دراسة التركيب الكيميائي والأهمية الحيوية للمستخلصات العضوية لبكتيريا *Bacillus* البحرية المعزولة من الرسوبيات الشاطئية لمنطقة أفاميا

د. أحمد قره علي [*]
د. بدر العلي [**]
رامي حمود [***]

(تاريخ الإيداع 24/ 6/ 2021. قُبِل للنشر في 6 / 9 /2021)

□ ملخّص □

تضمنت الدراسة الحصول على الخلاصات العضوية لعزلات بكتيرية بحرية محلية تابعة لأنواع جنس *Bacillus* عزلت من عينات الرسوبيات الشاطئية لمنطقة أفاميا، والتي جمعت من أربعة محطات خلال شهر تشرين الأول عام 2020م. تمت دراسة التركيب الكيميائي للخلاصات العضوية البكتيرية بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المتصلة بمطيافية الكتلة (GC/ Ms). حددت المركبات الكيميائية للخلاصات الجرثومية لكل من عزلات الـ *Bacillus*. أظهرت النتائج أن الخلاصات تحتوي على أهم الزمر الكيميائية كالحموض الكربوكسيلية، الإستيرات، الألدهيدات، الأمينات، الفحوم الهيدروجنية ومشتقاتها. من أهم هذه المركبات التي تمتاز بتأثير مضاد بكتيري ومضاد للإلتهاب، ومضاد للسرطان (Octadecenoic acid (Z), Morpholine, Benzenamine, 3,5-dimethyl) والتي وُجدت بنسب مرتفعة في الخلاصات البكتيرية. كما لوحظ أن بعض المركبات تمتلك صفة مضادات للالتهاب والأكسدة، ومضاد للسموم، وبعضها يستخدم كمطهر، وفي المستحضرات التجميلية والصيدلانية كالـ (Tetracosane، Nonacosane، Tetradecanoic acid, ethyl ester، Pentadecanoic acid).

الكلمات المفتاحية: *Bacillus، GC Ms ، Chemical compounds.*

* أستاذ، قسم الكيمياء البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين ، اللاذقية، سورية.badrali@gmail.com
** أستاذ مساعد، قسم البيولوجيا البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين ، اللاذقية، سورية.ahmadkaraali@gmail.com
*** طالب دكتوراه، قسم البيولوجيا البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.ramihammod@gmail.com

Study of the Chemical Composition and the Biological Importance of Organic Extracts of Marine Bacillus Isolates in the Coastal Sediments of Afamea Site

Dr. Ahmad Kara ALI [*]
Dr. Badr Al Ali [**]
Rami Hammod [***]

(Received 24 / 6 / 2021. Accepted 6 /9 /2021)

□ ABSTRACT □

The study included obtaining organic extracts of local marine bacterial isolates of the genus Bacillus isolated from the coastal sediment samples of the Afamea region. which was collected from four stations during the month of October 2020. The chemical composition of the organic bacterial extracts was studied by gas chromatography-related mass spectrometry (GC/Ms). The chemical compounds of the bacterial extracts of each of the Bacillus isolates were determined. The results showed that the extracts contain the most important chemical groups such as carboxylic acids, esters, aldehydes, amines, hydrogen carbonate and their derivatives. One of the most important of these compounds that has anti-bacterial, anti-inflammatory, and anti-cancer effects. (Benzenamine, 3,5-dimethyl Octadecenoic acid (Z), Morpholine) which were found in high levels in bacterial extracts. It was also noted that some compounds have anti-inflammatory, antioxidant, and anti-toxin properties, and some of them are used as disinfectants, and in cosmetics and pharmaceuticals such as (Tetracosane, Nonacosane, Tetradecanoic acid, ethyl ester, Pentadecanoic acid).

