

دراسات كيميائية حيوية علي بعض المنتجات النباتية الفعالة بيولوجياً

رسالة مقدمة من

احمد صلاح محمود عبد الباقي

بكالوريوس العلوم الزراعية (أراضي ومياه) - كلية الزراعة - جامعة الفيوم ٢٠٠٧

للحصول علي

درجة الماجستير في العلوم الزراعية

(كيمياء حيوية)

قسم الكيمياء الحيوية الزراعية

كلية الزراعة - جامعة الفيوم

الملخص العربي

لقد تزايد الاهتمام في الوقت الحاضر بالمنتجات النباتية من أجل البحث عن مركبات نشطة بيولوجياً جديدة وآمنة ورخيصة يمكن إستخدامها في مقاومة الأمراض المعدية سواءً المتسببة عن الطفيليات أو الميكروبات وللإستخدام في الرعاية الصحية كمواد حماية نباتية تجاه الشقوق الحرة وذلك نظراً لطبيعتها الصديقة للبيئة.

ولهذا، فقد تم إجراء دراسة إستقصائية لأوراق عدد ١٢٤ من النباتات المحلية تنتمي إلى ٥٦ عائلة نباتية للتعرف على قوة فعاليتها كمبيدات للقواقع وكمضادات للأكسدة وكمضادات للميكروبات الممرضة، حيث تم إختبار الفعالية المبيدة للقواقع للمعلقات المائية لمسحوق أوراق النباتات المختبرة ضد قواقع البيومفلاريا ألكسندرينا العائل الوسيط لطفيل شيستوسوما مانسونيا المسبب لمرض البلهارسيا للإنسان في مصر. كما تم قياس الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات الكلوروفورم والميثانول لأوراق النباتات المختبرة بإستخدام إختبار الفعالية المزيله للشق الحر (٢،٢- ثنائي فينيل-١- بكريل هيدرازيل، DPPH). وقد تم إختبار الفعالية المضادة للميكروبات لمستخلصات الكلوروفورم والميثانول لأوراق النباتات المختبرة ضد أربع أنواع من البكتريا المسببة للأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء وهي:

ليستريا مونوسييتوجينز (*Listeria monocytogenes*) وستافلو كوكس أوريس (*Staphylococcus aureus*) وإيشيريشيا كولاي (*Escherichia coli*) وسالمونيلا إنثيريتيس (*Salmonella enteritidis*) وكذلك الفعالية المضادة للفطر الممرض كانديدا أليكانز (*Candida albicans*).

وقد تم إجراء التقييم الكمي للمستخلصات الواعدة معملياً لتحديد المستخلصات الأقوي نشاطاً تجاه الفعاليات المختبرة ليتم فصل المكونات المسؤولة عن هذه الفعاليات وتعريفها كيميائياً. كما تم أيضاً دراسة تأثير المستخلصات الأعلى فعالية على وظائف الكبد والكلى للفئران من أجل تقييم حدود إستخدامها الآمن.

ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها في هذا البحث فيما يلي:

(١) وجد أنه من بين النباتات التي تم فحصها وأظهرت أعلى فاعلية مبيدة للقواقع أوراق نباتي اليوكا أناناس والبتسبورم المبرقش وقد أوضحت نتائج التقييم المعملية لهما مطابقة كل منهما لمعظم المعايير المقترحة بمعرفة منظمة الصحة العالمية لإختبار النباتات الصالحة للإستخدام في مقاومة هذه القواقع. ونظراً لأن أوراق اليوكا أناناس قد أظهرت نشاطاً أعلى كمبيدات للقواقع مقارنة بالبتسبورم المبرقش لذا تم إختيارها لفصل وتعريف التركيب الكيميائي لمكوناتها المسؤولة عن الفعالية. إلا أنه تم إختيار كلا النباتين للتعرف على تأثير مستخلصاتهما الفعالة على وظائف الكبد والكلى في الفئران.

