A chemical study of *Ostrya carpinifolia* scop widespread in Syria

Dr. Rim Salame*
Afraa Mansour **

(Received 8 / 7 / 2024. Accepted 3 / 9 / 2024)

□ ABSTRACT □

The aim of this research is to carry out a chemical study on *Ostrya carpinifolia*.
A phytochemical screening was performed on its' parts (leaves and fruiting cones) to evaluate the presence of some secondary metabolites, as well as assays for total phenol and flavonoid content. The phenol content was quantified according to the Folin-Ciocaltu method using Gallic acid (Ga) as standard, and the flavonoids content was quantified according to the Aluminium trichloride method using Rutin (R) as standard. Phytochemical tests revealed the presence of tannins, flavonoids, and cardiac glycosides, while alkaloids and saponins were absent in the studied parts of the plant. Methanolic extracts of leaves contained the highest level of total phenoles and flavonoids (35.29 mg Ga E/g $_{DW}$ and 1.13 mg R E/g $_{DW}$, respectively), while the contents of phenoles and flavonoids in fruiting cones were (5.67 mg Ga E/g $_{DW}$, 0.3 mg R E/g $_{DW}$, respectively).

Key words: *Ostrya carpinifolia* scop, Fruting cones, Cardiac glycosides, Phenol content, Flavonoid content.

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

***Professor, Pharmacognosy department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria rim.salama@tishreen.edu.sy**
****Postgraduate Student, Pharmaceutical chemistry and Quality control department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria afraa.adnan.mansoor@tishreen.edu.sy**

دراسة كيميائيّة لنبات الشرد (الصلع) *Ostrya carpinifolia* scop المنتشر في سورية

د. ريم سلامه*

عفراء منصور**

(تاريخ الإيداع 8 / 7 / 2024. قبل للنشر في 3 / 9 / 2024)

□ ملخّص □

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة كيميائيّة لنبات الشرد (الصلع): الكشف عن وجود بعض المستقلبات الثانوية، بالإضافة إلى معايرة المحتوى الكلّي للمواد الفينوليّة والفلافونوئيدات ضمن أجزاء النبات (الأوراق والمخاريط الثمرية). تمّ تحديد المحتوى الكلّي للمواد الفينولية بالاعتماد على طريقة الفولين سيكالتو باستخدام حمض العفصGallic acid كعياري، بينما تمّ تحديد المحتوى الكلّي للفلافونوئيدات بالاعتماد على طريقة كلور الألمنيوم الثلاثي باستخدام الروتين Rutin (R) كعياري. أظهرت التفاعلات الكيميائية وجود المواد الفلافونوئيدية، العفصيّة والغليكوزيدات القلبيّة، وعدم وجود السابونينات والقلويدات ضمن الأجزاء النباتيّة المدروسة. احتوت الخلاصات الميثانوليّة للأوراق الكميّة الأكبر من المواد الفينوليّة والفلافونوئيدات حيث بلغت 35.29 مغ مكافئ لحمض العفص/ غ وزن جاف، و1.13 مغ مكافئ للروتين/غ وزن جاف، على الترتيب، بينما بلغ المحتوى الكّلي للمواد الفينولية والفلافونوئيدات ضمن المخاريط الثمرية 5.67 مغ مكافئ لحمض العفص/ غ وزن جاف، و0.3 مغ مكافئ للروتين/غ وزن جاف، على الترتيب.

الكلمات المفتاحية: الشرد (الصلع)، المخاريط الثمريّة، الغليكوزيدات القلبيّة، محتوى الفينولات، محتوى الفلافونوئيدات.

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

* مدرّس، قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، سورية rim.salama@tishreen.edu.sy

** طالبة ماجستير، قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة جامعة تشرين، سورية afraa.adnan.mansoor@tishreen.edu.sy

مقدمة:

يتّصف نبات الشرد بأنّه أحادي المسكن monoecious، ينتمي للفصيلة البتوليّة Betulaceae، ويمثّل شجرة متساقطة الأوراق، صغيرة أو متوسّطة الحجم ولكن يمكن أن يصل طولها إلى 25 m [1].

يُطلق عليه أيضاً اسم *European Hophornbem* لأنّ ثماره تشبه ثمار (المخاريط المؤنثة) نبات حشيشة الدينار *humulus lupulus*.

الموطن الأصلي لنبات الشرد هو منطقة غرب أوراسيا المعتدلة، حيث ينتشر في مناطق أوروبا الوسطى (جنوب النمسا وجنوب شرق سويسرا)، جنوب أوروبا (جنوب شرق فرنسا، إيطاليا، سردينيا وصقلية)، منطقة البلقان (غالباً منقرض في المجر)، تركيا، سوريا، لبنان ودول القوقاز[1].يشكّل نبات الشرد جزءاً من الغابات المنتشرة غرب سوريا[2]، حيث ينتشر بشكل عفوي في بعض مناطق ريف اللاذقية، سهل الغاب وطرطوس.

