دراسة كيميائية ومجهرية لأجزاء مُختلفة من نبات *Echinops Polyceras* Boiss.، ودراسة تركيب الزيت العطري

عيسى العسّاف * ميس خازم **

الملخص

خلفيّة البحث وهدفه: تتميّز سورية بِغناها بالأنواع النباتيّة الطبيّة؛ بسببِ موقعها الجُغرافي، ومنها أنواعُ جنس *Echinops*. التي دُرس التركيبِ الكيميائيّ للعديد من أنواع هذا الجنس، والتي أظهرت احتواءها على فلافونوئيدات، وتيوفينات، وتربينوئيدات ،وقلويدات، وزيوت عطريّة، ومُعظم هذه المُركبات قد أظهر فعاليّات بيولوجيّة مُهمّة. ومن خلال قراءةِ الأدبيّات تبيّن أن نوع *E. polyceras* لم يكُن موضوع أي دراسة سابقة؛ سواء كيميائيّة أم مجهريّة؛ لذلك هدف بحثنا إلى إجراء دراسة كيميائيّة ومجهريّة لهذا النوع.

مواد البحث وطرائقه: جُنيت النبات من بلدةِ معرّة صيدنايا، ومن ثمّ تمَّ تجفيفها وتجزئتها إلى ثلاثة أجزاء هي: الرؤوس الزهرية والأوراق، والجذور، ومن ثمّ حُدِّدَت العناصر المجهريّة الخاصة بكلّ جزء. بعد ذلك أُجريت تفاعلات الكشف عن المُستقلبات الثانويّة. كما تمّ استحصال الزيت العطريّ، وتحليل مُكوناته باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازيّة المُقترن بمطياف الكتلة.

النّتائج: أظهرت نتائج التحرّي الكيفيّ احتواء الأجزاء الثلاثة على مُركبّات فينوليّة مثل: الفلافونوئيدات، والكومارينات، والسابونينات، مع غياب التانينات، والإنتراكينونات، والقلويدات، والغليكوزيدات القلبيّة. كما أظهرت نتائج استحصال، وتحليل الزيت العطري أنّ مردود الاستحصال 0.1% ، وتمّ التعرُّف على 32 مُركباً عطريّاً مُعظمها من أحاديات، وأحاديات ونصف التربين، وقد كان مُركّب Ar-turmerone هو المُركّب الأكثر وفرة بنسبة بلغت 64% تقريباً. وفيما يتعلّق بالدراسة المجهريّة حُدِّدتِ العناصر المجهريّة في كلٍّ من الرؤوس الزهريّة (حبّات الطلع، وألياف وحيدة الخلية مُتجمّعة) ، والأوراق (مسام من النمط غير المُنتظم ،وألياف شعريّة كثيفة) ،والجذور (ألياف، وخلايا مُتصلّبة).

الاستنتاج: تُعدُّ هذه الدراسة هي الأولى على نوع *E. polyceras* التي أثمرت عن تحديد التركيب الكيميائيّ لأجزاء مُختلفة من هذا النوع، وكذلك التركيب الكيميائيّ للزيت العطريّ، وتحديد العناصر المجهريّة لكلّ جزء. وقد توصّلنا فيها إلى تحديدٍ أوليّ للمُستقلبات الثانويّة، حيثُ احتوت الأجزاء الثلاثة على مُركبات فينوليّة مثل: الفلافونوئيدات، والكومارينات، وبناءً على ذلك يُمكن أن نتوقّع أنّ خُلاصات هذا النبات تمتلك خصائص مُضادة للأكسدة. كما شكّل مُركّب Ar-turmerone الذي تمّ التعرُّف عليه لأول مرّة في أنواع هذا الجنس؛ النسبة الأكبر (64 %) من الزيت العطري المُستحصل من النبات.

الكلمات المفتاحيّة: *Echinops polyceras*، مُستقلبات ثانويّة، زيت عطريّ، Ar-turmerone، دراسة مجهريّة.

* طالب ماجستير – قسم العقاقير – كلية الصيدلة – جامعة دمشق.

** مُدرّس دكتور – قسم العقاقير – كلية الصيدلة – جامعة دمشق.

A Chemical and Microscopical Study of Different Parts of *Echinops polyceras* Boiss. and Determination of Volatile Oil Composition

Issa Al-Assaf* **M.Kkazem****

Abstract

Background & Aim: Syria is rich in medicinal plants including the species of the genus *Echinops*, due to its geographical location. The chemical composition of many species of this genus was studied and it showed that they contain flavonoids, thiophenes, terpenoids, alkaloids, and essential oils, and most of them have biological effects. Neither the chemical composition of *Echinops polyceras* Boiss., nor the volatile oil, nor the microscopic elements have been studied previously. So, our research aimed to study this species chemically and microscopically.

Materials & Methods: The plant has collected from Maarrat Saydnaya, and it has dried and divided into three parts: flowering heads, leaves, and roots, then microscopic elements of each part were determined. After that, secondary metabolites detection reactions were performed. The essential oil was obtained, and its chemical composition was analyzed using GC-MS.

Results: Identification reactions showed that the three parts contain phenolic compounds including flavonoids and coumarin. However, tannins, anthraquinones, alkaloids, and cardiac glycosides have not existed. The volatile oil analysis results have shown that the yield was 0.1%, and 32 aromatic compounds were identified, most of which are mono and sesquiterpenes. Ar-turmerone was the most abundant compound at approximately 64%. Also, in the microscopic study, the microscopic elements were identified in flower heads (pollen and unicellular aggregated fibers), leaves (irregular pattern pores and dense trichomes), and roots (sclerotic fibers and cells).