Keywords: *Bacillus* ، GC Ms ،Chemical compounds,

[*] **Professor, Dept. of Marine Chemistry at HIMR, Tishreen University, Lattakia, Syria. ahmadkaraali@gmail.com**
[**] **Associate Professor, Dept. of Marine biology at HIMR, Tishreen University, Lattakia, Syria. badrali@gmail.com**
[***] **PhD Student , Dept of Marine biology at HIMR, Tishreen University , Lattakia, Syria. Ramihammod@gmail.com**

مقدمة:

تتميز الكائنات الحية الدقيقة البحرية بخصائص فريدة. إذ يتعين عليها التكيف مع الظروف البيئية البحرية القاسية (درجة الحرارة العالية، درجة الحموضة ،الإضاءة والضغط) في الرواسب البحرية. وهذا ما يجعلها تنتج مركبات ثانوية تلعب دوراً هاماً في مقاومة هذه الظروف البيئة ولهذه المركبات أهمية كبيرة في التطبيقات الصناعية، الطبية و التكنولوجيا الحيوية وهذا ما جعلها محط اهتمام الباحثين (Ye *et al.,* 2013; Kadhim *et al.,* 2016). و أدى التطور السريع في الدراسات الكيمياء على الكائنات البحرية عبر السنوات الخمس عشرة الماضية إلى اكتشاف عدد كبير من المركبات الكيميائية الجديدة، والتي لها خصائص دوائية وسمية غير معروفة سابقًا . مع ذلك فإن الأبحاث حول هذه المركبات لم تبدأ بشكل جدي إلا في نصف القرن الماضي وشملت جميع أشكال الحياة في البيئة البحرية (Blunt *et al*., 2015). إذ تمكن الباحثون حتى عام 2014 من عزل ما يقارب 25000 مركباً كيميائياً من الكائنات الحية البحرية (الكائنات الحية الدقيقة، العوالق النباتية والطحالب الخضراء والحمراء والإسفنجيات و المرجانيات والرخويات و شوكيات الجلد ....)، يعد 20000 مركباً منها ذو خصائص كيميائية فعالة حيوياً أصبحت مصدراً للعقاقير الدوائية (Blunt *et al*., 2016; Blunt *et al.,* 2015).

تعد بكتريا جنس *Bacillus* من الأحياء المجهرية المهمة في المجالات الطبية والصناعية والزراعية. إذ تنتج حوالي 167 مضاداً حيوياً فضلاً عن إنتاجها للعديد من الانزيمات والمركبات الكيميائية المهمة في المجالات الطبية والصناعية (Yusufzai *et al.,* 2019). ونظراً لامتلاك هذه المركبات الكيميائية المختلفة العديد من الخصائص المميزة كنشاطها المضاد للبكتريا، مكافحة الملاريا والفطريات ودخولها في عالم مستحضرات التجميل. نظراً لأهميتها اتجهت أنظار الباحثين إليها مؤخراً من أجل البحث عن مضادات حيوية بديلة أكثر كفاءة من المضادات الصناعية الموجودة حالياً في الأسواق. وعلى الرغم من أن المركبات الطبيعية قد لا تكون فعالة مثل المركبات الكيميائية المصنعة، لكنها أقل خطراً على البيئة، وقابلة للتحلل، وتظهر درجة عالية من الخصوصية في الفعالية (Tyagi *et al.,* 2017).

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لأهمية مستخلصات جنس *Bacillus* في مجال إنتاج المضادات الحيوية والمركبات الكيميائية وقلة الدراسات في الساحل السوري الموجودة على أنواع جنس *Bacillus* لذا كان الهدف من الدراسة هو دراسة التركيب الكيميائي للمستخلص العضوي لجنس *Bacillus* والتعرف على الأهمية البيولوجية والفعالية الحيوية للمركبات الكيميائية للمستخلص العضوي لجنس *Bacillus* التي تم عزلها من الرسوبيات البحرية الشاطئية لمنطقة أفاميا في مدينة اللاذقية.

