دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضّرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة

****

إعداد الطالبة : تيماء محمد سلامه

إشراف : أ.م.د . يوسف الأحمد

المشرف المشارك: د. أمين سويد

****

الملخص:

تقدم المملكة النباتية بنباتاتها الطبية المتنوعة فوائد علاجيةٍ وتجميليةٍ بديلةٍ وآمنةً وأكثر قبولاً لدى المرضى، منها الوقاية من الأشعة الشّمسية الضّارة التي تتم الحماية منها صيدلانياً باستخدام واقياتٍ شمسيةٍ فيزيائيةٍ أو كيميائيةٍ أو الاثنين معاً.

تواجه الواقيات الشّمسية الفيزيائية تحدياتٍ بسبب الطبقة البيضاء المتشكلة على البشرة بعد تطبيقها، بينما تثير الواقيات الشّمسية الكيميائية جدلاً حول أمان استخدامها على المدى الطويل، الأمر الذي وجّه النظر للمستخلصات النباتية ذات القدرة الواقية الشّمسية كبديلٍ آمنٍ واقتصادي.

يحتل استخدام إكليل الجبل في الوقت الحالي أهميةً كبيرةً في الصناعات التجميلية، بسبب انتشاره الواسع في سوريا وفوائده العديدة.

تم في هذا البحث تحضير ثمانية مستخلصات من أوراق أكليل الجبل الجافة بطريقتي استخلاص، الأولى هي طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية، والثانية هي طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي، وباستخدام أربع أنواعٍ من المذيبات هي الميتانول المطلق، الإيتانول المطلق، الماء المقطر، الأيتانول المطلق + الماء المقطر بنسبة 1:1وذلك في درجة حرارة الغرفة.تم تكرار التجربة ثلاثة مراتٍ متتاليةٍ.

تم أولاً تحديد مردود الاستخلاص لكلّ طريقةٍ والمذيب المستخدم، ثم الكشف الكيفي عن الفلافونوئيدات، وحددت الكمية الكلية للمادة الفينولية في الخلاصات وفق طريقة Folin –Denis بالاعتماد على السّلسلة العيارية المحضرة من حمض الغاليك وباستخدام جهاز السبيكتروفوتوميتر، وأخيراً حساب عامل الحماية الشمسي.

بينت النتائج أن طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية هي الأعلى مردوداً مقارنةً بطريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي وذلك عند استخدام نفس المذيب، أما من حيث المذيبات فإن مستخلص الإيتانول المطلق هو الأعلى مردواً عند الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية ومستخلص الإيتانول مع الماء المقطر هو الأعلى مردوداً عند الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالرجاج الكهربائي. في حين تتفاوت قيمة عامل الحماية الشمسي بين أنواع المذيبات وفق الآتي: الماء المقطر مع الإيتانول يعطي القيمة الأعلى يليه الميتانول المطلق ثم الماء المقطر وأخيراً الإيتانول المطلق.

تم العمل على الخلاصة الايتانولية حيث سجلت نتائج إيجابيةً عند الكشف عن الفلافونوئيدات، في حين بلغت كمية الفينول الكلية

85,25g مكافئ حمض الغاليك / 1 kg خلاصة جافة، 21,29g مكافئ حمض الغاليك / 1kg نبات جاف.

الكلمات المفتاحية :

عامل الحماية الشمسي – واقيات شمسية – الاستخلاص – أكليل الجبل – مذيبات – مستخلصات خضراء

Study of the sun-protective capacity of rosemary leaf extracts prepared using different extraction methods and solvents

Abstract

The plant kingdom, with its diverse medicinal plants, offers alternative, safe, and more acceptable therapeutic and cosmetic benefits for patients, including protection from harmful solar radiation, which is protected pharmacologically using physical or chemical sunscreens, or both.

Physical sunscreens face challenges due to the white film that forms on the skin after application, while chemical sunscreens raise controversy about their long-term safety, which has led to attention being given to plant extracts with sun-protective properties as a safe and economical alternative.

The use of rosemary is currently of great importance in the cosmetics industry due to its widespread use in Syria and its numerous benefits.

In this research, eight extracts were prepared from dried rosemary leaves using two extraction methods. The first method was extraction by denaturation followed by ultrasonication, and the second was extraction by denaturation followed by electroshock. Four solvents were used: absolute methanol, absolute ethanol, distilled water, and absolute ethanol + distilled water in a 1:1 ratio, all at room temperature. The experiment was repeated three times consecutively.

First, the extraction yield for each method and the solvent used was determined; then the flavonoids were qualitatively detected, and the total amount of phenolic material in the extracts was determined according to the Folin-Denis method based on the standard series prepared from gallic acid and using a spectrophotometer; and finally, the solar protection factor was calculated.

The results showed that the ultrasonic necrosis extraction method yielded the highest efficiency compared to the electro-shaking necrosis method when using the same solvent. Regarding the solvents themselves, absolute ethanol extract yielded the highest efficiency when using the ultrasonic necrosis method, while ethanol extract with distilled water yielded the highest efficiency when using the electro-shaking method. The SPF value varied among the solvent types as follows: distilled water with ethanol yielded the highest value, followed by absolute ethanol, then distilled water, and finally absolute ethanol.

The ethanolic extract was worked on, and positive results were recorded when detecting flavonoids, while the total amount of phenols amounted to 85.25 g gallic acid equivalent/1 kg dry extract and 21.29 g gallic acid equivalent/1 kg dry plant.

Keywords:

Sun Protection Factor, sunscreens, extraction, rosemary, solvents, green extracts.

1- المقدمة

يعد الجلد العضو الأكبر مساحةً في جسم الإنسان حيث يغطي 1.7 متر مربع من الجسم. يصنف الجلد من طرق إيتاء الدواء الموضعية فضلاً عن دوره كمنظّم لحرارة الجسم، ويعتبر خط الدفاع الأول ضدّ العديد من العوامل البيئية كالغبار والكائنات الدقيقة والضوء وأشعة الشمس[2,1].

يتكون ضوء الشمس بشكل رئيسي من الأشعة تحت الحمراء IR والأشعة المرئية، والأشعة فوق البنفسجية (UVA , UVB, UVC) [3]. تعتبر الأشعة الشمسية مصدر الطاقة للإنسان والأرض، حيث يتحرض تشكيل فيتامين D ابتداءً من دي هيدروكسي كولي كالسيفيرول المتوضع في البشرة

مما يساهم في الوقاية من لين العظام عند التعرض لهذه الأشعة، وتساهم بتخفيض ضغط الدم عن طريق إنتاج أكسيد النتريت NO وتحسين الحالة المزاجية عن طريق تحريض إفراز الأندروفينات، فضلاً عن دورها كمضاد بكتيريا[1]. وتستخدم هذه الأشعة طبياً لتعزيز فعالية الأدوية الجلدية الموضعية المستخدمة في علاج الأكزيما والصدفية والبهاق [2,4].

بالمقابل يسبب التعرّض المزمن وغير المحمي للأشعة فوق البنفسجية أضراراً جمّةً حيث تعتبر مسؤولة عن تلف الجلد[5,6,7] والسمية الضوئية وحروق الشمس والشيخوخة الضوئية وتكوين الآورام [1] بسبب زيادة الإجهاد التأكسدي لخلايا الجلد مما يؤدي إلى بدء السرطان وتطوره [5]. في كلّ عام يشّخص حوالي مليون شخص بسرطان الجلد ويموت حوالي 10000 بسبب الورم الميلانيني الخبيث ، وتكون مناطق الجسم الأكثر تعرضاً لأشعة الشمس مثل الوجه والرقبة والرأس و ظهر اليدين هي الأكثر إصابة بسرطان الجلد[6].

يحمي الجلد نفسه تلقائياً من هذه الأشعة الضارة بواسطة الجزيئات الموجودة طبيعياً في الجلد وهي الميلانين والتربتوفان أو الريبوفلافين، تؤكسد هذه الأشعة الميلانين وتتسبب باسمرار الجلد بالمقابل يمتص التربتوفان أو الريبوفلافين الأشعة المولدة لجذور الأكسجين وتكبح تأثيراته الضارة[2]. يستنفذ التعرض المستمر لهذه الأشعة عناصر الحماية الموجودة طبيعياً في الجلد، مما يستدعي حماية الجلد بطرقٍ أخرى كاستخدام قبعاتٍ أو نظاراتٍ أو ملابس خاصة والأهم والأفضل هو استخدام الواقيات الشمسية [2].