Conclusions: This research is the first study on *E. polyceras*, where a preliminary identification of the secondary metabolites was determined, as well as the chemical composition of the volatile oil. Also, the microscopic elements of each part were determined. Phenolic compounds such as flavonoids and coumarins, were identified, so, we can expect that the plant extracts have antioxidant properties. Ar-turmerone -which was firstly identified in *Echinops* genus species- was the main component in the volatile oil.

Key words: *Echinops polyceras*, secondary metabolites, volatile oil, Ar-turmerone, microscopic study.

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

** Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Syria

المقدمة:

تتميّز سورية بِغناها بالأنواع النباتيّة ذات الخصائص الطبيّة؛ بسببِ موقعها الجُغرافيّ ومناخها المُميّزَين، وقد وُجِد فيها أكثر من 3500 نوعٍ نباتيّ تتبع 131 فصيلة (Alachkar A, et al, 2011).

يضمّ جنس *Echinops* L. (من الفصيلة النجميّة Asteraceae) ما يُقارب 120 نوع نباتيّ، وتنتشرُ في مناطق إفريقيا وحوضِ المتوسّط (Bouzabata A, et al., 2018). ويوجد هذا الجنس في سورية ضمن 3 أنواع هي: *E. polyceras* Boiss.، *E. viscosus* DC، و *E. descendent* Hand.، وتختلف هذه الأنواع عن بعضها بحجم الرؤيس الزهريّ، وحجم القُنابات، ودرجة تفصُصِ الأوراق، ووجود الأوبار الغدّيّة على الساق.

اشتُقَ اسم الجنس *Echinops* L. من الإغريقيّة؛ فكلمة "*εχινοσ*" تعني: القنفذ، و "*opsis*-" لاحقة تعني المظهر، وعليه فالاسم يُشير إلى الرأس الكرويّ الشائك الذي تتميّز به أنواع هذا الجنس.

ودُرِسَ التركيبِ الكيميائيّ للعديد من أنواع جنس *Echinops*، وقد أظهرت هذه الدراسات احتواء الأنواع المدروسة على فلافونوئيدات (مثل: Quercetine وApiginie)، وتيوفينات (مثل: α-terthiophene)، وتربينوئيدات (أحاديات ونصف التربين مثل: costunolide ،وثلاثيات التربين مثل: lupeol)، وقلويدات (مثل: Echinopsine)، وزيوت عطريّة (Bitew H, et al., 2019).

ويوجد نوع *Echinops polyceras* Boiss. – المُسمّى محليّاً شوك الجمل – في دمشق وريفها ،وتدمر، وصلنفة، ورأس العين، وهو نباتٌ شوكيّ مُعمّر بارتفاع 50 سم تقريباً، ساقُه رفيعة ذات مقطع دائريّ، وتحمل في جزئها السفليّ أوباراً غديّة، والأوراق القاعديّة رُمحية الشكل مُفصّصة إلى عدة فصوص وتنتهي بأشواك، أمّا الأوراق العلويّة فتكون لاطئة وتنتهي أيضاً بأشواك. ففيما يتعلّق بالرأس الزهريّ فهو كرويّ الشكل ذو نصف قطرٍ 4.5 – 5 سم، وتكون فيه القنابات بلونٍ أخضر، والأزهار ذاتَ تويجٍ بنفسجيّ اللون. ويُزهر هذا النوع بين شهريّ حزيران وتموز (Mouterde P, 1983). وقد أُشير في أحد التقارير إلى أن هذا النوع يُستعملُ شعبياً في معالجة الجروحِ والثآليل (Darwish RM, *et al*., 2010)، كما ذُكر في إحدى الدراسات التأثير الفعّال للخلاصة المائية للرؤوس الزهريّة في طفيلي الملاريا، وكذلك أظهرت الخلاصة الميثانوليّة دوراً مُعززاً لتأثير التتراسيكلين tetracycline على السلاسل المقاومة للزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* (Bitew H, et al., 2019).

ومن خلال قراءةِ الأدبيّات لم نجد أي دراسةٍ حول التركيب الكيميائيّ لخُلاصات نوع *Echinops polyceras* Boiss. ، وتركيب الزيت العطريّ المُستحصل منه، والعناصر المجهريّة لأجزائه المُختلفة.

هدف البحث: الكشف الكيفيّ عن المُركبات الفعّالة، وتحديد التركيب الكيميائيّ للزيت العطريّ المُستحصل من نبات *Echinops Polyceras* Boiss. المُنتشر في سورية، وتحديد العناصر المجهريّة في أجزائه المُختلفة.

مواد البحث وطرائقه:

- **المواد الكيميائيّة:**

كلوريد الحديد ferric chloride (من شركة Panreac)، وكلوريد الألمنيوم aluminium chloride (من شركة Scharlau)، ومعدن المغنيزيوم magnesium metal turnings (من شركة Chem-Lab)، وحمض كلور الماء hydrochloric acid (من شركة Himedia)، وكلوروفورم chloroform (من شركة Merck)، ويود البوتاسيوم (من شركة Eurolab)، ونترات البزموت bismuth nitrate (من

شركة Himedia)، وكلوريد الزئبق mercuric chloride (من شركة Himedia)، وحمض المُر picric acid (من شركة Panreac) ، وبلورات اليود iodine crystals (من شركة Honey well)، وحمض الكبريت الكثيف sulfuric acid (من شركة Himedia)، ودي نتروبنزوئيك أسيد 3,5-dinitrobenzoic acid (من شركة Titan biotech LTD)، وسلفات الصوديوم اللامائية (من شركة AVONCHEM)، وحمض البور boric acid (من شركة Panreac)، وحمض الحّماض oxalic acid (من شركة Panreac)، وهكسان hexan (من شركة Sigma-Aldrich).

