

Determination of Total Phenol Content and Evaluation of Antioxidant Activity of *Paronychia Argentea* L. Spread in the Syrian Coast and Determination of the Chemical Composition of its Essential Oil

Dr. Issam Al-Shamaa*
Dr. Jumana Al-Saleh**
Manal Ibrahim Darwish***

(Received 10 / 7 / 2020. Accepted 17 / 8 / 2020)

□ ABSTRACT □

Paronychia argentea L. of Caryophylleacea is one of the plants widely used in traditional medicine to cystitis treatment, prostate and diabetes because it is richness in chemical compounds. This research aims to determine the total content of phenols and assess the anti-oxidant capacity of plant spread in the Syrian coast, plant was extracted by maceration in three different solvents separately, anti-oxidant activity was estimated by scavenging free radical DPPH reagent, then the essential oil was extracted from the aerial parts of the plant, and analyzing by GC / MS technique.

The aqueous extract showed the highest content of phenols, while the anti-oxidant ability was higher in the methanolic extract, and GC/ MS analysis recorded a group of compounds of which ten compounds were identified, the main compound was Caryophyllene at a percentage of 28.74%.

Keywords: *Paronychia argentea* L., Total content of phenols, antioxidant ability, essential oil, DPPH reagent, Gas chromatography device connected to mass spectrometer GC / MS.

* Professor - Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Damascus, Syria.

** Associate Professor - Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, University of Damascus, Syria.

*** Postgraduate Student - Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Damascus, Syria.

تحديد المحتوى الكلي من الفينولات وتقييم الفعالية المضادة للتأكسد لنبات زهرة الألماسة. *Paronychia argentea* L. المنتشر في الساحل السوري وتحديد التركيب الكيميائي لزيتة العطري

د. عصام الشماع*

د. جمانة الصالح**

منال ابراهيم درويش***

(تاريخ الإيداع 10 / 7 / 2020. قُبِلَ للنشر في 17 / 8 / 2020)

□ ملخص □

يعد نبات زهرة الألماسة *Paronychia argentea* L. من الفصيلة القرنفلية Caryophyllaceae واحد من النباتات المستخدمة بكثرة في الطب التقليدي لعلاج التهاب المثانة والبروستات وداء السكري لغناه بالمركبات الكيميائية، ويهدف هذا البحث إلى تحديد المحتوى الكلي من الفينولات وتقييم القدرة المضادة للتأكسد لنبات زهرة الألماسة المنتشر في الساحل السوري، حيث جرى استخلاص النبات بطريقة التعطين باستخدام ثلاث محلات مختلفة كل على حدا، وقُدرت الفعالية المضادة للتأكسد من خلال كنس الجذور الحرة لكاشف DPPH ومن ثم جرى استحصال الزيت العطري من الأجزاء الهوائية للنبات، وتحليل العينة بتقنية GC/MS.

أظهر المستخلص المائي المحتوى الأعلى من الفينولات، في حين كانت القدرة المضادة للتأكسد أعلى في المستخلص الميثانولي، وقد أظهر التحليل باستخدام تقانة GC/MS وجود مجموعة من المركبات تم التعرف على عشر مركبات منها، كانت النسبة الأعلى لمركب Caryophyllene بنسبة مئوية 28.74%.

الكلمات المفتاحية: نبات زهرة الألماسة، المحتوى الكلي من الفينولات، القدرة المضادة للتأكسد، الزيت العطري، كاشف DPPH، جهاز الاستشراب الغازي الموصل لمقياس الطيف الكتلي GC/MS.

* أستاذ - قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سورية.

** أستاذ مساعد - قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سورية.

*** طالبة دراسات عليا (دكتوراه) - قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سورية.

مقدمة:

بدأ إنتاج الأدوية والعلاجات الفارماكولوجية للأمراض باستخدام الأعشاب، وقد لاقت الخبرة الشعبية والمعالجة التقليدية لسكان البحر الأبيض المتوسط ودول المشرق العربي رواجاً كبيراً في أوروبا، فتطور العلم وتعمقت الدراسات لتتفي أو تؤكد بعض هذه الاستخدامات الشعبية، تناولت دراستنا نبات زهرة الألماسة *Paronychia argentea* L. من الفصيلة القرنفلية (Caryophylleacea (Illecebraceae)، وهو عشب معمر أو أحياناً حولي، مخملي - زغب إلى شبه أجرد. الساق مستلقٍ إلى صاعد، يصل طوله حتى 50 سم. الأوراق متقابلة، مؤنفة - أسلية القمة. الأزهار صغيرة، تجتمع في رؤيسات قطرها 1 سم أو أكبر. القنابات أطول من الزهرة، بيضوية. فصوص الكأس 5، تنتهي بأسلة أو بسفأة أقصر من الفصوص. المنكر 5 أسدية. المؤنث ثنائي الكرابل، المبيض وحيد الحجيرة. الثمرة قريبة، وحيدة البذرة، غلافها الثمري غشائي. البذور نحو 1 مم (George E. post, M.D, M.A, D.D.S; 1990).

