A Chemical study of the thistle plant *Tribulus terrestris* L., widespread in the Hama countryside in Syria

Prof. Aziza Ibrahim Youssef[*]
Dr. Lina Saker[**]
Racha Daiea[***]

(Received 15 / 11 / 2023. Accepted 7 / 2 / 2024)

□ ABSTRACT □

The aim of the current study is performing a chemical study on *Tribulus terrestris*: phytochemical screening was conducted on its' various parts (leaves, flowers, fruits) to evaluate the presence of some secondary metabolites, total phenol and flavonoid content assays. Extracts were prepared using established methods. Phenol content was quantified according to Folin-Ciocaltu method using Gallic acid (G.A) as standard, and flavonoid content was quantified according to Aluminium trichloride method using Rutin as standard via spectrophotmeter. The screening revealed differences in the composition according to the used part, tannins, phenols, cardiac glycosides, and coumarin found in all parts, alkaloids detected in leaves, flavonoids and saponins in flowers and leaves, result of terpenoids detection was negative. Phenol content reached in flowers: 16.0034 mg equivalent to GAE/1g dw, leaves: 22.3434 mg/1g, fruits: 10.151 mg/1g. Whereas, flavonoid content reached in flowers: 0.024 mg equivalent to RE/1g dw, leaves: 0.0444 mg/1g, fruits: 0.00953 mg/1g.

Key words: Tribulus terrestris L., Phytochemical screening, Phenol content, Flavonoid content.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*]**Professor, Pharmacognosy department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria** aziza.youusef@tishreen.edu.sy
****Assistant Professor, Pharmacology department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria** lina.saker@tishreen.edu.sy
*****Postgraduate Student, Pharmaceutical chemistry and Quality control department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria** racha.daiea@tishreen.edu.sy

دراسة كيميائية لنبات الحسك أو القرطب الأرضي *Tribulus terrestris* L. المنتشر في ريف حماة في سورية

أ. د. عزيزة إبراهيم يوسف*

د. لينا صقر**

رشا ضايع***

(تاريخ الإيداع 15 / 11 / 2023. قبل للنشر في 7 / 2 / 2024)

□ ملخّص □

الهدف من الدراسة الحالية هو دراسة كيميائية لنبات الحسك: الكشف عن بعض المستقلبات الثانوية، معايرة المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات في أجزاء النبات المدروسة (الأوراق، الأزهار، الثمار). أُستخلصت الزمر الكيميائية بشكل نوعي، وأُجريت تفاعلات الكشف وفقاً للدراسات المرجعية. أيضاً، حُضرت سلسلة عيارية للمعايرة كمياً لمحتوى الفينولات وفق طريقة الفولين–سيوكالتو، باستخدام حمض العفص كعياري، ولمحتوى الفلافونوئيدات وفق طريقة ثلاثي كلوريد الألمنيوم، باستخدام الروتين كمادة عيارية، باستخدام مقياس الطيف الضوئي. أظهرت النتائج: تباين وجود الزمر الكيميائية الفعّالة، حيث وُجدت الفينولات، العفصيات، الكومارينات، والغليكوزيدات القلبية في جميع أجزاء النبات المدروسة بينما وُجدت القلويدات في الأوراق، الفلافونوئيدات والسابونينات في الأزهار والأوراق، وكانت نتيجة الكشف عن التيربينوئيدات سلبية. كذلك وجد تباين في محتوى الفينولات والفلافونوئيدات تبعاً للجزء المدروس إذ بلغت كمية الفينولات في الأزهار: 16.0034 مغ مكافئ لحمض العفص/1غ مسحوق جاف، الأوراق: 22.3434 مغ/غ، الثمار: 10.151 مغ/غ مسحوق جاف، بينما بلغت كمية الفلافونوئيدات في الأزهار: 0.024 مغ مكافئ روتين/1غ مسحوق جاف، الأوراق: 0.0444 مغ/غ مسحوق جاف، الثمار: 0.00953 مغ/غ.

الكلمات المفتاحية: الحسك، مستقلبات ثانوية، تفاعلات كيميائية عامة، محتوى الفينولات، محتوى الفلافونوئيدات.

حقوق النشر :مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* أستاذ، قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، سورية aziza.youusef@tishreen.edu.sy

** مدرّس، قسم تأثير الأدوية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، سورية lina.saker@tishreen.edu.sy

*** طالبة ماجستير، قسم الكيمياء والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، سورية racha.daiea@tishreen.edu.sy

مقدمة:

تبحث الصناعة الدوائية بشكل دائم عن مركبات كيميائية ذات فعاليّة حيوية وتُعتبر النباتات الطبية المصدر الأساسي لاكتشاف مركبات رئيسية Lead compounds جديدة لتصميم أدوية [1] بسبب احتواء هذه النباتات على مركبات كيميائية فعّالة [2]. تتوزع النباتات الطبية حول العالم وضمن الفلورا السورية، حيث كان العالم النباتي Mouterede أول من صنّفها ومن بينها النباتات الطبية المتواجدة في المنطقة الوسطى مثل نبات الحسك (أو القرطب الأرضي أو الدرّيس) *Tribulus terrestris* [3] (الشكل 1) الذي ينتمي للفصيلة القديسيّة Zygophyllaceae (أو الحرملية Nitrariaceae) [4]، وهو نبات حولي منتشر في المناطق الدافئة في العالم ومتأصل في منطقة حوض البحر المتوسط [5].

