



ALNARP

Djävulsklon från Afrika

MBAKI MUZILA, KIMMO RUMPUNEN, CECILIA WIDÉN OCH HILDE NYBOM

Nyttjar man naturmedicinska preparat, har man troligen hört talas om djävulsklo från Afrika. I övrigt får denna torrmarksväxt anses tämligen okänd i Sverige. För stora delar av den fattiga befolkningen på landsbygden i Botswana, Namibia och Sydafrika utgör djävulsklo däremot en vällärd och viktig inkomstkälla.

Plantor av djävulsklo är inte helt lätta att få syn på i naturen eftersom de knappt meterlånga, bladförsedda skotten har ett liggande växtsätt (Fig. 1). Dessa skott kommer från en pålrot, som ofta sträcker sig minst en meter ner i marken i sin jakt på vatten. Från pålroten bildas uppsvällda sidorötter med upplagsnäring för växten (Fig. 2). I dessa sidorötter finns också de kemiska ämnen som anses ha medicinsk effekt, och som gör att djävulsklo är ett eftertraktat byte för lokalbefolkningen i många byar i Södra Afrika.

Årligen skördas hundratals ton av djävulsklo för försäljning både inom Afrika och i Västeuropa. Man skördar rötter framför allt från vildväxande plantor. Myndigheterna i de aktuella länderna försöker numera begränsa skördandet och har även lanserat metoder där man endast skördar just sidorötterna så att huvudroten och själva plantan kan leva vidare. De torrkade rötterna säljs sedan till särskilda uppköpare, och omvandlas så småningom till olika preparat vilka påstås kunna bota en mängd olika åkommor.

Namnet djävulsklo (devil's claw) används för båda arterna inom släktet *Harpagophytum*; *H. procumbens* och *H. zeyheri*. Oftast anses *H. procumbens* vara den 'riktiga' djävulsklon (på engelska även grapple plant eller wood



Fig. 1 Planta av *Harpagophytum procumbens*, djävulsklo, i Afrika. Foto Ilze Vermaak.

spider). Huruvida även *H. zeyheri* ska anses ha någon medicinsk verkan – ja, det är något som man debatterat både länge och väl men det finns inte speciellt mycket data från jämförande analyser av kemiskt innehåll och än mindre om de medicinska effekterna. Rötterna hos de två arterna ser emellertid precis likadana ut, och det har framkastats misstankar om att mindre nogräknade personer utökat det saluförda materialet av *H. procumbens* genom att blanda in rötter av den förmodat ineffektiva *H. zeyheri*.

Doktorsavhandling på SLU

I en doktorsavhandling, som försvarades 2016 på Sveriges Lantbruksuniversitet (Muzila, 2016), presenterade Mbaki Muzila helt nya forskningsdata om denna intressanta växt. Målsättningen var att ta reda på hur effektiva olika arter och eventuella artheybrider

av *Harpagophytum* är som medicinalväxter, och hur man ska kunna särskilja dem i naturen. Mbaki samlade därför in ett växtmaterial av *Harpagophytum* från olika lokaler i Botswana (Fig. 3), kartlade deras yttre karaktärer och genetiskt släktskap, och undersökte sedan om dessa data visade någon överensstämmelse med kemiskt innehåll och medicinsk verkan.

Till det yttre skiljer arterna sig åt främst i frökapselns utseende; de berömda 'djävulsklorna' är betydligt längre och kraftfullare hos *H. procumbens* (Fig. 4) jämfört med hos artfränden *H. zeyheri* (Fig. 5). I avhandlingen kunde Mbaki Muzila dock visa att arterna är svåra att avgränsa, speciellt inom ett område i sydöstra Botswana där båda arterna förekommer, men där *H. procumbens* representeras av den något mer modest utrustade underarten *H. procumbens* ssp. *trans-*



Fig. 2 Uppsvällda sidorötter hos *Harpagophytum*. Foto Ilze Vermaak.