يضم جنس *Paronychia* 109 أنواع متوزعة في أمريكا وآسيا وأوروبا وشمال إفريقيا، التوزع الأكبر لهذا الجنس في المنطقة المتوسطة حوالي 50% من إجمالي النبات (Fernández Ocaña Amante, María Eugenia) (González, Inmaculada, Pastor Díaz, Julio Enrique; 1997)، أما في سورية فينتشر نبات *P. argentea* في المناطق التالية وفق موتيرد: طرطوس، بصرى، كسب، حلب، عفرين، حمص، حماه، جبل قاسيون، حسياء، في حين ينتشر نبات *Paronychia chionaea* في سورية: حلب، كسب، حمص، حماه، جبل الشيخ وعفرين (MOUTERDE, P; 1983).

استخدم نبات الألماسة شعبياً في أمراض المثانة والكلية وكمدر في سورية والجزائر (Moufida Adjadj, Meriem) (Djarmouni; 2018)، ولعلاج آلام المعدة والبطن والقرحة في البرتغال، ومعالجة التهاب المثانة وحصى الكلية وآلام المعدة والبروستات في فلسطين، كما استخدم لعلاج الأكزيما والتهضم في إسبانيا (DeryaGülcemala, MilenaMasullo, ÖzgenAlankuş-Çalışkan, SoniaPiacente; 2014)، وقد أثبتت الدراسات المرجعية تأثير النبات كخافض لسكر الدم لوجود الفلافونويدات عن طريق تثبيط α amylas، كما أثبتت خصائصه الغذائية وتداخله بإيقاف تطور العديد من الأمراض كالسرطان والتهاب المفاصل والزهايمر (S. Sait, S. Hamri-Zeghichi, L. Boulekbache-Makhlouf, K. Madani, P. Rigou, V. Brighenti, F. Pio Al-Bakri, Affifi; 2015)، وتأثيره المضاد للجراثيم antimicrobial (Prencipe, S. Benvenuti, F. Pellati; 2015)، وقدرته على تقليل تشكل الحصيات وإعاقة نمو حصيات اوكسالات الكالسيوم في المثانة وذلك في حيوانات التجربة (2007) (Evelyne Migianu-Griffoni, Aouf Nour-Eddine; 2010)، كما أظهر النبات فعالية منخفضة في تثبيط الكولين استراز AChE activity وقدرة مضادة للتأكسد ضعيفة للزيت العطري والخالصة الكحولية ومغلي الماء (Emmanuel Adewusi, Vanessa Steenkamp; 2011).

يضم نبات زهرة الألماسة العديد من المركبات النباتية كالفلافونويدات التي حُدد أحد عشر مركباً منها، أهمها الكيرستين Quercetin، Jaceosidin وإيزورامنتين (S. Sait, et al.2015) Isorhamnetin واللوتيلين Luteolin، إضافة إلى السابونينات وبعض الحموض الفينولية كحمض الفانيليك vanillic acid (HASAN Y. MUTI and SULEIMAN OLIMAT; 2018).

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لغنى النباتات بالمركبات الفينولية، ودور هذه المركبات الكاسح للجذور الحرة وما لهذه الفعالية من تداخل مع العديد من الأمراض كالزهايمر والتهاب المفاصل والسرطان، هدفت هذه الدراسة إلى تحديد المحتوى الكلي للفينولات في نبات زهرة الألماسة المنتشر في البيئة السورية بشكل بري، وتقييم فعاليته المضادة للتأكسد وتعيين التركيب الكيميائي للزيت العطري المستحصل، ومحتواه من الفينولات وقدرته المضادة للأكسدة. فمضادات الأكسدة الطبيعية تلعب دور كبير في الوقاية والعلاج من العديد من الأمراض إضافة إلى أهمية الزيوت العطرية في المجالات الطبية المختلفة.

طرائق البحث ومواده:

- الأجهزة المستخدمة:

تم استخدام مجموعة من الأجهزة لإنجاز الدراسة: جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic نموذج WUC-D06H، مرشح Filters قياس $0.45\mu\text{M}$ (شركة Whatman)، مبخر دوار (RE3000B) Rotavpor، محرك مغناطيسي طراز Velp scientifica 34532، معدة كلافلنجر Clevenger apparatus مع جهاز تقطير الماء Fine Tech، جهاز الامتصاص في مجال الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-VIS PHYLO Technology، جهاز الاستشراب الغازي المزود بمقياس الطيف الكتلي Gas chromatography -Mass Shimaduz GC-MS QP2010 spectrometer شركة Shimaduz.

