

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي  
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة  
قسم علوم الطبيعة والحياة

رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم  
تخصص : بيوكيمياء نباتية  
بعنوان :

دراسة الزيوت الأساسية ، المركبات الفينولية  
وفعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة  
للفصيلة الخيمية (Umbellifereae)

مقدمة من طرف :  
اسماعيل الطاهر

تحت إشراف الأستاذ الدكتور:  
زلاقي عمار

لجنة المناقشة

رئيسا	جامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي	أستاذ	أ.د. غراف نور الدين
مقررا	جامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي	أستاذ	أ.د. زلاقي عمار
ممتحنا	جامعة قسنطينة 1	أستاذ	أ.د. عكال صالح
ممتحنا	جامعة جيجل	أستاذ	أ.د. لحول مصباح
ممتحنا	جامعة فرحات عباس- سطيف	أستاذ	أ.د. لعور حسين

السنة الجامعية 2014 - 2015

## إهداء

إلى رسول السلام والأمان، إلى المبعوث رحمة للعالمين محمد صلى الله عليه وسلم

إلى والدي العزيزين

إلى زوجتي الصبورة وفلذتي كبدي يوسف وأنس

إلى كل أفراد عائلتي الذين ساعدوني من قريب أو من بعيد وشجعوني في إنجاز بحثي

وإلى كل سائر في طريق البحث العلمي ودرب الكيمياء النباتية

أهدي هذا العمل المتواضع

## شكر و تقدير

الحمد والشكر لله الذي اتم علي بنعمته ، ووفقني لإتمام هذا العمل البحثي المتواضع. أشكر بداية أستاذي و مشرفي الأستاذ الدكتور زلاقي عمار الذي انار لي طريق بحثي وخدمني بسخاء وكرم.

أتقدم بجزيل الشكر إلى الأستاذ الدكتور غراف نور الدين لقبوله ترأس لجنة المناقشة. إلى كل أعضاء اللجنة : الأستاذ الدكتور عكال صالح بجامعة قسنطينة 1 ، الأستاذ الدكتور لحول مصباح من جامعة جيجل والأستاذ الدكتور لعور حسين بجامعة فرحات عباس- سطيف لقبولهم مناقشة بحثي ووقتهم الثمين الذي منحوه من أجل قراءة ومناقشة هذه الأطروحة .

أتقدم بشكري الجزيل إلى الدكتور Guido Flamini الذي فتح لي برحب وسعة باب البحث العلمي بجامعة Pisa قسم علوم الصيدلة - إيطاليا وكل طاقمه البحثي الذي ساعدني هناك أين تم إجراء كل التحاليل الكيميائية الخاصة بالزيوت الأساسية بمخبر الكيمياء العضوية الحيوية والبيوصيدلية.

كذلك إلى الأستاذ الدكتور Mehmet Öztürk و الأستاذ الدكتور Mehmet Emin Duru بجامعة Muğla قسم الكيمياء - تركيا وكل طلبته اللذين ساعدوني هناك في إكمال بحثي بمخبر الكيمياء الحيوية وخاصة الجزء الخاص بالفعالية البيولوجية والمتمثلة في الفعل المضاد للأكسدة والمضاد لأنزيم الأستيل كولين إستراز بالإضافة للمعايرة الكلية للمركبات الفينولية.

إلى مدير مخبر الجزيئات الحيوية والتحسين النباتي الأستاذ الدكتور سنوسي محمد مراد الذي فتح لنا أبواب مخبره للقيام ببعض التجارب.

وإلى أستاذي القدير الأستاذ الدكتور بلعدي عبد الحكيم .

دون أن أنسى وزارة التعليم العالي والبحث العلمي وكل مسؤولي كلية العلوم بجامعة محمد بوضياف بالمسيلة الذين منحوا وسهلوا لي كل إجراءات الإستفادة من ثلاث تربصات قصيرة المدى في السنتين الدراسيتين 2011/2010 و 2011/ 2012 بإيطاليا، وفي السنة الدراسية 2013/2012 بتركيا.

و إلى كل أساتذتي بجامعة أم البواقي.

## قائمة النشريات والمشاركات العلمية :

### - النشريات

Smaili, T., Zellagui, A., Cioni, P.L., Flamini, G. (2011). A Myristicin-rich Essential Oil from *Daucus sahariensis* Growing in Algeria, *Natural Product Communications*, 6, 883-886.

Smaili, T., Zellagui, A., Gherraf, N., Flamini, G., Cioni, P.L. (2011). Essential oil content of the flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria, *Medicinal Plants*, 3(2).

Flamini, G., Smaili, T., Zellagui, A., Gherraf, N., Cioni, P.L. (2013). Effect of growth stage on essential-oil yield and composition of *Daucus sahariensis*, *Chemistry & Biodiversity*, 10, 2014-2020.

---

### - المشاركات العلمية

Zellagui, A., Smaili, T., Gherraf, N., Said Noamane, L., Segueni, N., Lahouel, M., Rhouati, S. (2011). The 4<sup>th</sup> International chemistry conference (2011), Antioxidant, Antimicrobial and essential oil composition of two species: *Daucus sahariensis* Murb. and *Thymelea microphylla* Coss et Dur., King saoud university, Riyadh, Saudi Arabia.

Zellagui, A., Smaili, T., Flamini, G., Gherraf, N., Cioni, P.L. (2012). Effect of growth stage on essential oil yield and composition of *Daucus sahariensis* and their antioxidant activity, Séminaire international: Cancer, stress cellulaire et substances bioactives, Université de Jijel.

Smaili, T., Zellagui, A., Rebbas, K., Belkassam, A. (2014). Essential oil composition of *Pituranthos scoparius* growing in M'sila, The 1<sup>st</sup> International Seminar on Medicinal Plants, Health and Environment (SI-PMSE'13), University of M'sila.

Smaili, T., Zellagui, A., Rebbas, K., Belkassam, A. (2014). Variation in essential oil of *Daucus sahariensis*, The 45<sup>th</sup> International symposium on essential oils (ISEO), Istanbul.

## قائمة المختصرات

- AChE:** Acétylcholine estérase  
**ATCC:** American type culture collection  
**BHT:** Butylated hydroxytoluene  
**BChE:** Butyrylcholine estérase  
**CCM:** Chromatographie sur couche mince  
**DMSO:** Diméthylsulfoxyde  
**DPPH:** 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl  
**DTNB:** Dithio-bisnitrobenzoate  
**GC-MS:** Gaz chromatography-mass spectrometry  
**HPLC:** High-performance liquid chromatography  
**I.R:** Infra rouge  
**K.I:** Kovats index  
**MeOH:** Méthanol  
**R.I:** retention index  
**R<sub>f</sub>:** Rapport frontal  
**PE:** Pyrocatechol équivalent  
**sp:** Espèce  
**ssp:** Sous espèce  
**Tr:** Trace  
**UV-Vis:** Ultra violet-visible

## الفهرس

مقدمة.....

### الجزء النظري

#### الدراسة النباتية

- I- الدراسة النباتية للعائلة الخيمية.....01
- I-1- الصفات العامة للعائلة الخيمية.....01
- I-2- تصنيف العائلة الخيمية.....03
- I-3- الخصائص المورفولوجية والتشريحية للعائلة الخيمية.....03
- I-4- خصائص مميزة للعائلة الخيمية.....04
- I-5- أهمية نباتات العائلة الخيمية.....05
- I-6- الدراسة النباتية للأجناس محل الدراسة.....06
- I-6-1- الجنس *Daucus*.....06
- I-6-1-1- الدراسات السابقة للجنس *Daucus*.....07
- I-6-1-2- الإستعمالات الطبية.....09
- I-6-2- الجنس *Bupleurum*.....12
- I-6-2-1- الدراسات السابقة للجنس *Bupleurum*.....13
- I-6-2-2- الإستعمالات الطبية.....15
- I-6-3- الجنس *Pituranthos*.....17
- I-6-3-1- الدراسات السابقة للجنس *Pituranthos*.....17
- I-6-3-2- الإستعمالات الطبية.....19
- I-6-4- الجنس *Caucalis*.....20
- I-6-4-1- الدراسات السابقة للجنس *Caucalis*.....21

