الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات الزيتية لنبات السذاب الحلبي البري

د. محمد حسان الكردي*

د. أحمد قره علي**

بشرى أحمد علي***

(تاريخ الإيداع 31 / 8 / 2020. قُبِل للنشر في 28 / 3 /2021)

□ ملخّص □

تم جمع عينات أوراق لنبات السذاب الحلبي البري من منطقة صليب التركمان في اللاذقية وتم استخلاص الزيت الأساس باستخدام جهاز كليفنجر. تم تحضير الخلاصة الميتانولية للسذاب باستخدام جهاز سوكسيليه. جرى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساس على بعض أنواع البكتيريا الممرضة التي تم الحصول عليها من مشفى تشرين الجامعي، حيث تم اختيار بكتيريا إيجابية الغرام وبكتيريا سالبة الغرام. أظهرت النتائج أن حساسية الزيت الأساس مرتفع جداً تجاه البكتيريا Klebsiella وحساس جداً تجاه كل من البكتيريا S. aureus وP. aeruginosa كما بينت النتائج وجود حساسية جيدة للخلاصة الزيتية تجاه البكتيريا E. coli.

تم دراسة النشاط المضاد للأكسدة المثبط للجذور الحرة لمركب DPPH وذلك لكل من الزيت الأساس والخلاصة الميتانولية ومقارنتهما للحصول على المستخلص الأفضل الحاوي على مضادات الأكسدة وحساب قيمة الـ IC_{50} لكل منهما. بينت النتائج أن الخلاصة الميتانولية (IC_{50} =0.096 mg/ml) تحوي على مضادات أكسدة أكثر فعالية من الزيت الأساس (IC_{50} = 0.071 mg/ml).

الكلمات المفتاحية: السذاب الحلبي، مضادات الأكسدة، مضادات بكتيريا، DPPH، الزيت الأساس.

* أستاذ، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

**أستاذ ، قسم الكيمياء البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

***طالبة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil of Wild Ruta Chalepensis

Dr. Muhammad Hassan Al-Kurdi*
Dr. Ahmad Kara Ali**
Boushra Ahmad Ali***

(Received 31 / 8 / 2020. Accepted 28 / 3 /2021)

□ ABSTRACT □

Leaves of wild *Ruta chalpensis* were collected from Salib al-Turkman in Lattakia. Essential oil of dried leaves was isolated using Clevenger; Methanolic extract was prepared using Soxhlet extractor. The antibacterial activity of extracted essential oil was tested against Gram-positive bacteria such as Staphylococcus aureus and Gram-negative bacteria such as Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa , and Klebsiella. Essential oil showed a very high sensitivity against Klebsiella, a high sensitivity against S. aureus and P. aeruginosa, and a good sensitive against E.coli**.**

Antioxidant activity of methanolic extract and essential oil of *Ruta chalepensis* was characterized using 1, 1,-diphenyl-2- picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. The IC50 was (0.091 mg/ml) for methanolic extract and (0.071 mg/ml) for essential oil, this means that the methanolic extract has more antioxidant than essential oil.

Keywords: Ruta chalepensis, Antioxidant, Antibacterial, DPPH, Essential oil.

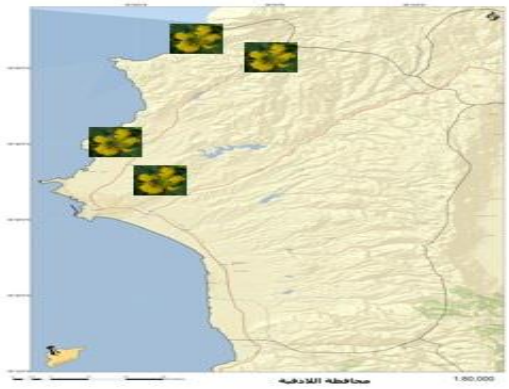
*Professor, Faculty of Science Chemistry, Damascus University, Damascus, Syria.
**Professor, High Institute of Marine Research, Marine Chemistry Department, Tishreen University, Lattakia, Syria.(ahmadkaraali@gmail.com)
***PhD. Student, Faculty of Science, Damascus University, Damascus, Syria. (boushra-ali@hotmail.com)

مقدمة:

ينتمي نبات السذاب الحلبي إلى الفصيلة السذابية Rutaceae الشكل (1) ويأتي اسم هذا النبات من الأصل اللاتيني للكلمة والتي تشير إلى الطعم المر اللاذع، ينتشر هذا النبات في بلدان حوض البحر المتوسط.

