دراسة الفعالية البايولوجية المختلفة لنبات حلق السبع الشجيري

شعاع صفاء عبد الله , د. ايناس محجن نعمان , رياض محمد نعمان , عذراء ثامر محسن ,

رقية اسماعيل خليل , الاء صباح علي

وزارة الصناعة والمعادن / هيئة البحث والتطوير الصناعي / مركز ابن البيطار

E-mail bitar@crid.industry.gov.iq

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة على النبات المسمى محليا حلق السبع الشجيري *Adhatoda vasica* التابع للعائلة السنفية (Acanthaceae) بعد ان جمع من حدائق جامعة بغداد / الجادرية لغرض الحصول على مستخلص نباتي له فعالية بايولوجية مختلفة باستعمال مذيبات عضوية وهي (كحول ميثانول 80% , كحول ايثانول 95%), كان أفضلها مستخلص الأوراق بكحول الميثانول. أجريت الكشوفات النوعية للمركبات الفعالة في المستخلص الميثانولي للأوراق, اعطت نتائج موجبة لوجود قلويدات ,كلايكوسيدات , تانينات تربينات , كاربوهيدرات وراتنجات .

اجري اختبار الفعاليـــة الحيوية ضد الأحياء المجهرية الممرضة بطريقة Agar well diffusion , إذ أشارت النتائج ان مستخلص الأوراق بكحول الميثانول ومستخلص الأوراق بكحول الايثانول ذو تأثير واضح علـــى البكتيريـــا السالبـــــة لصبغـــــــة كرام (*pseudomonas*) (*Escherichia coli*) والبكتيريا الموجبة لصبغـــــــة كـــرام (*Bacillus pumilus* و *Staphylococcus aureus*). اذ نجد ان البكتيريا قد ثبطت , كما اظهر المستخلص الكحولي فعالية ضد الحشرات (حشرة الدوباس) بشكل ملحوظ.

الكلمات المفتاحية: الفعالية الحيوية و *Adhatoda vasica*

Study of different biological activity of *Adhatoda vasica*

Abstract

Leaves of *Adhatoda vasica* (Family: Acanthaceae) was collected from gardens of University of Baghdad, Jadreia, Baghdad, Iraq. The extraction was done by using solvents of varied polarity. Preliminary photochemical investigations were carried out of the extracts obtained from leaves of *A. vasica*. Presence of tannins, terpenes, alkaloids, resins, glycosides, carbohydrates was detected by several tests. Agar well diffusion done to obtained the anti-bacterial activity. Methanolic extract of leaves has anti-bacteria activity against gram negative bacteria (*Pseudomonas and E. coli*) and gram negative bacteria (*Staphylococcus* , *B. pumilus*). Alkoholic extract showed pesticides activity against insects (*Ommatissus binotatus*).

Keyword: *Adhatoda vasica*, Biological activity

المقدمة

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الدوائي والصناعي والزراعي ,فهي المصدر الرئيس لكثير من العقاقير الطبية لاحتوائها على مواد فعالة تدخل في تحضير الادوية وتعد النواة للتصنيع الكيمائي لبعضها, تستعمل بعض النباتات الطبية والعطرية لأغراض اقتصادية في صنـــــاعات أخرى مثل مستحضـرات التجميل وصناعة العطور والمبيدات الحشرية [2,1]. في الآونة الأخيرة تزايد الاهتمام بالنباتات الطبية في معظم بلدان العالم لسهولة تداولها وبساطة استعمالها وكذلك لاحتوائها على مواد فعالة ذات تأثير فسلجي مع سرعة الشفاء الناتج عن هذه الاستخدامات من دون حصـول تأثيرات جانبية .ان المركبات الفعالة المصنعة كيميائيا ذات مفعول اقل تأثيرا من المركبات ذات المصدر النباتي من الناحية الفسلجية على الرغم من النقاوة العالية للمركبات المصنعه كيمياويا , فضلا عن التأثيرات الجانبية الطبية للمركبات الكيميائية المصنعه مقارنه بتأثيرات المركبات النباتية الفعالة . من النباتات الطبية المهمة والمستخدمة في علاج كثير من الإمراض (خاصة في قارة اسيا) النبات المسمى حلق السبع الشجيري (Nees) *Adhatoda vasica* والعائد للعائلة السنفية Acanthaceae وهو نبات واسع الانتشار في العالم كمنطقة حوض البحر الابيض المتوسط وشبه القارة الهندية , وقد استزرع في كثير من البلاد العربية كنبات زينه [4,3]. وهو شجيره دائمة الخضرة ذات اوراق رمحية يصل طولها الى مترين , الساق مستقيم مغطى بقلف ناعم ذو لون اخضر رمادي يحوي على فروع جانبية . الأوراق متعاكسه الموقع ذات أعناق قصيرة رمحية عريضه طويله مدببه القمة , مكسوه بطبقة شمعية من كلا الجانبين , طول الورقة (15-12.5) سم اما عرضها فهو (5-3) سم. الازهار ذات ارتباط قصير نسبيا وتتجمع في نورات وتشاهد حول قمم النبات ومغطاة بدعامة مقوسه واسعة قبل التزهير , بعد التزهير تكون الإزهار ذات لون ابيض تحوي على خط مستقيم وسطي أحيانا في منطقة الشفة للزهرة وبلون وردي او وردي محمر .تكون مدة التزهير من شهر اب وحتى شهر كانون الأول إما مدة الإثمار فتكون من شهر تشرين الاول وحتى شهر شباط وذلك في البيئات الاستوائية وشبه القارة الهندية [5] اما في البيئة العراقية فنجده يتراوح

