Iraqi Journal of Science
ISSN: 0067-2904
GIF: 0.851

# زيادة بعض المركبات الفلافونيه الطبيه لنبات الدودونيا .*Dodonaea viscosa* L باستخدام نترات الفضه النانويه خارج الجسم الحي

**هاشم كاظم محمد العبيدي***
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، بغداد ، العراق

**الخلاصه**

أجري البحث لدراسة تأثير اضافة تراكيز مختلفه نترات الفضه النانويه $AgNO_3$Nanoparticles بالتراكيز (0,0.5, 1.0, 1.5, 2.0) ملغم/لتر كمحفز في انتاج بعض مركبات الايض الثانوي ( Quercetin , Apigenin, Luetolin) لنبات *Dodonaea viscosa* L. والتي تعد من المركبات الطبيه والصيدلانيه المهمه. قدرت مركبات الايض الثانوي بالتحليل الكمي والنوعي بأستعمال جهاز High performance liquid chromatography (HPLC). حفز الكالس على النشوء من زراعة اجزاء من الاوراق على وسط Murashige and Skoog (MS) المدعم بأضافة 2 ملغم/لتر 2,4-D (Dichloro phenoxy acetic acid) و0.5 ملغم /لتر Naphthalene acetic acid (NAA) و0.5 ملغم/لتر Benzyl adenine (BA) وقد استعملت التوليفه نفسها لأدامة الكالس. ادت اضافة نترات الفضه النانويه في التركيز 2 ملغم/لتر الى زياده معنويه في انتاج مركب Quercetin و Luetolin وصل الى 103.38, 68.17 مايكروغرام/مل على التوالي. كما ان تركيز مركب Apigenin قد ارتفع معنويا عند التركيز 0.5 ملغم/لتر من نترات الفضه النانويه وصل ال 196.01 مايكروغرام/مل مقارنة بالتراكيز الاخرى.

# Increasing of Some Medical Flavonoid Compounds of *Dodonaea viscosa* L. using $AgNO_3$ Nanoparticles In Vitro

**Hashim K. M. Al-Aubaidi***
Department of Biology, College of Science, Al – Mustansiriyah University, Baghdad, Iraq

**Abstract**

The research was conducted to study the effect of adding different concentrations of $AgNo_3$ Nanoparticles (0,0.5,1.0,1.5,2.0) mg/ l in the production of some secondary metabolic compounds(Quercetin, Luetolin and Apigenin) of plant *Dodonaea viscosa* L. Quantitative and qualitative analysis of secondary metabolites were estimated by using( HPLC ). The explants from leaves were culture on MS media supplemented with 2mg/l of 2,4-D, 0.5mg/l of NAA and 0.5 mg/l of BA for callus induction. Adding $AgNo_3$ Nanoparticles (2 mg/l) cause in significant increase of Quercetin and Luetolin production, while adding $AgNo_3$ Nanoparticles (0.5mg/l) led to significant increase of Apigenin in callus extract.

**Keywords:** $AgNo_3$ Nanoparticles, *Dodonaea viscosa* L., Flavonoids , In Vitro.

*Email: hashimkadhum@yahoo.com

**المقدمه**

يعد نبات الدودونيا .*Dodonaea viscosa* L من النباتات الطبيه الذي يعود للعائله الصابونيه sapindaceae والاسم الشائع هو Sticky Hopbush [1] . يحتوي نبات الدودونيا على مركبات كيميائيه ذات فائده واهميه كبيره في مجالات الطب والتي تعد من نواتج الايض الثانويه [2] .

ان العالم الان يميل اكثر من ذي قبل الى الاهتمام بالنباتات الطبيه والاعتناء بها لما لها من فوائد عديده ومنها نبات الدودونيا الذي يحتوي على العديد من القلويدات والكلايكوسيدات والصابونين والتانين والفلافونين والزيوت الطياره وبعض الاحماض المفيده وغيرها من المواد التي تستخدم في علاج الامراض والالام [3].

