دراسة كيميائية لبعض المستقلبات الثانوية الفعالة في نبات الوزال الأسي *Spartium Junecum* L.

د. ريم سلامه*

رهف محفوض**

(تاريخ الإيداع 9 / 5 / 2021. قُبِل للنشر في 1 / 7 / 2021)

☐ ملخّص ☐

أجريت هذه الدراسة على نبات طبي من الفصيلة الفولية *Fabaceae*، وهو الوزال الأسي *Spartium Junecum* L. جمعت العينات النباتية (الأزهار والثمار) من ريف اللاذقية خلال العام 2019. تضمنت الدراسة استخلاص المركبات الفينولية الكلية، والمركبات الفلافونوئيدية من الأزهار الجافة، ومعايرتها كمياً باستخدام مقياس الطيف الضوئي وفق طريقتي الفولين- سيكالتو، وثلاثي كلوريد الألمنيوم المرجعيتان للفينولات الكلية والفلافونوئيدات على الترتيب. بالإضافة إلى استخلاص مركبات القلويدات الكينوليزيدينية من الأزهار والبذور الجافة، والتحري عن وجود بعض القلويدات مثل: السيتزين (Cytisine)، N- ميتيل السيتزين (N-methylcytisine)، الأنجرين (Anagyrine)، والسبارتئين (Sparteine) باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، وبالاعتماد على القيم المرجعية لعوامل إعاقة هذه القلويدات عن طريق استعمال ذات الطور المتحرك المطبق في الدراسات المرجعية.

بينت النتائج احتواء الأزهار على (7.45 mg Gallic A.E/g $_{d.w}$)، و(0.715 mg R.E/g $_{d.w}$) من الفينولات الكلية والفلافونوئيدات على الترتيب. أظهرت خلاصة الأزهار بقعتين على صفيحة ال TLC مع كاشف واغنر، بلغت قيمتي ال R_F لهما 0.29 و0.59 على الترتيب، وهي قريبة جداً من قيم ال R_F المرجعية المقابلة للسيتزين، وN- ميتيل السيتزين التي تبلغ 0.28 و0.61 على التوالي. كما أظهر استعمال كاشف الفانيلين على صفيحة ال TLC وجود عدد كبير من البقع (حوالي 12 بقعة)، منها بقعتان تمتلكان قيم R_F قريبة جداً من نظيرتها المرجعية للسيتزين، وN- ميتيل السيتزين. أما بالنسبة لخلاصة البذور فقد أظهرت بقعتين عند تطبيق كاشف واغنر كانت قيم ال R_F لهما 0.3 و0.58 على الترتيب، بينما أظهرت عدة بقع (حوالي 7 بقع) عند تطبيق كاشف الفانيلين، منها بقعتان تمتلكان قيم R_F قريبة أيضاً من قيم عامل إعاقة السيتزين، وN- ميتيل السيتزين المرجعية. يمكن أن نفترض مبدئياً أن خلاصات أزهار وبذور الوزال تحتوي على السيتزين، وN- ميتيل السيتزين، بينما لم يتم الكشف عن الأنجرين والسبارتئين وفق الطريقة التحليلية المتبعة.

الكلمات المفتاحية: الوزال، المركبات الفينولية، الفلافونوئيدات، قلويدات الكينوليزيدين، النباتات الطبية.

* مدرسة – قسم العقاقير– كلية الصيدلة – جامعة تشرين– سورية.

** طالبة ماجستير – قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية– كلية الصيدلة– جامعة تشرين– سورية.

A chemical study of some active secondary metabolites in *Spartium Junecum* L.

Dr. Rim Salame[*]
Rahaf Mahfoud [**]

(Received 9 / 5 / 2021. Accepted 1 / 7 / 2021)

□ ABSTRACT □

This study was conducted on *Spartium Junecum* L.; a medicinal plant belongs to *Fabaceae* family. Plant samples (flowers and fruits) were collected from the countryside of Lattakia in 2019. The phenolic and flavonoids compounds were extracted from the dry flowers, then the total content was determined spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu and $ALCL_3$ methods for phenolic and flavonoids compounds, respectively. Quinolizidine alkaloid were extracted from dry flowers and seeds and the presence of some alkaloids, such as: Cytisine, N-methylcytisine, Anagyrine, and Sparteine was investigating using Thin-layer chromatography technique (TLC) and basing on the reference values of the Retardation Factor (R_F) of these alkaloids determined by using the same mobile phase applied in the references studies.

The results showed that the yield of total phenolic content was (7.45 mg Gallic ac.E/g $_{d.w}$) and (0.715 mg R.E/g $_{d.w}$) for flavonoids. The flowers extract showed two spots on the TLC plate with Wagner's reagent, their R_F values were 0.29 and 0.59, respectively, and these values are very close to the corresponding reference RF valuesof cytisine and N-methylcysteine which are 0.28 and 0.61, respectively. The use of the vanillin reagent on the TLC plate showed the presence of a large number of spots (about 12 spots) of which two spots had R_F values very close to the reference ones of cytisine and N-methylcysteine. As for the seeds extract, two spots were shown when Wagner's reagent was applied. Their R_F values were 0.3 and 0.58, respectively, which in turn were very close to the corresponding reference values of cytisine and N-methylcysteine. While a large number of spots (about 7 spots) were appeared when the vanillin reagent was applied, two of them were close to the reference values of cytisine and N-methylcysteine.

We can tentatively assume that the flowers and seeds extracts contain Cytisine and N-methylcytisine, while Anagyrine and Sparteine were not detected by the adopted analytical method.

Key words: *Spartium Junecum* L., Phenolic compounds, Flavonoids, Quinolizidine Alkaloids, Medicinal Plants.

[*] **Assistant Professor, pharmacognosy Department- Faculty of Pharmacy- Tishreen University-Syria.**
[**] **Master student in Pharmaceytical Chemistry and Drug Design department- Faculty of Pharmacy- Tishreen University-Syria.**

مقدمة

تعد الفصيلة الفولية *Fabaceae* ثالث أكبر فصيلة من النباتات المزهرة بعد الفصيلتين الأوركيدية *Orchidaceae* والمركبة *Compositae*، حيث تضم حوالي 740 جنساً، وأكثر من 19500 نوعاً ذو أهمية اقتصادية وطبية معترف بها على نطاق واسع [1].