- **الأجهزة المُستخدمة:**

جهاز تقطير الزيت العطري Dean- stark، ومجهر ضوئيّ (من شركة Olympus)، وجهاز الاستشراب الغازيّ المُقترن بجهاز مطياف الكتلة GC-MS (من شركة Agilent Technologies).

- **جني النبات:**

جُنيت النبات كاملاً من منطقة دير مار الياس في بلدةِ معرّة صيدنايا في ريف دمشق، وذلك في شهر تموز 2019 م، وصُنِّفَت علميّاً تبعاً لأفلورة سورية ولُبنان بحسب Paul Mouterdمن قِبل الدكتور عماد القاضي "رحمه الله" في قسم النبات في كليّة العلوم – جامعة دمشق.

تمّ بعد ذلك تجفيفُ النبات في الظلّ بدرجة حرارة الغرفة، ومن ثمّ تجزئته إلى ثلاثة أجزاء هي: الرؤوس الزهرية، والأوراق، والجذور.

- **التحرّي الكيفيّ عن المُركبات الفعّالة في أجزاء النبات:**

كُشِفَ عن كلّ زمرةٍ كيميائيّة في الأجزاء الثلاثة المدروسة كلٌّ على حدة:

1) الكشف عن الفلافونوئيدات Flavonoids:

- *التفاعل مع كلوريد الألمنيوم* (Sabatier S et al., 1992) ويُكشفُ عن الفلافونوئيدات في الخلاصةِ الإيثانوليّة بإضافةِ كاشف 5% كلوريد الألمنيوم في الإيثانول. وينتجُ تألّق أزرق تحت أشعة UV بطول موجة 366 نم في حالةِ احتواء الخلاصة على فلافونوئيدات.
- *تفاعل شينودا Shinoda* (Zohra SF, et al., 2012)
- يُضافُ 0.5 غ من معدن المغنيزيوم Mg إلى 5 مل من الخلاصة الإيثانوليّة ، ومن ثمّ يُضاف 1 مل من حمض كلور الماء المُركّز. وينتج لونٌ أحمر إلى وردي في حالة احتواء الخلاصة على فلافونوئيدات من نمط فلافون flavon.
- *تفاعل ويلسون – تابوك Wilson-Taubock* (Mascato DR, et al., 2015) يُجففُ 10 مل من الخلاصة الإيثانوليّة باستخدامِ حمامٍ مائيّ، ومن ثمّ تُحلُ البُقيا في 2 مل من الأسيتون ويُضافُ لها 0.25 غ من حمض البور و0.25 غ من حمض الحمّاض. وينتج تألّق أصفر مُخضرّ تحت أشعة UV بطول موجة 366 نم في حالةِ احتواء الخلاصة على فلافونوئيدات من نمط فلافون flavon.

2) الكشف عن الكومارينات Coumarins:

- *التألق تحت أشعة UV بطول موجة 366 نم* (Zohra SF, et al., 2012)

ويُجففُ 5 مل من الخلاصة الإيثانوليّة، وتُحل البُقيا في 2 مل ماء مُقطر ساخن. ويُوضع بضع قطرات من المحلول المُركّز السابق على ورقة ترشيح. وينتج تألُّق أزرق تحت أشعة UV بطول موجة 366 نم في حالةِ احتواء الخلاصةِ على كومارينات.

3) الكشف عن التانينات Tannins:

- التفاعل مع كلوريد الحديد (Zohra SF, et al., 2012)تضافُ بضع قطراتٍ من كاشف كلوريد الحديد المُمدد إلى 1 مل من الخلاصةِ الإيثانوليّة. ويتشكّل لونٌ أخضر داكن في حالةِ احتواءِ الخلاصةِ على تانيناتٍ قابلةٍ للحلمهة، ولونٌ أزرقٌ مسودّ في حالةِ احتواءِ الخلاصةِ على تانيناتٍ غيرِ قابلةٍ للحلمهة.
- *تفاعل ترسيب الجيلاتين* (De S, *et al*. 2010)تضاف بضعُ قطراتٍ من كاشفِ الجيلاتين 1% مع محلولِ كلوريد الصوديوم 10% إلى 1 مل من الخلاصة. ويتشكّلُ راسبٌ أبيض اللون في حالةِ احتواءِ الخلاصةِ على تانينات.

4) الكشف عن الإنتراكينونات Anthraquinons:

- تفاعل بورنتريغر Borntrager (Zohra SF, et al., 2012) ويُستخلصُ 1 غ من العقار باستخدام 10 مل من الكلوروفورم لمدّة 10 دقائق ثمّ يُرشّحُ، بعد ذلك يُضاف إلى الرُشاحة 2 مل من النشادر. وينتجُ لونٌ أحمر في الطبقة المائيّة في حالة احتواء الخلاصة على إنتراكينونات حُرّة.
- تفاعل بورنتريغر المُعدّل (De S, et al. 2010)تُجرى حلمهةٍ حامضيّة بغليّ 1غ من مسحوق العقار مع 2مل من حمض الكبريت المُمدد و2مل من محلول 5% كلوريد الحديد لمدّة 5 دقائق. ومن ثمّ يُتابع التفاعل كمان في تفاعل بورنتريغر.

5) الكشف عن السابونينات Saponins

- *تفاعل تشكُّل الرغوة* (Zohra SF, et al., 2012)

يُحلُّ 0.5 غ من الخلاصة المائيّة في 20 مل ماء ساخن ضمن أنبوب اختبار، ومن ثمّ يُرج الأنبوب بشدّة. وتتشكّل رغوة ثابتة في حالةِ احتواءِ الخلاصةِ على سابونينات.