الشكل (1): شكل النبات وأجزائه

يُستعمل نبات الحسك في الطب الشعبي الصيني، الهندي، والبلغاري لمعالجة السعال، الربو، الحصاة الكلوية، العجز الجنسي، القهم العصبي، والتهاب المفاصل الرثوي [7,6].

بيّنت الدراسات العلمية احتواء نبات الحسك على العديد من المركبات الكيميائية المختلفة المسؤولة عن التأثيرات الحيوية، أهمّها الأحماض الفينولية مثل: حمض الكلوروجينيك Cholorgenic acid وحمض القهوة Caffeic acid في كامل أجزاء النبات [9]، حمض الفانيلين Vanillic acid وحمض إكليل الجبل Rosmarinic acid في الجذور [10]، حمض الصفصاف Salicylic acid في الثمار [11]. الفلافونوئيدات: مركب الكيرستين Quercetin في الأوراق [12]، مركب الروتين Rutin في كامل أجزاء النبات [13]. توجد العفصيات في الثمار [14]. الكومارينات: مركب السكوبارون Scoparone في الأجزاء الهوائية [15].

يحتوي أيضاً على السابونينات، التي تُعدّ من أهم المركبات المسؤولة عن التأثيرات الهرمونية، مثل البروتودايوسين Protodioscin والدايوسين Dioscin في الأوراق [16]، الديزوجينين Disogenin في الثمار [17]. وكذلك على الغليكوزيدات القلبية مثل التريبولوسين Tribulosin في الأجزاء الهوائية [18] والقلويدات في الأوراق مثل: قلويد الهارمالين Harmaline [19].

أثبتت العديد من الدراسات السريرية تأثيراته الحيوية وامتلاكه لخواص: خافضة للسكر، منشطة جنسية لدى الذكور والإناث، مدرّة، مضادة للأكسدة، مضادة للتشنّج، يمنع تشكل الحصاة الكلوية، ويُساعد في معالجة الربو [20]. كما يمتلك خصائص مضادة للباكتيريا [21] والفطور [22] ويساهم في عملية التئام الجروح [24,23].

تهتم الصناعات الدوائية بالكشف عن المركبات الكيميائية الفعّالة في النبات الطبي لربط التأثيرات الحيوية الناتجة عنه بهذه المكونات [25]، وبناءً عليه توجّب إجراء تفاعلات كيميائية عامة للكشف عن هذه المركبات في نبات الحسك المنتشر في سوريا وتحديد كمية بعض هذه المركبات.

أهمية البحث وأهدافه:

- **أهمية البحث:**

تُعدّ الدراسات المحلية على نبات الحسك من الناحية الكيميائية غير كافية، لذلك يُوصى بالكشف العام عن المركبات الكيميائية وتحديد كميتها بسبب الاستعمال الشعبي له، بحيث يُمكن أن تُشكّل هذه الدراسة حجر الأساس لدراسة أشمل وأعم لجميع المركبات واستعمال النبات في الصناعة الدوائية المحلية.

- **أهداف البحث:**

كشف كيميائي عام للمُستقلبات الثانوية في الأوراق والأزهار والثمار، تحديد كمية المركبات الفينولية والفلافونوئيدات في الأجزاء المذكورة ومقارنة النتائج بالدراسات المحلية والمرجعية.

طرائق البحث ومواده

2.1. مكان إجراء البحث:

تم العمل لإنجاز البحث في مخابر كلية الصيدلة ومعهد البحوث البحرية في جامعة تشرين، وكلية الصيدلة في الجامعة العربية الدولية AIU.

2.2. المواد والأجهزة المستخدمة:

- **المواد المستخدمة:** ميثانول 80%، إيثانول 50%، إيثانول مطلق، كاشف فولين–سيوكالتو Chem–Lab NV، حمض العفص Chemie LOBA، روتين TM MEDIA، ماء مقطر حديثاً.
- **الأجهزة المستخدمة:** ميزان إلكتروني حساس RADWAG, AS220/C/2، سخانة كهربائية LABINCO MODEL L34، مقياس الطيف الضوئي Optizen 2120UV PLUS، Jasco V–630.

2.3. جمع العينات وحفظها:

- **جُمعت الأزهار والأوراق والثمار** في 27/6/2022 من منطقة قمحانة – مزارع الفرداوي– ريف حماة. إحداثيات المنطقة: خط العرض: °35.21167085040361، خط الطول:°36.69734336435795، الارتفاع عن سطح البحر: 307.00 m

- **حُفظت العينات بالطريقة الجافة:** تمّ تجفيف كل جزء على قماش قطني في الظل لمدة أسبوعين، نُقل إلى أكياس بلاستيكية وسحب الهواء من الأكياس، وحُفظت في البراد عند درجة حرارة °4 لعدم تعرّض العينات للرطوبة وتخرّب المواد الكيميائية ضمنها وفُتح الكيس عند الاستخدام.

2.4. تحضير المحاليل وطريقة العمل:

2.4.1. التفاعلات الكيميائية العامة:

- **سُحقت الأجزاء** النباتية (الأوراق، الأزهار، الثمار) للحصول على المساحيق التي سيتم استخلاصها وإجراء التفاعلات الكيميائية عليها.
- **المحاليل المستخدمة في الكشف عن القلويدات:**

– حمض الكلور الممدد (1%) HCL (v/v)، هيدروكسيد الصوديوم (10%) (w/v)، كاشف واغنر، وكاشف ماير.

