Antimicrobial Activity, Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of *Boscia variabilis* (Kurz) Collect & Hens (Tha-Mon)

By

Dr San San Aye, Associate Professor

Department of Chemistry

University of Yangon, Myanmar

+9595188451

dr.sansanaye9@gmail.com

18,2.2019

စာတမ်းအကျဉ်း

မြန်မာပြည်အလယ်ပိုင်း အပူပိုင်းဒေသတွင် ပေါက်ရောက်သော သမုန်းပင်၏ အပွင့်ကို ဆေးဖက်ဝင် အစားအစာအနေဖြင့် စားသုံးနေကြပါသည်။ သမုန်းပင်၏ ဆေးဖက်ဝင်ဂုဏ်သတ္တိများ (Elemental Analysis, Phytochemical screening, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity and *In-vivo* Acute Toxicity Activity) ကို သိပ္ပံနည်းကျ လက်တွေ့စမ်းသပ်စစ်ဆေးခဲ့ပါသည်။ ဤသုတေသန စာတမ်းတွင် လက်တွေ့တိုင်းတာရသော သုတေသနရလာဒ်များအရ သမုန်းပင်သည် တိုင်းရင်းဆေးဖက်ဝင် အပင်(အပွင့်) အဖြစ် အသုံးပြုနိုင်ကြောင်း တင်ပြအပ်ပါသည်။

နိဒါန်း

ဆေးဖက်ဝင်အပင်များရှာဖွေဖော်ထုတ်သုတေသနပြုရာတွင်

ဆေးဖက်ဝင်အပင်များမှ ဆေးစွမ်းထက်သည့် အစိတ်အပိုင်းကို ရှာဖွေခြင်း၊ မည်သည့် ပမာဏမှာ ဆေးစွမ်းအာနိသင်အရှိဆုံးဖြစ်သည်ကိုလေ့လာခြင်း၊ toxicity ရှိမရှိစစ်ဆေးခြင်း နှင့် သိပ္ပံနည်းကျရှာဖွေဖော်ထုတ်သုတေသနပြုစုရေးသည် တိုင်းရင်းဆေးသုတေသနနယ်ပယ်တွင် အရေးကြီးသော အခန်းကဏ္ဍမှပါဝင်ပါသည်။

Boscia variabilis **flower** ၏ သုတေသနစာတမ်းတွင် ဆေးဖက်ဝင်အာနိသင်များစွာ စမ်းသပ်ထားခြင်း၊ အထူးသဖြင့် Elemental analysis ,phytochemical screening ,Antioxidant နှင့် antimicrobial activity အာနိသင်များကို စမ်းသပ်တွေ့ရှိရပါသည်။ ***Boscia variabilis*** သည် ရုက္ခဗေဒအမည်ဖြစ်ပြီး၊ မြန်မာ့ဆေးပင်အနေဖြင့် သမုန်းပင်ဟု အတည်ပြုချက် ရယူပြီးဖြစ်ပါသည်။ ဆေးပင်ကိုအသုံးပြု၍ ဖော်စပ်သော တိုင်းရင်းဆေးဝါးများတွင် ဆေးပင်အမျိုးအစား မှန်ကန်တိကျမှုသည် အလွန်အရေးကြီးသောအချက်ဖြစ်ပါသည်။။ ***Boscia variabilis*** ၏ ဆေးဖက်ဆိုင်ရာအာနိသင်များမှာ စိတ်ဝင်စားဖွယ်ဆေးဝါးအဖြစ် လေ့လာတွေ့ရှိရပါသဖြင့် မြန်မာနိုင်ငံတွင် ပေါက်ရောက်သောသမုန်းပင်အား သုတေသနပြုစမ်းသပ်ရဖြင်း ဖြစ်ပါသည်။ မြန်မာ့တိုင်းရင်းဆေးနယ်ပယ်တွင် လူအချို့ တို့မြုပ်၍ ၄င်း၊ အသုပ်စုံအဖြစ် စားသောက်သည့် စားပင်အဖြစ်သာမက ဆေးဝါးဖော်စပ် ထုတ်လုပ်ရာတွင် အသုံးပြုနိုင်ရန် အကြံပြု အသိပေး နှိုးဆော်သည့် စာတမ်း ဖြစ်ပါသည်။

The Reason For Choosing Topic

Scientific investigation on antimicrobial activity, antioxidant activity and acute toxicity of flowers are still lacking.

