مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية المجلد 19 (4) 2006

# المركبات الفعالة في نبات ذنب الخيل *Equisetum* L. *arvense* وتاثيراتها التثبيطية في نمو بعض انواع البكتريا المرضية*

رعد محسن المولى ، ميسون خضر البياتي ، سيلفا انترانيك يعقوب
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بغداد

## الخلاصة

اجري هذا البحث على الاجزاء الخضرية لنبات ذنب الخيل *E . arvense* L. الذي ينمو طبيعيا في منطقة حاج عمران في شمال العراق، لتحديد وتقدير بعض مركبات المجاميع الفعالة فيها ، فضلا عن دراسة التاثيرات التثبيطية لتلك المركبات اتجاه بعض البكتريا المرضية التي تصيب المجاري البولية للانسان، من خلال التحري عن التاثيرات التثبيطية للمستخلصين المائي والكحولي لهذا النبات.

اظهرت الدراسة وجود بعض مركبات المجاميع الفعالة مثل: الدباغيات، والراتنجات، و الصابونينات والفلافونويدلات ، والكلايكوسيدات . كما تبينت فعالية المستخلص الكحولي في تثبيط البكتريا المرضية ( السالبة والموجبة لملون كرام ) باستخدام طريقة الانتشار من الحفر. وكانت بكتريا *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aeruginosa* اكثر تحسسا من بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella spp.* .

## المقدمة

تزايد الاهتمام بالنباتات الطبية في معظم دول العالم المتقدم حيث بدأ الناس يدركون خطر التاثيرات الجانبية للادوية الكيميائية المستعملة، مما دفعهم للعودة الى النباتات الطبية الطبيعية التي باتت تعرف بالطب البديل، ويعد العلاج بالنباتات الطبية احدى الوسائل العلاجية القديمة والحديثة في الوقت نفسه .

ومن النباتات الطبية المستعملة منذ القدم ذات الشهرة العالمية نبات ذنب الخيل

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

*Equisetum arvense*وهو واسع الانتشار في معظم دول العالم وينمو برياً في المنطقة الشمالية من العراق ولاهميته الطبية الكبيرة في العالم حديثا ولاسيما في معالجة التهابات الكلى والمثانة (1) ونظراً لقلة البحوث والدراسات العلمية في القطر عن هذا النبات اجريت الدراسة الحالية للكشف عن بعض مركبات المجاميع الفعالة في النبات، ودراسة تاثير المستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي في تثبيط نمو بعض البكتريا المرضية المعزولة من مصابين بالتهابات المجاري البولية.

## المواد وطرائق العمل

استخدم وسط المرق المغذي Nutrient Broth (NB) ووسط الاكار المغذي Nutrient Agar (NA)وكلاهما من انتاج شركة Difco الاميركية لتنمية وحفظ سلالات الاحياء المجهرية المرضية.

وحضرت كواشف عدة لغرض تحديد المجاميع الفعالة في نبات ذنب الخيل وكما يأتي:-

كاشف دراجندروف Dragendroff للكشف عن القلويدات بموجب الطريقة الموضحة في Harborne (2)، و كاشف ماير Mayer للتحري عن القلويدات ايضا و كاشف واكنر Wagner بحسب طريقة Smolensk (3)، وكاشف بندكت Benedct للتحري عن الكلايكوسيدات استنادا الى طريقة Stahl (4)، فضلا عن محلول الملح الفسلجي Normal Saline باذابة 0.85 غم من كلوريد الصوديوم في 100 مل ماء مقطر، ثم التعقيم بالموصدة مدة 15 دقيقة على حرارة 121 م، وضغط 1.5 بار، مع احكام الغلق، والحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال في حساب العدد التقريبي للبكتريا (5).

جمعت نباتات ذنب الخيل من منطقة حاج عمران التابعة لمقاطعة راوندوز خلال السفرات الحقلية بين شهري آيار وحزيران 2004 ، وحفظت مجموعة من العينات في معشب الجامعة الواقع في كلية العلوم (BUH) تحت الرقم 46312.غسلت النباتات جيدا بالماءالجاري، للتخلص من الاتربة والحشرات والعوالق الاخرى، وجففت في جو المختبر، ثم فصلت الجذور عن المجاميع الخضرية. وضعت بعدها النباتات بفرن كهربائي عند 40 م لحين ثبوت الوزن. طحنت الاجزاء النباتية (السيقان والاوراق)

بوساطة مطحنة كهربائية، ثم حفظت في عبوات زجاجية محكمة الغلق لحين الاستخدام. وقدر الرقم الهيدروجيني pH حسب ما ذكر Shihata (6).