ينتمي نبات الوزال الأسي *Spartium Junecum* L. للفصية الفولية *Fabaceae* [2]، وينتشر في منطقة حوض الأبيض المتوسط. هو شجيرة يصل طولها حتى 3 أمتار، الساق رمادية ذات أغصان منتصبة خضراء، عديمة الأوراق أو ذات أوراق خيطية رمحية أو بيضاوية ضيقة أبعادها (1−4 ×0.5−1.7سم)، مستدقة، ملساء أو موبرة قليلاً، ذات عنق عريض من الأسفل يشبه الغمد، عديمة الأذينات. النورة غير محدودة النمو (طرفية)، عنقودية بسيطة، تضم (5−20) زهرة. الأزهار فراشية، عطرية الرائحة، طولها (2−3 سم)، صفراء اللون، ذات عنق قصير. الكأس غشائي بشفة مائلة واحدة، يشبه الغمد ويحمل 5 أسنان قصيرة، طوله (7.5 مم). العلم عريض، مستدير من الأعلى، وأحياناً مطوي من الحافة، الجناحان أقصر من العلم، والزورق يتألف من بتلتين، ويكون بطول العلم تقريباً. الأسدية ملتحمة مع بعضها البعض مشكلة أنبوبة سدوية في حزمة واحدة، والمآبر صغيرة. المبيض يحوي العديد من البيوض جدارية التوضع، والميسم خيطي مائل. الثمار قرنية، أبعادها (6−9× 0.6−0.8 مم)، خيطية ملساء، وأحياناً موبرة بشكل خفيف، يصبح لونها عند النضج بني غامق، وتتفتح بشقين طوليين مع البقاء ملتصقة من الأسفل، تحوي (2−12) بذرة. البذور صغيرة، لامعة، بدون زوائد، لونها بني محمر [3، 4، 5، 6].

يستخدم الوزال كنبات طبي في عدة بلدان، حيث يستهلك منقوع أزهاره في سورية بعد الوجبات لتعزيز عملية الهضم [7]، وفي تركيا لعلاج القرحة الهضمية [8]. وقد اهتمت عدة دراسات بالخصائص البيولوجية لمختلف أجزائه، فقد ثبت أنها تملك فعالية مضادة للقرحة الهضمية [9]، مضادة للأكسدة ومثبطة لإنزيم التيروزيناز [10]، مضادة للالتهاب ومسكنة للألم [11]، مضادة لفيروسات الهربس البسيط النمط الأول [12]، مضادة للبكتيريا موجبة الغرام [13]، مضادة لليشمانيا الكبرى [14]، ومضادة لخلايا الورم الأرومي الدبقي [15]. نسبت معظم هذه التأثيرات البيولوجية السابقة إلى عدة مستقلبات ثانوية في النبات تمتلك خصائص علاجية ملحوظة لا تستطيع الكيمياء التركيبية أو الاصطناع الدوائي تقديمها منها الفلافونوئيدات Flavonoids، الإيزوفلافونات <u>Isoflavones</u>، الفلافونات <u>Flavones</u>، قلويدات الكينوليزيدين Quinolizidinic alkaloids والسابونينات <u>Saponins</u>.

ومن ناحية أخرى، يعد الوزال واحداً من أقدم المصادر التقليدية للألياف السيللوزية الطبيعية إلى جانب الكتان والقنب، وقد أشارت عدة دراسات إلى إمكانية استبدال الألياف المسوقة حالياً بأليافه بنجاح لما تبديه من خصائص متميزة [16، 17]، كما تعد أزهاره مصدراً لزيت عطري مستخدم بشكل شائع في صناعة العطور [18].

تعد المركبات الفينولية واحدة من أكبر مجموعات المستقلبات الثانوية وأكثرها انتشاراً، تملك هذه المركبات بنى كيميائية متنوعة، وتصنف إلى: الحموض الفينولية Phenolic acids، الفلافونوئيدات Flavonoids، الكومارينات Coumarins، التانينات Tannins، الستيلبينات Stilbenes ومركبات الليغنان Lignans [19]. تعد المركبات الفينولية مضادات الأكسدة الأكثر فعالية في الغذاء، وتتمتع بتأثيرات صحية كثيرة تم ذكرها سابقاً كتحفيز الإنزيمات المزيلة للسمية، وتثبيط الإنزيمات المحفزة للورم، بالإضافة لتأثيراتها المضادة للبكتيريا، للفطور، للحساسية، للالتهاب، والأمراض المختلفة. كما نسبت العديد من الفعاليات البيولوجية لنبات الوزال إليها [20، 21، 22].

تتواجد قلويدات الكينوليزيدين بشل رئيسي في نباتات الفصيلة الفولية، وتصنع حيوياً من خلال تفاعل حلقنة مركب الكادافيرين Cadaverine الناتج عن نزع كربوكسيل الحمض الأميني اللايسين Lysine، وتأتي أهميتها طبياً بسبب امتلاكها لخصائص دوائية متنوعة تم تحديدها عبر الدراسات البيولوجية مثل: الفعالية المضادة للبكتيريا، المضادة للفيروسات، المضادة للحمى، الخافضة لسكر الدم، السامة للخلايا، والمحرضة على الولادة. وهي من المستقلبات الثانوية التي تملك فعالية بيولوجية في النبات بكميات ضئيلة جداً، وبالتالي يمكن أن تبدي تأثيرات سمية كبيرة عند تجاوز الجرعات المحددة [23].

أجمعت الدراسات على أن السيتزين (Cytisine)، N- ميتيل السيتزين (N-methylcytisine)، والأنجرين (Anagyrine) يشكلون معاً النموذج القلويدي الرئيسي في الوزال الذي يتميز بثباته بالرغم من تأثير البيئة المحيطة، والتغيرات الفصلية على المحتوى القلويدي في أجزاء النبات [24، 25، 26]. وبالمقابل هنالك بعض المراجع التي صنفت السبارتئين (Sparteine) من قلويدات الوزال الرئيسية [27]، بينما أشار بعضها الآخر إلى وجوده بآثار زهيدة في بعض أجزاء النبات [26]، يضفي وجود السبارتئين أهمية طبية كبيرة للنبات لامتلاكه تأثيرات دوائية هامة [28]، وكان التحري عن وجوده هدفاً أساسياً في هذه الدراسة لحل هذه المشكلة البحثية.

وبما أن النباتات الطبية تعد إرثاً طبيعياً من واجبنا التعرف عليه، وبسبب عدم وجود دراسات محلية في سورية عن عدة نباتات طبية موجودة تتبع أهمية وأهداف هذا البحث.

أهمية البحث وأهدافه

تعد النباتات الطبية والعطرية في سورية على الرغم من أهميتها من النباتات المهملة، الأمر الذي تعكسه ندرة المراجع وقلة الأبحاث العلمية المحلية عنها، كما أنها مهددة بالانقراض بسبب الأنشطة البشرية المتعددة لاسيما اقتلاع النباتات من جذورها، وبكميات كبيرة أثناء الجمع العشوائي لها [29]، مما يستدعي العمل على حمايتها وتسليط الضوء عليها من خلال دراستها، وإبراز الأهمية الطبية والاقتصادية لكل نوع من منطلق الاستفادة من الغنى والتنوع الحيوي الكبير الذي يتميز به الغطاء النباتي في سورية، ودراسة النباتات المحلية الغير مدروسة سابقاً مما يساهم في توثيق الإرث الحيوي لهذا الغطاء النباتي.