Boscia variabilis

Aim

To evaluate the biological properties of *Boscia variabilis* flowers

Objectives

- To collect the sample
- To identify the botanical name of the selected plant
- To carry out the preliminary phytochemical tests
- To prepare the various crude extracts by using polar and non-polar solvents
- To determine the total phenolic contents
- To evaluate the antioxidant activity
- To investigate the antimicrobial activity
- To test the acute toxicity study of plant sample

Selected medicinal plant

Myanmar name **:** THA-MON

Botanical name : *Boscia variabilis* (Kurz) Collect & Hens

Family **:** Capparaceae

Part used : Flowers

Flowering period **:** February to March

Sample Collection and Identification of Selected Plant

- Sample was collected from Myingyan Township, Mandalay Region.
- Identified by Dr Tin Sein Mar, Associate Professor, Department of Botany, Taungoo University

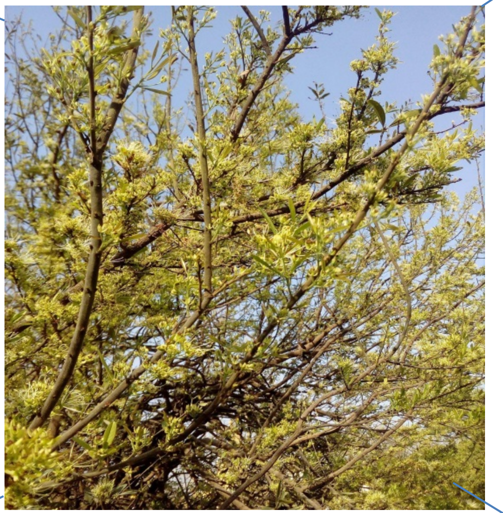
Sample Preparation

fresh flowers —(wash on tap water)→ —(dry in room temperature)→ —(grinded powdered)→ store in air tight container

