

The 3rd International Conference of Pharmaceutical and Drug Industries Division

برنامج بحثية خضراء Green Research Program

أ.د. حسن بن عبد القادر حسن البار
قسم الكيمياء / جامعة الملك عبد العزيز
جده – المملكة العربية السعودية

National Research Center (NRC),
Cairo, Egypt, March 6-8, 2007

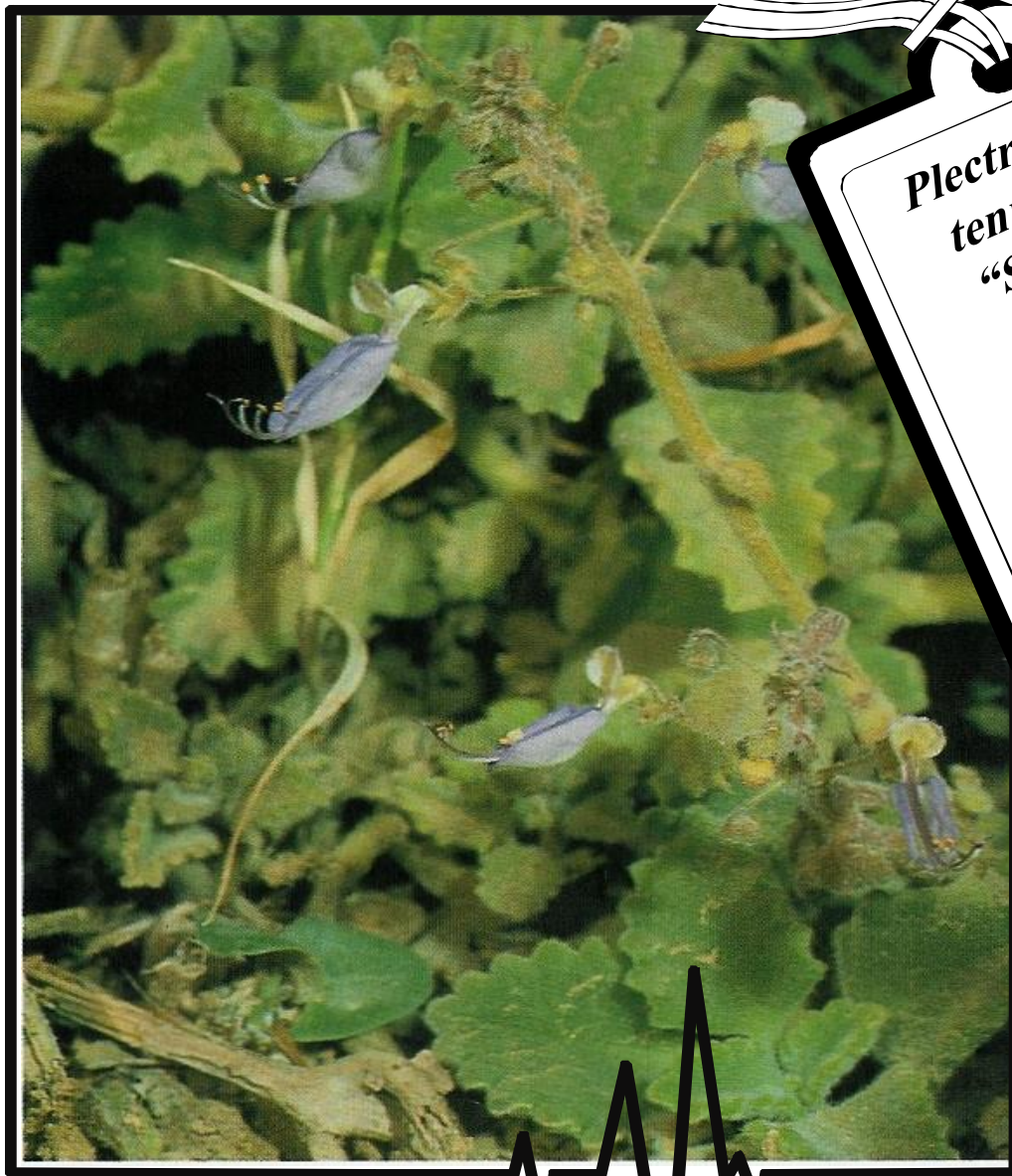
Phytochemical composition of *Plectranthus tenuiflorus* extract and study some of its medical applications