- **المحاليل المستخدمة في الكشف عن الغليكوزيدات القلبية:** إيثانول (50%) CH_3OH (v/v).
- **المحاليل المستخدمة في الكشف عن السابونينات:** كبريتات النحاس (10%) (w/v).
- **المحاليل المستخدمة في الكشف عن الفينولات:** إيثانول (80%) CH_3OH (v/v) وكلوريد الحديد (5%) (w/v).
- **المحاليل المستخدمة في الكشف عن الفلافونوئيدات:** إيثانول (70%) CH_3OH (v/v).
- يوجد في الجدول رقم (1) طريقة استخلاص الزمر الكيميائية من الأجزاء النباتية (أوراق، أزهار، ثمار)، الكواشف المستعملة، والنتائج المتوجب الحصول عليها.

الجدول (1): اختبارات الكشف عن المستقلبات الثانوية

الكشف عن المستقلبات الثانوية (الزمر الكيميائية)	طريقة الاستخلاص	الكواشف المستعملة	النتائج المتوجب الحصول عليها
القلويدات: [26]	1غ مسحوق+ 10 مل حمض كلور الماء 1%، تعريض للحرارة لمدة 30 د. على الحمام المائي، الترشيح، إضافة هيدروكسيد الصوديوم ليصبح الوسط pH=9، نقل الرشاحة إلى قمع فصل، إضافة كلوروفورم بكمية تناسب كمية الرشاحة، فصل، أُستخدمت الطبقة الكلوروفورمية، تبخير على حمام لمائي، + 2 مل حمض كلور الماء 1%	– كاشف واغنر Wagner's reaction: بضع قطرات رشاحة + بضع قطرات كاشف على زجاجة ساعة	تشكل راسب بني
		– كاشف ماير Mayer's reaction: بضع قطرات من الرشاحة + بضع قطرات من الكاشف على زجاجة ساعة	تشكل راسب أبيض
		– حمض المرّ Picric acid: بضع قطرات من الرشاحة + بضع قطرات من الكاشف على زجاجة ساعة	تشكل راسب أصفر
الغليكوزيدات القلبية: [26]	1غ مسحوق + 10 مل إيثانول 50% ضمن فلاسك موصول بمبرّد صاعد والتسخين لمدة 10 د.، إضافة 10 مل خلات الرصاص 3% مع التحريك لمدة 5 د.، الترشيح بالقطن ثم ورق الترشيح، تُنقل الرشاحة إلى قمع فصل + 10مل كلوروفورم تُؤخذ الطبقة السفلية، تجفيف بإضافة كبريتات الصوديوم اللامائية، + ترشيح	– تفاعل كيد Kidde's reaction: تُجفف 2 مل رشاحة ضمن حمام مائي للحصول على الرسابة، إضافة 8 قطرات من حمض دي بينزوئيك و3 قطرات من ماءات الصوديوم	تشكل لون بنفسجي
		– تفاعل كيلر كيلاني Killer Kilani's reaction: يُجفّف 2 مل رشاحة ضمن حمام مائي للحصول على الرُسابة، يُضاف 1 مل حمض الخل 98% + بضع قطرات كلور الحديد + 1 مل حمض الكبريت المركز ببطء	ظهور 3 طبقات وحلقة بنية في المنتصف

السابونيات: [27]	0.5غ مسحوق + 10 مل إيثانول 50%، تسخينه لمدة 30 د.، + ترشيح	- فحص الرغوة Foam test: 0.5 غ مسحوق+ 10 مل ماء ساخن، ننتظر ليبرد الأنبوب، + خضّ	تشكل رغوة
		- تفاعل زلاتيك زاك Zlatik's zak's reaction: 1 مل خلاصة + عدة قطرات حمض كلور الماء المركز + عدة قطرات كبريتات النحاس 10%.	تشكل لون أزرق أو أخضر
الفينولات: [28]	1 غ مسحوق +10 مل إيثانول 80% لمدة 48 ساعة (تعطين) ثم الترشيح	0.5 مل رشاحة + 0.5 مل كلور الحديد 5%	ظهور لون أزرق داكن أو بنفسجي
الفلافونوئيدات: [26]	2.5غ مسحوق + 20 مل إيثانول 70% ضمن فلاسك موصول بمبرّد صاعد والتسخين لمدة 10 د.، ترشيح، وضع الرشاحة في قمع فصل + 5 مل كلوروفورم، تُأخذ الطبقة العلوية الإيثانولية ثم تجفف وتُحلّ الرسابة ضمن 1 مل إيثانول 70%.	- تفاعل شينودا Shinoda's reaction: بضع قطرات من الرشاحة + مغنيزيوم + بضع قطرات حمض كلور الماء المركز	تشكل لون زهري
		- تفاعل بيف Beef's reaction: بضع قطرات من الرشاحة + زنك + بضع قطرات حمض كلور الماء المركز	تشكل لون زهري وبعد دقائق يتحول إلى لون أحمر
العفصيات: [26]	1غ مسحوق + 10 مل ماء مقطر فاتر (نقع لمدة 24 ساعة) ثم الترشيح	- مع فوق كلور الحديد: 1 مل رشاحة + بضع قطرات من المحلول	ظهور لون أخضر أو أزرق
		- مع خلات الرصاص: 1 مل رشاحة + بضع قطرات محلول	تشكل راسب أبيض
الكومارينات: [29]	1 غ مسحوق + 10 مل إيثانول 80% لمدة 48 ساعة (تعطين) ثم الترشيح	0.5 مل رشاحة ضمن جفنة وإضافة بضع قطرات من هيدروكسيد الصوديوم 10% وتوضع الجفنة تحت لمبة ال UV على طول موجة 365 nm	تألق الخلاصة باللون الأصفر
التيربينوئيدات: [26]	0.5 غ مسحوق + 10 مل إيثانول 10% ثم التسخين لمدة 30 د ثم الترشيح	0.5 مل من الرشاحة + 2 مل كلوروفورم+ بضع قطرات من حمض	تشكل حلقة صفراء بين