Biological Properties

Anti-arthritic Activity

Antimicrobial activity



Boscia variabilis

Anti-tumor Activity

Antioxidant activity

Table 1 Elemental Analysis of *B.variabilis* Flowers by ED-XRF Method

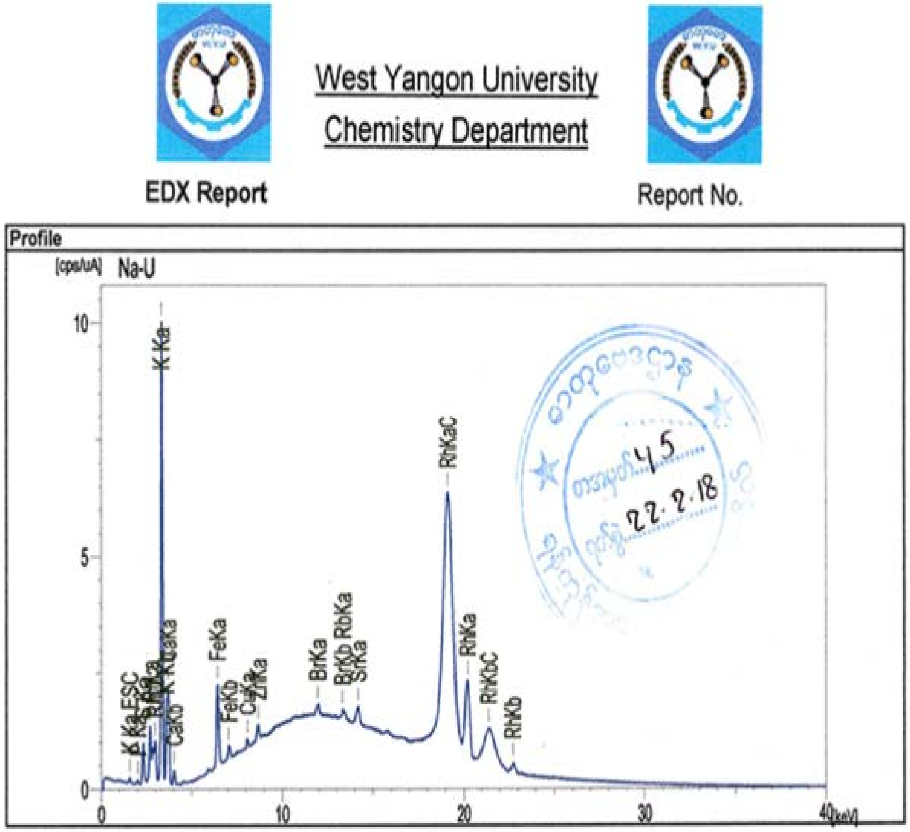
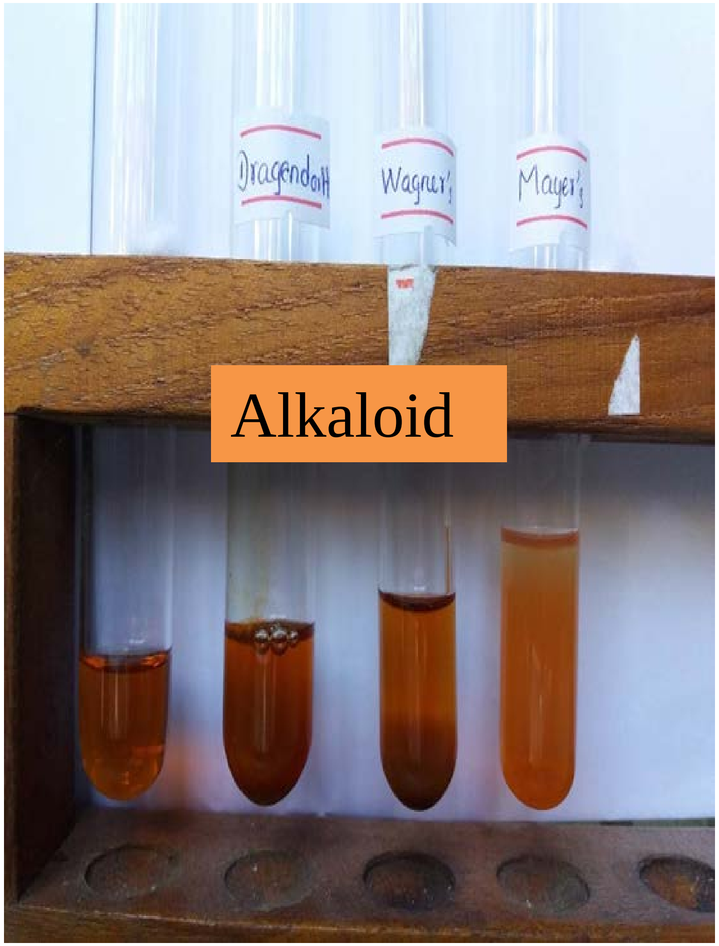
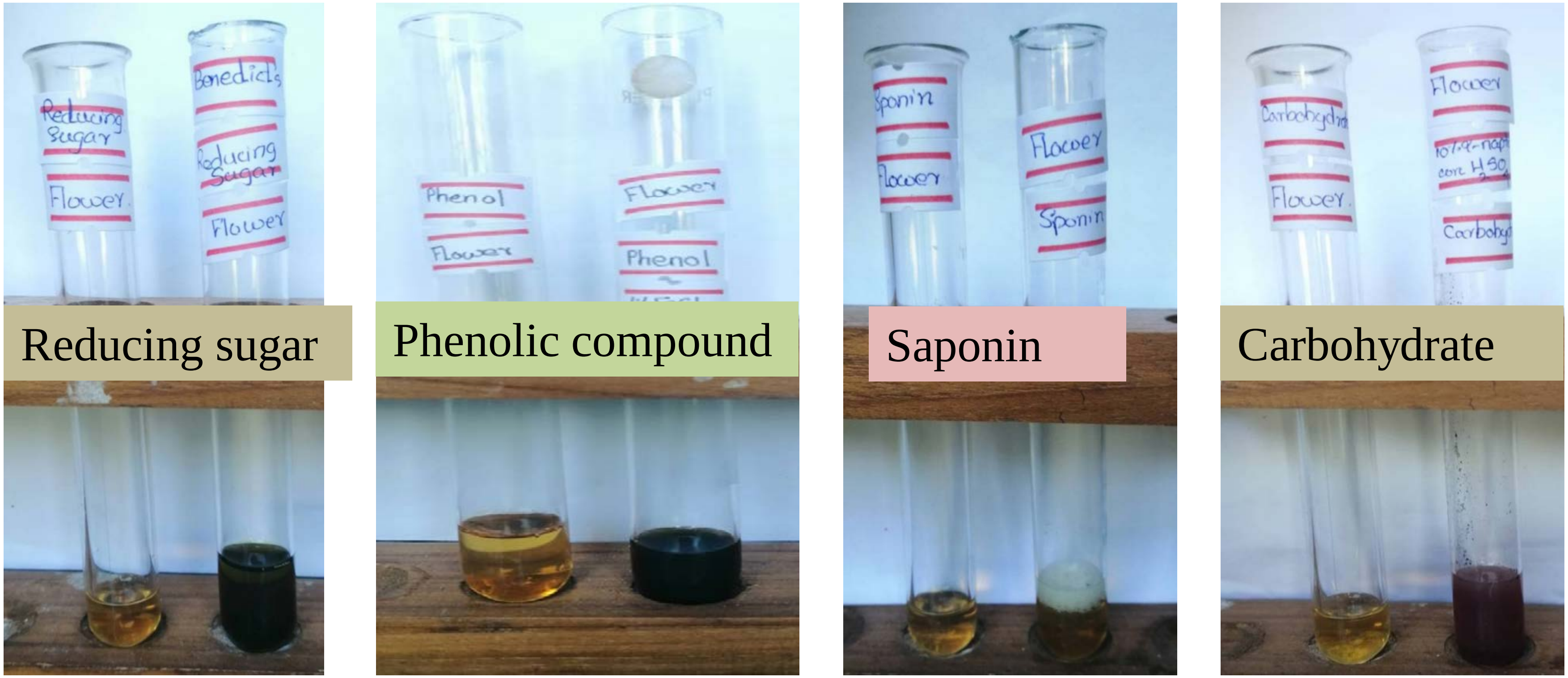


Figure 1. ED-XRF spectrum of flowers of *B.variabilis*

Elements	Relative abundance (%)
K	2.035
S	0.676
Ca	0.236
P	0.184
Fe	0.022
Zn	0.002
Sr	0.001
Br	0.001
Cu	0.001
Rb	0.001