## الزيوت الأساسية

- 23 ..... II- الزيوت الأساسية
- 23..... II-1- تعريفها
- 23..... II-2- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية
- 25..... II-3- تواجد ، توزع وتخزين الزيوت الأساسية
- 25..... II-4- دور الزيوت الأساسية
- 25..... II-5- التخليق الحيوي للزيوت الأساسية
- 28..... II-6- المكونات الكيميائية للزيوت الأساسية
- 32..... II-7- إستعمالات الزيوت الأساسية وفعاليتها البيولوجية
- 32..... II-8- طرق إستخلاص الزيوت الأساسية
- 35..... II-9- طرق تحليل الزيوت الأساسية
- 36..... II-10- العوامل المؤثرة في محتوى الزيوت الأساسية

## المركبات الفينولية

- 37..... III- المركبات الفينولية
- 39..... III-1- الفلافونويدات
- 39..... III-1-1- تعريف الفلافونويدات
- 40..... III-1-2- تقسيم الفلافونويدات
- 40..... III-1-3- المنتجات الفلافونويدية في العائلة الخيمية
- 41..... III-1-4- التخليق الحيوي للفلافونويدات
- 43..... III-1-5- أهمية الفلافونويدات للنبات
- 43..... III-1-6- الأهمية الطبية للفلافونويدات

44	.....III-2- الكومارينات
44	.....III-2-1- تعريفها
44	.....III-2-2- السمات البنوية للكومارينات
45	.....III-2-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للكومارينات
45	.....III-2-4- تقسيم الكومارينات
46	.....III-2-5- تواجد، تراكم وتوزيع الكومارينات
46	.....III-2-6- التخليق الحيوي للكومارينات
47	.....III-2-7- دور الكومارينات في النبات
47	.....III-2-8- الفعالية البيولوجية للكومارينات
48	.....III-3- طرق الفصل الكروماتوغرافي للمركبات الفينولية
49	.....III-4- التينينات

## الفعالية البيولوجية

50	.....IV- الفعالية البيولوجية
50	.....IV-1- الإجهاد التأكسدي
50	.....IV-1-1- الجذور الحرة
52	.....IV-1-2- مضادات الأكسدة
53	.....IV-2- مرض الزهايمر
53	.....IV-2-1- مضادات الأستيل كولين أستيراز
55	.....IV-3- الفعالية المضادة للبكتيريا

## الجزء العملي

- I- الطرق والوسائل ..... 57
- I- الدراسة الفيتوكيميائية ..... 57
- I-1- جمع وتحضير العينات النباتية ..... 57
- I-1-1- تحضير العينة. *Daucus sahariensis* Murb. .... 58
- I-1-2- تحضير العينة. *Daucus reboudii* Coss. .... 58
- I-1-3- تحضير العينة. *Bupleurum plantagineum* Desf. .... 58
- I-1-4- تحضير العينة. *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) ..... 58
- I-1-5- تحضير العينة. *Caucalis daucoides* L. .... 58
- I-2- دراسة الزيوت الأساسية ..... 59
- I-2-1- إستخلاص الزيوت الأساسية ..... 59
- I-2-2- التحليل الفيزيوكيميائي للزيوت الأساسية ..... 60
- I-2-2-1- مكونات جهاز كروماتوغرافيا الغاز الموصول بمطيافية الكتلة ..... 61
- I-3- دراسة المركبات الفينولية ..... 64
- I-3-1- إستخلاص المركبات الفينولية ..... 64
- I-3-2- تقدير الفينولات الكلية ..... 64
- I-3-3- الدراسة الكروماتوغرافية ..... 65
- I-4- الفعالية البيولوجية ..... 68
- I-4-1- الفعالية المضادة للأكسدة ..... 68
- I-4-2- الفعالية المضادة لأنزيم كولين أستيراز ..... 69
- I-4-3- الفعالية المضادة للبكتيريا ..... 71

73	II- النتائج والمناقشة
73	II-1- التحليل الفيزيوكيميائي للزيوت الأساسية
111	II-2- التحليل الكروماتوغرافي للمركبات الفينولية
112	II-2-1- تقدير الفينولات الكلية
114	II-3- نتائج الفعالية البيولوجية
114	II-3-1- الفعالية المضادة للأكسدة
117	II-3-2- الفعالية المضادة لأنزيم كولين أستيراز
124	II-3-3- الفعالية المضادة للبكتيريا
133	III- الخاتمة
138	قائمة المراجع
	الملحق
	الملخص بالإنجليزية
	الملخص بالفرنسية
	الملخص بالعربية

## مقدمة

لقد سعى الإنسان منذ القدم لجمع وإستغلال النباتات في غذائه، كسائه و دوائه وقد قاده إلى ذلك فطرته البشرية، تجاربه المستمرة واستعمالاته اليومية لها، إلا أن هذا الأخير لم يكن على دراية علمية بمنتجاتها الكيميائية ولا بأسرارها العلاجية وعبر العصور حاول الإنسان استكشاف الحقيقة العلمية للنباتات الطبية (Havsteen،2002)، وقد كان للعرب سبق كبير وبصمة مميزة في ذلك فأبو بكر الرازي (865-925)، ابن سينا (930-1037) وابن بيطار (1197-1248) هم من أوائل من قدموا للصيدلة وللإستعمالات الطبية التقليدية خصائصها العلمية والتي انتقلت بعد ذلك إلى أوروبا وأثرت بقوة في تطور كبرى جامعاتها في القرن 9 وكانت القاعدة الأساسية لتطور الطب آنذاك (Hilton-Simpson، 1922).

مع التطور العلمي والتكنولوجي الحاصل في علم البيوكيمياء وطرق التحليل العضوي وكذا في الفيزيولوجيا أصبح معروفا أن هذه الكائنات النباتية تنتج ضمن أيوضها مجموعات متنوعة من المواد الكيميائية الفعالة تمتاز بخواص بيولوجية مهمة، وهي التي تساهم بصورة أساسية في علاج كثير من الأمراض البشرية، لقد كشف علم الكيمياء النباتية عن مصنع بيولوجي كبير اسمه النباتات الطبية والعطرية وحتى السامة نستطيع إستغلاله و الإستفادة منه إلى أبعد الحدود ويستحق أن يفتح المجال واسعا للإطلاع على خفاياه واكتشاف المجهول منه.

تصنف المنتجات الطبيعية النباتية إلى قسمين أساسيين يسمى الأول بالأبيض الأولي ويمثل المركبات العضوية الأولية والتي تضم السكريات، الدسم، البروتينات والأحماض النووية. أما القسم الثاني فيضم التربينات، المركبات الفينولية والقلويدات وتسمى إجمالاً بالأبيض الثانوي وهي مفيدة للنبات و في الوقت ذاته تمتاز بخصائص علاجية و تأثيرات فيزيولوجية متنوعة تلعب دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة (Richter، 1993).

وتعتبر الجزائر إحدى دول البحر المتوسط التي تمتاز بتنوع بيولوجي كبير يضم كما هائلا من النباتات الطبية والعطرية وذلك بسبب شساعة قطرها و تنوع بيئتها، إذ أن هناك الكثير من النباتات الأصلية Endémiques والنادرة Rares في بلادنا لم تطلها لحد الآن يد الدراسة

والإستثمار الفيتوكيميائي ومشاريع البحث الطبي والصيدلي، ففي صحرائنا الشاسعة وغابات جبالنا الخضراء ذات الغطاء النباتي المتنوع والمنفرد ما يدعو كافة البيولوجيين، الكيميائيين والصيدلة للمثابرة والبحث وإكتشاف المزيد من أسرار هذا الكنز الطبيعي.

تعتبر العائلة الخيمية Apiaceae من أهم الفصائل النباتية إذ تضم عددا كبيرا من النباتات الطبية والتي تستعمل شعبيا عبر العالم في علاج كثير من الأمراض والمشاكل الصحية كما تتسم بنباتات عطرية عديدة تكتسي أهمية بالغة في الإستعمال الغذائي كتوابل أو مكسبات للنكهة والرائحة أو في الصناعات الغذائية للحفظ أو التعطير، كما أثبتت كثير من الأبحاث غناها بكثير من المواد الفعالة التابعة لمنتجات الأيض الثانوي من أهمها الزيوت الأساسية و الفينولات والتي أكدت نجاعتها في علاج كثير من الأمراض الخطيرة نظرا لفعاليتها البيولوجية المتعددة لاسيما ضد البكتيريا والفطريات و ضد الأكسدة، الإلتهاب والسرطان وكثير من الأدوار الصيدلانية الأخرى خاصة في ظل الأمراض الحديثة التي إنتشرت حاليا واستعصى علاجها بالأدوية الكيميائية، وبروز الطب البديل الذي تمثله الجزيئات الحيوية النباتية كحل بيولوجي آمن و فعال، الشيء الذي دعا كثير من الباحثين إلى إثراء مشاريع بحثية متعددة قصد إستغلال هذه الثروة النباتية واستثمار منتجاتها في ميدان الطب والصيدلة ومجالات صناعية واقتصادية متعددة مفيدة لبلدنا الحبيب .