- المحاليل والمواد المستخدمة:

جرى استخلاص النبات بمحاليل ذات نقاوة تحليلية عالية من شركة MERK وهي الميثانول Methanol والكلورفورم Chloroform والهكسان Hexane. واستخدمت كواشف من شركة Sigma وهي: حمض التانيك Galic acid، وكاشف الفولين سيوكالتو Folin-Ciocalteu Reagent، وكاشف 2,2-ثنائي فينيل -1- بيكريل هيدرازيل DPPH وعتاري حمض الأسكوربيك Vit C وعتاري بوتيل هيدروكسي تولوين BHT.

- جمع العينات:

جرى جمع عينات من نبات زهرة الألماسة من الساحل السوري منطقة ريف طرطوس (قرية بيت يوسف) وتصنيفها لدى الأستاذ الدكتور عماد القاضي، الأستاذ في كلية العلوم، جامعة دمشق للتأكد من جنس ونوع النبات. ثم جرى جمع كميات من النبات والبدء بعملية فصل الأقسام المستخدمة (الأزهار لنبات زهرة الألماسة)، جففت بعدها لعدة أيام بدرجة حرارة الغرفة حتى جفت تماماً، ثم طحنت العينات وحفظت بأوعية مناسبة بعيداً عن الرطوبة.

- طرق العمل:

1- الاستخلاص بطريقة التعطين

تم تحضير ثلاثة مستخلصات من النبات (40g من مسحوق القسم المستخدم للنبات با 400ml محل) باستخدام كل من الميثانول والكلورفورم والماء المقطر ومن ثم جرى تبخير المحل المستخدم بالمبخر الدوار بدرجة 30°C وضغط 50 bar للميثانول والكلورفورم، وحرارة 35°C وضغط 70 bar للماء بعدها حُفظت العينات في أنابيب عقيمة بدرجة حرارة 4°C .

2- استخلاص الزيت العطري للنبات وتحليله

تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي hydro distillation باستخدام معدة كليفنجر - Clevenger type apparatus، حيث تم وزن 250g من الأجزاء النباتية المطحونة والمجففة، وأضيف إليها الماء المقطر بكمية كافية حتى غمر الأجزاء النباتية، استمر الاستخلاص لمدة ثلاث ساعات متواصلة بدءاً من لحظة الغليان، بعد التبريد جمع الزيت العطري وأضيف إليه 1ml من n-hexane وتم تجفيفه باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء الموجود مع الزيت، ثم جمع الزيت بعد المزج الجيد والفصل بالإبانة، نُقِلت العينة إلى عبوة مناسبة وحفظت في البراد بدرجة الحرارة 20°C - لحين التحليل بجهاز الاستشراب الغازي المزود بمقياس الطيف الكتلي GC/MS (USP, 2004)، وحُسب المردود على أساس الوزن الجاف. كُررت العملية ثلاث مرات للتأكد من مردود الزيت والحصول على كمية كافية من الزيت العطري لزوم عمليات الكشف والتحليل.

حدد التركيب الكيميائي للزيت العطري للنبات بتقانة الاستشراب الغازي الموصول بمقياس الطيف الكتلي GC-MS، في مخابر هيئة الطاقة الذرية- دمشق بحل $100\mu\text{l}$ زيت عطري في 5ml هكسان، باستخدام جهاز GC/MS طراز GC17A/QP5050 (شركة Shimaduz) المزود بمطيافية الكتلة يعمل بنظام التأين بطاقة 70eV ودرجة حرارة الحاقن 230°C ، درجة حرارة الكاشف 280°C ، وأستخدم عمود شعري من (DB-1 fused Silica) المادة المألوفة dimethylpolysiloxane مادة لاقطبية بأبعاد $(60\text{m}\times 0.25\text{mm}\text{id}\times 0.25\mu\text{m})$ وغاز حامل الهيليوم، بسرعة تدفق 1ml، بدأ البرنامج الحراري بدرجة 50°C لمدة 3min ثم ازدادت الحرارة بمقدار 5°C كل دقيقة حتى الدرجة 250°C وذلك لمدة ست دقائق. جرى تسجيل أطياف الكتلة للمركبات المفصولة m/z 30-550، فُورنت أطياف الكتلة للمركبات المفصولة من الزيت العطري مع المكتبة الطيفية للجهاز Wiley 99 وNIST69 وNIST10.

3- تعيين الفعالية المضادة للتأكسد

• مقايضة المحتوى الكلي للفينولات Total phenolic content assay:

مبدأ الطريقة: تعتمد هذه الطريقة على ارجاع كاشف فولين-سيكالتو وهو عبارة عن مزيج من حمض فوسفو تنغستن ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) وحمض فوسفوموليبيدك ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) إلى مركبات أكسيد الموليبدن (MO_8O_{23}) وأكسيد التنغستن (W_8O_{23}) زرقاء اللون، وذلك من خلال أكسدة الفينولات في وسط قلوي من كربونات الصوديوم، وتعكس شدة اللون الأزرق المحتوى الكلي للفينولات والتي يعبر عنها كمكافئات لحمض التانيك وذلك عند طول موجة 760nm (Singleton L, Orther R. and Lamuela-Ravents R, 1999).