تعد المركبات الفلافونيه من منتجات الايض الثانويه للنبات والتي توجد في الاوراق وتعتبر مصدرا لمعالجة العديد من الامراض مثل امراض الاوعيه الدمويه والقلبيه وبعض انواع السرطان من خلال عملها كمضادات للاكسده وفي مجال مضادات السرطان (Anti-cancer agents) [4] .

لنبات الدودونيا اهميه طبيه كبيره اذ انه خافض للحراره ويستخدم في علاج الروماتزم والزكام والحمى والتهاب الحلق وفي اضطرابات الجهاز الهضمي والسرطان كما تستخدم مستخلصاته في عمليات التخديروتستخدم اجزاء النبات المختلفه في علاج امراض الصدر والذبحه الصدريه والتهاب المفاصل والتهاب الجيوب الانفيه والاسهال ومرض السكري ومضاد للعديد من السلالات البكتيريه [5] . كما ان اجزاء من النبات تستخدم كمضاد لدودة الاسكارس ولمعالجة لدغات الافعى وكعوامل مضاده للتشنجات كما تستخدم لمعالجة امراض الجلد ومضاد للنزف والدزنتري ولمرض داء الصدفيه[6]. كما تستخدم الاوراق والجذور كمسكن لالام الاسنان والصداع وبعض المركبات تستخدم في المكافحه البايولوجيه ضد بعض الحشرات وتستخدم الاوراق ضد مرض القرحه ولمعالجة الكسور والنقرس [7] .

وفرت التطبيقات المختلفه لزراعة الانسجه امكانية الحصول على مركبات مهمه اقتصادياً ومن ضمنها المركبات الدوائيه التي يصعب تحضيرها مختبرياً فضلاً عن كلفتها العاليه عند تصنيعها[8] .وهناك الكثير من الفوائد التي تقترن بأنتاج هذه المركبات بهذه الطريقه إذا ماقورنت بأستخلاصها من النبات الكامل.يمكن الحصول على هذه المركبات بدرجة نقاوة عالية من المزارع النسيجيه تفوق تلك المستخلصه من النبات الكامل [9] ويكون أنتاجها على مدار السنه ولا حاجه لمساحات اراضي واسعه او الى كميات كبيره من النباتات لغرض استخلاص كميات من المركبات الطبيه يمكن اختصارها بفرع واحد من النبات يتم مضاعفة مركباته الطبيه عن طريق زراعة الانسجه باستخدام بعض المحفزات بالمختبروالتي تكون ذات فعاليه كبيره في تحفيز انتاج المركبات الثانويه فضلا عن كونها امنة التاثير[10]. لذا فان هدف البحث هو توظيف تقنية زراعة الانسجه النباتيه في امكانية زيادة المركبات الثانويه( Quercetin , Apigenin, Luetolin) في كالس نبات الدودونيا والتي تعد مركبات طبيه وصيدلانيه تدخل في الكثير من الصناعت الدوائيه عن طريق استخدام نترات الفضه النانويه $AgNO_3$ Nanoparticles كمحفز نانوي لزيادة هذه المركبات ومقارنتها مع المركبات الموجوده في كالس النبات الام.

