

استخلاص و تشخيص بعض المكونات الفعالة في نبات الكبر العراقي نوع *Capparis Spinosa* ودراسة فعاليتها ضد بكتيرية

تحسين علي زيدان* ايمان حسام** صدام حسين فاضل*

* جامعة الأنبار – كلية العلوم – قسم الكيمياء

** جامعة الأنبار – كلية التربية للبنات – قسم الكيمياء

E-mail: tazf711@yahoo.com

الكلمات المفتاحية: استخلاص، الترشيح، نبات الكبر، الفعالية ضد بكتيرية، المكونات الفعالة.

تاريخ القبول: 2011/5/9

تاريخ الاستلام: 2010/4/20

المستخلص:

تم إجراء دراسة كيميائية وحيوية لأجزاء مختلفة من نبات الكبر العراقي من نوع *Capparis Spinosa* وهو احد أفراد العائلة الكبرية Capparidaceae في مرحلتى التزهير والأثمار. بينت نتائج الدراسة أن المستخلصات المائية أعطت أعلى نسبة استخلاص يليها مستخلصات حامض الخليك ثم الكحول. وبينت الفحوصات الكيميائية التي أجريت على المستخلصات تواجد أنواع مهمة من المركبات مثل (التانينات، الفلويبتانينات، الصابونين، الفلافونيدات، التربينويدات، الفينولات، الراتنجيات، الكربوهيدرات، الأحماض الأمينية، القلويدات، الكلايكوسيدات). كما تبين أن نبات الكبر يحتوي على أعلى نسبة من عنصر البوتاسيوم في كافة أجزاء النبات خلال مرحلتى التزهير والأثمار مقارنة بالصوديوم والبوتاسيوم. أجريت دراسة لفصل المركبات الفعالة بشكل عام من المستخلص المائي للنبات باستخدام تقنية الترشيح بالهلام (Gel Filtration) وباستعمال أربعة أطوار متحركة (ماء مقطر ومحلول Tris HCl pH=7، Tris HCl pH=8، Tris HCl pH=6) وباستخدام عمود من هلام Sephadex G-25، كما اجري فصل لأحد مركبات صنف الكلايكوسيدات الأيريدويدية وأجريت عليه الفحوصات الكيميائية لغرض تشخيصه. تبين أن كمية التانينات تزداد في مرحلة الأثمار مقارنة بمرحلة التزهير ولجميع أجزاء النبات (الجذر، الأوراق والأزهار) في مراحل نمو النبات المختلفة باستثناء الثمار فإن كميتها فيها تقل في مرحلة الأثمار مقارنة بمرحلة التزهير. كما وجد أن نسبة الرطوبة تزداد في مرحلة الأثمار عن مرحلة التزهير ولجميع أجزاء النبات أيضا. وأوضحت الاختبارات التي أجريت خارج الجسم الحي (*in vitro*) أن المستخلص المائي للأوراق في مرحلة التزهير أعطى أعلى فعالية مضادة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) ، وأعطى مستخلص حامض الخليك للأوراق في مرحلة التزهير أعلى فعالية ضد بكتريا الأشرشيا القولونية (*Escherichia Coli*).

EXTRACTIONS AND IDENTIFICATION OF SOME ACTIVE COMPONENTS OF IRAQI'S *CAPPARIS SPINOSA* AND STUDY OF ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITIES.

Tahseen A. Zaidan* Eman Hussam** Saddam H. Fadhil

* University of Anbar - College Of Science - Dept. Of Chemistry

** University of Anbar - College Of Women Education - Dept. Of Chemistry

E-mail: tazf711@yahoo.com

Keywords: Extraction , Gel Filtration , *Capparis Spinosa* L. , Antibacterial Activity, Bioactive Components

Received:20/4/2010

Accepted:9/5/2011

Abstract:

A Chemical and Biochemical studies have been implemented to different parts of the Plant: *capparis spinosa*, which is one member of the Capparidaceae, during Flowering and Fruiting Stages.

The maximum extraction rate was obtained by water followed by acetic acid and alcohol. The Chemical Tests were done on all the extractions for comparison led to the presence of important types compounds including; Tannin, Fluba-tannins, Saponins, Flavonoides, Terpenoids, Phenols, Resins, Carbohydrates, Amino acids, Alkaloids and Glycosides. Our study revealed that the plant was found to have the highest rate of Potassium in all parts of it through flowering and fruiting periods comparing with Sodium and Calcium.

Active materials were isolated from the aqueous extractor using Gel filtration technique with four liquid mobile phases (D.W, Tris-HCl PH=6, Tris-HCl PH=7, Tris-HCl PH=8) through column packed with Sephadex gel G-25. The effluents from the Column were studied Spectrophotometrically in the range of (200-800) nm simultaneously with the general extractor for comparison.

The results revealed that the amounts of Tannins increased on fruiting period more than the Flowering period for all parts (Root, Leafs, Flowers) of the Plant except the Fruits where its quantity decrease in the Fruiting period in comparison with the Flowering period.

The results clarified that the Moisture increases at Fruiting period more than the flowering period. On contrary, the Percentage of Ash decreases at fruiting period to a level less than the Flowering period for all parts of the plant too.

Using Agar-Well Diffusion method, It was found that the aqueous extractor at Flowering period gave the largest inhibition diameter against golden grapes of *S.aureus*. On other hand, Acetic Acid extractor during flowering stage has offered the higher activity against *Escherichia Coli*.

المقدمة

بتقدم العلوم الكيميائية وطرائق التحليل الحديثة الفائقة الحساسية استخلصت المواد الفعالة ذات التأثير الطبي من النباتات بصورة نقية وأُستخدِمت في شركات الأدوية على شكل أقراص وحقن ودهانات (Nidia F. R., 2007). نبات الكبر أحد نباتات البيئة السعودية المشهورة ويعرف بعدة أسماء شعبية على مستوى الوطن العربي وهي قبار، كبار، ورد الجبل، شوك الحمار، فلفل الجبل (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988)، شفلح، تقاحة الغراب، ثم الحية و عنب الحية (Kelly, 1991). يوجد حوالي مائتان وخمسون نوع من الكبر (Hort, 1983)، وأهمها ما يعرف علمياً باسم *Capparis Spinosa L.* وسمي بالكبر لفائدته في علاج آلام أسفل الظهر عند الكبار والمسنين (Simon, 1984).