يُوجد هذا النبات غالباً في المناطق الرطبة الماطرة (كالوديان العميقة الرطبة) ويمكنه العيش في المناطق الدافئة والمشمسة، ويتميّز بقدرته على تحمّل الجفاف لذلك ينتشر أيضاً في الأراضي المدرّجة الجافّة، وينمو غالباً في المناطق الصخريّة الكلسيّة والبركانيّة، ضمن التربة الضحلة الفقيرة [1 , 3].

يمكن بسبب قدرة نبات الشرد على العيش في المناطق الجافّة والتربة الفقيرة، استخدامه لإعادة تشجير الغابات والأراضي المدرّجة، لتشكيل سياج، وأيضاً كنبات للزينة على جوانب الطرق[1].

لاتوجد أي استخدامات طبيّة لنبات الشرد، إنّما يمكن الاستفادة من أخشابه حيث يستخدم بشكل رئيسي لتأمين الحطب والفحم، بينما لايفضّل استخدامه للأغراض الصناعية بسبب ثقل وقساوة أخشابه ويقتصر استخدامه على صناعة المواد الخشبيّة البسيطة كالمطارق، الأواني والمقابض[1 , 2].

تُعدّ الدراسات المرجعيّة العالميّة لهذا النبات نادرة، خاصّةً الدراسات المتعلّقة بالتركيب الكيميائي لمختلف أجزاء النبات وكذلك الأمر بالنسبة للدراسات المتعلّقة بتقصّي الفعالية الحيويّة له، فقد اقتصرت أغلب الدراسات المتوفّرة عن هذا النبات على تحديد التوزّع الجغرافي لغاباته، دراسة العوامل المحسّسة لغبار الطلع بالإضافة للدراسات التي أُجريت على أخشابه وتحديد خصائصها.

توجد دراسة كيميائيّة وحيدة لهذا النبات كشفت عن وجود بعض المستقلبات الثانويّة ضمنه، حيث أشارت إلى وجود الغليكوزيدات القلبية، المواد العفصية، الفلافونوئيدية، الكومارينية، الايمودين، والتربينوئيدية، وإلى عدم وجود في الخلاصات المحضرة من نبات الشرد سابونينات، أنتوسيانينات أو حموض دسمة.

1

4 3 2

الشكل رقم (1) نبات الشرد

(1)النبات بشكل كامل، (2) النورات المذكرة، (3) النورات المؤنثة ، (4) المخاريط الثمرية

أهميّة البحث وأهدافه:

- **أهميّة البحث:**

لايوجد لنبات الشرد أي استخدامات طبيّة مذكورة في المراجع، ولكن بسبب التشابه الكبير بين ثمار الشرد ومخاريط حشيشة الدينار يتم بيع وتداول نبات الشرد على أنّه نبات حشيشة الدينار من قبل العطّارين في سوريا بغرض الغش، وبالتالي يستخدمه الناس في مواضع استخدام نبات حشيشة الدينار كالخلطات العلاجية مثلاً أو لصناعة البيرة منزليّاً دون أن يعلموا بذلك، حيث يعتبر نبات حشيشة الدينار أساسيّاً في صناعة البيرة. تأتي أهمية البحث من كونه يُسلّط الضوء على هذا النبات غير الموصوف طبيّاً، ويشير إلى مدى خطورة الغش ببيعه على أنّه حشيشة الدينار، خاصّةً إذا كان هذا النبات يحتوي على بعض المستقلبات الثانوية التي لها آثار جانبية خطيرة على صحة الإنسان، حيث أنّ الدراسات المرجعيّة العالميّة حول هذا النبات تعتبر نادرة ولا توجد أي دراسة محلّية عنه.

- **أهداف البحث:**

يهدف البحث إلى تسليط الضوء على نبات الشرد *Ostrya Carpinifolia* Scop المنتشر بشكل عفوي في بعض مناطق سوريا ودراسته لأوّل مرّة محلّياً وذلك من خلال إجراء دراسات كيميائيّة عليه تتضمّن :

✓ الكشف العام عن بعض المستقلبات الثانوية الموجودة ضمن الأوراق والمخاريط الثمرية باستخدام التفاعلات اللونيّة.

✓ استخلاص المركّبات الفينوليّة الكلية والمركبات الفلافونوئيديّة من الأوراق والمخاريط الثمرية ومعايرتها كميّاً باستخدام مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer.

طرائق البحث ومواده:

2.1. مكان إجراء البحث:

تمّ العمل لإنجاز البحث في مخابر كلية الصيدلة والمعهد العالي لبحوث البيئة في جامعة تشرين.

