع معينة على حساب الاخرى كما يحدث تصادم وانتقاء حيوي بين انواع البكتريا مما يساعد على سيطرة نوع واحد او اكثر بالاستيطان في مناطق جلد الانسان المختلفة وكذلك تتشكل انواع بكتريا الجسم حسب عوامل مختلفة منها العمر ومقدار نظافة الجسم وحالته الصحية العامة .والهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن الفعالية البايولوجية والتاثير التثبيطي لمستخلص الاوراق الطازجة لنبات لسان الحمل على نمو البكتريا قيد الدراسة وقياس ومقارنة تراكيز العناصر المعدنية في النبات لفترتين من عمر النبات وهي الاوراق الفتية والناضجة .

وقد تم الاستعانة بالاستاذ الدكتور علي حسين عيسى الموسوي استاذ تصنيف النبات في كلية العلوم /جامعة بغداد في تشخيص النبات قيد الدراسة.

طرائق العمل :-

طريقة الاستخلاص البارد للاوراق الطازجة

تم جمع اوراق النبات من الحدائق العامة في بغداد ونظفت من الاتربة وغسلت بالماء المقطر وجففت وتم سحنها بالطريقة الميكانيكية لتفجير جدران الخلايا وخروج المكونات الفعالة منها وتصفية العصير الناتج بالشاش اولا ثم بورقة الترشيح نوع Whatman No.1 بعدها فصل العصير المستحصل عليه بجهازالطرد المركزي و اخذ الجزء الطافي من المستخلص وتم قياس الPH له ثم ترك ليجف بدرجة حرارة الغرفة و جمع في وعاء نظيف وحفظ بدرجة حرارة $^{+}4$ م° لحين الاستعمال .

وتم تحضير التراكيز المطلوبة (50,100,200,300mg/ml) من المسحوق المجفف بعد تحضير المحلول القياسي الاصلي بتركيز 500 mg/ ml بعدها حضر محلول مكفرلاند (McFarland) حسب:

طريقة الانتشار بالحفر (Well agar diffusion) :
استعملت هذه الطريقة لفحص تاثير المستخلص النباتي على نمو البكتريا قيد الدراسة حيث اتبعت طريقة Baur and Kirby المحورة لكفاءتها وسهولة أجرائها [9] ، استخدمت الحفر (wells) بدل الاقراص الورقية باستعمال ثاقبة الفلين المعقمة وبقطر 6 ملمتر لثقب الوسط الزرعي المستعمل وهو وسط Mueller Hintone agar بعد ان زرع الوسط بالبكتريا قيد الدراسة بطريقة فرش الحصيرة بمقدار 0.1 مل من العالق البكتيري الحاوي على ($1.5x10^8$) خلية / مللتر بالمقارنة مع محلول مكفرلاند . ثم وضع مقدار 0.1 مللتر من كل تركيز من التراكيز المحضرة من المستخلص النباتي بالحفرة واستعمل الماء المقطر كسيطرة سالبة ثم وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة 37م^{o} ولمدة 24 ساعة بعدها سجلت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط عموديا وأفقيا ثم يؤخذ معدل القرائتين .

طريقة حساب كمية العناصر المعدنية في الاوراق :
تم قياس تراكيز العناصر المعدنية في المستخلص النباتي لفترتين من حياة اوراق النبات وهي الاوراق الفتية والاوراق الناضجة بعد تجفيفيها حسب الطريقة المعتمدة [10] ، يؤخذ وزن 0.5 غم من الاوراق المجففة والمطحونة وتوضع في بيكر تفلون (Tflon) ويضاف عليها حجم 10ml من حامض النتريك وتسخن لحين الوصول الى حجم 2ml تقريبا ثم يترك ليبرد بعدها يضاف 3ml من (H_2O_2) ويسخن ايضا لحين الوصول الى حجم 2ml ثم يترك ليبرد ثم يرشح بورقة ترشيح Whatman No.1 ويغسل ب 100ml من الماء المقطر تدريجيا ، ناخذ الراشح ونقراءه بجهاز المطياف الذري لحساب العناصر المعدنية وهي الزنك والنحاس والحديد والكالسيوم والبوتاسيوم .