**المواد وطرائق العمل**

أجري البحث في مختبر زراعة الأنسجه /قسم علوم الحياة /كلية العلوم/جامعة المستنصريه.تم الحصول على نبات الدودونيا من حدائق جامعة المستنصريه.عقمت الاوراق بهايبوكلورات الصوديوم1.2% لمدة 5دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات متتاليه [11] وزرعت على وسطM (MS) [12]يحتوي على 2ملغم/لترD-2,4 و0.5 ملغم /لتر NAA و0.5ملغم /لترBA. حضنت الزروعات في الضوء تحت درجه حراره1±25°م وشدة اضاءه 1000 لوكس مدة 16 ساعه يومياً لمدة اربعة اسابيع .وقد استعملت التوليفه نفسها اعلاه لأدامة الكالس المستحث وزراعته في وسط ادامة الكالس مضافاً اليه نترات الفضه النانويه AgNO3Nanoparticles (بقطر 50-60 نانوميتر) كمحفز بالتراكيز (0.0 , 0.5 ,1.0 , 1.5 , 2.0) ملغم /لتر. حضنت الزروعات تحت نفس الظروف اعلاه وبواقع عشرة مكررات لكل تركيز.حسب الوزن الطري والجاف للكالس بعد اربعة اسابيع من الزراعه .ولغرض استخلاص مركبات الايض الثانوي تم اتباع طريقة [13] اذ تم وزن 2غم من الاوراق اوالكالس الرطب و وضع في جهاز السكسوليت واضيف اليه2 مل من البترولويم لمدة 4 ساعات ثم ركز المستخلص تحت ضغط مختزل ومن ثم اخذ 1مل من ا لمستخلص واذيب في 20 مل من البترولويم و1مل من الميثانول و 2 مل من هيدروكسيدالبوتاسيوم هز الخليط لمدة دقيقتين ثم ترك

لمدة (10) دقائق تم ازالة الطبقة العيا وغسلت بالماء اما الطبقه السفلى التي تحتوى على مركبات الايض الثانويه حللت بجهاز ال HPLC تحت ظروف الفصل المثلى وحسب ارشادات الجهة المصنعه . وتم تعيين تراكيز المواد الفعالة كمياً بمقارنة مساحة حزمة المادة القياسية مع مساحة حزمة النموذج تحت نفس الظروف باستخدام القانون الاتي :-

مساحة حزمة النموذج

تركيزالمادة المجهولة مايكروغرام/مل = ---------------------- X تركيزالقياسي X عدد مرات التخفيف [14]

مساحة الحزمه القياسي

**بعض مواصفات جهاز HPLC:**

الشركه والموديل : Shimadzu 10 AV-LC ، ابعاد العمود :mm4.6×50 ، الطور المتحرك : hexane:2-propanol(99:1,V/V)، حجم الجزيئات: 3 um ، سرعة الجريان : 1.2 ml . min-1 ، نوع وعدد المضخات : LC-10 A Shimadzu . حللت التجارب وفق تصميم كامل التعشيه (CRD) Completely Randomize Design لدراسة تاثير المعاملات المختلفه في الصفات المدروسه .وقورنت الفروقات المعنويه بين المتوسطات باختباراقل فرق معنوي Least Significant Differences (LSD) باحتمالية 5%. [15].

**النتائج والمناقشه**

**تأثير نترات الفضه النانويه $AgNO_3$ Nps في معدل الوزن الطري والجاف للكالس:**

يلاحظ من الجدول-1 أن اضافة نترات الفضه النانويه لم تؤثر معنويا في معدل الوزن الطري والجاف للكالس اذ بلغ أعلى معدل وزن طري للكالس 756ملغم عند تركيز2.0 ملغم / لترمن نترات الفضه النانويه اما اقل وزن طري للكالس601 ملغم عند تركيز 0.5 ملغم / لتر ولم يختلف معنوياً عن التراكيز الاخرى (0.5 , 1.0 , 1.5) ملغم/لتر. كما أن جميع المعاملات لم تفرق معنوياً عن معاملة السيطره وبخصوص معدل الوزن الجاف للكالس فان اعلى معدل بلغ 57.3 ملغم عند معاملة السيطره اما اقل معدل فقد بلغ 46.0 ملغم عند معاملة 0.5ملغم من نترات الفضه النانويه ولم تختلف جميع المعاملات عن بعضها معنويا . هذه النتائج لا تتفق مع نتائج [16] الذين وجدوا أن استعمال تراكيز مختلفه من نترات الفضه النانويه يؤدي إلى زيادة نمو كالس نبات *Calendula officinalis* وربما يعود السبب الى اختلاف النبات قيد الدراسه.