نبات الكبر عبارة عن شجيرة معمرة يتراوح ارتفاعها ما بين (30-80) سم، واغلبها يفرش الأرض، دائم الخضرة ذو لون أخضر مزرق، الأفرع زاحفة أو مدادة متخشبة، سهلة الكسر، الأوراق سمكية ذات اذينات شوكية، الأزهار كبيرة تتفتح في الصباح بلون أبيض مائلة الى اللون الوردي وتذبل قبل الظهر معطية لونا أحمر جميلاً. الثمرة لبية تشبه الكمثرى (*Pyrus Communis*) محمولة على عنق طويل، وعندما تنضج الثمرة يتحول لونها من الأخضر المصفر إلى قرمزي زاه ويكون طعمها حلواً من الداخل ومراً من الخارج، وثماره هذه تؤكل حيث تشبه التين اليابس في الشكل وحتى في الطعم (AL-Said et al., 1988).

نبات الكبر الشائك موطنه الأصلي في منطقة البحر الأبيض المتوسط ويزدهر في الأراضي البور ويفضل عادة الأراضي الصخرية (Hort, 1983). وينتشر في المناطق الجافة في وسط وغرب آسيا (Bond, 1990)، في شمال أفريقيا وجنوب أوروبا وفي أسبانيا (Stepheus, 1994). وفي معظم البلدان العربية (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988)، وفي العراق في الصحراء الغربية، وسفوح الجبال الشرقية، والسهل الرسوبي الشرقي والأوسط والموصل وفي السلبيمانية (مجيد و محمود، 1988).

تستعمل جميع أجزاء النبات بما في ذلك الجذور (محمد، 2004). ويعد من أغنى النباتات بالمواد الفعالة، فيحتوي النبات على فلاونيدات، تربينويدات وقلويدات (Cullen et al., 1992). كما انه يحتوي على راتنجات، كلوكوسينولات، كومارينات، صابونينات،

تانينات، ستيرولات بالإضافة إلى الأحماض العضوية والأحماض الدهنية (Ayoola G. A., et al., 2008). بالنسبة للطب القديم ذكر إن قشر الجذر يبرئ الطحال، ويجلو البهق ويدمل القروح ويقوي الأسنان ويقطع البلغم ويحلل الصلابات ويخرج الديدان، وهو نافع لعرق النسا وأوجاع الورك، كما انه يدر الطمث ويقتل الديدان في الأمعاء وينفع من البواسير (Hort, 1983). وتستعمل الجذور كمدر للبول وهي قابضة و فاتحة للشهية ومقوية وطاردة لديدان الأمعاء، كما تستخدم كلبخة لعلاج التهابات، ولعلاج روماتيزم المفاصل (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988).

أما براعم الأزهار فتستخدم كمنظمة لعمل الأعضاء ومدررة ومنشطة (مجيد و محمود، 1988) وتكون براعم الأزهار غير المتفتحة مليئة وتخفف آلام المعدة (Hort, 1983) في حين يستخدم مسحوق الأوراق في علاج أورام والتهابات المفاصل (Hassan S., and Mohammad N. A., 2010).

ويستخدم نبات الكبر في الطب الحديث وعلى نطاق واسع في معالجة حالات تصلب الشرايين ومنشط لعمل الكبد وان تناوله يؤدي الى تحسين الدورة الدموية، ويستخدم مستخلص جذور الكبر لمعالجة حالات فقر الدم والتهاب المفاصل، كما إن مستقطر الجذور يستخدم في صناعة وتكوين المستحضرات التجميلية وتقيد في معالجة التهابات الجلد والحساسية (موقع أخبار الشام على شبكة الإنترنت، 2005).

لا يوجد في المراجع ما يفيد أن مختلف أجزاء هذا النبات تتداخل مع أي أدوية عشبية أو كيميائية وكذلك أي من الأمراض أو الأغذية. كما لا توجد له أضرار جانبية إذا ما استعمل بالطريقة المحددة (Hort, 1983 و Simon, 1984).

الجزء العملي:

الأجهزة والمواد:

استخدم مطياف الامتصاص الجزيئي للأشعة المرئية والفوق البنفسجية و مقياس الأس الهيدروجيني والمixer الدوار وصفائح بلاستيك سمك 0.25 ملم وبأبعاد 7.5*2.5 سم و عمود زجاجي بأبعاد (250*19 ملم) وهلام السيفادكس جي Sephadex gel G-25 بالمواصفات (Particle size :20-80µm , Bed) volume per gram of dry gel:4-6 ml ، كافة المواد

Dicotylrdones ذوات الفلقتين Class
الكبريات Order
Capparidaceae عائلة الكبر Family
الكبر أو الشفلح Genus
Spinosa L. النوع Species

الكشوفات الكيميائية:

أظهرت الكشوفات الكيميائية العامة التي أجريت على مستخلص نبات الكبر وجود عدد من المركبات المهمة بايولوجياً، منها : التانينات باستخدام كاشف كلوريد الحديد وكاشف خلات الرصاص (Urve P., et al 2010) والفلوباتانينات (Sofowara, 1993) والصابونين والراتنجات (Kubmarawa D., et al 2007) والفلافونيدات (Al-Khazragi, 1991) والقلويدات (السلامي، 1998)، والستيرويدات والتربينويدات والفينولات والكلايكوسيدات الأيريدويدية (Harborne 1973) والكاربوهيدرات والأحماض الأمينية والكلايكوسيدات (سليمان و فضل الله، 1989) وهي مطابقة لما جاء في الأدبيات (Sharaf, 2000 و Kelly, 1991 و Gallisai, 2002) (جدول-1).

المستخلصات المحضرة:

تم الحصول على ستة وثلاثين مستخلصاً باستخدام طريقة الاستخلاص بالنقع ولأجزاء مختلفة من النبات (قلف الجذر، لب الجذر، الأوراق، الأزهار والثمار) وفي مرحلتين من مراحل نمو النبات وهي مرحلة التزهير ومرحلة الإثمار وباستخدام مذيبات مختلفة القطبية (الماء المقطر، الإيثانول، الميثانول وحامض الخليك). وقد أظهرت النتائج تبايناً في نسب الاستخلاص حيث أعطت المستخلصات المائية أعلى نسبة استخلاص يليها حامض الخليك ثم الميثانول ولكافة أجزاء النبات، ماعدا حالة الثمار حيث أعطت نماذج ثمار مرحلة الإثمار نسب استخلاص بالميثانول أعلى مما لحامض الخليك، بينما لاحظنا أن الإيثانول كان اضعف مذيب مستخلص ولجميع أجزاء النبات (جدول-2).