في هذا الإطار تدرج دراستنا هذه والتي تتعلق بدراسة الزيوت الأساسية والمركبات الفينولية في بعض الأنواع التابعة للعائلة الخيمية Apiaceae والتي تعتبر من أهم الفصائل النباتية في الجزائر (Quezel et santa، 1963) مركزين في ذلك على الأنواع التي لم يسبق دراسة وتحليل منتجاتها الكيميائية أو تلك التي تعرضت لدراسات قليلة في ذلك، بداية بإستخلاص أهم نواتجها الأيضية الثانوية ثم تحليلها فيزيوكيميائيا باستعمال التقنيات والطرق المناسبة وهذا بعد عمليات البحث والتجميع النباتي، تعريف وانتقاء المهم منها ثم إجراء مقارنات للأنواع قيد الدراسة من حيث الجزيئات التي يتم فصلها، بالإضافة لإجراء مقارنات كمية ونوعية في نفس النوع لمختلف أعضائه أو ضمن مراحل فينولوجية مختلفة من النمو، لنختبر بعد ذلك الفعالية

البيولوجية لهذه المواد الفعالة خاصة منها المضادة للأكسدة والمضادة لمرض الزهايمر والتي لها دور كبير في حماية الصحة العامة بإعتبار أن نباتات هذه الفصيلة المختارة متداول إستعمالها بكثرة في أسواق الطب الشعبي .

أملين في الأخير أن توحّد الجهود وتستغلّ نتائجنّا البحثية هذه بالتنسيق مع المصالح البيولوجية الأخرى والمعنية بهذا الموضوع (مصالح الطب والصيدلية أو الصناعة) لندعم ونقوي سيرورة وتطور البحث العلمي الحاصل في بلادنا الحبيبة .

## I - الدراسة النباتية :

تزرع المملكة النباتية بعدد كبير من الأنواع النباتية صُنفت ضمن فصائل عديدة حسب صفاتها المورفولوجية، التشريحية والوراثية المختلفة التي تميزها، وقد ظل البشر يبحثون وينتقون النباتات المفيدة منها وخاصة تلك التي لها القدرة على علاج الأمراض والتي سميت بالنباتات الطبية، لقد عُرف استعمال نباتات الفصيلة الخيمية Apiaceae منذ الحضارات القديمة كالحضارة الصينية و هنود المكسيك وكذا الحضارة اليونانية والرومانية وقد أُشتق الاسم القديم لها Ombellifères نسبة للمظلة Ombelle أي الشكل الذي تبدو به النورة أو الزهرة المكونة لنباتات هذه العائلة ويبدو أن العائلة الخيمية هي أول فصيلة إهتدى إليها علماء النبات في أواخر القرن السادس عشر بل وتُعتبر هذه المجموعة من النباتات أول المجموعات التي درست تصنيفيا وهذا من طرف Robert و Morison عام 1672 م (Heywood، 1996).

### I-1- الصفات العامة للعائلة الخيمية :

تضم العائلة الخيمية ما بين 275-300 جنس ومن 2000 إلى 3000 نوع، تنتشر نباتات هذه العائلة عبر كافة أرجاء الكرة الأرضية لاسيما في المناطق الدافئة والجبليّة (Spichiger وآخرون، 2004) لكنها بالمقابل تتميز بتواجد ضعيف جدا في الصحراء (Ozenda، 1991). تتوزع أجناس هذه الفصيلة عبر مختلف القارات الخمس للكرة الأرضية مع وجود تمثيل أكبر لها في قارة آسيا كما هو موضح في الجدول التالي:

**الجدول 1 :** توزيع أجناس العائلة الخيمية عبر العالم (Pimenov et Leonov، 1993)

القارة	عدد الأجناس	عدد الأنواع الأصيلة
أوروبا	139	29
آسيا	265	159
إفريقيا	126	50
أستراليا	36	11
أمريكا	197	52

تحتل العائلة الخيمية مكانة هامة في الغطاء النباتي الجزائري فهي ممثلة بـ 55 جنس و 129 نوع يمكن تلخيصها كما يلي : (رتبت الأجناس تنازليا حسب عدد الأنواع الممثلة للجنس الواحد والممثل برقم بين قوسين) (Quezel et Santa، 1963).

*Bupleurum* (14), *Daucus* (11), *Bunium* (7), *Eryngium* (7), *Oenanthe* (6), *Ferula*(5), *Caucalis* (4), *Pituranthos* (4), *Seseli* (4), *Thapsia* (3), *Orlaya* (3), *Peucedanum* (3), *Scandix* (3), *Helosciadium* (3), *Ammi* (2), *Ammoides* (2), *Anthriscus* (2), *Carum* (2), *Brachyapium* (2), *Elaeoselinum* (2), *Hohenackeria* (2), *Magydaris* (2), *Pimpinella* (2), *Smyrniun* (2), *Torilis* (2), *Ammiopsis* (1), *Ammodaucus* (1), *Anethum* (1), *Apium* (1), *Balansaea* (1), *Bifora* (1), *Capnophyllum* (1), *Chaerophyllum* (1), *Conium* (1), *Conopodium* (1), *Coriandrum*(1), *Crithmum* (1), *Cuminum* (1), *Echinophora* (1), *Foeniculum* (1), *Heracleum* (1), *Hippomarathrum*(1), *Hydrocotyle* (1), *Kundmannia* (1), *Malabaila*(1), *Margotia*(1), *Petroselinum* (1), *Physocaulos* (1), *Reutera* (1), *Ridolfia* (1), *Sanicula*(1), *Sison* (1), *Tinguarra* (1), *Tordylium* (1), *Turgenia* (1).

ما يلاحظ جليا من خلال هذا التلخيص هو التنوع الوراثي لهذه العائلة في الجزائر كما أن الجنسين *Bupleurum* و *Daucus* هما الأكثر غنا بالأنواع (1114 نوع على التوالي) كما تحتوي الأجناس *Bunium* ، *Eryngium* و *Oenanthe* على عدد معتبر أيضا من الأنواع لكن أغلب الأجناس ممثلة بنوع واحد أو إثنين ( Quezel et Santa، 1963).

تضم بعض الأجناس عددا من الأنواع الأصلية Endémiques نلخصها تنازليا كما يلي :

*Bupleurum* (5), *Bunium* (4), *Pituranthos* (4), *Ferula* (2), *Daucus* (2), *Ammoides*(1), *Brachyapium* (1), *Caucalis* (1), *Peucedanum* (1), *Pimpinella* (1), *Oenanthe* (1).

وهناك أجناس لا تحتوي على أنواع أصلية مثل *Ammi* و *Scandix* ..... يقابلها أجناس أخرى ممثلة بأنواع أصلية فقط مثل *Ammiopsis* ، *Balansaea* و *Carum*.

في الصحراء تمثل العائلة الخيمية ب8 أجناس و12 نوع وهي كما يلي :

*Pituranthos* (3), *Ferula* (2), *Daucus* (2), *Eryngium* (1), *Bupleurum* (1),  
*Ammodaucus* (1), *Anethum* (1), *Helosciadium* (1) (1991، Ozenda).

### I-2- تصنيف العائلة الخيمية :

تنتمي العائلة الخيمية إلى شعبة كاسيات البذور Angiospermae، صف ثنائي الفلقة  
Dicotylédonae، تحت صف سائبة البتلات Dialypétalae، رتبة الخيميات Apiales وهي  
تضم ثلاث تحت عائلات : تحت عائلة Apioideae وهي الأكثر تنوعا والتي تحتوي على 8  
قبائل، أما تحت عائلة Saniculoideae وتحت عائلة Hydrocotyloideae فكل واحدة ممثلة  
بقبيلتين فقط (Drude، 1898 ؛ Downie وآخرون، 1998).