يوجد ثلاثة أنواع من السذاب وهي السذاب الحلبي Ruta chalepensis والسذاب ذو الرائحة Ruta graveolen والسذاب الجبلي Ruta montana. لكن وبحسب مجموعة فلورا للنباتات السورية واللبنانية لم يشر الا لوجود السذاب الحلبي في سوريا الشكل (2) [1]، يمتاز هذا النبات بوجود الزيوت في أوراقه وأزهاره ويبدأ بالإزهار في آذار وأيار [2].

الشكل 1: نبات السذاب الحلبي



الشكل 2: أماكن انتشار نبات السذاب الحلبي في الساحل السوري

يستخدم هذا النبات كمضاد تشنج ويلعب دوراً مسكناً وخافضاً للحرارة ومهدئاً لآلام الروماتيزم والاضطرابات النفسية. كما ويستخدم المستخلص الناتج من الأوراق الساخنة كعلاج خارجي لآلام الأذن [3]، [4]، [5].

تم في السنوات الأخيرة دراسة التركيب الكيميائي للزيوت الأساس المستخلصة من نبات السذاب وفي بلدان عديدة مثل إيران [6] وتركيا [7] وتونس [13]–[8] والجزائر [16]–[14] والهند [17] وفرنسا [18] وإيطاليا [16] ..... الخ.

بين التحليل الكيميائي للزيت الأساس لنبات السذاب في أغلب تلك الدراسات احتواءه على نسبة عالية من المركب 2-أنديكانون الذي يتصف بقدرة عالية على طرد الحشرات. تختلف هذه النسبة من بلد لأخر تبعاً لتغير المناخ، كما أجمعت تلك الدراسات على أن الخلاصات العضوية لهذا النبات غنية بتركيبها الكيميائي، حيث تحتوي على القلويدات، والفوروكومارينات والكومارينات والفلافونيدات والفنولات والحموض الأمينية والعفص.... الخ) [19]، [20]، [11].

تؤكد دراسة جرت في الهند على وجود نشاطاً مضاداً للبكتيريا للمستخلص الميثانولي لنبات السذاب الحلبي وذلك ضد البكتيريا سالبة الغرام مثل Klebsilla pneumonia و .Escherichia , Salmonella typhi بالإضافة لنشاطها ضد البكتيريا موجبة الغرام مثل المكورات العنقودية Staphylococcus aureus و Bacillus subtillis كما تم في الدراسة السابقة دراسة التأثير المضاد للأكسدة لذلك المستخلص باستخدام الجذر الحر DPPH (1,1 ثنائي فنيل -2-بيكريل هيدرازيل) حيث كانت قيمة EC_{50} للمستخلص الميتانولي هي 9µg/ml.

أيضاً تم تحديد النشاط المضاد لسرطان الثدي للمستخلص الميتانولي لنبات السذاب وذلك باستخدام فحص الـ MTT (3-(4, 5-dimethythiazol-2-yl)- 2,5- diphenyl tetrazolium bromide)ضد خلايا سرطان الثدي MCF7 (Michigan Cancer Foundation-7) حيث أبدى المستخلص نشاطاً معتدلاً ضد تلك الخلايا وكانت قيمة IC50 85µg/ml [21].

في دراسة أخرى حول التحقق من النشاط المضاد للبكتيريا تم فيها اختبار فعالية ثلاث خلاصات لنبات السذاب الحلبي (إثانول، أسيتون، ماء) على بكتيريا موجبة الغرام (Staphylococcus aureus) وبكتيريا سالبة الغرام (Escherichia coli) وذلك باستخدام طريقة الانتشار على أطباق الأغار (وهي عبارة عن علب بتري تحوي على وسط مغذي للبكتريا يسخدم لزراعة الميكروبات أو الجراثيم داخله)، تم قياس نصف قطر منطقة التثبيط بالمليمتر حيث نتج تثبيط جيد (>5 مم) ناتج عن النشاط البيولوجي المضاد للبكتيريا الفعال للمركبات النشطة بيولوجياً في كل من المستخلصات النباتية المذكورة [22].

في دراسة أخرى جرت عام 2019 في كولومبيا حول التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساس المستخلص من نبات السذاب الحلبي على البكتيريا الممرضة Staphylococcus aureus و Escherichia coli و Pseudomonas aeruginosa وذلك بطريقة الانتشار على أطباق الآغار الذي يعطي أقل تركيز من المستخلص القادر على تثبيط انتشار البكتيريا، حيث تبين من خلال هذه الدراسة أن الزيت الأساس لنبات السذاب بتركيز 500mg/ml قادرة على تثبيط انتشار كل من E. coli و P. Aeruginosa وبتركيز 1000mg/ml قادرة على تثبيط انتشار S. aureus [23].

كما جرت دراسة على التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساس لنبات السذاب الحلبي الجزائري على أنواع البكتيريا المبينة في الجدول(1).

