

الكشف الكيفي والكمي عن المحتوى الكيميائي لنوعين من الحزازيات الحقيقية المنتشرة في الحفة

مصطفى اسماعيل^{1*}، لبنى مقراني²، أمينة إبراهيم³

^{1*} طالب دكتوراه، قسم علم الحياة النباتية، جامعة دمشق،

mustafa.ismaeel@damascusuniversity.edu.sy

² أستاذ مساعد في قسم علم الحياة النباتية، جامعة دمشق، تقانات حيوية نباتية،

l.mokrani@damascusuniversity.edu.sy

³ مدرّس في قسم الكيمياء، جامعة دمشق، كيمياء تحليلية،

amina.ibrahim@damascusuniversity.edu.sy

الملخص

أجريت دراسة كيميائية لنوعين من الحزازيات الحقيقية جانبية الإثمار *Rhynchostegium murale* و *Eurhynchium praelongum* جمعت من منطقة الحفة في محافظة اللاذقية. حضّرت خلاصة الإتانول 70% للنوعين باستعمال طريقة الأمواج فوق الصوتية المساعدة، تم الكشف الكيفي عن بعض المستقلبات الثانوية وتقدير المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات والفينولات والفلافونويدات، وبعض الأصبغة، بالإضافة إلى النشاط المضاد للتأكسد. بينت نتائج الكشف الكيفي تفاوتاً في نسب وجود المستقلبات الثانوية المدروسة، مع ملاحظة غياب الغليكوزيدات تماماً في خلاصة النوعين. بلغت قيمة المحتوى الكلي للسكريات 0.55 ± 49.02 ملغ. غ⁻¹ و 1.35 ± 40.22 ملغ. غ⁻¹ وبلغت قيمة المحتوى الكلي للبروتينات 0.08 ± 4.28

ملغ.غ⁻¹ و 0.05 ± 5.1 ملغ.غ⁻¹ للنوعين *R. murale* و *E. praelongum* على الترتيب. لوحظ تفوق للنوع *E. praelongum* على النوع *R. murale* في قيم المحتوى الكلي للفلافونويدات والأصبغة. كما أظهرت خلاصة النوع *E. praelongum* نشاطاً مضاداً للتأكسد أعلى من النوع *R. murale*، حيث بلغت قيمة IC₅₀ في النوع *E. praelongum* 1.98 ملغ.مل⁻¹ بينما بلغت 3.08 ملغ.مل⁻¹ في النوع *R. murale*، كما تبين ارتباط قيم المستقبلات الأولية والثانوية فيما بينها إيجاباً، وهذا يبرز القيمة الغذائية للحزازيات إلى جانب أهميتها في المجالات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: الحزازيات، جانبية الإثمار، كشف كيميائي، مضاد تأكسد، الحفة.

Qualitative and Quantitative Detection of Chemical Composition for two Mosses Species of Bryopsida Widespread in Al-Haffah

Mustafa Ismaeel^{1*}, Loubna Mokrani², Amina Ibrahim³

¹ PhD student, Department of Plant Biology, Damascus University, mustafa.ismaeel@damascusuniversity.edu.sy

² Assistant Professor in Department of Plant Biology. Damascus University. Plant biotechnology. l.mokrani@damascusuniversity.edu.sy

³ Lecturer in Department of Chemistry, Damascus University, Analytical Chemistry, amina.ibrahim@damascusuniversity.edu.sy

Abstract

A chemical study was conducted for two mosses Species of Pleurocarpous Bryopsida, *Rhynchostegium murale* and *Eurhynchium praelongum*, collected from Al-Haffah area in Latakia. A 70% ethanol extract was prepared for the two Species using the ultrasound-assisted method. Some secondary metabolites were qualitatively detected, then the total content of carbohydrates, proteins, phenols, flavonoids, some pigments, and antioxidant activity were estimated. The qualitative detection of secundry metabolites was different between the studied species, with a total absence of glycosides in both extracts. The average concentration of the total content of carbohydrates was $49.02 \pm 0.55 \text{ mg.g}^{-1}$ and $40.22 \pm 1.35 \text{ mg.g}^{-1}$, and the average concentration of the total

content of proteins $4.28 \pm 0.08 \text{ mg.g}^{-1}$ and $5.1 \pm 0.05 \text{ mg.g}^{-1}$ for *R. murale* and *E. praelongum* respectively. It was observed that *E. praelongum* had a higher content in flavonoids and pigments when compared to *R. murale*. The extract of *E. praelongum* also showed a higher antioxidant activity than *R. murale*, reaching IC_{50} at 1.98 mg.ml^{-1} concentration for *E. praelongum*, while it reached 3.08 mg.ml^{-1} for *R. murale*. On the other side, primary and secondary metabolites were positively correlated to each other, this gave a supplementary nutritional value to the studied mosses in addition to their pharmaceutical importance.

Key words: Mosses, Pleurocarpous, Qualitative detection, Antioxidants, Al-Haffah.

المقدمة

وجدت البريويات Bryophytes على سطح الأرض منذ أكثر من 400 مليون سنة وتعد أولى نباتات اليابسة، وهي نباتات صغيرة، لاوعائية، وتأتي في المرتبة الثانية بعد النباتات الزهرية من حيث الانتشار والتوزع، تصنيفاً تقع بين الطحالب والتريديات، يتناوب في دورة حياتها جيلان عروسي سائد وجيل بوغي أصغر حجماً ويعتمد كلياً أو جزئياً على الجيل العروسي [1-3]. يرتبط نمو وانتشار البريويات بوجود كمية كافية من الماء، تنمو على أوساط مختلفة مثل التربة الرطبة، الأخشاب وفروع الأشجار، سطوح الصخور، ونادراً ما تكون مغمورة في الماء، تنتشر في مختلف الأنظمة البيئية عدا البحار والمحيطات، لكنها تفضل البيئات الرطبة الظليلة [4-5]. أما في سورية فتنتشر في الجزء الغربي بدءاً من الجولان في الجنوب حتى لواء الإسكندرون في الشمال، بما في ذلك غابات الشريط الساحلي السوري والمرتفعات الجبلية [6].

تعد الدراسات التي تهتم بالنباتات الحزازية قليلة مقارنة بالنباتات الزهرية بالرغم من الاستعمالات العديدة للحزازيات في المجالات المختلفة [7-8]، حيث تعد ذات أهمية كبيرة في المجالات التطبيقية، ففي المجالات الطبية، تعد الحزازيات معروفة في الطب الشعبي منذ أكثر من 400 عام لمعالجة كثير من الأمراض لاحتوائها مركبات كيميائية فعالة ذات قيمة طبية عالية، وتعد الأنواع التابعة للأجناس *Sphagnum* و *Polytrichum* الأكثر استعمالاً، كما تعدّ كندا والمكسيك والهند والصين وبريطانيا من أكثر البلدان استعمالاً للحزازيات [9-10]. وقد دوّنت استعمالاتها الطبية لأول مرة عام 1957 من قبل الباحث Flowers [11-12]. حيث استعملت لعلاج الإصابات الجلدية بما فيها الحروق، الجروح الخارجية، الكدمات، لدغات الأفاعي، اضطرابات الكبد، المشاكل البولية، أمراض القلب، والعديد من الأمراض الأخرى، وتستعمل حالياً كمصدر للصادات الحيوية ومضاداً للتأكسد وفي علاج الأورام والسرطان [13-14]. كما تستعمل في

المجالات الاقتصادية والصناعية والتزينية، يضاف إلى ذلك أهميتها البيئية الكبيرة، حيث تسهم في تكوين الترب عن طريق تفتيتها للصخور، ولها دورها بيئي هام في اتمام دورة العناصر (الكربون والآزوت) كما تستعمل في معالجة التلوث البيئي ومراقبته [15-16].

أهملت الحزازيات لفترة طويلة في السابق لعدة أسباب، نذكر منها: صغر حجم نباتاتها، صعوبة الحصول على كميات كبيرة من الأنواع بشكل نقي، صعوبة تصنيفها، قلة المختصين واعتبارها نباتات ذات قيمة غذائية منخفضة نظراً لافتقارها للثمار والبذور [17-18].

ازدادت الدراسات التي تهتم بكيمياء الحزازيات في الآونة الأخيرة منذ العام 1960، حيث أظهرت الدراسات الحديثة أن الحزازيات واحدة من المصادر الواعدة لمنتجات طبيعية فريدة ذات فعالية حيوية عالية والتي يمكن استعمالها في تحضير عقاقير صيدلانية كصادات حيوية أو مضادات تأكسد، أو إكثارها لاستعمالها كمصدر للغذاء [19-20].

