تشخيص المكونات الفعالة في أجزاء نبات لسان الحمل السناني *Plantago lanceolata* L. المختلفة ، ودراسة فعاليتها المضادة للبكتريا.

صدام حسين فاضل المعاضيدي

كلية العلوم - جامعة الأنبار / 1 العنوان البريدي saddam_chemistry@yahoo.com

الخلاصة:-

أظهرت نتائج الكشوفات النوعية الكيميائية على نبات لسان الحمل السناني (*Plantago Lanceolata* L.) العراقي ولكل من (الأوراق ، الساق ، النورات و حامل النورات) وجود التانينات ، القلويدات ، الكلايكوسيدات ، الصابونيين ، الكاربوهيدرات ، الأحماض الامينية ، الفلوباتانينات ، الفلافونويدات ، الستيرويدات ، الفينولات ، الراتنجات و الكلايكوسيدات الايريدويدية وبشدة لونية متباينة.

تم إجراء فحص الرقم الهيدروجيني pH للمستخلصات المائية لأجزاء النبات المختلفة حيث كانت للأوراق (7.5) وللساق (7.2) في حين كانت للنورات وحاملها (7.3).

كما وأظهرت نتائج دراسة اختبار الفعالية المضادة للمستخلصات المائية المحضرة (للتراكيز 0.5 ، 1 ، 10 ، 25 ، 50 ، 100 ملغم/مل) ضد نمو ثلاث أجناس من البكتريا هي *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* ، تأثيراً تثبيطياً متفاوتاً كان أكثرها للمستخلص المائي للأوراق عند التراكيز 1 ،10 ،50 ،100 ملغم/مل حيث كانت أقطار التثبيط (7 ، 9 ، 15 ، 20 ملم) على التوالي ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* . وأظهرت نتائج تقدير التركيز التثبيطي الأدنى (Minimum Inhibitory Concentration MIC) لهذة المستخلصات إمكانية متفاوتة للمستخلصات على تثبيط نمو هذة الأجناس من البكتريا حيث كان أفضلها لمستخلص الأوراق عند 0.5 ملغم/مل.

المقدمة -:

تعد عملية المعالجة من الأمراض من أكثر الصعوبات التي تواجة الرعاية الصحيةِ في الوقت الحاضر وذلك لعدم توفر علاجات تمِيلُ إلى أن تكون ذات جوانب علاجية متعدّدةَ و آمنة، وكان هذا من جملة الأهداف المهمة التي أفرزتها دراسات العلاج باستخدام النباتات الطبية بالمقارنة مع العلاج باستخدام عقارات ذات مصادر غير طبيعية، بالرغم من ذلك لا تزال مثل هذة الدراسات دون المستوى المطلوب ولا تلبي الاحتياجات البشرية من المملكة النباتية الكبيرة وما تحوية من استخدامات طبية تكاد أن تغطي غالبية الأمراض[1].

اتجهت الدراسات الحديثة إلى تطوير طرائق استخلاص العقاقير وتحضيرها من النباتات الطبية المهمة ولجأت إلى استخدام مكوناتها الفعالة بشكل مباشر أو غير مباشر بوصفها عوامل علاجية أولية تدخل في الصناعة الدوائية[2].

هدفت الدراسات والبحوث الحديثة إلى استخدام النباتات الطبية كبديل احتياطي للمضادات الحيوية بالأخص تلك السلالات الجرثومية التي أبدت مقاومة ضدها نتيجة للاستعمالات العشوائية وغير المدروسة لهذة المضادات[3]. ومضادات للملاريا[4] وفي علاج مرض التدرن[5]، كما وأثبتت النباتات الطبية فعالية عالية تجاة عدد من المسببات المرضية[6،7،8]، في حين بينت دراسة حديثة على أن أكل الثوم المطبوخ يعطي مقاومة ضد الأنفلونزا وبالأخص نوع بي وكذلك ضد بعض الفطريات والبكتريا[9]. أما في مجال استخدام النباتات لعلاج مرض نقص المناعة المكتسبة (AIDS) فقد أجري اختبار لسبعين مستخلصاً لأكثر من واحد وعشرين نباتاً طبياً ينمو في اثيوبيا في تثبيط نمو فيروس(HIV) المسبب لهذا المرض وجدوا أن ستةً من هذة المستخلصات التي استخدمت بتراكيز غير سمية على الخلايا أدت إلى تضعيف هذا الفيروس[10].

تحوي النباتات والأعشاب الطبية مواد كيميائية ناتجة عن عمليات الايض الثانوية تمتاز بفعاليتها ضد العديد من مسببات الأمراض[11]، ولهذة المكونات استخدامات لا حصر لها منها استخدام الفلافونويدات مضادات للأكسدة ولعلاج السرطان[12] كما وأثبتت التانينات فعاليتها كمضادات للفطائر والخمائر[13] والكلايكوسيدات مضادات لمسببات الكآبة والنسيان[14] في حين أثبتت القلويدات نجاعتها في علاج حالات مرضية كثيرة منها امراض التنفس المزمنة وغيرها[15]، ومن أصناف المكونات المهمة الأخرى المتواجدة في النباتات الكلايكوسيدات الايريدويدية ولها فوائد كثيرة منها قابليتها على طرد المركبات السمية[16] فضلا عن إمكانيتها في ردع المسببات الفطرية[17] ومضاداتٍ للاتهابات[18].