حُضرت محاليل المستخلصات النباتية للألاماسة (ميثانولية - كلوروفورمية - مائية) بتركيز 1mg/ml، بدءاً من المستخلصات الجافة، كما حُضرت عينة من الزيت العطري، أُخذ $50\mu\text{l}$ من كل تركيز محضر وأضيف $450\mu\text{l}$ ماء مقطر و $250\mu\text{l}$ من كاشف فولين (5ml من كاشف فولين وُضعت في بالون معايرة سعة 100ml وأُكملت حتى علامة السعة بالماء المقطر) و 1,25ml من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) مزجت جيداً وجرى الانتظار 90 دقيقة ثم قيست الامتصاصية عند طول الموجة 760nm.

عينت الفينولات الكلية بدلالة منحنى معياري خطي لحمض التانيك بعدة تراكيز من 100ppm-600ppm وقدرت النتائج بمكروغرامات مكافئات حمض التانيك لـ 1g من المستخلص Helena Abramovic, Blaz Grobin, Natas (a Poklar Ulrich and Blaz Cigic, 2018).

• تعيين القدرة المضادة للأوكسدة

يعتقد بأن آلية عمل مضادات الأوكسدة تعود لقدرتها في إيقاف عمليات الأوكسدة والجذور الحرة المرتبطة بآلية الأمراض المزمنة. تم حساب نسبة التثبيط 1% من العلاقة التالية:

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

A_{blank} = امتصاصية الناصع A_{sample} = امتصاصية الأنبوب الحاوي على العينة

جرى تقييم القدرة على تثبيط الجذور الحرة عبر معيارين (Md. Nur Alam; Nusrat Jahan Bristi;) (Md.Rafiquzzanman, 2013):

✓ الأول هو المعامل IC_{50} يمثل تركيز المستخلص الذي يحقق تثبيط للجذور الحرة بنسبة 50%، ويتم حسابة بيانياً من المخطط البياني لسلسلة تراكيز المستخلص.

✓ الثاني هو معيار القدرة على تثبيط الأوكسدة Antioxidant activity index AAI ويحسب من العلاقة:

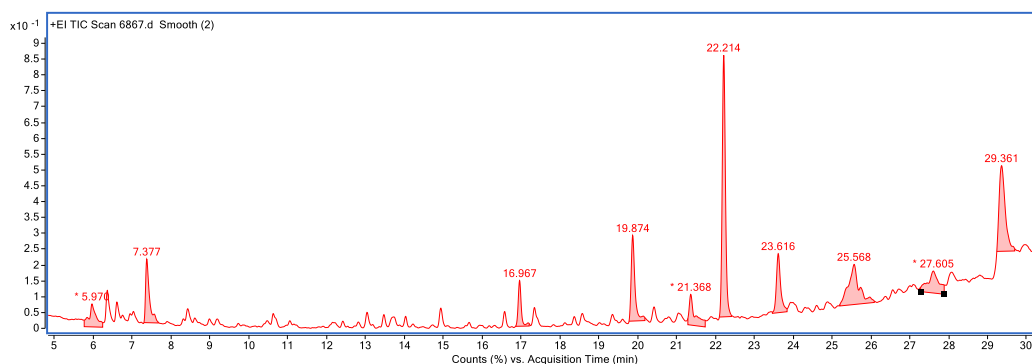
$$AAI = \text{Final concentration of DPPH} / IC_{50}$$

حُضرت العينات بإضافة 2ml من كل تركيز ($\mu\text{g/ml}$) (480-240-120-6-30-15-7.5-3.75-1.875-) للمستخلصات النباتية المحضرة مسبقاً بثلاث محلات مختلفة كُمل على حدا (ميثانول-كلوروفورم-ماء) ومن الزيت العطري بدءاً من محلول أم بتركيز $960 \mu\text{g/ml}$ علماً أن التمديد كان بالميثانول، بعد ذلك جرى إضافة 0.5ml من الكاشف DPPH (0.1mM)، والانتظار لمدة 30 دقيقة في الظلام بدرجة حراره الغرفة. قيس الامتصاصية عند طول الموجة 517 nm، حيث لُحظ تناقص شدة اللون البنفسجي طرداً مع ازدياد الفعالية المضادة للأوكسدة، عُرضت النتائج بالمقارنة مع سلسلة لحمض الأسكوربيك (Vit C) بنفس التركيز وذلك بالنسبة للمستخلصات النباتية ومقارنة مع بوتيل هيدروكسي تولوين BHT وذلك بالنسبة للزيت العطري (Mahmoud A. Al-Qudaha, Ayman M. Salehb, Naif L. Alhawsawib, Hala I. Al-Jaberc, Syed A. Rizvid and Fatma U. Afifie, 2017).