طرائق البحث ومواده

موقع الدراسة:

أجريت الدراسة على الرسوبيات البحرية لشاطئ مدينة اللاذقية من موقع منطقة أفاميا (35°76'19.1"N; 35°54'19.3"E). التي تمثل منطقة مفتوحة متأثرة بنشاطات سياحية وقنوات صرف صحي. جمعت عينات الرسوبيات البحرية الشاطئية من الموقع السابق بوساطة عبوات زجاجية معقمة سعة 500 مل خلال شهر تشرين الأول عام 2020 م، ونقلت مباشرة إلى

مخابر جامعة تشرين لإجراء الدراسة المخبرية الميكروبية وبعد الحصول على عزلات بحرية لأنواع مختلفة من جنس الـ *Bacillus* والتي تم تنميطها وهي (*B. cereus*، *B. subtilis*، *B. circulans*، *B. polymyxa*) (Kara –Ali *et al.,* 2021).

تحضير المستخلص العضوي للعزلات البكتيرية:

تم نقل مستعمرة لكل عزلة من عزلات جنس الـ *Bacillus* إلى دورق يحتوي 100 ml من وسط ماء بيبتون ثم حضنت بدرجة حرارة 30 $م^0$ لمدة 24 ساعة. بعد إنتهاء فترة الحضن تم فصل الرشاحة عن الرسابة المكونة من الخلايا الجرثومية حسب طريقة Kataz و Demain (1977) باستخدام جهاز الطرد المركزي (5000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق). أخذت الطبقة العليا (الرشاحة) التي تحتوي على جميع النواتج الثانوية والمضادات الحيوية التي تنتجها الخلايا البكتيرية وأضيف لها الميتانول (90%) بنسبة 50%(V/V)، ثم مزجت جيداً وتم حفظها في درجة حرارة 4 $م^0$ لمدة 24 ساعة. فصل الطور المائي عن المحل باستخدام قمع فصل وتم تركيز الخلاصة العضوية باستخدام المبخر الدوار حتى 1ml ، حفظ المستخلص العضوي بدرجة حرارة –20 $م^0$ لحين استخدامه.

تم دراسة التركيب الكيميائي للمستخلص العضوي لعزلات جنس *Bacillus* بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC Mass نوع 6890 المرتبط بمطيافية الكتلة نوع 5975 نوع Hewlett– Packard وباستخدام عمود شعري 5 –HP أبعاده الطول والقطر الداخلي (0,25 mm x 30m) وثخانة الطور الساكن 0,25Mm.

وفق البرنامج الحراري التالي :

40	6 C° /min	280C°	Iso thermal (10 min)

درجة حرارة رباعي الأقطاب كبيرة 130°c

درجة حرارة منبع التشرد Ionsourcer 230°c

كمون التشرد: 70 ev

الغاز الحامل : غاز الهيليوم بنقاوة 99,9999 %

وتم التحديد الكيفي بالإعتماد على مطابقة طيف الكتلة للمركب مع طيف الكتلة في المكتبة الطيفية HP باستخدام المكتبتين Mass Spectral Library و Nist wiley

النتائج والمناقشة:

<u>التركيب الكيميائي للمستخلصات العضوية لعزلات جنس *Bacillus*</u>

1. <u>التركيب الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus subtilis*:</u>

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus subtilis* أن الأمينات والحموض الكربوكسيلية شكلت الزمر الكيميائية الأساسية في هذه الخلاصة، وبلغ متوسط نسب هذه المكوّنات الأمينات 28.28% والحموض الكربوكسيلية 25.62% على التوالي (الجدول1). كان المركب Benzenamine, 3,5–dimethyl المركب الأساس في الأمينات وبلغت نسبته 7.31%. كذلك سجل مركب الـ Heptadecanoic acid أعلى نسبة من الحموض الكربوكسيلية وكانت نسبته 3.87% (الجدول 1)

2. التركيب الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus polymyxa*:

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus polymyxa* أن الأمينات والحموض الكربوكسيلية والفحوم الهيدروجنية شكلت الزمر الكيميائية الأساسية في هذه الخلاصة، إذ بلغت متوسط قيم نسب هذه المكوِّنات الأساسية كما يلي: الأمينات 25.82%، الحموض الكربوكسيلية 17.8%. والفحوم الهيدروجنية 15.49%. كان مركب الـ Morpholineالمركب الأساس في الأمينات وبلغت نسبته 11.94%. كذلك سجل مركب الـ n-Hexadecanoic acid أعلى نسبة من الحموض الكربوكسيلية وبلغت نسبته 3.54%، كذلك سجل مركب الـ 1-Eicosene أعلى نسبة من الفحوم الهيدروجنية وبلغت نسبته 5.13% (الجدول 1).