**الجدول 1**- تأثير نترات الفضه النانويه$AgNO_3$ Nps (ملغم/لتر) في معدل الوزن الطري والجاف للكالس(ملغم):

| تراكيز نترات الفضه النانويه (ملغم/لتر) | معدل الوزن الطري للكالس (ملغم) | معدل الوزن الجاف للكالس (ملغم) |
|---|---|---|
| **Cont.** | 738 | 57.3 |
| **0.5** | 601 | 46.0 |
| **1.0** | 724 | 52.7 |
| **1.5** | 715 | 52.3 |
| **2.0** | 756 | 49.0 |
| **LSD (0.05)** | **N.S** | **N.S** |

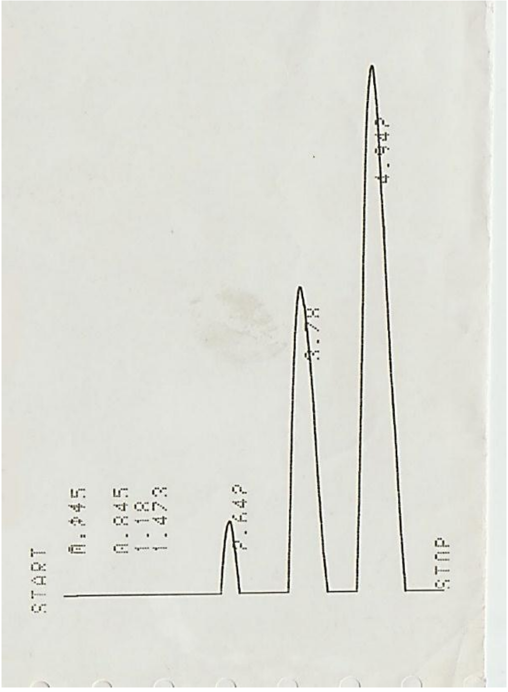
**تأثير تراكيز مختلفة من نترات الفضه النانويه(ملغم /لتر) في أنتاج المركبات من الكالس والتقدير الكمي والنوعي لها بتقانة HPLC:**

اظهرت النتائج في الجدول-2 ان اضافة نترات الفضه النانويه قد اثرت معنويا في انتاج المركبات في كالس نبات الدودونيا ويلاحظ زيادة انتاج مركب Quercetin فقد تفوقت جميع التراكيز المستخدمه من نترات الفضه النانويه على معاملةالسيطره ،وتفوقت معاملة التركيز2ملغم/لترمن نترات الفضه النانويه معنويا على جميع المعاملات الاخرى وصل الى103.38 مايكروغرام/مل في حين كانت اقل القيم في معاملة السيطره بلغت 12.28مايكروغرام/مل، اما مركب Luetolin فقد تفوقت ايضا معاملة التركيز 2 ملغم/لتر من نترات الفضه النانويه معنويا على التراكيز الاخرى ووصل انتاج Luetolin 68.17 مايكروغرام/مل اما اقل القيم فكانت في