2.2. المواد والأجهزة المستخدمة:

المواد المستخدمة: روتين عياري من المصدر TITAN BIOTECH LTD، كاشف الفولين سيكالتو من المصدر Chem-Lab NV، حمض العفص العياري من المصدر TITAN BIOTECH LTD، ميثانول مطلق، ايثانول 95%، وماء مقطّر حديثاً.

الأجهزة المستخدمة: ميزان ذو حساسية 0.001g PRECISA XB220A، طاحونة MOULINEX، سخان كهربائي LABINCO MODEL L32، حمام مائي K.F.T LAB.EQUIPMENT، مقياس الطيف الضوئي من نوع SHIMADZU.

3.2. جمع العيّنات وحفظها:

تمّ جمع الأوراق والمخاريط الثمرية لنبات الشرد (الصلع) من منطقة ضهر بيت ياشوط في ريف اللاذقية، حيث جمعت العيّنات في شهر تموز عام 2021. تمّ تجفيف كل جزء لوحده على قماش قطني في الظل لمدّة أسبوعين، ثمّ حفظت في أكياس قطنيّة في مكان بارد بعيداً عن الضوء والرطوبة لحين استخدامها، حيث تمّ طحنها عند الاستخدام.

4.2. تحضير المحاليل وطريقة العمل:

1.4.2. التفاعلات الكيميائيّة العامّة:

❖ **المحاليل المستخدمة في الكشف عن القلويدات:**

حمض كلور الماء الممدد HCl (1%) (V/V)، هيدروكسيد الصوديوم NaOH (10%) (W/V)، كاشف ماير، كاشف واغنر وكاشف حمض المر.

❖ **المحاليل المستخدمة في الكشف عن السابونينات:**

ايثانول (50%) (V/V)، حمض الكبريت المركز H_2SO_4، بلا ماء حمض الخل، حمض كلور الماء المركز HCl، وكبريتات النحاس (10%) (W/V).

❖ **المحاليل المستخدمة في الكشف عن الفلافونوئيدات:**

ايثانول (70 %) (V/V)، كلوروفورم، ايثانول 95%، وحمض كلور الماء المركز HCl

❖ المحاليل المستخدمة في الكشف عن المواد العفصيّة (التانينات):

كلور الحديد الثلاثي الايثانولي $FeCl_3$ (5%) (W/V)، خلّات الرصاص (10%) (W/V)، كربونات الصوديوم (5%) (W/V)، وحمض الخل الممدد.

❖ المحاليل المستخدمة في الكشف عن الغليكوزيدات القلبيّة:

ايثانول 50% (V/V)، خلات الرصاص 10% (W/V)، كلوروفورم. هيدروكسيد الصوديوم (2M)، محلول دي نتر بنزوئيك الايثانولي 3% (W/V) ، محلول حمض المر، محلول كلور الحديد الثلاثي(10%) (W/V)، حمض الخل الثلجي، وحمض الكبريت المركز

طرق تحضير الخلاصات وتطبيق الكواشف:

❖ الكشف عن القلويدات: [5,4]

الاستخلاص: تمّ وزن 1 g من المسحوق ثم أضيف له 10 ml من HCl الممدد، وتمّ التسخين لمدة ساعة بوجود مبرّد صاعد.

بعد الترشيح أضيفت للرشاحة بضع قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH 10% (W/V) حتى الحصول على وسط قلوي (انقلاب لون ورقة عباد الشمس إلى الأزرق).

نقلت الرشاحة إلى قمع فصل وأضيف 10 ml من الكلوروفورم وتمّ الاستخلاص بالتحريك بهدوء، ثم أخذت طبقة الكلوروفورم السفلية ووضعت ضمن أنبوب اختبار، وتمّ تبخير الكلوروفورم بالتسخين ضمن حمام مائي حتى الحصول على رسابة، وأخيراً أضيف للرسابة 3 ml من حمض كلور الماء الممدد.

تطبيق الكواشف: وضع 1ml من الخلاصة على زجاجة ساعة وأضيفت الكواشف التالية:

- ✓ كاشف ماير: يتشكل راسب أبيض في حال وجود القلويدات.
- ✓ كاشف واغنر: يتشكل راسب بني إلى أسود في حال وجود القلويدات.
- ✓ كاشف حمض المر: يتشكل راسب أصفر في حال وجود القلويدات.

❖ الكشف عن السابونينات: [6,4]

- **اختبار تشكل الرغوة:**

تمّ وزن 0.5 g من كل من الأوراق والمخاريط ووضع كل منها في أنبوب اختبار، ثم أضيف لها 10 ml من الماء الساخن لها وتمّ الرج بشدة بعد التبريد، حيث أنّه في حال وجود السابونينات يتشكل عمود من الرغوة قد يصل ارتفاعه إلى 10سم، ويبقى ثابتاً لايزول بإضافة حمض (يمكن لأي مادة فعالة على السطح إعطاء نتيجة إيجابية).