لذلك يهدف البحث إلى دراسة أحد الأنواع النباتية البرية الهامة المنتشرة في الساحل السوري، والغير مدروسة محلياً من الناحية الكيميائية وهو نبات الوزال *Spartium Junecum* L. من خلال دراسة كيميائية لبعض المركبات الأساسية الموجودة فيه تتضمن: استخلاص المركبات الفينولية الكلية والمركبات الفلافونوئيدية من الأزهار الجافة، ومعايرتها كمياً باستخدام مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer)، واستخلاص مركبات القلويدات الكينوليزيدينية من الأزهار والبذور، والتحري عن وجود السيتزين، N- ميتيل السيتزين، الأنجرين، والسبارتئين باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC. مما يسمح بتوظيف النباتات الطبية كمصادر للمركبات الفعالة بيولوجياً، وهذا بدوره يساهم في تطوير الصناعة الصيدلانية بالاعتماد على المقدرات والمنتجات الوطنية، ورفدها بالمواد الخام المحلية الضرورية، وبالتالي تقليل استيراد المواد الاولية وخفض التكلفة المادية.

طرائق البحث ومواده

1. العينات النباتية

تم جمع نبات الوزال .*Spartium junceum* L من ريف الساحل السوري في محافظة اللاذقية من قرية بكسا التي تمتد فوق هضبة منبسطة متدرجة المستويات، وترتفع عن سطح البحر أكثر من 100 متر بقليل، وهو الموقع الذي تمت الإشارة إليه من قبل Moutterde [3].

جمعت الأزهار في منتصف شهر أيار عام 2019، أما الثمار فقد جمعت في أواخر شهر أيلول للعام نفسه. أجري البحث في مخبر العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة تشرين في الفترة الممتدة بين العامين 2019–2021.

2. حفظ العينات النباتية

بعد فصل الأوراق والأزهار والثمار عن الساق ودراسة شكلها وأبعادها وتنظيفها، تم حفظها بطريقتين:

- **الطريقة السائلة:** حفظت الأزهار ضمن عبوة بلاستيكية تحوي مثبت F.A.A (70 مل كحول ميتيلي + 20 مل فورمول + 10 مل حمض الخل) [30].
- **الطريقة الجافة:** جففت الأزهار في الظل لمدة أسبوعين على قماش قطني، وذلك بعد جمعها وتنظيفها، ثم وضعت في أكياس بلاستيكية، وسحب الهواء من الأكياس بواسطة جهاز السحب، وحفظت الأكياس في البراد في درجة حرارة 4 °م لحين الاستخدام. أما الثمار فقد وضعت بعد جمعها ضمن كيس قطني رقيق جداً، وعرضت لأشعة الشمس مباشرة، ليكتمل تفتحها، وتخرج البذور منها. ونظراً لصغر حجم البذور، والقذف بعيداً عن الثمرة أثناء التجفيف، فقد تم إغلاق الكيس لسهولة الجمع. تمت دراسة البذور مباشرة بعد التنظيف من الشوائب، ووضع المتبقي منها في البراد ضمن أكياس بلاستيكية لاستخدامها عند اللزوم.

3. معايرة المحتوى من الفلافونوئيدات

1.3. تحضير الخلاصة

استخلص 2 غ من أزهار نبات الوزال الجافة بواسطة 30 مل من الميتانول ذو التركيز 80%، وضعت الخلاصة على سخان كهربائي بدرجة حرارة 70 °م لمدة 15 دقيقة ثم رشحت باستخدام قمع الترشيح والقطن، وأكمل الحجم بواسطة الميتانول الى 30 مل [31]. كررت عملية الاستخلاص 3 مرات وعبر عن النتائج بالمتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري.

2.3. تحضير المحاليل المستخدمة

1.2.3. تحضير محلول الروتين العياري

وضع 20.1 ملغ من مسحوق الروتين العياري في بالون معايرة سعة 100 مل وأضيف 50 مل من الكحول الإيتيلي ذو التركيز 95%، استخدم جهاز الأمواج فوق الصوتية للمساعدة على تمام الانحلال ثم أكمل الحجم بالكحول الإيتيلي حتى خط العيار. بذلك تم الحصول على محلول عياري من الروتين تركيزه 0.2 ملغ/مل.

2.2.3. تحضير محلول كلوريد الألمنيوم سداسي الماء ذو التركيز (0.3M)

قمنا بوزن 3.62 غ من ($ALCl_3.6H_2O$) ونقلت إلى بالون معايرة سعة 50 مل يحوي القليل من الماء المقطر، وتم التحريك حتى تمام الانحلال وأكمل الحجم بعدها بالماء المقطر حتى خط العيار.

3.2.3. تحضير محلول نتريت الصوديوم ذو التركيز (0.5M)

قمنا بوزن 1.725 غ من ($NaNO_2$) ونقلت إلى بالون معايرة سعة 50 مل يحوي القليل من الماء المقطر، وتم التحريك حتى تمام الانحلال وأكمل الحجم بعدها بالماء المقطر حتى خط العيار.

4.2.3. تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو التركيز (1M)

قمنا بوزن 4 غ من (NaOH) ونقلت إلى بالون معايرة سعة 100 مل يحوي القليل من الماء المقطر، وتم التحريك حتى تمام الانحلال، وأكمل الحجم بعدها بالماء المقطر حتى خط العيار.

5.2.3. تحضير كحول إيتيلي بتركيز 50% انطلاقاً من إيتانول تركيزه 95%

قمنا بأخذ 52.6 مل من الإيتانول ذو التركيز 95% ونقل إلى بالون معايرة سعة 100 مل، وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

3.3. رسم السلسة العيارية

حضرت سلسلة عيارية من الروتين بتراكيز (0.01، 0.02، 0.03، 0.04، 0.05) ملغ/مل وفق التالي:

1. أخذ من محلول الروتين العياري الحجوم التالية: (1.25، 2.5، 3.75، 5، 6.25) مل الموافقة للتراكيز السابقة، ونقلت إلى بوالين معايرة سعة 25 مل.

2. تمت إضافة 7.5 مل من الإيتانول 50% إلى كل من البوالين السابقة.

3. ثم أضيف 0.75 مل من محلول نتريت الصوديوم $NaNO_2$ ذو التركيز 0.5M، وترك المزيج بهدوء لمدة 6 دقائق.

4. أضيف بعد ذلك 0.75 مل من محلول كلوريد الألمنيوم سداسي الماء $AlCl_3.6H_2O$ ذو التركيز 0.3M إلى المحلول السابق، وترك بهدوء لمدة 6 دقائق أخرى.

5. ثم أضيف 10 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH ذو التركيز 1M.

6. أكمل الحجم بالماء المقطر، وحرك البالون وترك بهدوء لمدة 15 دقيقة.

7. حضر محلول الشاهد (البلانك) وفق الخطوات السابقة تماماً ولكن بدون إضافة المادة المرجعية (الروتين).