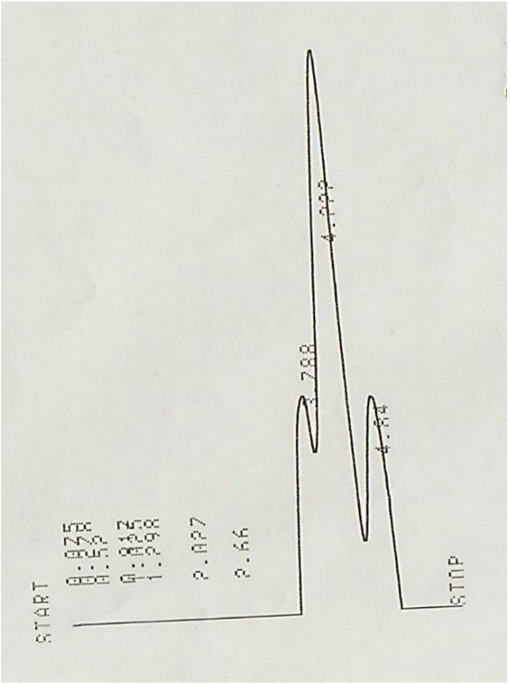
معاملة السيطره اذ يلغت 36.49 مايكروغرام/مل ولم تفرق هذه المعامله معنويا عن التركيزين (0.5 و1)ملغم /لترمن نترات الفضه النانويه. ويلاحظ من الجدول نفسه ان تركيزمركب Apigenin قد ارتفع معنوياعند التركيز 0.5 ملغم/لترمن نترات الفضه النانويه مقارنة بالمعاملات الاخرى اذ وصل الى 196.01 مايكروغرام/مل اما اقل القيم فكانت في معاملة السيطره والتي لم تفرق معنويا عن معاملة 2ملغم/لتر اذ بلغتا 25.54 و 27.51 مايكروغرام/مل على لتوالي. يتضح من النتائج اعلاه ان اضافة نترات الفضه النانويه قد ضاعفت من انتاج المركبات فقد سببت اضافة هذه الماده كمحفز زيادة مركبQuercetin الى8.41 ضعف وزيادة مركب Luetolin الى 1.86 ضعف وزيادة مركب Apigenin الى7.67 ضعف وهذه النتائج تتفق مع نتائج [17] الذين درسوا تاثير $AgNO_3$ NPs في كالس نبات *Calendula officinalis* ومع نتائج [18] الذين درسوا تاثير اضافة $AgNO_3$ NPs في كالس نبات الزيتون *Olea europaea* واكدوا اهمية اضافة $AgNO_3$ NPs في زيادة المركبات الثانويه وبالتالي زيادة المركبات في كلا النباتين.

**الجدول 2**- تاثير اضافة تراكيز مختلفه من نترات الفضه النانويه(ملغم/لتر) في انتاج المركبات الطبيه (µg/ml) .

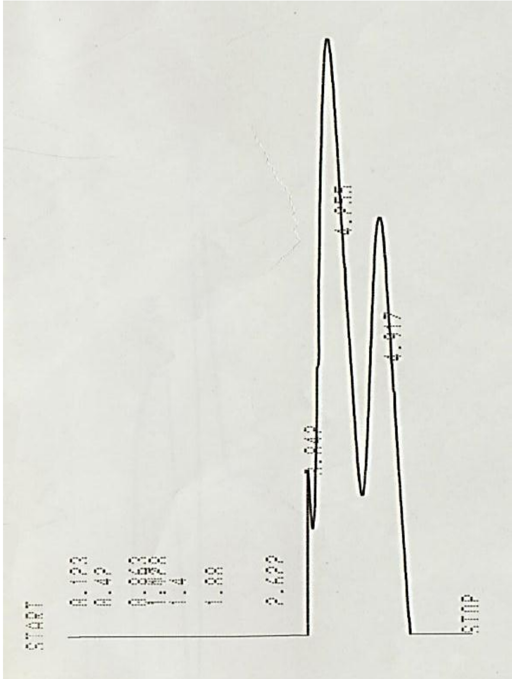
| المركبات الطبيه | تراكيز نترات الفضه النانويه(ملغم/لتر) | | | | | L.S.D |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Cont. | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 0.05 |
| Quercetin | 12.28 | 62.15 | 17.81 | 21.83 | 103.38 | 3.136 |
| Luetolin | 36.49 | 44.63 | 36.64 | 52.47 | 68.17 | 9.450 |
| Apigenin | 25.53 | 196.01 | 36.64 | 59.47 | 27.51 | 4.338 |