النتائج والمناقشة:

- نتائج استحصال الزيت العطري وتحليله الكيميائي

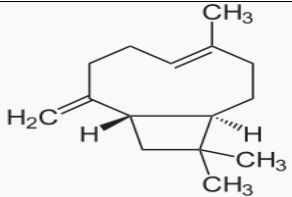
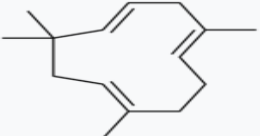
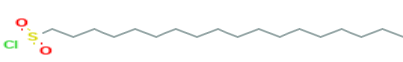
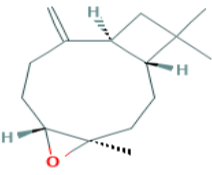
أعطى استحصال نبات زهرة الألاماسة بالتقطير المائي زيت شفاف كثافته 0.814 ومردوده 0.076%، وأظهرت نتائج تحليل GC/MS (الشكل.1) للزيت وجود مجموعة من المركبات تم التعرف على عشرة منها شكلت 98.47% من الزيت، انظر الجدول رقم (1)، كما سجلت النتائج نسب تواجد أعلى لمركبات Caryophyllene 28.74% و Caryophylleneoxide 26.96% و Eugenol 10.09%. لدى حساب نسبة مكونات الزيت العطري حسب طبيعتها الكيميائية كانت المركبات التربينية الأعلى نسبة في حين لم يتم تعيين وجود حموض أو استرات انظر الجدول رقم (2).



الشكل رقم (1): المخطط الاستشرابي للزيت العطري لنبات زهرة الألاماسة بتقنية GC/MS

الجدول رقم (1): المركبات الكيميائية المحددة في الزيت العطري لنبات زهرة الألاماسة *P. argentea* بتقنية GC/MS

الصيغة الكيميائية	Retention time RT زمن الاحتفاظ	النسبة المئوية للمركب	اسم المركب	المسلسل
	5.97	2.11	Trans-Sabinene hydrate (C10H18O)	1
	7.377	2.91	3-Hexyl hydroperoxide (C6H14O2)	2
	16.967	8.1	(-)-β-Pinene (C10H16)	3
	21.368	4.26	Anethole (C10H12O)	4
	21.368	10.09	Eugenol (C10H12O)	5
	22.214	2.41	Tetradecane (C14H30)	6

	23.616	28.74	Caryophyllene (C15H24)	7
	25.568	7.34	Humulene (C15H24)	8
	27.605	7.08	1-Octadecanesulphonyl chloride (C18H37ClO2S)	9
	36129.	26.96	Caryophyllene oxide (C15H24O)	10
	.4789		Total content	

الجدول رقم (2): يوضح نسب المركبات الكيميائية في الزيت العطري لنبات زهرة الألامسة حسب طبيعتها الكيميائية ومقارنتها مع الدراسة المرجعية

تربينات أكسجينية	تربينات	مشتقات فينيل بروبان	الاسترات	الحموض	
39.06%	46.68%	14.35%	-	-	نتائج الدراسة
13.17%	8.35%	-	27.93%	39.56%	الدراسة المرجعية

بالمقارنة مع الدراسات المرجعية وجدت دراسة وحيدة للباحث (Mohammad Waleed Mohammad Sadaka, 2018) أنجزت بعد تسجيل دراستنا بعامين، مع اختلاف مكان الجني في الدراسة المرجعية (حساء-حمص)، في حين اعتمدنا في دراستنا منطقة ريف طرطوس.

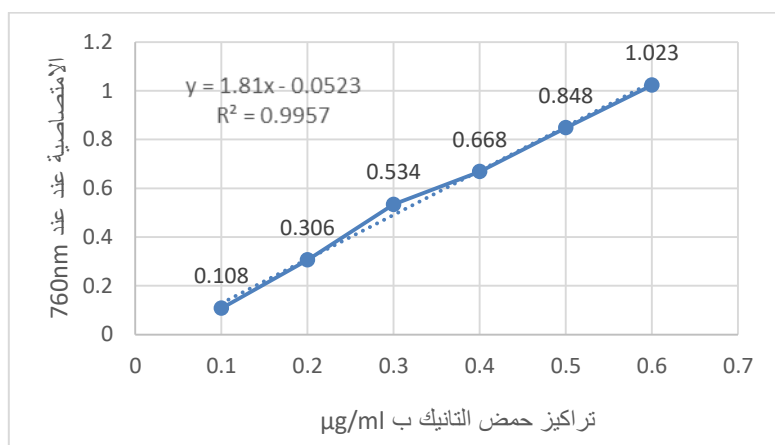
أظهرت نتائج الدراسة المرجعية 50 مركب في الزيت العطري بمرود 0.11% النسبة الأعلى كانت لـ Carvacrol 11.45% يليه مركب n-Hexadecanoic acid بنسبة 11.45%، ومن حيث التركيب كانت نسبة الحموض الكربوكسيلية والاسترات هي الأعلى في الزيت، في حين كان مرود الزيت في دراستنا أقل وتم الكشف عن عشرة مكونات للزيت كانت تشكل معظم تركيب الزيت، النسبة الأعلى لمركبي Caryophyllene 28.74% و Caryophylleneoxide 26.96% إضافة عدم تسجيل وجود حموض أو استرات في عينة الزيت في دراستنا في حين كان المحتوى الأعلى للمركبات التربينية.