اجري الكشف الكيميائي التمهيدي عن بعض مركبات المجاميع الفعالة في نبات ذنب الخيل على وفق الاتي:- الكشف عن الدباغيات Tannis بموجب الطريقة المذكورة في Shihata (6)، اذ يستدل عليها بظهور راسب هلامي القوام عند اضافة خلات الرصاص 1% او بظهور اللون الاخضر المزرق عند اضافة كلوريد الحديديك 1%. وللكشف عن الراتنجات Resins استعملت الطريقة الموضحة في Shihata (6) اذ يعد ظهور العكرة دليلا على وجود الراتنجات. وللكشف عن الصابونينات Saponins استعملت طريقتان تبعا لما ورد فيShihata (6) وذلك بظهور رغوة كثيفة وبقائها لدقائق عدة عند رج المحلول المائي لمسحوق العينة النباتية او بظهور راسب ابيض عند اضافة 0.5 مل من كلوريد الزئبقيك الى 1.5 مل من المستخلص المائي للنبات . واستعملت طريقة Jaffer *et al.* (7)، اذ ان ظهور اللون الاصفر يدل على وجود الفلافونويدات Flavinoides اما للكشف عن القلويدات Alkaloides فقد اعتمدت طريقة Harborne (2) مع اضافة الكواشف القلويدية ادناه:-

كاشف دراجندروف، اذ ان ظهور راسب برتقالي يشير الى وجود القلويدات، و كاشف ماير،اذ ان ظهور راسب ابيض يدل على وجود القلويدات. وكاشف واكنر اذ ان ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات . وللكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides فقد اتبعت طريقة المظفر (8) اذ ان ظهور اللون الاحمريدل على وجودها.

لغرض تحضير المستخلص المائي للنبات ، اخذ 50 غم من المسحوق النباتي، واضيف اليه 500 مل من الماء المقطر بدرجة الغليان وترك ليبرد مع التحريك المستمر، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش، ثم ورق الترشيح Whatman No. 2 ، واخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة حرارة 60 م لحين الحصول على سائل كثيف، بعدها جفف السائل في حاضنة بدرجة 37 م خلال 2-3 ايام حتى تكون المسحوق المجفف، ثم جمع المسحوق وحفظ في قنينة زجاجية نظيفة ومعقمة ووضع في الثلاجة بدرجة 4 م لحين الاستخدام.

ولتحضير المستخلص الكحولي، اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي نفسها ما عدا استعمال 250 مل من الكحول الاثيلي 80% بدلاً من الماء المقطر.

حضرمحلول خزين Stock solution من المستخلص النباتي وذلك باذابة 20 غم من المستخلص المجفف في 100 مل من الماء المقطر المعقم، ورشح المحلول باستعمال ورق Whatman membrane filter 4.5 Mm وحضرت منه التراكيزالاتية: 150،125،100،75،50،25 ملغم/ مل حسب المعادلة:

التركيز الاول × الحجم الاول = التركيز الثاني × الحجم الثاني .

ولغرض دراسة تاثير التراكيز المختلفة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل في نمو بعض انواع البكتريا المرضية استعملت اربعة انواع من البكتريا المرضية التي تصيب الجهاز البولي (خارج الجسم الحي *In vitro*) المستحصل عليها من مختبرات الاحياء المجهرية للدراسات العليا في قسم علوم الحياة لكلية العلوم - جامعة بغداد، والمعزولة من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية وهي: *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginos* و *Proteus mirabilis* و *Klebsiella spp.*.

تم تنشيط المزارع البكتيرية في انابيب تحتوي 5 مل من وسط المرق المغذي المعقم، ثم حضنت بدرجة 37 م مدة 18 ساعة. استعملت طريقة Agar well diffusion (9) وعملت ثلاثة مكررات لكل طبق، بعدها حضنت الاطباق بدرجة 37 م مدة 24 ساعة في الحاضنة. وحددت فعالية كل تركيز من المستخلص النباتي بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone، الخالية من النمو البكتيري.

## النتائج و المناقشة

تشير نتائج الكشف التمهيدي عن المكونات الفعالة في نبات ذنب الخيل الى وجود الدباغيات ، والراتنجات ، والصابونينات ، والفلافونويدات ، والكلايكوسيدات وغياب القلويدات. اما قيمة الاس الهيدروجيني للمستخلص النباتي فهي 5.6.