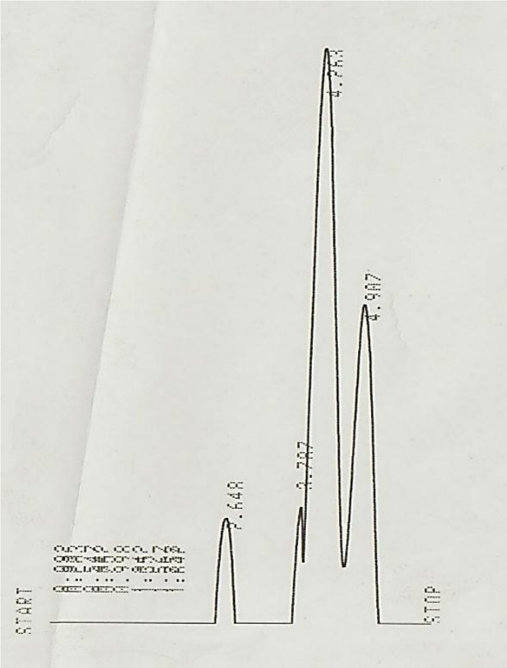

**الشكل 1**- تحليل HPLC لمعاملة السيطره



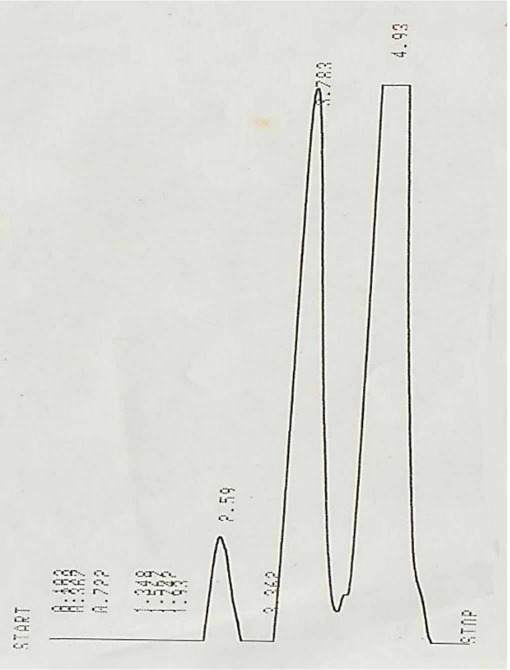

**الشكل 2**- تحليل HLPC لمعاملة 0.5 ملغم/لتر $AgNO_3$ Nps




**الشكل3**- تحليل HLPC لمعاملة 1.0 ملغم/لتر$AgNO_3$ Nps




**الشكل4**- تحليل HLPC لمعاملة 1.5 ملغم/لتر$AgNO_3$ Nps




**الشكل5**- تحليل HLPC لمعاملة 2.0 ملغم/لتر$AgNO_3$ Nps

**الاستنتاجات:**

1. ان استخدام نترات الفضه النانويه ادى الى زيادة المركبات الطبيه (( Apigenin, Luetolin , Quercetin)).
2. ازداد مركب Quercetin في جميع التراكيز بصوره معنويه مقارنة بمعاملة السيطره كما ان التركيز 2ملغم/لتر من نترات الفضه النانويه اعطى اعلى القيم من مركب Quercetin.
3. تفوق التركيز 2ملغم /لتر من نترات الفضه النانويه على جميع التراكيز الاخرى واعطى اعلى القيم من مركبLuetolin .
4. تفوق التركيز 0.5 ملغم/لتر من نترات الفضه النانويه واعطى اعلى القيم من مركب Apigenin مقارنة بالتراكيز الاخرى.

**التوصيات:**

1. اجراء دراسات اخرى لمعرفة تاثير نترات الفضه النانويه على مجاميع اخرى من المركبات الطبيه لنبات الدودونيا.
2. اجراء المزيد من الدراسات لاستخدام محفزات اخرى لزيادة المركيات الطبيه لنبات الدودونيا.