جدول 1: التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساس لنبات السذاب الجزائري البري

البكتيريا	**الحساسية**
S. aureus	++
B. subtilis	++
E. coli	++
P. aeruginosa	++

حيث تشير (++) إلى الحساسية العالية للزيت الأساس تجاه البكتيريا حيث يتراوح نصف قطر هالة التثبيط (19-15) mm [24].

أهمية البحث وأهدافه:

1- دراسة التأثير المضاد للبكتيريا للزيت الأساس لنبات السذاب الحلبي البري على البكتيريا إيجابية الغرام مثل Staphylococcus aureus و البكتيريا سالبة الغرام مثل Escherichia coli و Pseudomonas aeruginosa و klebsiella.

2- دراسة التأثير المضاد للأكسدة لتثبيط الجذور الحرة لمركب .DPPH لكل من الزيت الأساس والمستخلص الميتانولي لنبات السذاب الحلبي والمقارنة فيما بينهما وحساب قيمة تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذور الـDPPH (Inhibitory Concentration (IC_{50})).

طرائق البحث ومواده:

منطقة الاعتيان:

تم اختيار منطقة صليب التركمان (35° 41' 12.7"N 35° 48' 28.4"E) في ريف اللاذقية التي ترتفع عن سطح البحر (90m) وذلك لجمع عينات من الأجزاء الهوائية لنبات السذاب الحلبي.

الأجهزة المستخدمة:

جهاز المطياف الضوئي (UV/Vis spectrophotometer)، ميزان الكتروني حساس، حاضنة (Incubatur)، جهاز المبخر الدوَّار (Rotary evborator)، جهاز سوكسيليه Soxhlet extractor، جهاز كليفنجر Clevenger apparatus جميع الأجهزة المستخدمة من شركة Electrothermal الألمانية.

المواد المستخدمة:

DPPH (1, 1 – ثنائي فنيل –2– بكريل الهدرازيل) (1, 1– diphenyl –2– picrylhydrazyl)ميتانول عالي النقاوة (grad HPLC)، حمض الإسكوربيك، كربونات الصوديوم اللامائية، DMSO دي متيل سلفوكسيد جميع تلك المواد من شركة (Sigma – Aldrich)

معالجة العينات: تم جمع عينات للأجزاء الهوائية لنبات السذاب الحلبي البري من منطقة الصليب. غسلت العينات بالماء ثم جففت تلك العينات في الظل لمدة 14 يوم بدرجة حرارة الغرفة الشكل (3) وحفظت العينات في أكياس ورقية لحين استخلاص الزيوت الأساس.

الشكل 3 تجفيف الأوراق لنبات السذاب

العمل المخبري:

1- تعيين محتوى الرطوبة:

وزنت 10g من نبات السذاب بدقة ووضعت على زجاجة ساعة في مجفف عند درجة الحرارة 105 C° حتى ثبات الوزن [25]، وحسبت الرطوبة وفق القانون:

$$\text{الرطوبة} = [(A - A_1)/A] * 100$$

A: وزن العينة قبل التجفيف مقدرة بالغرام.

A_1: وزن العينة بعد التجفيف مقدرة بالغرام.

2- استخلاص المادة النباتية:

- **التقطير باستخدام جهاز كليفنجر:** بعد طحن عينات أوراق نبات السذاب البري وذلك باستخدام مطحنة كهربائية تم تقطير (100 g) من المادة النباتية الجافة باستخدام جهاز كليفنجر وذلك لمدة ثلاث ساعات ثم جمعت طبقة الزيت وحفظت في عبوة مظلمة عند الدرجة 4°C إلى حين التحليل [8]، [16]، [20]. كما تم حساب النسبة المئوية لمردود الزيت الأساس لنبات السذاب من خلال العلاقة التالية:

$$Y\ (\%) = W_1/W_2 * 100$$

حيث **W1:** وزن الزيت الأساس الناتج عن التقطير (g).

W2: وزن الماد النباتية الجافة (g).

- **تحضير الخلاصة الميتانولية باستخدام جهاز سوكسيليه:** وُزن بدقة 15g من العينة النباتية المطحونة ووضعت في جهاز سوكسيليه حيث استخلصت باستخدام 300 ml من الميتانول لمدة ست ساعات ثم بخرت باستخدام المبخر الدوار حتى الجفاف، حفظت الخلاصة عند الدرجة 4 C° إلى حين الاستخدام [16].

3- **تعيين النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الآبار:** تم فحص فعالية الزيت الأساس لنبات السذاب الحلبي تجاه بكتيريا ممرضة والتي تم الحصول عليها من مشفى تشرين الجامعي وهي (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, klebsilla pnemounia, pseudomonas aerogenosa) وذلك باتباع طريقة الآبار. تم فرش البكتيريا الممرضة على كامل الطبق وتركت 10 دقائق لتجف، ثم حفرت الآبار باستخدام أداة خاصة معقمة، وتم ملؤها بـ 30µl من خلاصة الزيت الأساس للنبات بعد حلها بـ DMSO بنسبة 1:1، حضنت العينات بدرجة حرارة 37 C° لمدة 24 ساعة، ثم تم قياس أقطار هالات التثبيط حول تلك الآبار.