إن افتقار الحزازيات لنسج واقية وأعضاء حماية (قشيرة، الأشواك، الأوعية الناقلة...)، أدى إلى لجوئها لإنتاج مستقلبات ثانوية تحميها من الإجهادات الحيوية واللاحيوية، لذلك فهي غنية بالمستقلبات الثانوية ذات الفعالية الحيوية العالية حيث تحوي تراكيز عالية من الفينولات، القلويدات، التربينويدات ... [14-21-22]. وكذلك تحوي تراكيز عالية من الحموض الدسمة غير المشبعة والتي تغيب غالباً في النباتات الراقية مثل Eicosapentaenoic Acid (EPA و Arachidonic Acid (AA 20:4, ω-6) و 20:5, ω-3 والتي لها وظائف فيزيولوجية وحيوية هامة في جسم الإنسان، وأن النسب العالية من الحموض الدسمة ذات السلاسل الطويلة متعددة عدم الإشباع very long chain - PolyUnsaturated Fatty Acids (vl-PUFAs) تشير إلى إمكان

استعمالها في التقانات الحيوية، الصناعات الغذائية، الصناعات الدوائية والتجميل^[23]
[25-24]

تكمن أهمية هذا البحث في قلة الأبحاث العلمية التي أنجزت في مجال الحزازيات في العالم العربي عموماً وفي سورية خصوصاً بالرغم من التنوع الحيوي الكبير والغنى بالأنواع النباتية الحزازية، إضافة إلى الحاجة للبحث عن مصادر طبيعية جديدة لبعض المواد الكيميائية ذات الفعالية الحيوية، لذا كان لابد من تسليط الضوء على هذه المجموعة النباتية والتحري عن التركيب الكيميائي لها والتتويه بأهميتها التطبيقية في المجالات المختلفة الطبية والاقتصادية والبيئية والصناعية والتزينة بغية الاستفادة منها ومن خواصها. وإمكان الاستفادة من الأنواع المحلية.

أهداف البحث

1. التعريف بالبريويات وأهميتها التطبيقية في المجالات المختلفة.
2. الكشف الكيفي عن المستقلبات الثانوية في الخلاصة الإتانولية لنوعين من الحزازيات جانبية الإثمار.
3. تعيين المحتوى الكلي للسكريات، البروتينات، الفينولات، والفلافونويدات، والأصبغة في خلاصة النوعين.
4. تحديد الفعالية المضادة للتأكسد في خلاصة النوعين.
5. دراسة إحصائية لتحديد مدى الارتباط بين المعايير الكيميائية المدروسة.

مواد وطرائق البحث

1. جمع العينات النباتية

جمعت العينات النباتية للنوعين *Rhynchostegium murale* و *Eurhynchium praelongum* من الحزازيات الحقيقية جانبية الإثمار من منطقة الحفة في محافظة

اللائقية خلال العديد من الجولات الحقلية بين شهري كانون الثاني ونيسان من العام 2021، حيث تبدأ النباتات العروسية بالنمو والانتشار بهذه الفترة من كل عام مرتبطة بالهطولات السنوية ودرجات الحرارة المناسبة، ثم نقلت إلى المختبر بعد أن أُعطيت الذاتية المناسبة التي شملت: رقم العينة، مكان وتاريخ الجمع، وإسم جامعها.

2. تحضير الخلاصات النباتية

أُجري الاستخلاص في هذه الدراسة باعتماد طريقة الأمواج فوق الصوتية المساعدة لما لها من مميزات نذكر منها: أنها تزيد من نفاذية الجدر الخلوية وبالتالي تزيد من مردود الاستخلاص، وتقلل زمن الاستخلاص، ولا تحتاج إلى كمية كبيرة من المذيب ولا إلى درجات عالية من الحرارة [26].

حُضرت الخلاصات بطريقة الأمواج فوق الصوتية المساعدة واستعمال المذيب الإيثانول 70% كمايلي: نظفت العينات من التراب والبقايا العضوية ثم غسلت جيداً، جففت في الفرن عند حرارة 40 °م ° حتى ثبات الوزن، ثم طحنت باستعمال مطحنة IKA A II basic. وزن 1 غرام لكل نوع ووضعت في عبوات زجاجية سعة 250 مل وأضيف إليها 100 مل من المذيب (إيثانول 70%)، ثم عرّضت العبوات للأمواج فوق الصوتية باستعمال جهاز (Digital Ultrasonic Cleaner - 100 W) مدة 3 ساعات مع ضبط الحرارة عند الدرجة 25-30 °م °، حضنت العبوات بعدها ضمن حاضنة هزازة (JSR, JSSI-100C) مدة 72 ساعة عند درجة الحرارة 30 °م ° والسرعة 150 دورة.دقيقة⁻¹، ثم ثقلت العينات ورشّحت باستعمال ورق الترشيح Sartorius stedenin 110 mm [8]. وحُسب مردود الاستخلاص بالاعتماد على المعادلة التالية:

مردود الاستخلاص = (وزن الخلاصة الجاف/ وزن مسحوق النبات الجاف) ×

100.

حفظت الخلاصات في البراد عند درجة الحرارة 4 ° م ° لحين الاستعمال.

3. الكشف الكيفي عن المستقلبات الثانوية في الخلاصة الإتانولية

1.3. الكشف عن الفينولات والتانينات

أجري الكشف عن الفينولات والتانينات في خلاصة الإتانول 70% لأنواع المدروسة بطريقة كلوريد الحديد الثلاثي، وذلك بإضافة 2 مل من كلوريد الحديد الثلاثي 2% $FeCl_3$ إلى 1 مل من الخلاصة، ظهور لون أخضر مسود أو أخضر مزرق دليل على وجود التانينات أو فينولات [27-28].

2.3. الكشف عن القلويدات

اعتمد على اختبارات الترسيب للكشف عن القلويدات، وذلك بإضافة بضع قطرات من الكواشف إلى 1 مل من الخلاصة، فيتشكل راسب بلون معين يدل على وجود القلويدات [29-30].

- كاشف فاغنر Wagner's Reagent (اليود المذاب في محلول يود البوتاسيوم): يتشكل راسب بلون بني محمر عند إضافة 1 مل من الكاشف إلى 1 مل من الخلاصة.
- كاشف ماير Mayer's Reagent (محلول كلوريد الزئبق + محلول يود البوتاسيوم): يتشكل راسب أبيض كريمي عند إضافة 1 مل من الكاشف إلى 1 مل من الخلاصة.
- كاشف دراجندروف Dragendorff's Reagent (محلول يود بزموتات البوتاسيوم): يتشكل راسب أحمر برتقالي أو بني محمر عند إضافة 1 مل من الكاشف إلى 1 مل من الخلاصة.

3.3. الكشف عن الصابونينات

للكشف عن الصابونينات، أضيف 5 مل من الماء المقطر إلى أنبوب يحوي 3 مل من الخلاصة، ثم رجّ الأنبوب بشدة، يدل ظهور رغوة على وجود الصابونينات [28-31].

3.4. الكشف عن الفلافونويدات

أجريت عدة اختبارات للكشف عن الفلافونويدات [30-32]، وفق الآتي:

- كاشف NaOH: يضاف 1 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم 10% NaOH إلى 1 مل من الخلاصة، يظهر لون أصفر فاقع في حال وجود الفلافونويدات.
- كاشف كلوريد الحديد الثلاثي: تضاف عدة قطرات (1 مل) من كلوريد الحديد الثلاثي 10% $FeCl_3$ إلى 2 مل من الخلاصة، يدل ظهور اللون الأخضر على وجود الفلافونويدات.

3.5. الكشف عن الستيروئيدات والتربينات الثلاثية

أجري اختبار Salkowski للكشف عن الستيروئيدات والتربينات الثلاثية معاً، وذلك بإضافة 2 مل كلوروفورم إلى 2 مل خلاصة، ثم أضيف 2 مل حمض كبريت بحذر، يدل ظهور اللون البني المحمر في طبقة الكلوروفورم في الأسفل واللون الأخضر المصفر في الأعلى على وجود الستيروئيدات والتربينات الثلاثية في الخلاصة [33-34].

3.6. الكشف عن الكومارينات

أضيف 1 مل محلول هيدروكسيد الصوديوم 10% NaOH إلى 2 مل من الخلاصة، يدل ظهور لون أصفر على وجود الكومارينات [31-35].

7.3. الكشف عن الغليكوزيدات

أجري اختبار Keller-killiani للكشف عن الغليكوزيدات، حيث أضيف 1 مل من محلول كلوريد الحديد الثلاثي 5% FeCl_3 إلى أنبوب يحوي 1 مل من الخلاصة، ثم أضيفت قطرات من حمض الخل الثلجي إلى الأنبوب، مزج الأنبوب جيداً ثم أضيفت بضع قطرات من حمض الكبريت المركز بحذر. في حال وجود الغليكوزيدات تظهر حلقة بنية في الطبقة السفلى [36-28].

4. التقدير الكمي للمحتوى الكيميائي للخلاصة الإتانولية

1.4. تعيين المحتوى الكلي للسكريات

قَدِّر المحتوى الكلي للسكريات في خلاصة النوعين بطريقة الفينول، وذلك بأخذ 1 مل من الخلاصة، أضيف إليه 1 مل من الفينول 5% و 5 مل من حمض الكبريت المركز، حرّكت الأنابيب مدة 10 دقائق، ثم حُضنت في حمام مائي ساخن مدة 20 دقيقة. تركت الأنابيب لتبرد بدرجة حرارة الغرفة وقيست امتصاصية العينات باستعمال جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer عند طول موجة 490 نانومتر [37]. تعتمد هذه الطريقة على تكاثف مركب هيدروكسي ميتيل فورفورال مع الفينول فيتكون معقد لونه برتقالي [39-38].

حُسب المحتوى الكلي للسكريات بدلالة منحنى معياري خطي لمحلول الغلوكوز بتركيزات متدرجة (0 - 100) مل.ل⁻¹ بدءاً من محلول أم تركيزه 1000 مل.ل⁻¹، وفق المعادلة: $Y = 0.0082 X$. وقدرت التراكيز بعدد الملي غرامات المكافئة لسكر الغلوكوز في 1 غرام من الخلاصة النباتية ($\text{mg GE.g}^{-1} \text{ plant}$)، وذلك بإجراء ثلاث

مكررات لكل خلاصة. عرضت النتائج في جدول على شكل متوسط قيمة المحتوى الكلي للسكريات $\pm$ الانحراف المعياري.