Phytochemical Screening by Test Tube Method




Reducing sugar
Phenolic compound
Saponin
Carbohydrate

Determination of Total Phenol Content in EtOH & H_2O Extracts of *B.variabilis* Flowers

Crude Extract (1mg/mL)

↓ (1) added 1:10 FCR (5 mL)
(2) incubated for 5 min

Mixture solution

↓ (1) added 1 M Na_2CO_3 (4mL)
(2) kept in RT for 15 min

Mixture solution

↓ measured Absorbance at 765 nm

Calculated TPC from Std. Curve
Expressed TPC = µg GAE/mg crude extract

Table 2 Total Phenolic Content of Ethanol and Watery Extracts of Flowers of *B.variabilis*

No.	Extracts	TPC (μg GAE / mg ± SD)
1.	Ethanol	19. 67 ± 1. 96
2.	Water	18.97 ± 1.25

What is antioxidant?

Boscia variabilis

- Antioxidants are man-made or natural substances that may prevent or delay some types of cell damage.
- Most phytochemicals have antioxidant activity.

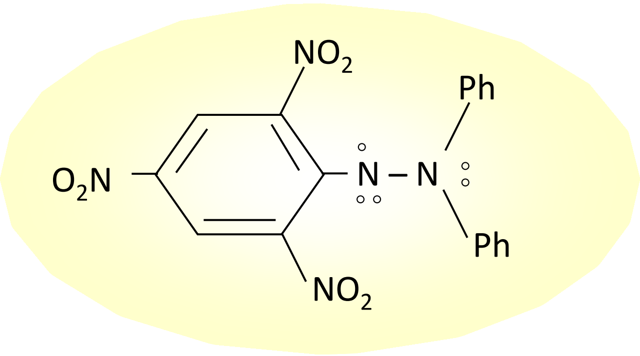
Screening of Antioxidant Activity

Sample → EtOH and H_2O extracts of flowers

Method →

- DPPH assay method
- **DPPH** ➡ 2,2- Diphenyl - 1- Picryl-Hydrazyl

($C_{18}H_{12}N_5O_6$)



- Absorbance was measured at 517 nm by spectrophotometer

16

Calculation of Percent Inhibition

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_{Control} - (A_{Sample} - A_{Blank}) \times 100}{A_{Control}}$$