3. التركيب الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus circulans*:

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus circulans* أن الأمينات، الكحولات والحموض الكربوكسيلية، شكلت الزمر الكيميائية الأساسية في هذه الخلاصة. بلغ متوسط النسب المئوية لهذه المكوِّنات الأساسية القيمَ التالية: الأمينات 15.58%، الكحولات 11.52%، الحموض الكربوكسيلية 10.87%. لوحظ أن مركب الـ Benzenamine, 3,5-dimethyl يعد المركب الأساس في الأمينات وبلغت نسبته 8.64%، كان المركب Imidazole, 5-phenyl-1,2,4-trimethyl من أهم المركبات الكحولية وبلغت نسبته 11.14% ، كذلك سجل مركب الـ 14- Pentadecenoic acid أعلى نسبة من الحموض الكربوكسيلية وكانت نسبته 3.21% (الجدول 1).

4. **التركيب الكيميائي للخلاصة الميتانولية الخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus cereus*:**

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للخلاصة الميتانولية للنوع *Bacillus cereus* أن الأمينات، الفحوم الهيدروجنية، الأستيرات شكلت الزمر الأساسية في هذه الخلاصة. بلغ متوسط النسب المئوية لهذه المكوِّنات الأساسية القيمَ التالية: الأمينات 15.08 %، الفحوم الهيدروجنية 12.24 %،الأستيرات 12.45%. كان المركب 3- Propanenitrile, المركب الأساس في الأمينات وبلغت نسبته 6.37%. كذلك سجل مركب الـ Octadecane أعلى نسبة من الفحوم الهيدروجنية وكانت نسبته 3.75%، وكان المركب Tetradecanoic acid, ethyl ester من الأستيرات وسجل بنسبة 11.58% (الجدول 1).

الجدول (1) قيم التركيب الكيميائي للخلاصات الميتانولية لأنواع جنس *Bacillus* المعزولة من منطقة أفاميا

المركبات الكيميائية	الصيغة الكيميائية	*Bacillus subtilis*	*Bacillus Polymyxa*	*Bacillus circulans*	*Bacillus Cereus*
		النسبة%	النسبة%	النسبة%	النسبة%
18-Nonadecenoic acid	الحموض الكربوكسيلية	1.44		1.47	0.25
n-Hexadecanoic acid (Palmitic acid)		3.42	3.54	0.60	
Tridecanoic acid			0.77	1.35	0.24
9-Octadecanoic acid		3.45			
Pentadecanoic acid, methyl ester		4.26	2.14	0.24	
9-Hexadecenoic acid, octadecyl ester.			3.34		0.28
Hexadecenoic acid, Z-11-		1.25	3.11	1.21	2.56
Octacosanoic acid		3.18		1.56	

Cyclopropanedicarboxylic acid-1,2 -cis		0.37	1.86		1.02
Acetic acid		2.49	2.45	1.23	
Heptadecanoic acid		3.87	0.59		1.24
14-Pentadecenoic acid		1.89		3.21	
مجموع الحموض الكربوكسيلية		25.62	17.8	10.87	5.59
Nonacosane	فحوم هيدروجنية	0.60	1.69	0.46	
Tricosane		0.64			1.48
Heptacosane			0.46	0.87	1.25
Pentacosane		1.06			1.72
Tetradecane			4.64	0.47	
Hexadecane		1.90			0.68
Octadecane			1.01	2.57	3.75
Pentacosane		0.71		1.06	2.34
1-Eicosene			5.13		1.02
1,19-Eicosadiene		2.37	2.56	0.16	
مجموع الفحوم الهيدروجنية		7.28	15.49	5.59	12.24
β-Sitosterol	ستيرولات	1.56	1.24		0.59
(6Z,9Z)-Pentadeca-6,9-dien-1-ol				0.82	0.52
ester Tetradecanoic acid, ethyl		0.20	1.53	1.57	
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)		1.23	0.26	0.13	2.40
	مجموع الستيرولات	2.99	3.03	2.73	3.51
Tridecanone	كيتونات	0.34			
Acridinone					0.36
2-Tridecanone			1.24		
2-Heptadecanone				0.49	
Ditetradecyl ether; Tetradecyl ether		0.44			
2-Nonanone				1.15	
2-Tetradecanone					0.57
2-Decanone		3.54			