2.4. تعيين المحتوى الكلي للبروتينات

عيّن المحتوى الكلي للبروتينات اعتماداً على طريقة برادفورد التي تعتمد على تفاعل صبغة أزرق الكوماسي (Coomassie Brilliant blue G-250) في وسط معتدل مع البروتينات وتشكيل معقد أزرق اللون^[41-40]. حيث أضيف 0.5 مل من كل خلاصة إلى أنبوب اختبار يحوي 1 مل من كاشف أزرق الكوماسي، ثم مزجت الأنابيب بشكل جيد وتركت بدرجة حرارة الغرفة مدة 10 دقائق. ثم قيست الامتصاصية باستعمال جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer عند طول الموجة 595 نانومتر^[38].

[42]

قدّر المحتوى الكلي للبروتينات بدلالة منحنى معياري خطي لمحلول الكازئين في محلول كلوريد الصوديوم 0.15 مول.ل⁻¹ بتركيز متدرجة (0-60) مل.ل⁻¹ بدءاً من محلول أم تركيزه 1000 مل.ل⁻¹، وفق المعادلة: $Y = 0.0097 X$. وقدّرت التراكيز بعدد الملي غرامات المكافئة للكازئين في 1 غرام من الخلاصة النباتية (mg CE.g⁻¹ plant). وذلك بإجراء ثلاث مكررات لكل خلاصة. عرضت النتائج في جدول على شكل متوسط قيمة المحتوى الكلي للبروتينات $\pm$ الانحراف المعياري.

3.4. تعيين المحتوى الكلي للفينولات

استُعملت طريقة الفولين (Folin - Ciocalteu) لتعيين الفينولات الكلية، حيث وضع 1 مل من الخلاصة في أنبوب اختبار مع 4.8 مل ماء مقطر مع 4 مل كربونات الصوديوم اللامائية 2% و 0.2 مل كاشف الفولين. مزجت محتويات الأنبوب جيداً ثم

تركت بدرجة حرارة الغرفة مدة ساعة بعيداً عن الضوء. ثم قيس الامتصاصية باستعمال جهاز المطيافية الضوئية [44-43]. تعتمد هذه الطريقة على إرجاع الفينولات لحمض فوسفو مولبيدات في وسط قلوي ينتج عنه محلول أزرق اللون يقاس امتصاصيته عند طول موجة 760 نانومتر [38].

قدّر المحتوى الكلي للفينولات بدلالة منحني معياري خطي لحمض الغاليك Gallic acid بتركيز متدرجة (0 - 100) مل.ل⁻¹ بدءاً من محلول أم تركيزه 1000 مل.ل⁻¹، وفق المعادلة: $Y = 0.0049 X$. وقدّرت التراكيز بعدد الملي غرامات المكافئة لحمض الغاليك في 1 غ من الخلاصة النباتية (mg GAE.g⁻¹ plant)، وذلك بإجراء ثلاث مكررات لكل خلاصة. عرضت النتائج في جدول على شكل متوسط قيمة المحتوى الكلي للفينولات $\pm$ الانحراف المعياري.

4.4. تعيين المحتوى الكلي للفلافونويدات

عيّنت الفلافونويدات الكلية بطريقة كلوريد الألمنيوم [45]. حيث وضع 2 مل من الخلاصة في أنبوب اختبار يحوي 0.1 مل من محلول كلوريد الألمنيوم 10% و 0.1 مل من محلول خلات البوتاسيوم (1 مول) و 2.8 مل ماء مقطر، مزجت الأنابيب جيداً ثم تركت بدرجة حرارة الغرفة مدة نصف ساعة بعيداً عن الضوء. ثم قيس الامتصاصية باستعمال جهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة 415 نانومتر [46].

قدّر المحتوى الكلي للفلافونويدات بدلالة منحني معياري لمركب الكيرستين بتركيز متدرجة (0 - 50) مل.ل⁻¹ بدءاً من محلول أم تركيزه 100 مل.ل⁻¹، وفق المعادلة: $Y = 0.033 X$. وقدّرت التراكيز بعدد الملي غرامات المكافئة للكيرستين في 1 غرام من الخلاصة النباتية (mg QE.g⁻¹ plant). وذلك بإجراء ثلاث مكررات لكل

خلاصة. عرضت النتائج في جدول على شكل متوسط قيمة المحتوى الكلي للفلافونويدات $\pm$ الانحراف المعياري.

5.4. تعيين المحتوى الكلي لبعض الأصبغة

حُسب تركيز الأصبغة في الخلاصات للأنواع المدروسة، وذلك بحل 0.1 غ من الخلاصة الجافة لكل نوع في 10 مل من الإيثانول 96%، ثم أخذ منها 2 مل وقيست كمية الصباغ فيها باستعمال جهاز المطيافية الضوئية، وفقاً للمعادلات التالية الخاصة بالمذيب (الإيثانول 96%)^[47]:

$$C_a = 13.95 A_{665} - 6.88 A_{649}$$

$$C_b = 24.96 A_{649} - 7.32 A_{665}$$

$$C_{x+C} = \frac{1000 A_{470} - 2.05 C_a - 114.8 C_b}{245}$$

C_a : تركيز اليخضور أ، C_b : تركيز اليخضور ب، C_{x+C} : تركيز الكاروتينويدات الكلي.

A_{470} : امتصاص العينة عند طول موجة 470 نانومتر .

A_{649} : امتصاص العينة عند طول موجة 649 نانومتر .

A_{665} : امتصاص العينة عند طول موجة 665 نانومتر .

وقدرت التراكيز بعدد الملي غرامات في 1 غرام من الخلاصة النباتية $(mg.g^{-1})$ (plant). وذلك بإجراء ثلاث مكررات لكل خلاصة. حُسب محتوى الأصبغة اليخضور أ واليخضور ب والكاروتينويدات، وعرضت النتائج في جدول على شكل متوسط قيمة $\pm$ الانحراف المعياري.

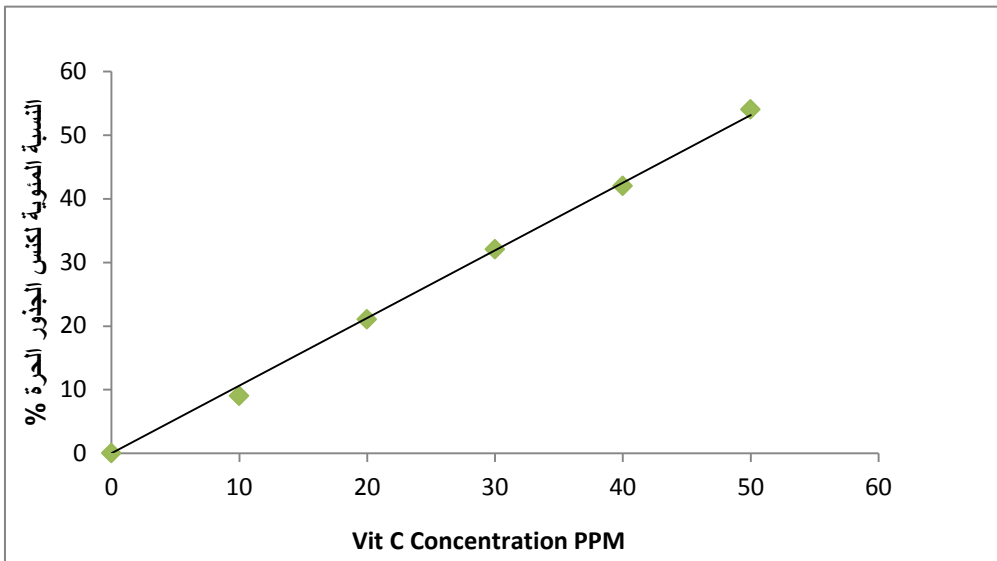
5. دراسة الفعالية المضادة للتأكسد للخلاصة الإتانولية (اختبار DPPH)

أُعتد على اختبار (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH في قياس الفعالية المضادة للتأكسد، حيث يعد من أهم وأكثر الاختبارات استعمالاً وذلك لقدرته العالية على تثبيط الجذور الحرة، حيث يعتمد هذا الاختبار على التغير اللوني لمحلول DPPH حيث يتحول من اللون البنفسجي الشديد إلى اللون الأصفر الفاتح. أجري الاختبار بوضع 0.3 مل من الخلاصة لكل نوع بتركيز متدرجة في أنابيب اختبار، ثم إضافة 3 مل من محلول DPPH 0.1 mM في الإتانول. مزجت الأنابيب جيداً وتركت في درجة حرارة الغرفة وبعيداً عن الضوء مدة 30 دقيقة، قيس امتصاصية محلول DPPH غير المثبط (الذي يحوي الجذور الحرة) باستعمال جهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة 515 نانومتر^[48-44]. درست النتائج بالمقارنة مع حمض الأسكوربيك (فيتامين C) كمركب مرجعي بتركيز متدرجة (0-50) ملغ. ل⁻¹ بدءاً من محلول أم تركيزه 1000 ملغ. ل⁻¹ (الشكل 1)، وذلك لمعرفة التركيز اللازم لتثبيط 50 % من الجذور الحرة (IC₅₀). وحسبت قيمة (IC₅₀) للخلاصات النباتية بتطبيق نفس الطريقة السابقة بتركيز متدرجة (100 - 2500) ملغ. ل⁻¹.