6) الكشف عن الغليكوزيدات القلبيّة Cardiac glycosides

- تفاعل كيد Kedde (Zohra SF, et al., 2012)

تُجففُ الخلاصةُ الكلوروفورميّةن ومن ثمّ تضاف قطرةٌ واحدة من إيثانول 90% ، وقطرتان من كاشف 3,5 dinito benzoic acid في الإيثانول، ويتمّ قلونة الوسط باستخدام محلول 20% هيدروكسيد الصوديوم. وينتجُ لونٌ أرجوانيّ في حالةِ احتواءِ الخلاصة على لاكتونات خماسيّة.

- تفاعل كيلير–كلياني Keller-Kiliani (Bhatt S, et al., 2012) يُضافُ إلى 2 مل من الخلاصةِ الإيثانوليّة 1 مل من حمض الخلّ الثلجيّ، وقطرةٌ واحدةٌ من محلول 5% كلوريد الحديد، و1 مل من حمض الكبريت الكثيف.

ويتشكّل لونٌ بني مُحمرّ وحلقةٌ بلونٍ أخضر مُزرق عند السطح الفاصل بين الطبقتين في حال احتواء الخلاصة على غليكوزيداتٍ قلبية.

7) الكشف عن القلويدات Alkaloids:

(De S, et al. 2010; 2008) (Badole SL, et al.) (Mascato DR, et al. 2015)

يُجففُ 20 مل من الخلاصةِ الإيثانوليّة، وتُحلُّ البُقيا في 5 مل حمض كلور الماء وتُرشّح. ويُؤخذُ 1 مل من الخلاصةِ المُركّزة، ويوضع في أنبوب اختبار، وتضافُ له بضع قطرات من أحد الكواشف الآتية: كاشف دراجندروف Dragendroff (يود البزموت والبوتاسيوم)، وكاشف ماير Mayer (يود الزئبق والبوتاسيوم)، وكاشف فاغنر Wagner (اليود اليودي)، وكاشف هاغر Hager (حمض المر). وتنتج رواسب بلون برتقالي وأبيض وبني وأصفر على الترتيب، في حالةِ احتواء الخلاصةِ على قلويدات.

8) الكشف عن السكاكر المُرجعة reducing sugars

- تفاعل فهلنغ Fehling (Sabatier S et al., 1992) يُكشَفُ عن السكاكرِ المُرجعة باستخدامِ كاشف فهلنغ، حيث يُضاف 1 مل من مزيج (فهلنغ A وفهلنغ B) إلى 1 مل من الخلاصة الإيثانوليّة، ويُسخن أنبوب التفاعل. وينتجُ راسبٌ أحمر في حالة احتواء الخلاصة على سكاكر مرجعة.

- **استحصال الزيت العطري:**

أُستحصل الزيتِ العطريّ من 200 غ من مسحوق النبات كاملاً لمُدّة 5 ساعات، وذلك بطريقةِ التقطير المائيّ hydrodistillation ، وباستخدام جهاز دين– ستارك Dean- stark.

وحُلَّ الزيتِ العطريّ المُستحصل في حجم 1 مل من الهكسان وجمعه في أنبوب ابندورف، وتجفيفه باستخدام سلفات الصوديوم اللامائية من أجل التخلُّص من آثار الماء المُتبقية، وقد تمّ بعد ذلك حفظ الزيت المُستحصل في درجة حرارة 8 م° ، وحساب مردود الاستحصال (مل/100 غ من النبات).

- **تحليلُ مُكوّناتِ الزيت العطريّ باستخدام جهاز الاستشراب الغازيّ المُقترن بجهاز مطياف الكتلة Gas GC- chromatography–mass spectrometry :MS**

حُدِّدَ التركيب الكيميائيّ للزيت العطريّ باستخدام جهاز GC-MS الحاوي على العمود الشعريّ HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox ذي الأبعاد 30 m x 250 µm x 0.25 µm، والمُقترن بمُتحري مطياف الكتلة mass spectrometry. واستُخدام البرنامج الحراري الآتي في الفرن: بداية درجة حرارة 40 م° مدة دقيقتين، ومن ثمّ ترتفع درجة الحرارة حتى 220 م°. والحاقن يدويّ، وحجم الحقنة 1 مكل.

واستُخدم الهليوم He كغاز حامل (الطور المُتحرّك) وبمعدّل تدفّق 1 مل/د ولمدة 68 دقيقة.

- **الدراسة المجهريّة:**

تمّ إجراءُ الدراسةِ المجهريّة لمساحيقِ أجزاء النبات الثلاثة (الرؤوس الزهريّة، والأوراق، والجذور) باستخدام العدستين (10×) و(40×) في المجهرِ الضوئيّ؛ لتحديد العناصر المجهريّة فيها.

