Chemical and Biological Studies of Certain Plant Exudates from Families Araucariaceae and Myrtaceae Cultivated in Egypt

Thesis Submitted By

Dalia El-Sheikh Ali Gamal El-Dein
For the Degree of Doctor of Philosophy in Pharmaceutical Sciences
(Pharmacognosy)

Under the Supervision of

Prof. Essam Abdel-Hamid Abdel-Sattar
Professor of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy,
Cairo University

Prof. Meselhy Ragab Meselhy
Professor of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy,
Cairo University

Prof. Shahira Mohammed Ezzat
Professor of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy,
Cairo University

Dr. Rania Ahmad El Gedaily
Lecturer of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy,
Cairo University

Pharmacognosy Department
Faculty of Pharmacy
Cairo University
2020

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 697
Classification : 615.321

الملخص العربي

إن الالتهاب هو الاستجابة الناجمة عن تلف الأنسجة الحية ، لحمايتها من الإصابة و العدوى، وغالباً ما يتم علاج الالتهاب بشكل رئيسي مع الأدوية المضادة للالتهابات غير الاستيرودية. وعلى الرغم من أن هذه الأدوية المضادة للالتهابات يمكنها علاج العديد من الأمراض الالتهابية، إلا أن لديهم العديد من الآثار الجانبية، مثل: إصابة الجهاز الهضمي، سمية الكبد، احتباس الصوديوم، والسمنة وهشاشة العظام التي قد تسبب مشاكل صحية خطيرة. وقد أظهرت المنتجات الطبيعية فاعلية كبيرة كمضاد للالتهابات مع قلة الآثار الجانبية كبدائل للأدوية.

وقد أصبحت الآثار السلبية للإجهاد التأكسدي تؤثر على صحة الإنسان بشكل خطير. كما أن نقص مضادات الأكسدة أدى إلى التسبب في انتشار العديد من الأمراض، بما في ذلك أمراض القلب والأوعية الدموية ، والسرطان ، والأمراض العصبية والأمراض الالتهابية. ويعد استخدلم النباتات الطبيعية كمصدر لمضادات الأكسدة هو أحد حلول هذه المشكلة.

تشتهر نباتات أروكاريا والكافور بإفرازها للمواد الراتنجية، ولكنها تفتقر الى الدراسة العلمية، وعلى ذلك فقد تم اختيار ثلاث نباتات وهي: نبات *أروكاريا شوكية*، *أروكاريا متغايرة الأوراق* و*يوكاليبتس ماكيولاتا* (الكافور الليموني) لفحص آثارها كمضادات للالتهاب وكذلك كمضادات للأكسدة، واختيار النبات الأكثر فاعلية لإجراء دراسة كيميائية وبيولوجية مفصلة عليه.

وتشتمل هذه الدراسة على جزئين:

الجزء الأول: دراسة كيميائية وبيولوجية للمواد الراتنجية المختارة.

أ. التقدير الطيفي للمكونات النشطة (تقدير نسبة المحتوى الفينولي والفلافونيدات).

وقد اشتمل هذا الجزء على دراسة المحتوى الفينولي وكمية الفلافونيدات في الخلاصة الكحولية للراتنجات الخاصة بالنباتات الثلاثة محل الدراسة.

وقد أظهرت النتائج أن الخلاصة الكحولية لراتنجات نبات *يوكاليبتس ماكيولاتا* احتوت على أعلى نسبة من المحتوى الكحولي بنسبة ٥٧٢,٨٢ ± ١,٧٥ ميكروجرام/ مليجرام في الخلاصة من حمض الجاليك، وجاء بعدها الخلاصة الكحولية لراتنجات *أروكاريا متغايرة الأوراق* و*أروكاريا شوكية*

بنسبة ٣٠,٠٣ ± ٠,٣٢ و ١٢,٣٥ ±٠,٠١ ميكروجرام/ مليجرام في الخلاصة من حمض الجاليك على التوالي.

كما أظهرت النتائج أن الخلاصة الكحولية لراتنجات نبات *يوكالبيتس ماكيولاتا* احتوت على أعلى نسبة من محتوى الفلافونيدات بنسبة ١١,٦ ± ٠,٠١ ميكروجرام/ مليجرام في الخلاصة من الكورستين، في مقابل الخلاصة الكحولية لراتنجات *أروكاريا الشوكية وأروكاريا متغايرة الأوراق* بنسبة ٦,٥٥ ± ٠,٣١ و ٤,٠٩ ± ٠,٠١ ميكروجرام/ مليجرام في الخلاصة من الكورستين على التوالي.

ب. اختيار النبات الأكثر نشاطاً باستخدام التقييم البيولوجي خارج وداخل الجسم الحي.

تم تعيين قدرة الخلاصات الكحولية للراتنجات الثلاثة لمعرفة تأثيرها كمضادات للأكسدة باستخدام ٢,٢ ثنائي الفينيل -١- بيكرايل هيدرازيل، وقد أوضحت النتائج فاعلية الخلاصة الكحولية للكافور الليموني كمضاد للأكسدة بشكل يفوق الترولوكس.