ولحساب قدرة الخلاصات على تثبيط الجذور الحرة استعمل القانون التالي:

$$I_{DPPH}\% = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

حيث: امتصاصية العينة الشاهدة: A_c ، امتصاصية العينة النباتية: A_s



الشكل 1. السلسلة المعيارية لحمض الأسكوربيك (فيتامين C).

6. الدراسة الإحصائية

أجريت تجارب تقدير المحتوى الكيميائي بعمل ثلاث مكررات لكل خلاصة، ثم أجريت دراسة إحصائية للنتائج باستعمال برنامج SPSS 22. واعتمد اختبار T-Test لعينتين مستقلتين لدراسة الفروق الإحصائية بين متوسطات قيم المعايير الكيميائية المدروسة. واعتمدت القيمة $P < 0.05$ كقيمة يعتد بها إحصائياً بمستوى ثقة 95%. كما حُسب معامل الارتباط لتحديد مدى الارتباط بين قيم جميع المعايير الكيميائية المدروسة.

1. التوصيف المورفولوجي للأنواع المدروسة

ينتمي النوعان إلى فصيلة Brachytheciaceae، ويتميز كلاهما بالعديد من

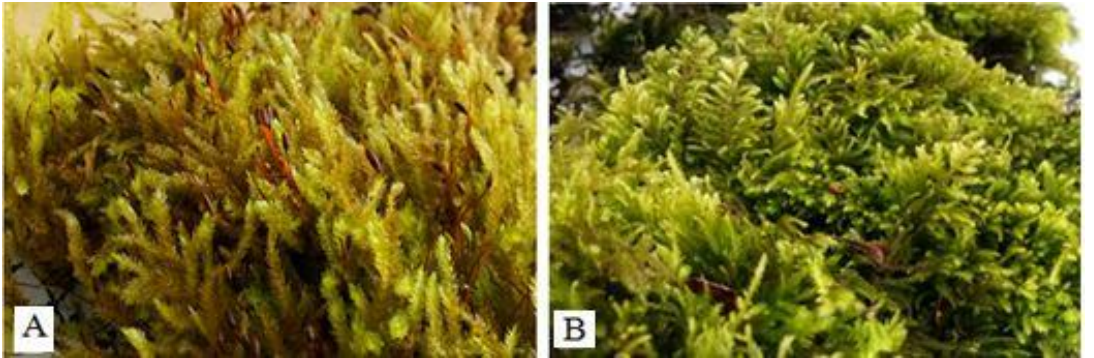
الخصائص المورفولوجية والتشريحية^[49-50]، وفق الآتي:

- النوع *Rhynchostegium murale* (Hedw.) Schimp. يشكل وسادة كثيفة،

لونها أخضر باهت

مصفّر (الشكل 2)، ينتشر أفرادها في بيئات مختلفة حيث يتوفر الظل والرطوبة. تنمو على الصخور والترب الرطبة. الساق الرئيسة زاحفة غير منتظم التفرع. الأوراق بيضوية إلى رمحية بيضوية قمته مستدقة، مستقيمة غير منجلية، بطول حوالي 1.2 - 1.8 ملم، حواف الورقة مستوية تامة لمساء ذات تسنن ضعيف في القمة، الخلايا لمساء، خلايا النصل خيطية متطاولة، خلايا القمة والقاعدة تشبه خلايا النصل لكنها أقصر، خلايا الجناح مستطيلة الشكل غالباً تختلف عن الخلايا المجاورة لها. الضلع الرئيسة وحيدة وطويلة، يزيد طولها عن ثلاثة أرباع طول الورقة. سويقة النبات البوغي مستقيمة طويلة حوالي 1.8 سم، بلون بني محمر. العلوية اسطوانية متطاولة، أفقية، طولها حوالي 2.4 ملم. الشفة السنية مضاعفة، الغطاء مخروطي قصير أحياناً ينتهي بمنقار قصير. الأبواغ كروية بقطر حوالي 15 ميكرومتر.

- النوع *Eurhynchium praelongum* (Hedw.) Schimp. : الساق الرئيسية زاحفة متفرع بشكل منتظم ريشي من الدرجة الثانية، تشكل وسادة خضراء داكنة غالباً (الشكل 2)، تنمو على الصخور، الأخشاب، الترب الرطبة، وعلى أطراف الجداول. الأوراق مستقيمة غير منجلية، غير متموجة، ببيضوية أو رمحية، قمته حادة مستدقة، حوافها تامة، ملساء في نصفها السفلي ومسننة بوضوح في نصفها العلوي حتى القمة، طولها حوالي 1.2 ملم، الخلايا ملساء، خلايا النصل متطاولة خيطية، خلايا القمة معينية إلى مستطيلة متطاولة لكنها أقصر من خلايا النصل، خلايا القاعدة مستطيلة الشكل قصيرة، خلايا الجناح غير مميزة. الضلع الرئيسية وحيدة وقوية، طويلة يبلغ طولها حوالي 95% من طول الورقة. سويقة النبات البوغي طويلة مستقيمة، حمراء أو بنية اللون، بطول حوالي 1.3 سم. العلوية ببيضوية قصيرة طولها 1.9 ملم، مائلة غالباً، لونها بني محمر. الأبواغ بقطر حوالي 16 ميكرومتر.



الشكل 2. صور الأنواع المستعملة في الدراسة الكيميائية (A: *R. murale*., B: *E. praelongum*)

2. الكشف الكيفي عن المستقلبات الثانوية في خلاصة الإتانولية

تم الكشف الكيفي عن تسع مستقلبات ثانوية (مجموعات كيميائية) في خلاصة الإتانول 70% للأنواع المدروسة، ويظهر الجدول (1) النتائج التي تم الحصول عليها.

الجدول 1. الكشف الكيفي عن المحتوى الكيميائي لخلاصة الإتانول للأنواع المدروسة.

<i>E. praelongum</i>	<i>R. murale</i>		
++	++	الصابونينات	
–	–	الجليكوزيدات	
++	++	NaOH	الفلافونويدات
++	+	FeCl ₃	
++	++	التانينات	
++	++	الكومارينات	
++	++	الستيروئيدات والتربينات الثلاثية	
++	++	فاغندر	القلويدات
+	+	ماير	
++	++	دراجندروف	
++	++	الفينولات	

* تدل إشارة + على وجود للمستقلب، وتدل إشارة ++ على وجود قوي للمستقلب، بينما إشارة - تدل على غياب المستقلب.

يلاحظ من نتائج الجدول (1) أن الجليكوزيدات كانت غائبة في النوعين، ويمكن أن يعزى السبب إلى أن السكريات وجدت بشكلها الحر وليس المرتبط، بينما ظهرت

المستقلبات الأخرى بشكل واضح، وينسب ظهور متفاوتة بين الأنواع، حيث يختلف التركيب الكيميائي باختلاف النوع والشروط البيئية [51-52]، وهذه النتائج تتوافق مع المراجع العلمية، حيث توافقت مع نتائج دراسة سابقة إذ غابت الغليكوزيدات في الخلاصة الإتانولية للنوعين المدروسين (*Leucobryum bowringii* و *Dicranum scoparium*) بينما كانت باقي المستقلبات موجودة [12]. كما تتوافق أيضاً مع نتائج دراسة Williams وآخرون حيث تبين وجود المستقلبات الثانوية في الخلاصتين المائية والإتانولية للنوعين *Homaliiodendron montagneanum* و *Papillaria fuscescens* من الحزازيات جانبية الإثمار [53].

3. التقدير الكمي للمحتوى الكيميائي في الخلاصة الإتانولية

أجري التقدير الكمي للمحتوى الكيميائي بعمل ثلاث مكررات للخلاصة الإتانولية للأنواع المدروسة باستعمال جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer، وذلك بتقدير المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات والفينولات والفلافونويدات، كما تم تحديد قيم بعض الأصبغة والتي شملت اليخضور أ واليخضور ب والمحتوى الكلي للكاروتينويدات، وأجري أيضاً تقدير فعاليتها المضادة للتأكسد. وعرضت النتائج على شكل متوسط القيمة $\pm$ الانحراف المعياري. ثم أجريت دراسة إحصائية للنتائج باستعمال برنامج SPSS 22.

1.3. مردود الاستخلاص

تفاوتت قيم مردود الاستخلاص للنوعين، حيث بلغت النسبة المئوية للمردود 8.86% للنوع *R. murale*، و 7.08% للنوع *E. praelongum*. تتوافق هذه النتائج مع نتائج دراسة Lunic وآخرون إذ تراوحت النسبة لديهم بين 4.2-8% [54]. اختلفت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة سابقة حيث تراوحت النسبة بين 1.5-4% [55]، ويعزى الاختلاف إلى اختلاف طريقة الاستخلاص التي اعتمدت لديهم على النقع بينما

أُعدت طريقة الأمواج فوق الصوتية المساعدة ثم النقع في هذه الدراسة. أما الاختلاف مع نتائج دراسة Savaroğlu وآخرون إذ بلغت النسبة المئوية للمردود لديهم 2.1% فيمكن أن يعزى إلى اختلاف المذيبات المستعملة في تحضير الخلاصة، حيث استعمل في دراستهم الميثانول النقي الذي يعد أقل قطبية من الإيثانول 70% المستعمل في هذه الدراسة^[56]، إذ يعد استعمال المزائج في الاستخلاص أفضل بكثير من استعمال المذيبات بشكل نقي^[57]. إن استعمال طريقة الأمواج فوق صوتية المساعدة أدى إلى زيادة المردود، حيث تتسبب الأمواج فوق الصوتية في تحطيم الجدر الخلوية وإحداث ثقب فيها مما يزيد من نفاذية الجدر وبالتالي سهولة استخلاص المواد الفعالة منها، كما أن اختيار المذيب المناسب يلعب دوراً أساسياً وهاماً في تحديد نسبة المردود^[58-8].