4- **تعيين النشاط المضاد للأكسدة وفق طريقة الجذر الحر 1,1ثنائي فينيل-2-بيكريل الهدرازيل (DPPH):** تم قياس النشاط المضاد للأكسدة المثبط للجذور الحرة وفقاً للطريقة المتبعة من قبل Singh [26]، والتي تتألف من الخطوات التالية:

أولاً: تم تحضير (0.004%) من محلول الـDPPH وذلك بحل (0.01g) في 250 ml ميتانول.

ثانياً: يحضر 3 mg/ml من كل من الستندر (حمض الأسكوربيك) والخلاصة الزيتية والخلاصة الميتانولية وذلك بحل (150 mg) من كل منها في (50 ml) ميتانول، ويؤخذ منها باستخدام ميكروبيبيت الحجوم التالية (20, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 200) µl ثم يكمل الحجم بالميتانول حتى 1 ml لينتج التراكيز (0.06, 0.09, 0.18, 0.27, 0.36, 0.45, 0.54. 0.6) mg/ml

ثالثاً: أُضيف إلى كل عينة أربعة أضعاف الحجم من (DPPH) بتركيز (0.004%) وبعد المزج حضنت في الظلام بدرجة حرارة الغرفة (25 C°) لمدة 30 min. قيست الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجة 517 nm واستعمل الميتانول كشاهد [26]. عبر عن النشاط المضاد للأكسدة بحساب النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة Inhibition Effect (IE%) من المعادلة التالية:

$$IE\% = \{(A - A_1)/A\} * 100$$

A: امتصاصية الشاهد.

A_1: امتصاصية العينة.

رابعاً: تم تنظيم مخطط بياني للنسب المئوية لتثبيط الجذور الحرة لمركب DPPH بدلالة تراكيز الخلاصات وذلك لحساب قيمة IC50 (تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذور الDPPH)

النتائج والمناقشة:

1- محتوى الرطوبة:

تراوحت قيم الرطوبة في ثلاث عينات من نبات السذاب البري (عدد المكررات ثلاثة) بين (73.77 – 75.63) % كما هو موضح في الجدول(2). وهذا يتوافق مع قيم الرطوبة لنبات السذاب التونسي (74)% [27].

جدول 2 نسب الرطوبة في ثلاث عينات للسذاب البري

رقم العينة	متوسط الرطوبة±SD %X±SD
1	75.639±0.078
2	73.770±0.95
3	74.637±0.94

2- النشاط المضاد للبكتيريا:

تصنف الحساسية بالاعتماد على نصف قطر هالة التثبيط على النحو التالي [24]:

-: غير حساس، نصف قطر هالة التثبيط <8mm حيث يعتبر المستخلص.

+: حساس، نصف قطر هالة التثبيط يتراوح بين mm (9-14).

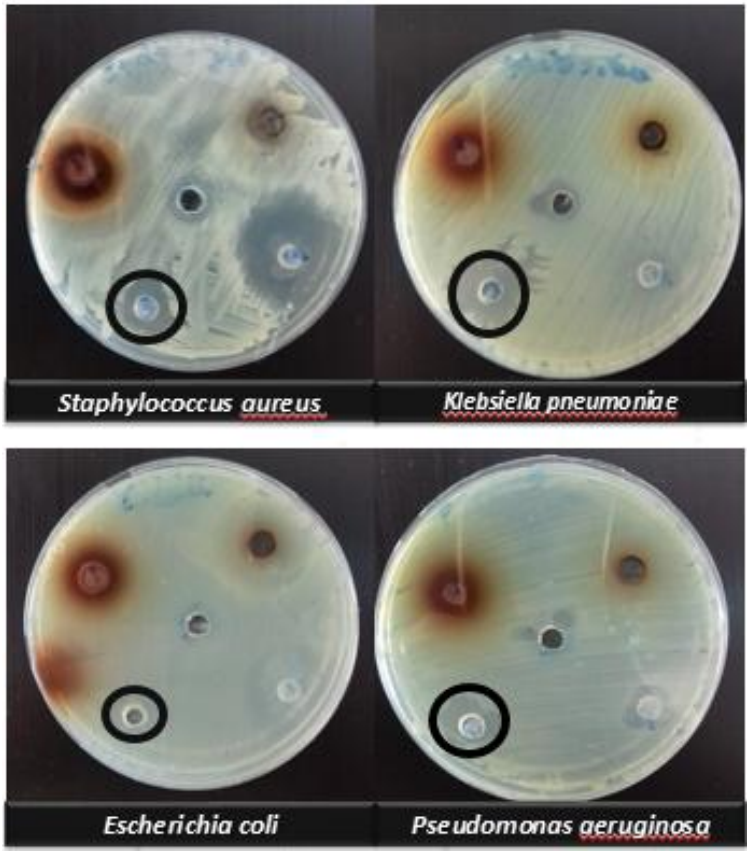
++: حساس جداً، نصف قطر هالة التثبيط يتراوح بين mm (15-19).