(٢) أمكن بإستخدام طرق التحليل الكروماتوجرافي الموجهة بالفعالية المبيدة للقواقع فصل مركبين جديدين نقيين فعالين من الصابونين الأستيريديية تم فصلهما للمرة الأولى من المستخلص الميثانولي ٨٠% لأوراق نبات اليوكا أناناس وتم تعيين التركيب الكيميائي للمركبين المفصولين كمشتقات من الآجليكون الأستيريديي

"تيجوجينين" مرتبطة بسلسلة من سكريات خماسية أو سداسية متصلة بذرة الكربون رقم ٣ في الآجليكون الأستيريدي وذلك باستخدام طرق التحليل الطيفي (طيف الكتلة وطيف الرنين المغناطيسي أحادي وثنائي الاتجاه)، وباستخدام الطرق الكيميائية (الاختبارات المميزة للمركبات الكيميائية والتحليل المائي الحامضي) وقد تبين أن التركيب الكيميائي للمركبين المفصولين كما يلي:

■ **المركب الاول (Y1):** 3-O- [بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←2)- بيتا-D- زيلوبيرانوسيل- (1←2)- بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←3)- بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←3)- بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←4)- بيتا-D- جلاكتوبيرانوسيل-] 25R، 5 ألفا-3- بيتا- سبيروستانول.

■ **المركب الثاني (Y2):** 3-O- ((بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←2)- بيتا-D- زيلوبيرانوسيل- (1←2)- بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←3)- بيتا-D- جلوكوبيرانوسيل- (1←4)- بيتا-D- جلاكتوبيرانوسيل-)) 25R، 5 ألفا-3- بيتا- سبيروستانول.

٣) وجد أن المركبين المفصولين (Y1 و Y2) لهما فعالية مبيدة ضد قواقع البلهارسيا البيومفلاريا ألكسندرينا وأن التركيز المميت لنسبة ١٠٠% من القواقع المعاملة بكل منهما خلال ٢٤ ساعة هو ٨ & ١١ ملجم/ لتر علي التوالي.

٤) وجد من بين مستخلصات الكلوروفورم والميثانول لأوراق النباتات التي تم فحصها وأظهرت فعالية مضادة للأكسدة، أن مستخلصات الميثانول لعدد ثمانية نباتات لها فعالية مضادة للأكسدة عالية جدا (تساوي أو تزيد عن ٩٠% تثبيط للشق الحر DPPH). كما أظهرت مستخلصات الميثانول لعدد عشر نباتات فعالية عالية مضادة للأكسدة (تزيد عن ٨٠% وحتى أقل من ٩٠% تثبيط للشق الحر DPPH).

٥) تم إجراء دراسات كمية علي مستخلصات الميثانول لأوراق هذه النباتات الثمانية عشر الواعدة وذلك بتقدير التركيز المثبط لـ ٥٠% من الشق الحر (IC_{50}) وكذلك المحتوى الكلي لكل من الفينولات والفلافونويدات حيث تراوحت قيم IC_{50} من ١٨,٦٨ الي ٣٠,٩٧ ميكروجرام/مل في حين أن المحتوى الكلي من الفينولات والفلافونويدات تتراوح بين ١٦٢,٠٦ ± ٤,٥٥ الي ٢٤٢,٢٦ ± ١٨,٦٥ ملجم مقدرة كحامض التانيك/جم مستخلص ومن ٣٢,٥٦ ± ١,٥٢ الي ١٥٧,٩٦ ± ٥,٨٥ ملجم مقدرة كروتين/ جم مستخلص علي التوالي.

٦) وجد أن معامل الارتباط (r) بين IC_{50} والمحتوي الكلي من الفينولات والفلافونويدات لمستخلصات الميثانول لأوراق هذه النباتات الثمانية عشر يساوي ٠,٦٣ و ٠,٥١ علي التوالي وهذا يشير إلي أن الفينولات والفلافونويدات في هذه المستخلصات مسئولة جزئياً عن فعاليتها كمضادات للأكسدة.

٧) لوحظ أن المستخلص الميثانولي لأوراق نبات رمان الزهور هو أفضل هذه المستخلصات الواعدة من حيث كفاءة فعاليته المضادة للأكسدة نظراً لأن قيمة IC_{50} له هي الأقل عن باقي المستخلصات وهي ١٨,٦٨ ميكروجرام/مل كما أنه أعلاها من حيث المحتوى الكلي من الفينولات.

