Detection of Active Compounds in the Aqueous Extract of the Plant Leaves for Eriobotrya Japonica and Study the Effect of the Extract as an Antioxidant

Dr. Majid Sakhi Jaber
Applied Sciences Department, University of Technology/Baghdad
Aya Ali Hussien
Applied Sciences Department, University of Technology/Baghdad
Email: ayaali198842@yahoo.com
Dr. Nahi Yossef yaseen
Iraqi center for cancer research and genetic diseases, University of Al- mustansiriya

Received on: 31/8/2016 & Accepted on:29/12/2016

ABSTRACT:

This study was done for the purpose of detecting the active compounds in the aqueous extract of the plant leaves for Eriobotrya japonica that is one of evergreen plants and medicinal plants, which has the advantage, that possess therapeutic properties and pharmacological effects which are beneficial for human body. These plants are found naturally produces secondary metabolites, such as alkaloids, flavonoids, resins and ect. Effective compounds have been detected by the use of chemical reagents and solvents such as Benedict's reagent and Mayer's reagent, mercuric chloride solution and 1% ferric chloride solution, ect. Also, the effect of the extract as an antioxidation factors has been studied by using the experience of aqueous extract of the leaves Eriobotrya japonica plant that effect on the molecule of DNA *in vitro*. The results showed that the aqueous extract of the plant leaves for Eriobotrya japonica contains compounds such as Alkaloids, Phenols, Flavonoids, Terpenes, Steroids, Saponins, Resins and Glycosids. Therefore, it can be concluded that the plant of Eriobotrya japonica is one of medicinal plants because it contains the active compounds with medical property, especially, phenols, flavonoids and alkaloids as antioxidant compounds.

Keywords: Active compounds, Antioxidant, Aqueous extract and Eriobotrya japonica

الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق نبات لنك الدنيا Eriobotyra japonica و دراسة تأثير المستخلص كمضاد للأكسدة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لغرض الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق نبات لنك الدنيا *Eriobotrya japonica* وهي من النباتات دائمة الخضرة وتعتبر من النباتات الطبية التي تمتاز بان لها خصائص علاجية أو تأثيرات دوائية مفيدة لجسم الإنسان. هذه النباتات توجد بصورة طبيعية وتنتج المركبات الثانوية مثل القلويدات، الفلافونويدات، والراتنجات وغيرها . تم الكشف عن المركبات الفعالة بواسطة استخدام الكواشف والمحاليل الكيمائية مثل كاشف بندكت وكاشف ماير، محلول كلوريد الزئبقيك، كلوريد الحديديك1%وغيرها. كذلك تم دراسة تأثير المستخلص كمضاد لعوامل الأكسدة باستخدام طريقة تجربة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات لنك الدنيا على جزيئة الDNA خارج الجسم الحي. أظهرت النتائج بان المستخلص المائي للورق نبات لنك الدنيا يحتوي على مركبات القلويدات, الفينولات, الفلافونيدات, التربينات, الستيرويدات, الصابونيات, الراتنجات و السكريات. لذلك يمكن الاستنتاج بان نبات لنك الدنيا يعد من النباتات الطبية بما يحتويه من مركبات فعالة ذات خاصية طبية وخاصة الفينولات والقلويدات والفلافونيدات كمركبات مضادة للأكسدة.

الكلمات المرشدة : المركبات الفعالة، مضاد للأكسدة، مستخلص مائي، لنك الدنيا.

https://doi.org/10.30684/etj.34.6B.2
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

المقدمة

نبات لنك الدنيا *Eriobotrya japonica* من النباتات دائمة الخضرة حيث تعطي أشجارها ثمار صغيرة بيضوية الشكل صفراء اللون عند نضجها. تم وصف هذا النوع من النبات علمياً لأول مرة من قبل جون لندلي وكارل بيتر تونبرج سنة 1822 سمي هذا النوع نسبةً إلى اليابان [1].