		الكبريت المركز	الطبقتين، تتحول إلى بني محمر

2.4.2. معايرة المحتوى الكلي للفينولات:

▪ **المحاليل المُستخدمة في تحضير السلسلة العيارية:** كربونات الصوديوم (4%) Na_2CO_3 (w/v) في الماء المقطر، ميثانول (80%) CH_3OH (v/v)، كاشف الفولين (10%) في الماء المقطر، والمحلول الأم حمض العفص (500 مكغ/مل) في الميثانول 80%

▪ **طريقة استخلاص المساحيق النباتية:**

– اتبعت طريقة التعطين على البارد: نقع 1غ من المسحوق في 10 مل من ميثانول 80% المُحضّر مسبقاً في بيشر سعته 20 مل لمدة 48 ساعة مع التحريك كل عدة ساعات [31,30].

▪ **طريقة تحضير السلسلة العيارية:**

– تم الاعتماد على الدراستين [33,32] مع التعديل على تراكيز السلسلة وحجومها بما يتوافق مع سعة حجم بوالين المعايرة المتوافرة وتركيز المحل المستخدم.

– تم بعد تحضير المحلول الأم من حمض العفص (500 مكغ/مل)، تحضير سلسلة عيارية منه وكانت التراكيز كالآتي:

20, 40, 60, 80, 100, 120 Mcg/ml

– أُخذت حجوم 1,2,3,4,5,6 مل من المحلول الأم المتوافقة مع كل تركيز، نُقلت إلى بالون معايرة سعته 25 مل ثم أُكملت للخط العياري باستخدام ميثانول 80%.

– سُحب 0.5 مل من كل تركيز ونُقل إلى أنبوب مغلف بالقصدير، أُضيف 1 مل من كاشف الفولين (10%) و4 مل من كربونات الصوديوم (4%) وتمّ إغلاق كل أنبوب بالقصدير ووضع الأنابيب في مكان مظلم لمدة ساعة.

– الناصع (البلانك): الإضافات السابقة باستثناء حمض العفص.

▪ **معايرة الخلاصات:** 0.5 مل من الخلاصة+ 1 مل كاشف فولين 10%+ 4 مل كربونات الصوديوم 4% ضمن أنبوب مغلف بقصدير ووضع الأنابيب في مكان مظلم لمدة ساعة.

– قيست الامتصاصية لمحاليل السلسلة والعينات النباتية عن طريق جهاز مقياس الطيف الضوئي UV–VIS Spectrophotometer عند طول موجة 765 nm وتم أخذ ثلاثة مكررات لقيم الامتصاصية لمحاليل السلسلة وحساب المتوسط الحسابي لها مع رسم المنحني العياري الذي يعبر عن علاقة الامتصاصية بالتراكيز. أما للعينات النباتية تم إجراء اختبار التكرارية عن طريق قياس الامتصاصية عند نفس طول الموجة 765 nm ثلاث مرات.

– تم التعبير عن المركبات الفينولية بكمية حمض العفص المكافئ في 1 غ وزن جاف (mg Gallic acid/g d.w) [32].

2.4.3. معايرة المحتوى الكلي للفلافونوئيدات:

- **المحاليل المُستخدمة في تحضير السلسلة العيارية:** نترات الصوديوم (5%) $NaNO_2$ (w/v)، كلوريد الألمنيوم (10%) $AlCl_3$ (w/v)، هيدروكسيد الصوديوم (4.3%) NaOH (w/v)، والمحلول الأم الروتين (0.161 مغ/مل) $C_{27}H_{30}O_{16}$ (w/v) في الإيثانول المطلق.
- **طريقة استخلاص المساحيق النباتية:**

– اتبعت طريقة التعطين على البارد المذكورة في فقرة الاستخلاص للمركبات الفينولية.

- **طريقة تحضير السلسلة العيارية:**

– تم الاعتماد على الدراسة [34] مع التعديل على تراكيز السلسلة وحجومها بما يتوافق مع سعة حجم بوالين المعايرة المتوافرة وتركيز المحل المستخدم.

– تم بعد تحضير المحلول الأم من الروتين (0.161 مغ/مل)، تحضير سلسلة عيارية منه وكانت التراكيز كالتالي:
6.44, 12.88, 19.32, 25.76, 32.2, 38.64, 45.08, 51.52 mg/l

– نقل حجوم 1,2,3,4,5,6,7,8 مل من المحلول العياري إلى بوالين معايرة ذو حجم 25 مل، إضافة 4 مل من الإيثانول المطلق، إضافة 1.5 مل من نتريت الصوديوم (5%) مع الانتظار لمدة 6 دقائق، إضافة 1.25 مل من كلوريد الألمنيوم (10%) الانتظار لمدة 6 دقيقة، إضافة 7.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم (4.3%) ثم إكمال الحجم بماء مقطر مع الانتظار لمدة 15 دقيقة.

– الناصع (البلانك): نفس الإضافات السابقة ما عدا الروتين.

- **معايرة الخلاصات:** 1 مل من الخلاصة+ 4 مل من الإيتانول المطلق+ 1.5 من نتريت الصوديوم (5%) مع الانتظار لمدة 6 دقائق، إضافة 1.25 مل من كلوريد الألمنيوم (10%) الانتظار لمدة 6 دقائق، إضافة 7.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم (4.3%)، إكمال الحجم بماء مقطر في بالون معايرة 25 مل مع الانتظار لمدة 15 دقيقة.