Where % Inhibition = percent inhibition of test sample

$A_{Control}$ = Absorbance of control solution

A_{Sample} = Absorbance of sample solution

A_{Blank} = Absorbance of blank solution

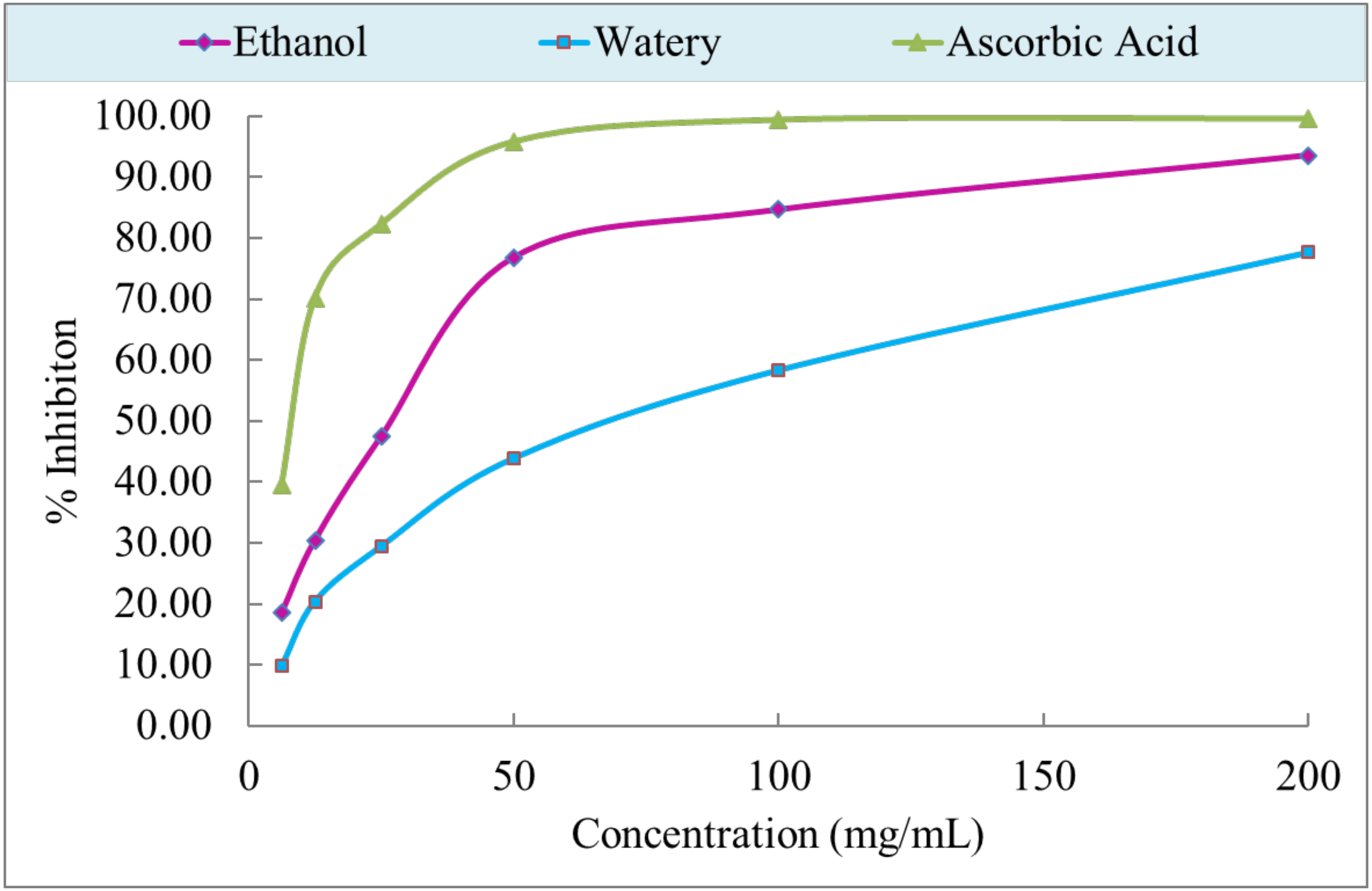


Figure 2. Average inhibition % of crude extracts from flowers of *B.variabilis*

Antioxidant Activity

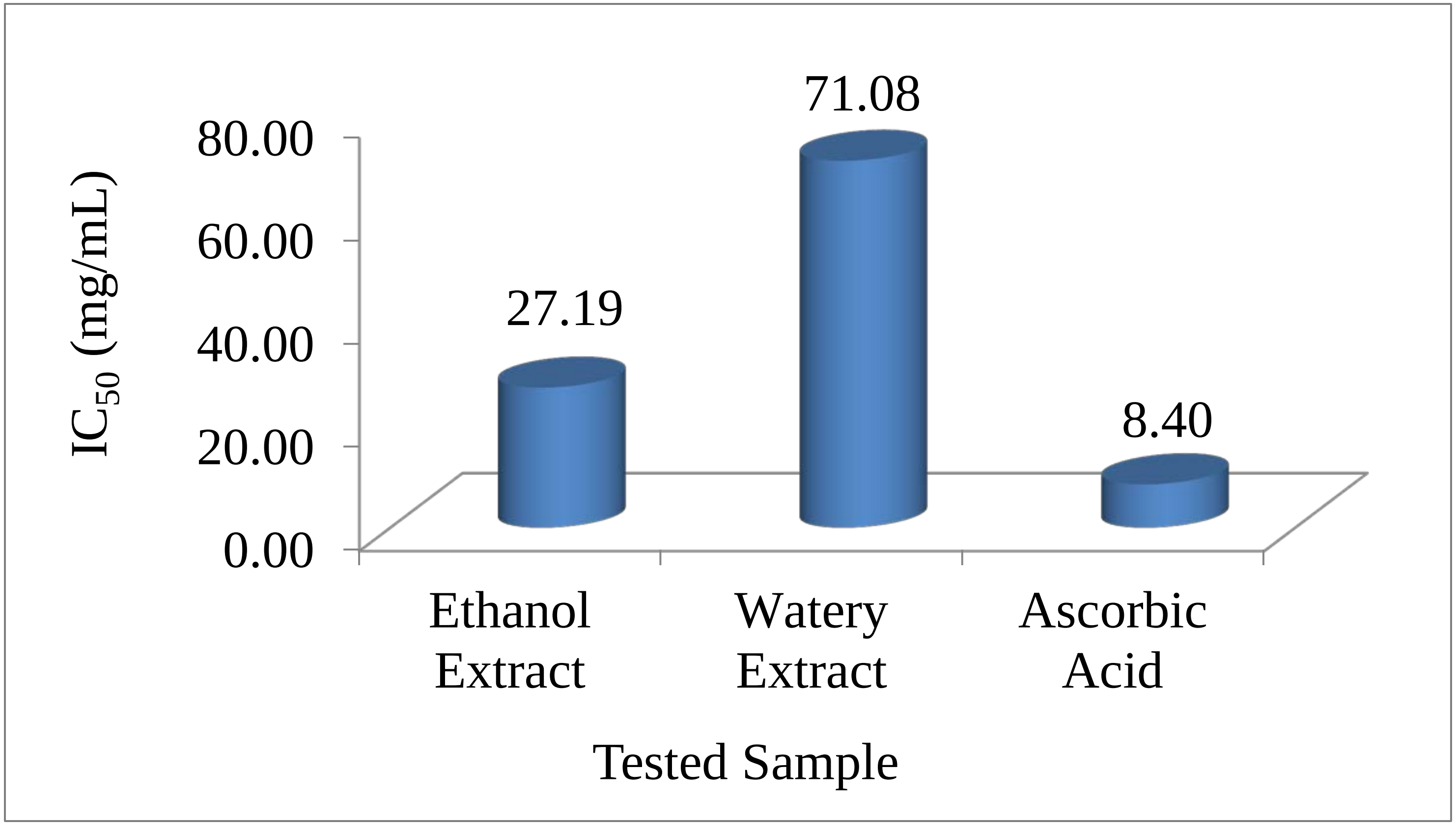
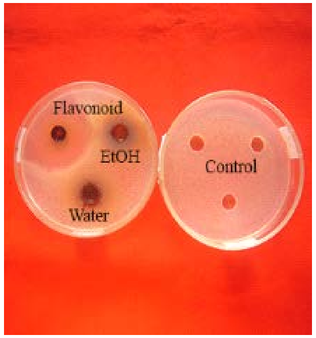