**المصادر:**


1. جامعة الدول العربية / المنظمة العربية للتنمية الزراعية .**1988**. *النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي* – الخرطوم.
2. عميرة ، إسراء .**2005**.*علم العقاقير الطبية النظرية والعملية* – دار البداية –ناشرون وموزعون– الطبعة الأولى – الأردن.
3. المختار، سراب عبد الهادي .**2008**. دراسة انتاج بعض القلويدات من النباتات الطبيه خارج الجسم الحي ، رسالة ماجستير – كلية الزراعه– جامعة بغداد.
4. Cermak, R., and Wolffram S . **2006**. The potential of flavonoids to influence drug metabolism and pharmakinetics by local gastrointestinal mechanisms. *Curr Drug Metab.*,7(7), pp:44-729.
5. Van Welzan , P.C. **2001.** *Dodonaea viscosa* (jacq.).In: Van Valkenburg, JLC.H. and Bunyapraphatsara , N (Editors) *Plant Resources of South–East Asia*., No 12 (2)*Medicinal and poisonous plant* 2.
6. West, J. G. **1984**.A taxonomic revision of Dodonea (Sapindaceae) in Australia, *Brunonia*. 7, pp:1-194.
7. Getie , M. , Mariam , T.G., Rietz , R ., Hohne , C ., Huschka , C ., Schmidtke , M ., A. and Neubert , R. H . H. **2003**. Evaluation of anti- microbial and anti – inflammatory activities of the medicinal plants. Dodonaea viscosa , Rumex nervosus and Rumex abyssinicus . *Fitoterapia.* 74(1-2), pp:139-143.
8. Discosmo F.and Misawa M. **1995**. *Plant cell and Tissue culture: Alternatives for metabolite production. Biotechnology Advances*, 13(3), pp: 425-453.
9. Mohammed-Ameen A. S. **2014**. Effect of some chemical and nano particle elicitors on the production of secondary metabolites of *Calendula officinalis* L *In Vitro* .M.Sc. Thesis, Department of Biology, Collage of Science, Al –Mustansiriyah University, Baghdad, Iraq.
10. Al-Sowaidi, W. M. M. **2015**. Increasing of some secondary metabolites of *Olea europaea* L. using silver nitrate nano particle and polyethylene glycol elicitor In Vitro. M.Sc. Thesis, Department of Biology, Collage of Science, Al –Mustansiriyah University, Baghdad, Iraq.
11. حسين, زينب سالم .**2013** . دراسة انتاجية بعض مركبات الايض الثانوية من المزارع النسيجيه لنبات الثوم *Allium sativum* L. رسالة ماجستير. كليةالعلوم ، الجامعة المستنصرية، بغداد، العراق.
12. Murashing, T. and Skoog. F. **1962**. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15, pp:373-497.
13. Lawson, L.D., Wan, Z.J. and Hughes, B.G. **2003**. Identification and HPLC quantification of the sulfides and dialk (en)yl thiosulfides in commercial garlic product. *Planta Medica*.1991, 57, pp:363-370. [Pub Med].
14. Budhiraja, R.P. **2004.** *Separation Chemistry*. New Age International Ltd, Publishers, New Delhi. pp: 171-239.
15. الراوي، خاشع محمود وعبدالعزيز محمد خلف.**1980**. *تصميم وتحليل التجارب الزراعية*. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل . العراق.
16. Ghanati F and Bakhtiarian S. **2013**. Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on secondary metabolites of *Calendula officinalis* L. *Advances in Environmental Biology*, 7(9), pp: 2251-2258.
17. Jimenez-Medina, E., Garcia-Lora, A., Paco, L., Algarra, I., Collado, A. and Garrido, F. **2006**. A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. *BMC Cancer*, 6, pp:119.
18. Vasudevan A, Selvaraj N, Ganapathi A, Kasthuri S, Rengan V, Anbbazhagan R and Manickavasagam, M. Glutamine. **2004**. A Suitable Nitrogen Source for Enhanced Shoot Multiplication in *Cucumis sativus. Biologia Plan- tarum*, 48(1), pp:125- 128.