النتائج والمناقشة :
تم الحصول على العصير المضغوط البارد باتباع طريقة محورة عن الطريقة الميكانيكة المعتمدة على سحن الاوراق الطازجة ، حيث تم الحصول من كل 100 غم من الاوراق على 35 مللتر من العصير وبعد تركه يجف في درجة حرارة الغرفة نحصل على 3 غم وزن جاف .
وكانت درجة الحامضية للعصير البارد (pH) هي 5.4 وهذه الدرجة لها دور في تغيير حامضية الوسط الذي تعيش فيه البكتريا المرضية وبالتالي تؤدي الى القضاء عليها .
تم تحضير اربعة تراكيز من المستخلص النباتي المجفف وهي (50,100,200,300 mg/ml) ودرس تاثيرها على اربعة انواع من البكتريا المسببة للالتهابات الجلدية والجروح وهي *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Streptococcus pneumuonia* , *Pseudomonus aeruginosa*, بطريقة الانتشار في الحفرwells agarf diffusion المحورة عن طريقة كربي – باور وكانت النتائج كما موضحة في الجدول (1) انه كلما ازداد تركيز المادة المستخلصة زاد قطر منطقة تثبيط النمو البكتيري حيث حصلنا على افضل منطقة تثبيط للنمو للانواع البكتيرية الاربعة عند تركيز 300 mg/ml حيث كان معدل قطر منطقة التثبيط لبكتريا المكورات العنقوية (35mm) ولبكتريا المكورات المسبحية (38 mm) ولبكتريا الايكولاي (22mm) اما بكتريا الزوائف الزنجارية فكان معدل منطقة التثبيط هو 18mm ،اما عند تركيز 200 mg / ml فكان معدلات اقطار التثبيط لبكتريا المكورات العنقودية والمكورات المسبحية والايكولاي والزوائف الزنجارية 17 , 20,32, 30,ملم على التوالي وعند تركيز 100 mg/ml فكانت معدلات اقطار التثبيط للبكتريا المذكورة اعلاه هي 20 , 15, 13, 26 ملم على التوالي واخيرا حصلنا على معدلات اقطار تثبيط النمو للتركيز 50mg/ml لنفس البكتريا المذكورة اعلاه وكانت11,10,15,12 على التوالي . يتبين من خلال هذه النتائج انه كلما ازداد تركيز المستخلص ازداد تاثيره على تثبيط النمو البكتيري لانواع البكتريا قيد الدراسة وان تاثير المستخلص على البكتريا الموجبة لصبغة كرام (G^{+ve}) وهي بكتريا المكورات العنقودية الذهبية والمسبحية كان اكثر من تاثيره على البكتريا السالبه لصبغ كرم (G^{-ve}) وهي الايكولاي والزوائف الزنجارية حيث ان هذا يعود الى طبيعة تركيب جدار نوعي البكتريا وهذا يتفق مع ما توصل اليه Fisseha [11] . ان الفعل التثبيطي لنبات لسان الحمل ناتج عن وجود ال Aucubigenin المستحصل عليه اثناء التحلل الانزيمي عند سحن الاوراق اثناء تحضير المستخلص البارد للنبات حيث ان الحرارة تثبط التحلل الانزيمي [12] وطبقا للاستعمالات التجارية ان خلاصه الاوراق المسحوقة تجريبيا تعتبر اكثر فعاله لعلاج الجروح من نقيع النبات او تسخين الاوراق الجافة [5] Decoctions .
كذلك تم قياس ومقارنة تراكيز العناصر المعدنية لفترتين من حياة النبات وهي الاوراق الناضجة والفتية وذلك بقياسها بجهاز المطياف الذري حيث كان قياس تراكيز العناصر للاوراق الفتية كما في الجدول رقم (2)هي (الحديد 1.26، الكالسيوم 12.5 ،البوتاسيوم 2. 34الزنك 0.198 ppm) ، اما في الاوراق الناضجة فكان تراكيز العناصر (الحديد 0.125، الكالسيوم 5.11 ، الزنك 3.50، النحاس 0.31 ppm) اما البوتاسيوم فكان تركيزه 1.10 g/L، يتبين من خلال النتائج اختلاف تراكيز العناصر في مرحلتي النمو مابين زيادة ونقصان حيث ازدادت تراكيز كل من عنصري الزنك والبوتاسيوم ونقصان تراكيز كل من عنصري الحديد والكالسيوم اما عنصر النحاس فلم يكن موجود في الاوراق الفتية وظهر في الاوراق الناضجة وهذا

بالطبع يعتمد على الفعاليات الحيوية للنبات في مراحل نموه المختلفة [12] وهذه تعتبر اول دراسة في العراق لقياس تراكيز العناصر المعدنية في اوراق نبات لسان الحمل والجدير بالذكر ان وجود هذه العناصر في النبات يعزز من اهميته في كونها تلعب دورا في ترميم البشرة وسرعة التئام الجروح مما يشجع على استعمال هذا النبات في تحضير المراهم الجلدية .