Figure 3. IC_{50} values of crude extracts from flowers of *B. variabilis*

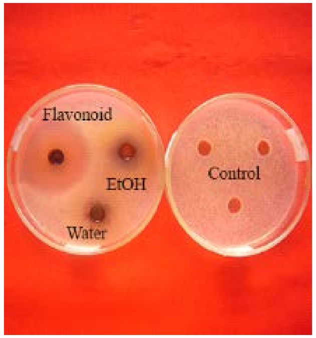
Antimicrobial Activity



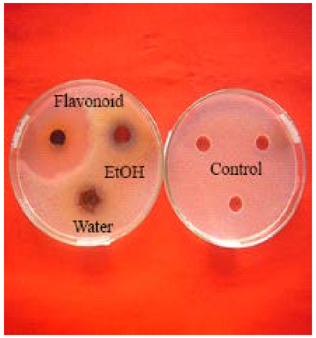
Bacillus subtilis

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa



Bacillus pumilus



Candida albicans

Escherichia coli

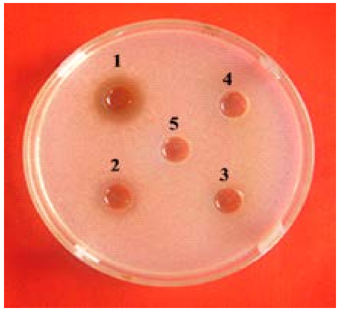
Figure 4. Sensitivity of crude extracts of Tha-Mon flowers *(B.variabilis)*

Table 3 Antimicrobial Activity of Tha-Mon Flowers (*B. variabilis*)

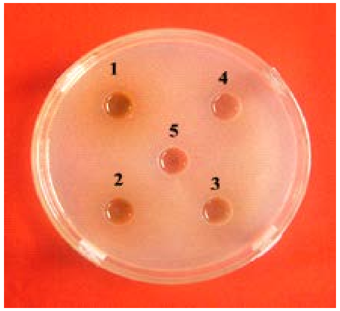
No.	Tested Organisms	Inhibition Zone Diameter (mm)		
		Flavonoid	70 % EtOH	Water
1	*Bacillus subtilis*	43	20	17
2	*Staphylococcus aureus*	47	16	16
3	*Pseudomonas aeruginosa*	45	20	20
4	*Bacillus pumilus*	38	20	19
5	*Candida albican*	48	17	17
6	*Escherichia coli*	50	17	15

Agar well -10 mm, 10mm ~ 14 (+), 15 mm ~ 19mm (++), 20 mm above (+ + +)

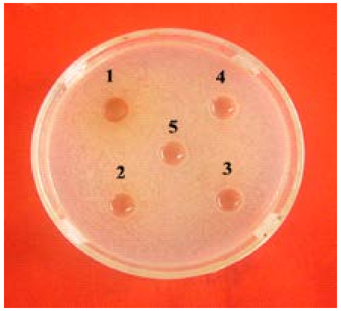
MIC



Flavonoid

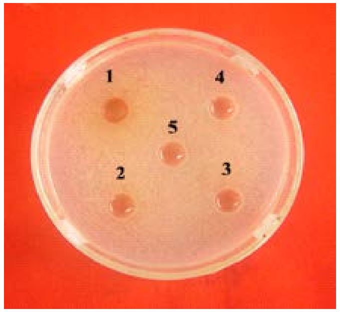


70 % EtOH

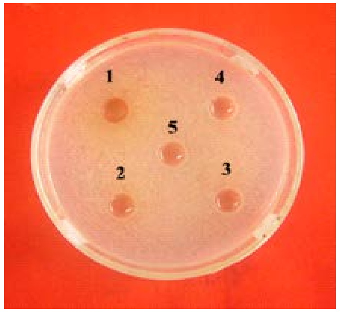


Water

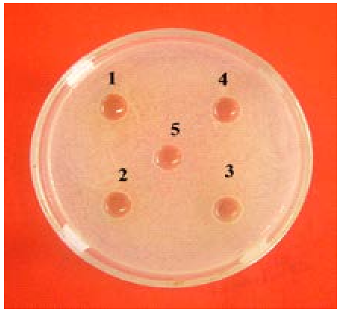
Staphylococcus aureus



Flavonoid



70 % EtOH



Water

Escherichia coli

1 = 100 mg/mL, 2 = 50 mg/mL, 3 = 25 mg/mL, 4 = 12.5 mg/mL, 5 = 6.25 mg/mL

Figure 5. Minimum inhibitory concentration of various extracts of Tha-Mon flowers (*B.variabilis*)