2.3. المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات والفينولات والفلافونويدات

بيّنت نتائج تقدير المحتوى الكلي للمستقلبات الأولية ارتفاع قيم السكريات مقارنة بالبروتينات (الجدول 2)، حيث بلغت قيم المحتوى الكلي للسكريات 49.02 ± 0.55 ملغ. غ⁻¹ للنوع *R. murale*، في حين بلغت 40.22 ± 1.35 ملغ. غ⁻¹ للنوع *E. praelongum*، أي تفوق النوع *R. murale* على النوع *E. praelongum* في قيم المحتوى الكلي للسكريات. بينما بلغت قيمة المحتوى الكلي للبروتينات 4.28 ± 0.08 ملغ. غ⁻¹، 5.1 ± 0.05 ملغ. غ⁻¹ للنوعين *R. murale* و *E. praelongum* على التوالي. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال اختبار T-Test لعينتين مستقلتين وجود فرق معنوي بين قيم المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات للنوعين عند مستوى المعنوية 5%.

الكشف الكيفي والكمي عن المحتوى الكيميائي لأنوعين من الحزازيات الحقيقية المنتشرة في الحفة

الجدول 2. متوسط قيم المحتوى الكلي للسكرايات والبروتينات والفينولات والفلافونويدات لأنوعين المدروسين.

النوع	<i>R. murale</i>	<i>E. praelongum</i>
المحتوى الكلي للسكرايات mg GE.g^{-1}	49.02 ± 0.55	40.22 ± 1.35
المحتوى الكلي للبروتينات mg CE.g^{-1}	4.28 ± 0.08	5.1 ± 0.05
المحتوى الكلي للفينولات mg GAE.g^{-1}	5.93 ± 0.07	3.87 ± 0.04
المحتوى الكلي للفلافونويدات mg QE.g^{-1}	1.77 ± 0.02	2.22 ± 0.05

توافقت نتائج قيم السكرايات في خلاصة النوعين مع العديد من الدراسات [59]- حيث تراوحت قيم المحتوى الكلي للسكرايات لديها 43-46 ملغ.غ⁻¹ و 40-55 ملغ.غ⁻¹ على الترتيب. كما توافقت نتائج قيم البروتينات في هذه الدراسة مع نتائج دراسة Choyal وآخرون حيث تراوحت قيم البروتين في دراستهم بين 4-5 ملغ.غ⁻¹ [59]. أما اختلاف النتائج مع نتائج Cvetic وآخرون حيث بلغت قيم البروتينات 10-15 ملغ.غ⁻¹ [42]، فيعزى إلى عدة أسباب، منها اختلاف النوع النباتي (*Atrichum undulatum*)، واختلاف شروط النمو حيث تبين إن طول مدة التعرض للإضاءة يزيد من تركيب البروتينات من جهة، ومن جهة أخرى استعمالهم طريقة الترسيب في استخلاص البروتين. إذ أن اختلاف طريقة الاستخلاص مع اختلاف المذيب المستعمل يلعب دوراً هاماً في تحديد المحتوى الكيميائي للخلاصات [61-62].

أما قيم المحتوى الكلي للفينولات والفلافونويدات، فقد بلغت قيم المحتوى الكلي للفينولات 5.93 ± 0.07 ملغ.غ⁻¹ و 3.87 ± 0.04 ملغ.غ⁻¹، في حين بلغت قيم الفلافونويدات 1.77 ± 0.02 ملغ.غ⁻¹ و 2.22 ± 0.05 ملغ.غ⁻¹ لأنوعين *R.*

praelongum و *murale* E. على التوالي (الجدول 2). وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال اختبار T-Test لعينتين مستقلتين وجود فرق معنوي بين قيم المحتوى الكلي للفينولات عند مستوى المعنوية 5%.

توافقت النتائج مع نتائج دراسة Chobot وآخرون [63] ودراسة Oztopcu-Vatan وآخرون [64] حيث بلغت قيم المحتوى الكلي للفينولات لديهم 2.7-4 ملغ.غ⁻¹ و 4.3 ملغ.غ⁻¹ على الترتيب. كما توافقت نتائج المحتوى الكلي للفلافونويدات مع نتائج دراسة Abdul karim وآخرون إذ تراوحت القيم بين 1.2-1.3 ملغ.غ⁻¹ [61]. وأيضاً توافقت مع نتائج Mandić وآخرون حيث تراوحت قيم الفلافونويدات بين 1.4-1.98 ملغ.غ⁻¹ [65]. بينما اختلفت نتائج قيم الفينولات والفلافونويدات مع نتائج دراسة Mitra وآخرون [12] حيث بلغت قيم الفينولات في دراستهم 26-38 ملغ.غ⁻¹ وقيم الفلافونويدات تراوحت بين 22-30 ملغ.غ⁻¹، وهي أعلى من نتائج هذه الدراسة، يعزى الاختلاف بالدرجة الأولى إلى اختلاف توقيت الجمع حيث جمعت عيناتهم خلال فصل الصيف (شهر تموز) وعندها يكون تركيز المحتوى الكيميائي لاسيما الفينولات والفلافونويدات (التي لها دور أساسي في الفعالية المضادة للتأكسد للحماية من التعرض المباشر للإشعاع، والحرارة العالية) أعلى مقارنة بالعينات التي تجمع خلال فصل الشتاء أو الربيع كما هو الحال في هذه الدراسة [54-66]، وقد يعود الاختلاف أيضاً إلى اختلاف طريقة الاستخلاص [65]، واستعمال أنواع مختلفة [67]، مع الإشارة إلى أن اختيار المذيب المناسب له دور في ارتفاع تركيز الفينولات في الخلاصة [61].

3.3. المحتوى الكلي لبعض الأصبغة

بلغت قيم المحتوى الكلي لليخضور 1.973 ± 0.097 ملغ.غ⁻¹ و 2.427 ± 0.004 ملغ.غ⁻¹، بينما بلغت قيم المحتوى الكلي للكاروتينويدات 0.339 ± 0.032 ملغ.غ⁻¹، 0.523 ± 0.039 ملغ.غ⁻¹ للنوعين *R. murale* و *E. praelongum* على التوالي الجدول (3). ومن الجدير بالذكر أن النوع *E. praelongum* كان منتشرًا في أماكن مظلة بالأشجار الحراجية على خلاف النوع *R. murale* الذي كان معرضاً للأشعة الشمس بدرجة أكبر، الأمر الذي يؤدي إلى تخریب الأصبغة، فكلما زاد التعرض للأشعة كلما انخفض تركيز الأصبغة [8-68]، وهذا ما تم ملاحظته من النتائج الواردة في الجدول (3).

وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال اختبار T-Test لعينتين مستقلتين عدم وجود فرق معنوي بين قيم محتوى اليخضور أ واليخضور ب للنوعين *R. murale* و *E. Praelongum* عند مستوى المعنوية 5%. في حين وجدت فروق معنوية احصائياً بين قيم المحتوى الكلي لليخضور والكاروتينويدات (الجدول 3).

الجدول 3. قيم بعض الأصبغة للنوعين المدروسين.

المحتوى الكلي للكاروتينويدات	المحتوى الكلي لليخضور	اليخضور ب	اليخضور أ	
0.339 ± 0.032	1.973 ± 0.097	0.954 ± 0.027	1.019 ± 0.073	<i>R. murale</i>
0.523 ± 0.039	2.427 ± 0.004	1.182 ± 0.016	1.245 ± 0.013	<i>E. praelongum</i>

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع نتائج العديد من الدراسات، نذكر منها دراسة أجريت على ثلاثة أنواع، إذ تراوحت قيم اليخضور أ بين 0.66-1.5 ملغ.غ⁻¹، بينما تراوحت قيم المحتوى الكلي لليخضور بين 1.1-2.3 ملغ.غ⁻¹ [69]. كما توافقت النتائج مع نتائج دراسة Marschall وآخرون إذ تراوح تركيز المحتوى الكلي لليخضور بين 0.8 - 3.5 ملغ.غ⁻¹ [70]. وتوافقت أيضاً مع نتائج دراسة Shmakov وآخرون حيث تراوحت قيم المحتوى الكلي لليخضور بين 1.5-3 ملغ.غ⁻¹ في حين تراوحت قيم المحتوى الكلي للكاروتينويدات بين 0.4-0.8 ملغ.غ⁻¹ [71].