نبات لسان الحمل السناني (*Plantago Lanceolata* L.) من الفصيلة الحلمية (Plantaginaceae)، من النباتات العشبية المعمرة ينمو في الأراضي الخصبة في ظلال الأشجار المعمرة ، ذو نظام جذري وتدي سميك يحوي على تفرعات كثيفة. أوراقة على شكل حربة مخططة طولياً وتُعد من الأجزاء الخضرية الرئيسية في النبات وةي من النوع البسيط القاعدي، أبعاد الورقة تتراوح ما بين (5 – 20سم) للطول و (2 – 8سم) للعرض، أما ساق النبات فةي قصيرة يتراوح طولةا ما بين (5 – 20سم). أزةار النبات صغيرة سمراء نَوّرية متداخلة وةي ذات نظام سنبلي جالسة على رأس ساق طويل. يبلغ ارتفاع النبات حوالي (20 – 80 سم)[19]، نجحت زراعتة في العراق مؤخراً [20].

الأجزاء المستعملة من نبات لسان الحمل السناني الأوراق والجذور، والنشاطات الحيوية للمكوّناتِ الرئيسةِ لة كثيرة، وذلك لفعاليتة كمضاد للجراثيم ولتأثيرة المضاد للتحسس بسبب نشاطة ضِدّ إطلاقِ القستامينَ مِنْ الخلايا الحلميةِ، وتاثيراتة العلاجية المضادة للالتةابات. وتعزى التأثيراتَ العلاجّيةَ لعشبةِ لسان الحمل بشكل رئيس إلى المكوّناتِ الرئيسةِ Aucubin و Catalpol و Actioside و Plantaginin و Plantamajoside، كما ويحوي نبات لسان الحمل ةرموناً جراحياً يجعلة مفيداً جداً في معالجة أنواع كثيرة من الجروح ، ولعلاج عضة الحيوانات كالكلاب ولسعة الحشرات (كالنحل والزنابير) ، وتستعمل الأوراق المةروسة لمعالجة التةاب الدوالي في الساقين و كذلك تستخدم أوراق النبات لالتةاب الأذن، البسيط والمتوسط الشدة بتقطير بضع نقط من عصير الأوراق الغضة في داخل الاذن ويستعمل الشراب أو المستحلب أو العصير لمعاجلة الأمراض الصدرية وعلى الأخص السل والسعال الديكي والربو ولمعاجلة سوء القضم من اضطرابات المعدة أو الكبد والإسةال ولطرد الديدان المعوية ولمعالجة التةاب المثانة وحرقان البول والتبول الليلي ، ولتقوية البنية والدم عند الضعفاء من الأطفال والأحداث، ولعلاج الإسةال [20].

المواد وطرائق العمل:-

المواد

جميع المواد المستخدمة ذات نقاوة عالية ومجةزة من شركات عالمية معروفة(Merck-Switzerland و BDH-England وFluka-Switzerland وLAB Scan-England)

الأجةزة المستخدمة

ميزان حساس (HR 200-Germany)، جةاز طرد مركزي (نابذ) (Centrifuge (Model 302K)-SIGMA-Germany)، حمام مائي (ModelGK123H) Water Bath)، مقياس الدالة الحامضية (Philips-Japan) ، مطحنة كةربائية (Moulinex (France))(Mortar)، صفيحة تسخين كةربائية ذات محرك مغناطيسي Hot plate-Magnetic Stirrer (Stuart scientific-UK) ، فرن كةربائي (Oven) (Model BU 53-MEMMERT-Germany).

تحضير المحاليل:

حضرت مجموعة من المحاليل استخدمت في الكشوفات الكيميائية المختلفة وفيما يلي طرائق تحضير ةذة المحاليل:

كاشف تريم-ةيل Trim-Hill Test

حضر من مزج المحاليل (10ml conc. Acetic acid*(Sp. Gr. =1.05, %=99.5%)* + 1ml 0.2% $CuSO_4$ + 0.5ml conc. HCl*(Sp. Gr.=1.18, %=35%)*)[21].

كاشف بندكت Benedict's Test

حضر بإذابة 173 غم من سترات البوتاسيوم و100 غم من كاربونات الصوديوم اللامائية في حوالي 800 مل من الماء المقطر مع التسخين ، برد المحلول ثم رشح و أضيف الراشح إلى محلول كبريتات النحاس المحضر من إذابة 17.3 غم في 100 مل من الماء المقطر وأكمل مزيج المحلولين إلى 1000 مل[22].

كاشف دراكندروف Dragendroff Regent

المحلول الأول:- وزن 0.6 غم من نترات البزموث أذيب في 2 مل من حامض القيدروكلوريك المركز وأكمل الحجم إلى 10 مل بالماء المقطر.

المحلول الثاني:- حضر بإذابة 6 غم من يوديد البوتاسيوم تذاب في 10 مل ماء مقطر.

مُزج كلا المحلولين أعلاة و أضيف للمزيج 7 مل من حامض القيدروكلوريك المركز وأكمل المحلول النةائي إلى 400 مل بالماء المقطر[21].

جمع وتصنيف النبات.

جمع النبات طازجاً من مناطق نموة في حقول مدينة الرمادي أثناء فترة النضوج (شتر شباط و آذار) ، وصنف في جامعة الأنبار / كلية التربية-للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة.