Table 4 Minimum Inhibitory Concentration of Active Extracts of Tha-Mon Flowers (*B. variabilis*)

		Inhibition Zone Diameter (mm)					
No.	Serial dilution (mg/mL)	*Staphylococcus aureus*			*Escherichia coli*		
		Flavonoid	70 % EtOH	H_2O	Flavonoid	70 % EtOH	H_2O
1	100	18	13	-	20	14	-
2	50	14	11	-	16	12	-
3	25	12	11	-	13	11	-
4	12.5	11	-	-	11	-	-

Acute Toxicity Test

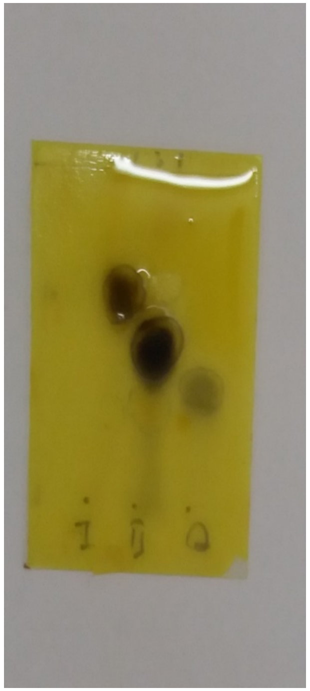
- Observation period –**Two weeks.**
- All animals remained alive and did not show any visible symptoms of toxicity like respiratory disorders, convulsions and death.

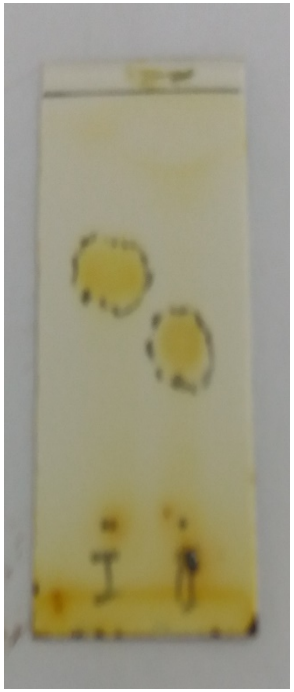
Figure 6. Administration of extracts to mice

Table 5 Acute Toxicity Effect of 70 % Ethanol and Watery Extract of *B.variabilis* Flowers on Albino Mice Model

No.	Group	Extract Administration	Dosage (mg/kg)	No. of death	% of Death
1.	A	70 % ethanol	2000	Nil	0 %
2.	B	70 % ethanol	5000	Nil	0 %
3.	C	Water	2000	Nil	0 %
4.	D	Water	5000	Nil	0 %
5.	E	No administration	Nil	Nil	0 %