– قيست الامتصاصية لمحاليل السلسلة والعينات النباتية عن طريق جهاز مقياس الطيف الضوئي UV-VIS Spectrophotometer عند طول موجة 498 nm وتم أخذ ثلاثة مكررات لقيم الامتصاصية لمحاليل السلسلة وحساب المتوسط الحسابي لها مع رسم المنحني العياري الذي يعبر عن علاقة الامتصاصية بالتراكيز. أما للعينات النباتية تم إجراء اختبار التكرارية عن طريق قياس الامتصاصية عند نفس طول الموجة 498 nm ثلاث مرات.

– تم التعبير عن المركبات الفلافونوئيدية بكمية الروتين المكافئة في 1 غ وزن جاف (mg R.E/g d.w) [35].

النتائج والمناقشة:

التفاعلات الكيميائية العامة:

أظهرت نتائج اختبارات الكشف الكيميائي العام أو تحديد الذاتية للمستقلبات الثانوية، تباين في وجود هذه الزمر الكيمائية الفعّالة في الأجزاء النباتية المدروسة (الأوراق، الأزهار والثمار)، حيث تواجدت الفينولات، العفصيات، الكومارينات، والغليكوزيدات القلبية في جميع الأجزاء، بينما تواجدت الفلافونوئيدات والسابونينات فقط في الأزهار والأوراق، وأعطى الكشف عن التيربينوئيدات العطرية نتيجة سلبية، وأيضا غياب القلويدات (مع استثناء في الأوراق باستخدام كاشف حمض المر)، الجدول رقم (2).

بيّنت المقارنة بين النتائج الحاصلة ونتائج الدراسة في العراق في عام 2015 [36] للكشف عن الزمر الكيميائية في الأجزاء الهوائية لنبات الحسك، أنّ هناك توافق حول وجود الفلافونوئيدات والسابونينات والعفصيات، واختلفت فيما يتعلق بالقلويدات والتربينوئيدات، ووجود الستيروئيدات. توافقت كذلك مع نتائج الدراسة في عام 2021 [37] التي أُجريت للكشف عن الزمر الكيميائية في الأجزاء الهوائية والثمار في نبات الحسك في حلب – سورية، من حيث وجود الغليكوزيدات القلبية والكومارينات والفينولات في جميع الخلاصات، بينما اختلفت في غياب السابونينات في الثمار والقلويدات في الثمار والأزهار والفلافونوئيدات في الثمار (حيث وجدت جميعها في الدراسة [37])، وفي وجود العفصيات في الثمار وغيابها في الدراسة المرجعية [36]).

يُمكن تفسير الإختلاف في النتائج عند نبات الحسك، بين هذا البحث والأبحاث الأخرى المرجعية في وجود أو غياب بعض المستقلبات الثانوية، إلى الإختلاف في العوامل البيئية المحيطة والمناخية في مناطق لنمو النبات التي اختيرت للجني، والجزء المدروس، والعامل الوراثي [36].

كذلك وجود القلويدات في الأوراق في هذا البحث المجرى، وإثبات وجوده في الدراسات المرجعية [36]، وعدم وجوده في الأزهار والثمار، ربّما يُعزى إلى نوع الكواشف المستخدمة، نظراً لكون القلويدات تتميّز بتنوّعها البنيوي كيميائياً، إضافة إلى طريقة الاستخلاص.

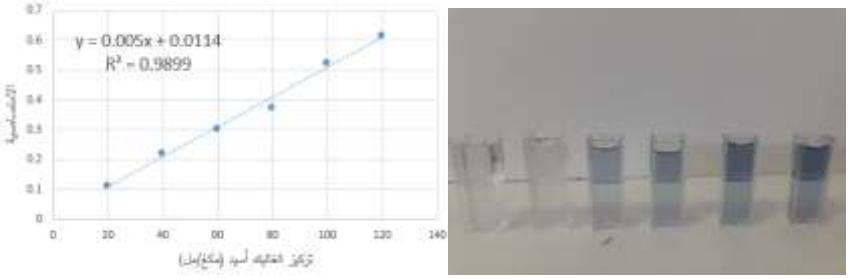
يدل غياب التيربينوئيدات على غياب الزيت العطري في الأجزاء السابقة وهذا مطابق للدراسة [37].

الجدول رقم (2): نتائج اختبارات الكشف عن المستقلبات الثانوية

طبيعة الزمر أو المستقلبات الثانوية	الكواشف أو التفاعلات	أجزاء النبات المستعملة المدروسة		
		أوراق	أزهار	ثمار
القلويدات	كاشف واغنر	–	–	–
	كاشف ماير	–	–	–
	حمض المرّ	+	–	–
الغليكوزيدات القلبية	تفاعل كيدي	+	+	+
	تفاعل كيلر كيلاني	+	+	+
السابونينات	فحص الرغوة	+	+	–
	زلاتيك–زاك	+	+	–
الفينولات		+	+	+
العفصيات	مع فوق كلور الحديد	+	+	+
	مع خلات الرصاص	+	+	+
الفلافونوئيدات	تفاعل شينودا	+	+	–
	تفاعل بيف	+	+	–
الكومارينات		+	+	+
التيربينوئيدات		–	–	–

معايرة المحتوى الكلي للفينولات

▪ **السلسلة العيارية:** قيست امتصاصية محاليل السلسلة العيارية المحضرة من المحلول الأم عند طول موجة 765 nm وتمّ تمثيل العلاقة بين التركيز والامتصاص بالخط البياني التالي المبيّن في الشكل رقم (2)، وكان معامل الارتباط الخطيّ R^2=0.9899 والمعادلة هي معادلة خط مستقيم y=0.005x+0.0114، ويُستنتج بأنّ هذه الطريقة تتمتع بخطية جيّدة.