٨) لوحظ أنه من بين النباتات التي تم فحصها وتقييمها معملياً، من حيث فعاليتها المضادة للميكروبات أن مستخلص الميثانول لأوراق نبات التمر حنه هو الوحيد الذي أثبت فعالية مضادة تجاه جميع السلالات الميكروبية المختبرة بمنطقة تثبيط قطرها يتراوح من ٢٠ - ٣٠ ملليمتر وأعطى أقل تركيز مميت

للميكروبات يساوي ٦٠ ميكروجرام/مل تجاه كلا من *Salmonella enteritidis* و *Staphylococcus aureu* ويساوي ١٢٠ ميكروجرام / مل ضد كلا من *Listeria monocytogenes* و *Escherichia coli* و *Candida albicans*.

٩) أمكن باستخدام طرق التحليل الكروماتوجرافي الموجهة بالفعالية المضادة للميكروبات فصل مركب نقي فعال من المستخلص الميثانولي لأوراق نبات التمر حنه وهو عبارة عن فلافون جليكوسيد وقد تم تعيين تركيبه الكيميائي باستخدام طرق التحليل الطيفي والتحليل الكيميائي حيث وجد أنه عبارة عن ٥، ٧- ثنائي هيدروكسي- ٤'- ميثوكسي- فلافون- ٨- C - بيتا- D- جلوكوبيرانوسيد (سيتوسيد) وهو مركب تم فصله للمرة الأولى من أوراق هذا النبات وقد أظهر هذا المركب فعالية قوية مضادة لكل الميكروبات الخمسة المختبرة حيث وجد أن أقل تركيز مميت من هذا المركب ضد الفطر الممرض المختبر هو ٣٢ ميكروجرام/ مل وهي فعالية تفوق فعالية المركب القياسي المستخدم في معالجة الإصابة الفطرية (الفلوكونازول Fluconazole) في حين أن أقل تركيز مميت ضد سلالات البكتيريا المختبرة والتي تنتقل عن طريق الغذاء الملوث هو ١٦ ميكروجرام/ مل وهي أيضا تفوق فعالية المركب القياسي (أمبسيلين Ampicillin).

١٠) تم تقييم مستخلصات أوراق نباتات اليوكا أناناس والبتسبورم المبرقش ورمان الزهور والتمر حنه باستخدام حيوانات التجارب (الفئران) لتحديد مدي سلامتها وأمانها، وقد أظهرت النتائج أن هذه المستخلصات آمنة بالتركيزات المختلفة التي تم إختبار تأثيرها لمدة ٩ أسابيع وهي ١٠٠ و ٢٠٠ ملجم مستخلص لكل كيلو جرام من وزن الفأر للنباتين الأول والثاني وبتراكيزات ٢٠ و ٤٠ و ٦٠ ملجم مستخلص لكل كيلو جرام من وزن الفأر للنباتين الثالث والرابع.

الاستنتاج:

بناءً على النتائج المتحصل عليها فإنه يمكن الإستنتاج بأن بعض المستخلصات النباتية المختبرة وعلي وجه الخصوص مستخلصات أوراق نباتات اليوكا أناناس والبتسبورم المبرقش ورمان الزهور والتمر حنه تعد من المصادر ذات الإمكانية العالية للحصول علي مركبات طبيعية مبيدة للقواقع، وكمضادات للأكسدة ومضادات للميكروبات علي التوالي. والتي من الممكن إستخدامها في مقاومة الأمراض المعدية المتسببة عن الطفيليات أو الميكروبات المقاومة للمضادات الحيوية الشائعة وكذلك لتلبية إحتياجات الرعاية الصحية للإنسان كمادة حماية نباتية ضد الشقوق الحرة، وهي تعتبر بدائل آمنة للمركبات المحضرة صناعياً للمساهمة في التخفيف من حدة المشاكل البيئية والصحية المرتبطة باستخدام المبيدات والمواد المضافة للغذاء المنتجة صناعياً. بالإضافة إلي ذلك، فإن هذه النباتات بجانب النباتات الأخرى الواعدة الموضحة بهذا البحث يمكن أن تستخدم في إكتشاف مركبات أخرى جديدة طبيعية فعالة بيولوجياً والتي يمكن أن تعمل وتوجه التطوير إلي مبيدات ومضافات غذائية وأدوية علاجية جديدة تُلبي في الوقت القريب إحتياجات سلامة الغذاء والاحتياجات العلاجية غير الملباه.