تعرّف الواقيات الشّمسية على أنها مستحضراتٍ صيدلانيةٍ تحمي الجلد من التأثيرات الضّارة للأشعة الشّمسية المتضمنة الحروق الشّمسية بجميع درجاتها، التصبغات، الأورام السرطانية والتجاعيد، تتوفر الواقيات الشمسية بأشكالٍ صيدلانيةٍ عديدةٍ منها الغسولات والرذاذات والهلاميات والكريمات الموضعية ويتم تصنيعها من قبل مختبرات مستحضرات التجميل والمصانع الدوائية. تصنف الواقيات الشّمسية بحسب نوع العامل الواقي الشمسي إلى عضويةٍ وغير عضويةٍ . الواقيات الشمسية غير العضوية هي واقياتٌ شمسيةٌ فيزيائيةٌ مثل أكسيد الزنك ZNO و أكسيد التيتانيوم TIO2،

وتعمل على حماية الجلد من الأشعة الضّارة بعكسها وتشتيتتها، يواجه هذا النوع من الواقيات الشمسية تحدياتٍ تتعلق بالناحية التجميلية بسبب الطبقة البيضاء المتشكلة على البشرة بعد تطبيقها وبعضها الآخر يتعلق بالسّلامة. في حين الواقيات الشّمسية العضوية هي واقياتٌ شمسيةٌ كيميائيةٌ مثل بارا أمينوبنزوئيك أسيد (PABA) بالإضافة إلى السّينامات والسّاليسيلات والبنزوفينونات والبنزيميدازول ومشتقات الكافور، وتعمل على حماية الجلد من الأشعة الضّارة بإضعاف طاقتها عن طريق امتصاصها، يواجه هذا النوع من الواقيات الشّمسية تحدياتٍ تتعلق بموضوع الأمان حيث صنف على أنه سامٌ ضوئياً ويسبب تفاعلاتٍ تحسسية[2].

تصنف الواقيات الشّمسية تبعاً لإدارة الغذاء والدواء الأمريكية حسب قيمة عامل الحماية من الشمس أو ما يسمى Sun Protection Facter (SPF) الذي يدل على المدة الزمنية التي يحمي فيها المنتج المستخدم الجلد من هذه الأشعة الضارة[8]. يعرّف SPF بأنه أدنى كميةً من طاقة الأشعة فوق البنفسجية التي تسبب احمراراً MED على جلدٍ محمي بالواقي الشمسي مقسوماً على أدنى كميةٍ من هذه الطاقة التي تسبب احمراراً على جلدٍ غير محمي بالواقي الشمسي [9].

وفقاً لإرشادات الوكالة الوطنية للرقابة الصحية ANVISA يجب أن يكون ال 43,6= SPF.

توصي FDA بالاستخدام المتكرر والمنتظم للواقيات الشمسية بقيمة SPF=15 أو أعلى[2].

يحجب الواقي الشمسي بقيمة SPF= 15,30,50 الأشعة فوق البنفسجية بمقدار 97, 90 ,72 % على التتالي [10].

نظراً للسلبيات الكبيرة المترتبة على استخدام الواقيات الشمسية التقليدية من جهةٍ وضرورة تطبيق الواقي الشمسي للحدّ من مخاطر هذه الأشعة من جهةٍ أخرى، تم التوجه إلى مصادر أخرى متوفرةٍ واقتصاديةٍ و أكثر آماناً ولها القدرة على الحماية من هذه الأشعة، فكانت الطبيعة بمملكتها النباتية و العشبية المتنوعة بديلاً مناسباً، فضلاً عن كونها خياراً مناسباً للأشخاص الذين يفضلون استخدام المواد النباتية [11].

وهذا ما وجّه أنظار الباحثين والدراسات الحديثة إلى استخدام المستخلصات النباتية كعوامل واقيةٍ شمسيةٍ طبيعيةٍ أو معززةٍ للمستحضرات الواقية الشمسية. يعزى التأثير الواقي الشمسي للنباتات الطبية إلى مستقلباتها الثانوية [12] وبشكل خاص البولي فينولات والأحماض الفينولية الكلية والفلافونوئيدات [7]، ارتبط المحتوى العالي من الفينول والفلافونوئيدات في النباتات الطبية بنشاطها المضاد للأكسدة والتي تلعب دوراً في الوقاية من شيخوخة الجلد وبشكل خاص الشّيخوخة الناتجة عن الإجهاد التأكسدي [13]. تعمل المستخلصات النباتية الغنية بالفلافونوئيدات على حماية الجلد من تأثيرات الأشعة فوق البنفسجية عن طريق امتصاص هذه الأشعة بسبب وجود الروابط المزدوجة أو الحلقات العطرية في بنيتها [2,3] أو عن طريق دورها كمضاد أكسدة [5].

يعد نبات إكليل الجبل من النباتات الطبية دائمة الخضرة والمتوفرة والمنتشرة بكثرةٍ في بلدنا سوريا مما جعل أنظارنا تتوجه لدراسة التأثير الواقي الشمسي لهذا النبات. أدت المركبات الحيوية النشطة الغنية الموجودة في أكليل الجبل ودورها المضاد للأكسدة إلى توسيع نطاق تطبيقاته في الصناعة الدوائية والغذائية والتجميلية [14]. يصنف أكليل الجبل Rosmarinus officinalisl من الفصيلة الشفوية، ويعتبر من النباتات العطرية المعمّرة بشكل شجيرةٍ بأغصانٍ مليئةٍ بالأوراق العطرية الخضراء، يصل ارتفاعها إلى مترين، وهونبات طبي موطنه البحر الأبيض المتوسط ويزرع في جميع أنحاء العالم إلى جانب غرضه العلاجي المتمثل كمضاد التهاب ومضاد أكسدة ومضاد ميكروبات، يستخدم كتوابل ومادة حافظة للأطعمة بالإضافة إلى أنه من نباتات الزينة [15]. المركبات النشطة الأكثر شيوعاً في نبات إكليل الجبل : حمض الكافيين وحمض الكارنوسيك وحمض الكلورجينيك وجمض الأولينوليك وحمض الروزمارنيك وحمض الأورسوليك و ألفابنين والكافور والكارنوسول والأوكاليبتول[15]. يعزى التأثير المضاد للأكسدة لنبات إكليل الجبل وبالتالي القدرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية الضارة المرتبطة بهذه الخاصية إلى الفينولات النباتية المتمثلة بحمض الكارنوسيك والكارنوسول وحمض الروزمارنيك [16].

يهدف هذا البحث العلمي إلى دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات نبات إكليل الجبل بعد تحضيرها بطرائق استخلاصٍ ومذيباتٍ مختلفةٍ، وذلك بالاعتماد على قياس قيمة عامل الحماية الشمسي لهذه المستخلصات، وإمكانية استخدامها كواقياتٍ شمسيةٍ طبيعيةٍ بديلةٍ عن الواقيات الشمسية التقليدية.