+++: حساسية مرتفعة جداً، نصف قطر هالة التثبيط >20mm.

يبين الجدول (3) مقارنة فعالية خلاصة الزيت الأساس لنبات السذاب الحلبي مع فعالية مضاد حيوي قياسي وقد تم اختيار الجنتاميسين كمضاد حيوي قياسي لهذا الغرض، حيث نلاحظ أن حساسية الزيت الأساس مرتفع جداً تجاه البكتيريا K. pnemounia (25 mm)، وحساس جداً تجاه كل من البكتيريا S. aureus و P. aeruginosa (17, 16) mm، وهذا يتوافق مع السذاب الحلبي الذي ينمو في الجزائر. نلاحظ أيضاً حساسية جيدة للخلاصة الزيتية تجاه البكتيريا E. coli (16 mm) الشكل (4)، بالتالي نستطيع القول إن الخلاصة الزيتية للسذاب حساسة تجاه كل أنواع البكتيريا المدروسة وهي متقاربة جداً من فعالية المضاد الحيوي القياسي جنتاميسين.

جدول 3: أنصاف أقطار هالات التثبيط اتجاه أنواع البكتيريا المختارة لخلاصة السذاب ومقارنته المضاد الحيوي القياسي

البكتيريا	نصف قطر هالة التثبيط(mm)	الحساسية	نصف قطر هالة التثبيط لمضاد حيوي قياسي (جنتاميسين)
S. aureus	16	++	15
Klebseilla	25	+++	20
E. coli	13	+	15
P. aeruginosa	17	++	11



الشكل 4: تأثير خلاصة الزيت الأساس لنبات السذاب على تثبيط أنواع البكتيريا المدروسة
حيث تشير الدائرة السوداء إلى هالة التثبيط التي يقاس نصف قطرها(mm)

بمقارنة التأثير المضاد للبكتيريا لخلاصات السذاب السوري مع المضادات البكتيرية الموجودة في السذاب التونسي نلاحظ أن مستخلصات نبات السذاب التونسي البري تظهر نشاط ملحوظ مضادة للبكتيريا خصوصاً ضد بكتيريا S. aureus و P. aeruginosa بأقطار تثبيط (16.3 mm) و (17.7 mm) وهي قيم متقاربة من قيم أقطار تثبيط مستخلص السذاب السوري. إضافة إلى ذلك أظهر مستخلص الأجزاء الهوائية لنبات السذاب التونسي أعلى نشاط مضاد للبكتيريا ضد البكتيريا E. coli [13]. كذلك الأمر بالنسبة لخلاصات الأجزاء الهوائية لنبات السذاب البري الجزائري والفلسطيني كانت قدرتها على تثبيط نمو الأنواع البكتيرية المدروسة واضحة ومتفاوتة فيما بينها من حيث نصف قطر هالة التثبيط [24]، [28].

3- النشاط المضاد للأكسدة وفق طريقة الجذر الحر 1,1ثنائي فينيل-2-بيكريل الهدرازيل (DPPH):