تجفيف النبات وطحنة

فرقت الأجزاء المختلفة للنبات (الأوراق ، الساق ، النورات و حامل النورات) جففت الأجزاء المختلفة للنبات باستخدام الفرن الكترربائي (Oven) بدرجة حرارة ((40-50 م°). حيث غسل النبات الماء العادي، ثم المقطر، نشر النبات المغسول على ورق ترشيح كبير للتخلص من ماء الغسيل ، ونقل النبات إلى جهاز التجفيف ونشر بشكل جيد على المشابك الحديدية وضبطت درجة الحرارة ضمن المدى (40-50 م°) وهي درجة الحرارة المثلى للمحافظة على المواد الفعالة في النبات، وترك النبات لمدة كافية تضمن الجفاف التام وتم التأكد من تمام الجفاف وذلك من سهولة كسر النبات، وبعد أن تم التأكد من تمام الجفاف كسر النبات إلى أجزاء صغيرة، طحن جيداً باستخدام المطحنة الكهربائية (كل جزء من الأجزاء الثلاثة على حدة)، كما تم استخدام كبريتات الأمونيوم مع النبات المطحون بنسبة 0.01 غم لكل 100 غرام من النبات المطحون لتثبيط فعالية الأنزيمات المحللة للكلايكوسيدات، ثم نقل النبات المطحون إلى حاوية معقمة وذات سداد محكم وأحتفظ بة في مكان بارد وبعيد عن الضوء لحين استخدامة في الجزء العملي[23].

الاستخلاص بالماء المقطر بدرجة حرارة الغرفة25±2

وزن 18 غم من المسحوق الجاف للأجزاء المختلفة للنبات قيد الدراسة (الأوراق ، الساق ، النورات وحاملها)وأضيف لة150 مل من الماء المقطر ثم ترك على جهاز التحريك المغناطيسي لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة بعدها فصل المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة واخذ الراشح وعقم بأوراق ترشيح قياس m 0.45µ ووضع في جفن خزفية وجفف باستخدام الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 40 مْ بعدها جمع الناتج النهائي للمستخلصات (الثلاثة) وأعطيت الأرقام (1 و 2 و 3 على التوالي)وحفظ بدرجة حرارة الانجماد لغرض الاستخدام لاحقا[24].

الكشوفات الكيميائية

1-الكشف عن التانينات Tannins

أضيفت عدة قطرات من محلول كلوريد الحديديك الكحولي الى0.5 مل من المستخلص الأولي المائي،وعد ظهور اللون الأخضر أو الأزرق الغامق دلالة على وجود التانينات[25].

2-الكشف عن القلويدات Alkaloids

أضيفت عدة قطرات من كاشف دراكندروف الى1مل من المستخلص الأولي المائي المحمض0.1N من حامض الهيدروكلوريك المركز،وعد تكون الراسب البرتقالي دليلاً على وجود أشباة القلويدات[21].

3-الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides

وضع 1 مل من المستخلص الأولي المائي في أنبوبة اختبار،وأضيف إلية 2مل من محلول بندكت، رج جيدا ووضعت في حمام مائي مغلي لمدة 5دقائق ،بردت الأنبوبة،فلوحظ تكون راسب احمر وهو دلالة على وجود مركبات الكلايكوسايدات[22].

4-الكشف عن الصابونيين Saponins

اعتمدت طريقتين لتشخيص وجود الصابونين وذلك برج المحلول المائي للمستخلصات الأولية بشدة في أنبوبة اختبار واستدل على وجود الصابونيين بظهور رغوة كثيرة ويبقى فترة طويلة ،أو أضيف 3 مل من محلول كلوريد الزئبقيك الى 5 مل من المستخلص المائي إذ دل ظهور راسب ابيض على وجود الصابونيين[21].

5- الكشف عن الكاربوهيدرات Carbohydrates

أضيفت قطرتان من محلول الفا-نفثول الى2 مل من محلول المستخلص الأولي في أنبوبة اختبار وتم رج الخليط جيدا ثم أضيف على جدران أنبوبة الاختبار الداخلية 1مل من حامض الكبريتك المركز تكون طبقتين من المحلول إلى الأعلى والحامض إلى الأسفل وظهور حلقة بنفسجية ملونة عند السطح الفاصل دليل وجود الكاربوهيدرات[22].

6- الكشف عن الأحماض الامينية Amino acids

أضيفت قطرات من محلول النتدرين 0.2 % إلى 1مل من محلول المستخلص الأولي في أنبوبة اختبار وترك يغلي لمدة دقيقتين ، ظهور اللون الأرجواني او الأصفر بالنسبة للحامضين الامينين برولين وهيدروكسي برولين دلالة على وجود الحوامض الامينية[26].

7- الكشف عن الراتنجات Resins .

أضيف 50 مل من الكحول الاثيلي المطلق إلى 5 غم مسحوق نبات المجفف سابقاً وترك في حمام مائي مغلي لمدة دقيقتين ، رشح وأضيف للرائق 100 مل ماء مقطر محمض بـ4%حامض الهيدروكلوريك حيث لوحظ تكون عكرة[27].

8- الكشف عن الفلوباتانينات Phlobatannins.

تم غلى 0.5 غم من المسحوق النباتي في 50 مل ماء مقطر ، رشح المحلول وترك ليبرد، غُلى 10 مل منة مع 1 مل من 1% حامض الهيدروكلوريك ،وترك ليبرد حيث انفصل راسب احمر[28].

9- الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids.