المكونات الفيتو كيميائية لمستخلص نبات الشارة
ودراسة بعض تطبيقاته الطبية

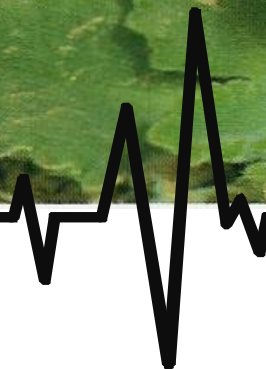
By:

Tagreed Alsufyani¹, Asif fatani², Suad Shaker³,
Faten Korshid³, Hassan albar¹

¹Chem. Dept., Email: Halbar@kau.edu.sa. ²King Abdulaziz University Hospital, Clinical Microbiology Lab, ³King Fahad Medical Research Center, P.O. Box 9028, Jeddah21589, Saudi Arabia.



***Plectranthus
tenuiflorus***
“Sharah”
**Collected
from Al-sir
valley on
1700 m
height from
sea surface**



الأوراق الرطبة من نبات الشارة تم جمعها من مدينة الطائف في المملكة العربية السعودية وخضعت للتحليل الكمي والنوعي للعناصر المعدنية، كما تم عصر هذه الأوراق للكشف عن المكونات الكيميائية الموجودة في العصير الناتج بطرق تحليل كيمياء النبات، وقد توصلت النتائج إلى أن المحتوى الكلي من الكربوهيدرات الكلية يبلغ $5.98 \times$ 10-5 مولار. وأوضح الفصل الورقي الاستشرابي أن هناك 7 من الأحماض الأمينية البروتينية في أوراق الشارة متمثلة في ألانين، هيسيتدين، فنل ألانين، أسبارجين، حمض الأسبارتك، حمض الجلوتاميك واليوسين. كذلك أظهر الكشف الوصفي وجود الكومارينات، التانينات المتحللة، الزيت الطيار الذي يمثل الثيمول المكون الأساسي فيه بنسبة 62,53% والتربينات الثلاثية، وذلك في مقابل غياب أشباه القلويات، الاسترويدات، الأنثراكينونات، الفلافونيدات، التانينات المكثفة والجليكوسيدات الأنثراكينونية والقلبية. وقد قورنت نتائج التحليل الفيتو الكيميائي لهذا النبات مع نتائج تحليل كل من نبات الصوم والصعبر.

Metallic Elements Estimation In Leaf By ICP-OES

Metals	Concentration (ppm)
Ag	0.00033 ± 0.001 ⁱ
Al	9.15933 ± 0.19 ^g
As	0
Ba	0.23467 ± 0.07 ⁱ
Bi	0
Ca	903.16333 ± 0.21 ^a
Cd	0
Co	0.025 ± 0.002 ⁱ
Cr	0.05567 ± 0.01 ⁱ
Cu	0.09333 ± 0.05 ⁱ
Fe	30.80333 ± 0.23 ^d
Mg	367.09333 ± 0.18 ^b
Hg	0

Metals	Concentration (ppm)
Mn	1.02233 ± 0.22 ^h
Mo	0.01933 ± 0.01 ⁱ
Na	75.07333 ± 0.17 ^c
Ni	0.08833 ± 0.03 ⁱ
P	24.87 ± 0.3 ^e
Pb	0.09167 ± 0.07 ⁱ
Sb	0.03433 ± 0.03 ⁱ
Se	0
Sr	12.35333 ± 0.97 ^f
V	0.23167 ± 0.001 ⁱ
Zn	0.37933 ± 0.05 ⁱ

Data in the column followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ according to LSD test.

Primary metabolisms

```
graph TD; A[Primary metabolisms] --> B[Protein Amino Acids detected by using paper chromatography]; A --> C[Total Carbohydrates determined according to Allen et al. method]; B --> D["Ala, Leu, Glu, Asp, Asn, Phe & His."]; C --> E[Statistical study of Least square method was used]; E --> F["5.98 × 10-5 M"];
```

Protein Amino Acids detected by using paper chromatography

Ala, Leu, Glu, Asp, Asn, Phe & His.