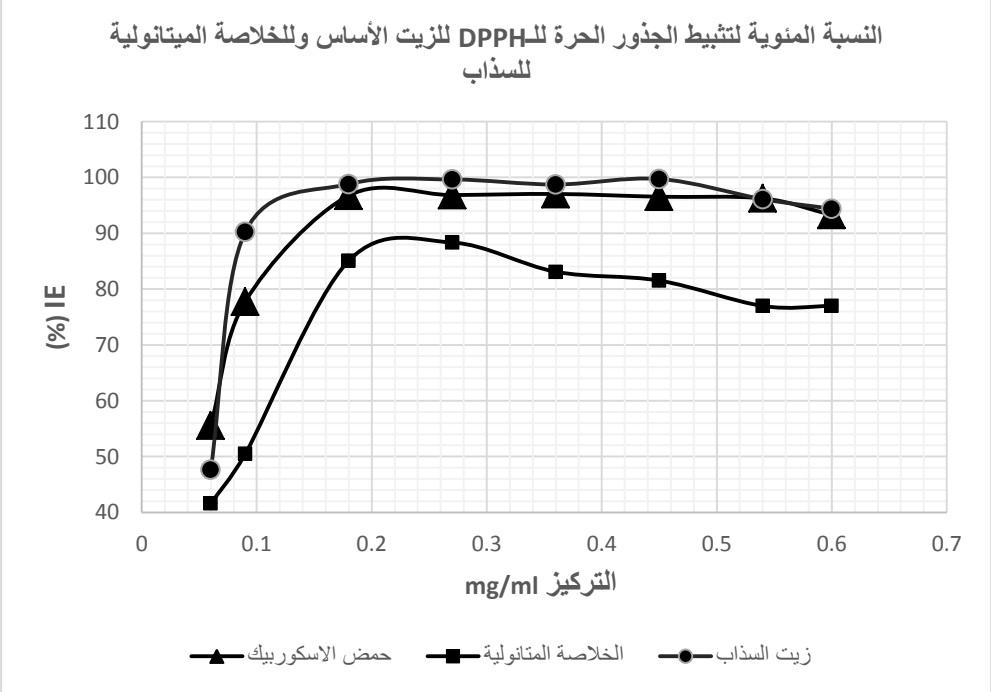
تم تحضير سلسلة عيارية لحمض الأسكوربيك (كمركب مرجعي ذو قيمة تثبيط عالية) بتراكيز (0.06, 0.09, 0.18, 0.27, 0.36, 0.45, 0.54, 0.6) mg/ml كذلك حُضرت سلسلتين لكل من الخلاصة الزيتية والخلاصة الميتانولية بنفس التراكيز السابقة أُكمل الحجم بالميتانول حتى 1ml تم أضيف 4ml من محلول حمض الأسكوربيك (0,004)%، تم قياس الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجة 517 nm وحُسبت قيم النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة.

يبين الجدول (4) النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة لمركب DPPH (IE %) وذلك لكل من حمض الاسكوربيك وخلاصة الزيت الأساس وخلاصة الميتانول لنبات السذاب الحلبي البري. حيث نستطيع من خلال قيم النسب المئوية لتثبيط الجذور الحرة أن نستدل على قدرة الخلاصات المذكورة في تثبيطها للجذور الحرة لمركب الـ DPPH الأمر الذي يساعد في التنبؤ عن مدى استخدام خلاصات نبات السذاب كعلاج أو وقاية لبعض أنواع السرطان التي تسببها الجذور الحرة [29].

جدول 4: النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة لمركب الـDPPH

تركيز الخلاصة mg/ml	حجم الميتانول المضاف حتى 1ml	IE (%)		
		الاسكوربيك	خلاصة الزيت	خلاصة الميتانول
0.06	980	55.5336	47.62846	41.60079
0.09	970	77.7668	90.21739	50.49407
0.18	940	96.73913	98.81423	85.07905
0.27	910	96.83794	99.63439	88.33992
0.36	880	97.03557	98.73518	83.10277
0.45	850	96.5415	99.7332	81.52174
0.54	820	96.24506	96.10672	76.97628
0.6	800	93.28063	94.39723	76.97628

يبين الشكل (4) مخطط بياني للنسب المئوية لتثبيط الجذور الحرة لمركب DPPH بدلالة تراكيز الخلاصات والذي نستطيع من خلاله حساب قيم الـIC50 (تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذر الـDPPH) وذلك بدرجة حرارة الغرفة (25° C) والتي كلما انخفضت قيمتها كانت الخلاصة أفضل وتحوي على نسبة مضادات أكسدة أعلى.



الشكل 5: النسبة المئوية لتثبيط الجذور الحرة لـ DPPH للزيت الأساس وللخلاصة الميتانولية للسذاب

نلاحظ من الجدول (5) الذي يبين قيم الـ IC_{50} لكل من حمض الأسكوربيك والخلاصة الميتانولية والزيت الأساس أن قيمتها للزيت الأساس (0.096 mg/ml) هي أقل من قيمتها للخلاصة الميتانولية (0.071 mg/ml)، حيث يدل ذلك على أن الخلاصة الميتانولية للسذاب تحوي على مضادات أكسدة أكثر من خلاصة الزيت الأساس [29] وقد يعزى ذلك إلى توافق قطبية الميتانول مع قطبية مضادات الأكسدة الموجودة في خلاصات نبات السذاب البري [30].

جدول 4: قيم الـ IC_{50} لخلاصات السذاب الحلبي

نوع المستخلص	قيمة الـ IC_{50} (mg/ml)
حمض الاسكوربيك	0.062
الزيت الأساس للسذاب	0.096
خلاصة السذاب الميتانولية	0.071

بمقارنة القيم الناتجة للـ IC_{50} لخلاصات السذاب السوري مع قيم الدراسات الأخرى للسذاب البري في ظروف مناخية مختلفة نجد مثلاً في اثيوبيا (IC_{50} = 0.052 mg/ml) للخلاصة الميتانولية [29] في حين كانت (IC_{50} = 0.016 mg/ml) للسذاب البري في إيطاليا و (IC_{50} = 0.0518 mg/ml) [30] لخلاصات السذاب البري الجزائري [24] و (IC_{50} = 0.078 mg/ml) لخلاصات السذاب البري الفلسطيني [28].