قيست امتصاصية السلسة العيارية بواسطة جهاز مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 510 نانومتر، ورسم المنحني العياري المعبر عن تغير الامتصاصية بدلالة التركيز. تم أخذ ثلاثة مكررات لقيم الامتصاصية عند كل تركيز وحسب المتوسط الحسابي لها. أخذت الطريقة عن (Y B Ji *et al.*, 2017) مع إجراء التعديلات اللازمة على أحجام المحاليل المستعملة في تحضير السلسلة بما يتوافق مع سعة بوالين المعايرة المتوافرة [32].

4.3. فحص العينة

تم نقل 1 مل من الخلاصة إلى بالون معايرة سعة 25 مل وأضيفت الكواشف والمواد المستعملة بتحضير السلسة العيارية باستثناء الروتين العياري بنفس الكميات والترتيب تماماً، ثم قيست امتصاصية العينة بواسطة جهاز مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 510 نانومتر، وحسب تركيز الفلافونوئيدات في العينة بالاعتماد على معادلة المنحني العياري. يتم التعبير عن المركبات الفلافونوئيدية بكمية الروتين المكافئة في 1 غ وزن جاف ($mg\ R.E/g_{\ d.w}$) [32].

5.3. اختبار الدقة: قيست امتصاصية العينة 3 مرات عند طول موجة 510 نانومتر، وحسب الانحراف المعياري النسبي (RSD: relative standard deviation).

6.3. اختبار الثباتية: قيست امتصاصية العينة بشكل متواصل كل 10 دقائق لمدة ساعة، وحسب الانحراف المعياري النسبي.

7.3. اختبار التكرارية: استخلصت الفلافونوئيدات الكلية 3 مرات، وقيست امتصاصية كل خلاصة، وحسب الانحراف المعياري النسبي.

4. معايرة المحتوى الفينولي الكلي

1.4. تحضير الخلاصة الفينولية

تم الاعتماد في دراستنا على البروتوكول الذي أعطى أفضل مردود في دراسة (YOUSEF., 2014) [33]، حيث تمت دراسة عدة عوامل على مردود عملية الاستخلاص منها درجة الحرارة، وزمن الاستخلاص ووجد أن البروتوكول المطبق في هذه الدراسة أعطى أفضل النتائج.

تم استخلاص 3 غ من أزهار نبات الوزال الجافة بواسطة 70 مل من الإيتانول ذو التركيز 95%، وضعت الخلاصة على سخان كهربائي بدرجة حرارة 70°م لمدة 30 دقيقة من بدء الغليان بوجود محرك مغناطيسي يؤمن 600 دورة بالدقيقة ومبرد صاعد، ثم رشحت باستخدام قمع الترشيح والقطن.

2.4. تحضير المحاليل المستخدمة

1.2.4. تحضير محلول أم من حمض الغالي تركيزه (100ملغ/100مل)

تم وزن 100 ملغ من حمض الغالي، ونقلها إلى بالون معاير سعة (100 مل)، ومن ثم إضافة إيتانول 95% حتى خط العيار.

2.2.4. تحضير محاليل السلسة العيارية

تم تحضير محاليل بتراكيز متدرجة من حمض الغالي ممددة بالإيتانول 95 % من المحلول العياري الأم ذي التركيز (100ملغ/100مل) المحضر أيضا بالإيتانول 95 %. حضرت التراكيز التالية:

(0-5-10-20-30-40-50-60-70-80-90-100) ملغ/100مل، وذلك بأخذ حجوم محددة من المحلول الأم، ونقلها إلى بوالين معايرة سعة 25 مل، ومن ثم إكمال الحجم بإضافة الإيتانول 95% حتى خط العيار.

3.2.4. تحضير محلول كربونات الصوديوم 2%

قمنا بوزن 1 غ من كربونات الصوديوم، ونقلها إلى بالون معايرة سعة 50 مل يحوي القليل من الماء، وتمت إضافة الصود الى الماء مع التحريك حتى تمام الانحلال، وأكمل الحجم بعدها بالماء المقطر حتى خط العيار.

4.2.4. تحضير كاشف الفولين سيكالتو (الفولين-دينيس)

تم استخدام كاشف الفولين- دينيس (تنغستات الصوديوم مع حمض الفوسفومولبيدي في وسط من حمض الفوسفور) بعد تمديده بالماء المقطر بنسبة 1:10 حيث يشكل مع المركبات الفينولية معقدات ذات لون أزرق تملك امتصاصية أعظمية في المجال المرئي عند طول موجة 750 نانومتر [34].

5.2.4. إجراء التفاعل وقراءة الامتصاصية لمحاليل السلسلة العيارية

يضاف أولاً إلى كل محلول من محاليل السلسلة محلول كربونات الصوديوم (2%) بنسبة (2:0.1)، وبعد انتظار لمدة 10 دقائق يضاف كاشف الفولين إلى كل محلول بنسبة (1:1)، ويترك المزيج في الظلام لمدة 15 دقيقة، ثم تقاس امتصاصية المعقد الأزرق اللون الناجم عن أكسدة المركبات الفينولية بكاشف الفولين، عند طول موجة 750 نانومتر

باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي، مقابل الناصع الذي يتكون من محلول كربونات الصوديوم وكاشف الفولين الممدد.

6.2.4. فحص العينة

تم أخذ 0.1 مل من الخلاصة الفينولية المحضرة، وأضيفت الكواشف والمواد المستعملة بتحضير السلسة العيارية باستثناء المحلول العياري بنفس الكميات والترتيب تماماً، ثم قيست امتصاصية المعقد الأزرق الناتج عند طول موجة 750 نانومتر باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي، مقابل الناصع، وحسب تركيز الفينولات الكلية في العينة بالاعتماد على معادلة المنحني العياري. يتم التعبير عن المركبات الفينولية بكمية حمض الغالي المكافئة في 1غ وزن جاف (mg Gallic A.E/$g_{d.w}$) [35].

5. دراسة المحتوى القلويدي

تم الاعتماد على الاستخلاص القلوي (الأساسي) الذي يعتبر الطريقة العامة والأفضل للحصول على قلويدات الكينوليزيدين من نبات الوزال [24].

1.5. تحضير خلاصة قلويدية من بذور نبات الوزال المجففة

تم وزن 20 غ من مسحوق بذور الوزال الجافة ونقلت إلى بيشر، ثم أضيف إليها 100 مل من محلول النشادر 10% ونقعت لمدة يومين، بعد النقع اللازم رشحت الخلاصة النباتية باستخدام مرشحة قطنية، ثم نقلت الرشاحة إلى قمع الفصل، وأضيف إليها 50 مل كلوروفورم مع التحريك المناسب. تم أخذ الطبقة الكلوروفورمية السفلية لتطبق عليها الدراسة.