تباينت نسب الاستخلاص في أوقات النمو المختلفة للنبات فكانت لنموذج قلف الجذر خلال مرحلة الإثمار أكبر من مرحلة التزهير وفي كل المذيبات المستخدمة، بينما كانت نسبة الاستخلاص في مرحلة التزهير لنموذج لب الجذر أعلى مما في مرحلة الإثمار وفي كل المذيبات المستخدمة أيضاً، أما الأوراق فكان هنالك تبايناً في نسب الاستخلاص باختلاف المذيب، فقد كانت نسبة الاستخلاص لنموذج مرحلة الإثمار أعلى مما لنموذج مرحلة التزهير بالنسبة للمستخلص المائي، في حين كان التسلسل معكوساً لنسب الاستخلاص في الميثانول وحامض الخليك، أما بالنسبة للثمار فكانت نسب الاستخلاص للمستخلص المائي والميثانولي لنموذج مرحلة الإثمار أعلى مما في مرحلة التزهير، وكانت نسب المستخلصات حامض الخليك. من الملاحظ أن نسب

المستخدمة ذات نقاوة عالية ومن شركات متخصصة Fluka , BDH , Merck.

جمع وتصنيف النبات:

جمع النبات طازجا من غرب من مدينة هيت على الجهة اليسرى من الفرات أثناء مرحلتي التزهير (الشهر الخامس) والإثمار (الشهر التاسع) لسنة 2006، وصنف من قبل المعشب الوطني العراقي.

الاستخلاص بمذيبات مختلفة بدرجة حرارة الغرفة 25±2:

وزن 12 غم من المسحوق الجاف للنباتات قيد الدراسة (قلف الجذر، لب الجذر، أوراق، أزهار، ثمار) وأضيف له 100 مل من مذيبات مختلفة (ماء مقطر، إيثانول، ميثانول، حامض الخليك) ثم ترك على جهاز التحريك المغناطيسي لمدة ساعة واحدة وفي درجة حرارة الغرفة بعدها فصل المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي 3000 دورة /دقيقة لمدة 15 دقيقة واخذ الراشح وعقم بأوراق ترشيح قياس $0.45 \mu m$ وركز المستخلص السائل باستخدام المبخر الدوار للتخلص من المذيب للحصول على المستخلص الخاص (Crude Extract) من كل مذيب وحفظ بدرجة حرارة الانجماد لغرض الاستخدام لاحقاً (Nkere, C.K. and Iroegbu, 2005). كما تم استخلاص التانينات من مسحوق الأجزاء (Mohamad I. M. N, 2005).

اختبار حساسية البكتريا للمستخلصات المحضرة:

تم اختبار فعالية المستخلصات النباتية بطريقة الانتشار في الحفر (Agar-Well Diffusion method) في قياس الفعالية البايولوجية مختبرياً للمستخلصات النباتية ضد نمو عزلتين من البكتريا المرضية، إحدهما سالبة والأخرى موجبة لملون كرام عزلت البكتريا أعلاه من حالات مرضية في مستشفى الرمادي العام في الرمادي وصنفت في مختبر الصحة المركزي / ساحة الأندلس-بغداد (Staphylococcus aureus, Escherichia coli) (Vandepitte et al., 1991).

النتائج والمناقشة:

تصنيف النبات:

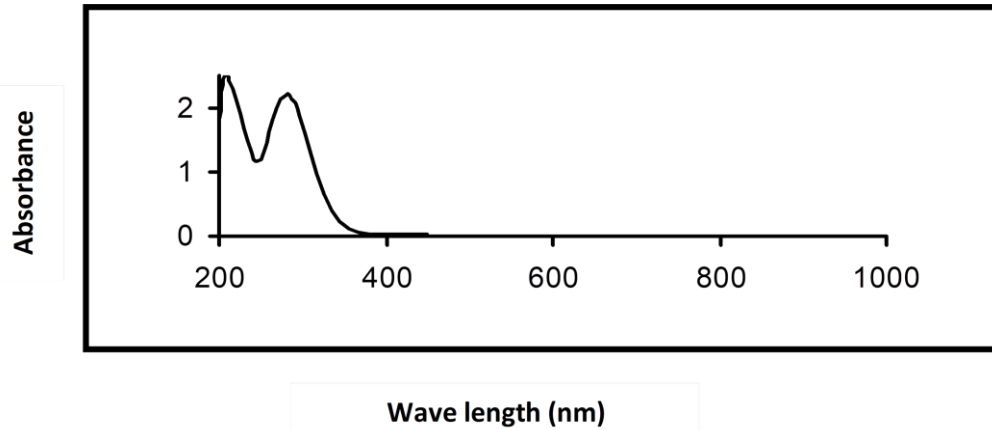
نقلت نماذج من النبات الطازج إلى المعشب الوطني العراقي لغرض التصنيف، وكانت نتيجة التصنيف كما يلي:

القسم Division النباتات البذرية Spermaphyta
تحت قسم تحت قسم Angiospermae
Subdivision مغطاة البذور

المستخلصات المائية لنماذج مرحلة الإثمار أعلى مما في مرحلة التزهير ولجميع أجزاء النبات باستثناء لب الجذر، إذ كانت نسب الاستخلاص لنموذج مرحلة التزهير أعلى من نموذج مرحلة الإثمار ولجميع المذيبات مما يدل على زيادة تركيز أصناف المركبات الذائبة بالماء كلما تقدم عمر النبات ومنها التانينات والكلايكوسيدات والسكريات والأحماض العضوية وغيرها. ومن خلال إجراء مسح

[illegible]

النسبة المئوية للمستخلص باختلاف المذيب				الجزء النباتي
الماء	الايثانول	الميثانول	حامض الخليك	
27.13	5.24	10.89	12.16	قلف الجذر (مرحلة الإثمار)
18.90	3.54	8.18	9.98	قلف الجذر (مرحلة التزهير)
10.60	2.38	5.13	6.80	لب الجذر (مرحلة الإثمار)
21.50	2.52	5.47	8.68	لب الجذر (مرحلة التزهير)
45.60	16.70	12.25	13.62	أوراق (مرحلة الإثمار)
26.70	10.38	14.80	24.89	أوراق (مرحلة التزهير)
38.85	11.30	25.97	21.50	ثمار (مرحلة الإثمار)
14.14	10.40	18.89	24.15	ثمار (مرحلة التزهير)
38.89	7.53	24.36	37.30	أزهار (مرحلة التزهير)



شكل-1: طيف حزم الامتصاص الجزيئية للمستخلصات المحضرة بشكل عام

الثمار طعمها ألحامضي. والنظرية الثانية تشير إلى أن التانينات مواد فينولية مطهرة تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة فتحافظ على حياة النبات أثناء نموه (Banso, A. and Adeyemo, S.O, 2007). إن هذه النظرية تسندها الحقيقة العلمية القائلة بأن التانينات تعتبر كفضلات لعمليات التمثيل المختلفة التي تجري في النبات حيث تستقر هذه الفضلات في بعض الأنسجة الميتة في النبات البالغ كالقشور الخارجية (Barks) أو الجزء الخشبي الصلب (جدول-3).