2- المواد والأجهزة والأدوات المستخدمة :

2-1 المواد المستخدمة

يبين الجدول 1 المواد المستخدمة في هذا البحث مع بلد المنشأ والشركة المصنعة

المواد المستخدمة	بلد المنشأ والشركة المصنعة
نبات إكليل الجبل الطبي	Homs ،Syria
ماء مقطر	–
الإيتانول المطلق	(Eurolab)،UK
الميتانول المطلق	(Eurolab)،UK
الأسيتون	(Eurolab)،UK
كلوريد الألمنيوم	Titan biotech, india
كربونات الصوديوم	Titan biotech, india
كربونات الصوديوم اللامائية	eurolab,England
خلات الرصاص	Titan biotech, india
هيدروكسيد الصوديوم	Medex, UK
مسحوق المغنيزيوم	Titan biotech, india
مسحوق التوتياء	Titan biotech, india
حمض كلور الماء الكثيف	Medex, UK

حمض الحماض	Himedia laboratories limited, India
حمض البور	Himedia laboratories limited, India
كاشف Folin–Denis	–
حمض الغاليك	Titan biotech, india

الجدول 1: المواد المستخدمة

2-2 الأجهزة المستخدمة

يبين الجدول 2 الأجهزة المستخدمة في هذا البحث مع بلد المنشأ والشركة المصنعة

الأجهزة المستخدمة	**بلد المنشأ والشركة المصنعة**
مطحنة كهربائية	
رجاج كهربائي	
حوض الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic	Germany (Hwashin Technology)
جهاز تحريك مغناطيسي مع التسخين Magnetic stirrer	Australia Velp scientifica
ميزان حساس	Sartorius TE214, Germany
جهاز المبخر الدّوار Rotary evaporator	Switzerland (Heidolph Instruments)
جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer	Japan (Shimadzu)
الساحبة	

الجدول 2: الأجهزة المستخدمة

2 -3- الأدوات المستخدمة

يبين الجدول 3 الأدوات المستخدمة في هذا البحث.

الأدوات المستخدمة	السعة
بياشر	100ml,250ml
أرليمنات	100ml,250ml
دوارق حجمية	25ml,50ml,100ml
ممصات عيارية	1ml ,2ml,5ml,10ml
مراشح ميكرونية 0,45 ميكروليتر	
جفنات زجاجية	-
ميكروبيبت	500 ميكروليتر ، 1000 ميكروليتر
خلايا كوارتز	-

الجدول 3: الأدوات المستخدمة

3- طرائق العمل

3-1-جمع النبات وتوصيفه

تم جني أوراق إكليل الجبل الطبي من محيط جامعة حمص خلال الأشهر الثلاثة الأخيرة من السنة بحيث يكون تركيز المواد الفعالة بأعلى مستوياته [17]. تم غسل الأوراق بماء الصنبور للتخلص من الغبار والمواد العالقة ومن ثم بالماء المقطر، جففت الأوراق في الظلام لمدة شهرٍ ثم تم تنعيمها باستخدام مطحنةٍ إلى أجزاءٍ صغيرةٍ من أجل تسهيل عمليات الاستخلاص التالية.

3 -2- تحضير المستخلصات

3-2-1- طرائق الاستخلاص المستخدمة

اعتمدنا في هذه الدراسة لأول مرةٍ على الجمع بين طريقتي استخلاص بدرجة حرارة الغرفة حيث تم أولاً استخلاص جميع العينات بالتعطين ومن ثم استخلاص تالي باستخدام الأمواج فوق الصوتية أو الرجاج الكهربائي وذلك وفق البروتوكول التالي:

تم وزن 10g من النبات الجاف وإضافة 100ml من المذيبات التالية: الميتانول المطلق، الإيتانول المطلق، الماء المقطر، الإيثانول المطلق مع الماء المقطر بنسبة(1:1).

تم تحضير ثمانية مستخلصاتٍ من إكليل الجبل الطبي، تم تعطينها جميعها لمدة يومين ثم تم متابعة الاستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية لمدة ساعتين لنصف العينات، والنصف الآخر تم متابعة استخلاصه بطريقة الرجاج الكهربائي لمدة ساعتين، وقد تم إجراء كامل العمل المخبري بدرجة حرارة الغرفة.

تم ترشيح العينات السابقة باستخدام مراشح ميكرونيةً ومن ثم تكثيفها باستخدام جهاز المبخر الدوار، وأخيراً تم التخلص من بقايا المذيب تحت الساحبة بدرجة حرارة الغرفة بعيداً عن الضوء والحرارة حتى حصلنا على خلاصاتٍ بألوانٍ وكمياتٍ وقوامٍ مختلفٍ بحسب نوع المذيب والطريقة المستخدمة. تم حفظ الخلاصات السابقة في البراد لحين الاستخدام.

3-2-2- حساب مردود الاستخلاص

تم حساب مردود الاستخلاص من العلاقة:

$$Yield\% = w1/w2 * 100 \quad \ldots\ldots\ldots (1)$$

حيث w1 وزن الخلاصة الخام، w2 وزن العينة المستخلص منها [18].

3-3 -تحضير المحاليل المستخدمة في التحديد الكمي والكيفي للفلافونوئيدات

محلول كلوريد الألمنيوم 1% : يحل 1g من كلوريد الألمنيوم في قليل من الميتانول المطلق ثم يكمل الحجم إلى 100 ml ضمن بالون معايرة0

محلول هيدروكسيد الصوديوم 1N: يحل 4g من هيدروكسيد الصوديوم في 100ml ماء مقطر.

محلول كربونات الصوديوم 2%: يحل 2g من كربونات الصوديوم بالماء المقطر حتى تمام الأنحلال ثم يكمل الحجم إلى 100 ml ضمن بالون المعايرة.

سلسلة حمض الغاليك : تم تحضير محلول أم بتركيز 5g/l وذلك بوزن 0,125g من حمض الغاليك ووضعها في بالون معايرة سعة 25 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى العلام.

تم تحضير سلسلة عيارية متزايدة التركيز من حمض الغاليك (0,1−0,6)g/l ابتداء من المحلول الأم،

تم إجراء مسح طيفي للمحلول الأم ضمن المجال (200−800)nm لتحديد طول الموجة الأعظمي.

3−3−1−الكشف الكيميائي عن الفلافونوئيدات :

أضيف 20 ml من الميتانول المطلق إلى 2g من مسحوق النبات الجاف وتم الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة نصف ساعة، رشحت الخلاصة الميتانولية باستخدام أوراق ترشيحٍ وأجريت عليها اختبارات الكشف التالية للتأكد بشكل دقيق من وجود الفلافونوئيدات :

1. تفاعل كلوريد الألمنيوم: أضيف 1ml من كلوريد الألمنيوم الكحولي 1% إلى 1 ml من الخلاصة تشكل لونٌ أصفرٌ تألق تحت الأشعة فوق البنفسجية بطول موجةٍ 365nm دليلاً على وجود الفلافونوئيد[19].

2. تفاعل هيدروكسيد الصوديوم : أضيف عدة قطراتٍ من محلول هيدروكسيد الصوديوم 1N إلى 1ml من الخلاصة ظهور لونٍ أصفرٍ واضحٍ يدل على وجود الفلافونوئيد[19].
3. تفاعل خلات الرصاص: أضيف عدة قطراتٍ من محلول خلات الرصاص إلى 1 ml من الخلاصة ، تشكّل راسب أصفر عند إضافة الكاشف يدل على وجود الفلافونوئيد [20].
4. تفاعل لوني حسب شينودا جفف مقدار 3 ml من الخلاصة بدرجة حرارة 50 درجةٍ مئويةٍ حتى الحصول على رسابةٍ ، تم حلها بالإيتانول المطلق وأضيف بعدها 0,1g من مسحوق المغنيزيوم وبضع قطراتٍ من حمض كلور الماء الكثيف، ظهور لونٍ أحمرٍ ثابتٍ يدل على وجود الفلافونوئيدات [21] .
5. تفاعل لوني حسب بيف: جفف مقدار 3 ml من الخلاصة بدرجة حرارة 50 درجةٍ مئويةٍ حتى الحصول على رسابةٍ ، تم حلها بالإيتانول المطلق ، وأضيف بعدها 0,1g من مسحوق التوتياء وبضع قطراتٍ من حمض كلور الماء الكثيف تشكّل راسب أحمر يدل على وجود الفلافونوئيد[22].
6. تفاعل ويلسون تابوك : أخذ مقدار 1ml من الخلاصة ومزج مع 0,5g حمض الحماض و0,5g حمض البور، جففت ثم أضيف 3ml أسيتون ثم جفف ، يحل الراسب في 3ml إيتر. تألق المحلول باللون الأخضر عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية بطول موجةٍ 365nm يدل على وجود الفلافونوئيد[23].