المركبات الفعالة هي مركبات عضوية توجد في النواتج الايضية الاولية والثانوية في النباتات والحيوانات بمعنى أنها تستخرج من مصادر طبيعية [2]. هذه النواتج الايضية متمثلة بالفلافونيدات والسكريات والتربينات بالإضافة إلى العديد من المركبات الأخرى [3]. تسمى النباتات التي تحتوي على المواد الفعالة بالنباتات الطبية بما تمتلكه من خواص طبية وعلاجية إذ تستخدم بشكل أدوية أو علاجات مباشرة كمستخلصات ذو نقاوة عالية ،كذلك تدخل في تركيب وتصنيع أدوية وفي تحسين التجارب البحثية للأدوية وتطويرها [4] . العديد من الدراسات أظهرت امتلاك نبات لنك الدنيا العديد من الخواص الطبية والعلاجية كالخاصية المضادة للفيروسات حيث كشفت هذه الدراسة بأن نبات لنك الدنيا يحتوي على مواد فعالة مضادة لفيروس الآيدز مثل مادة التربينات و Oleanic acid[5]، وكذلك مضاد للدهون، مضاد للسكريات كمرضى السكري، كمضاد للأكسدة حيث أظهرت هذه الدراسة ان مستخلص بذور نبات لنك الدنيا يعمل كمادة مضادة للأكسدة أذ يحتوي على العديد من المركبات العضوية الفعالة مثل الكارتينويد وبروسيانين والفلافونيدات [6] ، مضاد للسمية، مضاد للسرطان، تحسين وظيفة الكبد [7] . لذلك اختير نبات لنك الدنيا *Eriobotrya japonica* لهذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

جمع وتجفيف أوراق نبات لنك الدنيا

جمعت أوراق نبات لنك الدنيا لمدة ستة أشهر من شهر اب 2015 إلى شهر شباط 2016 من بساتين ديالى . وتم تجفيفها بوضعها بالظل وبدرجة حرارة الغرفة ثم طحنت وحولت إلى مسحوق باودر باستخدام المطحنة.

تحضير المستخلص المائي لأوراق نبات لنك الدنيا

تم اخذ 25 غرام من مسحوق أوراق نبات لنك الدنيا وأضيف إليه 250 مل من الماء المقطر في دورق حجمي سعته 500 مل. ثم وضع الدورق الحجمي في ألحاضنه الهزازة لمدة ستة ساعات أو أكثر بسرعة 200 دورة بالثانية ،وبعدها تم ترشيح المستخلص باستخدام جهاز الطرد المركزي حيث حصلنا على الراشح الذي يستخدم في هذه الدراسة [8].

الكشف الكيميائي لبعض المركبات الفعالة لمستخلص أوراق نبات لنك الدنيا

1. الكشف عن الكلايكوسيدات

تم استخدام كاشف بندكت والمحضر حسب طريقة [9] وذلك بإذابة 1.73 غرام من كبريتات النحاس المائية $CuSo_{4.5}H_2O$ و 17.3 غرام من كربونات الصوديوم الهيدروجينية $NaHCO_3$ في 100 مل ماء مقطر . تم الكشف عن الكلايكوسيدات بوضع 5 مل من كاشف بندكت في أنبوبة اختبار وبعدها تم وضع 2 مل من المستخلص المائي و وضعت الأنبوبة في حمام مائي مغلي لمدة خمس دقائق، ويدل ظهور راسب بني على ايجابية الفحص [10] .

2. الكشف عن القلويدات

تم استخدام كاشف ماير وحضر كما يلي وفق طريقة [10]:

المحلول (1) حضر بإذابة 1.35غرام من كلوريد الزئبقيك في 60 ml من الماء المقطر والمحلول(2) حضر بإذابة 5 غرام من يوديد البوتاسيوم في 10 ml من الماء المقطر، ثم يمزج المحلولين ويكمل الحجم إلى 100 mlمن الماء المقطر. وتم الكشف عن القلويدات بوضع1 مل من كاشف ماير في أنبوبة الاختبار ومزجه مع 5 مل من المستخلص المائي، ويدل ظهور الراسب الأبيض على ايجابية الفحص .