Total Carbohydrates determined according to Allen *et al.* method

Statistical study of Least square method was used

$5.98 \times 10^{-5} \text{ M}$

Secondary metabolisms

Plectranthus tenuiflorus

Euryops arabicus

Clutia myricoides

Glycosides	Anthraquinon		+	+
	Cardiac	=	+	+
	Saponins	-	+	+
Flavonides	Anthraquinons	-	+	+
	Flavonides	-	+	+
	Coumarins	+	+	
	Tannins	Hydrolysable	Condensed tannins	Condensed tannins
Isoprenoide s	Essential oils	tannins	+	-
	Triterpenoids	+	+	+
	Steroids	-	+	+
Nitrogenous compounds	Alkaloids	-	+	+
	Quaternary Alkaloids	-	+	-

+ indicates that product is existing.

- indicates that product is not existing.

**study some
medical
applications of
*P. tenuiflorus***

Antimicrobial
activity of
P.
tenuiflorus
Leaf Juice

1

Activity
of fibroblast
proliferation
under
P. tenuiflorus
leaf juice effect
(in vitro model)

P. tenuiflorus
leaf juice
efficiency on
enhancing wound
healing process
(in vivo model)

قامت الدراسة بتقدير النشاط الحيوي لعصير أوراق الشارة خارج جسم الكائن الحي متمثلا في اختبار نشاطه المضاد للميكروبات والمحفز لنمو الأرومات الليفية مع دراسة النشاط الحيوي للعصير داخل جسم الكائن الحي متمثلا في اختبار فعاليته في تحفيز عملية التئام الجروح المفتعلة في الجرذان (سلالة ويستر). وقد أظهر العصير نشاطا مضادا للميكروبات باستخدام طريقة الآجار المثقب انحصر في تثبيط نمو كل من المكورات العنقودية الذهبية (*S. pyogenes* (17.8 mm) والزائفة الزنجارية (*P. aeruginosa* (17 mm) ، وقد أشارت النسبة المئوية لتثبيط النمو القطري للزائفة الزنجارية تحت تأثير عصير أوراق الشارة أن هذه المادة النباتية ذات تأثير تثبيطي متوسط.

1

Antimicrobial Activity of *P. tenuiflorus* Leaf Juice by Agar-well diffusion

Pathogenic microbes	Means of Inhibition Zone (mm) ¹ ± SD under effect of			
	Leaf juice of <i>P. tenuiflorus</i>	Penicillin (10unit)	Gentamicin (10µg)	Nystatin (25µl)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	17.8 ± 0.36 ^a	40 ± 0.02	nt	nt
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	32 ± 0.01	nt	nt
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17 ± 0.35 ^b	nt	15.5 ± 0.01	nt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	nt	20 ± 0.01	nt
<i>Escherichia coli</i>	-	nt	19 ± 0.00	nt
<i>Candida albicans</i>	-	nt	nt	12 ± 0.01

Data in the first column followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ according to independent sample t-test.

(-), inactive; nt, not tested.

¹ Diameter of inhibition zone (mm) including well diameter of 4 mm.

1

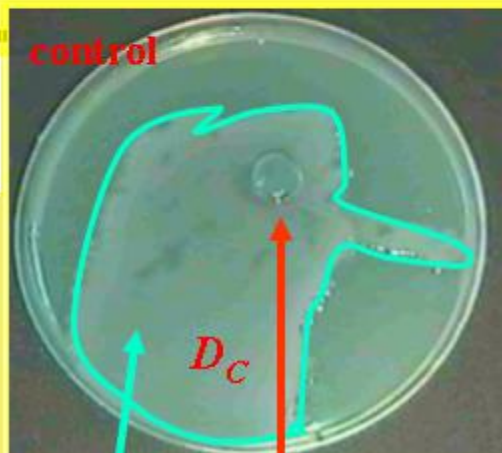
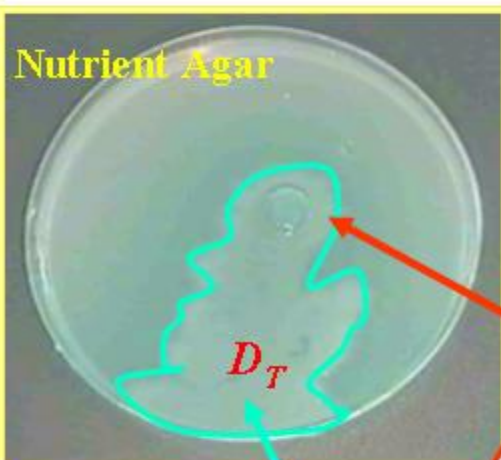
Percentage Radial Growth Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* under effect of *P. tenuiflorus* Leaf Juice on Nutrient and Muller-Hinton Agar.