3-3-2-تحديد المحتوى الكلي من المواد الفينولية :

جرى تحديد المحتوى الكلي للفينولات في الخلاصة الأفضل مردوداً وفق طريقة Folin-Ciocalteu التي ذكرها الباحثان Nicholson و Vermerris [23]

- أخذ 0,1g من الخلاصة الجافة وحلها ب 10ml ماء مقطر، بحيث يصبح تركيز المركبات الفينولية في محلول الخلاصة ضمن حدود الامتصاصية الممكن تحديدها وفق السلسلة العيارية لحمض الغاليك كونه يمتلك بنية كيميائية قريبة جدا من بنية الفينولات .
- أخذ 0,1ml من الخلاصة إلى أنبوب اختبارٍ وأضيف إليه 2ml من محلول كربونات الصوديوم 2%.
- أضيف 0,1ml من كاشف Folin–Denis الممدد بنسبة 1:1 بالماء المقطر. ترك المزيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعةٍ ومن بعدها تم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 750nm.
- حضّر شاهدٌ بنفس الطريقة السابقة ولكن بدون الخلاصة وتم الاستعاضة عنها بنفس الحجم من الماء المقطر.
- جرى حساب المحتوى الكلي للفينولات اعتماداً على المعادلة الناتجة عن السلسلة العيارية لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن النتائج بعدد غرامات حمض الغاليك المكافئة للمركبات الفينولية الموجودة في 1g من الخلاصة الجافة والأوراق الجافة.

3-4- قياس الـ SPF للمستخلصات المحضرة :

تم حل المستخلصات الجافة بنفس المذيب المستخدم للاستخلاص حتى تمام الانحلال مع الحاجة أحياناً للتسخين لتسريع حلّ العينات ذات القوام الدبق.

تم تحضير سلسلةٍ متزايدة التركيز (50,100,150,200,250) ميكروغرام /مل اعتماداً على قانون التمديد بدءاً من التركيز الذي حصلنا عليه لكل مستخلص.

تم قياس امتصاصية كلّ سلسلةٍ محضرةٍ لكل مستخلصٍ على حدى ضمن مجال ال UVB(290-320)

تم حساب قيمة SPF جبرياً، وذلك بتعويض قيم الامتصاصية السابقة في معادلة منصور وزملائه [9].

SPF spectrophotometer =CF* £ EE *I *Abs

EE: قدرة كل طول موجةٍ على إحداث تأثير حرقٍ بالجلد .

I : الكثافة الشعاعية .

Abs : امتصاص العينة للأشعة .

CF: معامل التصحيح = 10.

قيم EE*I هي ثوابت مبينة في الجدول.

Wavelength (nm)	قيم EE*I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1.0000

الجدول 4 : قيم الثابت EE*I مقابل الأطوال الموجية

- النتائج والمناقشة :

4-1- مردود الاستخلاص

عند تعويض الوزن المستخدم والذي حصلنا عليه من المستخلصات الجافة في العلاقة (1) حصلنا على مردود الاستخلاص كنسبة مئوية لكلا الطريقتين .

يبين الجدول 5 مردود الاستخلاص للعينات المستخلصّة محسوباً كنسبة مئوية .

الطريقة	المحل	الإيتانول المطلق	الميتانول المطلق	إيتانول مطلق +ماء مقطر 1:1	الماء المقطر
التعطين +الأمواج فوق الصوتية		24,66±0,7%	18,03±0,4%	22,26±0,6%	15,4±0,3%
التعطين + الرجاج الكهربائي		15,97±0,5%	14,8±0,3 %	21,73±0,1%	14,26±0,2%

الجدول 5 : مردود طرائق الاستخلاص المستخدمة

تشير النتائج الاحصائية إلى وجود فروق ذات دلالات احصائية في مردود الاستخلاص بين طريقي الاستخلاص وبين أنواع المذيبات المستخدمة.

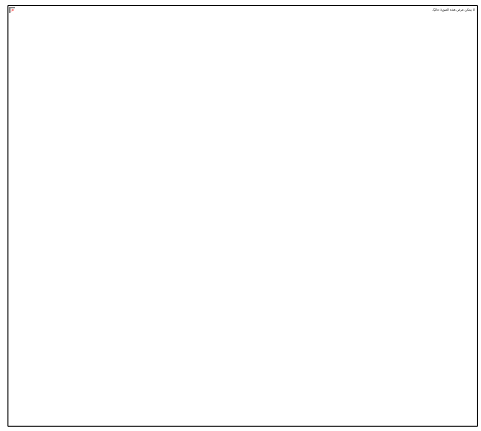
تبين وجود ازدياد في مردود الاستخلاص بشكل معنوي عند استخدام طريقة التعطين ومن ثم الأمواج فوق الصوتية بالمقارنة مع مردود الاستخلاص الناتج عن استخدام طريقة التعطين ومن ثم الرجاج الكهربائي.

يمكن تفسير ما تقدّم أن استخدام الأمواج فوق الصوتية يحسن اختراقية المحل للأنسجة وجدران الخلايا النباتية[25] ، وهذا يتفق مع دراسة أجريت في إيران من قبل زهراء هاشمي وزملائها على أوراق نباتC.melo[5] حيث تحسن المردود باستخدام الأمواج فوق الصوتية.

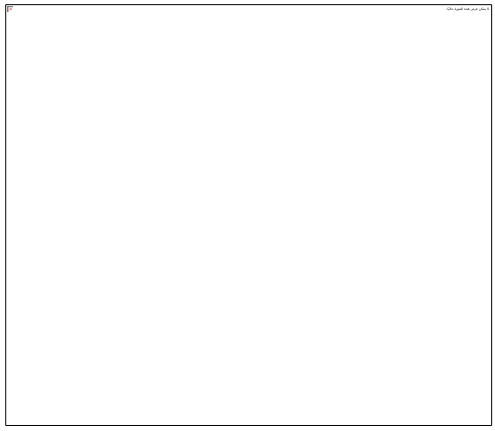
وعند مقارنة المذيبات حقق الإيتانول المطلق المردود الأفضل باستخدام طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية. بينما حقق الإيتانول المطلق مع الماء المقطر مردود الاستخلاص الأعلى باستخدام طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي، بينما ويمكن

تفسير ذلك بأن أن الإيتانول قادر على سحب المواد اللاقطبية بشكل أساسي،في حين أن مذيب الماء مع الإيتانول قادر على سحب المواد القطبية واللاقطبية معاً.

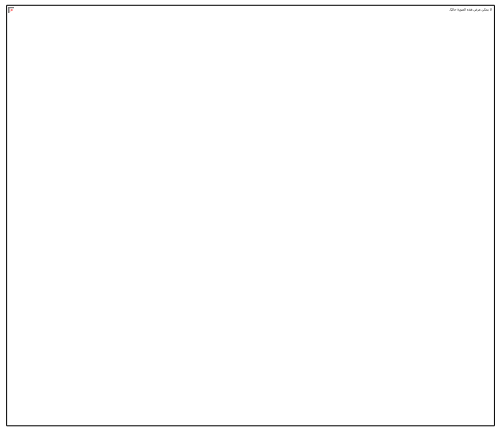
تبين االصور (1–8) الخلاصات الناتجة عن طرائق الاستخلاص باستخدام محلات مختلفة



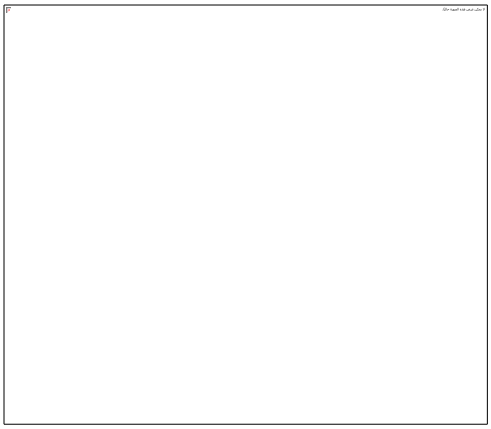
الصورة 1:المستخلص الإيتانولي المحضر بطريقة التعطين ثم الأمواج فوق الصوتية



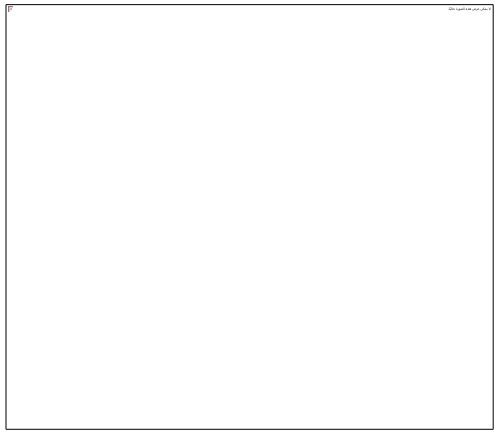
الصورة 2: المستخلص الإيتانولي بطريقة التعطين ثم الرجاج الكهربائي