النتائج Results:

التحرّي الكيفيّ عن المُركبات الفعّالة في أجزاء النبات: يُبيّنُ الجدول التالي **(الجدول 1)** نتائج تفاعلاتِ الكشفِ عن المُستقلبات الثانويّة في الأجزاء الثلاثة المدروسة:

الجدول (1): نتائج الكشف عن المستقلبات الثانوية

المُستقلبات الثانوية	تفاعل الكشف	الأزهار	الأوراق	الجذور
الفلافونوئيدات	كلوريد الألمنيوم	+	+	+
	شينودا	+	+	+
	ويلسون – تابوك	+	+	+
الكومارينات	التألق	+	+	+
التانينات	كلوريد الحديد	+	+	+
	ترسيب الجيلاتين	-	-	-
الانتراكينونات	بورنتريغر	-	-	-
	بورنتريغر المُعدّل	–	–	–
السابونينات	تشكُّل الرغوة	+	+	+
القلويدات	دراجندروف	-	-	-
	ماير	-	-	-
	فاغنر	-	-	-
	هاغر	-	-	-
الغليكوزيدات القلبية	كيلر كيلياني	-	-	-
	كيد	-	-	-
السكاكر المُرجعة	فهلنغ	-	+	-

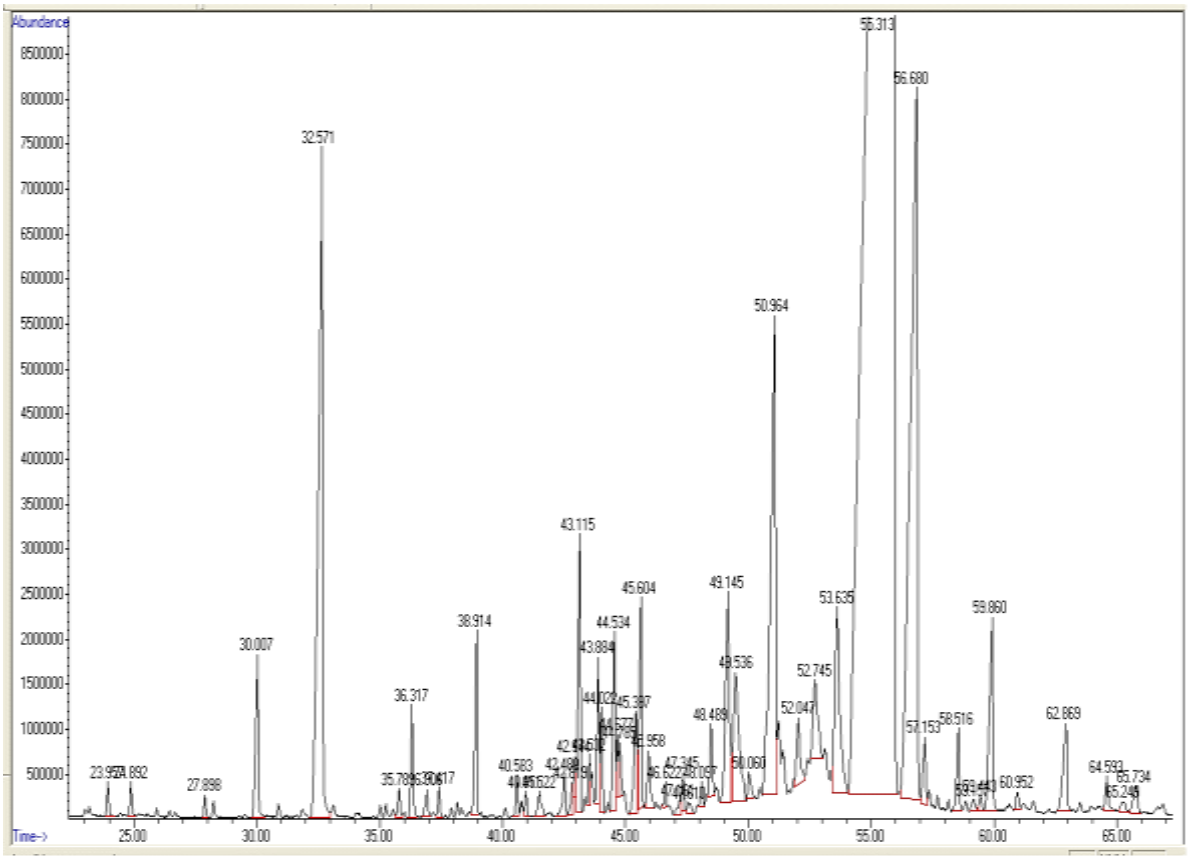
الشكل (1): الزيت العطري المُستحصل من نبات *E. polyceras*

استحصال الزيتِ العطريّ:

بلغَ مردود استحصالِ الزيت العطري 0.2 مل؛ أي: 0.1% من وزن مسحوق النبات، وقد كان لون الزيت المُستحصل أصفر إلى برتقاليّ ذي رائحة عطريّة مميزة، والشكل الآتي (الشكل 1) يُوضِّح الزيت المُستحصل.

- **تحليلُ مُكوّنات الزيتِ العطريّ باستخدام GC-MS:**

يُبيّن الشكلُ الآتي المُخطط الاستشرابي الناتج عن تحليل مكوّنات الزيت العطري (الشكل 2).



الشكل (2): المُخطط الاستشرابيّ الناتج عن تحليل الزيت العطري باستخدام GC-MS

كما يُبيّن الجدولُ الآتي المُركبات التي تمّ فصلها والتعرّف عليها (الجدول 2):