2-Undecanone			3.26		0.63
مجموع الكيتونات		4.32	4.5	1.64	1.56
Propanol, 2-amino-2-methyl-	الكحولات		2.43		0.38
Methylcyclopropanemethanol		0.79		0.38	
-Imidazole, 5-phenyl-1,2,4-trimethyl			1.56	11.14	
E-2-Tetradecen-1-ol		0.39	2.54		0.43
Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-(Anethole)		1.18			
مجموع الكحولات		2.36	6.53	11.52	0.81
Pentafluoropropionic acid, nonyl ester	الأستيرات		0.98		0.87
1,3-Benzodioxole-5-propanoic acid,ethyl ester		2.00		1.24	
Tetradecanoic acid, ethyl ester					11.58
Hexadecanoic acid, ethyl ester				2.20	
Octadecanoic acid, ethyl ester		0.33		0.83	
مجموع الاستيرات		2.33	0.98	4.27	12.45
para-Toluamidoxime	اميدات	0.73			0.05
Propanediamine, N,N-dimethyl-		0.51		0.55	
Bromophenylacetamido]-5-chloro-2,4-diaminoquinazoline			1.44		0.52
Propanamide, N-methyl-		1.23		0.56	
مجموع الاميدات		2.47	1.44	1.11	0.57
Morpholine	امينات	6.64	11.94	2.32	0.31
Butanamine, N-methyl-			7.60		4.15
Benzenamine, 3,5-dimethyl-		7.31		8.64	
dimethylamine		5.95	0.57		4.25
N,N-Dimethyl-1-propanamine		4.37		4.62	
Propanenitrile, 3-		4.01	5.71		6.37
مجموع امينات		28.28	25.82	15.58	15.08
Tetradecanal	ألدهيدات	3.48	3.64		0.34
Hexadecanal		0.23			

Tridecanal		0.46		1.33	
Octadecanal			1.82		3.61
مجموع الالدهيدات		4.17	5.46	1.33	3.95
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)	فينول	0.65	5.54		
النسبة المئوية مجموعات أخرى		0.65	5.54		

أهم المركبات الكيميائية المنتجة من الأحياء الدقيقة البحرية وأهميتها البيولوجية:

يوضح الجدول (2) أهم المركبات الكيميائية المنتجة من الأحياء الدقيقة البحرية وأهميتها الحيوية.

الجدول (2) أهم المركبات الكيميائية المنتجة من الأحياء الدقيقة البحرية وأهميتها الحيوية من خلال الدراسة المرجعية.