2.5. تحضير خلاصة قلويدية من أزهار نبات الوزال المجففة

تم وزن 5 غ من مسحوق أزهار الوزال الجافة ونقلت إلى بيشر، وأضيف إليها 100 مل من محلول النشادر 10% ونقعت لمدة يومين، بعد النقع اللازم رشحت الخلاصة النباتية باستخدام مرشحة قطنية، ثم نقلت الرشاحة إلى قمع الفصل وأضيف إليها 50 مل كلوروفورم، بعد الفصل تم أخذ الطبقة الكلوروفورمية السفلية لتطبق عليها الدراسة.

3.5. التحري عن وجود بعض القلويدات باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

1.3.5. تحضير الكواشف المستعملة [31]

- **كاشف واغنر:** تم حل 0.6 غ يود بوتاسيوم مع 10 مل محلول اليود 0.1N، وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى 100 مل. يعتبر كاشف واغنر من الكواشف الخاصة بالقلويدات.
- **كاشف الفانيلين:** يحضر بمزج كميات متساوية من محلول 1% من الفانيلين الإيتانولي، ومحلول 10% من حمض الكبريت الإيتانولي. ترش الصفيحة بالكاشف، ومن ثم تسخن للدرجة 110 °م لمدة 5−10 دقائق حيث تظهر بقع المركبات التي يمكن رؤيتها بالعين المجردة.

2.3.5. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

أجري التحليل على صفائح (Silica gel 60 F_{254}; 5 cm x 10 cm, Merck Germany)، وباستعمال طور متحرك مكون من مزيج من الكلوروفورم− الميتانول− النشادر 25% بنسبة (1:14:85)، وهو ذات النظام المستخدم في تحديد قيم ال R_F المرجعية الموضحة في الجدول رقم (1)، والمعتمد عليها في التحري عن قلويدات نبات الوزال في دراستنا [36]. تم إظهار البقع باستخدام كل من كاشفي واغنر والفانيلين. كررت عملية الترحيل 3 مرات لكل خلاصة مع كلا الكاشفين، وحسب المتوسط الحسابي لقيم ال R_F الناتجة.

الجدول رقم (1): قيم عامل الإعاقة R_F المرجعية لبعض القلويدات الكينوليزيدينية

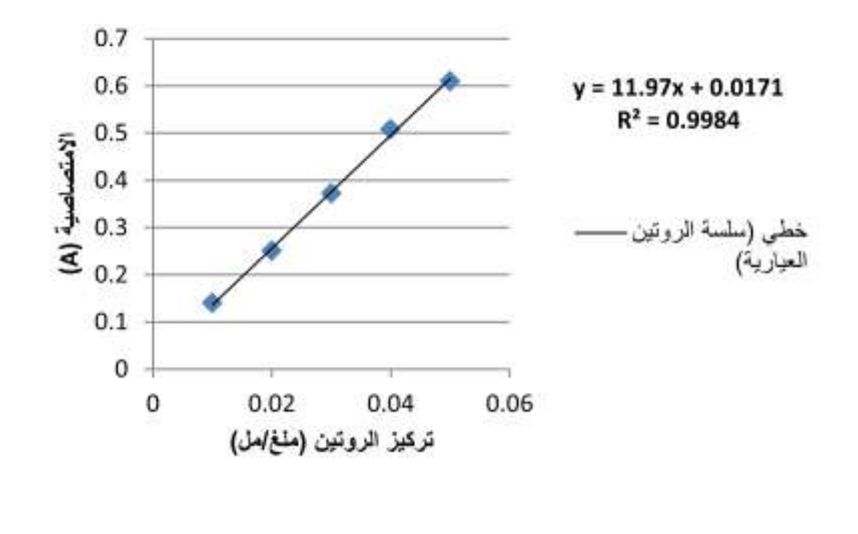
اسم القلويد	قيمة ال R_F
Anagyrine الأنجرين	0.69
Cytisine السيتزين	0.28
N-methylcytisine ميتيل السيتزين –N	0.61
Sparteine السبارتئين	0.08

النتائج والمناقشة

1. معايرة الفلافونوئيدات

1.1. السلسلة العيارية

تم قياس امتصاصية محاليل السلسلة العيارية المحضرة اعتباراً من المحلول الأم بتمديدات متدرجة عند طول موجة 510 نانومتر. تبين برسم الامتصاصيات الناتجة بدلالة التراكيز المحضرة، أنها معادلة خط مستقيم ($y = 11.97x + 0.0171$) بمعامل تحديد $R^2 = 0.9984$ كما هو موضح بالشكل رقم (1).



الشكل رقم (1): سلسلة عيارية من الروتين

1.2. تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفلافونوئيدية

بلغ المحتوى الفلافونوئيدي في أزهار نبات الوزال (0.715 ملغ مكافئ روتين/غ وزن جاف).

تعد نتائج بعض الدراسات المتعلقة بالمحتوى الفلافونوئيدي للوزال مختلفة عن النتيجة التي تم التوصل إليها في الدراسة الحالية حيث بلغ 45.55 ملغ مكافئ روتين/غ خلاصة جافة [10]، و4.11 ملغ مكافئ كيرستين/غ خلاصة جافة [1]، ويفسر هذا الاختلاف بأن المحتوى الفلافونوئيدي في هذه الدراسات تم حسابه على أساس الخلاصة الجافة المركزة والمحضرة من مسحوق جميع الأجزاء الهوائية للوزال بينما تم حسابه في دراستنا على أساس الوزن الجاف وانطلاقاً من الأزهار فقط، بالإضافة للاختلاف بطريقة الاستخلاص، وبالتالي من المنطقي أن يوجد هذا الاختلاف

الواضح بين نتيجة هذه الدراسة ونتائج الدراسات السابقة. كما تلعب الظروف البيئية المختلفة وقدرة الفينولات على التفاعل مع المكونات الغذائية الأخرى، وتشكيل معقدات غير قابلة للذوبان دوراً هاماً في هذه الاختلافات [37].

1.3. اختبار الدقة: يظهر من الجدول رقم (2) أن المحتوى الكلي للفلافونوئيدات في العينة متساو نسبياً، وقيمة الانحراف المعياري النسبي صغيرة مما يعطي دقة جيدة للطريقة.

الجدول رقم (2): نتائج اختبار الدقة

العينة	الامتصاصية	المتوسط الحسابي	RSD%
1	0.602	0.008±0.593	%1.35
2	0.588		
3	0.589		

1.4. اختبار الثباتية: يظهر من الجدول رقم (3) أن نتائج قيم الامتصاصية المقاسة خلال أزمنة مختلفة ليست متباعدة كثيراً عن بعضها، ولا يحدث تغير معتبر في قيم الامتصاصية خلال ساعة. وبذلك يكون المعقد اللوني الناتج عن تفاعل الفلافونوئيدات مع الكاشف ثابت، و مناسب للتحليل الكمي.