من (1-3) متر ارتفاعا اما ابعاد الورقه فأنها تتراوح من(5 - 10) سم عرضا و (15-25) سم طولا والازهار ذات لون ابيض اما بالنسبة لبداية التزهير فأنها تكون في شهر اذار [6] .يحتـــوي النبـــات بصـــورة اساسيـــة على مـــادة مـــرة قلويـــــةهي قلويـــــد Vasicine (Peganine) وتركيبه الكيمياوي { $C_{11}H_{12}N_2O$ }فضلا عن حامض عضوي هو Adhatodic Acid [7] كمـا يحتـوي على مركبات ثانوية هي: deoxy vasicine والمسمى بالـ vasicinone والموجود بكمية كبيرة في الجذر, فضلا عن وجود زيت طيار بكمية قليلة في الاوراق وتوجد مواد اخـرى فـي اجزاء النبات الكلي بصورة عامة هي : السكر وصمغ وشمع ودهن (Lipid) وراتنجات وكلوروفيل [8].ان للنبات استخدامات علاجية واسعة ومهمه وخاصة في مناطق نموه المحلـــي اذ تستخدم الازهـار كمضـــــاد للالـــم (Antispasmodic) لعلاج المغص ولعلاج التهاب العيون وارتفاع الحمى بانواعها فضلا عن علاج مرض السيلان و تستخدم الاوراق لعلاج الاصابة بالديدان الشريطية (Tap Worm) حيث تعد قاتلة وطاردة للديدان, تستخدم لعلاج الزحار والاسهال بشكل عام [8], تستخدم موضعيا لعلاج النزف الحاصل بسبب التلف في تكون الصفحيات الدموية Thrombocytobenic purpura [9], تستخدم الاوراق لعـــــلاج حـــــالات نـــزيف اللثـــة (Pyorrhea) وكذلك لعـــــلاج نـــــزيف دم الحيـــض الزائـــــد عن الحـــد الطبيعـــي (Menorrhagia), تستخدم كطارد وقاتل للحشرات (insecticidal) [10] وتستخدم الاوراق لعلاج حالات الربو القصبي وكموسع للقصبات ولعلاج الام الصدر الناتجه عن الالتهابات الصدرية [11] . الجذور (قلفها)Root Bark قلف الجذور والاوراق تستخدم الجذور لعلاج التدرن الرئوي والامراض الجلدية مثل: الجرب والجذام والحكة الجلدية , هناك امراض تعالج بواسطة هذين الجزأين النباتيين حيث تستخدم مستخلصاتها كمضادات بكتيرية للبكتيريا العصوية *Bacillus sp.* وللمايكوبلازما *Mycoplasma* [12].

نبات حلق السبع الشجيري

العملي:-

الأجهزة:-

اسم الجهاز		المنشأ
Electrical Balance	ميزان كهربائي	DENVER
Soxholetمنظومة استخلاص الزيوت الثابتة		Selecta
Shakerالحاضنة الهزازة		SI-600R/ Korea
فرن حراري تحت ضغط مخلخل Oven under Vacuum		Pars Azma.co
Grinderطاحونة		China
Spray Dryer المجفف الرذاذ		Büchi/ Switzerland
Autoclaveالمؤصدة		HACLAVE
Biological hoodهود بايولوجي		FineTech
Incubatorحاضنة		LabTEch

المـــــواد:-

Adhatoda vasicaL.	نبات حلق السبع الشجيري
Ethanol/HAYMAN /U.K	كحول الايثانول 95%
Methanol/HAYMAN /U.K	كحول الميثانول 80%

Bacteria -:أنواع البكتيرية

مركز ابحاث ابن سينا	*Staphylococus aureus*
مركز ابحاث ابن سينا	*Escerichia coli*
مركز ابحاث ابن سينا	*Pseudomonas*

الرقابة الدوائية فئران مختبرية Albino mice سلالة Balb/c

جمع عينات النبات والتصنيف.