Percentage growth inhibition =

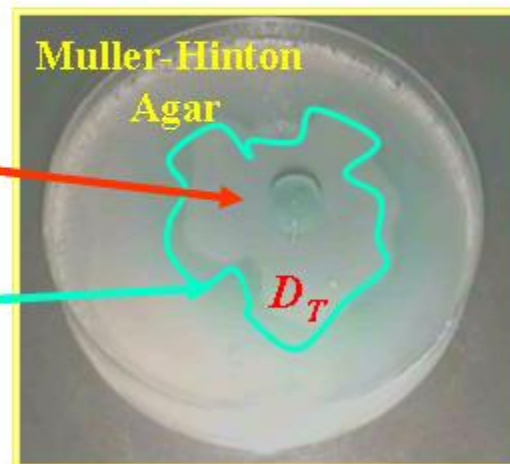
$$\frac{D_C - D_T}{D_C} \times 100$$

Were: D_C = is the average diameter of *P. aeruginosa* growth with control. D_T = the average diameter of *P. aeruginosa* growth with treatment.

The significant differences between radial growth of *P. aeruginosa* on NA and MHA under *P. tenuiflorus* leaf juice was found by Independent sample t-test at $\alpha = .05$.



10mm diameter of 0.5 McFarland of *P. aeruginosa* mass



Radial growth of *P. aeruginosa*

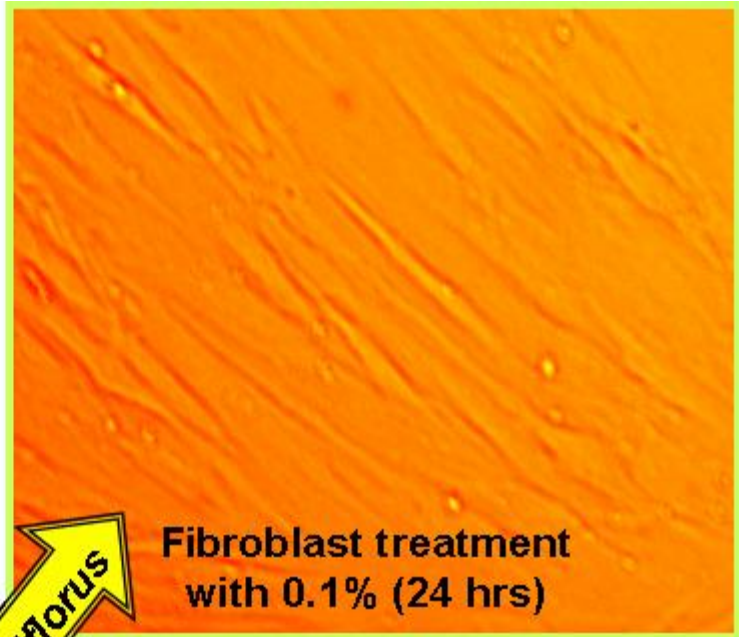
أوضحت النتائج أن عصير أوراق الشارة له تأثير ملحوظ ومحفز لنمو الأرومات الليفية مرتبط بتركيز الجرعة والزمن حيث ظهر هذا التأثير بعد ٧٢ ساعة عند تركيز ٠,١% وزن/حجم، بينما ظهرت الجرعة نصف المثبطة IC50 بعد ٢٤ ساعة عند تركيز ٠,٥% وزن/حجم.

fibroblast proliferation activity under ② effect of *P. tenuiflorus* leaf juice (*in vitro model*)