أما بالنسبة للمستخلصات التانينية فقد تم الحصول على تسعة مستخلصات لوحظ من خلالها أن نسبة الاستخلاص في مرحلة الإثمار أعلى من مرحلة التزهير ولجميع أجزاء النبات ما عدا الثمار فقد كانت نسبة الاستخلاص في مرحلة التزهير أعلى من مرحلة الإثمار وهذا يدل على تواجد التانينات الذائبة في الثمار غير الناضجة ولكنها تختفي عندما يتم نضج الثمرة وهناك نظريتان لتفسير هذه الظاهرة، الأولى تشير إلى أن المواد التانينية هي مصدر الطاقة التي يستهلكها النبات في عمليات الأيض وتقل كميتها باستنفادها في عمليات النضج، كما أن ما تبقى منها يتحول إلى أحماض تعطي

جدول-3: النسب المئوية للمستخلصات التانينية في نبات الكبر

الخلاصة التانينية		نموذج النبات		المستخلصات التانينية %	الجزء النباتي
التركيز (ملغم/100مل)	A	التركيز (ملغم/100مل)	A		
0.79	0.072	1.80	0.139	9.910	قلف الجذر (مرحلة الإثمار)
0.74	0.067	1.69	0.130	4.386	قلف الجذر (مرحلة التزهير)
0.74	0.067	1.40	0.105	3.026	لب الجذر (مرحلة الإثمار)
0.62	0.056	1.17	0.094	2.373	لب الجذر (مرحلة التزهير)
0.80	0.073	2.22	0.173	12.416	أوراق (مرحلة الإثمار)
0.71	0.065	2.05	0.160	12.256	أوراق (مرحلة التزهير)
0.66	0.060	1.90	0.150	11.338	ثمار (مرحلة الإثمار)
0.69	0.063	2.20	0.171	13.826	ثمار (مرحلة التزهير)
0.91	0.083	2.05	0.160	11.490	أزهار (مرحلة التزهير)

التانينية التي تم عزلها من أجزاء النبات في المرة الثانية، وباستعمال محلول قياسي من حامض التانيك (Tannic Acid) وبتراكيز تتراوح ما بين (1-10) % ملغم/مل. تم حساب كمية التانينات في العينة اعتماداً على العلاقة البيانية بين تركيز حامض التانيك وكثافته الضوئية، وأوضحت النتائج التي تم الحصول عليها، أن كمية التانينات تزداد في مرحلة الإثمار عن مرحلة التزهير

أظهرت أطياف امتصاص UV-Visible للمستخلصات التانينية المحضرة قمم امتصاص عند 205 نانومتر للانتقالات الإلكترونية $\pi \leftarrow \pi^*$ لحقة البنزين. تم تعيين كمية التانينات في أجزاء النبات المختلفة باستخدام طريقة فولن - دنس اللونية (دلالي و الحكيم، 1987)، تم العمل في هذه الخطوة على مسحوق النبات بصورة مباشرة في المرة الأولى وثم العمل على الخلاصة

وبالتالي كانت نسبة الرماد لها قليلة (0.83%) لأنها تمثل نسبة الممتص العضوي. ويمكن تفسير ذلك لكون المركبات القطبية غير المتأينة مثل السكريات والكحولات والألديدات والكتونات والأحماض العضوية وعدد آخر من المركبات تذوب في الماء بفعل الأواصر الهيدروجينية وفي الأنظمة البايولوجية تعمل جزيئات الماء ذات القطبية العالية على تخفيض الأواصر الهيدروجينية بين المواد المذابة نفسها وبذلك تكون أكثر تعرضاً للذوبان بالماء (الدالي والركابي، 1988).

وقد تبين من حساب كمية الرماد (Association of Official Analytical Chemists، 1989) أنها تقل ولأجزاء النبات كافة في مرحلة الإثمار عن مرحلة التزهير أي نتيجة لانخفاض نسبة المواد العضوية.

تحتوي النباتات بصورة عامة على كميات من العناصر المعدنية تعتمد اعتماداً كبيراً على المنطقة ونوع التربة التي تنمو فيها هذه النباتات (الدالي والركابي، 1988). كما تؤثر كمية الماء المخزون في التربة تأثيراً واضحاً على مكونات النباتات الطبية ونسبتها في أجزاء النبات (D. Bajracharya، 1999) تم تعيين عناصر الصوديوم والبوتاسيوم إضافة إلى الكالسيوم باستخدام تقنية مطيافية اللهب (Flame Photometer) (American Association of Cereal Chemist، 2002).

تبين من النتائج ان العناصر الثلاثة بصورة عامة تزداد في مرحلة الإثمار باستثناء تركيز عنصر البوتاسيوم لقف الجذر ولب الجذر، فقد لوحظ بأنه يكون في مرحلة التزهير أعلى مما لمرحلة الإثمار، كما لوحظ أن أعلى تركيز لعنصري الكالسيوم والصوديوم يتركز في أوراق النبات في مرحلتى التزهير والإثمار في حين أن أعلى تركيز لعنصر البوتاسيوم يتركز في ثمار النبات في المرحلتين أيضاً بسبب زيادة رطوبة التربة التي أدت إلى زيادة جاهزية البوتاسيوم وبالتالي زيادة امتصاص النبات له (النعمي، 1987).

من خلال النتائج لاحظنا أن نبات الكبر يحتوي أعلى نسبة من عنصر البوتاسيوم، حيث بصورة عامة تمتلك النباتات محتوى عالي من البوتاسيوم مقارنة بالصوديوم والعناصر الأخرى (Eduardo B., et al، 2000).

من خلال المقارنة مع الدراسات السابقة (Rodrigo and et al. 1992، Duke، 2007) في مناطق أخرى، يتبين أن نبات الكبر المحلي يحتوي على أقل تركيز بالنسبة للعناصر المذكورة، حيث تتأثر جاهزية العناصر الغذائية وتركيزها داخل محلول التربة وامتصاص النبات لها بحامضية التربة والتي بدورها تتأثر بتغير درجات الحرارة، كما أن الضوء يؤثر أيضاً في عملية امتصاص العناصر الغذائية من قبل النبات (النعمي، 1987).

يبين (جدول-4) نتائج دراسات الأس الهيدروجيني، الرطوبة النسبية، النسبة المئوية للرماد، فضلاً عن تراكيز العناصر (الكالسيوم، الصوديوم والبوتاسيوم) في الأجزاء المختلطة للنبات.

ولجميع أجزاء النبات باستثناء الثمار فإن كمية التانينات تقل في مرحلة الإثمار.

كما لوحظ أن كمية التانينات تختلف من جزء إلى آخر من أجزاء النبات، فقد تؤثر كمية الماء المخزون في التربة تأثيراً واضحاً على مكونات النبات الطبية ونسبتها في أجزاء النبات، وتوجد التانينات في النبات عادة مركزة في أجزاء خاصة مثل الأوراق أو السيقان أو القلف وفي الثمار غير الناضجة. (Banso, A. and Adeyemo, S.O، 2007).