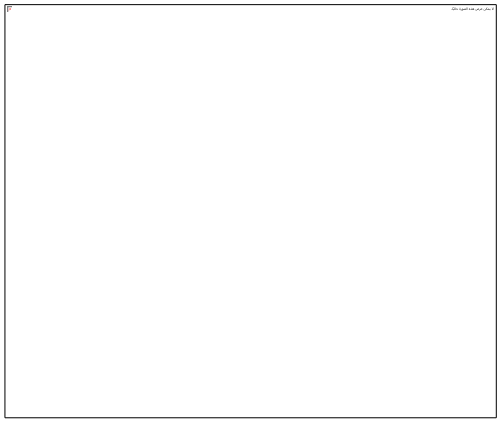
الصورة 3:المستخلص الميتانولي المحضر بطريقة التعطين مع الأمواج



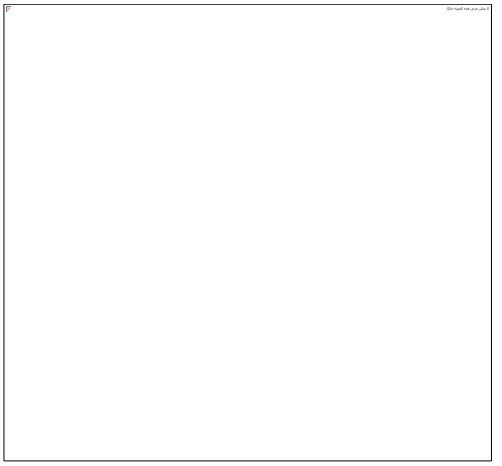
الصورة 4: المستخلص الميتانولي المحضر بطريقة التعطين مع الرجاج



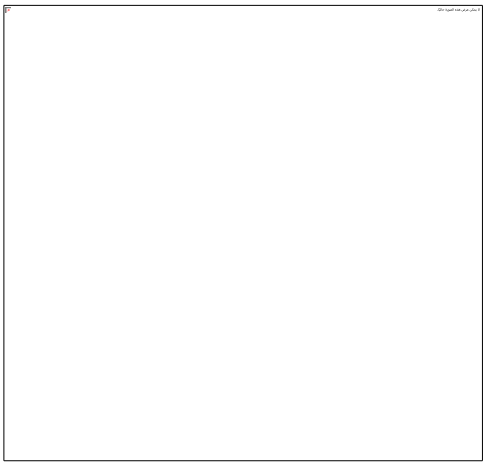
االصورة 5 : المستخلص المائي المحضر بطريقة التعطين مع الأمواج



االصورة 6: المستخلص المائي المحضر بطريقة التعطين مع الرجاج



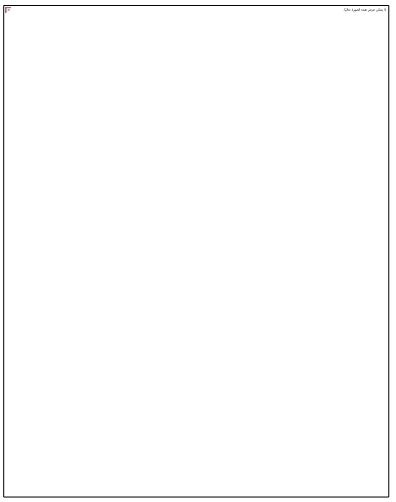
الصورة 7: مستخلص الماء + الإيتانول المحضر بطريقة التعطين مع الأمواج



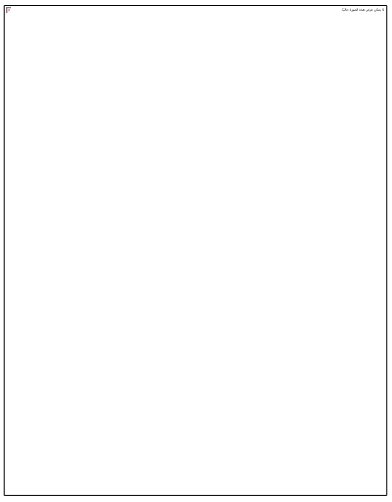
الصورة 8: مستخلص الماء +الإيتانول المحضر بطريقة التعطين مع الرجاج

4-2- الكشف الكيميائي عن الفلافونوئيدات :

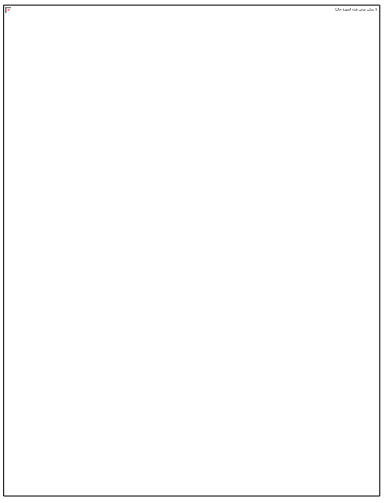
كانت نتائج الكشف عن الفلافونوئيدات إيجابيةً في جميع العينات، حيث أصبحت الخلاصة بلونٍ اصفرٍ عند إضافة كل من كلوريد الالمنيوم وهيدروكسيد الصوديوم (الصورة 9، 10)، وتم الحصول على راسبٍ اصفرٍ بإضافة خلات الرصاص (الصورة11).في حين تشكل راسبٌ أحمرٌ ثابتٌ عند إضافة حمض كلور الماء الكثيف في تفاعلي شينودا وبيف (االصورة12 ،13) ، وتألقت الخلاصة بلونٍ أخضرٍ عند تعريضها لأشعة UV في تفاعل ويلسون توباك(الصورة 14).