تحضير الخلاصة لتطبيق التفاعلات اللونية: تم وزن 0.5 g من كل من الأوراق والمخاريط والاستخلاص ب 10ml ايثانول 50% (V/V) مع التحريك لمدة 5 دقائق، تم الترشيح والحصول على الخلاصة لتطبيق التفاعلات اللونيّة التالية:

- **التفاعل مع حمض الكبريت المركّز وبلا ماء حمض الخل (تفاعل ليبرمان):**

أضيف ل1ml من الخلاصة عدة قطرات من حمض الكبريت المركز وعدة قطرات من بلا ماء حمض الخل، يتشكل لون أحمر في حال وجود السابونينات. (يكشف هذا التفاعل عن أي بنية ستيروئيدية)

- **تفاعل Zlatiks-Zak:**

أضيف ل 1 ml من الخلاصة بضع قطرات من حمض كلور الماء المركز وبضع قطرات من كبريتات النحاس (10%) (W/V). في حال وجود السابونينات يتشكّل معقد ملون لونه ثابت لمدة لاتقل عن نصف ساعة (يكشف هذا التفاعل عن المركبات الستيروئيدية وثلاثيات التربين).

ملاحظة: تعتبر التفاعلات السابقة غير نوعيّة للكشف عن السابونينات ولكن عند إيجابيتها جميعها يمكن التوجه لوجود السابونينات ضمن النبات.

❖ الكشف عن الفلافونوئيدات: [7,4]

تحضير الخلاصة: وضع 0.5g من المسحوق مع 10 ml من الايثانول الممدّد 70% (V/V) وتم التسخين بوجود مبرد صاعد لمدة 10 دقائق. بعد الترشيح نقلت الرّشاحة إلى قمع فصل وأضيف لها 5 ml من الكلوروفورم وذلك للتخلص من المواد اللّاقطبية المعيقة، ثمّ أخذت الطبقة الايتانولية السفلية.نقل 3 ml من الخلاصة إلى زجاجة ساعة وتمّ التجفيف حتى الحصول على الرسابة التي تم حلها ب 1 ml من الايثانول المطلق وأضيفت لها الكواشف التالية:

- **تفاعل شينودا Shinoda:** أضيف 0.1 g من مسحوق المغنزيوم وبضع قطرات من HCl المركز، حيث يتشكل لون أحمر بنفسجي في حال وجود الفلافونوئيدات.
- **تفاعل بيف:** أضيف 0.1 g من مسحوق الزّنك وبضع قطرات من HCl المركّز، حيث يتشكل لون زهري في حال وجود الفلافونوئيدات.

❖ الكشف عن المواد العفصية: [8,5,4]

- **التفاعل مع كلور الحديد الثلاثي:** وزن 0.5 g من المسحوق وأضيف له 5ml ايثانول مركز وتم التحريك لمدة 5دقائق ثم تم الترشيح. أضيف بعدها كاشف كلور الحديد الايثانولي 5% (W/V) للرشاحة، حيث يتشكل لون أزرق مسود أو بني مخضر في حال وجود المواد العفصية.
- **التفاعل مع خلات الرصاص:** وزن 0.5g من المسحوق و أضيف له 10 mlماء مقطر وتم التسخين لمدة 10 دقائق. بعد التبريد والترشيح ضُبط pH الرشاحة بين 8-6 باستخدام حمض الخل الممدد، ثم نقل 5 ml من الرشاحة إلى زجاجة ساعة وأضيف لها عدة قطرات من محلول خلات الرصاص 10% (W/V) ، حيث يتشكل راسب أبيض إلى بني في حال وجود المواد العفصية.

❖ الكشف عن الغليكوزيدات القلبية: [5,4]

تحضير الخلاصة: تمّ وزن 2g من المسحوق و أضيف له 20 ml ايثانول 50% (V/V) و 10 ml خلات الرصاص 10% (W/V) وتم التسخين لمدة 5 دقائق بوجود مبرّد صاعد. بعد التبريد والترشيح نقلت الرشاحة إلى قمع فصل وأضيف لها 20 ml كلوروفورم للاستخلاص، ثم أخذت الطبقة الكلوروفورمية السفلية و أضيفت لها كبريتات الصوديوم اللامائية وتم الترشيح للحصول على الخلاصة النهائية. وُضع كل 5ml من الخلاصة ضمن أنبوب اختبار وتم التجفيف على حمام مائي حتى الحصول على الرسابة التي طبقت عليها التفاعلات التالية:

- **التفاعلات التي تكشف عن حلقة اللاكتون الخماسية غير المشبعة (حلقة البوتينوليد):**

✓ **تفاعل Kedde:** أضيف للرسابة 2ml من محلول حمض دي نتروبنزوئيك الايثانولي3% (w/v)و 1ml من NaOH (2M) ، حيث يتشكل لون أحمر بنفسجي إلى أزرق بنفسجي بوجود الكاردينوليدات.