الجدول رقم (3): نتائج اختبار الثباتية

الزمن (د)	الامتصاصية	المتوسط الحسابي	RSD%
15	0.602	0.006±0.595	%1.01
25	0.600		
35	0.592		
45	0.600		
55	0.589		
65	0.588		

1.5. اختبار التكرارية: يظهر من الجدول رقم (4) أن المتوسط الحسابي للمحتوى هو 0.715 ملغ/غ، وقيمة الانحراف المعياري النسبي هي 1.22%. مما يدل أن هذه التجربة تتمتع بتكرارية جيدة.

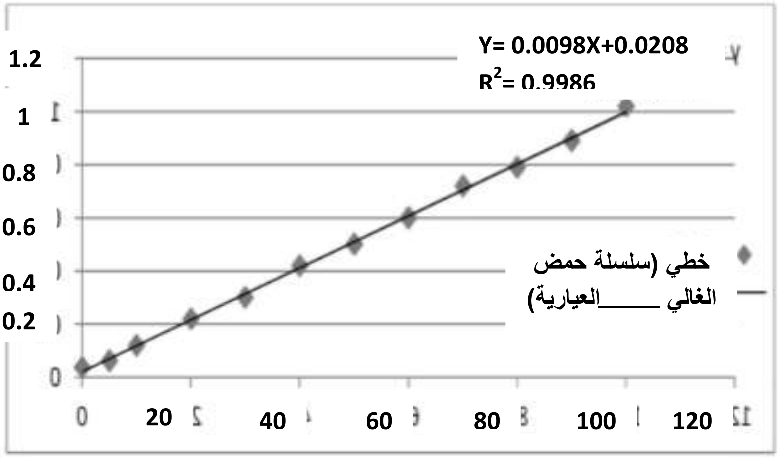
الجدول رقم (4): نتائج اختبار التكرارية

العينة	الامتصاصية	التركيز (ملغ/غ)	المتوسط الحسابي	RSD%
1	0.591	0.72	0.0087±0.715	%1.22
2	0.589	0.72		
3	0.580	0.705		

2. معايرة المحتوى الفينولي الكلي

1.2. السلسة العيارية

تم قياس امتصاصية محاليل السلسلة العيارية المحضرة اعتباراً من المحلول الأم بتمديدات متدرجة بعد تفاعلها مع كاشف الفولين بوسط من كربونات الصوديوم عند طول موجة 750 نانومتر بعد 30 دقيقة من بدء التفاعل. تبين برسم الامتصاصيات الناتجة بدلالة التراكيز المحضرة، أنها معادلة خط مستقيم (Y=0.0099x+0.020) بمعامل تحديد R^2 = 0.998 كما هو موضح بالشكل رقم (2).



الشكل رقم (2): سلسلة عيارية من حمض الغالي

2.2. تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية

يوضح الجدول رقم (5) نتائج معايرة المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في دراستنا وفي الدراسات المرجعية السابقة. يعزى هذا الاختلاف بين نتيجة هذه الدراسة ونتائج الدراسات السابقة إلى الأسباب المذكورة سابقاً في المعايرة الكمية للمركبات الفلافونوئيدية التي تشكل القسم الأكبر من المحتوى الفينولي الكلي في الوزال.

الجدول رقم (5): مقارنة نتائج معايرة المحتوى الكلي من المركبات الفينولية

المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في عينة الأزهار المدروسة	المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في الدراسات المرجعية
7.45 ملغ مكافئ حمض الغالي /غ وزن جاف من أزهار الوزال	8.61 ملغ مكافئ حمض الغالي/غ خلاصة جافة محضرة انطلاقاً من 10 غ من مسحوق للأجزاء الهوائية للوزال [1]
	71.8095 ملغ مكافئ حمض الغالي/غ خلاصة جافة محضرة انطلاقاً من 100 غ من مسحوق لأغصان الوزال [13]
	46.3 ملغ مكافئ حمض الغالي/غ خلاصة جافة محضرة انطلاقاً من 10 غ من مسحوق للأجزاء الهوائية [10]

3. الكشف عن القلويدات

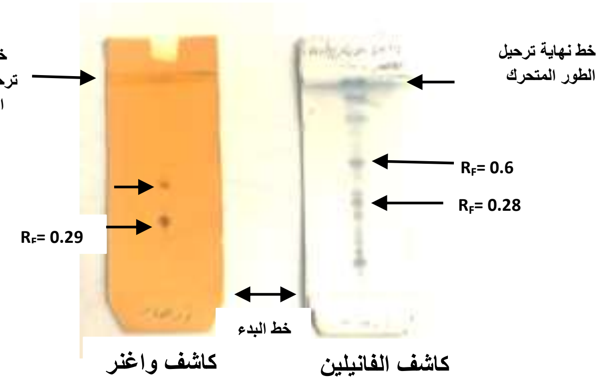
أظهرت خلاصة الأزهار بقعتين على صفيحة ال TLC عند تطبيق كاشف واغنر، حيث بلغت قيم ال R_F لكل من البقعة الأولى والثانية 0.29 و0.59 على الترتيب، وهي قريبة جداً قيم ال R_F المرجعية المقابلة للسيتزين وN- ميتيل السيتزين التي تبلغ 0.28 و0.61 على التوالي والموضحة في الجدول رقم (1). كما أظهر استعمال كاشف الفانيلين على الصفيحة وجود عدد كبير من البقع (حوالي 12 بقعة)، منها بقعتان تمتلكان قيم R_F قريبة جداً من نظيرتها المرجعية للسيتزين، وN- ميتيل السيتزين.

أظهرت خلاصة البذور بقعتين عند تطبيق كاشف واغنر، وقد كانت قيم ال R_F لكل من البقعة الأولى والثانية 0.3 و0.58 على الترتيب، والتي تعد بدورها قريبة جداً من قيم ال R_F المرجعية المقابلة للسيتزين وN- ميتيل السيتزين. كما أظهرت عدة بقع (حوالي 7 بقع) مع كاشف الفانيلين، منها بقعتان تمتلكان قيم R_F قريبة جداً من قيم عامل إعاقة السيتزين، وN- ميتيل السيتزين المرجعية، وكانت البقعة الأكثر وضوحاً للسيتزين الذي يعد قلويد البذور الأساسي [26].