الاستنتاجات التوصيات:

1- يمتلك الزيت الأساس لنبات السذاب الحلبي البري خصائص مضادة للبكتيريا هامة جداً.

2- يمتلك الزيت الأساس والخلاصة الميتانولية لنبات السذاب الحلبي خصائص مضادة للأكسدة حيث تبين أن الخلاصة الميتانولية (IC_{50} =0.069 mg/ml) تحوي على مضادات أكسدة أكبر من الزيت الأساس (IC_{50} = 0.071 mg/ml).

3- الاستمرار والتعمق في دراسة هذا النبات لما فيه من مركبات متنوعة ذات خصائص مميزة.

4- البحث عن أنواع أخرى لهذا النبات ودراسة خصائصه المميزة وتعميق الدراسات عنه لاستثماره في المجالات الصيدلانية والدوائية.

References:

[1] G. E. Post, *Flora of Syria, Palestine and Sinai; from the Taurus to Ras Muhammad, and from the Mediterranean Sea to the Syrian desert.*, vol. 1. Beirut, Syria,: Syrian Protestant College, 1896.

[2] P. C. M. Jansen, *Spices, condiments and medicinal plants in Ethiopia, their taxonomy and agricultural significance*, vol. 906. Addis Ababa (Ethiobia): Backhuys Publishers, 1981.

[3] L. Iauk *et al.*, "Protection against murine endotoxemia by treatment with Ruta Chalepensis L., a plant with anti-inflammatory properties," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 90, no. 2–3, pp. 267–272, 2004, doi: 10.1016/j.jep.2003.10.004.

[4] S. Al-Qura'n, "Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan," *J Ethnopharmacol*, vol. 123, no. 1, pp. 45–50, May 2009, doi: 10.1016/j.jep.2009.02.031.
[5] M. T. Palmese, R. E. Uncini Manganelli, and P. E. Tomei, "An ethno-pharmacobotanical survey in the Sarrabus district (south-east Sardinia)," *Fitoterapia*, vol. 72, no. 6, pp. 619–643, 2001.
[6] A. Rustaiyan, M. Khossravi, F. Sultani-Lotfabadi, M. Yari, S. Masoudi, and A. Monfared, "Constituents of the Essential Oil of Ruta chalepensis L. from Iran," *Journal of Essential Oil Research*, vol. 14, no. 5, pp. 378–379, Sep. 2002, doi: 10.1080/10412905.2002.9699892.
[7] K. H. C. Baser, T. Özek, and S. H. Beis, "Constituents of the Essential Oil of Ruta chalepensis L. from Turkey," *Journal of Essential Oil Research*, vol. 8, no. 4, pp. 413–414, Jul. 1996, doi: 10.1080/10412905.1996.9700650.
[8] M. Ben Sghaier, T. Louhichi, A. Hakem, and Y. Ammari, "Chemical investigation of polar extracts from Ruta chalpensis L. growing in Tunisia: Correlation with their antioxidant activities.," *Journal of New Sciences*, vol. 49, no. 4, pp. 2971–2978, 2018.
[9] B. Enis *et al.*, "Chemical composition and antimicrobial effects of Tunisian Ruta chalepensis L. Essential oils," *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, vol. 12, pp. 1–9, 2010.
[10] Fakhfakh, S. Zouari, M. Zouari, C. Loussayef, and N. Zouari, "Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian Ruta chalepensis L. (Rutacea)," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 6, no. 4, pp. 593–600, 2012, doi: 10.5897/JMPR11.1121.
[11] M. Kacem *et al.*, "Phytochemicals and biological activities of Ruta chalepensis L. growing in Tunisia," *Food Bioscience*, vol. 12, pp. 73–83, 2015, doi: 10.1016/j.fbio.2015.08.001.
[12] A. Khadhri *et al.*, "Chemical Variability of Two Essential Oils of Tunisian Rue: Ruta montana and Ruta chalepensis," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 17, no. 3, pp. 445–451, May 2014, doi: 10.1080/0972060X.2014.914001.
[13] I. Ouerghemmi *et al.*, "Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian Ruta chalepensis," *J Food Drug Anal*, vol. 25, no. 2, pp. 350–359, 2017, doi: 10.1016/j.jfda.2016.04.001.
[14] T. Boudiar, I. Labed, J. Safaei-Ghomi, A. Kabouche, and Z. Kabouche, "Analysis of the Essential Oil of Ruta chalepensis subsp. angustifolia from Algeria," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 14, no. 6, pp. 792–795, 2011, doi: 10.1080/0972060X.2011.10644006.
[15] C. S *et al.*, "Composition and antibacterial activity of the essential oil of Ruta chalepensis subsp. angustifolia from Algeria," *Der Pharmacia Lettre*, vol. 5, no. 5, pp. 252–255, 2013.
[16] S. Terkmane *et al.*, "Chemical composition, antioxidant, and anticancer effect of Ruta chalepensis extracts against human leukemic cells," *Phytothérapie*, pp. 1–12, 2017, doi: 10.1007/s10298-017-1147-7.
[17] R. Kannan and U. V. Babu, "Identity and pharmacognosy of Ruta graveolens Linn," *Anc Sci Life*, vol. 32, no. 1, pp. 16–19, 2012, doi: 10.4103/0257-7941.113792.
[18] S. Milesi, "Étude de la production de furocoumarines par la Rue officinale (Ruta graveolens L.): cultures de plantes au champ et cultures in vitro," Université de Nancy I, France, 2013.