أ - جمعت الأجزاء النباتية من نبات حلق السبع الشجيري *Adhatoda vasica* من حدائق جامعة بغداد وشخصت في قسم علوم الحياة- كلية العلوم –جامعة بغداد ,جمعت الأجزاء النباتية الفتية غير المصابة وغير الذابلة وغير المهاجمه من قبل الحشرات وعند وجود أجزاء مصابة مع الأجزاء النباتية المجموعة ازيلت ونظفت من الأتربة والمواد الملوثة لأجزاء النبات. خزنت الأجزاء النباتية وجففت بدرجة حرارة الغرفة (الظل) لاستخدامها, وتحت ظروف مسيطر عليها كمنع درجات الحرارة العالية عن اجزاء النبات المجموع وفي مكان غير رطب مع وجود نسبة تهوية جيدة وبعد جفافها حفضت في علبة بلاستيكية غير ملوثة . اجريت هذه العمليات من اجل ضمان منع الاجزاء النباتية من اي تغيرات كيميائية محتملة او تعرضها للتلوث بالاحياء المجهرية .

ب -السلالات البكتيرية المستخدمة في الدراسة:- اختيرت عدة سلالات بكتيرية مثل المكورات الذهبية *Staphylococcus aureus* الموجبة لصبغة كرام والبكتريا العصوية *Bacillus pumilus* الموجبة لصبغة كرام وبكتريا القولون *Escerichia coli* السالبة لصبغة كرام وبكتريا *Psedomonas spp* السالبة لصبغة كرام ,حصلنا على جميع العزلات من مركز أبحاث ابن سينا التابع لهيأة البحث والتطوير الصناعي.

ت تحضير المستخلصات النباتية:-

1 - <u>تحضير المستخلص الكحولي الميثانولي الخام للأوراق</u> **.**

وزن (100) غم من مسحوق الأوراق الجافة ووضع داخل كشتبان (Thimble) مغلق الجانبين ووضعت العينة في جهاز السكسوليت (Soxhlet) وأضيف له كحول الميثانول

وبتركيز(80%) وبحجم (500) مل وترك النموذج في كحول الميثانول لمدة (24) ساعة ,اجريت عملية الاستخلاص بشكل مستمر لمدة (16) ساعة . اخذ المستخلص ورشح بورق ترشيح نوع whatman No. 1 , ركز المستخلص باستخدام جهاز المبخر الدوار (Rotary evaporator)وبدرجة حرارة (50 مئوية) ثم جمع المستخلص المركز [13].

2- تحضير المستخلص الكحولي الايثانولي الخام للاوراق:-

وزن(100) غم من مسحوق الاوراق , نقعت في (250) مل ايثانول (95%) مع الرج المستمرة لمدة (24) ساعة , رشح بورق ترشيح whatman No. 1, ركز بالمبخر الدوار بدرجة (50 مئوية).[13]

ث- فحص الفعالية البايولوجية :

استخدمت طريقة الانتشار بالحفر وذلك لاختبار فعالية المستخلصات ، حيث نشطت الانواع البكتيرية في وسط (Nutrientbroth) اذ حضر(250) مل من الوسط المذكور بحسب تعليمات الشركة وعقم بجهاز المؤصدة Autoclave بدرجة حرارة(121مئوية) لمدة (15) دقيقة وترك ليبرد بدرجة (25مئوية) ولقح بـ (1) مل من عالق الخلايا البكتيرية المذكورة مسبقا كلا على حده , حضر(250) مل من وسط (Muller Hinton agar) عقم وترك ليبرد بدرجة (25مئوية) ولقح بـ (1) ملمن عالق الخلايا البكتيرية , صب (20) مل من الوسط لكل طبق زجاجي قياس(9) سم تركت الاطباق لتبرد , عمل عدد من الحفر لكل طبق بقطر(8) ملم لكل حفرة , اضيف (100) مايكروليتر من المستخلص لكل حفرة باستخدام ماصة دقيقة , عملت حفر لمقارنة المستخلصات بالمضادات الحيوية .[14]

ج - فحص السمية :