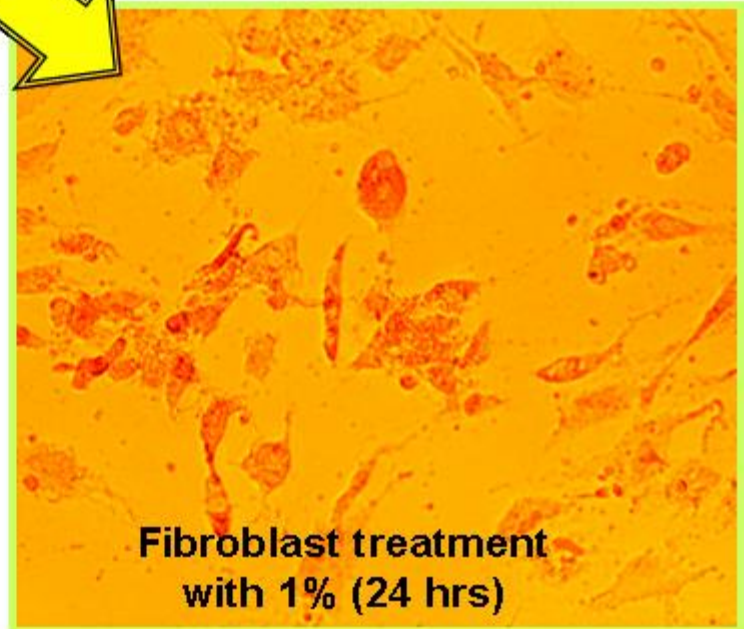
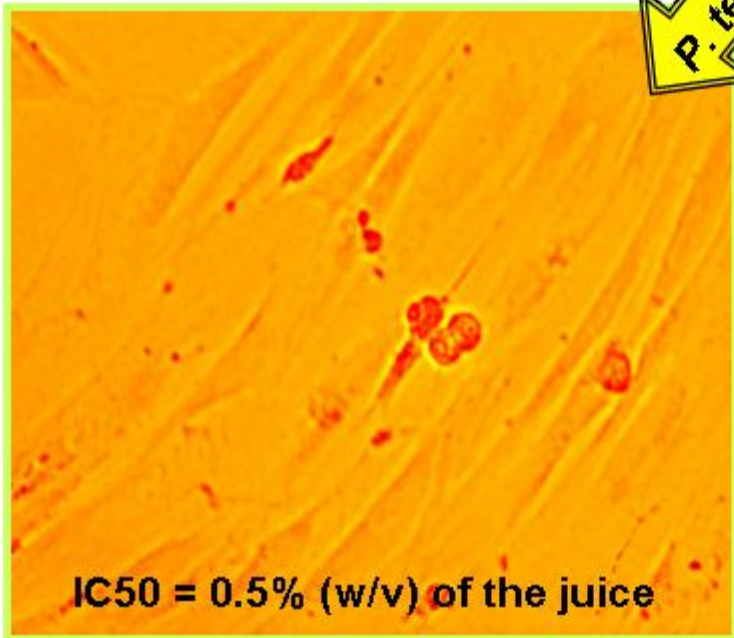
Were the initial density of fibroblast proliferation/ mL = 1×10^5 cell/ mL

		the means of fibroblast density $\times 10^5$ / mL \pm SD			
		after 24 h	after 48 h	after 72 h	
Minimum Essential Medium with:	2% FCS Control	1.5 ± 0.1 ^{a3}	2.05 ± 0.05 ^{b2}	2.65 ± 0.04 ^{b1}	
	Deferent concentration of leaf juice	0.05%	1.15 ± 0.05 ^{b3}	2.35 ± 0.04 ^{a2}	2.7 ± 0.1 ^{b1}
		0.1%	1.5 ± 0.02 ^{a3}	2.3 ± 0.1 ^{a2}	3.15 ± 0.06 ^{a1}
		0.3%	1.1 ± 0.2 ^{b2}	1.9 ± 0.2 ^{b1}	1.4 ± 0.1 ^{c2}
		0.5%	0.75 ± 0.04 ^{c1}	0.75 ± 0.04 ^{c1}	0.05 ± 0.04 ^{d2}
1%	0.2 ± 0.03 ^{d1}	0 ± 0.001 ^{d2}	0 ^{d2}		

Data in the column followed by different letters are significantly different at $p \leq 0.05$ according to LSD test.
 Data in the raw followed by different numbers are significantly different at $p \leq 0.05$ according to LSD test.