✓ **تفاعل Baljet:** أضيف للرسابة 2ml من محلول حمض المر، حيث يتشكل لون برتقالي في حال وجود الكاردينوليدات.

- **تفاعل Keller-kiliani للكشف عن السكر منقوص الأوكسجين:**

أضيف للرسابة 1 ml من حمض الخل الثلجي ثم بضع قطرات من محلول كلور الحديد الثلاثي وأضيف بهدوء وبدون مزج 1ml من حمض الكبريت المركز على جدران الأنبوب.

تتشكل ثلاث طبقات في حال وجود السكر منقوص الأوكسجين، العلوية بلون أخضر السفلية بلون بني والطبقة الفاصلة بينهما بلون بني محمر.

- **تفاعل Zlatiks-zak للكشف عن البنية الستيروئيدية :**

نفس الخطوات السابقة الموجودة في الكشف عن السابونينات.

ملاحظة: تعتبر التفاعلات السابقة غير نوعيّة للكشف عن الغليكوزيدات القلبية، ولكن عند ايجابيتها جميعها يمكن التوجه إلى وجود الغليكوزيدات القلبية ضمن النبات.

2.4.2. معايرة المحتوى الكلي من المواد الفينولية:

❖ المحاليل المستخدمة:

ايثانول 95%، ميثانول 80% (V/V)، كربونات الصوديوم 2% (W/V) ، كاشف الفولين سيكالتو الممدد بالماء المقطر بنسبة (10:1)، محلول أم من حمض العفص العياري Gallic acid بتركيز100mg/100ml بالايثانول95%.

❖ تحضير السلسلة العيارية لحمض العفص:

تمّ الاعتماد على الدراسة [9] في تحضير السلسلة العيارية ومعايرة الفينولات. حضّرت سلسلة عيارّية من حمض العفص بتراكيز mg/l (700, 500, 300, 200, 100,50) وفق التالي: أخذ من المحلول الأم الأحجام التالية: ml (17.5, 12.5, 7.5, 5, 2.5, 1.25) الموافقة للتراكيز السابقة ونقلت إلى بوالين معايرة سعة 25ml وأكمل الحجم بالايثانول 95% حتى خط العيار. أخذ 0.1ml من كل من البوالين السابقة ونقلت إلى أنابيب اختبار، وأضيف لكل منها 2 ml من محلول كربونات الصوديوم 2% (w/v) بنسبة (2:0.1) ووضعت بالظلام لمدّة 10 دقائق. أخذ 1.5ml من كل أنبوب وأضيف له 1.5 ml من كاشف الفولين الممدد، وترك المزيج بالظلام مدّة 15 دقيقة. حضر الناصع Blank بنفس الخطوات السابقة عدا إضافة محلول حمض العفص، وتمّ قياس امتصاصيّة المحاليل باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجة 750 nm و رسم المنحني العياري المعبّر عن تغيّر الامتصاصيّة بدلالة التركيز.

❖ **تحضير الخلاصات:** تمّ الاعتماد على الدراسة [10] في تحضير الخلاصات

خلاصة الأوراق: أضيف g 3 من المسحوق الجاف مع ml 20 ميثانول 80%، وتمّ التسخين باستخدام سخان كهربائي لمدة 15 دقيقة من بدء الغليان بوجود محرك مغناطيسي ومبرّد صاعد، ثم تمّ الترشيح بعد التبريد وأكمل الحجم بالميثانول 80% إلى 20ml.

خلاصة المخاريط: أضيف g 6 من المسحوق الجاف معml 30من الميثانول 80%وتم الاستخلاص باتّباع ذات الخطوات السابقة، ثمّ أكمل الحجم بعد الترشيح بالميثانول 80%إلى 30ml.

❖ **معايرة الخلاصات:**

تمّت معاملة الخلاصة كمحاليل سلسلة حمض العفص العيارية واتبعت ذات الخطوات السابقة، وتمّ حساب تركيز المواد الفينولية لكل عيّنة بالاعتماد على معادلة المنحني العياري. تمّ التعبير عن كمية المواد الفينوليّة بكمية حمض العفص Gallic acid المكافئة في 1g وزن جاف من النبات($mg\ Ga\ E/g_{DW}$).

3.4.2. معايرة المحتوى الكلي من الفلافونوئيدات:

❖ **المحاليل المستخدمة:**

ايثانول مطلق، ميثانول 80%، كلور الألمنيوم سداسي الماء $ALCL_3 6H_2O$ (W/V) (10%)، نتريت الصوديوم (W/V) (5%)، هيدروكسيد الصوديوم (W/V) (4.3%)، محلول أم من الروتين العياري بتركيز 160 mg/l بالميثانول 80%.