يعزى هذا الاختلاف في التركيب الكيميائي إلى اختلاف البيئة من حيث التربة والارتفاع واختلاف شروط المناخ (حرارة-رطوبة) وذلك باختلاف منطقة الجني وزمن الجني.

- نتائج القدرة المضادة للتأكسد:

1-مقايسة المحتوى الكلي للفينولات

جرت معايرة الفينولات بطريقة كاشف Folin cuocalteadu phenol's reagent باستخدام حمض التانيك كعيارى، وجرى حساب المحتوى الإجمالى للفينولات في كل من الخلاصات الميثانولية والمائية والكلوروفورمية والزيت العطري للنبات (بهدف مقارنة محتوى الزيت من الفينولات مع باقى خلاصات النبات بنفس الطريقة وتأكيداً لنتائج تحليل GC-MS) اعتماداً على امتصاصيتها وتقدير كمية الفينولات الكلية كمكافئ ميكروغرامى لحمض التانيك (TAE) Acid Equivalents في كل غرام مادة جافة، بالاعتماد على معادلة الخط البياني بين كمية حمض التانيك وشدة الامتصاص على طول موجة 760nm (الشكل 2)، علماً أن التجربة أُعيدت ثلاث مرات وأخذ المتوسط الحسابي للقيم.



الشكل رقم (2): المخطط البياني لامتصاصية السلسلة العيارية لحمض التانيك

من خلال معادلة المنحني تم حساب تركيز حمض التانيك المكافئ لامتصاصية كل مستخلص:

$$Y=1.81X-0.0523$$

x: تركيز حمض التانيك Y: الامتصاصية

وبتطبيق المعادلة يتم حساب الكمية المكافئة من حمض التانيك مقدرة ب µg لكل g من المستخلص الجاف:

$$T = C \times \frac{V}{m}$$

وبالتالي يكون المحتوى الكلي للفينولات TPC في كل مستخلص نباتي كما هو موضح في الجدول رقم (3).

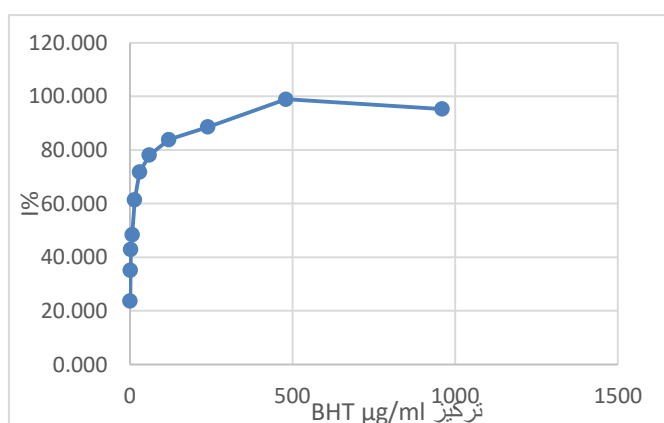
الجدول رقم (3): يوضح كمية الفينولات الكلية لكل مستخلص نباتي

TPC µg/g	الخلاصة
146±0.627	زهرة الألامسة تعطين ميثانول
70.8±0.304	زهرة الألامسة تعطين كلوروفورم
187.6±0.806	زهرة الألامسة تعطين ماء
29.4±0.126	زهرة الألامسة زيت أساسي