P. tenuiflorus



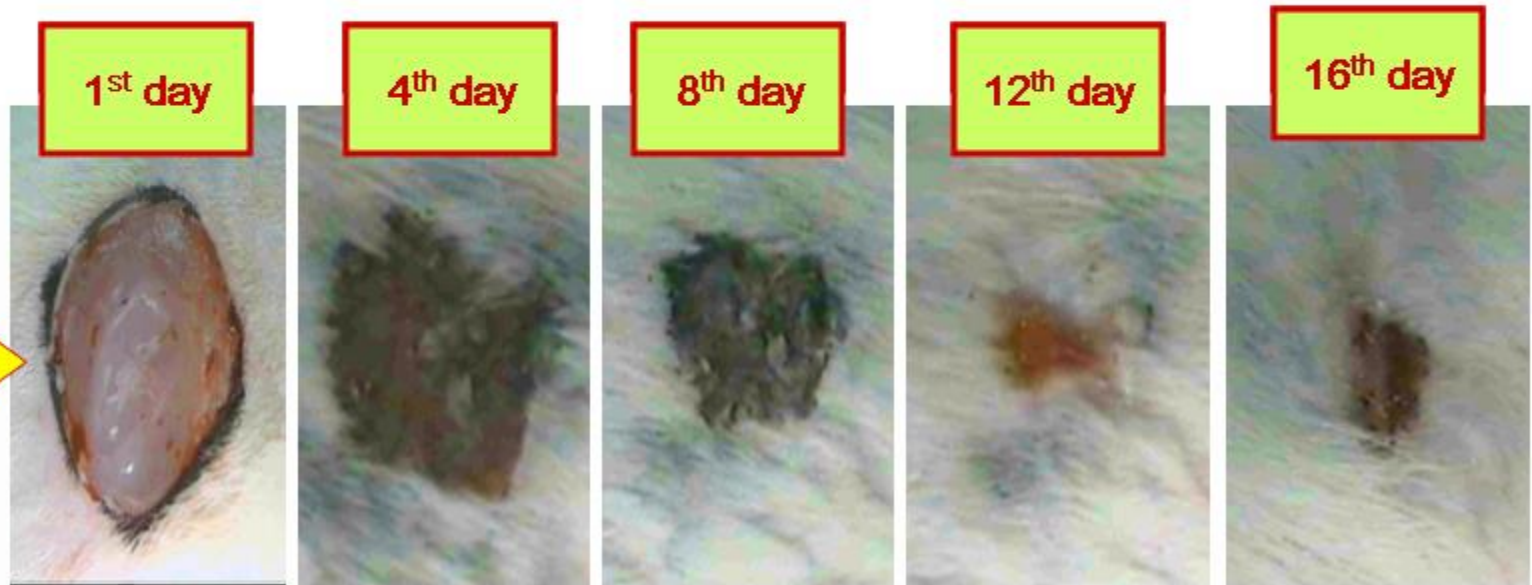
وقد أثبتت النتائج وبشكل ملحوظ كفاءة عصير أوراق
الشارة بتركيز (١٠% وزن/ حجم) في تحفيز التئام
الجروح تحت تأثير العلاج اليومي والموضعي لمنطقة
الجرح وذلك بالمقارنة مع بقية التراكيز المستخدمة
والمجموعة الضابطة غير المعالجة، بالإضافة إلى
المستخلصات النباتية الأخرى في الدراسات السابقة
حيث لوحظ ظهور بصيلات الشعر والغدد الدهنية في
منطقة الجرح بما فيها الندبة بطريقة تحاكي وجودها
في الجلد الطبيعي، ولذلك فإن هذا النبات مؤهلا ليكون
مصدرا طبيعيا فعالا في علاج الجروح.