الجدول 2: المُركبّات العطريّة المفصولة من الزيت العطريّ

#	المُركّب	زمن الاحتباس	%
1	**Ar-turmerone**	**55.314**	**63.7**
2	Cyclohexene, 1-(1-propynyl)	56.6785	8.91
3	*p*-Cymene	50.9625	6.19
4	Carvacrol	32.5721	5.16
5	*β*-Panasinsene	53.6372	1.68
6	Caryophylene oxide	49.1431	1.48
7	(+)-*α*-Atlantone	59.8624	1.21
8	ar-Curcumene	43.1148	1.12
9	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene	45.6063	0.92
10	Cinnamaldehyde	30.0059	0.78
11	Caryophyllene	38.9126	0.72
12	*δ* -Cadinene	52.7479	0.69
13	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	62.8698	0.65
14	Cis-Calamenene	45.3958	0.58
15	*α*-Cedrene	43.8819	0.51
16	*α*-Calacorene	52.0487	0.44
17	*α*-Copaene	36.3194	0.42
18	α-Muurolene	44.0245	0.38
19	6-(1',5'-dimethylhex-4'-enyl)-3-methylcyclohex-2-enone	58.5182	0.38
20	γ-Muurolene	42.4835	0.37
21	*α*-Atlantone	57.1537	0.34
22	*α*-Farnesene	48.4914	0.32
23	*α*-Longipinene	45.9592	0.32
24	*α*-selinene	43.5357	0.3
25	Palmitic acid methyl ester	65.7345	0.21
26	*β*-Bisabolene	44.6762	0.19
27	Germacrene D	44.7848	0.18
28	4-O-Methylphenylhydrazono-3-methyl-2-pyrazolin-5-one	64.5941	0.17
29	4-Benzoyl-1-methyl-1,2,3-triazole	47.3441	0.15
30	*γ*-Terpinene	24.8941	0.12
31	*α*-Humulene	40.9492	0.1
32	*α*-Calacorene	46.6245	0.08

- **الدراسة المجهريّة:**

– **العناصر المجهريّة في الرؤوس الزهرية:**

▪ **حبات الطلع:** ذات ثلاثة ثقوب إنتاش، بيضويّة الشكل (منظر جانبيّ)، أو مُثلثيّة الشكل (منظر جبهيّ) (الشكل3).

الشكل (3): حبّة الطلع في الرؤوس الزهريّة لنوع *E. polyceras* (تكبير ×40)

▪ **قطعة من البتلات** ذات اللون البنفسجيّ **(الشكل 4).**

الشكل (4): قطعة من بتلات أزهار نوع *E. polyceras*

▪ **أوبار وحيدة الخليّة مُتجمّعة (الشكل 5).**

الشكل 5: الأوبار المتجمّعة في نوع *E. polyceras* (تكبير ×10)

– **العناصر المجهريّة في الأوراق.**

▪ قطعة من البشرة مع مسام من النمط غير المنتظم (الشكل 6).

الشكل (6): المسام من النمط غير المنتظم في أوراق نوع *E. polyceras* (تكبير ×40)

▪ **ألياف كثيفة شعريّة الشكل (الشكل 7).**

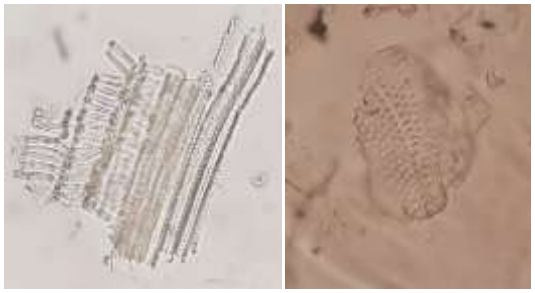
الشكل (7): الألياف الشعريّة في أوراق نوع *E. polyceras* (تكبير ×40)

– **العناصر المجهريّة في الجذور**

▪ **ألياف مُتصلّبة مترافقة مع خلايا مُتصلّبة (الشكل 8).**

الشكل (8): الألياف والخلايا المُتصلّبة في جذور نوع *E. polyceras* (تكبير ×40)

– كما يوجد في الأجزاء الثلاثة أوعية خشبيّة ناقلة حلزونيّة، وشبكيّة، ومُنقطة (الشكل 9).



الشكل (9): الأوعية الخشبية الناقلة في مُختلف أجزاء نوع *E. polyceras* (تكبير ×40)

المُناقشة:

أظهرت نتائج تفاعلات الكشف احتواء خلاصات الرؤوس الزهريّة، والأوراق، والجذور على مُركبّاتٍ فينوليّة مثل الفلافونوئيدات، والكومارينات. كما تُشير إيجابيّة كلٍّ من تفاعليّ شينودا وويلسون– تابوك إلى أنّ أحد أنماط الفلافونوئيدات الموجودة في الخلاصات هو Flavon أو Flavon-3-ol.

وفيما يتعلّق بالانتراكينونات فقد أعطى كلّ من تفاعليّ بورنتريغر، وبورنتريغر المُعدّل نتائج سلبيّة في الأجزاء الثلاثة، وهذا يدل على غياب الانتراكينونات بشكليها الحُرّ والغليكوزيدي (C-glycosides and O-glycosides).

وأظهرت نتائج الكشفِ عن التانينات سلبيّة تفاعل ترسيب الجيلاتين، وبناءً على ذلك يُمكن أن نستنتج غياب وجود التانينات بنوعيها القابلة للحلمهة وغير القابلة للحلمهة.

وتُشير إيجابيّة تفاعل تشكُّل الرغوة في الأجزاء الثلاثة غالباً إلى وجود السابونينات، دون إمكانيّة تحديد نمطها سواء كانت ستيروئيديّة أم ثلاثيّة التربين.

وأظهرت تفاعلات الكشف الخاصة بالقلويدات نتائجاً سلبيّة واضحة مما يدل على غياب القلويدات في النوع المدروس، وقد اختلفت نتائج دراستنا على نوع *E. polyceras* مع بعض الدراسات مثل:

دراسة Kiyekbayeva وزملائه التي تمّ فيها عزل قلويدي echinopsine وechinorine من الأجزاء الهوائيّة لنوع *Echinops albicaulis* (Datkhayev UM, 2017).