إن احتواء ذنب الخيل على الفلافونويدات يتفق مع ما ذكر Bradley (10) و Mayer-Buchtela( 11 ) من ان نسبة الفلافونويدات تتراوح مابين 0.3-1 % ، وقد

تم اكتشاف 15 نوعا من هذه الفلافونويدات( 10 ) اما احتواء النبات على الصابونينات فيتفق مع ما ذكره Derrida ( 12 ) اذ قد تصل نسبتها الى 5 %.

وقد عزى Bradley(10) الفعل المدرر للنبات الى وجود الفلافونويدات والصابونينات، وهذا مما جعل مغلي العشب من اكثر الادوية فائدة في معالجة التهابات الكلى والمثانة وحصاتهما، وانحباس البول عند الشيوخ المصابين بتضخم البروستات بحسب دستور الادوية البريطاني ، فضلاً عن أهمية هذه المواد الفعالة على الصعيد الطبي والدوائي بسبب قدرتها الفائقة في القضاء على مدى واسع من الاحياء المجهرية ( 13 ). إن عدم وجود القلويدات في المستخلص النباتي لا يتفق مع ما ذكره Mayer-Buchtela(11) و لاسيما قلويد النيكوتين بنسب ضئيلة. اما وجود الدباغيات ، والصابونينات ، والستيرولات ، والفلافونويدات فيتفق مع ما توصل اليه Dos Santos *et al.*(14).

ان وجود الدباغيات في النبات يدعم إستعمال النبات في شد وتقوية الجلد، والاغشية المخاطية، والاوعية الدموية(15) . ويفسر استعمال النبات في حالات نزف الفم ، والانف ، والمهبل، ونزف البواسير ، فضلاً عن دور الدباغيات في العديد من الفعاليات الفسلجية في الانسان مثل تقوية الجهاز المناعي ، والفعالية ضد الأورام ، والقدرة العالية في تثبيط مدى واسع من الاحياء المجهرية (13) .

اظهرت نتائج دراسة تاثير المستخلص النباتي المائي والكحولي لنبات ذنب الخيل عدم فعالية المستخلص المائي في تثبيط نموانواع البكتريا قيد الدراسة ( شكل 1 ) وقد يعزى السبب في ذلك الى قلة المركبات الفعالة التي يمكن استخلاصها بالماء ( 13 ). اما المستخلص الكحولي فقد كان كفوءاً في تثبيط البكتريا المرضية كلها عند التركيز 150 ملغم/ مل وبمعدلات اقطار تثبيط تراوحت مابين 16 - 25 ملم ( جدول 1) . ويلاحظ من الشكل (2) قدرة المستخلص الكحولي في تثبيط البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام ، على الرغم من امتلاك الاخيرة طبقة من الاغشية الخارجية Outer membranes تجعل نفاذيته للمواد اقل قياساً بالبكتريا الموجبة (16) ويلاحظ ان بكتريا *Klebsiella spp.* هي الاقل تحسساً للمستخلص الكحولي من الانواع البكتيرية الاخرى جميعها ، وقد يعود السبب في ذلك الى امتلاكها

محفظة خارجية قوامها مادة متعـددة الـسكر Polysaccharide capsule (16).

وقد تعزى فعالية المستخلص الكحولي لنبات ذنب الخيـل الـى احتوائـه علـى المركبات الفعالة مثل الدباغيات ، والفينولات المتعددة ، والفلافونات ، والستيرولات التي ثبت فعاليتها في تثبيط الاحياء المجهرية السالبة والموجبة لملون كـرام. كمـا ان لنـوع المذيب المستخدم أهمية في نوعية وكمية المركبات الفعالة المستخلصة. ويمكـن تفـسير اليات تثبيط المستخلصات النباتية تجاه الاحياء المجهرية استنادا الى المصدرين ( 13 و 17 ) وذلك بتثبيط تكوين جدار خلية الكائن المجهـري أو تثبـيط تخليـق بعـض البروتينات الاساسية فيه، وتكوين معقدات مع الجدار الخلوي تعيق انتظام النفاذية، وتثبيط بعض الانزيمات ذي الدور الايضي المهم في النمو والتكاثر، وتمزيق الاغشية الخلوية أو تغيير وظيفتها.

وتؤيد هذه النتائج استعمال نبات ذنب الخيل لمعالجة حالات الالتهابـات البكتيريـة ولاسيما للجزء السفلي من الجهاز البولي التناسلي (18).

شكر وامتنان الى الاستاذ الدكتور علي حسين الموسوي ، كليـة العلـوم ، جامعة بغداد لجهوده في تشخيص وجمع العينات النباتية من بيئتها الطبيعية.