### I-3- الخصائص المورفولوجية و التشريحية :

عائلة متجانسة من الناحية التشريحية، تتشكل غالبا من الأنواع العشبية الحولية والمعمرة  
ونادرا ما تكون شجيرات (Spichiger وآخرون، 2004).

■- الأوراق : عموما مركبة ريشية ذات وريقات ريشية أيضا أو راحية أو مشرحة، متبادلة  
الوضع على الساق وهي ذات أعناق غالبا، منتفخة عند القاعدة ولها قواعد غمدية مجوفة  
عريضة ولها روائح مميزة في الغالب لإحتوائها على زيوت طيارة متباينة التركيب (Judd  
وآخرون، 1999).

■- الأزهار : صغيرة وتوجد في نوريات خيمية مركبة في الغالب ونادرا ما تكون في نوريات  
بسيطة والأزهار خنثى منتظمة وعلوية ويتكون كأس الزهرة من خمس سبلات سائبة والتويج  
من خمس بتلات سائبة متبادلة مع خمس أسدية ويتكون المتاع من كربلتين ملتحمتين وتقع  
المشيمة على القمة والمبيض سفلي وتوجد غدة على شكل قرص في أعلى المبيض يخرج من  
وسطه قلمان منفصلان قصيران (Quezel et Santa، 1962).

■- الثمار : وهي الجزء الهام من نباتات هذه العائلة، جافة منشقة Schizocarpe تنشق عند نضجها وتنقسم إلى ثمرتين جزئيتين تسمى كل منها نصف ثمرة Mericarpe وتحمل الثمرة على حامل كربلي وتوجد قنوات زيتية في البذرة.

تتواجد على الثمار ضلوع واضحة أو قليلة الوضوح تبقى متصلة بها عن طريق الحامل الكربلي حتى النضج، تحمل زوائد مختلفة الأشكال والألوان وعن طريق الضلوع أو الزوائد يمكن تمييز النباتات المختلفة لهذه العائلة (Quezel et Santa، 1962).

وتتميز العائلة الخيمية من الناحية التشريحية بوجود قنوات إفرازية في كل الأعضاء تقريبا بما فيها تلك التي تحتوي على الزيوت الطيارة، الراتنجات أو الصمغ والتي تكسب نباتات هذه العائلة رائحة مميزة (Olle et Bender ، 2010).

#### I-4- خصائص مميزة للعائلة الخيمية :

##### I-4-1- الخواص السمية :

تضم العائلة الخيمية عددا من النباتات السامة مثل *Aethusa-* ، *Oenanthe safranè L.* ، *Thapsia garganica L.* ، *Cicuta virosa L.* ، *Conium maculatum L.* ، *cynapium L.* و *Ferula communis L.* و *Ferula vesceritensis Coss et Dur.* (Meyer وآخرون، 2004) ويرجع ذلك لإحتوائها على الكربوهيدرات الأستيلية غير المشبعة أو على القلويدات البيبيريدينية المثبطة للتنفس أو على لاكتونات سسكويتريبينية أو على مشتقات كومارينية التي تمنح للنبات خصائصه المضادة للتخثر (Bruneton، 2005 ؛ Zellaoui وآخرون، 2012).

##### I-4-2- إثارة التحسس الضوئي :

تحتوي بعض الأنواع النباتية مثل *Pastinaca sativa L.* ، *Heracleum sphondylium L.* و *Angelica sylvestris L.* على الفيرانوكومارين مثل مركب Psoralin ، Bergapten و Xanthotoxine حيث يؤدي ملامسة هذه الأنواع النباتية إلى التهاب جلدي متفاوت الخطورة من إحمرار جلدي إلى غاية فقاعات وحوصلات في مستوى المناطق المعرضة لأشعة الشمس

كاليدين والساعدين وقد تسبب إلتهابات جلدية في مقدمة الرأس عند الحيوانات كالأبقار و التهاب الملتحمة ووذمة تحت جلدية وتقرحات (Bruneton، 2005).

### I-5- أهمية نباتات العائلة الخيمية :

حظيت نباتات العائلة الخيمية بدراسة وإهتمام واسعين نظرا لأهميتها الإقتصادية فكثير من نباتات هذه العائلة تستعمل في التغذية من أهمها الجزر. *Daucus carota* L. ، البسباس *Foeniculum vulgare* (Mill) Gaertner ، الكرفس *Apium graveolens* L. ، الكمون *Cuminum cyminum* L. ، الكزبرة *Coriandrum sativum* L. ، الكروية *Carum carvi* L. ، السرفيل *Anthriscus cerofolium* Coss. ، الشبت *Anethum graveolens* L. ، البقدونس *Pastinaca sativa* L. و *Pimpinella anisum* L. ، *Petroselinum crispum*(Mill.) Fuss

كما يستغل العديد من النباتات ذات الرائحة المميزة في كثير من الصناعات كالعطور والصابون ومواد التجميل وفي صناعة الحلويات والمشروبات الكحولية والفواكه المجففة أو تضاف في الأدوية لتخفي بعض المذاقات غير المقبولة كنبات *Foeniculum vulgare* الذي يستغل صناعيا لإستخراج مركب Anethole الذي يستعمل في تعطير المآكل كالسماك والزيتون وغيرها ومثل *Ferula galbaniflua* L. التي تعتبر مصدرا طبيعيا للراتجات ( Ahmed وآخرون، 2007) بينما تستخدم أنواع قليلة منها في الزينة مثل جنس *Hedera* و *Schefflera* ( Judd وآخرون، 1999 ) .

كما أن لنباتات هذه الفصيلة قيمة علاجية كبيرة لإحتوائها على العديد من النباتات الطبية نذكر من أهمها نبتة *Ammi visnaga* Lamk التي يستخرج من ثمارها مركب Visnadine الموسع للأوعية التاجية القلبية والشعب الهوائية، و للحالب لإخراج حصوة الكلية ومضاد للمغص الكلوي(Zgorcka وآخرون، 1998)، وكذا مركب Khelline المعروف ضد مرض الربو والذبحة الصدرية كمضاد للتقلص ومهدئ (Gunaydina et Erimb، 2002) ونبتة *Ammi-majus* L. الذي يستخرج من ثمارها مركب Xanthotoxine الذي يستعمل لمعالجة مرض الصدفية الجلدية Psoriasis والبهاق *leucodermie* (krolicka وآخرون، 2006)، و منها

*Anethum graveolens* L. فالى جانب إستعماله كتابل فتأثيره الطبي مهضم ومدر للبول ويساعد في حالات الشد العضلي، ومثل *Apium graveolens* L. وبذوره منشطة وتستعمل في حالات الاضطرابات المعدية وطارد للغازات ومخفض لدرجة الحرارة، جذوره وأوراقه خاصة المطلوبة في مجال الطهي لخصائصها العطرية، ومثل *Carum carvi* L. بذورها مهضمة ومهدئة وفاتحة للشهية ومدررة للبول و *Coriandrum sativum* L. تستعمل بذوره كتابل كما تستعمل في الطب الشعبي لانتام الجروح ومداواة القروح وطرد الديدان المعوية، *Cuminum cyminum* L. وتستعمل بذوره كتابل وكذلك منشطة وقابضة ومدررة للبن المرضعات و *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss أوراقه الطازجة الغنية بالفيتامين C،B،A فاتحة للشهية ولذلك يضاف إلى المقبلات وهو منشط أيضا، وأوراق *Anthriscus-cerofolium* L. و *Pimpinella anisum* L. مغلى بذوره ذو تأثير مهدئ ومدر للبول ومفيد في حالات الاضطرابات المعدية (Spichiger وآخرون، 2004).

#### I-6- الدراسة النباتية للأجناس محل الدراسة :

##### I-6-1- الجنس *Daucus* :

من أشهر أجناس العائلة الخيمية وهو يحتوي على 60 نوع في العالم (Ahmed وآخرون، 2005) و معظم أنواعه عبارة عن نباتات عشبية ثنائية الحول وقليل منها سنوية (Grzebelus وآخرون، 2011) ينتشر أغلبها عبر كافة أرجاء الكرة الأرضية : أوربا، إفريقيا، جنوب آسيا، وبصفة أقل في أمريكا وأستراليا (Mansour وآخرون، 2004) .