(b) (a)

الشكل (2): السلسلة العيارية لحمض العفص

(a): خطيّة حمض العفص، (b): السلسلة العيارية

▪ **تحديد المحتوى الكلي من الفينولات للعينات النباتية:**

قيست الامتصاصية للعينات الثلاث ولوحظ أنّ الامتصاصية كانت خارج السلسلة العيارية لذلك تمّ التمديد بالماء المقطر 10 مرات، وتمّ قياس الامتصاصية 3 مرات لكل عينة، وحُسبت التراكيز بالتعويض بالمعادلة السابقة، وأيضاً الكمية والتعبير عن المركبات الفينولية بكميّة حمض العفص. يُظهر الجدول رقم (3) كميّة الفينولات التي يّعبّر عنها بحمض العفص (مغ) في 1 غ من المسحوق الجاف لكل من الأوراق، الأزهار والثمار.

أظهرت النتائج الحاصلة وجود تباين بين الأجزاء المستعملة المدروسة سواء في الامتصاصية: الأوراق (0.544) > الأزهار (0.392) > الثمار (0.253)، أو في المحتوى الكلي للفينولات: الأوراق (22.34344) > الأزهار (16.0034) > الثمار (10.151) مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف.

لوحظ في الدراسة [38] أنّ كمية الفينولات قد بلغت في الثمار 0.03 ± 15.43 مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف، انطلاقاً من مسحوق جاف، وفي الأوراق [39] 723 مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف، انطلاقاً من مسحوق جاف.

لقد تباينت كميّة الفينولات التي كانت أقل في الأوراق والثمار بالمقارنة مع الدراسات المرجعية [38] و[39]، ويُفسّر عدم التوافق هذا باختلاف طريقة الإستخلاص حيث حُسبت كميّة الفينولات انطلاقاً من مسحوق جاف للأوراق والثمار، بينما تمّ في هاتين الدراستين المرجعيتين حساب الكميّة ابتداءاً من خلاصة مركزة للمسحوق، إضافة إلى أهمية أماكن النمو والإنتشار الجيوغرافي للنبات والعوامل البيئية المحيطة التي تلعب دوراً مؤثراً في زيادة أو نقصان المستقلبات الثانوية [36] [40].

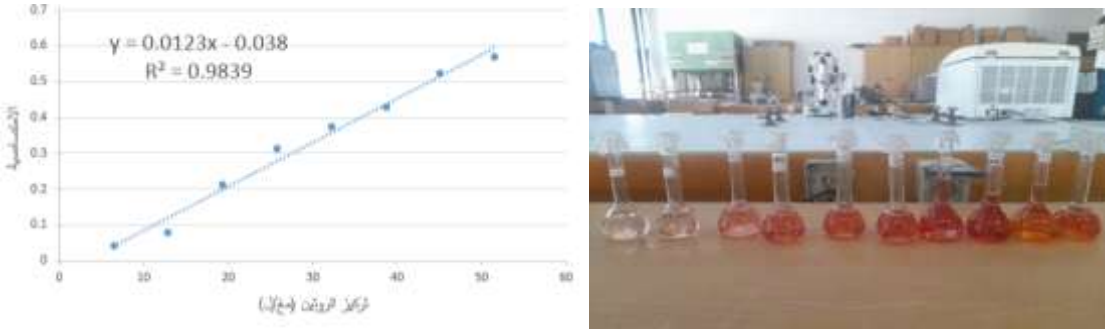
الجدول (3): كمية الفينولات في الأجزاء المستخدمة

القياسات أو الإجراءات التجريبية	أجزاء النبات المستعملة المدروسة		
	أوراق	أزهار	ثمار

	Mean±SD (CV%)	Mean±SD (CV%)	Mean±SD (CV%)
الامتصاصية	0.544±0 (0%)	0.392±0.000577 (0.15%)	0.253±0.001 (0.39%)
المحتوي الكلي للمركبات الفينولية	22.6884±0 مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف	16.184±0.02424 مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف	10.08±0 مغ مكافئ حمض العفص/1 غ مسحوق جاف

معايرة المحتوى الكلي للفلافونوئيدات:

- **السلسلة العيارية:** قيست امتصاصية محاليل السلسلة العيارية المحضرة من المحلول الأم عند طول موجة 498 nm وتم تمثيل العلاقة بين التركيز والامتصاص بالخط البياني التالي المبيّن في الشكل رقم (3)، وكان معامل الارتباط R^2=0.9839 والمعادلة هي معادلة خط مستقيم y=0.0123x−0.038، ويُستنتج بأنّ هذه الطريقة تتمتع بخطية جيّدة.



(b) (a)

الشكل (3): السلسلة العيارية للروتين

(a): خطيّة الروتين، (b): السلسلة العيارية

- **تحديد محتوى الفلافونوئيدات للعينات النباتية:**

قيست الامتصاصية للعينات الثلاث 3 مرات لكل عينة وحُسبت التراكيز بالتعويض بالمعادلة السابقة، وكذلك الكمية والتعبير عن الفلافونوئيدات بكمية الروتين. يُظهر الجدول رقم (4) كمية الفلافونوئيدات في الأوراق، الأزهار والثمار التي يعبر عنها بالروتين (مغ) في 1 غ مسحوق جاف.