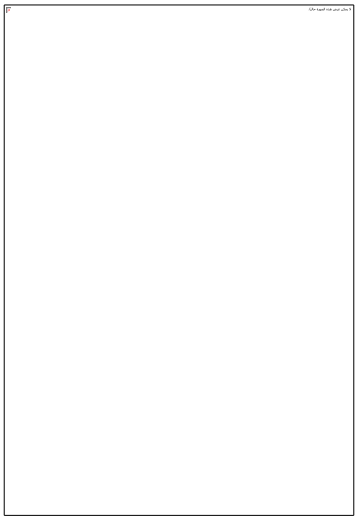
الصورة 9: تفاعل كلوريد الألمنيوم



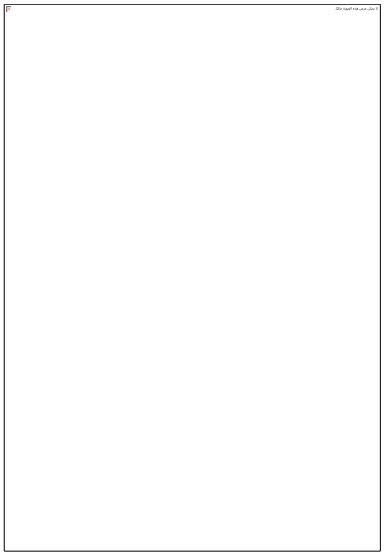
الصورة 10 : تفاعل هيدروكسيد الصوديوم



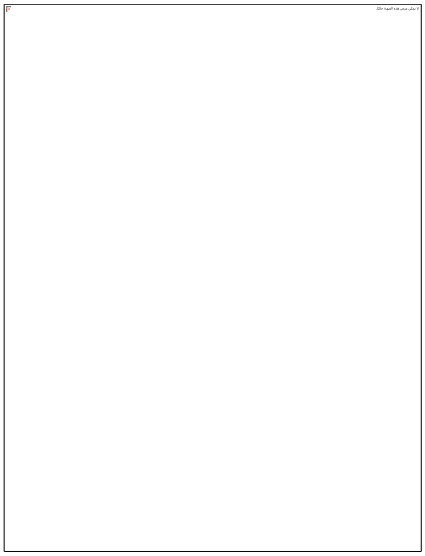
الصورة11: تفاعل خلات الرصاص



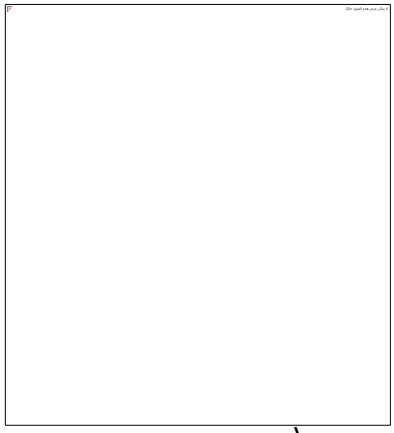
الصورة 12 : تفاعل شينود

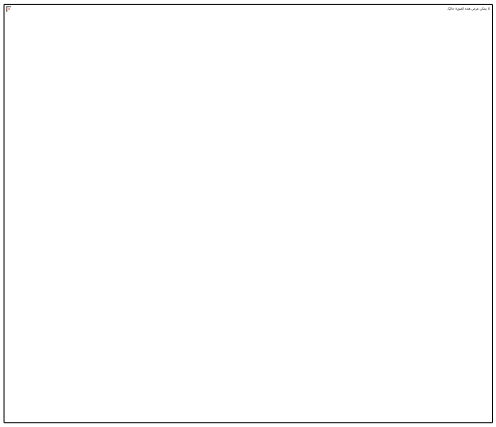


الصورة 13 : تفاعل بيف–شينودا



الصورة 14: تفاعل وبلسون توباك



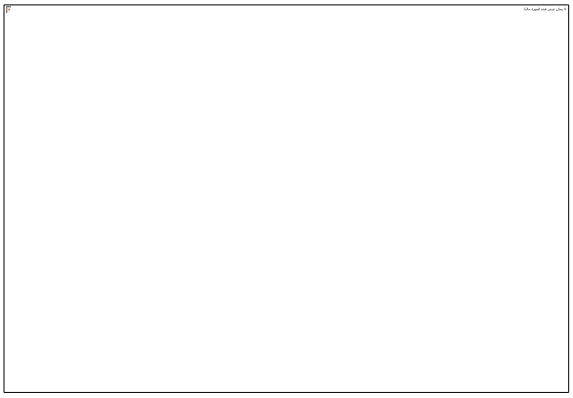


الصورة 9– 16 التفاعلات الكيميائية للكشف عن الفلافونوئيدات

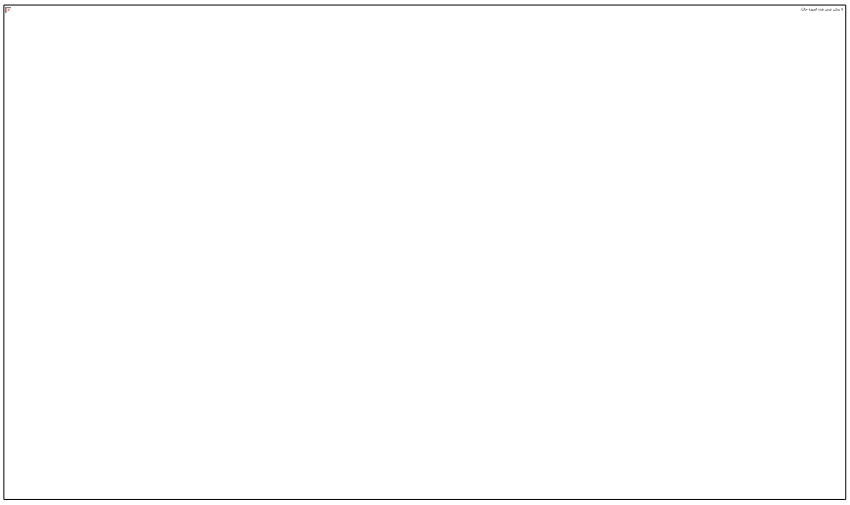
4–3– تحديد المحتوى الكلي من المواد الفينولية

يبين الشكل 17 المسح الطيفي لحمض الغاليك ضمن المجال المرئي وفوق البنفسجي (200-800 نانومتر). يلاحظ أن طول موجة الامتصاص الاعظمي 320 نانومتر.

يوضح الشكل 18 الامتصاصيات المقابلة للتراكيز المختلفة للسلسلة العيارية لحمض الغاليك.



الشكل 17: المسح الطيفي لحمض الغاليك



الشكل18 : الامتصاصيات المقابلة لتراكيز السلسلة العيارية

- عند دراسة العلاقة بين التراكيز والامتصاصية حصلنا على معادلة خطية على النحو التالي:

$y=0,993x-0,0776$.

نلاحظ أن قيمة معامل الارتباط قريبةً جداً من الواحد وبالتالي فإن العلاقة خطية بين الامتصاصية والتركيز.

- امتصاصية العينة عند طول الموجة 750nm= 0,769.

بتعويض قيمة امتصاصية العينة السابقة في المعادلة الخطية لحمض الغاليك نجد أن تركيز الفينول في 0,1ml من الخلاصة الجافة : 0,8525 g/l.

حساب محتوى الفينول الكلي g مكافئ حمض الغاليك / g خلاصة جافة = التركيز العملي / التركيز النظري

=0,8525/ 10 = 0,08525g/g = 85,25g/kg من الخلاصة الجافة

- حساب كمية الفينولات الكلية في النبات الجاف :

0,2498 x 0,08525= 0,02129 g/g

= 21,129g/kg

- يعد تركيز المواد الفينولية الذي حصلنا عليه في الخلاصة الجافة أعلى من التركيز الذي تم الحصول عليه ضمن خلاصة أوراق إكليل الجبل الجافة المستخلصة بجهاز الأمواج فوق الصوتية فقط في دراسة سابقة (51,7 g/kg) [26].
- من الممكن أن يعود تركيز الفينول العالي لنبات أكليل الجبل في هذه الدراسة إلى:

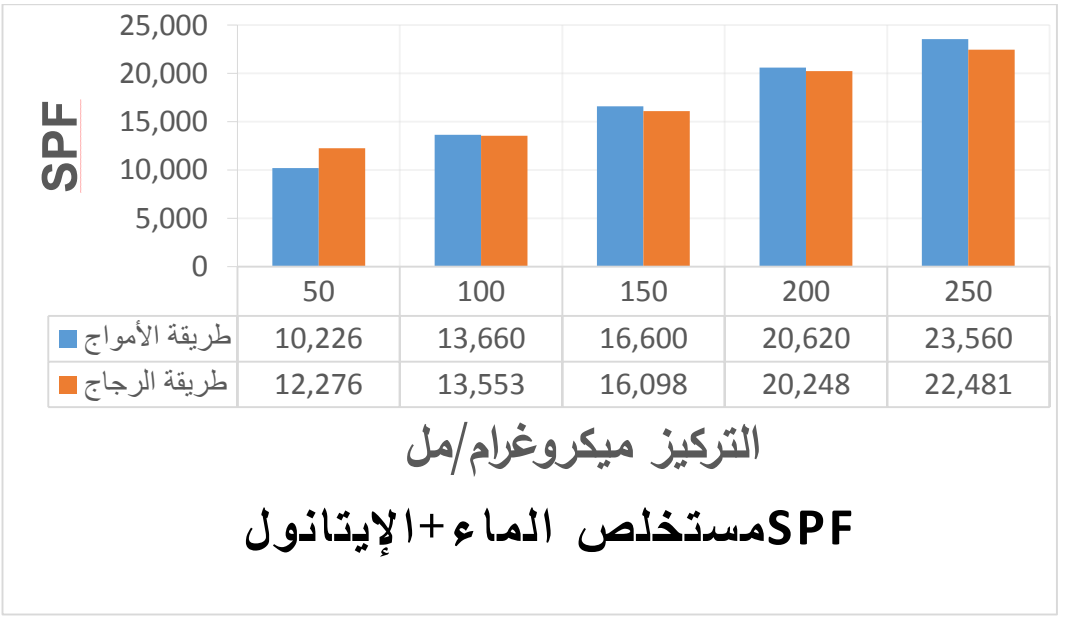
استخدام طريقتي استخلاص متتاليتين مما أدى إلى زيادة مردود الاستخلاصبشكل عام وللمواد الفينولية بشكل خاص .