المركب الكيميائية المعزولة	الطبيعة الكيميائية للمركب	الصيغة الكيميائية العامة	الفعالية الحيوية (Bioactivity)	البكتريا المنتجة	المرجع
Propanenitrile, 3-(dimethylamino)-	أمينات	$C_5H_{10}N_2$	مضاد للبكتريا ومضاد للسرطان، يقلل من التلف الكلوي	*B. subtilis*	Kumar *et al*., 2018
Benzenamine, 3,5-dimethyl-	أمينات	$C_8H_{11}N$	تأثير مسكن وحماية النهايات العصبية المصابة ومضاد أكسدة	*B. subtilis* *B.circulans*	Turner *et al*., 2018
dimethylamine	أمينات	C_2H_7N	مضاد سكري ومضاد بكتيري	*B. polymyxa*	Liu *et al*., 2016
Morpholine	أمينات	$C_5H_{11}ClN_2$	مضاد للالتهاب ومضاد للاكتئاب ومضاد حيوي	*B. cereus* *B. circulan*	Kadhim *et al.*, 2016
Octadecenoic acid -9 (Z)-, octadecyl ester (Stearyl oleate)	استيرات	$C_{36}H_{70}O_2$	مضاد بكتيري، مضادة للهيستامين، مكافحة الأمراض القلبية ذات المنشأ التاجي	*B. subtilis* *B. cereus* *B. circulan*	Abdallah, 2019
1,2, Benzenedicarboxylic acid dibutyl ester	استيرات	$C_{16}H_{22}O_4$	مضاد للالتهابات والوقاية من سرطان بطانة الرحم	*B. polymyxa*	Bourourou *et al*., 2016
Tetradecanoic acid	أحماض دسمة	$C_{14}H_{28}O_2$	مضاد للأكسدة والسرطانات، خافض للضغط وكوليسترول الدم.	*B. polymy* *B. subtilis*	Konovalova *et al*., 2013
Pentadecanoic acid	أحماض دسمة	$C_{15}H_{30}O_2$	مضاد فطري وبكتيري، مضاد للأكسدة، يستخدم في إنتاج مستحضرات	*B. cereus* *B. circulan*	Amudha *et al*., 2018

			التجميل، يوجد في منتجات الألبان.		
Heptadecanoic acid (Margaric acid)	أحماض دسمة	$C_{17}H_{34}O_2$	تدخل في صناعة مستحضرات العناية بالبشرة.	*B. subtilis*	Kadhim *et al*., 2016
Imidazole, 5--2]-4 phenyl-1,2,4-trimethyl	Phenol	$C_{14}H_{22}O$	مضاد بكتيري، مضاد للأكسدة، مضاد للأورام.	*B. circulans B.polymyxa*	Amudha *et al*., 2018
Heptadecane	Carbohydrat	$C_{17}H_{36}$	مضاد للأكسدة، الوقاية من السرطان واللوكيميا، مضاد للالتهابات	*B. circulans*	Arora and Kumar *et al*., 2017

يدل التنوع في المركبات الكيميائية ذات الأهمية الحيوية والطبية لمعظم الخلاصات على أهمية البكتريا البحرية وضرورة استثمارها وادخالها بالمصادر المهمة للمركبات الصيدلانية، وتعتمد آلية تأثير المركبات الكيميائية على اختلاف تراكيز شوارد كل من الصوديوم والبوتاسيوم للخلايا البكتيرية (YE *et al*., 2015; Turner *et al.,* 2018).

الاستنتاجات والتوصيات:

تم تحديد أهم المركبات الكيميائية للخلاصات العضوية للعزلات البحرية التابعة لجنس الـ *Bacillus* وتضم زمر كيميائية مختلفة أهمها الأحماض الكربوكسيلية والفحوم الهيدروجنية والاستيرات والكحولات إضافة الى الأميدات والألدهيدات والكيتونات. كان هناك تباين في هذه المركبات الكيميائية فقد لوحظ أن الأمينات سجلت أعلى نسبة في الخلاصة البكتيرية لعزلة الـ *B. subtilis*، وكانت أعلى نسبة للفحوم الهيدروجنية، الحموض الكربوكسيلية، الأحماض الدسمة والإستيرات في الخلاصة البكتيرية للـ *B. circulans* .

يتصدر هذا النوع من الأبحاث في الوقت الحاضر قائمة الأبحاث في مجال التقانة الحيوية البحرية للاستفادة من تطبيقاتها في استخلاص مواد ذات أهمية علاجية طبية وصيدلانية من الكائنات البحرية، والبحث عن مصادر طبيعية لإنتاج مركبات ذات طيف واسع من الصادات الحيوية الطبيعية غير التقليدية ضد سلالات بكتيرية ممرضة شائعة لدى الإنسان، وذات تأثيرات جانبية أقل بكثير من تأثير الصادات الحيوية التقليدية والصنعية المنشأ.