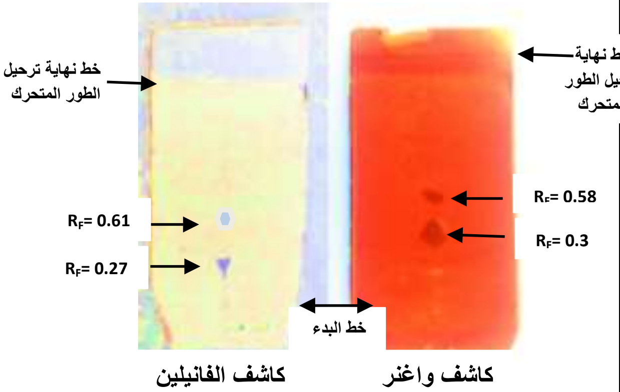
يمكن أن نفترض مبدئياً أن خلاصات أزهار وبذور الوزال تحتوي على السيتزين، وN- ميتيل السيتزين، بينما لم تكشف الطريقة التحليلية المتبعة عن وجود الأنجرين والسبارتئين. يشكل افتراض عدم وجود السبارتئين جواباً للمشكلة البحثية السابقة الذكر، وقد يعزى عدم وجوده إلى تأثير التغيرات الفصلية، البيئة المحيطة، والجزء النباتي المستعمل على المحتوى القلويدي في النباتات [26]، وقد ينسب سبب تصنيفه من قبل بعض المراجع من ضمن قلويدات الوزال الرئيسية إلى خطأ في تحليله بسبب التشابه البنيوي الكبير بين قلويدات الكينوليزيدين [38].

يعد السيتزين من القلويدات ذات الخصائص العلاجية الهامة، ونذكر منها فعاليته المساعدة في الإقلاع عن التدخين بسبب حجبه لمستقبلات النيكوتين المحررة للدوبامين، وهو مسوق تجارياً لهذه الغاية تحت اسم TABEX® [39]، ولكنه أيضاً من القلويدات السامة جداً عند تجاوز الجرعة الآَمنة بسبب امتصاصه الفوري من قبل السبيل الهضمي وتوزعه السريع إلى الكبد والكلى وتسببه بشلل تنفسي في الحالات الشديدة، وقد وردت عدة تقارير عن حالات تسمم شائعة حدثت نتيجة تناول بذور الوزال المحتوية على السيتزين الذي نسب له التأثير السمي [40]، لذلك ينصح بعدم الإفراط الشديد في شرب منقوع الأزهار المستخدم بشكل شعبي شائع لتحسين عملية الهضم وعلاج القرحة المعدية لاحتوائه على السيتزين.

وجود قلويدات الكينوليزيدين في الوزال يضفي قيمة تشخيصية هامة يستفاد منها في الدراسات التصنيفية للنبات [26]. فبالرغم من التشابه الشكلي الكبير جداً والخلط الشائع لغير الخبراء بين نبات الوزال الأسي *Spartium Junecum* L. واللزان المكنسي *Cytisus Scoparius* L. المنتمي للفصيلة البقولية أيضاً [2]، يظهر تباين كبير بالمحتوى القلويدي بينهما، حيث يشكل قلويد السبارتئين ومشتقاته المركبات الرئيسية لقلويدات الكينوليزيدين المستخلصة من اللزان [41].



الشكل رقم (3): بقع خلاصة الأزهار على صفيحة ال TLC



الشكل رقم (4): بقع خلاصة البذور على صفيحة ال TLC

الاستنتاجات والتوصيات

أظهرت نتائج هذا البحث أن الخلاصات الكحولية لأزهار نبات الوزال تحوي على كميات هامة نسبياً من المركبات الفينولية والفلافونوئيدية. كما يمكننا أن نفترض مبدئياً أن خلاصات أزهار وبذور الوزال تحتوي على السيتزين، و-N ميتيل السيتزين، بينما لم تكشف الطريقة التحليلية المتبعة عن وجود الأنجرين والسبارتئين. قد يكون الافتراض القائم على عدم وجود السبارتئين جواباً للمشكلة البحثية التي صادفناها وهي اعتباره من القلويدات الرئيسية للوزال من قبل بعض المراجع إلى جانب السيتزين، N- ميتيل السيتزين والأنجرين.

توفر هذه النتائج معلومات مفيدة عن مجموعة هامة من المستقلبات الثانوية الفعالة من أجل إجراء الدراسات المخبرية (*in vitro*) وعلى الجسم الحي (*in vivo*) لتحديد الإمكانيات الطبية لهذا النبات، ومنه دراسة إمكانية وضع الخلاصات المحضرة منه في مستحضرات صيدلانية مناسبة للاستعمال البشري، وتسلط الضوء على أهمية إجراء دراسات موسعة أكثر عن كافة المستقلبات الثانوية الفعالة في نبات الوزال وخاصة القلويدات، والانطلاق من هذا البحث كحجر أساس لإجراء الدراسات العلمية على نباتات أخرى غير مدروسة محلياً.

References:

[1] WAFA, N. *Antioxidant and anti-inflammatory activities valorisation of methanol extract of two Fabaceae (Genesta pseudo-pilosa and Spartium junceum L) growth in East of Algeria*. Int. J. Chem, Pharm, Sci. 7(3), 2019, 60-63.

[2] CRONQUIST، A. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, N.Y، 1981، 1262. (in: classification of plants, AL sahar F K.1997).

[3] MOUTERDE, P. *Nouvelle Flore de Liban et de La Syrie.* Tome Second, Atlas, DAR EL-MACHREQ, Beyrouth, 1970

[4] ZOHARY, M. *Flora Palaestina, Part 2, Text Platanaceae to Umbelliferae*. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 1972.

[5] JAFRI, S. & EL-GADI, A. *Flora of Libya. 60, Mimosaceae*. Al Faateh University, Dept. of Botany, Tripoli, 1978.

[6] POST, G.E. & DINSMORE, J.E. *Flora of Syria, Palestine and Sinai: a handbook of the flowering plants and ferns, native and naturalized from the Taurus to Ras Muhammad and from the Meditarranean sea to the Syrian desert*. 2nd ed, American press, Beirut, 1932.

[7] CARMONA, M. D.; LLORACH, R.; OBON, C.; RIVERA, D. *Zahra, a Unani multicomponent herbal tea widely consumed in Syria: components of drug mixtures and alleged medicinal properties*. Journal of ethnopharmacology, 102(3), 2005, 344-350.

[8] YEŞILADA, E. & TAKAISHI, Y. A. *saponin with anti-ulcerogenic effect from the flowers of Spartium junceum*. Phytochemistry, 51(7), 1999, 903-908.

[9] YEŞILADA, E.; TAKAISHI, Y.; FUJITA, T.; SEZIK, E. *Anti-ulcerogenic effects of Spartium junceum flowers on in vivo test models in rats*. Journal of Ethnopharmacology, 70(3), 2000, 219-226.

[10] ZENGIN, G.; MAHOMOODALLY, M. F.; PICOT-ALLAIN, C. M. N.; CAKMAK, Y. S.; UYSAL, S.; AKTUMSEK, A. *In vitro tyrosinase inhibitory and antioxidant potential of Consolida orientalis, Onosma isauricum and Spartium junceum from Turkey*. South African Journal of Botany. 120, 2019, 119-123.

[11] MENGHINI, L.; MASSARELLI, P.; BRUNI, G.; PAGIOTTI, R. *Anti-inflammatory and analgesic effects of Spartium junceum L. flower extracts: a preliminary stud*y. Journal of medicinal food, 9(3), 2006, 386-390.