4. الفعالية المضادة للتأكسد للخلصة لإتانولية

أوضحت نتائج دراسة الفعالية المضادة للتأكسد لخلصة النوعين المدروسين تفاوتاً في قدرتها على تثبيط الجذور الحرة، حيث قُدرت فعاليتها المضادة للتأكسد مقارنة مع حمض الأسكوربيك (فيتامين C) كمركب مرجعي لتثبيط الجذور الحرة، وبيّنت النتائج أن التراكيز اللازمة لتثبيط 50% من الجذور الحرة (IC₅₀) للخلصات الإتانولية بلغ 3.08 ملغ.مل⁻¹ للنوع *R. murale*، و 1.98 ملغ.مل⁻¹ للنوع *E. praelongum*. علماً أن IC₅₀ لحمض الأسكوربيك (فيتامين C) بلغ 0.047 ملغ.مل⁻¹ (الجدول 4).

الجدول 4. التركيز اللازم لتثبيط 50% من الجذور الحرة في محلول DPPH للأصناف المدروسة.

النوع	التركيز mg.ml ⁻¹ (IC ₅₀)
<i>R. murale</i>	3.08
<i>E. praelongum</i>	1.98
حمض الأسكوربيك (فيتامين C)	0.047

يلاحظ من نتائج هذه الدراسة تناسب طردي بين قيم الفلافونويدات والفعالية المضادة للتأكسد، إذ لوحظ أن تفوق النوع *E. praelongum* على النوع *R.*

murale، في الفعالية المضادة للتأكسد ترافق مع تفوق في قيم الفلافونويدات أيضاً. حيث تعتبر الفينولات والفلافونويدات من أهم المستقلبات الثانوية الموجودة في النباتات لاسيما الحزازيات، وبالرغم من تراكيزها القليلة إلا أنها تلعب دوراً أساسياً في تنظيم وتعديل مستويات الجذور الحرة ومركبات (ROS) في الخلايا والنسج، مما يعطي الحزازيات أهمية كبيرة لفعاليتها المضادة للتأكسد [72-73].

توافقت نتائج تقدير الفعالية المضادة للتأكسد في هذه الدراسة مع نتائج دراسة Makajanma وآخرون [21] التي بينت أن قيمة IC_{50} للنوع *Campylopus schmidii* بلغت 1.329 ملغ.مل⁻¹، إذ أشارت الدراسة إلى أن الفعالية المضادة للتأكسد تتناسب طرذاً مع قيم الفينولات والفلافونويدات. كما توافقت النتائج أيضاً مع نتائج دراسة Mitra وآخرون التي بلغت قيمة IC_{50} للنوع *Leucobryum bowringii* فيها 2.2 ملغ.مل⁻¹ [12].

يعزى استعمال الحزازيات في السنوات الأخيرة في الصناعات الدوائية إلى فعاليتها المضادة للتأكسد وقدرتها على تحريض نشاط مضاد لنمو وتكاثر الخلايا السرطانية [12-74].

5. النتائج الإحصائية لدراسة الارتباط بين المعايير الكيميائية المدروسة

أجريت دراسة إحصائية لتحديد مدى الارتباط بين قيم المستقلبات الأولية (سكريات وبروتينات) فيما بينها، وقيم المستقلبات الثانوية فيما بينها أيضاً، من جهة، وبين قيم المستقلبات الأولية والثانوية من جهة أخرى، باستعمال برنامج SPSS V22، واعتماد معامل بيرسون لتحديد الارتباط بين المعايير المدروسة (الجدول 6).

تكمن أهمية هذه الدراسة الإحصائية في إظهار القيمة الغذائية للأنواع الحزازية من خلال إيجاد علاقات ارتباط إيجابية بين المستقلبات الأولية (السكريات والبروتينات) فيما بينها، مما يجعل الأنواع الحزازية التي تتمتع بقيم عالية من السكريات بالإضافة إلى البروتينات ذات قيمة غذائية عالية. أما وجود ارتباطات بين المستقلبات الأولية والمستقلبات الثانوية فقد يشير إلى ارتباط الأهمية الغذائية بإمكان استعمالها في المجالات الطبية.

الجدول 6. قيم معامل الارتباط بيرسون للمعايير الكيميائية للنوعين المدروسين

	Carbohydrate	Proteins	Phenol	Flavonoid	DPPH	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Total carotenoid
Carbohydrate	1								
Proteins	0.658	1							
Phenol	0.684	0.212	1						
Flavonoid	0.499	.9800	0.039	1					
DPPH	0.217	-0.494	0.736	-0.645	1				
Chlorophyll a	0.073	0.253	0.595	0.231	0.251	1			
Chlorophyll b	0.076	0.272	0.585	0.252	0.229	1.0	1		
Total Chlorophyll	0.074	0.262	0.59	0.241	0.24	1.0	1.0	1	
Total carotenoid	0.269	0.744	0.339	0.761	-0.289	0.8	0.814	0.807	1

بينت نتائج دراسة ارتباط القيم فيما بينها وجود تناسب طردي بين قيم جميع المستقلبات، أي وجود ارتباط إيجابي فيما بينها وبدرجات متفاوتة، حيث لوحظ وجود ارتباط إيجابي بين قيم المستقلبات الأولية (السكريات والبروتينات)، إذ بلغت قيمة معامل الارتباط 0.66. وهذا يشير إلى امتلاكها قيمة غذائية عالية.

أما دراسة الارتباط بين قيم المستقبلات الثانوية فيما بينها، فقد أكدت وجود ارتباط ايجابي بين جميع المستقبلات الثانوية، إذ بلغت قيمة معامل الارتباط بين الفلافونويدات والكاروتينويدات 0.76، أي وجود ارتباط قوي بينها، كما وجد تناسب طردي بين قيم اليخضور والكاروتينويدات إذ بلغت قيمة معامل الارتباط 0.8، ووجد أيضاً ارتباط إيجابي بين قيم الفلافونويدات وقيم الفعالية المضادة للتأكسد. إن وجود ارتباطات إيجابية عالية بين المستقبلات الثانوية يعزز دورها الفعال في المجال الطبي حيث أشارت العديد من الدراسات إلى تأثيرها الواضح كمضاد تأكسد ومضاد للسرطان بالإضافة إلى الفعالية الحيوية ضد الأحياء الدقيقة.

كما وجد ارتباط ايجابي بين المستقبلات الأولية والثانوية عموماً، وبين قيم البروتينات والفلافونويدات خصوصاً، حيث بلغت قيمة معامل الارتباط 0.98، أي أن الارتباط قوي جداً بينهما، كما وجد ارتباط ايجابي قوي بين قيم البروتينات والكاروتينويدات أيضاً. ولوحظ كذلك وجود ارتباط ايجابي بين قيم السكريات والفينولات، حيث بلغت قيمة معامل الارتباط 0.69. إن وجود هذه الارتباطات يضيف إلى الأهمية الطبية قيمة غذائية، ويُعدّ هذا أمراً إيجابياً إلى حدّ كبير وعاملاً مساعداً في اصطفاء النوع الذي يحتوي على جميع الصفات المرغوبة دون تشبّت معايير الاختيار بين الأنواع.

الاستنتاجات

- 1- التأكيد على أهمية الحزازيات، وتأثير الشروط البيئية في المحتوى الكيميائي للأنواع الحزازية.
- 2- غنى النوعين المدروسين بالمركبات الكيميائية، حيث لوحظ وجود معظم المستقبلات الثانوية لاسيما الفينولات والفلافونويدات، وهذا ما يمنحها فعالية

مضادة للتأكسد عالية نسبياً، وبالتالي إمكان استعمالها في المجالات الطبية والصيدلانية.

3- لوحظ غياب الغليكوزيدات في خلاصة النوعين، وهذا يشير إلى أن السكريات وجدت بشكلها الحر وليس المرتبط.

4- لوحظ تفوق للنوع *E. praelongum* على النوع *R. murale* في قيم المحتوى الكلي للفلافونويدات، كما أظهرت خلاصة النوع *E. praelongum* نشاطاً مضاداً للتأكسد أعلى من النوع *R. murale*، وهذا يؤكد دور الفلافونويدات كمركبات مضادة للتأكسد.

5- بينت نتائج الدراسة الإحصائية أن ارتباط قيم المستقبلات الأولية والثانوية مع بعضها في الأنواع المدروسة يضيف قيمة غذائية إلى جانب أهميتها الطبية.

التوصيات

1- إعطاء أهمية أكبر للدراسات التي تهتم بالحزازيات لما لها من أهمية بيئية، حيث تعد الأبحاث في هذا المجال قليلة لاسيما في سورية.

2- ضرورة وضع خطة شاملة لدراسة التنوع الحيوي النباتي للحزازيات في سورية لاستكشاف أنواع البريويات ضمن مشروع التنوع الحيوي النباتي.

3- إجراء دراسة كيميائية للأنواع الحزازية باستعمال تقانة HPLC لتحديد المركبات الفعالة وعزلها.

4- دراسة إمكان تسخير الأنواع المحلية للاستفادة منها في المجالات التطبيقية لاسيما الطبية والغذائية والصناعية.