Fig. 4 Frökapsel av *Harpagophytum procumbens* ssp. *procumbens*.

vaalense (Fig. 6). I detta område visade frökapslarnas längd och bredd, liksom antal och längd på utskotten (klorna), en flytande övergång från den ena arten till den andra vilket kan tyda på hybridisering mellan arterna.

DNA-baserad analys av arter och hybrider

Frön från de insamlade frökapslarna fick gro fram på Balsgård i Sverige. Groddplantorna användes sedan för DNA-analys med metoderna



Fig. 3 Karta över insamlingslokaler i Botswana.

RAPD (random amplified polymorphic DNA) och ISSR (inter simple sequence repeats). För varje enskild grodd erhöles därmed ett DNA-fingeravtryck (Muzila et al., 2014). Överensstämmelsen mellan olika plantors DNA fingeravtryck används ofta som ett mått på genetiskt släktskap. En statistisk bearbetning (PCA = principal

component analysis) av fingeravtrycken för 96 groddplantor visade att materialet i huvudsak fördelade sig mellan två grupper, som enligt moderplantorna (dvs de plantor på vilka frökapslarna producerats) borde klassificeras som *H. procumbens* ssp. *transvaalense* respektive *H. zeyheri* (Fig. 7). Ett tiotal groddplantor av en morfologiskt något avvikande varietet överensstämde med vanlig ssp. *transvaalense* liksom även

två groddplantor av *H. procumbens* ssp. *procumbens*, vilka härstammade från en lokal belägen längre västerut (Sekoma, Fig. 3). Sex groddplantor, som erhållits från mera svårbestämda frökapslar, låg som en brygga mellan de två huvudgrupperna i PCA-analysen, och kan ha uppstått genom hybridisering mellan de två arterna.

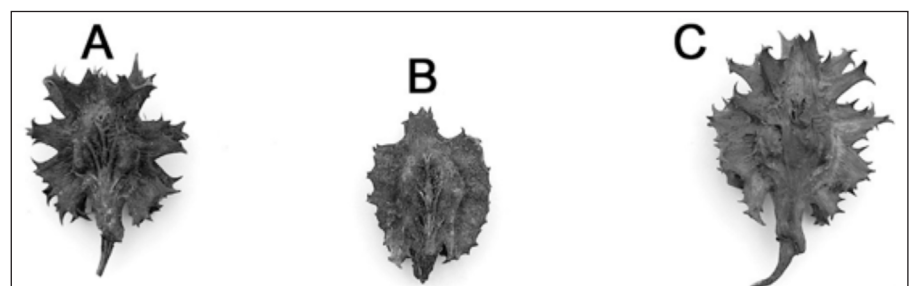


Fig. 5 Frökapslar av *Harpagophytum zeyheri* ssp. *zeyheri*.

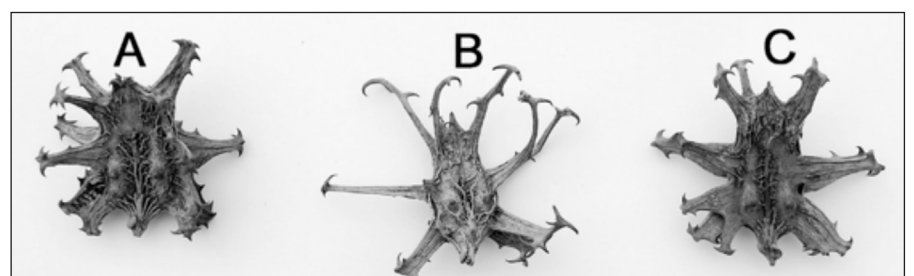


Fig. 6 Frökapslar av *Harpagophytum procumbens* ssp. *transvaalense*.