أضيف 5 مل من الامونيا المخففة (3M) إلى 10 مل من المستخلص المائي للنبات تبعة إضافة بضع قطرات من حامض الكبريتيك المركز حيث لوحظ تكون لون اصفر[29].

10- الكشف عن الستيرويدات Steroids .

حُضر مستخلص ايثانولي من الأجزاء المختلفة من النبات بنفس طريقة تحضير المستخلص المائي الوارد في فقرة الاستخلاص الرئيسية وذلك باستبدال الايثانول بدلاً عن الماء كمذيب ثم مزج 0.5 غم من المستخلص الايثانولي الخام الصلب مع 2 مل حامض الكبريتيك المركز وأضيف لة 2مل حامض الخليك اللامائي ولوحظ تكون لون يتدرج بين بنفسجي-أزرق-أخضر[21].

11- الكشف عن الفينولات Phenols .

كشف عن الفينولات بإضافة 2 مل من 1% كلوريد الحديديك إلى 3 مل مستخلص مائي ثم أضيف لة 2مل من1% فري-سيانيد البوتاسيوم ، لوحظ تكون لون أخضر مزرق قاتم[21].

12-الكشف عن الكلايكوسيدات الايريدويدية Iridoids Glycoside .

تم وزن 1 غم من النبات الطازج وقطع إلى قطع صغيرة ووضع في أنبوبة اختبار، وأضيف لة 5 مل من1% حامض الهيدروكلوريك وترك لمدة تتراوح بين 3-6 ساعات، ونقل 0.1 مل من السائل المنقوع إلى أنبوبة اختبار تحتوي على 1 مل من كاشف تريم-هيل حيث لوحظ تكون لون أزرق دليل وجود الكلايكوسيدات الايريدويدية[21].

13- قياس الرقم الهيدروجيني.

مزج 10 غم من المسحوق النباتي مع 100مل ماء مقطر باستخدام الخلاط الكهربائي لمدة 10 دقائق ، رشح وقيس الرقم الهيدروجيني باستخدام pH-meter[30].

الدراسة الحيوية

البكتريا

تم استخدام ثلاثة أجناس من البكتريا المرضية إحداثا موجبة لصبغة كرام Gram positive وهي *Staphylococcus aureus* والاثنتين الأخريين سالبتين لصبغة كرام Gram negative وهي *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* عزلت البكتريا أعلاة من حالات مرضية في مستشفى الرمادي العام في الرمادي وصنفت في مختبر الصحة المركزي / ساحة الأندلس-بغداد.

اختبار حساسية البكتريا للمستخلصات المحضرة

استخدمت طريقة الانتشار حول القرص على أطباق وسط الآكار لدراسة القدرة التثبيطية للمستخلصات المحضرة تجاة العزلات البكتيرية قيد الدراسة (plate agar disc diffusion method)[31].

تحضير أقراص المستخلصات

حضرت التراكيز خمسة (0.1 ، 1، 10 ، 50 و 100 ملغم/مل) للمستخلصات المحضرة في المذيب Dimethyl sulfoxide (DMSO)، حضر لكل تركيز من التراكيز أعلاة 50 قرصاً من ورق الترشيح بقطر (6 ملم) في أنابيب

زجاجية نظيفة ومعقمة بالموصدة لمدة (15 دقيقة) ثم أضيف إليها (1 مل) من المحاليل أعلاة، رجت الأنابيب باستخدام الخلاط Mixer لتوزيع المادة بالتساوي على الأقراص، جففت الأقراص بوضعها في الحاضنة بدرجة(40°م) لمدة (48 ساعة). حضر نموذج السيطرة (Control) لمذيب DMSO بإضافة (1 مل) إلى (50) قرصاً ورقياً معقماً. كررت عذة العملية ثلاث مرات لكل مستخلص من المستخلصات تحت الدراسة ، يبن الجدول (2) نتائج اختبار حساسية البكتريا لتراكيز المستخلصات المختلفة المحضرة.

تقدير التركيز التثبيطي الأدنى (MIC)

Determination of Minimum Inhibitory Concentration

حضرت ست تراكيز لكل مستخلص(0.5 ، 1 ، 10 ، 25 ، 50 ، 100 ملغم/مل) في مذيب DMSO ثم أضيف (0.1 مل) من التراكيز أعلاة إلى أنبوبة اختبار حاوية على (5 مل) من المرق المغذي. تركت أنبوبتان واحدة بدون إضافة والأخرى أضيف إليها مذيب DMSO فقط بكونها نموذج سيطرة (Control).

خفف المعلق البكتيري التخفيفات العشرية وذلك بإضافة 1 مل من من المعلق البكتيري ذي العمر 24 ساعة إلى أنبوبة اختبار حاوية على (9 مل) من المحلول الفسلجي المعقم Normal Saline المحضر بإذابة 8.5 غم من كلوريد الصوديوم في لتر من الماء المقطر وبذلك حفقت البكتريا 10:1 ثم اخذ (1 مل) من المحلول الملحي الفسلجي وبذلك خفف محلول البكتريا 100:1. أضيف (1 مل) من التخفيف الثاني من البكتريا إلى الأنبوبات الحاوية على التراكيز المختلفة وأنبوبتي السيطرة مزجت المادة والمعلق البكتيري جيداً وحضنت بدرجة حرارة (37 م°) لمدة (18 ساعة) واستدل على أقل تركيز مثبط للنمو البكتيري مع أنبوبات اختبار حاوية على وسط المرق المغذي مضافاً إلية (0.1 مل) من التراكيز أعلاة.