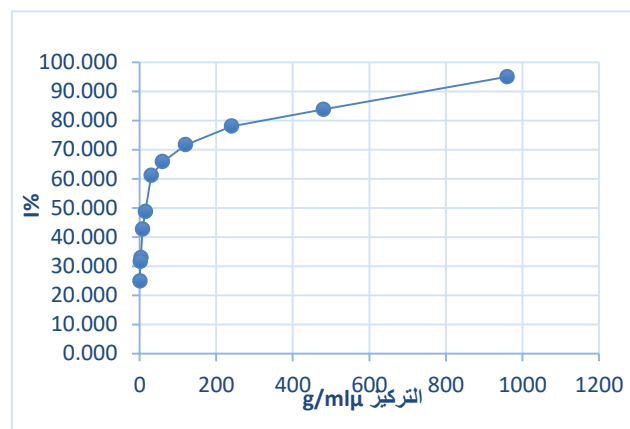
أظهرت النتائج بأن المحتوى من الفينولات كان أعلى في المستخلص المائي < الميثانولي < الكلوروفورمي < الزيت العطري، في حين أظهرت الدراسات المرجعية بأن المحتوى من الفينولات في المستخلص الايتانولي المائي كان الأعلى (S. Sait, S. Hamri-Zeghichi, L. Boulekbache-Makhlouf, K. Madani, P. Rigou, V. Brighenti, F. Pio Prencipe, S. Benvenuti, F. Pellati, 2015) كما سجلت دراسة أخرى خلو المستخلص المائي للنبات من الفينولات (C. Henchiri, Evelyne Migianu-Griffoni and S. Bouanani) (Aouf Nour-Eddine, 2010)، في حين كان محتوى المستخلص المائي من الفينولات في دراستنا الحالية عالٍ $187.5 \mu\text{g/g}$ ، وكانت هذه الدراسة الأولى في تحديد المحتوى الفينولي للزيت العطري.

2- نتائج القدرة المضادة للتأكسد:

جرى حساب النسب المئوية لتعديل الجذور الحرة لمركب DPPH لسلاسل التراكيز لكل خلاصة، ومقارنتها مع السلسلة العيارية للشاهد الايجابي وهو مركب VIT C (الشكل.3) للمستخلصات النباتية، ومركب BHT (الشكل.4) للزيت العطري ومن ثم جرى رسم مخطط بياني للتراكيز ونسبة التعديل لكل سلسلة . من خلال المخططات البيانية جرى تحديد قيم IC_{50} لكل مستخلص من المستخلصات المدروسة ومن خلال هذه القيم تم حساب قيم AAI لهذه المستخلصات وبالتالي تحديد القدرة المضادة للأكسدة لكل مستخلص كما هو موضح في الجدول رقم(4) والجدول رقم (5).



الشكل رقم (4): المخطط البياني لامتصاصية السلسلة العيارية BHT



الشكل رقم (3): المخطط البياني لامتصاصية السلسلة العيارية Vit.C

الجدول رقم (4): يوضح نسب تثبيط الجذور الحرة وفق للتركيز لكل مستخلص نباتي

التركيز µg/ml											العينة
960	480	240	120	60	30	15	7.5	3.75	1,785	0.937	
94.815	94.883	88.460	48.512	28.407	22.089	13.838	10.705	9.295	10.653	7.990	ميثانول
49.869	13.577	9.504	8.668	8.668	7.050	6.475	6.162	6.057	5.117	2.872	كلوروفورم
24.386	6.319	3.95	3.29	1.984	0.679	0.627	3.0.157	0.052	0.052	-	ماء
41.253	31.488	18.381	12.689	10.601	8.877	7.520	7.050	6.475	4.752	3.499	زيت عطري
94.987	83.812	78.016	71.645	65.849	61.097	48.773	42.663	32.95	31.645	24.856	حمض الأسكوربيك
95.3	92.742	88.864	78.12	71.749	61.41	48.355	42.872	42.872	35.196	23.708	BHT

الجدول رقم (5): يوضح قيم IC₅₀ لكل مستخلص نباتي، وقيم AAI

AAI	IC ₅₀ µg/ml	الخلاصة
2.6	15.553±0.67	حمض الأسكوربيك
5.9	6.723±0.18	BHT
0.6	63.573±3.12	زهرة الألماسة تعطين ميثانول
0.041	960±10.752	زهرة الألماسة تعطين كلوروفورم
لم تحدد	لم تحدد	زهرة الألماسة تعطين ماء
لم تحدد	لم تحدد	زهرة الألماسة زيت أساسي

أظهرت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية الثلاثة والزيت العطري، بأنها تزداد بازدياد التركيز، ويعزى ذلك إلى ازدياد تركيز المركبات الفينولية، ولدى تحديد قيم التركيز الكاسح بنسبة 50% تبين أن القدرة المضادة للتأكسد أعلى عند المستخلص الميثانولي، في حين أبدى المستخلص المائي والزيت العطري قدرة مضادة للتأكسد ولكنها لم تصل إلى 50% ضمن تراكيز السلسلة، علماً أن دراستنا على الزيت العطري كانت الأولى من حيث تحديد فعاليته المضادة للتأكسد، وقد سجلت الدراسة الاحصائية وجود فارق ذو دلالة احصائية بين القدرة المضادة للتأكسد للمستخلصات النباتية باختلاف المحل، بالمقارنة مع العياري Vit.C و BHT نظراً لقدرتهما الكاسحة للجذور الحرة عند مستوى معنوية (0.05).

بالمقارنة مع المرجعيات تفوقت دراستنا على مثيلاتها مع اختلاف المحل وطريقة الاستخلاص باستثناء خلاصة الألماسة المحضرة بالماء بطريقة الطبخ فسجلت IC₅₀=27.38 µg/ml (S. Sait, 2015).