Kemisk analys av intressanta ämnen

Sidorötter grävdes upp i fält för 37 plantor av *Harpagophytum*; 5 plantor av *H. procumbens* ssp. *transvaalense*, 14 plantor av *H. zeyheri* och 18 plantor av troliga hybrider mellan de två arterna (Muzila et al., manuskript insänt). Rötterna togs sedan till Balsgård i Sverige. Här skalades de, och sedan separerades materialet från varje rot i två fraktioner; skal respektive 'rotkött'. Fem olika kemiska ämnen analyserades i detalj för varje rot: verbascosid, isoverbascosid, acetylacteosid, pagosid och harpagosid. Den sistnämnda har ofta pekats ut som speciellt viktig för de medicinska effekterna av djävulsklo. Även verbascosid kan vara av intresse eftersom det är en stark antioxidant och anses vara en verksam substans i flera olika medicinalväxter. Analys av mängden av de enskilda ämnena utfördes med HPLC (högupplösande vätskekromatografi) medan ämnena identifierades med HPLC-ESI-MS (masspektrometer).

Halten av harpagosid visade sig vara mycket högre hos *H. procumbens* ssp. *transvaalense* (9,8 mg/g torrsvikt i skallet och 16,2 mg/g torrsvikt i rotköttet) än hos hybriderna (5,0 respektive 8,4 mg/g torrsvikt), och allra lägst hos *H. zeyheri* (1,5 respektive 1,2 mg/g torrsvikt). Detta stöder teorin om att endast *H. procumbens* innehåller de typiska, medicinskt aktiva ämnena som gjort djävulsklo till en uppskattad naturmedicin. När det gäller de andra ämnena, låg antingen *H. procumbens* eller hybriderna högst medan de lägsta halterna genomgående återfanns hos *H. zeyheri*.

När varje plantas innehåll av alla fem ämnena analyserades tillsammans i en PCA, visade det sig att de två arterna skiljer sig åt ganska tydligt, medan de förmodade hybridplantorna i huvudsak ligger mellan arterna (Fig. 8). Plantor från samma lokal håller dessutom ofta ihop, vilket troligen beror på att dessa vanligen har samma taxonomiska tillhörighet men omvärldsfaktorer som jordmån och vat-

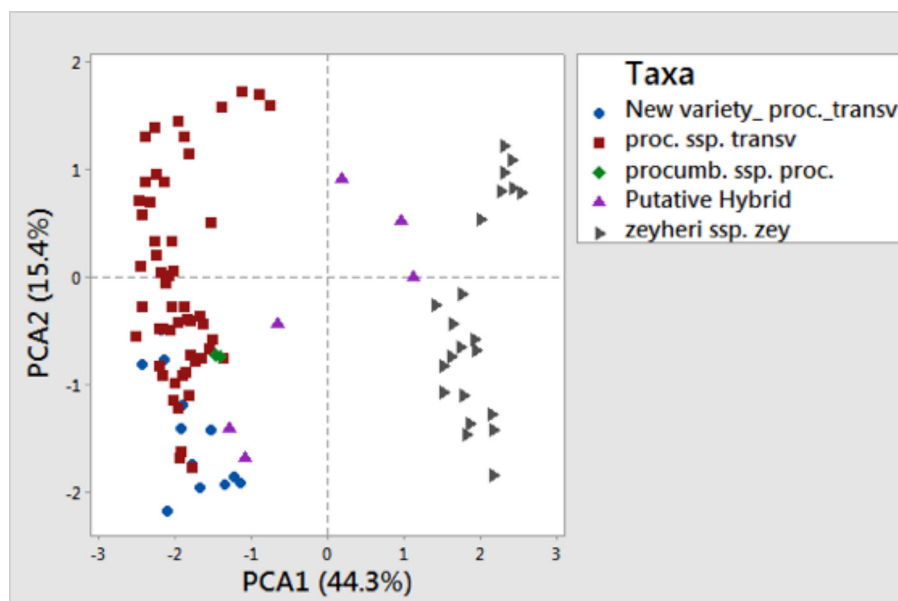


Fig. 7 PCA av DNA-baserade likheter för 96 groddplantor av *Harpagophytum*.

tentillgång kan också spela roll. Plantorna från Matlapaneng, ca 50 mil längre norrut än övriga lokaler (Fig. 3), avviker något från övriga.