3. الكشف عن الفلافونيدات

تم إجراء هذا الكشف بالاعتماد على طريقة [11] كما يلي :

تم الكشف عن الفلافونيدات بمزج 10 مل من الكحول الاثيلي ذات تركيز 50% و 10 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم ذات تركيز 50%. تم مزج كميات متساوية من المستخلص المائي للنبات و المحلول السابق شرحه، يدل ظهور الراسب الأصفر على ايجابية الفحص .

4. الكشف عن الراتنجات

تم اجراء الكشف بإذابة 10غرام من مسحوق النبات فيml 50 من كحول الايثانول 95%، وترك المزيج لدقيقتين في حمام مائي مغلي، ورشح المزيج بعدها وأضيف إليه 100 مل من الماء المحمض بحامض الهيدروكلوريك 4%، ويدل ظهور عكورة واضحة على ايجابية الفحص[12] ,[13] .

5. الكشف عن الترينيات والستيرويدات

تم اجراء الكشف بمزج 1 مل من المستخلص المائي مع 2 مل من الكلوروفورم وتم إضافة قطرة من حامض الخليك وقطرة من حامض الكبريتيك المركز، يدل ظهور حلقة ذات لون بني فاتح على ايجابية الفحص للتربينيات ، بينما يدل ظهور الحلقة ذات اللون الأزرق الغامق بعد ترك المزيج لمدة 12 ساعة على ايجابية الفحص للستيرويدات [14] .

6. الكشف عن الفينولات

تم الكشف بمزج 3 مل من المستخلص المائي مع 2 ml من كلوريد الحديديك 1%، أن ظهور اللون الأخضر المزرق الداكن يدل على ايجابية الفحص [15].

7. الكشف عن الصابونيات

تم الكشف بإضافة 1 مل من كلوريد الزئبقيك الى 5 مل من المستخلص المائي في أنبوبة اختبار، يدل ظهور الراسب الابيض على ايجابية الفحص [11] .

طريقة تجربة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات لنك الدنيا كمضاد لعوامل الأكسدة على جزيئة الDNA خارج الجسم الحي

محلول الدنا القياسي

اذيب نموذج الدناDNA في محلول متكون من 0.0015 مولار كلوريد الصوديوم و 0.00015 مولار من سترات الصوديوم الثلاثية ليكون التركيز النهائي للدنا 5 مايكروغرام / مل ذات رقم هيدروجيني 7 =PH.