❖ **تحضير سلسلة الروتين العيارية:**

تم الاعتماد على الدراسة [11] مع إجراء تعديلات كتغيير نوع المحل المستخدم لتحضير المحلول الأم، وتعديل حجوم محاليل السلسلة بما يتناسب مع حجوم بوالين المعايرة المتوفرة بالمخبر.

حضّرت سلسلة عياريّة من الروتين بتراكيز mg/l (6.44، 12.88، 19.32، 32.2، 45.08، 51.52، 64.4) وفق الآتي: أخذ من المحلول الأم الأحجام التالية: ml (1، 2، 3، 5، 7، 8، 10) الموافقة للتراكيز السابقة ونقلت إلى بوالين معايرة سعة 25 ml وأضيف 4ml من الايتانول المطلق و1.5 ml من محلول نتريت الصوديوم 5% (W/V) وترك المزيج لمدة 6 دقائق، ثم أضيف1.25 mlمن محلول كلوريد الألمنيوم سداسي الماء(W/V) 10% إلى المحلول السابق وترك لمدة 6 دقائق، ثم 7.5 ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم 4.3% (W/V) ، وأكمل الحجم بالماء المقطر حتّى خط العيار مع تحريك البالون، ثم تمّ الانتظار لمدّة 15 دقيقة، حضّر محلول الناصع Blank وفق الخطوات السابقة دون إضافة محلول الروتين العياري. قيست امتصاصيّة محاليل السلسلة العيارية بواسطة جهاز مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometerعند طول موجة 498 nm ورسم منحني السلسلة العيارية المعبّر عن تغيّر الامتصاصيّة بدلالة التركيز.

❖ **تحضير الخلاصات النباتية:** تمّ الاستخلاص بالاعتماد على ذات الطريقة السابقة لاستخلاص المواد الفينولية [10].

خلاصة الأوراق: تمّ وزن g 0.5 من المسحوق الجاف وتمّ الاستخلاص باستخدام ml 20 من الميثانول 80%، بالتسخين باستخدام سخّان كهربائي لمدّة 15 دقيقة من بدء الغليان بوجود محرّك مغناطيسي ومبرّد صاعد، ثمّ تم الترشيح بعد التبريد، وأكمل الحجم بالميثانول 80% حتى ml 20.

خلاصة المخاريط: تمّ وزن2 g من المسحوق الجاف وأضيف له 30 ml ميثانول 80%، وتم الاستخلاص باتّباع ذات الخطوات السّابقة، ثمّ أكمل الحجم بعد الترشيح إلى 30 ml.

❖ **معايرة الخلاصات:**

نقل 1 ml من كل خلاصة إلى بالون معايرة سعة 25 ml وأضيفت ذات الإضافات السابقة في تحضير محاليل سلسلة الروتين العيارية، وحسبت تراكيز الفلافونوئيدات بالاعتماد على معادلة المنحني لسلسلة الروتين العياريّة وتمّ التعبير عن الفلافونوئيدات بكمية الروتين المكافئة في 1g وزن جاف من النبات(mg R E/g $_{DW}$).

النتائج والمناقشة:

التفاعلات الكيميائية العامة:

أظهرت نتائج التفاعلات الكيميائية العامة التي طبقت للكشف عن المستقلبات الثانوية ضمن أوراق ومخاريط نبات الشرد وجود المواد الفلافونوئيدية، العفصية والغليكوزيدات القلبية، وعدم وجود سابونينات أو قلويدات، الجدول رقم (1).

تتوافق النتائج التالية مع نتائج الدراسة المرجعيّة الوحيدة للكشف عن المستقلبات الثانوية ضمن نبات الشرد [12]، حيث أشارت الدراسة إلى وجود الغليكوزيدات القلبية، المواد العفصية، الفلافونوئيدية، الكومارينية، الايمودين، والتربينوئيدية، وإلى عدم وجود في الخلاصات المحضرة من نبات الشرد سابونينات، أنتوسيانينات أو حموض دسمة.

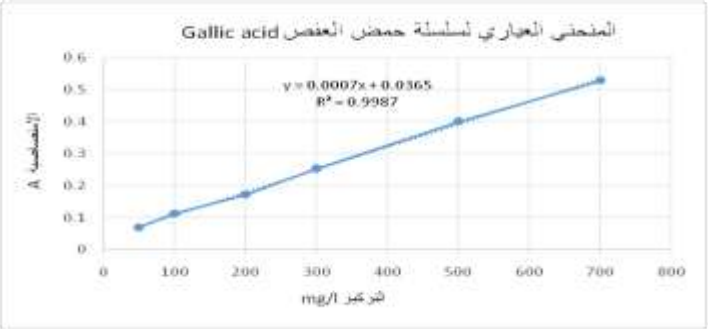
الجدول رقم (1): نتائج الكشف الكيميائي العام عن المستقلبات الثانوية