Medicinska effekter av djävulsklo

Djävulsklo har använts i århundraden av Khoisan folket i södra Afrika för att behandla exempelvis feber, mag- och tarmproblem, diabetes, högt blodtryck och diverse blodsjukdomar. På senare tid har den kliniska forskningen främst koncentrerats till eventuella effekter mot ledgångsreumatism, artros, njurinflammation och hjärtsjukdomar. När det gäller ledgångsreumatism har signifikanta förbättringar noterats för patienter som ätit preparat av djävulsklo. Den laborativa forsk-

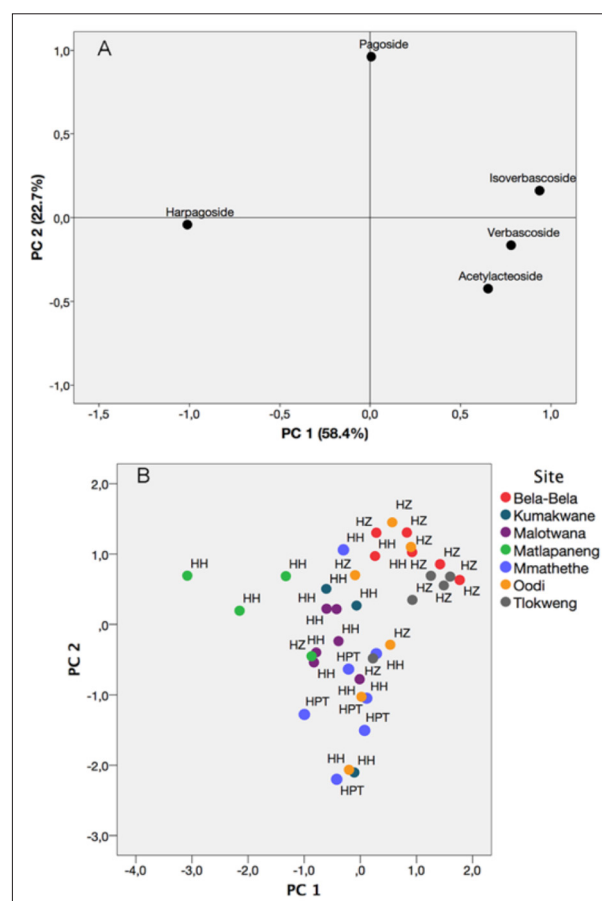


Fig. 8 PCA av likheter i relativt innehåll av fem kemiska ämnen i skalet hos rötterna av 37 plantor av *Harpagophytum* (HH = trolig hybrid, HPT = *H. procumbens* ssp. *transvaalense*, HZ = *H. zeyheri*).

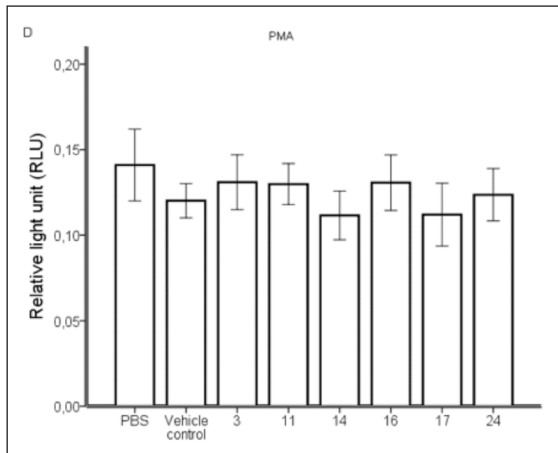


Fig. 9 ROS produktion hos vita blodkroppar som stimulerats med PMA och behandlats med ettdera av sex olika extrakt av *Harpagophytum*.

ningen har fortsatt på samma spår, och alltså fokuserat på anti-inflammatoriska processer, där både harpagosid och verbascosid tycks ha en påtaglig effekt. Djävulsklo har även rapporterats vara effektivt mot Alzheimer samt leda till mindre aptit och därmed viktnedgång – åtminstone hos möss!