تم تعيين الأس الهيدروجيني لأجزاء النبات المختلفة في مرحلتى التزهير والإثمار، وتبين أن الثمار في مرحلة التزهير تمتلك أقل أس هيدروجيني بسبب زيادة تركيز المواد الحامضية الموجودة في النبات ومنها مركبات التانينات القابلة للتحلل التي تعتبر أسترات سكرية لحامض الجاليك واللاجيك والتي توجد بتركيز عالية في الثمار غير البالغة لبعض النباتات (D. Bajracharya، 1999) وتبين أيضاً أن الأس الهيدروجيني يزداد في مرحلة الإثمار عن مرحلة التزهير ولجميع أجزائه، حيث تتغير الحموضة بسبب وجود حامض أو أكثر من الحوامض العضوية ومن أهم تلك الحوامض هي حامض الستريك والتارتريك والماليك والوكزاليك (الدالي والركابي، 1988).

كما تبين من خلال النتائج أن نسبة الرطوبة (Moisture Content) (Bajracharya، 1999) قد ازدادت في مرحلة الإثمار عن مرحلة التزهير ولجميع أجزاء النبات وهذا يدل على أن المحتوى المائي يكون متغيراً بمرور الوقت متأثراً بأسباب عدة منها عوامل مناخية قد تتعلق باختلاف درجات الحرارة واختلاف فصول السنة، فهناك قاعدة عامة هي أن ارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى زيادة عملية النتح، وان انخفاضها يقلل من فقدان الماء من النبات (النعمي، 1987).

وقد تكون عوامل كيميائية مثلاً، عندما تذوب المواد المذابة في الماء فإن جزيئات الماء سوف تنظم أو توجه نفسها نسبة إلى جزيئات المذاب، لذلك تكون لجزيئات الماء حرية أقل للهروب من الحالة السائلة إلى الحالة الغازية (الدالي والركابي، 1988).

ومن مقارنة نسب الرطوبة للدراسات السابقة 79% (Nizar T., et al، 2010) 79.5% (Duke، 2007) 85% (Panico et al، 2005) مع نسبة الرطوبة التي حصلنا عليها في دراستنا الحالية تبين أنها أقل بكثير، حيث تختلف نسبة الماء في النباتات المختلفة باختلاف نوع النبات وعمره و موسمه و محتوى التربة من الرطوبة و درجة الحرارة و سرعة الرياح و رطوبة الجو و الإشعاع الشمسي (النعمي، 1987).

وعند مقارنة نسبة الرطوبة التي تم الحصول عليها مع امتصاصيات المستخلصات المائية عند طول موجي محدد، مثلاً امتصاصية المستخلص المائي لقف الجذر مرحلة الإثمار عند الطول الموجي (205 nm) كانت (2.52) ونسبة الرطوبة لهذا الجزء من النبات كانت (58.26%) هذا يدل على أن المكون المائي عالي فلذلك المواد الممتصة في المستخلص المائي عالية لذلك أصبحت قيمة الامتصاصية عالية، ومن هذا نستنتج أن المواد العضوية التي تمتص بالمحلول العضوي ستكون قليلة (0.376)

جدول-4: النسب المئوية لمكونات الأجزاء المختلفة لنبات الكبر

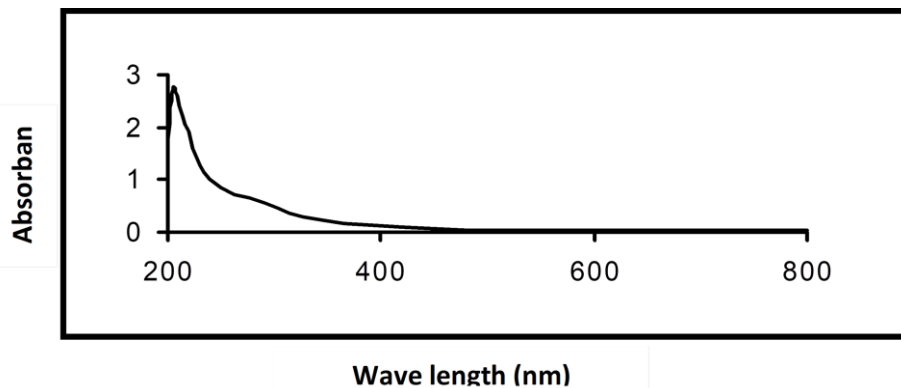
الجزء النباتي	pH	الرطوبة النسبية %	الرماد %	Ca ppm	Na ppm	K ppm
قلف الجذر (مرحلة الإثمار)	5.22	58.26	0.830	263	197	1308
قلف الجذر (مرحلة التزهير)	5.10	21.30	9.760	90	85	2460
لب الجذر (مرحلة الإثمار)	6.43	42.67	1.735	74	165	183
لب الجذر (مرحلة التزهير)	4.55	22.50	6.670	50	52	387
أوراق (مرحلة الإثمار)	5.70	37.47	16.280	695	519	4392
أوراق (مرحلة التزهير)	4.55	21.97	21.500	225	199	3339
ثمار (مرحلة الإثمار)	5.20	31.62	8.150	154	231	6570
ثمار (مرحلة التزهير)	4.45	28.00	12.160	59	60	4750
أزهار (مرحلة التزهير)	4.88	26.54	12.610	42	79	2989

الفصل باستخدام تقنية الترشيح بالهلام

Gel Filtration

تم فصل وتشخيص المركبات الفعالة في النبات باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الترشيح بالهلام Gel Filtration Chromatography (Amersham, 2003)، باستخدام هلام السيفادكس Sephadex G-25، حيث تم تحضير مستخلص مائي للنبات وبتراكيز 5% في الماء المقطر وجهاز للعمود باستخدام أربعة أطوار متحركة مختلفة وهي (الماء المقطر و Tris HCl pH=6 و Tris HCl pH=7 و

Tris HCl pH=8)، وكان زمن الجريان (1 مل / دقيقة) وجمعت النماذج بواقع 5 مل لكل نموذج. أجريت دراسة طيفية للأجزاء المفصولة من عمود الكروماتوغرافيا لمختلف الأطوار المتحركة المدروسة وذلك لتشخيص المكونات المحتمل تواجدها في هذه الأجزاء، كما وأجري مسح عام للمستخلص المائي للنبات ضمن حدود المنطقة المرئية وفوق البنفسجية ولوحظ انه اظهر قيمة واحدة للامتصاصية عند الطول الموجي (210) نانوميتر ومقدارها (2.55) وحدة امتصاص. والتي يوضحها (شكل-2).