اجري فحص السمية للمستخلص الكحولي لنبات حلق السبع على الحيوانات المختبرية (الفئران) على ثلاث مجاميع , كل مجموعة تحتوي على ثلاث فئران وبتراكيز مختلفة بواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز, (10%),(20%), (40%) اعطي المستخلص الكحولي بطريقة (Intrapretonial) تحت الغشاء البطني تحت الجلد بكمية (0.1-0.2) مل لمرتين في اليوم , تركت الفئران تحت التجربة لمدة (72) ساعة, خلال هذه الفترة وضعت تحت المشاهدة العينية لمتابعة سلوكها والتغيرات التي تطرأ عليها .[15]

المناقشة

اجري الكشف عن المجاميع الفعالة وثبت وجود مجاميع كلايكوسيدات وتانينات وراتنجات وتربينات وكاربوهيدرات والقلويدات جدول (1).

جدول رقم (1) الاختبارات النوعية الكيميائية لمستخلص نبات حلق السبع الشجيري

الكشوفات النوعية											
العفصيات	الكاربوهيدرات	الكلايكوسيدات	الفينولات	الراتنجات	الفلافونويدات	الصابونين	القلويدات	البروتينات	الكومارينات	تربينات	ستيرويدات
+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-

اجري فحص السمية للمستخلص الميثانولي وكانت نتائج فحص السمية غير سامة للتراكيز الواطئة اقل من(10%) اما في حالة التراكيز الاعلى (20-40%) كانت سامة وتزداد السمية كلما زادت نسبة التركيز , مما يشير الى توخي الحذر في استخدامه على الصعيد البيطري والبشري كما في الجدول رقم (2).

جدول رقم (2) يوضح فحص السمية لمستخلص نبات حلق السبع الشجيري

	عدد الفئران	التركيز	كمية المستخلص	المدة الزمنية	النتائج
المستخلص الكحولي لنبات حلق السبع	3	%10	(0.2-0.1) مل	72 ساعة	غير سام
المستخلص الكحولي لنبات حلق السبع	3	%20	(0.2-0.1) مل	72 ساعة	سام
المستخلص الكحولي لنبات حلق السبع	3	%40	(0.2-0.1) مل	72 ساعة	سام جدا

Bacteria	Sample1 mg/ml	Sample2 mg/ml	Positive control mg/ml (Gentamycin)
E. coli	10mm	-	14mm
S. aureus	-	11 mm	14mm
B. pumilus	12mm	-	15mm
Pseudomonas	-	14 mm	13mm

تبين النتائج ان المستخلص الخام المستحصل من المعاملة الكحولية لنبات حلق السبع الشجيري اظهر فعالية ضد بكتيريا*pseudomonas* بهالة تثبيط (14) ملم, وفعالية ضد بكتيريا *staph.* بهالة تثبيط (11) ملم و بكتيريا *bacillus* بهالة تثبيط (12) ملم وبكتيريا *E. Coli* (10) ملم جدول (3) الذي يوضح تأثير المستخلص الكحولي لنبات حلق السبع الشجيري على البكتريا .

جدول (3) الفعالية المايكروبية لحلق السبع ضد انواع من البكتريا

أن تأثير المستخلصات النباتية على الانواع البكتيرية يتم بآلية مماثلة لعمل العقاقير المضادة للبكتريا, اذ تعمل على تثبيط صنع الجدار الخلوي للبكتريا ,او تثبيط صنع البروتين, والاحماض النووية التي تحتاجها الخلايا البكتيرية بصورة اساسية , او تثبيط صنع الغشاء البلازمي[16], ويعود السبب في تاثير المستخلص الخام على نمو البكتريا لاحتوائه على القلويدات مثل الفازيسين ومشتقاته التي تعمل كمضادات للاحياء المجهرية [6] ,ولاحتوائها على التانينات التى تعد مواد مثبطة لنمو البكتريا , يحتوي النبات على الراتنجات التي تكون مواد مطهرة قوية [17] , كوفحت حشرة الدوبـــــاس باستخـــــدام المستخلص الكحولي لنبات حلق السبع واظهرت النتائج فعالية ضد الدوباس[18,10] بحســـــب النتائـــــج المذكـــــورة في الجدول رقم (4) .