I Mbaki Muzilas doktorandarbete valdes sex prover ut för analys av medicinskt relevanta effekter; två *H. procumbens*, två *H. zeyheri* och två förmodade hybridplantor (Muzila et al., 2016). Totala innehållet av fenoliska ämnen undersöktes med spektrofotometri (Folin-Ciocalteu-metoden) liksom innehållet av enskilda fenoliska substanser (HPLC) och av C vitamin (HPLC). Dessutom undersöktes den antioxidativa potentialen med en så kallad FRAP-analys (ferric reducing ability of plasma). Påfallande hög halt av fenoliska ämnen och hög antioxidativ potential hade ett extrakt av *H. procumbens* ssp. *transvaalense* samt

ett extrakt av *H. zeyheri* ssp. *sublobatum*. Innehållet av C-vitamin var genomgående mycket lågt så det är uppenbarligen inte detta ämne som står för den antioxidativa förmågan.

De sex extrakten undersöktes sedan för eventuell anti-inflammatorisk effekt. För detta ändamål isolerades vita blodkroppar från 10 friska volontärer. Blodkropparna användes i ett ROS (reactive oxygen species) test. Detta innebär att de behandlades med olika inflammationsstimulerande medel och dessutom tillsattes ettdera av de sex olika *Harpagophytum*-extrakten för att se om dessa skulle kunna dämpa inflammationen. Ju större inhibition av ROS i blodkropparna (mäts med kemiluminiscens), ju bättre anti-inflammatorisk verkan! Resultaten blev delvis motsägelsefulla, men ett extrakt av *H. zeyheri* ssp. *sublobatum* (nummer 14 i Fig. 9) hade god effekt när blodkropparna stimulerats med PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate). När blodkropparna istället stimulerats med *Fusobacterium nucleatum*, hade ett extrakt av *H. procumbens* ssp. *transvaalense* bäst effekt. Båda dessa extrakt hade även en hög halt av fenoliska ämnen vilket tyder på att effekten i huvudsak berodde på den antioxidativa förmågan.

Slutsatser

Uppenbarligen behövs det betydligt mer forskning innan man får ett

klart begrepp om hur mycket variation det egentligen finns inom släktet *Harpagophytum* när det gäller kemiskt innehåll och medicinska effekter. Stora insamlingar bör därför göras inom hela utbredningsområdet i södra Afrika. En uppsättning väl spridda plantor borde sedan användas för analys av morfologisk, genetisk och kemisk variation. Utvalda plantor med kontrasterande egenskaper skulle sedan kunna användas i laborativa och kliniska tester i syfte att fastställa medicinska effekter.

Referenser

- Muzila M., Werlemark G., Ortiz R., Sehic J., Fatih M., Setshogo M., Mpoloka W., Nybom H. 2014. Assessment of diversity in *Harpagophytum* with RAPD and ISSR markers provides evidence of introgression. *Hereditas* 151:91–101.
- Muzila M. 2016. Genetic, morphological and chemical variation in the genus *Harpagophytum*. Doktorsavhandling 2016:67, SLU, Sverige.
- Muzila M., Rumpunen K., Wright H., Roberts H., Grant M., Nybom H., Sehic J., Ekholm A., Widén J. 2016. Alteration of neutrophil reactive oxygen species production by extracts of Devil's Claw (*Harpagophytum*). *Oxidat. Medic. Cellular Longev.* artikel ID 3841803, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3841803>
- Muzila M., Ekholm A., Nybom H., Widén C., Rumpunen K. *Harpagophytum* germplasm varies in tuber peel and pulp content of important phenylpropanoids and iridoids. Manuskript insänt för publicering.

Faktabladet är utarbetat på LTV-fakultetens Institution för Växtförädling, Balsgård
www.slu.se/balsgard

Projektet är finansierat genom nordiskt stöd från SIDA till SADC Plant Genetic Resources Centre, Lusaka, Zambia (<http://www.spgrc.org.zm>).

Projektsvarig: Projektansvarig: Hilde Nybom, hilde.nybom@slu.se

<http://epsilon.slu.se>