دراسة Khadim وزملائها التي أظهرت احتواء بذور وجذور الأجزاء الهوائيّة لنوع *Echinops heterophyllus* على قلويدات، كما تمّ عزلُ وتحديد صيغة قلويد echinopsine من البذور (Khadim EJ, *et al.*, 2014).

دراسة Halim وزملائه التي تمّ فيها عزل قلويدي echinopsine وechinorine من نوع *Echinops* Spinosus (Halim AF, *et al.*, 2011).

ويُمكن أن يُفسَّر ذلك باختلاف الشروط البيئيّة، ونوع التربة التي ينمو فيها النبات.

أمّا بالنسبة للغليكوزيدات القلبيّة فقد أعطى تفاعل كيلير كلياني نتائج سلبيّة مما يدل على غياب وجود السكاكر منقوصة الأكسجين في الموقعين 2 و6، وكذلك الأمر بالنسبة إلى تفاعل كيد مما يدل على غياب الحلقة اللاكتونيّة الخماسية. ونستنتج مما سبق أنّ النوع المدروس لايحتوي غليكوزيدات قلبيّة من نمط كاردينوليدات.

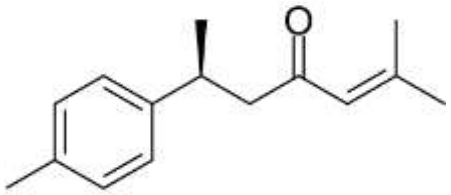
وفيما يتعلّق بالسكاكر المُرجعةفقد أظهر تفاعل فهلنغ نتيجةً إيجابيّة مع الأوراق فقط، وهذا يدل على وجود هذا النمط من السكاكر في الأوراق، وغيابه في الرؤوس الزهريّة والجذور.

وبلغت النسبة المئويّة للمُركبات العطريّة المفصولة باستخدام GC-MS والتي تمّ التعرّف عليها في مكتبةِ الجهاز 98.77%، ويُمكن تصنيف المُركبات التي تمّ التعرّف عليها التي بلغت نسبة كلٍّ منها > 1% ضمن مجموعتي:

أحاديات ونصف التربين sesquiterpenes مثل: Ar-turmerone و Caryophylene oxide و β-Panasinsene و α-Atlantone.

أحاديات التربين monoterpenes مثل: p-Cymene و Carvacrol.

وكان مُركّب Ar-turmerone الواردة صيغته الكيميائيّة في الشكل الآتي (الشكل 10) هو الأكثر وُفرةً، فقد بلغت نسبته في الزيت العطري المُستحصل: 64% تقريباً، ومن الجدير ذكره أن هذه هي المرة الأولى التي يتمّ فيها التعرّف على هذا المُركّب في جنس *Echinops*، وهو ما يُمكن أن يُشكّل مفتاحاً تصنيفيّاً كيميائيّاً بالنسبة لنوع E. polyceras.



الشكل (10): الصيغة الكيميائيّة لمُركب Ar-turmerone

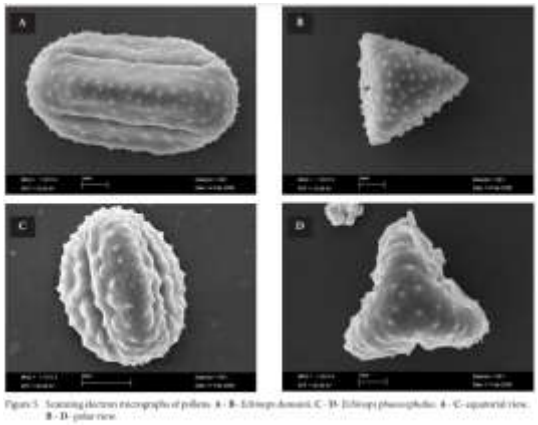
وقد دُرِسَت بعضُ التأثيرات الحيويّة لمُركب Ar-turmerone، حيثُ وُجِد أنّه يُمكن أن يمنع التكدُّس الصُفيحيّ المُحرّض بالكولاجين collagen، وحمض الآراشيدونيك arachidonic acid (Lee HS, 2006)، كما وُجِد أنّ لهذا المُركّب فعاليّة في تحريض المُوت الخُلويّ المُبرمج لبعض الخطوط الخلويّة السرطانيّة (Ji M, et al., 2004).

وتشابهت بعض المُركبات المفصولة مع المُركبات المفصولة من الزيت العطريّ لنوع *Echinops kebericho* (Hymete A, *et al.*, 2007) مثل:

α-Terpinene, p-Cymene, α-Copaene, β-Caryophyllene, caryophellene oxide, α-Humulene, γ-Selinene, Germacrene D, α-Cadinene, α-Selinene, α-Muurolene, β-Bisabolene, α-Farnesene, Calamenene, α-Calacorene.

من الجدير ذكره أيضاً أنّه لمّا يتم إجراء دراسة مجهريّة لنوع *Echinops polyceras* Boiss. سابقاً؛ لذلك تُعدّ دراستنا هي الأولى، حيث تمّ فيها تحديد العناصر المجهريّة في كلٍّ من الرؤوس الزهريّة والأوراق والجذور.

وقد تشابهت حبّات الطلع في النوع المدروس من ناحية الشكل مع حبّات الطلع في نوعي *E. dumani* و*E. phaeocephalus* (Vural C, *et al.*, 2010)، من حيث عدد ثقوب الإنتاش والمظهر الجانبيّ بيضويّ الشكل والمظهر الجبهيّ مُثلثيّ الشكل، والشكل الآتي (الشكل 11) يُوضّح ذلك:



الشكل (11): حبّات الطلع في نوعي *E. dumani* و*E. Phaeocephalus*

كما يُمكن أن يُفسِّر وجود الأوبار الشعريّة الكثيفة المظهر والقوام الاسفنجيّ الذي تميّز به مسحوق الأوراق.