شكل-2: الامتصاصية الجزيئية للمستخلص المائي الخام لنبات الكبر

(من جزء 1 إلى الجزء 5) ذات قيم متفاوتة وقليلة جداً، يتبعها الأجزاء الوسطى أبدت سلوكاً متدرجاً في قيم الامتصاصية عند الأطوال الموجية 205 نانوميتر، 270 نانوميتر جمعت هذه الأجزاء وركزت ودرست امتصاصياتها الجزيئية فأظهرت قمة حادة (2.778) وحدة امتصاص عند الطول الموجي 205 نانوميتر. (شكل-3)، أما الأجزاء المجموعة من نهاية العمود فلم تبد امتصاصيات واضحة عند أي طول موجي.

العمود الثالث (Tris HCl pH=7 كطور متحرك)

استخدم Tris HCl pH=7 طوراً متحركاً إلى العمود. جمعت الأجزاء المفصولة من وسط العمود وركزت

العمود الأول (الماء المقطر كطور متحرك):

استخدم الماء المقطر كطور متحرك إلى العمود وجمعت الأجزاء بحجم 5 مل وتم المسح الطيفي في مدى من الأطوال الموجية (200-800) نانوميتر. جمعت هذه الأجزاء من العمود وركزت ودرست امتصاصياتها الجزيئية فلم تظهر امتصاصية واضحة عند أي طول موجي.

العمود الثاني (Tris HCl pH=6 كطور متحرك)

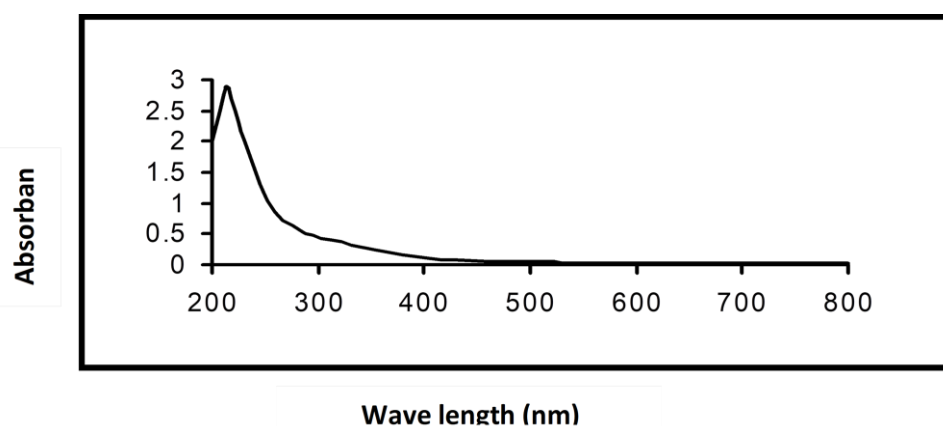
استخدم Tris HCl pH=6 طوراً متحركاً إلى العمود، لوحظ أن الامتصاصية الجزيئية للأجزاء الأولى من العمود

متدرجاً في قيم الامتصاصية عند الأطوال الموجية 210 نانوميتر، 215 نانوميتر، 220 نانوميتر، 225 نانوميتر، 270 نانوميتر جمعت هذه الأجزاء وركزت ودرست امتصاصياتها الجزيئية فأظهرت قمة حادة (2.737) وحدة امتصاص عند الطول الموجي 210 نانوميتر. (شكل-5)، أما بقية أجزاء المفصولة في نهاية العمود فلم تبد امتصاصيات واضحة عند أي طول موجي.

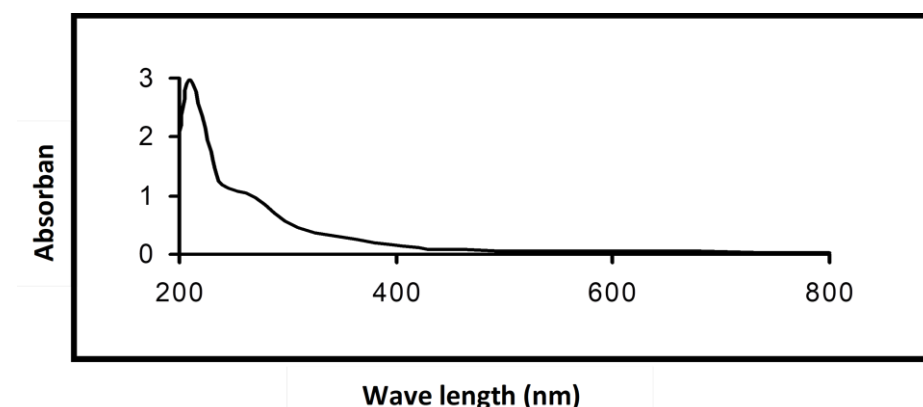
و درست امتصاصياتها الجزيئية فأظهرت قمة حادة عند الطول الموجي 210 نانوميتر امتصاصيتها (2.961) (شكل-4). أما الأجزاء المفصولة من نهاية العمود فلم تبد امتصاصيات واضحة عند أي طول موجي.

العمود الرابع (Tris HCl pH=8 كطور متحرك)

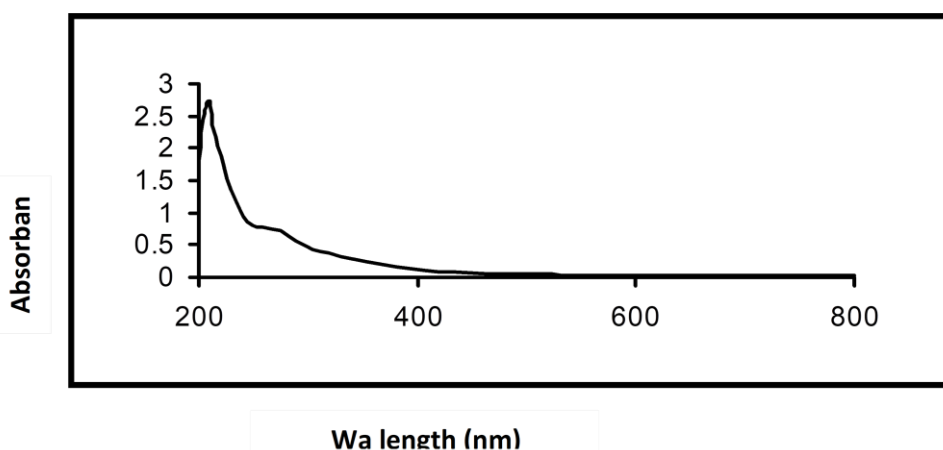
استخدم Tris HCl pH=8 طوراً متحركاً للعمود. ابدت الأجزاء المفصولة من وسط العمود سلوكاً