أظهرت النتائج الحاصلة وجود تباين بين الأجزاء المستعملة المدروسة سواء في الامتصاصية: الأوراق (0.5055) > الأزهار (0.2681) > الثمار (0.0906)، أو في المحتوى الكلي للفينولات: الأوراق (0.0444) > الأزهار (0.024)> الثمار (0.00953) مغ مكافئ روتين/1 غ مسحوق جاف.

تبيّن في الدراسة [38] أنّ كمية الفلافونوئيدات، بلغت في الثمار 0.005 ± 0.41 مغ مكافئ كيرسيتين/1 غ مسحوق جاف، انطلاقاً من مسحوق جاف، وفي الدراسة [39] بلغت الكمية في الأوراق 476 مغ مكافئ كيرسيتين/1 غ مسحوق جاف انطلاقاً من مسحوق جاف.

فأظهرت المقارنة مع الدراسات المرجعية [38] و[39]، عدم توافق أيضاً في كميّة الفلافونوئيدات التي كانت أقل في الأوراق والثمار في هذا البحث، ويُعزى الإختلاف إلى ذات التفسيرات أعلاه فيما يتعلق بتحديد المحتوى الكلي للفينولات في الأجزاء النباتية المدروسة.

الجدول رقم (4): كمية الروتين في الأجزاء المستخدمة

القياسات أو الإجراءات التجريبية	أجزاء النبات المستعملة المدروسة		
	أوراق	أزهار	ثمار
	Mean±SD (CV%)	Mean±SD (CV%)	Mean±SD (CV%)
الامتصاصية	0.5055±0.00273 (0.54%)	0.2681±0.000693 (0.26%)	0.0906±0.00278 (3.07%)
المحتوى الكلي من الفلافونوئيدات	0.0444±0.0002 مغ مكافئ روتين /1غ مسحوق جاف	0.024±0.0000577 مغ مكافئ روتين/1 غ مسحوق جاف	0.00953±0.000231 مغ مكافئ روتين/1 غ مسحوق جاف

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

- الكشف عن احتواء نبات الحسك على عدّة زمر كيميائية فعّالة، حيث يتباين وجودها أو غيابها تبعاً للجزء المستعمل المدروس.
- اختلاف نتائج هذه الدراسة عن الدراسات السابقة نتيجة لاختلاف مكان الإنتشار والنمو، العوامل البيئية المحيطة والمناخية والعامل الوراثي في نوعية المستقلبات الثانوية كمنتجات طبيعية في هذا النبات.
- لوحظ أنّ المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات أعلى في الأوراق منه في الأزهار والثمار.
- احتواء الأوراق على غالبية المستقلبات الثانوية باستثناء التيربينوئيدات، ولذلك يُفضّل استخدام الأوراق في الصناعة الدوائية للاستفادة منها.
- كشفت هذه الدراسة عن وجود بعض الزمر الكيميائية الفعّالة في الأزهار، وحُسب المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات فيها، وهذا غير موجود في الدراسات المرجعية.

▪ التوصيات:

يُوصى باستخدام طرائق استخلاص أخرى وعزل المركبات السابقة التي تم الكشف عنها، تحديد كميتها، الكشف عن خواصها الحيوية المحتملة ودراستها بشكل دقيق. واستخدام نبات الحسك في الصناعات الدوائية المحلية بشكل أوسع.

Reference

1. Balunas,M.J. & Kinghorn,A.D., *Drug Discovery from Medicinal Pants*. Life sciences, 2005, 78:431-441.
2. Tkachenko,K., *et al*., *Major and Trace Element Content of Tribulus terrestris L. Wildlife Plants*, Plants, 2020, 9(12):1764.
3. Mouterede, P. *Nouvelle Flore de Liban et de La Syrie*. Tome Second, Atlas, DAR EL-MACHREQ, Beyrouth, 1970.
4. Semerdjieva,I., *et al*., *Pollen and Seed Morphology of Tribulus terrestris L.*, Biotechnology & Biotechnological equipment, 2011, 25(2):2379-2382.
5. Dinchev,D., *et al*., *Distribution of steroidal saponins in Tribulus terrestris from different geographical regions.* Phytochemistry, 2008, 69:176-186.
6. Lazarova,I., *et al*., *Intraspecific variability of biologically active compounds of different populations of Tribulus terrestris L. (Zygophyllaceae) in south Bulgaria*. Biotechnology & Biotechnological equipment, 2011, 25(2):2352-2356.
7. Semerdjieva,I. & Evstatieva, L., *Distribution and resources evaluation of Tribulus terrestris L. (Zygophyllaceae) population in Thracian floristic region*. Biotchenology & Biotechnological equipment, 2010, 24(1).
8. Burda, N.Y., *et al*., *Analysis of disogenin and phenol compounds in Tribulus terrestris L*. Pharmacia, 2019, 66(2):41-44
9. Taskin,D., *et al*., *The influence of different extraction methods/solvents on composition, biological activities and ADMET predictions of phenolics in Tribulus terrestris*. Biological and applied sciences, 2021, 64.
10. Mubarik,F., *et al*., *Assessing the antioxidant characteristics and polyphenol content of Tribulus terrestris microwave-assisted fruit extract*. Phytopharmacological research journal, 2022, 1(3).
11. Tungmunnithum,D., *et al*., *Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview*. Medicines, 2018, 5(3):93.
12. Abdali-Mashhadi,A-R., *et al*., *The measurement of the quercetin of different parts of Tribulus terrestris by HPLC*. Future natural products, 2016, 2(1-1):21-26.
13. Ivanova,A., *et al*., *HPLC method for screening of steroidal saponins and rutin as biologically active compounds in Tribulus terrestris L*. Biotechnology & Biotechnological equipment, 2010, 24(1):129-133.
14. Sharma,I., *et al*., *In vitro ex vivo approach for anti-urolithiatic potential of bioactive fractions of gokhru with simultaneous HPLC analysis of six major metabolites and their exploration in rat plasma*. Pharm Biol, 2017, 55(1):701-711.
15. Samy,M.N., *et al. A review of non-steroidal phytoconstituents of Tribulus terrestris.* International Journal of Pharmacognosy, 2016, 3(5):212-216.
16. Sarvin,B., *et al*., *Optimization and comparison of different techniques for complete extraction of saponins from T.terrestris*. Jounral of applied research on medicinal and aromatic plant, 2018, 8:75-82.
17. Vaida, V.V., *et al*., *HPTLC fingerprinting for simultaneous quantification of harmine, kaempefrol, diosegenin, and oleic acid in the fruit extract of Tribulus terrestris L. and its formulation*. International journal of pharmaceutical sciences and research, 2018, 60:3066-3074.
18. Stefanescu,R., *et al. A comprehensive review of the phytochemical, pharmacological, and toxicological properties of Tribulus terrestris L.* Biomolecules, 2020, 10(5):752.