#### الجدول 2 : تصنيف الجنس *Daucus* (Pimenov et Leonov، 1993).

Embranchement	Magnoliophyta	الشعبة
Classe	Magnoliopsida	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Sous famille	Apiodeae	تحت العائلة
Tribu	Dauceae	القبيلة
Genre	<i>Daucus</i>	الجنس

يتميز هذا الجنس بكونه غنيا بمنتجات أفضية خاصة ومميزة لهذا الجنس منها الفينولات، التربينات والأحماض الدسمة (Grzebelus وآخرون، 2011)، كما يعتمد كثيرا على مكونات الزيوت الأساسية لثمار أنواع هذا الجنس لتعريفه وتمييزه من بين نباتات الفصيلة الخيمية (Harbone وآخرون، 1971 ؛ Williams et Harbone، 1972) وهو ثاني أكبر الأجناس الخيمية تمثيلا في الجزائر (بعد الجنس *Bupleurum*) إذ يحتوي على إحدى عشر نوع نباتي منها نوعان أصيلا *Daucus reboudii* Coss. و *Daucus biseriatus* Murb. ، هذا الأخير هو النوع الوحيد النامي بالصحراء إلى جانب النوع *Daucus sahariensis* Murb.

أشهر أنواع هذا الجنس هو الجزر *Daucus carota* L. لذا تسمى فصيلة الخيميات أيضا بعائلة الجزر (Ashour وآخرون، 2010) وهذا النوع الغذائي معروف شعبيا في الجزائر باسم السنارية أو الزرودية والذي يضم 8 تحت أنواع برية تابعة له من بينها *D.carota ssp sativus* وهو الوحيد الذي يتميز بجذور درنية وذات لون برتقالي و الذي يزرع ويستغل كثيرا في الجانب الغذائي ( Quezel et Santa، 1962).

#### **I-1-1-6-1- الدراسات السابقة للجنس *Daucus* :**

تعرضت أنواع هذا الجنس لدراسات فيتوكيميائية واسعة خاصة فيما يتعلق بمحتواها من الزيوت الأساسية والفلافونويدات حيث لوحظ أن هذا الجنس هو أغنى أجناس العائلة الخيمية من حيث الزيوت الطيارة (Harbone، 1971).

#### **I-1-1-6-1-1- الزيوت الأساسية :**

إهتم الكثير من الباحثين بدراسة الزيوت الطيارة لهذا الجنس المهم والمميز ضمن العائلة الخيمية حيث لاحظوا التنوع الكمي والنوعي لمكونات زيتة الأساسي كما وجدوا إختلافا كبيرا من حيث نوع المجموعات الكيميائية المسيطرة (الأساسية) فقد تكون مجموعة *Phenylpropanoides* أو *Monoterpenes*، وأحيانا أخرى تكون مجموعة *Sesquiterpenes* كما لاحظوا أيضا التغير الكمي والنوعي الكبير لهذه المادة الفعالة تبعا للمرحلة الفينولوجية للنبات

وكذا أعضائها من جهة (إزهار، إثمار) أو حسب المنطقة الجغرافية ونوع العوامل البيئية السائدة من جهة أخرى (Maxia وآخرون، 2009).

إن معظم الدراسات المنشورة حول هذا الجنس عالجت نوع الجزر *Daucus carota* L. ومكونات زيت الطيار سيما أن هذا الأخير يضم عددا كبيرا من الأصناف، حيث درس كثير من الباحثين الزيت الطيار لهذه النبتة الغذائية ذات القيمة الاقتصادية الكبيرة ومقارنتها بمختلف الأنواع النباتية الأخرى التابعة لنفس الجنس عبر العالم (Saad وآخرون، 1995).

لكن ما يجدر قوله هو الدراسات القليلة جدا في بلدنا الجزائر حول هذا الجنس والتي تم نشرها لحد الآن.

#### I-6-1-1-2- المنتجات الفينولية :

يتميز الجنس *Daucus* مثل باقي نباتات الفصيلة الخيمية بتراكم المنتجات الفلافونويدية ضمن أبيضه الثانوية فقد تمكن الباحث الألماني Gebhart ومساعدوه (2006) من إستخلاص مجموعات متنوعة من الفلافونويدات في الجزر *Daucus carota* L. : منها مجموعة Flavones، Flavonols و Anthocyanidine واستنتج أن هذا النوع الغذائي هو الأكثر غنى من حيث المحتوى الفلافونويدي مقارنة بنباتات غذائية أخرى للعائلة الخيمية.

كما يمكن لهذه المركبات الفلافونويدية أن ترتبط مع وحدات سكرية أي في صورة إتيروزيدية من نوع Flavone glycoside أو من نوع Flavonols glycoside ، فقد استخلص Akgul ومساعدوه (2009) المركب الغلوكوسيدي Kaempferol-3-O-β-glucoside من المستخلص الميثانولي للنبتة الغذائية *Daucus carota ssp. carota* النامية بتركيا والذي اختبر فعاليته المضادة للأكسدة حيث أبدت فعالية كبيرة.

كما بين Ravindra و Narayan (2003) بتركيا احتواء مستخلص الجزر *Daucus carota* L. على نسبة معتبرة من Anthocyanin و Cyanidin-3-lathyroside.

إلى جانب المنتجات الأيضية السابقة تم أيضا استخلاص مركبات كومارينية حرة من نوع فيرانوكومارين أو مرتبطة مع Sesquiterpene مثل Ferulenol بمستخلص جذورالجزر النامي بمصر خاصة مركبات من نوع Daucane sesquiterpenes مثل مركب Dauca- 5,8-diene (Ahmed وآخرون، 2005) أو من نوع Guaiane-type sesquiterpenoids مثل Daucusol وDaucoside (Fu وآخرون، 2010).

### I-6-1-1-3- منتجات أيضية أخرى :

تعتبر جذورالجزر من أهم المصادر الغنية بالكاروتينويدات Carotenoides وعلى رأسها مركب  $\beta$ -Carotene الذي يمثل المصدر الأساسي للفيتامين A والمعروف بدوره الكبير في وظيفة البصر وكمضاد نموذجي للأكسدة (Mech-Nowak وآخرون، 2012). كما تم إستخلاص مركبات أيضية أخرى مثل Polyacetelene وزيتوت ثابتة (Vesna وآخرون، 1989).

### I-6-1-2- الإستعمالات الطبية :

استعملت نباتات هذا الجنس منذ القدم ولازالت لحد الآن تستعمل في علاج كثير من الأمراض والمشاكل الصحية نظرا لخصائصها البيولوجية كتلك المضادة للبكتيريا والفطريات، ففي الطب التقليدي الجزائري تأخذ النساء الحوامل عن طريق الفم مستخلص بذور الجزرالبري الموضوع في الماء الساخن والممزوج مع أنواع نبتة *Euphorbia* لتسهيل الولادة وفي الوطن العربي يستعمل مستخلص البذور المجففة للجزر كوسيلة للإجهاض أو للحث على الحيض (Hilton-Simpson، 1922).

في الصين تستخدم خلاصة الجزر شعبيا لعلاج آلام المثانة وأمراض الكلى المزمنة وكذلك ضد الإلتهابات المعوية (Fu وآخرون، 2010).

أما في أوروبا فقد استعمل السكان الأصليون منذ القدم مغلى أوراقه المجففة لعلاج حالات الإضطرابات المعدية ويستعمل الجزر حاليا على نطاق واسع في علاج كثير من الإضطرابات المرضية كطارد للغازات، مدر للبول و طارد للديدان (Flamini وآخرون، 2006).

كما يؤخذ عصير جذور الجزر عند فقدان الصوت أو ضد السعال، أو لعلاج الإمساك وفرط يوريا الدم و داء السكري أو توضع جذوره مباشرة ككمادات في الإلتهابات والحروق وفي علاج سرطان الثدي والرحم وكذلك سرطان الجلد (Bishayee وآخرون، 1995) كما يعتبر الجزر أيضا منشطا، مطهرا و مضادا للإلتهاب (Majumder وآخرون، 1995).