**③ *P. tenuiflorus* leaf juice efficiency on
enhancing wound healing process
(*in vivo* model)**

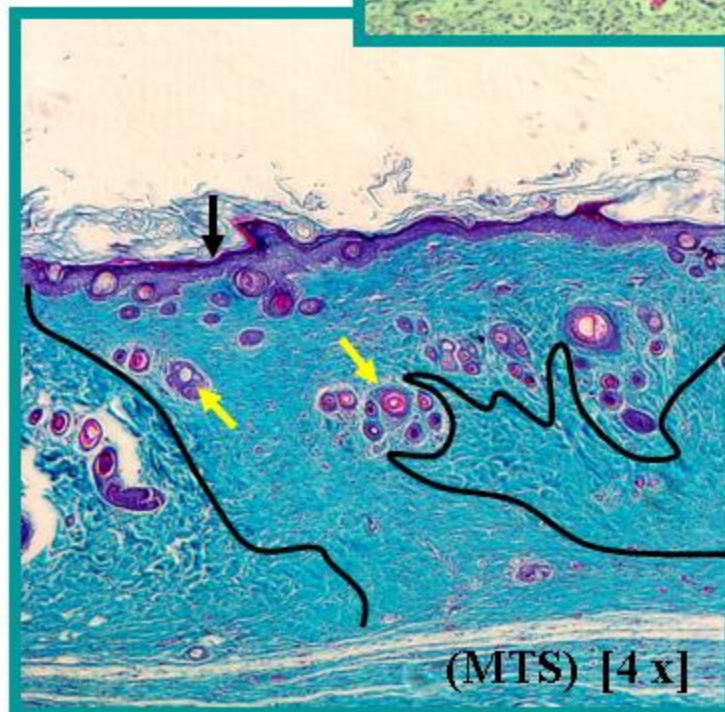
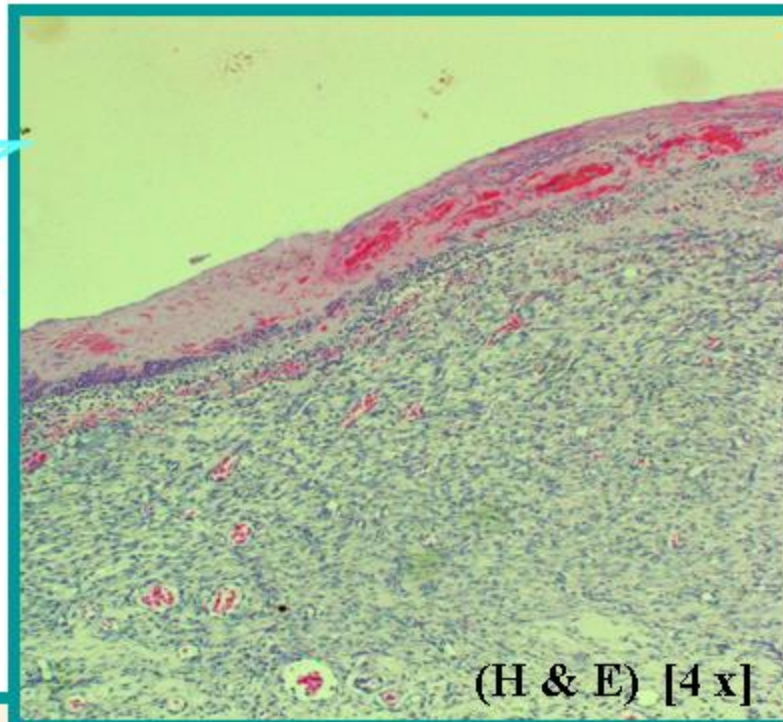
		The mean of wound contraction rate(%) ± SD				
		4th day	8th day	12th day	14th day	16th day
Control group		38.96 ± 1.14 c	67.58 ± 0.32 c	83.55 ± 0.84 c	87.94 ± 0.41 b	93.75 ± 0.84
Group treated with <i>P. tenuiflorus</i>	80%	50.14 ± 0.47 b	80.92 ± 0.37 b	96.37 ± 0.21 b	99 ± 0.11 a	Complete healing
	10%	53.29 ± 0.86 <u>a</u>	88.1 ± 0.27 <u>a</u>	99.25 ± 0.12 <u>a</u>	Complete healing	

**Data in the column followed by different letters are significantly
different at $p \leq 0.05$ according to LSD test.**

Photography of wound healing process (*in vivo* model)