جدول (4) الفعالية البايولوجية لمستخلص نبات حلق السبع ضد حشرة الدوباس

المكررات	عدد الحوريات لكل بادرة قبل المعادلة	عدد الحوريات المقتولة بعد			عدد الحوريات الحية بعد المعاملة
		24ساعة	28 ساعة	72 ساعة	
r1	10	10	-	-	0
r2	10	5	2	1	2
r3	10	10	-	-	0
r4	10	10	-	-	0
r5	10	10	-	-	0
r6	10	10	-	-	0
r7	10	10	-	-	0
r8	10	10	-	-	0
r9	10	7	2	0	1
r10	10	5	0	1	4
المعدلات	10	8.7	0.4	0.2	0.7

الاستنتاجات:-

1 -ان لمستخلص الأوراق الكحولي فعالية ضد أنواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

2 -ان التراكيز الواطئة للمستخلص الكحولي غير سامة بينما تزداد السمية كلما زاد التركيز.

3 -اظهر المستخلص الكحولي للأوراق فعالية ضد حشرة الدوباس .

التوصيات :-

1 -دراسة رفع كفاءة المستخلص وتهيئته بشكل مبيد من خلال زيادة التركيز وإضافة مادة ناشرة ومثبته له ليكون اكثر فعالية في الحقل .

2 -دراسة مستخلص نبات حلق السبع الشجيري على نطاق مكافحة آفات النخيل (الدوباس, الحميرة , عنكبوت الغبار).

3 -إجراء التشخيص بشكل أوسع و ادق باستخدام تقنية GC mass.

4 -التوسع في إجراء البحوث التطبيقية على الجوانب الطبية للنبات كونه من النباتات الطبية لما يحتويه من مواد فعالة ذات اثر علاجي بحسب المصادر العلمية .

المصادر (References)

1. Amrit, P.S. (2004). *Adhatoda vasica* Therapeutic monograph.
2. قطب ، فوزي طه (1981) .النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها - دار المريخ للنشر - الرياض
3. محمد,علي صادق والموسوي,انتصار حسين . (2007) تاثير مستخلص اوراق نبات حلق السبع الشجيري Adhatoda vasica. ضد بعض انواع البكتريا الملوثة للجروح بواسطة استخدام اختبار الحساسية.
4. المنظمة العربية للتنمية الزراعية (AOAD) (1988) .النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي - الخرطوم.
5. Kahwal, P., Bhatia, M.S., Thappa, R.K. and Dhar, K.L. (1983). Seasonal Variation of Alkaloid of *Adhatoda vasica*. J. planta Medica, 48: 81 - 82.
6. البالاني , ماجد رشيد مجيد . (2003) تاثير المستخلصات النباتية الخام وقلويد الفازسين لنبات حلق السبع *Adhatoda vasica* . أطروحة ماجستير . كلية العلوم / قسم التقنيات الاحيائية / جامعة بغداد.
7. Reynolds, James E.F. (1982). Martindale The Extra pharmacopoeia , Twenty-eight Edition. London.

8. Taha, K.F. (1983). Medicinal plant in Libya. Arab Encyclopedia house. Tarabols, Libya, 158-160.
9. Vinothapooshan, G. and Sundar, K. (2010). Wound healing effect of various extracts of *Adhatoda vasica*. International Journal of Pharma and Bio sciences, 1(4): 530-536.
10. Zwenger, S., Basu, C. (2008). Plant terpenoids: applications and future Potentials. Biotechnol. Molr. Biol. Rev., 3(1): 001-007.
11. Bulk Herbs, Asthma Support (2004). Indian vasak leaves powder (*Adhatoda vasicia; Justicia adhatoda;*Malabar). P: 3-5.
12. Pioneer Enterprise Company,(2001). www.pioneer herb. Com.
13. Indian herbal pharmacopoeia, (vol. I) , (1998). A joint publication of Regional Research Laboratory, Council of scientific & Industrial Research . Jammutawi.p:1-10
14. Dey, S.K., Banerjee, D., Chattapadhyay, S. and Karmakar K.B. (2010). Antimicrobial activities of some medicinal plants of West Bengal. Int. J. Pharma BioSci. 1(3).
15. Hamilton, M.A., Russo, R.C. and Thurston, R.V. (1997). Trimmed sperman- korber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassay. *J. Envir. Sci. Technol* 11(7): 714-719.
16. Laurance, D.R., Bennett, P.N. and Brown, M.J. (1997). Clinical Pharmacology.8ed. Churchill Livingstone. London. 250-260.
17. رفعت , محمد . (1988) قاموس التداوي بالاعشاب – دار البحار- بيروت .
18. Kokate, C.K., Apte S.S., Ashok, R. (1985). Ant-insect & juvenoidal activity of phytochemicals derived from *Adhatoda vasica*. Indian J. Natural Product 1(2) Kakataiya University; India. (ABS)..M'.