19. Tosun, F., *et al*. *Alkaloids of Tribulus terrestris L. growing in Turkey*. Fabad J. Pharm. Sci, 1994, 19:149-51.
20. Tyago,P. & Ranjan,R., *Comparative study of the pharmacological, phytochemical and biotechnological aspects of Tribulus terrestris Linn. And Pedalium murex Linn: An overview*. Acta ecologica sinica, 2021.
21. Tungmunnithum,D., *et al*., *Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview*. Medicines, 2018, 5(3):93
22. Ullah,A., *et al*., *Important flavonoids and their role as a therapeutic agent*. Molecules, 2020, 25(22):5243.
23. Pasha,S.T. & Roshan,S., *Formulation and evaluation of Terbulus terrestris topical gel for wound healing activity*. Annals of R.S.C.B, 2021, 25(4):12=9213-19224.
24. Ansari,J.A., *et al*., *Wound healing potential of methanolic extract of Tribulus terrestris L. fruits.* Journal of drug delivery & therapeutics, 2021, 2(6):71-74.
25. Heredia,D., *et al*., *Importance and relevance of phytochemicals present in Galenia africana*. Scientifica, 2022.
26. Yadav,RNS. & Agarwala,M. *Phytochemical analysis of some medicinal plants*. Journal of Phytology. 2011, 3(12):14.
27. Youssef,A.I. & Mansour,O. A., *Histological-Chemical Comparative Study of Two Species of Inula (I. viscosa & I. graveolens) Distributed in the Syrian Coast*. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies- Health Sciences Series. 2013, 35(1).
28. Sonam,M., *et al*., *Phytochemical screening and TLC profiling of various extracts of Reinwardtia indica*. International journal of pharmacognosy, 2017, 9:523-527.
29. Zohra,S.F., *et al*., *Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow*. Journal of natural product and plant resources, 2012, 2:512-516.
30. Al-Mansoub,M.A., *et al*., *Effect of extraction solvents and plant parts used on the antihyperlipidemic and antioxidant effects of Garcinia atroviridis: a comparative study*. J Sci Food Agric, 2014, 94:1552-1558.
31. Ebraheem,M. & Al Diab,D. *Determination of some components of citrus fruits wastes and monitoring bioactivities of these wastes in experimental animals*. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies-Health Sciences Series. 2023, 45(5):579-94.
32. Roshank,S., *et al*., *Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (Camellia sinensis or C.assamica) leaves*. Journal of food sciences and technology, 2016, 53(1):721-729.
33. Ahmad,A., *et al*. *Study of the anticoagulant activity of Rosa Damascena extract in vitro.* Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies-Health Sciences Series. 2023, 45(3):319-35.
34. Salame,R. & Mahfoud,R., *A chemical study of some active secondary metabolites in Spartium Junecum L*. Tishreen university journal. Health sciences series, 2021, 43(4).
35. Baba,S.A. & Malik,S.A., *Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of Arisaema jacquemontii Blume*. Journal of Taibah university for science, 2015, 9(4).
36. Ibrahim,N.M. & Kadhim,E.J., *Phytochemical investigation and antioxidant activity of Iraqi Tribulus terrestris*. Iraqi J Pharm Sci, 2015, 24(1).

37. Bello,A.A., *Phytochemical detection of active ingredients in the Syrian medicinal plant Tribulus terrestris L. from the family Zygophyllaceae*. Syrian journal of agricultural research SJAR, 2018, 5(4):166-178.
38. Comlekcioglu,N. & Cirak,R., *Comparison of fatty acid composition and antioxidant contents of Tribulus terrestris L. collected from different localities*. Turkish journal of agriculture-food science and technology, 2021, 9(8):1448-1454.
39. Arshad,M., *et al*., *Environmental applications and bio-profiling of Tribulus terrestris: an ecofriendly approach*. Pol. J. Environ. Stud., 2020, 29(4):2981-2986.
40. Dinchev,D., *et al*., *Distribution of steroidal saponins in Tribulus terrestris from different geographical region*. Phytochemistry, 2008, 69(1):176-186.