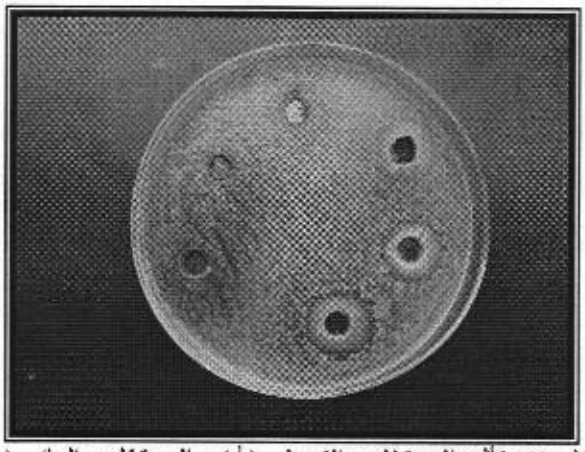
## المصادر

1. Takeshi, N.; Takao, M. and Toshico, N. ( 2005). J.Food Chem., 91(3): 389-395.
2. Harborne, J.B. (1973). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis . Chapman and Hall Ltd., London: 159-165.
3. Smolensk, S.J.; Silnis, H .and Fransworth,N.R. (1972). Libya, 35(1):31-34
4. Stahl, E. (1969). Thin layer chromatography, 2nd ed.Springer-Verlag, Berlin.

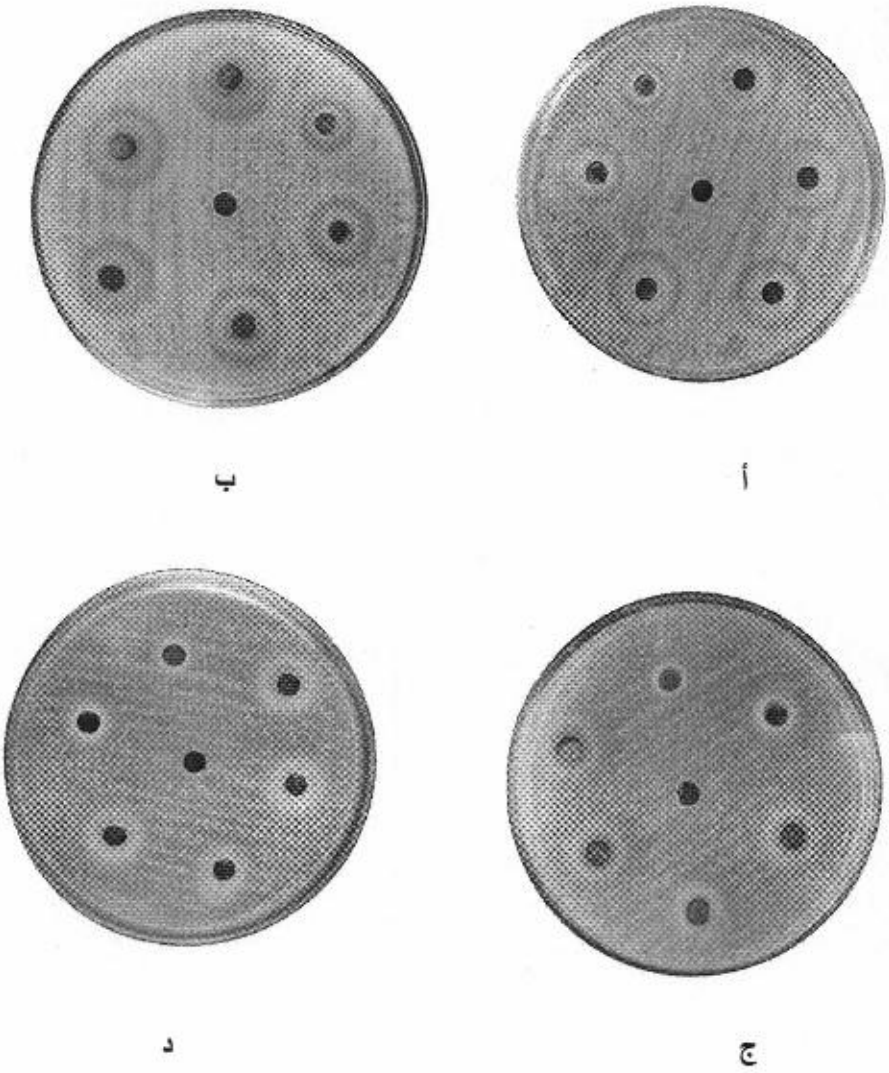
5. American Public Health Association (APHA) (1985). Standared methods for the examination of water and waste water, 17th ed. Amer. Publ. Health Assoc., Inc, Washington.
6. Shihata, I.M. (1951). A pharmacological study of *Anagollis arvensis* . M.D. Vet. Thesis , Cairo University .
7. Jaffer, H.J.; Mahmod, M.J.; Jawad,A.M.;Naji,A.and Al-Naeb ,A. (1983).Fitoterapia, 59: 299.
8 . المظفر ، سامي عبد المهدي (1990). الكيمياء الحياتية . وزارة التعليم العالي/ جامعة بغداد ، بيت الحكمة ، بغداد.
9. Perez, C.; Pauli, M. and Bazerque, P. (1990). Acta Biol., 15: 113-115.
10. Bradley, B. (ed.) (1992). British Herbal Compendium (BHC) Vol.1 British Herbal Association , London .
11. Mayer-Buchtela, E. (1999). Tee-rezepturen ein handbuch fur apotheker und frzte. Deutscher Apotheker Verlag , Stuttgart.
12. Derrida , M. (2005). What is horsetail (*Equisetum arvense* L. ) and its super functions ? http:// www. Mdidea.com
13. Cowan, M.M. (1999). Clin. Microbiol. Rev., 12 (4) : 564-582.
14. Dos Santos, J. Jr.; Do Monte, F.; Blanco, M.; Nascimento, B.; Damasseno, F.and De Almeida, L. (2005). Cognitive enhancement in aged rats after chronic administration of *Equisetum arvense* L. with demonstrated antioxidant properties in vitro. Pharmacology, biochemistry and behavior . (EBSCO , 2005 ).
15. Schulz, V.; Hansel, R.; Varro, E. and Springer, T. (2001) . Rational phytotherapy: A physicians guide to herbal medicine , 4th ed. NewYork.
16. Attlas, R.M. (1995). Principels of microbiology. Mosby, St. Louis.
17. Tyler, V.E.; Lynn, R.B. and James , E. R. (1988). Pharmacognosy, 9th ed. Lea and Febiger , Philadelphia .
18. Joksic, G.; Stankovic , M. and Novak, A. (2003) . J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 22 (1): 41- 48.