كررت عذة العملية بنفس الخطوات لجميع أجناس البكتريا للمستخلصات الثلاثة (الأوراق و الساق النورات وحاملها 1 و 2 و 3 على التوالي)[32] تم قراءة أقل تركيز من المستخلص المثبط للنمو البكتيري باستبعاد الأنبوبات التي تظهر فيها عكورة باعتبار إن النمو مستمر فيها ونلاحظ بقية الأنبوبات التي لا تظهر فيها عكورة، ويتم تعيين أقل تركيز مثبط للنمو بأقل تركيز من المستخلص الذي يتوقف عندة النمو البكتيري، ويتم موازنة الأنبوبات التي لم يظهر فيها أي عكورة من أنبوب السيطرة Control ويبين الجدول (3) اختلاف التركيز التثبيطي الأدنى للنمو البكتيري (MIC).

النتائج والمناقشة:-

تصنيف النبات Plant classification

صنف النبات من قبل الدكتور محمد عثمان / جامعة الأنبار / كلية التربية-للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة وهو مطابق لما جاءت به الأدبيات[33,19] وكانت نتيجة التصنيف كما يأتي :

العائلة :- Plantaginaceae

النوع :- Lanceolata

الجنس :- Plantago

الكشوفات الكيميائية

تحوي غالبية النباتات الطبية عدداً من المكونات الدوائية الفعالة مثل الكلايكوسيدات ، التانينات القلويدات ، الصابونيات و الراتنجات و غيرها و عذة المواد توجد في أجزاء مختلفة من النبات كالسيقان و البذور و الأوراق و الجذور و الأزهار . أن الكشف عن عذة المكونات و عزلها و تنقيتها له الأثر الفعال في توظيف نتائجها لغرض استخدامها في السيطرة على الأمراض التي تصيب الإنسان والحيوان و المتسببة بفعل البكتريا و الفطريات و الفيروسات و غيرها [34]، يبن الجدول (1) نتائج الكشوفات الكيميائية للمواد الفعالة والموجودة في الأجزاء المختلفة من النبات. في حين تراوح الرقم الهيدروجيني pH لمستخلصات أجزاء النبات المختلفة تفاوتاً فقد كانت للأوراق تساوي 7.5 وللساق 7.2 وللنورات 7.3 [21].

نظراً لاحتواء الأجزاء المختلفة من النبات على عذة الأصناف من المكونات الفعالة ، و ما لعذة المكونات من تأثيرات علاجية و وقائية للعديد من الأمراض ، يمكن إدراجة ضمن النباتات الطبية التي تمتلك مثل عذة المكونات مثل (حبة البركة ، البابونج ، القرنفل، نبات الحلبة ، الشوك ، نبات الحناء و غيرها) و إن عذة المكونات لها كفاءة عالية في تثبيط نمو الأحياء المجهرية مثل البكتيريا و الفطريات و الخمائر.

تتفق دراساتنا مع ما وجد سابقاً من أن عذة النباتات ذات تأثير طبي و يكثر استخدامها في الطب الشعبي و قد أثبت عدد من عذة المواد فعاليتها الدوائية في دراسات عديدة [35]. إن وجود أنواع المكونات الفعالة المختلفة أعطت للنبات الأهمية البيولوجية فوجود التانينات في الأجزاء المختلفة من النبات (الأوراق ، الساق ، النورات و حامل النورات) و بنسب عالية متفاوتة يفسر ذلك دور التانينات الهام في عمليات البناء و لأنها مصدر للطاقة في النبات بعد أكسدتها و كذلك لها خاصية جذب الأوكسجين بسبب احتوائها على حلقة الفينول لذلك تعتبر ذات وظيفة تنفسية[36].

في حين إن وجود الكلايكوسيدات في النباتات الحاملة لةا مصدر التخزين للمواد السكرية التي بدورةا تدخل عملية التمثيل و تنظيم الضغط الازموزي و انتقال بعض المواد اللازمة لعملية التمثيل الغذائي في النبات [11]، ومن خلال الكشوفات الكيميائية تبين تفاوت في عمق لون ناتج الكشف (راسب احمر كان متدرجاً من الغامق إلى الفاتح بالترتيب الأوراق ، الساق ، النورات ثم حامل النورات) أن نسبة الكلايكوسيدات عالية في الأوراق فالساق وأخيرا النورات وحاملةا ويعزى اختلاف تراكيز الكلايكوسيدات في أجزاء نبات لسان الحمل السنائي إلى عمر النبتة و بيئتةا ، إذ أن الكلايكوسيدات تعتبر ناتج لعمليات الايض الثانوي في خلايا النباتات[37]. كما وان تواجد الفلافونيدات التي تؤدي إلى اختزال المواد للطاقة التي يحتاجةا الغشاء السايتوبلازمي لنقل المواد إلى داخل الخلايا وبذلك تثبط حركة البكتريا يعطي اةمية فعالة للنبات للعلاج ضد المسببات البكتيرية، في حين تعزى الفعالية البيولوجية لمختلف أنواع نبات لسان الحمل لتواجد مركبات الكلايكوسيدات الايريدويدية[38]، كما ويتفق بحثنا ةذا مع بحوث كثيرة لأةميتة الطبية بشكل عام وةذا ما يدعو إلى التوسع في دراسة ةذا البنات بشكل خاص وبقية نباتات العائلة (الحلمية Plantaginaceae) لما فيةا من مواد ذات فوائد وتطبيقات طبية كثيرة[39].