**Histic studies of
wound area
at 14th day**



التحليل الفيتوكيميائي والاختبارات الحيوية لمستخلصات أوراق نبات الصعبر

تغريد السفيني ١، آصف فطاني ٢، سعاد شاكر ٣، فاتن خورشيد ٣، حسن البار ٤

١ قسم الكيمياء، جامعة الطائف، ص.ب: ١٥٠٦ - الطائف ، ٢ مستشفى جامعة الملك
عبدالعزيز، معمل الكائنات الدقيقة الممرضة، ص.ب: ٨٠٢١٥ - جدة ٢١٥٨٩ ، ٣ قسم الأحياء
الطبية، مركز الملك فهد للبحوث الطبية ، ٤ قسم الكيمياء، جامعة الملك عبدالعزيز، ص.ب:
٩٠٢٨ - جدة ٢١٤١٣، المملكة العربية السعودية. Kau.edu.sa/halbar

استنادا للمسح الأدبي الكيميائي والبيولوجي فإن هذه الدراسة يعد لها الأسبقية في تناول هذا النبات بالبحث، حيث خضعت أوراق نبات الصعبر *Clusia myricoides* للتحليل الكمي والكيفي للعناصر المعدنية، كما تم استخلاصها بعدة مذيبات للحصول على المستخلصات الكلية والجزئية التي خضعت بدورها للكشف الفيتوكيميائي، وقد أوضح التقدير الكمي أن الكربوهيدرات الكلية تمثل $8.63 \times 5-10$ مولار من المجموع الكلي لمكونات الورقة، كذلك أثبت الفصل الاستشرابي الورقي وجود 9 أحماض أمينية بروتينية في أوراق نبات الصعبر هي ألانين، فالين، ليوسين، أيزوليوسين، حمض الجلوتاميك والأسبارتك، أسبارجين، بروتين وتربتوفان، وأظهر الكشف الوصفي أن منتجات الأيض الثانوية الموجودة في أوراق نبات الصعبر عبارة عن: الجليكوسيدات الأنثراكينونية والقلبية، الصابونينات، الأنثراكينونات، الفلافونيدات، الكومارينات، التانينات المكثفة، التربينات الثلاثية، الاسترويدات وأشباه القلويات، في حين تخلو الورقة من الزيوت الطيارة والتانينات المتحللة. وقد قورنت نتائج الكشف الفيتوكيميائي في أوراق نبات الصعبر بنتائج الكشف في أوراق نبات الشارة *Plectranthus tenuiflorus* والصوم *Euryops arabicus*.

بعد ذلك تم الكشف عن نشاط مستخلصات أوراق نبات الصعبر في التثبيط الميكروبي، تحفيز نمو الأرومات الليفية والتنام الجروح. وقد ظهر الاختلاف واضحا بين تأثير كل من المستخلص الكلي المائي والإيثانولي على النشاط الميكروبي باستخدام الآجار المثقب، وعلى وجه العموم فإن المستخلصات الكلية والجزئية ذات القطبية العالية نسبيا كان لها تأثير متوسط في تثبيط النمو القطري للزائفة الزنجارية *P. aeruginosa* على كلا المستنبتين MHA و NA مقارنة بالمستخلصات الجزئية غير القطبية.

وقد أظهرت التراكيز المنخفضة من المستخلص الكلي الإيثانولي نشاطا محفزا لنمو الأرومات الليفية لكنه غير مختلف معنويا مقارنة بالمجموعة الضابطة، كما لوحظ التأثير المثبط بعد ٢٤ ساعة عند التراكيز الأعلى من الجرعة نصف المثبطة IC50 (0.01 ميكروجرام/ مل). وقد ساهمت هذه الأنشطة الحيوية التي امتاز بها المستخلص الكلي الإيثانولي في تحفيز عملية التئام الجروح المستأصلة في الجرذان والمعالجة يوميا وبشكل موضعي حيث وجد أن هناك زيادة معنوية في تقلص مساحة الجرح المعالج مقارنة بالمجموعة غير المعالجة، وقد دُعمت هذه النتيجة بالدراسة النسيجية. وبذلك؛ فإن استعمال نبات الصعبر كعلاج للجروح في الطب الشعبي آمن استنادا لنتائج هذه الدراسة.