ولقد أكدت الدراسات الحديثة فعالية الزيوت الأساسية لأنواع الجنس *Daucus* ضد البكتيريا والفطريات الممرضة (Radulović وآخرون، 2011) وهو ما يفسر الإستعمالات الطبية الشعبية الكثيرة والمذكورة سابقا لهذه الأنواع في علاج كثير من الأمراض البشرية (Tavares وآخرون، 2008) ، ففي دراسة حديثة أكد Lanfranchit ومساعدوه (2010) فعالية الزيت الأساسي للنبتة النامية بالجزائر. *Daucus crinitus* Desf. ضد الملاريا، البكتيريا و الفطريات.

كما أكدت الأبحاث فعالية الزيت الأساسي لنبتة *Daucus littoralis* L. ضد مرض السل (Baser وآخرون، 2009)، مثلما أكد Mani ومساعدوه (2010) فعالية مستخلص الجزر ضد القلق.

### I-6-1-3- الوصف النباتي للعينة. *Daucus sahariensis* Murb.

هي نبتة حولية قائمة نوعا ما، مشعرة قليلا وذات رائحة عطرية كما تبدوا بأوراق سفلية مصفرة عند جفافها و ثمار ذات أشواك منتظمة حيث تحمل كل نصف ثمرة أربع صفوف من الأشواك ذات اللون الذهبي المصفر والتي يمكن أن تكون مزودة أو غير مزودة بانتفاخ نهائي، يعرف وجودها في المناطق الصحراوية فقط و تنتشر بصورة خاصة في مناطق بوابة الصحراء Prisaharienne ومناطق Septentrional (Ozenda, 1991).



الصورة 1 : نبتة *Daucus sahariensis* Murb. النامية ببوسعادة.

#### I-4-1-6- الوصف النباتي للنوع *Daucus reboudii* Coss. :

نبتة عشبية معمرة، أصيلة ونادرة الوجود في الجزائر، تتميز برائحة البسباس Fenouil كما تكسى سيقانها و أعناقها الورقية بشعيرات منحنية وتحمل ثمار صغيرة بطول 6-8 مم، يشتهر وجودها وطنيا في غابات البلوط الفليني لاسيما في منطقة قالمة ( Quezel et Santa ، 1963).



الصورة 2 : نبتة *Daucus reboudii* Coss. النامية ببجاية.

### I-6-2- الجنس *Bupleurum* :

يضم هذا الجنس 180 – 190 نوع نباتي عبر العالم، تنتشر بصورة أكبر في النصف الشمالي من الكرة الأرضية : في أوروبا وشمال إفريقيا وخاصة في قارة آسيا إذ يتواجد بهذه القارة لوحدها 42 نوعا منه 22 نوعا أصيلا (Meng-lan وآخرون، 2005) استعملت بعضها منذ أكثر من 2000 سنة في علاج كثير من المشاكل الصحية في هذه البلدان وتصنف كثير من نباتات هذا الجنس حاليا ضمن كل من الدستور الصيدلي الصيني والكوري والياباني كنباتات طبية (Ashour et Wink، 2011).

اشتق اسم هذا الجنس من الكلمة الفرنسية *Buplèvre* أو اللاتينية *Boupleuron* المركبة من قسمين *Bous* أي الثور و *Boeuf* و *Pleuron* أي الضلع *Plèvre* وهذين الكلمتين تشير وتدل على قساوة أوراق هذا الجنس وشكلها، معظم نباتات هذا الجنس تكون معمرة وذات قامات من 50-150 سم، تتميز نباتات هذا الجنس بعدم وجود الأشعار في أعضائها وبأزهار صفراء وأوراق طويلة كاملة غير مجزأة (خلافا للعائلة الخيمية) ومتبادلة على الساق مع ثمار صغيرة الحجم.

### الجدول 3 : تصنيف الجنس *Bupleurum* (Pimenov et Leonov، 1993).

Embranchement	Magnoliophyta	الشعبة
Classe	Magnoliopsida	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Sous famille	Apioidae	تحت العائلة
Tribu	Apiaceae (Ammineae)	القبيلة
Genre	<i>Bupleurum</i>	الجنس

في الفلورا الجزائرية يعتبر هذا الجنس أكبر أجناس العائلة الخيمية تمثيلا فهو يحتوي على 14 نوع منها 05 أنواع أصيلة (Quezel et Santa، 1963).

## I-6-2-1- الدراسات السابقة للجنس *Bupleurum* :

تمتاز أنواع هذا الجنس بتنوع كيميائي كبير ضمن منتجاتها الأيضية الثانوية لذا فقد أخذت إهتماما واسعا في الجانب الفيتوكيميائي حيث أثبت كثير من الباحثين أن معظم منتجاتها هي مواد حيوية فعالة و ذات خواص بيولوجية مهمة، فقد تم لحد الآن دراسة ما يقارب 50 نوع نباتي فيتوكيميائيا وعزل لحد الآن أكثر من 200 مركب كيميائي تابع لكل مجموعة كيميائية أساسية (Ashour et Wink، 2011).

## I-6-2-1-1- الزيوت الأساسية :

تعتبر الدراسات المتعلقة بالزيوت الأساسية لأنواع هذا الجنس كثيرة ( لكنها أقل إذا ما قورنت بالنشريات المتعلقة بالصابونيات) وقد تم لحد الآن تحديد ما يقارب 200 مركب زيتي في 20 نوع مدروس ومن أهم النتائج المتوصل إليها هو أن تركيبة زيوت الأنواع الآسيوية تختلف كثيرا عن تلك النامية بأوربا، حيث تم تحليل زيت جذور 10 أنواع نامية بالصين ووجد أن جميع هذه الأنواع تمتاز بزيت طيار غني بالمركبات الألدهيدية الألفاتية مثل Hexanal ، Heptanal و الأحماض مثل Hexanoic acid ( Ashour et Wink، 2011 ).

في حين تمتاز الأنواع الأوربية بزيت غني بمجموعة Monoterpenes وعلى رأسها مركبات  $\alpha/\beta$ -Pinene ، Limonene و 1,8-Cineole وهي النتيجة التي أكدها كثير من الباحثين وعلى رأسهم الباحثة الإيطالية Pistelli ومساعدوها (2006) في دراسة خاصة للأنواع النامية بإيطاليا ومن أهمها النوع *B.fruticosum* حيث وجد أن زيتها يتكون أساسا من  $\alpha/\beta$ -Sabinene و Phellandrene.

وفي إسبانيا أيضا وبالنسبة للنوع *Bupleurum gibraltarium* تبين أن الزيت الأساسي لثمار هذا النوع غني بالمركبات التربينية الأحادية أهمها  $\alpha$ -Pinene ، Sabinene (Barrero وآخرون، 1998). إن هذه النتائج الفيتوكيميائية سهلت كثيرا تمييز الأنواع الصينية عن الأنواع الإيطالية أو الإسبانية.

أما في الجزائر فقد قام Laouer ومساعدوه (2009) بدراسة مقارنة للزيت الأساسي للنبتين الأصيلتين *Bupleurum plantagineum* Desf. و *Bupleurum montanum* Coss. حيث وجدوا إختلافا كبيرا في مكونات هذه المادة الفعالة بين النبتتين المدروستين وتبين أن المركب الذي ينتمي لمجموعة Sesquiterpenes والمسمى Megastigma-4,6-(E), 8(2)-triene هو المركب الغالب (25.3%) في زيت النبتة *Bupleurum montanum* Coss. (خلافا لكل الأنواع الأوربية والآسيوية) متبوعا بمركب Myrcene (17.2%) و  $\alpha$ -Pinene (12.1%) أما النوع *Bupleurum plantagineum* فقد كانت مجموعة Monoterpene هي المسيطرة وممثلة أولا في مركب  $\alpha$ -Pinene بنسبة 31.9% متبوعا بمركب *cis*-Chrysanthenyl acetate بنسبة 28.2%.

#### I-6-2-1-1-المنتجات الفينولية :

##### ■- الفلافونويدات :

تعتبر الفلافونويدات الحرة من نوع Flavonols هي الأكثر تواجدا ضمن منتجات أنواع هذا الجنس حيث أشار كثير من الباحثين إلى وجودها خاصة مركب Kaempférol و Quercétine ومركب Tamarixétine و Isorhamnétine وفي المقابل ما تم إستخلاصه من النوع Flavones قليل جدا مثل مركب Oroxylin (Chang وآخرون، 2003) أما الإتيروزيديات الفلافونويدية فالموجودة بكثرة هي أيضا من النوع Flavonols و تكون غالبا مرتبطة مع الجزء السكري في الموضع رقم 3 للحلقة الأوكسوجينية برابطة أوكسوجينية وقليل جدا تلك المرتبطة في الموضع 7 أما الغلوكوسيدات من النوع Flavones أو Isoflavones فهي قليلة جدا أيضا (Bencheraiet وآخرون، 2012).