Isolation of Compound from Tha-Mon Flowers

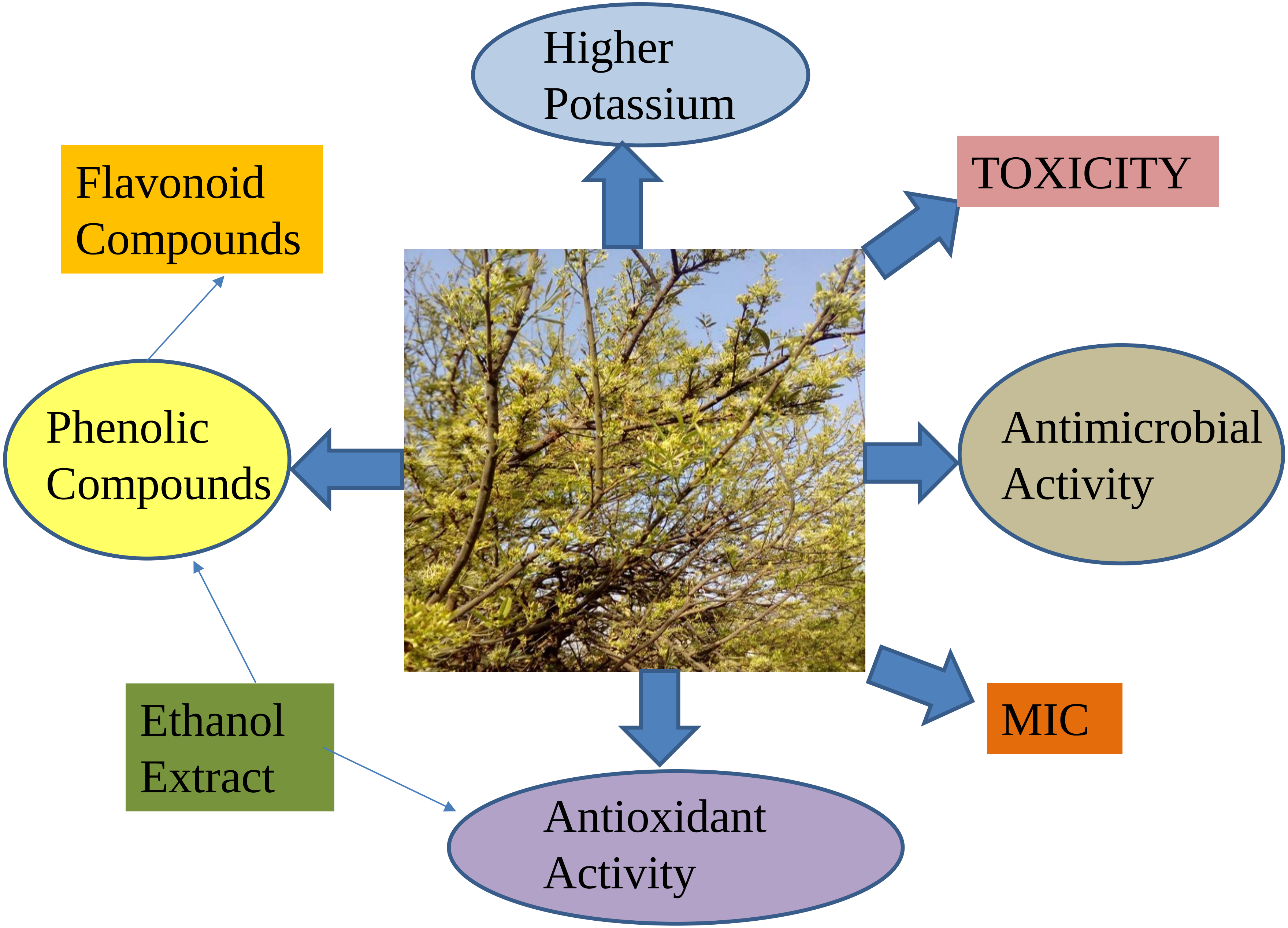




After spraying with 5 % $FeCl_3$

After treatment with iodine

PE : EtOAc (1:2)


Higher Potassium
TOXICITY
Flavonoid Compounds
Phenolic Compounds
Antimicrobial Activity
MIC
Ethanol Extract
Antioxidant Activity

သုံးသပ်ချက်များ

-မြန်မာတိုင်းရင်းဆေးနယ်ပယ်တွင် သမုန်းပင်အားဆေးဝါးအဖြစ်ဖော်စပ်ခြင်း အလွန်နည်းပါးကြောင်း လေ့လာသုံးသပ်ရပါသည်။

-သမုန်းပင်သည် အထက်မြန်မာပြည်အပူပိုင်းဒေသတွင် သဘာဝအလျောက်ပေါက်ရောက်ပြီးစိုက်ပျိုးရန်အတွက် လွယ်ကူသည့်အပြင် စရိတ်စကနည်းပါးသည်ဟု လေ့လာတွေ့ရှိရပါသည်။

-သမုန်းပင်မှပေးစွမ်းနိုင်သော potassium ပါဝင်မှုပမာဏများခြင်း၊ phenolic compounds များပါဝင်မှုရှိခြင်း၊ ဓာတ်တိုးဆန့်ကျင်သတ္တိ နှင့် ဘက်တီးရီးယားပိုးသေစေသည့်အာနိသင်များသည် ပြည်သူလူထု၏ ကျန်းမာရေးအတွက် ကြီးမားသော အထောက်အပံ့ကို ရရှိစေနိုင်ပါသည်။

-သို့ဖြစ်ပါ၍ မြန်မာ့ရေမြေတွင်စိုက်ပျိုးရရှိနိုင်သည့် သမုန်းပင်အား သဘာဝမှ လက်ဆောင်ပေးသော ဂမ်းလျှောဂမ်းကိုက်ပိုးကိုသေစေပြီး ကင်ဆာဖြစ်နိုင်မှုကို ဟန့်တားနိုင်သည့် ဆေးစွမ်းကောင်းတစ်လက်အဖြစ် အဆိပ်အတောက်မရှိ အသုံးပြုနိုင်ပါရန် သုံးသပ်အကြံပြုတင်ပြအပ်ပါသည်။

References

Bhowmik, M. and P. Lombardi. (2014). “Recent Advances in Antitumor Berberine”. *J.Cancer Sci Ther*. vol. 7 (10), pp.11-15

Crucickshank, R. (1975). Medical Microbiology. London: Churchilll livingstone Ltd.,

Finegold, S.M. and W.J. Martin. (1982). Diagnostic Microbiology. London: The C.V. Mosby Co., London

Marinova, G.l and V. Batchvarov. (2011). “Evaluation the Free Radical Scavenging Activity by DPPH”. *Agricultural Science*, vol. 17, pp. 11-24

OECD (2000). “Guidance Document on Acute and Toxicity”. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment, No 24 (Organization for Economic Cooperation and Development).

Thank You