المراجع

- [1] BUDKE, J.M., BERNARD, E.C., GRAY, D.J., HUTTUNEN, S., PIECHULLA, B., and TRIGIANO, R.N. (2018). Introduction to the special issue on bryophytes. Critical reviews in plant sciences. 37(2-3): 102-112.
- [2] HORN, A., PASCAL, A., LONČAREVIĆ, I., MARQUES, R.v., LU, Y., MIGUEL, S., and et al. (2021). Natural products from bryophytes: from basic biology to biotechnological applications. Critical Reviews in Plant Sciences. 40(3): 191-217.
- [3] MOTTI, R., PALMA, A.D., and FALCO, B.D. (2023). Bryophytes used in folk medicine: An ethnobotanical overview. Horticulturae, 9(2):137.1-17.
- [4] KOCADAĞ KOCAZORBAZ, E., TOK, K., MOULAHOU, H., and ÜN, R.N. (2021). Phytochemical and bioactivity analysis of several methanolic extracts of nine bryophytes species. Sakarya University Journal of Science. 25(4): 938-949.
- [5] SIWACH, A., KAUSHAL, S., and BAISHYA, R. (2021). Effect of mosses on physical and chemical properties of soil in temperate forests of Garhwal Himalayas. Journal of Tropical Ecology. 37(3): 126-135.
- [6] AL-ARAJ, B. (2007). Registration of three new Bryopsida Species at first time in Syria. Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Biological Sciences Series. 29(5): 79-94. (In Arabic المراجع)
- [7] ONBASLI, D., and YUVALI, G. (2020). In vitro medicinal potentials of Bryum capillare, a moss sample, from Turkey. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(1): 478-483.

- [8] ISMAEEL, M., MOKRANI, L. and IBRAHIM, A. (2022). Characterization of fatty acids profile in some moss species in Syria. Jordan Journal of Chemistry . 17(1): 27-33.
- [9] LU, Y., EIRIKSSON, F.F., THORSTEINSDÓTTIR, M., and SIMONSEN, H.T. (2019). Valuable fatty acids in bryophytes-production, biosynthesis, analysis and applications. Plants. 8(11) 524:1-18.
- [10] HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, E., and DELGADILLO-MOYA, C. (2021). The ethnobotany of bryophytes in mexico. botanical sciences. 99(1): 13-27.
- [11] ALAM, A., SHRAMA, V., RAWAT, K.K. and VERMA, P.K. (2015). Bryophytes - the ignored medicinal plants. SMU Medical Journal. 2(1): 299-315.
- [12] MITRA, S., MANNA, A., and RAI, R. (2019). Phytochemical screening and in-vitro antioxidant potential of two ethnomedicinally important mosses of Dicranaceae from Darjeeling hills. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 8(1): 649-654.
- [13] BANDYOPADHYAY, A., and DEY, A. (2022). The ethno-medicinal and pharmaceutical attributes of Bryophytes: A review. Phytomedicine Plus. 2(2). 100255. 1-11.
- [14] JOSHI, S., IWUALA, E., and ALAM, A. (2023). Analysis of the antioxidant activity and caffeine content of *Barbula indica* (Hook.) Spreng.(Bryophyta; Pottiaceae). Plant Science Today. 10(2): 376-381.
- [15] II, H. (2023). Effectiveness of bryophytes and cicada shells as a bio-index for heavy metal contamination of river water and soil. International Journal of Geomate. 24 (105):117-125.

- [16] CÍHAL, L. (2023). Bryophytes in a changing world: understanding distribution patterns, risks, and conservation. Diversity. 15(5).647: 1-3.
- [17] LUDWICZUK, A., and ASAKAWA, Y. (2020). Terpenoids and aromatic compounds from bryophytes and their central nervous system activity. Current Organic Chemistry. 24(1): 113-128.
- [18] NOVAKOVIC, M., LUDWICZUK, A., BUKVICKI, D., and ASAKAWA, Y. (2021). Phytochemicals from bryophytes: Structures and biological activity. Journal of the Serbian Chemical Society. 86(12): 1139-1175.
- [19] ONDER, A., YILDIZ, A., CINAR, A.S., ZENGİN, G., AK, G., and OZENOĞLU, H. (2021). The comparison of the phytochemical composition, antioxidant and enzyme inhibition activity of two moss species: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. and *Antitrichia californica* Sull., from southwest ecological region in Turkey. Natural Product Research. 36(10): 2660-2665.
- [20] AL-ARAJ, B. (2008). Survey of Class Bryopsida Species (Mousses) in the “Bassel AL-Assad Forest- Idleb” and its Morphological and Anatomical Descriptions. Damascus university journal for the basic sciences. 24(1): 29-45. (In Arabic المراجع)
- [21] MAKAJANMA, M.M., TAUFİK, I., and FAIZAL, A. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of extract from two species of mosses: *Leucobryum aduncum* and *Campylopus schmidii*. Biodiversitas Journal of Biological Diversity. 21(6): 2751-2758.
- [22] COMMISSO, M., GUARINO, F., MARCHI, L., MUTO, A., PIRO, A., and DEGOLA, F. (2021). Bryo-Activities: a review on how bryophytes are contributing to the arsenal of natural bioactive compounds against fungi. Plants . 10(2).203:1-27.

- [23] YUCEL, T.B. (2021). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Polytrichum commune* (Hedw.) and *Antitrichia curtipendula* (Hedw.) Brid. grown in Turkey. International Journal of Secondary Metabolite. 8(3): 272-282.
- [24] AYDIN, S. (2020). The free radical scavenging activities of biochemical compounds of *Dicranum scoparium* and *Porella platyphylla*. Anatolian Bryology. 6(1): 19-26.
- [25] LU, Y., EIRIKSSON, F.F., THORSTEINSDÓTTIR, M., CRONBERG, N., and SIMONSEN, H.T. (2023). Lipidomes of icelandic bryophytes and screening of high contents of polyunsaturated fatty acids by using lipidomics approach. Phytochemistry. 206.113560. 1-11.
- [26] PONPHAIBOON, J., KRONGRAWA, W., AUNG, W.W., CHINATANGKUL, N., LIMMATVAPIRAT, S., and LIMMATVAPIRAT, C. (2023). Advances in natural product extraction techniques, electrospun fiber fabrication, and the integration of experimental design: a comprehensive review. Molecules. 28(13): 5163.1-50.
- [27] KONG, H.S., MUSA, K.H., KASIM, Z.M., and SANI, N.A. (2019). Qualitative and quantitative phytochemical analysis and antioxidant properties of leaves and stems of *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau from two herbal farms of Negeri Sembilan, Malaysia. ASM Science Journal. 12: 1-13.
- [28] HOSSAIN, M.M., UDDIN, M.S., BARAL, P.K., FERDUS, M., and BHOWMIK, S. (2022). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Ipomoea hederifolia* stems: A potential medicinal plant. Asian Journal of Natural Product Biochemistry. 20(2):41-47.
- [29] BHADAURIYA, G., RATHORE, K.S., and SINGH, S. (2018). Phytochemical screening and total phenolic content in the extract of

- bryophyte *Plagiochasma appendiculatum* and *Dicranum scoparium*. Environment Conservation Journal. 19(1-2): 175-181.
- [30] GANESH, P.S., SALUNKE, R.J., and NARAYAN, S.D. (2019). Phytochemical study of *Pterobryopsis* species and *Bryum coronatum* and study antioxidant activity of *Pterobryopsis* species. Review of Research. 8(6): 1-7.
- [31] EDORI, O.S., MARCUS, A.C., and MADUAGU, M.C. (2019). Phytochemical and anti-microbial screening of *Phyllanthus fratenus* and *Taraxacum officinale* leaves. Biochemistry & Analytical Biochemistry. 8(376): 1-5.
- [32] DEORA, G.S., and DEORA, S. (2018). Studies on phytochemical screening of certain bryophytes of Rajasthan. Indian Journal of Plant Sciences. 7(4): 42-48.
- [33] JOSHI, N., BHATT, S., DHYANI, S., and NAIN, J. (2013). Phytochemical screening of secondary metabolites of *Argemone mexicana* linn. flowers. International Journal of Current Pharmaceutical Research. 5(2): 144-147.
- [34] OSAMA, A., and AWDELKARIM, S. (2015). Phytochemical screening of *Ficus sycomorus* L. bark and *Cleome gynandra* L. aerial parts. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 4(4): 24-27.
- [35] ANZA, M., WORKU, F., LIBSU, S., MAMO, F., and ENDALE, M. (2015). Phytochemical screening and antibacterial activity of leaves extract of *Bersama abyssinica*. Journal Of Advanced Botany And Zoology. 3(2): 1-5.
- [36] ARUNA K.B., and KRISHNAPPA, M. (2018). Phytochemistry and antimicrobial activities of *Pogonatum microstomum* (R. Br. Ex Schwägr.) Brid. (Bryophyta; Musci: Polytrichaceae). International Journal of Botany Studies. 3(1): 120-125.

- [37] KLAVINA, L. (2018). Composition of mosses, their metabolites and environmental stress impacts. Doctoral Thesis. Department of Environmental Sciences. Faculty of Geography and Earth Sciences. University of Latvia. Riga. Latvia. Pp:130.
- [38] SAMPIETRO, D.A., CATALAN, C.A.N., VATTUONE, M.A., and NARWAL, S.S. (2009). Isolation, identification and characterization of allelochemicals/natural products. New Hampshire. USA. Science Publishers. Pp 551.
- [39] VIEL, M., COLLET, F., and LANOS, C. (2018). Chemical and multi-physical characterization of agro-resources' by-product as a possible raw building material. Industrial Crops and Products. 120: 214-237.
- [40] BRADFORD, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 72(1-2): 248-254.
- [41] BRUNELLE, E., LE, A.M., HUYNH, C., WINGFIELD, K., HALÁMKOVÁ, L., AGUDELO, J., and HALÁMEK. J. (2017). Coomassie brilliant blue G-250 dye: new application for forensic fingerprint analysis. Analytical Chemistry. 89(7): 4314-4319.
- [42] CVETIĆ, T., SABOVLJEVIĆ, A., PRISTOV, J.B., and SABOVLJEVIĆ, M. (2009). Effects of day length on photosynthetic pigments and antioxidative metabolism of in vitro cultured moss *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv.(Bryophyta). Botanica Serbica, 33(1):83-88.
- [43] ALHAFEZ, M., KHEDER, F., and ALJOUBBEH, M. (2014). Polyphenols, flavonoids and epigallocatechin gallate in tea leaves and in their infusions under various conditions. Nutrition and Food Science. 44(5): 455-463.