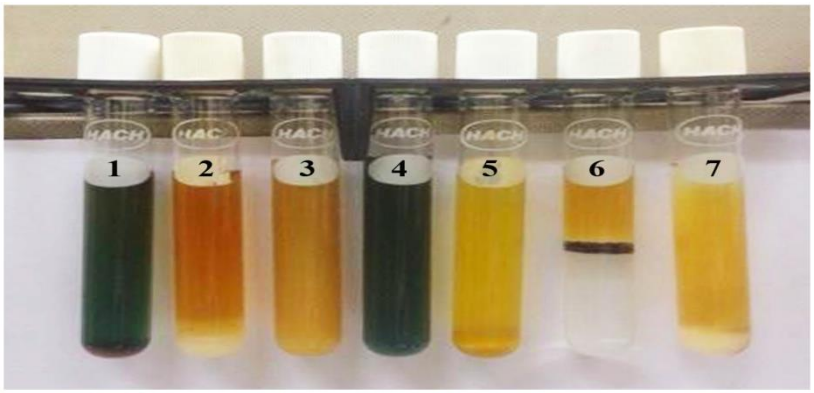
طريقة العمل

تم معاملة محلول الدنا المحضر السابق ذكره حيث يمتلك نسبة امتصاصية A260/ A280 تعادل 1.87 بمجموعتين المجموعة الأولى تم معاملتها بتراكيز مختلفة من المستخلص المائي لأوراق النبات (10، 50، 100، 200، 300) مايكروغرام / مل وذلك بمزج 1 مل من المستخلص مع 1 مل من محلول الدنا القياسي. المجموعة الثانية بمزج 1 مل كل من محلول الدنا و بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 5-10 ،H_2O_2 حضن المزيج بدرجة حرارة 37 م° لمدة 10 دقائق، بعد ذلك تم متابعة تأثير المستخلص على جزيئة الدنا من خلال قياس الامتصاصية بطول موجي 260 نانوميتر بالاعتماد على ما ذكر [16].

النتائج والمناقشة:

الجدول (1) : نتائج دليل الكشف الكيمائي على المركبات الفعالة في المستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا Eriobotyra japonica

التسلسل	المركب الفعال	نتيجة دليل الكشف
1	الكلايكوسيدات	راسب بني
2	الفلافونيدات	راسب اصفر
3	القلويدات	راسب ابيض
4	الفينولات	اصفر مزرق
5	التربينات الستيرويدات	حلقة ذات لون بني فاتح حلقة ذات لون ازرق غامق بعد 12 ساعة
6	الصابونيات	راسب ابيض
7	الراتنجات	العكورة



الشكل رقم (1): نتائج دليل الكشف الكيميائي لاهم المركبات الفعالة لمستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا Eriobotyra japonica

حيث رقم
(1)كلايكوسيدات.(2)القلويدات.(3)راتنجات.(4)فينولات.(5)فلافونيدات.(6)تيربينات وستيرويدات.(7)صابونيات.

يبين الجدول (1) نتائج الكشف الكيميائي عن االمركبات الفعالة في المستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا واظهرت النتائج بان مستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا يحتوي على مركبات الكلايكوسيدات، القلويدات، الفينولات، الفلافونيدات، التربينات، الستيرويدات، الصابونيات، الراتنجات وهذه النتائج تتفق مع نتيجة [17] الذي اشار الى احتواء النبات على المركبات الفينولات والفلافونيدات والتربينات، وكذلك تتفق مع نتيجة [8] باحتواء النبات على مركبات الراتنجات والكلايكوسيدات والصابونبات والقلويدات.

الجدول رقم (2) : نتائج القابلية الفعالية للمستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا كمضاد لعوامل الاكسدة حيث تمثل المجموعة (A) امتصاصية الدناDNA ، مجموعة (B) امتصاصية الدنا مع بيروكسد الخيدروجينH_2O_2 ، المجموعة (C) امتصاصية الدنا وبيروكسيد الهيدروجين مع المستخلص المائي بتراكيز مختلفة .

	مجموعة (A)	مجموعة (B)	مجموعة (C)
التركيز µg/ ml	DNA	10-) DNA + H_2O_2 M(1*5	10-)DNA + H_2O_2 + M(1*5 المستخلص المائي
0.0	0.2006	0.275	0.275
10			0.266
50			0.257
100			0.235
200			0.221
300			0.216

يبين الجدول (2) نتائج فعالية المستخلص المائي لاوراق نبات لنك الدنيا كمضاد لعوامل الأكسدة إذ تبين بان المستخلص ذو فعالية مضادة للأكسدة بما يحتويه من مواد فعالة كالفلافونيدات والتربينات والفينولات وهذا يتفق مع نتيجة [6] ، وكذلك اظهرت النتائج بالتأثير على امتصاصية الدنا إذ تمثل المجموعة (A) امتصاصية الدنا في

الحالة الاعتيادية ، والمجموعة (B) تمثل تاثير بيروكسيد الهيدروجين على جزيئة الدنا وزيادة الامتصاصية بتولد الجذور الحرة نتيجة تكسر جزيئة الدنا، المجموعة (C) تمثل تأثير المستخلص بتقليل الامتصاصية وهذا يفسر عمله كمضاد للاكسده وهذا يتفق مع نتيجة [8] .