##### ■- الكومارين :

أشارت الأبحاث المتعلقة بالكومارينات إلى وجود هذه المادة الفينولية ضمن أنواع هذا الجنس حيث تم عزل 14 مركبا كومارينيا وهي غالبا كومارينات بسيطة ومن أهم هذه الأبحاث تلك التي قامت بها الباحثة Pistelli ومساعدوها (1996) حيث تمكنت من عزل 9 مركبات

كومارينية في الجزء الهوائي للنوع الإيطالي *Bupleurum fruticosum* من أهمها مركب Scopoletine، Scoparone و Aesculetin (Pistelli وآخرون، 2006).

أما في النوع *Bupleurum falcatum* فقد تم عزل مركبين أحدهما بيرانو كومارينيني Anomaline والآخر فيرانو كومارينيني Angelicine وكذلك مركبي Anomalin و Praeruptorin في جذور *Bupleurum marginatum* (Banerji وآخرون، 1977).

#### ■- الصابونيات :

تعتبر Saponosides أشهر مادة أيضا معروفة ضمن منتجات الجنس *Bupleurum* وهي عبارة عن مادة ثلاثية التربينات ( $C_{30}$ ) تدعى أيضا Saikosaponins تشكل نسبة 7% من المادة الجافة للجذور و تكون مرتبطة مع وحدات سكرية تمنح لها الخاصية البيولوجية الطبية التي من أهمها الخاصية المضادة للإلتهاب و ضد التخثرية و المخفضة للحمى (Zhao وآخرون، 1996) ؛ Barrero وآخرون، 2000). إلى جانب هذه المنتجات الأساسية سابقة الذكر هناك مواد أخرى تم عزلها مثل اللجنين والبولي أستلين (Barrero وآخرون، 1998).

#### I-2-6-2- الإستعمالات الطبية :

يعتبر مسحوق الجذور الجافة لأنواع هذا الجنس القسم المشهور استعماله طبييا خاصة لأنواع الآسيوية الثلاثة : *Bupleurum chinese* ، *Bupleurum falcatum* و *B. scorzonifolium* حيث تشتهر في الصين وبلدان آسيا الوصفة الطبية المكونة من خلاصة هذه الأنواع الثلاث و المسماة باسم *Bupleuri radix* من أجل معالجة أعراض كثيرة مثل الحمى و الإلتهابات الكبدية و السرطان و الملاريا فهي معروفة إذن بخصائصها المضادة للإلتهاب (Ocete وآخرون، 1989) ، المسكنة للألام و المدرة للبول (Yen وآخرون، 1991)، المنشطة و المضادة للسموم خاصة على مستوى الكبد (Utrilla وآخرون، 1991 ؛ Liu وآخرون، 2006؛ Maxia وآخرون، 2011). كما توجد وصفات أخرى لمستخلص جذور هذه النباتات مع نباتات أخرى (خلاصة لسبع نباتات) و تسمى بأسماء آسيوية محددة مثل Sho-saiko-to و Shingyaku-san

وتستعمل بكثرة لمعالجة أمراض خطيرة مثل الزكام، الربو والرئتين Pneumonie أو للإضطرابات والقرحات المعدية والإلتهابات المعدية والالام البطنية (Yen وآخرون، 1991).

ومن بين الأبحاث الحديثة والمتعلقة بالفعالية البيولوجية لأنواع هذا الجنس إختبار الفعالية ضد مكروبية للزيت الأساسي للنبته *Bupleurum montanum* ضد 11 مكروبا حيث بينت النتائج فعالية متوسطة ضد هذه الكائنات الممرضة وكانت الفعالية أكبر ضد البكتيريا - *Nocardia asteroides* و *Staphylococcus aureus* . كما أبدت هذه المادة الطيارة فعالية بيولوجية كذلك من نوع Antiplasmodiale و Antimutagenic و (Laouer وآخرون، 2009).

كما بينت Lara ومساعدوها (2005) أن المستخلص الكلوروفورمي لجذور نبته *B.fruticosum* ذو تأثير مرخي وموسع للأوعية الدموية للفئران. أما الزيت الأساسي للنوع *Bupleurum fruticosum* فقد كان ذو تأثير مضاد للمكروبات مع الإشارة إلى أن هذا الأخير يعتبر النبات الوحيد ضمن هذا الجنس والذي يستعمل في الجانب التجميلي لتزيين الحدائق و المنتزهات (Pistelli وآخرون، 1996).

### I-3-2-6- الوصف النباتي للنوع : *Bupleurum plantagineum* Desf.

نبته أصيلة، معمرة وصلبة، إرتفاعها من 60-150 سم وذات أوراق جالسة رمحية الشكل مع خيمات صغيرة تحوي من 8-20 شعاع، تنمو في الصخور الكلسية وتواجدها نادر جدا في الجزائر: في منطقة القبائل مثل Bougie و Cap carbon وضواحيها (Quezel et Santa، 1963).



الصورة 3 : نبته *Bupleurum plantagineum* Desf. النامية بجاية.

### I-6-3-3 : الجنس *Pituranthos*

من أكبر الأجناس تمثيلا على وجه الكرة الأرضية فهو يضم 2500 نوع ينتشر أغلبها في شمال إفريقيا (Neffati وآخرون، 2009) وتمتاز بكونها ذات خصائص طبية وبيولوجية مهمة ومستعملة شعبيا بكثرة في علاج بعض الأمراض والمشاكل الصحية .

في الجزائر يمثل هذا الجنس ب 4 أنواع أصيلة معروف منها في الطب الشعبي الجزائري وفي المناطق الصحراوية بصورة خاصة النباتان (*Pituranthos chloranthos* (Coss et Dur.) و *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) .

#### الجدول 4 : تصنيف الجنس *Pituranthos* (Pimenov et Leonov، 1993)

Embranchement	Magnoliophyta	الشعبة
Classe	Magnoliopsida	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Sous famille	Apioidae	تحت العائلة
Tribu	Apieae	القبيلة
Genre	<i>Pituranthos</i>	الجنس

### I-6-3-1-1 : الدراسات السابقة للجنس *Pituranthos*

هناك دراسات كثيرة حول المنتجات الأيضية الثانوية لهذا الجنس خاصة في دول شمال إفريقيا والمشرق العربي وقد تعلقت هذه الأبحاث خاصة بالزيوت الطيارة وفعاليتها البيولوجية وكذلك المركبات الفينولية.

### I-6-3-1-1-1 : الزيوت الأساسية :

لقد بين كثير من الباحثين أن النبتة الصحراوية (*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) النامية بالجزائر غنية بالزيوت الطيارة وأن نسبة مكوناتها تتغير من منطقة لأخرى ففي منطقة

غرداية كان Limonene و Dill-apiole هما المركبان الأساسيان في ثمار هذه النبتة و المجموعة في فصل الخريف يقابله مركب Germacrene D و Myristicin في سيقانها ( Verite وآخرون، 2004).

أما Vernin ومساعدوه (1999) فقد وجد أن زيت ثمار هذه النبتة النامية بعين الديس-المسيلة والمجموعة في فصل الشتاء غني جدا بمركب Dill-apiole بنسبة 52.8 %، وقد كانت أبحاث Boutaghane وآخرون (2004) مكملة للباحث السابق حيث بينوا أن زيت الثمار والسوق يمتاز بتأثير ضد بكتيري مهم.

أما في تونس فقد تم تحليل الزيت الأساسي (*Pituranthos chloranthus* (Coss.et Dur.) وتحديد أكثر من 150 مركب زيتي ضمن 4 مراحل فينولوجية من النمو حيث اتضح أن هناك تغير كيميائي كبير في مكونات الزيت الأساسي في هذه المراحل، كما تم تجريب الفعالية المضادة للأكسدة ووجد أن زيت هذه النبتة يمتاز بفعالية كبيرة جدا.

أما في الجزائر فقد تم تحديد 54 مركب طيار في مرحلة الإزهار لهذه النبتة كما تبين أن الزيت الأساسي لهذه النبتة ذو فعالية بيولوجية عالية ضد بعض البكتيريا والفطريات الممرضة (Neffati وآخرون، 2009).