الاستنتاجات:

توصّلت هذه الدراسة إلى تحديدٍ أوليّ للمُستقلبات الثانويّة في الرؤوس الزهريّة والأوراق والجذور لنبات *Echinops polyceras* Boiss.، حيثُ احتوت الأجزاء الثلاثة على مُركبات فينوليّة مثل الفلافونوئيدات، والكومارينات، وبناءً على ذلك يُمكن أن نتوقّع أنّ خُلاصات هذا النبات تمتلك

خصائص مُضادة للأكسدة، ويُمكن الاستفادة من الخلاصات المائيّة في الاستخدامات الشعبيّة، ولكن بعد إجراء دراسات المأمونيّة والسُميّة. وبالمقابل فقد غابت كلٌّ من التانينات، والقلويدات، والغليكوزيدات القلبيّة من نمط الكاردينوليدات عن الأجزاء الثلاثة.

وقد شكّل مُركّب Ar-turmerone –من أحاديات ونصف التربين– ثلثي الزيت العطري المُستحصل من النبات، ولم يتمّ التعرّف على هذا المُركب سابقاً في أي نوع من أنواع جنس *Echinops*، ونستنتج من ذلك أن هذا المُركب يُمكن أن يُشكّل مفتاحاً تصنيفيّاً لهذا النوع.

وتشابهت العناصر المجهريّة التي تمّ التعرّف عليها في الأجزاء الثلاثة مع العناصر المجهريّة في أنواع أخرى لجنس *Echinops* ولاسيما حبّات الطلع، وهذا يُمكن أن يُشكّل مفتاحاً تصنيفيّاً لهذا الجنس.

شكر وعرفان Acknowledgements:

نتقدّم بجزيل الشّكر والتقدير لجميع السيّدات المخبريّات في مخابر قسم العقاقير في كليّة الصيدلة – جامعة دمشق على كلّ التسهيلات التي قدمنها لإتمام مراحل هذا البحث. كما نتقدّم بأسمى آيات الشكر والعرفان لجميع القائمين على المخبر المركزيّ في كليّة العلوم – جامعة دمشق، ونخصّ بالذكر الدكتور غسان أبو شامة

على مساعدتنا لإتمام وتحليل مُكوّنات الزيت العطريّ باستخدام جهاز الاستشراب الغازي المُقترن بجهاز مطياف الكتلة GC-MS.

References:

1. Alachkar A, et al., 2011. Traditional medicine in Syria: folk medicine in Aleppo governorate. Natural Product Communications, 6, 1, 79-84.
2. Bouzabata A, et al., 2018. Ethnopharmacognosy of *Echinops spinosus* L. in North Africa: a mini review, Journal of Complementary Medicine Research, 8, 40-52.
3. Bitew H, et al., 2019. The genus *Echinops*: Phytochemistry and biological activities: A review. Frontiers in pharmacology, 10, 1-29.
4. Mouterde P, 1983. Nouvelle flore du Liban et de la Syrie : tome 3. Texte : quatrieme livraison. Beyrouth, Dar El-Machreq SARL, 436- 439.
5. Darwish RM, *et al*., 2010. Effect of ethnomedicinal plants used in folklore medicine in Jordan as antibiotic resistant inhibitors on *Escherichia coli*, BMC complementary and alternative medicine, 10, 1-8.
6. Sabatier S, *et al*., 1992. Identification of flavonoids in sunflower honey. Journal of Food Science, 57, 773- 774.
7. Zohra SF, *et al*., 2012. Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. J Nat Prod Plant Resour, 2, 512- 516.
8. Mascato DR, *et al*. 2015. Evaluation of antioxidant capacity of *Solanum sessiliflorum* (Cubiu) extract: an in vitro assay. Journal of nutrition and metabolism.
9. De S, *et al*. 2010. Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the different extracts of tuber of *Amorphaphallus paeoniifolius* (Araceae). Int J Pharm Biol Res, 1, 150-157.
10. Bhatt S, *et al*., 2012. Preliminary phytochemical screening of *Ailanthus excelsa* Roxb. Int J Curr Pharm Res, 4, 87-89.
11. Badole SL, *et al*., 2008. Antihyperglycemic activity of *Pongamia pinnata* stem bark in diabetic mice. Pharmaceutical Biology, 46, 900-905.
12. Datkhayev UM, 2017. Phytochemical investigation and technology production of alkaloids in the Kazakh endemic plant *Echinops albicaulis* Kar. Et Kir.(Asteraceae). International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 11.
13. Khadim EJ, *et al.*, 2014. Phytochemical investigation of alkaloids in the Iraqi *Echinops heterophyllus* (Compositae). Iraqi J Pharm Sci, 23, 26- 34.
14. Halim AF, *et al.*, 2011. THE FACT ABOUT ECHINOPSINE AND FIRST ISOLATION OF ECHINORINE FROM *ECHINOPS SPINOSUS* L. Journal of Environmental Sciences, 40, 173-181.
15. Lee HS, 2006. Antiplatelet property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived ar-turmerone. Bioresource technology, 12, 1372-1376.
16. Ji M, et al., 2004. Induction of apoptosis by ar-turmerone on various cell lines. International journal of molecular medicine, 14, 253-256.
17. Hymete A, *et al.*, 2007. Volatile constituents of the roots of *Echinops kebericho* Mesfin. Flavour and fragrance journal, 22, 35-38.
18. Vural C, *et al.*, 2010. A new species of *Echinops* (Asteraceae) from Turkey, 34, 513-519.