الاستنتاجات والتوصيات:

تشير نتائج هذه الدراسة على احتواء نبات زهرة الألماسة في سورية زيت عطري لا لون له بمرود ضعيف نسبياً، ويتكون بشكل رئيسي Caryophyllene و Caryophyllene oxide، وقد أظهر محتوى فينولي وفعالية مضادة للتأكسد ضعيفة، في حين سجلت مستخلصات النبات محتوى من الفينولات كان أعلاها في المستخلص المائي، وقدرة مضادة للتأكسد ازدادت مع ازدياد التركيز.

نوصي بإجراء دراسات كيميائية لتحديد طبيعة المركبات الفينولية باستخدام تقنيات HPLC و LC/MS وتقييم فعالية هذه المستخلصات الحيوية في الزجاج.

References:

- [1] George E. post, M.D, M.A, D.D.S. *Flora Of Syria, Plasetine, And Sinai From the Tourusto Ramuhummedand From Mediteranean Sea To The Syrian Desert*. The American press Beirut, Syria, Vol. (1) 1990, 160-162.
- [2] MOUTERDE, P. *Nouvelle Flore du Liban et de la Syrie*, Dar el-Machreq, Beirut, Vol(I) 1983, 455-457.
- [3] Moufida Adjadj, Meriem Djarmouni. Fruit and seed morphology in "Paronychia" Miller from *South-west Spain* Vol. (19) No.(1-2) 1997,521-528.
- [4] DeryaGülcemala, MilenaMasullo, ÖzgenAlankuş-Çalışkan, SoniaPiacente. *Oleanane type glycosides from Paronychia anatolica subsp.* Journal of Balansae, Vol. (9) No. (3) 2014, 274-279.
- [5] S. Sait, S. Hamri-Zeghichi, L. Boulekbache-Makhlouf, K. Madani, P. Rigou, V. Brighenti, F. Pio Prencipe, S. Benvenut, i F. Pellati. *HPLC-UV/DAD and ESI-MS (n) Analysis of Flavonoids and Antioxidant Activity of an Algerian Medicinal Plant: Paronychia Argentea Lam.* Journal of Pharm Biomed Anal, Vol. (111), 2015, 231-40.
- [6] Amal G Al-Bakri, Fatma U Afifi. *Evaluation of Antimicrobial Activity of Selected Plant Extracts by Rapid XTT Colorimetry and Bacterial Enumeration.* Journal of Microbiol Methods, Vol. (68) No.(1), 2007, 19-25.
- [7] HASAN Y, MUTI and SULEIMAN OLIMAT. *HPLC Method of Analysis for Determination and Standardization of Luteolin and Vanillic acid in Dry Extract of Paronychia argentea Lam.* Journal of ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY, Vol. (34) No.(6), 2018, 2721-2727.
- [8] *European pharmacopoeia. Europe Department for Quality of Medicines of the Council of Europe. Fifth ed.* 2004.
- [9] Singleton L, Orther R. and Lamuela-Ravents R. *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.* Journal of Methods in enzymology, Vol.(299). 1999,152-178.
- [10] Helena Abramovic, Blaz Grobin, Natas a Poklar Ulrich and Blaz Cigic. *Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin–Ciocalteu.* Journal of Chemistry, Vol.(18) NO.(9), 2018, 1-16.
- [11] Md. Nur Alam; Nusrat Jahan Bristi; Md.Rafiquzzanman. *Review on invivo and invitro methods evaluation of antioxidant activity.* Saudi Pharmaceutical Journal, Vol. (21), 2013, 145-146.
- [12] Mahmoud A. Al-Qudaha, Ayman M. Salehb, Naif L. Alhawsawib, Hala I. Al-Jaberc, Syed A. Rizvid and Fatma U. Afifie. *Composition, Antioxidant and Anticancer activities of the Essential Oil from Fresh and Air-Dried Aerial Parts of Pallenis spinosa.* Journal of Chemistry & Biodiversity, Vol.(14)NO.(8),2017, 561-562.

- [13] Mohammad Waleed Mohammad Sadaka. *Chemical Composition of the Essential Oil of Paronychia argentea Lam. from Syria*. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (40) No. (4), 2018, 159-168.
- [14] S. Sait, S. Hamri-Zeghichi, L. Boulekbache-Makhlouf, K. Madani, P. Rigou, V. Brighenti, F. Pio Prencipe, S. Benvenuti, F. Pellati. *HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: Paronychia argentea Lam.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Vol.(15) No.(5), 2015, 1-37.
- [15] S. Bouanani, C. Henchiri, Evelyne Migianu-Griffoni and Aouf Nour-Eddine. *Pharmacological and toxicological effects of Paronychia argentea in experimental calcium oxalate nephrolithiasis in rats*. Journal of ethnopharmacology, Vol. (129) No.(1), 2010, 38-45.