جدول (1) تاثير تركيز المستخلص النباتي ونوع البكتريا على معدل اقطار تثبيط النمو البكتيري بالمليمتر

البكتريا	التركيز بوحدة ملغم / مل			
	50	100	200	300
Staphylococcus aureus	12 ملم	20 ملم	30 ملم	35 ملم
Streptococcus pneumonia	15 ملم	26 ملم	32 ملم	38 ملم
Esherichia coli	10 ملم	13 ملم	20 ملم	22 ملم
Pseudomonus aeruginosa	11 ملم	15 ملم	17 ملم	18 ملم

جدول (2) تراكيز العناصر المعدنية لمرحلتين من حياة النبات (الاوراق الفتية ،الاوراق الناضجة)

العناصر / نوع الاوراق	Fe	Ca	K	Zn	Cu
الاوراق الفتية	1.26 ppm	12.5 ppm	34.2 ppm	0.198 ppm	Nil
الاوراق الناضجة	0.125 ppm	5.11 ppm	1.10 g/L	3.50 ppm	0.31 ppm

التوصيات

1 – نظرا لاحتواء نبات لسان الحمل على العديد من المواد الفعالة فنوصي بدراسة التاثير التثبيطي لنبات لسان الحمل على الفايروسات ومنها فايروس نقص المناعة (الايدز).

2 – فصل وتنقية المركبات الفعالة بايولوجيا في نبات لسان لحمل للحصول على نتائج افضل من المستخلص الخام .

المصادر

1 - الخزرجي عمار سالم .(2008) . معجم الإعشاب الطبية . الطبعة الاولى _ دار الهادي للطباعة والنشر ص 656.

2- Boskababy,M.H. ; Rakhshandah ,H.(2006) . Antitussive of *Plantago lanceolata* in Guinea pigs . Iron J. Med SciSeptember , 31 :143-146.

3- Bowers , M.D.(1991) . iridoid glycosides in Rosenthal GA and Berenbaum MR (eds.) . Herbivers : Their interaction with plant secondary Metabolites . 2nd ed. Academic press ,Oriando ; . P. : 297-325 .

4 -) .تأثير 2002إيناس كريم هادي المحنة (مستخلصات بعض النباتات العراقية على الأحياء المجهرية المعزولة من مناطق جسمية مختلفة".رسالة ماجستير،كلية العلوم،الجامعة المستنصرية ،العراق.

5- European Medicine Agency , (2011) . Assessment report on *Plantago lanceolataL* .follium , P 5 ,: 16 .

6- LCchiang.;wching . (2002). Antiviral activity of ***Plantago major*** **extracts** and related compounds in vitro J. Antiviral Reserrch. ,55, 53_82

7- النباتات العطرية (1988 نصر ابو زيد الشحات، ومنتجاتها الزراعية والدوائية"، الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة ، مصر.

8 – Kobeasy, O.; Abdul-Fatah M.; Samiha, M.; Abd EL-Salam .; Zahrat EL-Ola, M. Mohamed. (2011) . Biochemical Studies on Plantagomajor L. and Cyamopsistetragonoloba L. Int.J.BiodversConserv,3(3):83-91.

9- Balows ,A. ; Wandepitte , J. (1987) . BenchLevel procedure Manual on basic bacteriology . W.H. O./Lab/87.1 .

10 - APHA: (American Public Health Association) (1995). Standard methods for examination of water and wastewater, Washington, DC 20036, 1193pp.

11-Fisseha Alemu .; BerhanuAndualem . (2014) , Antimicrobial Potentials and Plantagolanceolata Against Standard and Drug Resistant Human Bacterial Pathogens Internationt Journal of Microbiological .V50.130-139.

12- Hassan, A. ; A . Aseel, J.; Mohammad , Eleventh Veterinary Scientific Conference (2012) . Study the therapeutic role of Alcoholic extract of *Plantago lanceolata* against infection with *Staphlococcus saprophyticus* .8-15