وتم تعيين قدرة الخلاصات الكحولية للراتنجات الثلاثة لمعرفة تأثيرها كمضادات للالتهاب وتقليل التورم الناتج من الكراجينان في أرجل فئران التجارب، وقد أوضحت النتائج قدرة الخلاصات الكحولية للراتنجات الثلاثة بالتركيزات الثلاثة المستخدمة كمضادات للالتهاب، ولكن الفاعلية الأكبر كانت لخلاصة الكافور الليموني بتركيز ٤٠٠ مليجرام/كجم بشكل مماثل للدواء المعالج الاندوميساسين حيث أدت إلى انخفاض التورم في رجل الفئران بنسبة ٥٠,٩١% في مقابل ٦٦,١١% للدواء المعالج الاندوميساسين.

كما أن الخلاصة الكحولية لراتنجات الكافور الليموني بتركيز ٤٠٠ مليجرام/كجم أظهرت انخفاض في MDA, NF-κB, TNF-α, cyclooxygenase-2, NO بنسبة ٤٢% و ٤٢,٧% و ٤٠,٥% و٤٢% و ٢٣% على التوالي.

وزيادة في الانزيمات المضادة للأكسدة GSH و SOD ، كما أظهرت تأثير مضاد للأكسدة يفوق ذلك المتحقق من الترولوكس.

ومن ثم فقد تم اختيار نبات *يوكالبيتس ماكيولاتا* لعمل دراسة كيميائية وبيولوجية تفصيلية لراتنجات النبات.

الجزء الثاني: دراسة فيتوكيمائية وبيولوجية لنبات الكافور الليموني.

أ. دراسة فيتوكيميائية لخلاصة كلوريد الميثيلين وخلاصة الميثانول بعد استخدام داي أيون اتش بي ٢٠

وقد تم فصل (٨) مركبات من خلاصة كلوريد الميثيلين والخلاصة الكحولية الناتجة بعد استخدام الداي أيون اتش بي ٢٠، وتم التعرف عليها باستخدام مطياف الرنين المغناطيسي للبروتون[١] والكربون[١٣] والمقارنة بعينات عالية النقاء سبق فصلها/ أو بالنتائج المنشورة عن نفس المركبات وهذه المركبات هي:

- **ساكورانيتن.**
- **حمض السينامك.**
- **كامفيرول -٧- ميثيل ايثر.**
- **٧- ميثيل اروماديندرين.**
- **٦,١- داي سيناموبل- *O*-*α*-D-جلوكوبيرانوسيد.**
- **نارينجينين.**
- **اروماديندرين.**
- **حمض الكوماريك.**

وقد وجد أن هذه المرة الأولى التي يفصل فيها كامفيرول -٧- ميثيل ايثر و أروماديندرين من الخلاصة الكحولية لنبات الكافور الليموني.

ب. معايرة الخلاصة الكحولية لنبات الكافور الليموني.

تم استخدام ٧- ميثيل اروماديندرين في معايرة الخلاصة الكحولية، ووجد أن نسبته تعادل ٦٨,٢١ مليجرام / جرام من الخلاصة النباتية.

ج. التقييم البيولوجي خارج الجسم الحي للخلاصات والمركبات.

تم استنتاج أن قدرة الخلاصات النباتية لنبات الكافور الليموني ومركباته المفصولة لها القدرة والفاعلية كمضاد للالتهاب وذلك لقدرتها على تثبيط المؤشرات الحيوية الالتهابية مثل COX-2, NF-κB and TNF-α والتي تعد من أهم مسببات الالتهاب.

وأظهر ٦,١- داي سيناموبل- *O*-α-D-جلوكوبيرانوسيد تأثيراً مضاد للالتهاب يفوق السيليكوكسيب المستخدم كدواء معالج للالتهاب.

وتعد هذه الدراسة الأولى التي تتناول آلية عمل الخلاصات النباتية لنبات الكافور الليموني ومركباته المفصولة كمضادات للالتهاب.

د. الالتحام الجزيئي للمركبات المفصولة

بدراسة الالتحام الجزيئي لتثبيط (COX-2) لكل من المركبات المفصولة:

- **ساكورانيتن.**
- **حمض السينامك.**
- **كامفيرول -٧- ميثيل ايثر.**
- **٧- ميثيل اروماديندرين.**
- **٦,١- داي سيناموبل- *O*-α-D-جلوكوبيرانوسيد.**

وجد أن ٦,١- داي سيناموبل- *O*-α-D-جلوكوبيرانوسيد له ارتباطاً مشابهًا أو أفضل من سيليكوكسيب الذي يعتبر كدواء من الخيار الأول لتثبيط COX-2، مما يشير إلى أهمية هذا المركب كمصدر طبيعي لعلاج الالتهاب، بينما جاء بالترتيب الثاني ٧- ميثيل اروماديندرين (C4) لنشاط الارتباط تجاه موقع COX-2 النشط متبوعًا بـ ساكورانيتن (C1) وأخيرًا حمض السينامك (C2).

وتتفق هذه النتائج مع ما تم التوصل إليه سابقاً في التقييم البيولوجي لهذه المركبات خارج الجسم الحي مما يشير إلى قدرة تجارب الالتحام الجزيئي على التنبؤ بآليات القدرة البيولوجية المحتملة.