- من الملاحظ أن تركيز المواد الفينولية في الخلاصة الجافة أعلى مما هو عليه في النبات الجاف ومن الممكن تعليل ذلك بأن طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية قد ساهمت بتمزق النسيج النباتي الجاف وزيادة استخلاص المواد الفينولية بالسائل المستخدم.

4-4- حساب ال SPF:

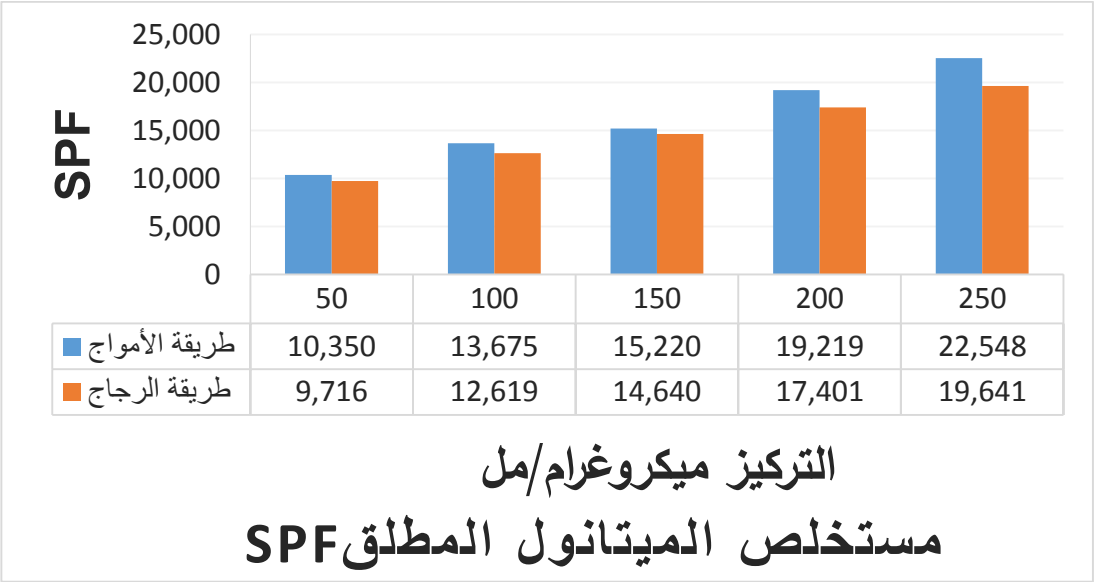
عند دراسة امتصاصيات المستخلصات المقابلة لتراكيز مختلفة وجدنا قيم العامل الحماية الشمسية متزايدة طردياً مع التركيز لكلا طريقتي الاستخلاص .

4-4-1- مستخلص الماء المقطر + الإيتانول :



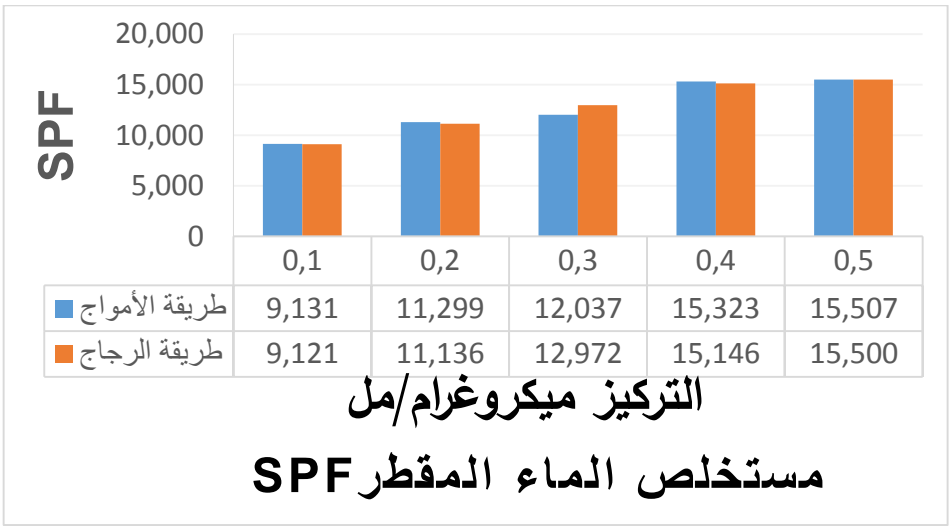
الشكل 20: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الماء +الإيتانول(1:1)

4-4-2- المستخلص الميتانولي :



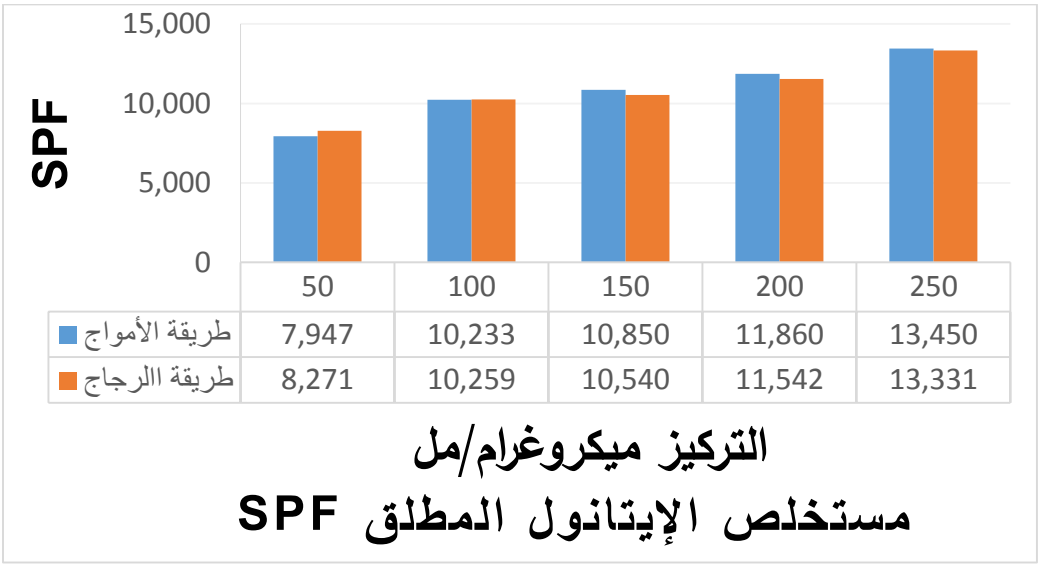
الشكل 21: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الميتانول المطلق

4-4-3- مستخلص الماء المقطر:



الشكل22: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الماء المقطر

4—4-4- المستخلص الإيتانولي :



الشكل 23: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الإيتانول المطلق

حققت طريقة التعطين مع الأمواج فوق الصوتية قيمة SPF الأعلى لغالبية المستخلصات (إحصائياً الفرق بين الطريقتين لجميع المحلات مع جميع التراكيز غير معنوي $p>0,05$)، ويمكن تفسير ذلك :

بتحسن استخلاص المركبات الفعالة بشكلٍ عامٍ كما هو ملاحظ بنتائج مردود الاستخلاص والمركبات الفينولية بشكل خاص نتيجة استخدام الأمواج فوق الصوتية بعد طريقة التعطين في الاستخلاص مما ساهم بزيادة اختراقية المحل للأنسجة النباتية[25] وهذا ما نتج هنه زيادة القدرة على الحماية من الأشعة الشمسية بسبب احتواء المواد الفينولية على مجموعةٍ هيدروكسيليةٍ حرةٍ مما يكسبها القدرة على كنس الجذور الحرة وصنفت على أنها مضادات أكسدةٍ طبيعيةٍ [27]، من جهةٍ ثانيةٍ يعد المحتوى العالي من المواد الفينولية لنبات إكليل الجبل عائداً الى كمية الفلافونوئيدات (11,8 g) حيث يتواجد مركب الروتين بتركيز عال والحموض الفينولية مثل حمض الكوماريك وفيروليك والكاتشين والكامفيرول والكويرستين [28].