دراسة تأثير المستخلصات ضد النمو البكتيري

تم دراسة تأثير المستخلصات المائية المحضرة على ثلاثة أجناس من البكتريا المرضية إحداةا موجبة لصبغة كرام Gram positive وةي *Staphylococcus aureus* والاثنتين الأخريين سالبتين لصبغة كرام Gram negative وةي *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*. وتمت دراسة حساسية البكتريا تجاة المستخلصات المحضرة بطريقة الانتشار حول القرص على أطباق وسط الآكار[40].

ويلاحظ من الجدول (2) تأثيراً تثبيطياً متفاوتاً لجميع المستخلصات وبالتراكيز المختلفة على الأجناس البكتيرية الثلاثة ، في حين سجل مستخلص الأوراق (مستخلص 1) أعلى أقطار التثبيط وبأدنى التراكيز (20 ، 15 ، 9 ، 7 ملم) للتراكيز (100 ، 50 ، 10 ، 1) ملغم/مل على التوالي ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*.

تقدير التركيز التثبيطي الأدنى (MIC)

Determination of Minimum Inhibitory Concentration

يلاحظ من الجدول (3) إن للمستخلصات تأثيرات متباينة في التثبيط لكل جنس من أجناس البكتريا المدروسة، حيث أعطت المستخلصات الثلاثة (الأوراق ، الساق ، النورات وحاملةا)ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* القيم (15 ، 20 ، 20 ملغم/مل على التوالي)، في حين كانت قيمةا ضد بكتريا *Escherichia coli* (20 ، 25 ، 20 ملغم/مل على التوالي)، في حين كانت نتائج الـMIC جيدة ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* حيث كانت 10 ، 15ملغم/مل للساق والنورات وحاملة على التوالي ومشجعة جداً للأوراق (0.5 ملغم/مل). ان نتائج الـMIC متوافقة مع نتائج التثبيط على الأطباق حيث أظةر مستخلص الأوراق (مستخلص 1) أفضل النتائج بأكبر أقطار تثبيط وةذة بمحصلتةا تتفق مع نتائج الكشوفات النوعية حيث أظةر كشوفات أكثر عمقاً لأصناف مركبات الكلايكوسيدات ، الكلايكوسيدات الايريدويدية و التانينات وةو متفق أيضاً مع دراسات كثيرة[41,39,20].

يمكن القضاء على الأحياء المجةرية أو منع نموةا من خلال منع تكوين الجدار الخلوي أو من خلال حصول خلل في التركيب الفيزيائي أو الكيميائي للبروتين والحوامض النووية أو خلل في نفاذية الأغشية السايتوبلازمية كما ويمكن إةلاكةا بواسطة خلل في النشاط الإنزيمي الخلوي وكذلك عن طريق منع تصنيع البروتينات والحوامض النووية [42,41].

المصادر

1. Nídia F. R., (2007), "Chemistry Of Natural Products: From Scheele To Gottlieb" 1st Brazilian conference on natural products, Sao Paulo State, Brazil, 4th - 7th November, RSL-5.
2. Zhang, X. (2003), "Regulatory situation of herbal medicines", World Health Organization, Geneva, pp 1-2.
3. النعيمي، حنان عدنان شاكر، (2005)، "تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية على نمو البكتيريا المرضية الموجبة الصبغة المعزولة من حالات التهاب البلعوم و اللوزتين"، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية و التقنيات الاحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد، 4-5.
4. Karou, D.; Dicks, M. H.; Sanon, S., Simpore, J.; Traore, A. S., (2005), "Antimalarial activity of Sida acuta, Burm, F. (Malvacease) and Pterocarpuserinaceus poir. (Fabaceae) "J. Ethnopharmacol, 89(1), pp 291-294.
5. Patrícia, F.; Mara, E. M.; Braga, N.,(2003), " Functional Properties of Spice Extracts Obtained via Supercritical Fluid Extraction ", J. Agric. Food Chem., 51 (9), pp 2520–2525.
6. Khuzaie, R. F.; Rashan, L. J.; and AL-Douri, N.A. (1999)," InVitro Antimicrobial Activities of the Crude Aqueous Extracts of Some Local Medicinal Plants Growing in Jordan", J. J. Appl. Sci. 1(1), pp 46-52.
7. Lee, Y. C.; Shin, D.S.; Oh, C.Y.; and Kim, K.S.(2001), "Antimicrobial Activities of Alliin-Alliinase Reaction Product and Methylene Chloride Extract of Garlic", Annual Meeting – New Orleans, LA, 23th - 27th June, pp 88-89.
8. المحنة، إيناس كريم هادي. (2002)، " تأثير مستخلصات بعض النباتات العراقية على الأحياء المجهرية المعزولة من مناطق جسمية مختلفة".رسالة ماجستير،كلية العلوم،الجامعة المستنصرية ،العراق، 6-7.
9. Al-Astal, Z. Y.,(2003), "Effect of Storage and Temperature of Aqueous Garlic Extract on the Growth of Certain Pathogenic Bacteria" Journal of Al Azhar University-Gaza, 6(2), pp213-217.
10. AIDS WEEKLY, April 9, (2001) , NewRx Editorial and Publishing (www. NewRx.com).
11. الشحات، نصر ابو زيد ،(1988). "النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية"، الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة ، مصر.
12. Pourmorad1,F.; Hosseinimehr1,S. J.; Shahabimajd, N. (2006), " Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants", African Journal of Biotechnology 5 (11), pp. 1142-1145.
13. Banzouzi, J. T.; Prando, R.; Menan, H.; Valentin, A.; Roumestan, C.; Mallic, M.; Pelissier, U.; and Blache, Y. (2004), "Studies on medicinal plants of Ivory Coast: Investigation of Sida acuta for in vitro antiplasmodial activeties and identification of an active constituent", Phytomedicine 11(2), pp 338-341.
14. Carolina, S.; Passos, V. A.; Kerber, H. V.; Arthur; G.; José,T. H., "Nformational Study Of Psychollatine, A Glycoside Monoterpene Indole Alkaloid From *Psychotria Umbellate*",1st Brazilian conference on natural products, Sao Paulo State, Brazil, 4th - 7th November, pp BSOB-5.
15. Pivatto, M.; Garcia, F.; Danuello, A. C.; Serrano, M. A. R.; Lopes, N. P.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; Bolzani, V. S.;(2005), "Screening For Alkaloids And Biological Evaluation Of *Senna Cassia* Species", Bioorg. Med. Chem., 13(1), pp 4184-4185.