جدول (1): قيم معدلات اقطار التثبيط للتراكيز المتدرجة للمستخلص الكحولي لنبات ذنب الخيل المستخدمة ضد البكتريا المرضية.

| تركيز المستخلص الكحولي (ملغم/ مل) | معدلات اقطار التثبيط (ملم) للانواع البكتيرية | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *P. mirabilis* | *P. aeruginosa* | *S. aureus* | *Klebsiella spp.* |
| 25 | 15 | 13 | 13 | 10 |
| 50 | 17 | 18 | 16 | 11 |
| 75 | 20 | 20 | 18 | 12 |
| 100 | 21 | 22 | 19 | 13 |
| 125 | 22 | 23 | 20 | 14 |
| 150 | 25 | 24 | 22 | 16 |



شكل (1): تأثير المستخلص الكحولي ( أ ) و المستخلص المائي ( ب ) لنبات ذنب الخيل في بكتريا *P. mirabilis*




شكل (2): تأثير المستخلص الكحولي لنبات ذنب الخيل في بكتريا
*P. aeruginosa* (أ) ، *P. mirabilis* (ب)، *S. aureus* (ج) و
*Klebsiella spp.* (د).

IBN AL- HAITHAM J. FOR PURE & APPL. SCI. VOL.19 (4) 2006

# The Active Compounds in *Equisetum arvense* L. and their Inhibitory Effects on Growth of Some Pathogenic Bacteria

**R.M.AL-Mawla , M.Kh.AL-Bayati , S.A.Zokian**
Departmen **of Biology , College of Science,University of Baghdad**

## Abstract

This research has been performed on the vegetative parts of the Horsetail *Equisetum arvense* L. which grows naturally in Haj Umran , north of Iraq , to determine and estimate some active chemical compounds , besides studying their inhibitory effects upon some urinary tracts infections (UTI) bacteria through the investigation on the inhibitory effects of water and ethanolic extracts of this plant .

The results revealed presence of some active chemical compounds such as: tannins, saponins, resins, flavonoids and glycosides. The ethanolic extracts has an inhibitory effect upon UTI bacteria (gram+ve & gram-ve) according to agar well diffusion method. *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa* were more sensitive than *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella spp.*