شكل-3: الامتصاصية الجزيئية للأجزاء المركزة من العمود الثاني



شكل-4: الامتصاصية الجزيئية للأجزاء المركزة / من العمود الثالث



شكل-5: الامتصاصية الجزيئية للأجزاء المركزة / من العمود الرابع

جدول-5: التأثير التثبيطي لمستخلصات نبات الكبرالمختلفة على عزلتين من البكتريا

معدل أقطار التثبيط (بالملم) تركيز (ملغم / مل)						نوع البكتريا	نوع المستخلص	الجزء النباتي
100	50	25	10	1	0.1			
15	13	11	10	8	7	<i>Escherichia Coli</i>	مائي	أزهار مرحلة التزهير
9	8	7	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
10	9	8	7	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	مائي	ثمار مرحلة التزهير
11	9	8	7	-	-	<i>S. aureus</i>		
16	14	12	10	8	-	<i>Escherichia Coli</i>	مائي	أوراق مرحلة التزهير
20	18	12	9	8	-	<i>S. aureus</i>		
15	13	11	10	8	-	<i>Escherichia Coli</i>	مائي	أوراق مرحلة الإثمار
14	10	9	8	-	-	<i>S. aureus</i>		
15	13	11	9	8	-	<i>Escherichia Coli</i>	ميثانولي	أوراق مرحلة التزهير
10	9	7	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
16	14	10	8	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	ميثانولي	قلف جذر مرحلة الإثمار
16	15	11	9	-	-	<i>S. aureus</i>		
14	11	9	7	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	حامضي	ثمار مرحلة التزهير
14	10	8	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
14	10	8	-	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	حامضي	لب جذر مرحلة التزهير
16	12	8	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
12	10	8	-	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	حامضي	قلف جذر مرحلة الإثمار
13	9	7	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
13	10	8	-	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	حامضي	أزهار مرحلة التزهير
15	11	8	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
20	16	10	8	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	حامضي	أوراق مرحلة التزهير
17	11	8	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
11	9	10	8	-	-	<i>Escherichia Coli</i>	ثانييني	أزهار مرحلة التزهير
9	8	-	-	-	-	<i>S. aureus</i>		
16	14	12	11	9	-	<i>Escherichia Coli</i>	ثانييني	ثمار مرحلة التزهير
11	9	8	7	-	-	<i>S. aureus</i>		

بالنسبة لسلسلة التراكيز التي تم تحضيرها والعمل عليها من كل مستخلص (جدول-5).

وعند مقارنة أقطار التثبيط للمستخلصات المدروسة تبين ان مستخلصات مرحلة التزهير اعطت اعلى فعالية، حيث تبين أن قطر التثبيط يزداد بالنسبة لمستخلصات نماذج مرحلة التزهير، وهذا يتوافق مع قيم الامتصاصية العالية لكل المستخلصات في تلك المرحلة مما يؤكد زيادة نسبة المواد الفعالة فيها مقارنة بمرحلة الإثمار. كما تبين من النتائج أن مستخلصات قلف الجذر للنبات أبدت فعالية ضد أنواع البكتيريا تحت الدراسة وهذا يؤكد ما جاء في المصادر حيث ذكر ابن سينا في القانون وابن البيطار في جامعهم إن قشور الجذور إذا وضعت على الجراحات الخبيثة نفعا يكون عظيما (Hort، 1983 و Kelly، 1991) كما انه يستخدم لعلاج الدامل (مجيد و محمود، 1988) والتهابات الجروح (العكيلي، 2002) التي تسببها بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) كما ذكر إن منقوع أو مغلي قشر الجذر يستخدم لعلاج

دراسات كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة:

بعد أن اظهر المستخلص المائي للنبات وعدد من أجزاء الأعمدة امتصاصيات واضحة عند الطول الموجي (205) نانوميتر، تبادر إلى الذهن احتمالية وجود مركب الاوكيوبين وهو احد أنواع الكلايكوسيدات الايريديدية في المستخلص لذلك درس المستخلص المائي للنبات بتقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة. حيث أجريت محاولات عديدة لتشخيص الاوكيوبين في المستخلص وباستخدام صفائح بأبعاد (2.5 * 7.5) سم وكانت فحوصات الـ TLC لكل المحاولات سالبة النتيجة.

الفعالية البايولوجية:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن محاليل بعض المستخلصات لم تبد أي فعالية تذكر ضد البكتيريا، في حين أبدت المستخلصات الأخرى فعالية تتدرج شدتها من أعلى تركيز (100) ملغم/مل إلى أقل تركيز (0.1) ملغم/مل

المصادر الأجنبية:

- 1-Al-Khazragi, S. M. ,1991. "Biopharmacology Study of Artemision Herha", Alba. Unpublished. M.Sc. Thesis .College of Pharmacology ,University of Baghdad .
- 2-AL-Said, M. S.; Abdelsattar ,E. A.; Khalifa, S. I. and EL-Feraly, F. S. ,1988. "Isolation and identification of an anti-inflammatory principle from *Capparis Spinosa*". *pharmazie*, 6:(43), pp. 640-641.
- 3-American Association of Cereal Chemist(AACC). ,2002. "Approved methods .Apse, M.P. and Blumwald, E. "Engineering Salt tolerance in Plants". *Biotechnology*,4:(13), pp. 146-150.
- 4-Amersham Biosciences AB"SephadexG-25 Medium" ,2003.
- 5-Association of Official Analytical Chemists. (AOAC,1989. "Official Method of Analysis".13th ed. Washington D.C..
- 6-Ayoola G. A., Folawewo A. D., Adesegun S. A., Abioro O. O., Adepoju-Bello A. A. ,2008." Phytochemical and antioxidant screening of some plants of apocynaceae from South West Nigeria ", *African Journal of Plant Science* 2:(9), pp. 124-128.
- 7-Bajracharya, D. ,1999. "Experiments in Plant Physiology". Narosa Publishing House.
- 8-Banso, A. and Adeyemo, S.O. ,2007. " Evaluation of antibacterial properties of tannins isolated from *Dichrostachys cinerea*", *African Journal of Biotechnology* Vol. 6:(15), pp. 1785-1787.
- 9-Bond, R. E. ,1990. " In The Herbalist., The Caper Bush", 7:(56), pp. 77-85.
- 10-Cullen, J.; Alexander, J. C.; Brady, A. et. al. ,1992. "The European Garden Flora " Cambridge, Cambridge Universitypress, 4:(2), pp. 128-129.
- 11-Duke, J. A. ,2007. "Phytochemical and Ethnobotanical Databases". [Online Databases]. Wed. January .EST.
- 12-Eduardo B., Gilad S. A., Maris P. A. ,2000. "Sodium transport in plant cells" *Biochimica et Biophysica Acta* 1465 , pp. 140-151.
- 13-Gallisai, F. G. ,2002. " Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe". Rome. FAO. Sincich, F. pp. 114-115.
- 14-Harborne, J. B. ,1973 " *Phytochemical Methods*". 1st Ed Chapman and Hall.
- 15-Hassan S., and Mohammad N. A. ,2010. "Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine " *Journal of Medicinal Plants Research* 4:(17), pp. 1751-1756.
- 16-Hort, J. ,1983. "Gremination of Caper *Capparis Spinosa* L. seeds " , 58, pp. 267-270.
- 17-Kelly, D. ,1991. "Imported Capers" *Horticulture*, 69, pp. 16-17.