- [44] AZAAT, A., BABOJIAN, G., and NIZAR, I. (2022). Phytochemical screening, antioxidant and anticancer activities of *Euphorbia hyssopifolia* L. against MDA-MB-231 breast cancer cell line. Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry. 9(1): 295-310.
- [45] GAZWI, H.S.S., OMAR, M.O.A., and MAHMOUD, M.E. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant capacities, and in vitro biological activities of the extract of seed coat as by-products of pea. BMC Chemistry. 17(1):1-14.
- [46] KARAMIAN, R., and GHASEMLOU, F. (2013). Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 5(3):305-312.
- [47] LICHTENTHALER, H.K., and WELLBURN, A.R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions. 11: 591-592.
- [48] AL-SAKA, F., KARABET, F., DAGHESTANI, M., and SOUKKARIEH, C. (2015). Composition, in vitro antioxidant and antileishmanial activities of *Vitex agnus-castus* L. and *Thymus syriacus* Boiss. essential oils. International Journal of ChemTech Research. 8(8): 53-60.
- [49] KURSCHNER, H. (2006). A Key to the pleurocarpous mosses (Bryophytina p. p.) of the near and Middle East. towards A Bryophyte flora of the near and Middle East. 5. Nova Hedwigia Band. 83(3-4): 353-386.
- [50] ERZBERGER, P. (2021). Keys for the identification of bryophytes occurring in Hungary. Acta Biologica Plantarum Agriensis. 9(2): 3–260.

- [51] KLAVINA, L., BIKOVENS, O., ŠTEINBERGA, I., MAKSIMOVA, V., and EGLĪTE, L. (2012). Characterization of chemical composition of some bryophytes common in Latvia. Environmental and Experimental Biology. 10: 27-34.
- [52] WANG, X., CAO, J., DAI, X., XIAO, J., WU, Y., and WANG, Q. (2017). Total flavonoid concentrations of bryophytes from Tianmu Mountain, Zhejiang Province (China): Phylogeny and ecological factors. PLoS ONE. 12(3): e0173003: 1-10.
- [53] WILLIAMS, P.G., APPAVOO, M.R., BRIJITHLAL N.D., SURENDRAN, R., and WILLIAMS, G.P. (2016). In vitro antibacterial activity, phytochemical analysis and inhibitory concentration of Bryophytes against drug resistant bacterial pathogens. International Journal of Advanced Biotechnology and Research. 7(2): 669-676.
- [54] LUNIC, T.M., OALÐE, M.M., MANDIĆ, M.R., SABOVLJEVIĆ, A.D., SABOVLJEVIĆ, M.S., GAŠIĆ, U.M., and et al. (2020). Extracts characterization and in vitro evaluation of potential immunomodulatory activities of the moss *Hypnum cupressiforme* Hedw. Molecules. 25(15) 3343: 1-22.
- [55] YAĞLIOĞLU, M.Ş., ABAY, G., DEMIRTAŞ, I., and YAĞLIOĞLU, A.Ş. (2017). Phytochemical screening, antiproliferative and cytotoxic activities of the mosses *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. and *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. Anatolian Bryology, 3(1): 31-42.
- [56] SAVAROĞLU, F., ÖZTOPCU-VATAN. P., KABADERE, S., ÖZTURK, N., ILHAN, S., and FILIK ISCEN, C. (2018). Screening of antimicrobial, cytotoxic effects and phenolic compounds of the moss *Dicranum scoparium*. Biological Diversity and Conservation. 11(1): 87-94

- [57] ŞAHİN, S., and ŞAMLI, R. (2013). Optimization of Olive leaf extract obtained by ultrasound assisted extraction with response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry 20:595–602.
- [58] LINARES, G., and ROJAS M.L. (2022). Ultrasound-Assisted extraction of natural pigments from food processing by-products: a review. Front. Nutr. 9:891462. 1-17.
- [59] CHOYAL, R., and SHARMA, S. (2011). Preliminary phytochemical analysis of some Bryophytes of District Kangra (H.P) India. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2(4): 716-725.
- [60] SINGH, V., ALAM, A., and SHARMA, A. (2016). Evaluation of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of *Hyophila involuta* (Hook.) Jaeg. and *Entodon plicatus* C. Muell.(Bryophyta) from Rajasthan, India. International Journal of Scientific Research in Knowledge. 4(3): 56-63.
- [61] ABDUL KARIM, F., SULEIMAN, M., RAHMAT, A., and ABU BAKAR, M.F. (2014). Phytochemicals, antioxidant and antiproliferative properties of five moss species from Sabah, Malaysia. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6(10): 292-297.
- [62] AZAR, A.W.P., ROSLEINE, D., and FAIZAL, A. (2019). Secondary metabolite profiles in the methanolic extract of *Leucobryum javense* isolated from tropical montane forest in West Java, Indonesia. International Conference on Biology and Applied Science. AIP Conf. Proc. 2120(1): 030027-1–030027-8.
- [63] CHOBOT, V., KUBICOVÁ, L., NABBOUT, S., JAHODÁŘ, L., and VYTLAČILOVÁ, J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of five moss species. Fitoterapia. 77 (7-8): 598-600.

- [64] OZTOPCU-VATAN, P., SAVAROĞLU, F., İŞCEN, C.F., KABADERE, S., ÖZTÜRK, N., and İLHAN, S. (2017). Screening of antimicrobial, cytotoxic effects and phenolic compounds of the moss *Aulacomnium androgynum* (Hedw.) schwagr (Bryophyta). The Journal of Animal and Plant Sciences. 27(6): 1909-1917.
- [65] MANDIĆ, M.R., OALĐE, M.M., LUNIĆ, T.M., SABOVLJEVIĆ, A.D., SABOVLJEVIĆ, M.S., GAŠIĆ, U.M., and et al. (2021). Chemical characterization and in vitro immunomodulatory effects of different extracts of moss *Hedwigia ciliata* (Hedw.) P. Beauv. from the Vršacke Planine Mts. Serbia. Plos one. 16(2): e0246810. 1-24.
- [66] THAKUR, S., and KAPILA, S. (2017). Seasonal changes in antioxidant enzymes, polyphenol oxidase enzyme, flavonoids and phenolic content in three leafy liverworts. Lindbergia. 40(5): 39-44.
- [67] ĆOSIĆ, M.V., MIŠIĆ, D.M., JAKOVLJEVIĆ, K.M., GIBA, Z.S., SABOVLJEVIĆ, A.D., SABOVLJEVIĆ, M.S., and VUJIČIĆ, M.M. (2023). Analysis of the qualitative and quantitative content of the phenolic compounds of selected moss species under NaCl stress. Molecules, 28(4):1794.1-11.
- [68] DEVMALKAR, V.S., MURUMKAR, C.V., SALUNKHE, S.M. and CHAVAN S.J. (2014). Studies on pigment chlorophyll isolation and estimation of different bryophytes for their biochemical properties. J. Nat. Prod. Plant Resour. 4 (2):56-61
- [69] KHALKAR, K.M., and KADAM, V.B. (2021). Biochemical evaluation of some liverworts pigments and phenolics. Journal of Drug Delivery & Therapeutics. 11(4-S):78-80.
- [70] MARSCHALL, M., and PROCTOR, M.C.F. (2004). Are bryophytes shade plants? photosynthetic light responses and proportions of Chlorophyll a, Chlorophyll b and total Carotenoids. Annals of Botany. 94: 593–603.

- [71] SHMAKOVA, N., and ERMOLAEVA, O. (2020). The pigment complex and photosynthetic activity in the annual cycle of *Polytrichum commune* in the forest belt of the Khibiny Mountains on the Kola Peninsula of Russia. Czech Polar Reports. 10 (1): 37-49.
- [72] ASLANBABA, B., YILMAZ, S., TONGUÇ YAYINTAŞ, Ö., ÖZYURT, D., and ÖZTÜRK, B.D. (2017). Total phenol content and antioxidant activity of mosses from Yenice forest (Ida Mountain). Journal of Scientific Perspectives. 1(1): 1-12.
- [73] WOLSKI, G. J., SADOWSKA, B., Fol, M., PODSEDEK, A., KAJSZCZAK, D., and KOBYLİŃSKA, A. (2021). Cytotoxicity, antimicrobial and antioxidant activities of mosses obtained from open habitats. Plos one. 16(9). e0257479.1-24.
- [74] TONGUC YAYINTAS, O., SOGUT, O., KONYALIOGLU, S., YILMAZ, S., and TEPELI, B. (2017). Antioxidant activities and chemical composition of different extracts of mosses gathered from Turkey. AgroLife Scientific Journal. 6(2):205-213.