16. Lee, D. H.; Cho, I.G.; and Park, M. S. (2001), "Studies on the Possible Mechanisms of Protective Activity Against Alpha-Amanitin Poisoning by Aucubin" Arch. Pharm. Res., 24(1), pp55-63.

17. Marak, H. B.; and Biere, A.; an-Damme, J. M. V.,(2002), "Systemic, Genotype-Specific Induction of Two Herbivore-Deterrent Iridoid Glycosides in Plantago Lanceolata L. in Response to Fungal Infection by Diaporthe Adunca (Rob.) Niessel". J. Chem. Ecol. Dec; 28(12), pp 2429-2448.

18. Marko, N.; and Johanna, S., (2003). "Effect of Iridoid Glycoside Content on Oviposition Host Plant Choice and Parasitism in a Specialist Herbivore" Journal of Chemical Ecology, 29(4), pp 823-844.

19. لفتة، عبد اللة حمد (1988)، "دراسة تصنيفية للجنس *Plantago* L. (Plantaginaceae) في العراق"، رسالة ماجستير، قسم علوم حياة-النبات، كلية العلوم، جامعة البصرة، 13-28.

20. المعاضيدي ، صدام حسن فاضل، (2007). "تشخيص المركبات الفعالة في نبات لسان الحمل الكبير بتقنيتي الامتصاصية الجزيئية وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ودراسة فعاليتةا المضادة للبكتريا"، رسالة ماجستير، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة الأنبار، كلية العلوم 14-16.

21. J. B. Harborne (1973). " Phytochemical Methods" 1st Ed Chapman and Hall.

22. سليمان ، رياض رشيد و فضل اللة ، يوسف جورج ، (1989). "الكيمياء الحياتية العملي" وزارة التعليم العالي والبحث العلمي /جامعة بغداد بيت الحكمة، 54-57.

23. ف.ستاري،ف.جيراسيك (1986). "الأعشاب الطبية" ، ترجمة كاظم، شروق محمد .سلسلة المائة كتاب/دار الشؤون الثقافية العامة /العراق، 34-36 .

24. Fehri, B.; Aiache, J.; Memmi, A.; Korbi, S.; and Lamaison, J., (1994). "Hypotension, Hypoglycemia, Hypouricemia recorded after repeated administration of aqueous leaf extract of *Olea Europae* L." J. Pharm. Belg, 49(2), pp 101-108.

25. Ahmad, M.; Nazil, S,; and Anwar, M. M.,(1989)."Studies on Tannins From Barks of *Pinus roxburghi*" J. Chemical. Society of Pakistan, 15(4), P:213-217.

26. بلوم،ت.دافيد(1990). "مدخل الى الكيمياء الحياتية"، ترجمة ابراهيم،عادل حميد،عبد اللة،علي اسماعيل. مطابع التعليم العالي.

27. Shihata, I. M., (1951). "A pharmacological Study of Anagalis arvensis " .M. D. Vet Thesis. Cairo pp 43-44 .

28. A. Sofowara (1982). "Medicinal Plant and Tradition Medicine in Africa", 1st ed., John Wiley & Sons Ltd.

29. المنصور، أيمان عبد القادر (2005)." تأثير مستخلصات نبات الداتورة *Datura metel* L. كمثبط لنمو بعض الأحياء المجةرية".رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الأنبار ، العراق، 37-38.

30. Bajracharya, D.,(1999). "Experiments in Plant Physiology, a guide for plant physiology", Narosa Publishing House, pp 41-42.

31. Seeley, H. W.; Vandemrk, P. J.,(1980),"Microbes in Acting"., 3rd ed., Freedman, W. H.; and Company, (USA) P.178.

32. Shakir, F. T.,(2005). "Preparation of some complexes for hydroxamic acids derived from glutaric acid and studying their spectrum propertiesand biological activity" M. Sc. Thesis., Al-Anbar Univ. Iraq.pp 53-55.

33. Betul, T.; Irfan, K.,(2005). "Classification of Turkish Plantago L. Species Using Numerical Taxonomy", Turk. J. Bot. 29(2005) 51-61.