حققت مستخلصات الإيتانول مع الماء المقطر قيمة SPF الأعلى من بين جميع المذيبات بفروقٍ معنويةٍ في كلا الطريقتين تلاها مستخلصات الميتانول ومن ثم الماء المقطر و أخيراً الإيتانول المطلق.يمكن تفسير ذلك: بأن مذيب الإيتانول مع الماء المقطر قادرٌ على استخلاص المواد القطبية مثل الفنولات والمواد اللاقطبية مثل السكريدات والتي لها قدرة واقية من أشعة الشمس، بينما مذيب الميتانول المطلق فقد

بلغ تركيز المواد الفينولية في مستخلصاته لنبات إكليل الجبل بحسب دراسة أجراها الباحث Terul وزملائه 20,41 MG CA/KG وقد يكون أحد الأسباب في ارتفاع قيمة SPF العائدة لهذه المستخلصات [29].

5- الاستنتاجات والتوصيات :

5-1-الاستنتاجات:

من خلال الدراسة السابقة نستنتج ما يلي: 1- استخدام طريقتي استخلاص (تعطين ثم أمواج فوق صوتية، تعطين ثمرجاج كهربائي) في هذا البحث أدى إلى زيادة المردود وتقليل حجم المذيبات المستخدمة بالمقارنة مع استخدام طريقة استخلاص واحدة في الدراسات المرجعية السابقة.

2- الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية واستخدام الإيتانول المطلق كمذيب هو الأفضل من حيث مردود الاستخلاص.

3- الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية واستخدام الايتانول مع الماء المقطر كمذيب هو الأفضل من حيث قيمة عامل الحماية الشمسي

4- مستخلصات أكليل الجبل لها قدرة واقية شمسية بسبب محتواها العالي من البوليفينولات عموما والفلافونوئيدات خصوصا.

5-2-التوصيات :

نوصي بما يلي :

1- إضافة الخلاصات النباتية ضمن أشكالٍ صيدلانيةٍ مختلفةٍ ودراسة تأثيرها الواقي الشمسي.

2- دراسة تحليلية كمية للفلافونوئيدات الموجودة في الخلاصة.

6-المراجع :

[1] Liyan Li, Lan Chong, Tao Huang, Yunge Ma, Yingyan Li, Hui Ding 2023. Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens,Animal Models and Experimental Medicine A review, 6 (3), 183-195.

[2] Walters,K.A.,&Roberts,M.S. 2002-The structure and function of skin.In Dermatological and Transdermal Formulations.(Issue 1). (pp.1-40).

[3] LC Cefali, JA Ataide, P Moriel, MA Foglio, PG MazzolaInternational 2016 Plant-based active photoprotectants for sunscreens, journal of cosmetic Science 38 (4), 346-353.

[4] Weatherhead,S.C.,Farr,P.M.,&Reynolds,N.J.2012 Spectral effectsof UV on Psoriasis , National Library of Medicine 1;12(1):47-53. .

[5] HASHEMI, Z. EBRAHIMZADEH,M., KHALILI,M 2019 Sun protection factor, total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of medicinal plants from Iran,Tropical journal of Pharmaceutical Research18(7):1443-1448

[6] ra EA, Oliveira DA, Kedor-Hackmann ERM, Santoro MI 2004 Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry, Brazillian Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.40(3) .

[7] Svobodova A, Psotova J, Walterova D 2003 Natural phenolic in the prevention of UV-induced skin damage, a review, National Library of Medicine,147(2): 137-145.

[8] Schalka, S., & Manoel, V. (2011). Sun protection factor.meaning protecao solar , signifcado e controversia. 86(3),507-515.

[9] C. Malsawmtluangi, Deepak Kumar Nath, Italini Jamatia, Lianhimgthangi, E. Zarzoliana, Lalduhsanga Pachuau 2013 Determination of Sun Protection Factor (SPF) number of some aqueous herbal extracts, Journal of applied Pharmaceutical Science. Vol.3(09),pp150-151

[10] P. Goswami, Mayuri Samant, R. Srivastava (2013).Natural Sunscreen Agents : A Review,Medicine, Environmental Science, Chemistry . Vol. 2(06),458-463.

[11] Radice, M., Manfredini, S., Ziosi, P., Dissette, V., BUSO, P., Fallacara, A.,&Vertuani, S 2016 Herbal extracts ,lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters ,ElSEVIER , vol. 114,pp144-162.

[12] Schroeder, P., Lademann, J., Darvin ,M.E., Stee, H.,Marks, C.,Bruhnke, S.,&Krutmann, J.,2008 Infrared Radiation-Induced Matrix. Metalloproteinase in Human Skin : Implications for Protection. Journal of Investigative Dermatology , Vol.128(10), pp2491-2497.

[13] Azwanida NN1,2 2015 A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle Strength and Limitation, Medicinal & Aromatic Plants. Vol (4),pp1-6.

[14] ASHARA ,M, NAJAFIAN, SH, & RADI,M 2021 Seasonal variation on the major bioactive compounds: total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of rosemary from shiraz, Natural Product Research, Vol. 36(2):1-6

[15] OLIVEIRA,J ,CAMARGO,S, OLIVEIRA,L 2019 Rosmarinus officinalis L (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent, Journal of biomedical science 26 (1), 5 .

[16] ANDRADE,J, FAUSTINO,C, GARCIA,C , LADEIRAS,D, REIS,C, RIJO,P 2018 Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity , National Library of Medicine . vol 4 (4), FSO283, 2018

[17] KATAR,N *1, KATAR,D 2, TEMEL,T3, KARAKURT ,S 3, BOLATKIRAN3, Emel YILDIZ J3, SOLTANBEİGİ,A 2019. The effect of different harvest dates on the yield and quality properties of rosemary

(Rosmarinus officinalis L.) plant ,Biological Diversity and Conservation . Vol.12(3):7-13

[18] R. Joujeh. Phytochemical and Biological Study of Centaurea Cineraria L. Cultivated in Syria 2020 ,Bulletin of Pharmaceutical sciences Assiut. Vol.43,pp141-147.

19] Harborne, J.B. Photochemical Methodss : A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. London: United Kingdom . Chapman and Hall. P:278

[20] Ashkurfo,Rabia,AL-Jangawi,Atika,and AL-Aswad,Nadia.2019 Organic Detection of some Chemical Compounds of Green and Purple Cabbage Extracts,International Journal of Science and Technology .Issue 16,p.p1-15... In Arabic.

[21] Shah,B.N.,&Seth,A.K.2010 -Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry- .1ed..Elsevier.p:578.

[22] Youssef,A, SKER,L, DAEA,R (2024). A Chimical study of the thistle plant Tribules terrestris L., Widespread in the Hama countryside in Syria, Tishreen University Journal.Vol.46 NO(1)

[23] Aleem,A,.2018.Phytochemical Detection of the Active Ingredients in thesyrian Medicinal Plant Tribulus Terrestris L.from the Zingiberaceae Family.Syrian Journal of Agricultural Research.Vol.4,No:5.P-P.166-187. In Arabic.

[24] Nicholson, R.and W. Vermerris 2006 – Phenolic compound biochemistry– . Springer, Berlin ,Germany.

[25] Aitemimi, A., D. G. Watson, R. Coudhary, M, R. Dasari and D. A. Lightfoot(2016).

Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins.

[26] AHMAD.A,2023–A study of the anti–meat effect of rosemary and laurel extract for use in meat preservation–. Latakia, Syria,79p. (In Arabic).

[27] Robard, K.,P.D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang and W.Glover 1999

Phenolic compound s and their role in oxidative processes in fruits, Food Chemistry .vol 66(4):401–436.

[28]Bianchin, M., D . Pereira, J. d. F. Almeida, C. d. Moura, R. S. Pinheiro, L. F. S. Heldt, C. W. I. Haminiuk and S. T. Carpes (2020). Antioxidant properties of lyophilized rosemary and sage extract and its effect to prevent lipid oxidation in poultry pate . Molecules 25(21):5160

[29] Teruel, M. R., M. D. Garrido, M. C. Espinosa and M. B. Linares (2015). Effect of different format– solvent rosmary extracts(Rosmarinus

officinalis) on frozen chicken nuggets quality . Food Chemistry 172: 40-64