المستقلبات الثانوية	الكواشف أو التفاعلات	القسم المستخدم من النبات	
		الأوراق	المخاريط
القلويدات (−)	كاشف ماير	−	−
	كاشف واغنر	−	−
	كاشف حمض المر	−	−
السابونينات (−)	اختبار تشكل الرغوة	−	−
	تفاعل ليبرمان	+	+
	تفاعل Zlatiks-Zak	+	+
الفلافونوئيدات (+)	تفاعل شينودا	+	+
	تفاعل بيف	+	+
المواد العفصية (+)	التفاعل مع FeCl3	+	+
	التفاعل مع خلات الرصاص	+	+
الغليكوزيدات القلبية (+)	تفاعل Kedde	+	+
	تفاعل Baljet	+	+
	تفاعل Keller-kiliani	+	+
	تفاعل Zlatiks-Zak	+	+

معايرة المحتوى الكلي من المواد الفينولية:

- **السلسلة العيارية:**

قيست امتصاصيّة محاليل السلسلة العياريّة المحضرة انطلاقاً من محلول أم من حمض العفص بتراكيز متدرّجة، وذلك بعد تفاعلها مع كاشف الفولين بوسط من كربونات الصوديوم حيث ظهر معقد بلون أزرق، وتم قياس امتصاصية المعقد الأزرق الناتج عند طول موجة 750 nm. تبيّن برسم الامتصاصيّات بدلالة التراكيز أنّها معادلة خط مستقيم $y=0.0007x+0.0365$ بمعامل تحديد $R^2=0.9987$ كما هو موضح بالشكل رقم (2)



الشكل رقم (2) منحني السلسلة العيارية لحمض العفص

- **تحديد المحتوى الكلي من المواد الفينولية ضمن العينات النباتية:**

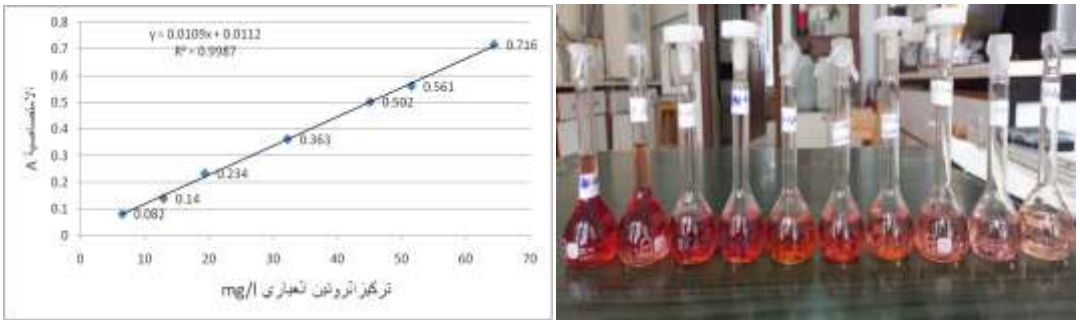
بلغ المحتوى الكلّي للمواد الفينوليّة في أوراق الشرد $_{DW}$ 35.29 mg Ga E/g، وضمن المخاريط الثمرية $_{DW}$ 5.67 mg Ga E/g، بينما أظهرت نتائج الدراسة المرجعية السابقة أنّ المحتوى الكلّي للمواد الفينوليّة في أوراق الشرد $_{DW}$ 35.574 mg CE/g ، وضمن المخاريط $_{DW}$ 21.338 mg CE/g [12]

تبدو النتائج متشابهة بالنسبة للأوراق بينما مختلفة بالنسبة للمخاريط، ويعود هذا الاختلاف لعدّة أسباب أهمّها اختلاف العياري المستخدم حيث استخدم حمض العفص في هذا البحث، بينما تمّ استخدام الكاتشين كعياري ضمن الدّراسة المرجعيّة، كما اختلفت طريقة الاستخلاص، طريقة المعايرة، الظروف المناخيّة وموعد قطاف النبات، مع الإشارة إلى أنّ الدراسة المرجعيّة لم تبين بشكل واضح هل المخاريط المدروسة زهرية أم ثمريّة

معايرة المحتوى الكلي من الفلافونوئيدات:

- **السلسلة العيارية:**

تمّ قياس امتصاصيّة محاليل السلسلة العياريّة المحضّرة انطلاقاً من المحلول الأم وذلك عند طول موجة 498 nm، وعند رسم الامتصاصيّة بدلالة التركيز، تبيّن أنّها معادلة خط مستقيم $y= 0.0109 x + 0.0112$ بمعامل تحديد $R^2 = 0.9987$، كما هو موضح بالشكل رقم (3)



(b)(a)

الشكل رقم (3) السلسلة العيارية للروتين
(a) محاليل السلسلة، (b) منحني السلسلة العيارية

- **تحديد المحتوى الكلّي من الفلافونوئيدات:**

بلغ المحتوى الكلي من الفلافونوئيدات في أوراق نبات الشرد 1.13 mg R E/g $_{DW}$، وفي المخاريط الثمرية 0.3 mg R E/g $_{DW}$. تختلف هذه النتيجة مع نتائج الدراسة المرجعية حيث بلغ محتوى الفلافونوئيدات في الأوراق 30.908 mg C E/g $_{DW}$ وضمن المخاريط 17.455 mg C E/g $_{DW}$ [12].