[12] DUMAN, R.; DOĞAN, H.H.; KARAKIŞ, H. *Antiviral Activity of Spartium Junceum against Herpes Simplex Virus Type 1: an in-vitro study*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(7), 2019, 3274-3282.

[13] HABIBATNI, S.; MICELI, N.; GINESTRA, G.; MAAMERI, Z.; BISIGNANO, C.; CACCIOLA, F.; ... & MICELI, N. *Antioxidant and antibacterial activity of extract and phases from stems of Spartium junceum L. growing in Algeria*. International Journal of Phytomedicine, 8 (1), 2016, 37-46.

[14] ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACEDO, R. O.; BARBOSA-FILHO, J. M. *A review of natural products with antileishmanial activity*. Phytomedicine, 12(6-7), 2005, 514-35.

[15] ABUSAMRA, Y. A. K.; SCURUCHI, M.; HABIBATNI, S.; MAAMMERI, Z.; BENAYACHE, S.; D'ASCOLA, A.; ... & SPINA, E. *Evaluation of putative cytotoxic activity of crude extracts from Onopordum acanthium leaves and Spartium junceum flowers against the U-373 glioblastoma cell line*. Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 28(4), 2015.

[16] KATOVIĆ, D.; KATOVIĆ, A.; KRNČEVIĆ, M. *Spanish Broom (Spartium junceum L.)—History and Perspective*. Journal of Natural Fibers, 8(2), 2011, 81-98.

[17] JURADIN, S.; BOKO, I.; GRUBEŠA, I. N.; JOZIĆ, D.; MRAKOVČIĆ, S. *Influence of harvesting time and maceration method of Spanish Broom (Spartium junceum L.) fibers on mechanical properties of reinforced cement mortar*. Construction and Building Materials. 225, 2019, 243-255

[18] GENDERS, R. *Scented Flora of the World*. Robert Hale, London, 1994.

[19] CIRICO, T. L.; OMAYE, S. T. *Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation*. Food and Chemical Toxicology, 44(4), 2006, 510-516.

[20] SHAHIDI, F.; ZHONG, H. J.; AMBIGAIPALAN, P. *Antioxidants: regulatory status*. John Wiley & Sons, Inc, USA, 2015.
[21] COX, S. D.; JAYASINGHE, K. C.; MARKHAM, J. L. *Antioxidant activity in Australian native sarsaparilla (Smilax glyciphylla)*. Journal of ethnopharmacology, 101(1-3), 2005, 162-168.
[22] ABAD-GARCÍA, B.; BERRUETA, L. A.; LÓPEZ-MÁRQUEZ, D. M.; CRESPO-FERRER, I.; GALLO, B.; VICENTE, F. *Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices*. Journal of Chromatography A, 1154(1-2), 2007, 87-96.
[23] BUNSUPA, S.; YAMAZAKI, M.; SAITO, K. *Quinolizidine alkaloid biosynthesis: recent advances and future prospects*. Frontiers in plant science, 3, 2012, 239.
[24] BELSITO, E. L.; CHIDICHIMO, G.; DI GIOIA, M. L.; LEGGIO, A.; LIGUORI, A.; PERRI, F.; SICILIANO, C. *Extraction of quinolizidine alkaloids in non-aqueous basic conditions: The case of Spartium junceum flowers*. *Chromatographia*, *68*(5), 2008, 345-349.
[25] BARBONI, L.; MANZI, A.; BELLOMARIA, B.; QUINTO, A. M. *Alkaloid content in four Spartium junceum populations as a defensive strategy against predators*. Phytochemistry, 37(4), 1994, 1197-1200.
[26] GREINWALD, R.; LURZ, G.; WITTE, L.; CZYGAN, F. C. *A survey of alkaloids in Spartium junceum L.(Genisteae-Fabaceae)*. Zeitschrift für Naturforschung C, 45(11-12), 1990, 1085-1089.
[27] BRUNETON, J. *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants.* Lavoiser, Paris + New York and Intercept Limited, Adnover (UK), 1995.
[28] VILLALPANDO-VARGAS, F.; & MEDINA-CEJA, L. *Sparteine as an anticonvulsant drug: Evidence and possible mechanism of action*. Seizure, 39, 2016, 49-55.
[29] AKBULUT, S.; & BAYRAMOGLU, M. M. *The trade and use of some medical and aromatic herbs in Turkey*. Studies on Ethno-Medicine, 7(2), 2013, 67-77.
[30] SASS, J. E. *Botanical Microtechnique*, (2nd ed.), Iowa State College Press, Ames IA, USA, 1951.
[31] WAGNER, H.; & BLADT, S. *Plant Drug Analysis*. Second Edition, Springer Dordrecht Heidelberg, London, New York, 2009.
[32] JI, Y. B.; RU, X.; YU, M.; WANG, S. W.; LU, L.; QIAO, A. N.; GUO, A. Z. *Extraction and determination of total flavonoids in jujube by alcohol extraction*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 100(1), 2017, 12054.
[33] YOUSEF, F. *Preparing of pharmaceutical forms of Urtica Dioica extract used in joint disease.* Tishreen University, Lattakia, Syria. 2014, 53.
[34] ALIAKBARLU, J.; KHALILI, S.; MOHAMMADI, S.; NAGHILI, H. *Physicochemical properties and antioxidant activity of Doshab (a traditional concentrated grape juice).* International Food Research Journal, 21(1), 2014, 367.
[35] SILVA, E. M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. F.; LARONDELLE, Y. *Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region*. Food chemistry, 101(3), 2007, 1012-1018.
[36] WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. (Eds.). *Thin layer chromatography in phytochemistry*. 1st Edition**,** CRC Press, 2008, 896.

[37] OUCHEMOUKH, N.; MADANI, K.; FALE, P. L.; SERRALHEIRO, M. L.; ARAUJO, M. E. M. *Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase*-1 and acetylcholinesterase activities. Industrial Crops and Products, 53, 2014, 6-15.
[38] DEWICK, M.P. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. 3rd Edition, John Wiley & Sons, Ltd, publication, UK, 2009.
[39] WANG, H.; XUE, H.; ZHANG, T.; WANG, S.; LUO, Y.; JIN, C. *Research Progress on Biological Activity of Cytisine*. Medicinal Plant, 10(2), 2019, 1-5.
[40] GIMÉNEZ, N.; MAGRO, N.; CORTÉS, N.; GUITART, R. *Poisoning after Ingestion of Spartium junceum seeds: dose-dependent effects in three boys*. The Journal of emergency medicine, 53(3), 2017, 41-44.
[41] GRESSER, G.; WITTE, L.; DEDKOV, V. P.; CZYGAN, F. C. *A survey of quinolizidine alkaloids and phenylethylamine tyramine in Cytisus scoparius (Leguminosae) from different origins*. *Zeitschrift für Naturforschung C, 51*(11-12), 1996, 791-801.