[19] F. Haddouchi, T. M. Chaouche, Y. Zaouali, R. Ksouri, A. Attou, and A. Benmansour, "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four Ruta species growing in Algeria," *Food Chem*, vol. 141, no. 1, pp. 253–258, 2013, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.03.007.
[20] S. M. Alotaibi, M. S. Saleem, and J. G. Al-humaidi, "Phytochemical contents and biological evaluation of Ruta chalepennsis L. growing in Saudi Arabia," *Saudi Pharm J*, vol. 26, no. 4, pp. 504–508, May 2018, doi: 10.1016/j.jsps.2018.02.008.
[21] H. D. Pushpa, N. Shree, S. Shetty, and D. Ramesh, "Screening of Antimicrobial , Antioxidant and Anticancer Activity of Ruta graveolens," *Biological Research*, vol. 9, no. 4, pp. 257–264, 2015, doi: 10.5829/idosi.abr.2015.9.94234.
[22] M. B. Kasimala, M. Tukue, and R. Ermias, "Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Of Two Common Terresterial Medicinal Plants Ruta Chalepensis And Rumex Nervosus," *Bali Medical Journal*, vol. 3, no. 3, pp. 116–121, 2014.
[23] C. I. Arámbula, C. E. Diaz, and M. I. Garcia, "Performance, chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Ruta chalepensis and Origanum vulgare," *J. Phys.: Conf. Ser.*, vol. 1386, no. 5, pp. 28–31, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1386/1/012059.
[24] H. Boughendjioua, "Yield, chemical composition and antibacterial activity of Ruta chalepensis L. essential oil growing spontaneously in Algeria," *PPIJ*, vol. 7, no. 1, pp. 33–36, 2019, doi: 10.15406/ppij.2019.07.00230.
[25] M. Najem, L. Bachiri, E. H. Bouiamrine, J. Ibijbijen, and L. Nassiri, "Ruta chalepensis (L.): Phytochemical study and bioinsecticidal effect against Tribolium castaneum (Herbst.)," *International Journal of Herbal Medicine*, vol. 7, no. 4, pp. 01–05, 2019.
[26] R. P. Singh, K. N. Chidambara Murthy, and G. K. Jayaprakasha, "Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (Punica granatum) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no. 1, pp. 81–86, Jan. 2002, doi: 10.1021/jf010865b.
[27] A. Khadhri *et al.*, "In vitro digestion, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of two species of Ruta : Ruta chalepensis and Ruta montana," *Pharmaceutical Biology*, vol. 55, no. 1, pp. 101–107, 2017, doi: 10.1080/13880209.2016.1230634.
[28] N. Jaradat *et al.*, "Variability of Chemical Compositions and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Ruta chalepensis Leaf Essential Oils from Three Palestinian Regions," *BioMed Research International*, Nov. 05, 2017. https://www.hindawi.com/journals/bmri/2017/2672689/ (accessed Aug. 15, 2020).
[29] K. Defa, G. shiferaw, and S. Feleke, "Total Phenolic Compound, Antioxidant Activity of Cultivated Ethiopian Ruta Chalepensis Crude Extract and its Essential oils," vol. 6, no. 3, pp. 83–91, 2017.
[30] M. R. Loizzo, T. Falco, M. Bonesi, V. Sicari, R. Tundis, and M. Bruno, "Ruta chalepensis L. (Rutaceae) leaf extract: chemical composition, antioxidant and hypoglicaemic activities," *Nat. Prod. Res.*, vol. 32, no. 5, pp. 521–528, Mar. 2018, doi: 10.1080/14786419.2017.1326491.