34. Jawad, A. I.; Dhahier, A. B. and Hussain, A. M. (1985). "Lactones Extracted from Iraqi Composite ",Part 1. J. Basrah. Sci. Res. 16(1):5-180..

35. الثويني، امنة نعمة . العاملي ،زينة و السماك، ميثم (2005).”دراسة بعض المستخلصات النباتية في علاج الاصابات الجلدية بخمائر C.albicans المعزولة من الحيوانات و الاشخاص العاملين على تربيتها في الزجاج و الحيوانات المختبرية" . المجلة العراقية لبحوث امراض المناطق الحارة . المجلد 2 . العدد 2 .

36. عميرة ، اسراء. (2005). "علم العقاقير الطبية النظرية" و العملية . الطبعة الاولى . دار البداية للنشر . الاردن.

37. Mitzoeva-OK ; Grishanin-RN and Galder-PS (1997). " Antimicrobial action of Propolis and some of its components the effects on growth membrane potential and mobility of bacteria". Microbial – Res، 152(3) : 239-46.

38. N. Sansei and M. Michiko (2002). "Bioactive Components of Plantago Herb" Z.Naturforsch, 57,42,.

39. محمد، شكرية علي (2004)." تأثير مستخلصات بعض النباتات العراقية على الأحياء المجهرية المعزولة من مستشفى النسائية والاطفال في مدينة الرمادي".رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الأنبار ، العراق، 72-75.

40. Bauer, A. W.; Kirby, W. A.; Sherris, J. S.; Turk, M, (1966). Amer. J. Clin. Pathol. 45, 493.

41. العكيلي، عدنان حنون (2002) .”دراسة تاثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتريا اصابات الحروق" ، رسالة ماجستير –كلية العلوم –الجامعة المستنصرية، 61-62.

42. Thomas, J. M.; Karl R. M., (2008). "Food Microbiology: an Introduction" 2nd ed. ASM Press. New York, pp 152-153.

كلمات مفتاحية: لسان الحمل السناني ، مستخلصات مائية ، الفعالية المضادة للبكتريا ، التركيز التثبيطي الأدنى

جدول (1) نتائج الكشوفات النوعية لأجزاء نبات لسان الحمل السناني

	الجزء		
الكشف	الأوراق (1)	الساق (2)	النورات وحاملها (3)
التانينات Tannins	++	+	+
القلويدات Alkaloids	+	+	-
الكلايكوسيدات Glycosides	++	+	-
الصابونيين Saponins	+	+	+
الكاربوهيدرات Carbohydrates	+	+	+
الأحماض الامينية Amino acids	+	+	+
قياس الرقم الهيدروجيني.	7.5	7.2	7.3
الفلوباتانينات Phlobatannins.	+	-	+
الفلافونويدات Flavonoids	+	+	+
التربينويدات Terpenoids	+	+	+
الفينولات Phenols	+	+	+
الراتنجات Resins	+	+	+
الكلايكوسيدات الايريدويدية	++	+	+
لون المستخلص	بني غامق	بني	بني غامق
+ الكشف متوسط شدة اللون		*++ الكشف عالي شدة اللون*	

جدول (2) أقطار التثبيط للمستخلصات المائية (1← 3) ضد البكتريا المرضية.

رقم المستخلص	Name of Bacteria	Diameter of inhibition zone (mm).					
		Control	mg/ml0.5	1mg/ml	10mg/ml	50mg/ml	100mg/ml
1	*Staphylococcus aureus*	--	--	--	--	13	20
2		--	--	--	--	7	10
3		--	--	--	--	12	15
1	*Escherichia coli*	--	--	--	--	7	11
2		--	--	--	--	8	12
3		--	--	--	--	9	12
1	*Pseudomonas aeruginosa*	--	--	7	9	15	20
2		--	--	--	--	9	14
3		--	--	--	--	14	18

جدول (3) يمثل التركيز التثبيطي الادنى للمستخلصات المائية الثلاثة.

رقم المستخلص	MIC Values (mg/ml).		
	Pseudomonas aeruginosa	*Escherichia coli*	*Staphylococcus aureus*
1	0.5	20	15
2	10	25	20
3	15	20	20

Identifying of Active Components in Leaves, Stem Parks, and Flowers of *Plantago Lanceolata* L. and Studying their Antibacterial Activity.

Saddam H. F. Al-Ma'adhedi

University of Anbar – College of Science , 1 E-mail

saddam_chemistry@yahoo.com

Abstract:-

Results of phytochemical screening showed some active components in leaves, stem parks and flowers *plantago lanceolata* L. like tannins, alkaloids, saponins, amino acids, steroids, phenols, glycosides and iridoid glycosides. The study also included measuring pH values for the aqueous extracts for the different three parts of plant such as leaves which is equal to (7.5) and for the stem parks which is equal to (7.2) while it is equal to (7.3) for flowers.The antibacterial study was performed for the aqueous extracts of leaves, stem parks and flowers against three types of pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa*) using Agar-well diffusion method. The results showed that the three aqueous extracts have inhibitory effect on bacteria used in the study specially against *Staphylococcus aureus* at the concentrations 1 , 10 , 50 , 100 mg/ml with the inhibition zone diameters of 7 , 9 , 15 , 20 respectively. Also, the study of the minimum inhibitory concentration (MIC) for the aqueous extracts was determined for the three types of bacteria. The study has shown that the aqueous extract of leaves revealed lowest inhibition concentration for *Staphylococcus aureus* with a concentration of 0.5 mg/ml.