الاستنتاج

ان هذه الدراسة اظهرت ان نبات لنك الدنيا يمتلك فعالية مضادة لعوامل الاكسدة، لذا يعد من النباتات الطبية بمايحتويه من مركبات فعالة مهمة .

REFERENCES

[1]Soriano J. M., Romero C., Villanova S., Llacer G., and Badenes M. L. "Genetic Diversity of Loquat Germplasm (Eriobotrya japonica (Thunb) Lindl) Assessed by SSR markers.". Genome, 48: 108–114, 2005.

[2]Hanson J. Natural Products: The Secondary Metabolites. Royal Society of chemistry, UK , 2003.

[3]Srivastava, R. and Kulshreeshtha, D. "Bioactive Polysaccharides from Plants.". Phytochemistry, 28(11): 2877-2883, 1989.

[4]Fransworth, N. and Soejarto, D. "Potential Consequences of Plant Extinction in the United States on the Current and Future Availability of Prescription Drugs.". Economic botany, 39:231-240, 1985.

[5]Kashiwada Y, Wang HK, Nagao T, Kitanaka S, Yasuda I, et al. Anti-AIDS agents, Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. Journal of Natural Products, 1998; 61: 1090-1095.

[6]Yokota J, Takuma D, Hamada A, Onogawa M, Yoshioka S, et al. Scavenging of reactive oxygen species by E. japonica seed extract. Biol Pharm Bull, 2006; 29(3):467-671.

[7]Baljinder S., Seena G., Dharmeadra K., Vikas G. and Bansal P. "Pharmacological Potential of Eriobotrya Japonica- An Overview.". Int Res J of Pharm, 1: 95-99, 2010.

[8]Rashed K.N. and Butnariu M. "Isolation and Antimicrobial and Antioxidant Evaluation of Bio-Active Compounds from Eriobotrya Japonica Stems.". Adv Pharm Bull, 4(1): 75-81, 2014.

[9]Stahl E. Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, 2nd. ed. Translated from the German by M. R. F. Ashword. Springer-Verlag Berlin Heidelberg–New York, 1969.

[10]Evans W. Trease and Evans' Pharmacognosy. ed. W.B. Saunders Company Ltd.u.k., 1999.

[11]Jaffer H., Mohmod M., Jawad A. and Alnaib A. "Phytochemical and Biological Screening of some Iraqi Plants, FitoterapoaLixzaq, 1983.

[12]Harborne JB. Phytochemical methods: A guide to Modern Techniques of Plant Analysis, 2nd ed. Chapman and Hall, London, 1984.

[13]الشيخلي، ريام جميل. الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص الميثانولي الخام لسيقان نبات الصبار Euphorbiatirucalli. اطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة تكنولوجية، 2016.

[14]Al-Maisry M. Effect of Oil and Alcoholic Extract of Azdirachtaindica on some Pathogenic Fungi of Plants. M.SC. Thesis.Science college, Al-Mustansria University, 1999.

[15]Atlas R., Parks L. and Brown A. Laboratory Manual of Experimental Microscopy. 1st ed. Mosby, Inc.Missonari, 1995.

[16]Georgakilas A. G., Konsta A. A., Sideris E. G. and Sakelliou L. "Dielectric and UV Spectrophotometric Study of Physicochemical Effects of Ionizing Radiation on Mammalian Macromolecular DNA". IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation 8 (3): 449-554, 2001.

[17] Zhang W., Zhao X., Sun,C., Li X. and Chen K. "Phenolic Composition from Different Loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) Cultivars Grown in China and Their Antioxidant Properties.". Molecules, 20: 542-555, 2015.