يفسر هذا الاختلاف بالنتائج باختلاف العياري المستخدم (استخدم الروتين كعياري للفلافونوئيدات في هذا البحث بينما تمّ استخدام الكاتشين بالدراسة المرجعيّة)، اختلاف طريقة الاستخلاص، طريقة المعايرة، الظروف المناخيّة، واختلاف موعد القطاف، مع الإشارة إلى أنّ الدراسة المرجعيّة لم تبيّن بشكل واضح هل المخاريط المدروسة زهرية أم ثمريّة.

الاستنتاجات والتوصيات:

- **الاستنتاجات:**

✓ تمّ الكشف عن بعض المستقلبات الثانوية الموجودة في نبات الشرد وهي: الغليكوزيدات القلبية، والمواد الفلافونوئيدية والعفصية.

✓ تعتبر التفاعلات الكيميائية المطبقة غير نوعية للكشف عن الغليكوزيدات القلبية، ولكن أعطت جميعها نتيجة إيجابية مما يشير إلى احتمالية وجود الغليكوزيدات القلبية وبالتالي نحن بحاجة إلى تقنيات أخرى لتأكيد وجودها كونها مستقلبات خطرة على صحة الإنسان.

✓ لوحظ أن المحتوى الكلي للمواد الفينولية والفلافونوئيدات هو في الأوراق أعلى من المخاريط الثمريّة.

- **التوصيات:**

✓ عزل المركبات التي تم الكشف عنها وتحديد هويتها ودراسة فعاليتها الحيوية.

✓ استخدام تقنيات كال HPLC وال Mass spectrometry للتأكيد على وجود الغليكوزيدات القلبية ضمن نبات الشرد وعزلها وتحديد هويتها.

✓ يجب الإبلاغ عن خطورة الاستبدال لنبات حشيشة الدينار بنبات الشرد خاصة إذا تم التأكيد على احتوائه للغليكوزيدات القلبية.

✓ الكشف عن وجود مستقلبات ثانوية أخرى ضمن النبات.

References

1. Pasta, S., D. de Rigo, and G. Caudullo, *Ostrya carpinifolia in Europe: distribution, habitat, usage and threats.* European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, 2016.

2. Korkut, S. and B. Guller, *Physical and mechanical properties ofEuropean Hophornbeam (Ostrya carpinifolia Scop.) wood.* Bioresource technology, 2008. **99**(11): p. 4780-4785

3. Piškur, B., et al., *Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae on declining Ostrya carpinifolia in Slovenia and Italy following extreme weather conditions.* European Journal of Forest Research, 2011. **130**: p. 235-249.

4. Monjed, Hassan. ; Agha, Mohammad., *Phytochemistry and extraction*. Khaled ben alwaleed printing office, Syria, 1996-1997, 357.

5. Shaikh, J.R. and M. Patil, *Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview.* International Journal of Chemical Studies, 2020. **8**(2): p. 603-608.

6. Youssef, A.I. and O. Mansour, *A Histological-chemical comparative study of two species of Inula (I. viscosa & I. graveolens) distributed in the Syrian coast.* Tishreen university Journal for Researsh and Scientific studies-Health Science Series, 2013. **35**(1): p.22 .

7. Yadav, R. and M. Agarwala, *Phytochemical analysis of some medicinal plants.* Journal of phytology, 2011. **3**.(12)

8. Savithramma, N., M.L. Rao, and D. Suhrulatha, *Screening of medicinal plants for secondary metabolites.* Middle-East Journal of Scientific Research, 2011. **8**(3): p. 579-584.

9. Ali, M., R. Salame, and D. Hmaidosh, *Studying the effect of some environmental factors on the phenolic content of Rhus cotinus L. (Jableh area)*.Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series, 2018. **40**(5): p. 13.

10. Salame, R. and R. Mahfoud, *A chemical study of some active secondary metabolites in Spartium Junecum L.*Tishreen University Journal. Health Sciences Series, 2021. **43**(4): p. 16.

11. Zhu, H., et al., *Analysisof flavonoids in Portulaca oleracea L. by UV–vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies.* Food Analytical Methods, 2010. **3**: p. 90-97.

12. Starčević, M., M. Subašić, and F. Pustahija, *Phytochemical screening, quantitative determination of phenolic compounds, and antioxidative activity of Ostrya carpinifolia.* Bulletin of the Chemists & Technologists of Bosnia & Herzegovina/Glasnik Hemičara i Tehnologa Bosne i Hercegovine, 2017.(19)