References:

ABDALLAH, H.*Theoretical study for the inhibition ability of some bioactive imidazole derivatives against the Middle-East respiratory syndrome corona virus (MERS-Co).*Applied Sciences ZANCO Journal of Pure, Vol. 31, No. 2, 2019,71-78.

AMUDHA, P.;JAYALAKSHMI, M.;PUSHPABHARATHI, N. and VANITHA, V.*Identification of bioactive components in Enhalus acoroides seagrass extract by gas chromatography–mass spectrometry.Asia*n, Journal of Pharmaceutical Clinical Research, Vol. 11, No. 10, 2018,131-137.

ARORA, S. and KUMAR, G. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) determination of bioactive constituents from the methanolic and ethyl acetate extract of*

Cenchrus setigerus Vahl (Poaceae). The Pharma Innovation Journal. The Pharma Innovation Journal, Vol. 6, No.11, 2017, 635-640.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; KEYZERS, R. A.; MUNRO, M. H. G. and PRINSEP, M. R. *Marine natural products*. Natural Product Reports, Vol. 32, No. 2, 2015,116–211.

BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; KEYZERS, R. A.; MUNRO, M. H. G. and PRINSEP, M. R. *Marine natural products*. Natural Product Reports, Vol. 33, No.3, 2016.382–431.

BOUROUROU, M.; HEURTEAUX, C. and BLONDEAU, N. J. N. *Alpha-linolenic acid given as enteral or parenteral nutritional intervention against sensorimotor and cognitive deficits in a mouse model of ischemic stroke.* AIP Conference Proceedings, Vol.108, No. 4, 2016, 60-72.

KADHIM, M.J.;MOHAMMED, G.J. and HAMEED, I.H.*In vitro antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of methanolic extract of fruit Cassia fistula.riental*, Journal of Chemistry,32,3,2016,1329.

KARA -ALI, Ahmad.; Al ALI, Badr.; HAMMOD, Rami. *An identification study of the species of the marine Bacillus sp and their distribution in coastal sediments of Lattakia city*. Albaath University Journal, 2021.

KATZ, E. and DEMAIN, A.L. *The peptide antibiotics of Bacillus: Chemistry, Biogenesis, and possible functions.* Bacteriology Reviews, Vol. 41, No. 2, 1977, 449-474.

KONOVALOVA, O.;GERGEL, E. and HERHEL, V.*GC-MS Analysis of bioactive components of Shepherdia argentea (Pursh.) Nutt.* from Ukrainian Flora.The Pharma Innovation, Vol. 2, No. 6, 2013,7.

KUMAR, D.;KARTHIK, M. and RAJAKUMAR, R.*GC-MS analysis of bioactive compounds from ethanolic leaves extract of Eichhornia crassipes (Mart) Solms. and their pharmacological activities*.Pharma Innovation Journal, Vol. 7, No. 8, 2018,459-462.

LIU, M.-H.;KO, C.-H.;MA, N.*Chemical profiles, antioxidant and anti-obesity effects of extract of Bambusa textilis McClure leaves*.Journal of Functional Foods, Vol. 22, No. 2, 2016,533-546.

TURNER, A.H.;CRAIK, D.J.;KAAS, Q. and SCHROEDER, C.*Bioactive compounds isolated from neglected predatory marine gastropods*. Marine drugs,16,4,2018,118.

TYAGI, T. and AGARWAL, M.P.*Phytochemical screening and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of Pistia stratiotes L. and Eichhornia crassipes (Mart.) solms.* Journal of Pharmacognosy, Vol. 6, No. 1, 2017,195-206.

YE, J.-H.;LIU, M.-H.;ZHANG, X.-L. and HE, J.-Y.*Chemical profiles and protective effect of Hedyotis diffusa Willd in lipopolysaccharide-induced renal inflammation mice.* International Journal of Molecular Sciences, Vol. 16, No. 11, 2015,27252-27269.

YUSUFZAI, T.M. and WOLFFE, A.P.*Functional consequences of Rett syndrome mutations on human MeCP2.* Nucleic acids research, Vol. 28, No. 21, 2000,4172-4179.