الإسهال(Hort,1983 و Kelly,1991)، الذي تسببه بكتيريا الاشريشيا القولونية المسببة للإسهال عند الأطفال. حيث يعتبر قشر الجذر من الأجزاء الغنية بالمواد الفعالة في النبات ومن أهم تلك المواد هي راتنجات والصابونينات و بكتين و ريويتين(Khakberdyev et al.,1986). وقد أثبتت الدراسات السابقة أن مستخلص نبات الكبر له قدرة كبيرة على قتل الكائنات الدقيقة مثل الزوائف الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*)، عصيات السالمونيلا (*Salmonellae*)، المتقلبات (*Proteus vulgaris*)، الاشريشيا القولونية(*Escherichia coli*)، المكورات العنقودية (*Staphylococcus arueus*) والفطريات مثل *Candida albicans*، كما أثبتت التجارب المخبرية على نبات الكبر أن النبات مضاد للالتهاب(Hort,1983).

كانت قيم التأثير التثبيطي للمستخلصات المحضرة متباينة، ومن متابعة الجدول (5) يتبين أن التأثير التثبيطي للمستخلص المائي للأوراق (مرحلة التزهير) أعطى أعلى فعالية مضادة لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية بقطر تثبيط مقداره (20 ملم)، في حين أن أعلى تأثير تثبيطي ضد بكتيريا الاشريشيا القولونية كان لمستخلص حامض الخليك لأوراق (مرحلة التزهير) بقطر تثبيط مقداره (20 ملم) أيضاً.

المصادر العربية:

- 1-الدرويش، مصطفى، 1983. " موجز علم العقاقير الطبية " ، الهيئة العامة للتعليم والتدريب الصحي ، وزارة الصحة ، العراق.
- 2-دلالى، باسل كامل و الحكيم، صادق حسن ،1987. "تحليل الاغذية". دار الكتب، جامعة الموصل.
- 3-الدلالى، باسل كامل والركابي، كامل محمود، 1988. "كيمياء الاغذية". دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.
- 4-السلامي، وجيه مظهر، 1988. "تأثير مستخلصات نباتي المديد *Ipomea Cairica* *Convolvulus arvensis* الاداء الحيوي لحشرة من الحنطة *Schizaphi graminum* . اطروحة دكتوراه فلسفة، كلية العلوم، جامعة بابل، صفحة 111.
- 5-سليمان، رياض رشيد و فضل الله، يوسف جورج، 1989. "الكيمياء الحياتية العملي". وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،جامعة بغداد، بيت الحكمة.
- 6-العكيلي، عدنان حنون، 2002. "دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتريا اصابات الحروق" ، رسالة ماجستير -كلية العلوم -الجامعة المستنصرية.
- 7-مجيد، سامي هاشم ، محمود، مهند جميل ، 1988. "النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي". مجلس البحث العلمي، مركز بحوث علوم الحياة ، الطبعة الاولى.
- 8-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.
- 9-المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988. " النباتات الطبية والعطرية و السامة في الوطن العربي " ، الخرطوم .
- 10-النعمي، سعد الله نجم عبد الله، 1987. "الاسمدة وخصوبة التربة". دار الكتب للطباعة والنشر ، المكتبة الوطنية، بغداد.
- 11-وصفي، عادل سعيد و قصير ، جانيث توفيق، 1982. " كيمياء النواتج الطبيعية " ، جامعة بغداد.

- 18-Kubmarawa D., Ajoku G. A. , Enwerem N. M., and Okorie D. A. ,2007. " Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of 50 medicinal plants from Nigeria ", African Journal of Biotechnology Vol. 6:(14), pp. 1690-1696.
- 19-Mohamad I. M. N., Nor N. M. Y. and Amirue A. A. ,2005. " Extraction of Tannin from Oil Palm Empty Fruit Bunch as a Rust Deactivator ", 13th Regional Symposium on Chemical Engineering.
- 20-Nidia F. R. ,2007. "CHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS: FROM SCHEELE TO GOTTLIEB" 1st Brazilian conference on natural products, Sao Paulo State, Brazil. November 4th – 7th.
- 21-Nizar T., Nizar N., Ezzeddine S., Abdelhamid K., and Saida T. ,2010. "Stérol composition of caper *Capparis spinosa* seeds, African Journal of Biotechnology Vol. 9:(22), pp. 3328-3333.
- 22-Nkere, C. K. and Iroegbu ,C.U. ,2005. "Antibacterial Screening of the Root, Seed and Stem Bark Extracts of *Picralima nitida*". African Journal of Biotechnology ,4:(6), pp. 522-526.
- 23-Nkere,C.K.and Iroegbu ,C.U ,2005. "Antibacterial Screening of the Root, Seed and Stem Bark Extracts of *Picralima nitida*". African Journal of Biotechnology ,4:(6), pp. 522-526.
- 24-Panico, A. M.; Cardile, V.; Garufif.; Puglia, C.; Bonina, F. and Ronsisvalle, G. ,2005. "Protective effect of *Capparis Spinosa* on Chondrocytes". Journal, Life Sciences, ISSN, 77, pp. 2479-2488.
- 25-Sharaf, M.; EL-Ansari, M. A.; Saleh, N. A. ,2000. " Quercetin Triglycoside from *Capparis Spinosa*". Fitoterapia.71, pp. 46-49.
- 26-Simon, J. E. Herbs"An Indexed Bibliography", pp. 1970-1980. Hamden.CT:shoe string press.
- 27-Sofowara, A. ,1993. "Medicinal Plant and Tradition Medicine in Africa. Spectrum Book Ltd" .Ibadan Nigeria.
- 28-Stepheus, J. M. ,1994. "Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences" ,University of Florida, Gainesville, FL 32611.
- 29-Urve P., Vallo M., and Ain R. ,2010. " Total tannin content in distinct *Quercus robur* L. galls", Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4:(8), pp. 702–705.
- 30-Vandepitte J.;Engback, K.;Piot, P. And C. Heuk ,2001. "Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology". World Health Organization, Geneva.