#### I-6-3-1-2- المنتجات الفينولية :

بينت الدراسات المنجزة تنوعا في منتجات الأيض الثانوي على مستوى هذا الجنس خاصة فيما يتعلق بالمركبات الفينولية حيث أشار البعض منها إلى وجود الكومارينات في الجزء الهوائي لنبتة (*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) Hamada وآخرون، 2004) أما بالنسبة للفينولات فقد تبين أن المركب الفينولي البسيط Cinamic acid يتواجد أساسيا إلى ضمن الفلافونويدات الأجليكونية والغلوكوسيدية (Singab وآخرون، 1998 ؛ Touil وآخرون، 2006 ؛ Benmekhbi وآخرون، 2008؛ Dahia وآخرون، 2009).

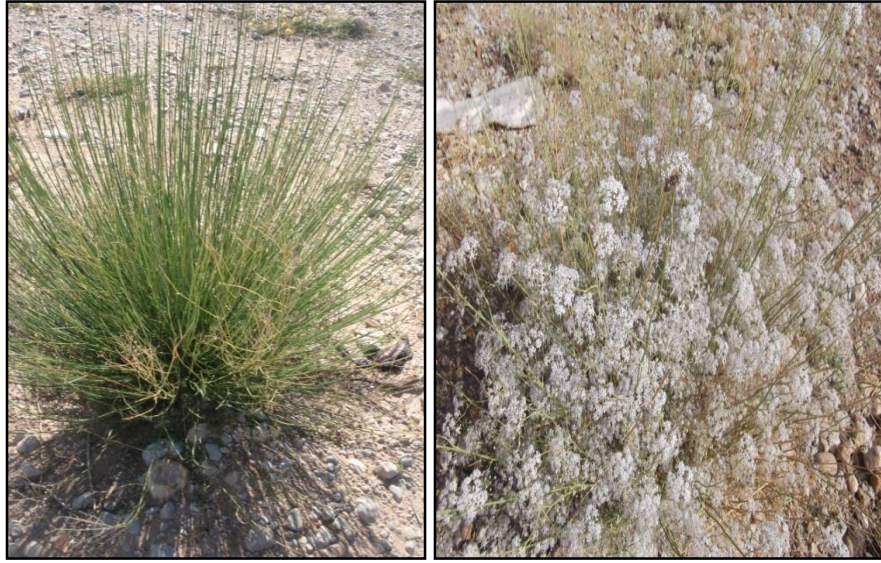
### I-6-3-2- الإستعمالات الطبية :

تستعمل النبتة الطبية (*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) في علاج أمراض متعددة مثل الحمى وضد إتهاب المفاصل، مرض السكري وضيق التنفس (Bouaziz وآخرون، 2009) كما يضيفها شعب الطوارق بالصحراء للخبز والأطعمة بغية تعطيها وإعطاء النكهة (Benmekhbi وآخرون، 2008). أما النبتة الطبية الصحراوية - *Pituranthos chloranthus* (Coss.et Dur.) فتستعمل شعبيا في علاج آلام الرأس وكذلك كمطهر طبيعي (Neffati وآخرون، 2009) .

و في دول المشرق العربي تستعمل النبتة العطرية *Pituranthos tortuosus* L. في الطب الشعبي وبصورة خاصة في مصر كونها ذات خاصية مدرة للبول، دافعة للغازات، مخفضة للحمى وضد الطفيليات المعوية ومزيلة لآلام المعدة (Singab وآخرون، 1998).

### I-6-3-3- الوصف النباتي للنوع (*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) :

يصنف هذا النوع أيضا باسم *Deverra scoparia* ويعرف شعبيا باسم القزاح وهي نبتة أصلية، معمرة بدون أوراق تقريبا، سيقانها بارتفاع 40-80 سم متجمعة بشكل وسادي قائم، متوازية فيما بينها في جزئها السفلي و تتفرع فقط في جزئها العلوي مع خيمات جانبية بيضاء، يعرف تواجدها في المناطق الصحراوية لاسيما مناطق Septentrional مثل بوسعادة، بسكرة ... (Ozenda، 1991) .



الصورة 4 : نبتة *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) قبل وأثناء الإزهار.

#### I-4-6- الجنس *Caucalis* :

يتميز هذا الجنس بتوزع ضعيف في العالم حيث تنتشر أغلب أنواعه في دول حوض البحر الأبيض المتوسط خاصة في قارة أوروبا وبعض دول شمال إفريقيا، تضم الفلورا الجزائرية 04 أنواع منها ثلاثة أنواع متوسطة : *Caucalis daucoides* L. ، *Caucalis coerulescens* - *Caucalis leptophylla* L.، Boiss. والنوع الأصيل *Caucalis bifrons* (Pomel) Maire

#### الجدول 5 : تصنيف الجنس *Caucalis* (Pimenov et Leonov، 1993).

Embranchement	Magnoliophyta	الشعبة
Classe	Magnoliopsida	الصف
Ordre	Apiales	الرتبة
Famille	Apiaceae	العائلة
Sous famille	Apioidae	تحت العائلة
Tribu	Scandiceae	القبيلة
Genre	<i>Caucalis</i>	الجنس

#### I-4-6-1 الدراسات السابقة للجنس *Caucalis* :

حسب نشریات أهم المجالات العلمية فإن الأبحاث المنشورة والمتعلقة بالدراسات الفیتوکیمیائیة لهذا الجنس قليلة جدا ولم يتم دراسة المنتجات الأیضیة لكل أنواعه، أما في الجزائر فلا يوجد مطلقا أي بحث سابق لأحد هذه النباتات الأربع النامية في بلادنا لذا فقد أنصب اهتمامنا بدراسة النوع الطبی *Caucalis daucoides* L. المسمى أوربیا باسم Burr parsely أي البقدونس الشوكي والشائع إستعماله طبيا في أوربا ضد الأورام والسرطان وهي محاولة منا لإستثمار فیتوکیمیائی جدید لنباتات البحر المتوسط والتي تعتبر الجزائر أحد أهم بلدانها.

#### I-4-6-1-1-1 الزيوت الأساسية :

ما تجدر الإشارة إليه هو أنه لحد كتابة هذه النتيجة كل ما تم نشره حول هذا الجنس يقتصر فقط على النوع *Caucalis platycarpus* L. حيث تم استخلاص وتحليل مكونات الزيوت الطيارة لهذه النبتة الطبية و تبين أن مجموعة Sesquiterpenes هي المجموعة الكیمیائیة المسيطرة وبصورة أساسیة في مركب Spathulenol (Bucar وآخرون، 2001).

#### I-4-6-1-2 المركبات الفينولية :

لقد بين Plazonić ومساعدوه (2009) أن النبتة *Caucalis platycarpus* L. و النامية بكرواتيا غنية جدا بالمركبات الفلافونويدية الحرة المتمثلة أساسا في Luteolin، Apigenin و Chrysoeriol وكذلك الأحماض الفينولية والتي كان فيها Acid cinamic المركب الأساسي فيها أما الفلافونويدات الغلوكوسيدية فقد كانت ممثلة أساسا بالمركب Luteolin-7-O-glucoside، وفي دراسة تحليلية أخرى تبين أن الحمض الفينولي Caffeic acid هو المركب الأساسي ضمن المحتوى الفينولي لهذه النبتة الطبية (Plazonić وآخرون، 2011). أما الباحث Kujundzic ومساعدوه (1992) فقد عزل كثير من المنتجات الكیمیائیة ضمن الأیض الثانوي لهذه النبتة منها المركب الكومارينی Scopoletine و ثلاث فلافونويدات غلوكوسيدية، مركبات تنينية .....

#### I-6-4-2- الوصف النباتي للنوع . *Caucalis daucoides* L.:

نبتة حولية نادرة التواجد في الجزائر ذات اوراق ريشية ثنائية أو ثلاثية الوريقات وأزهار وردية أو بيضاء، ثمارها بطول 8-12 مم مزودة بأضلاع ثانوية عليها أشواك وحيدة الصف ، خيماتها نهائية بها من 2-3 شعاع مع قنابات خطية، تنمو في الغابات والمزارع بصورة نادرة و مشتتة في الجزائر كجرجرة و الأوراس ( Quezel et Santa ، 1963).



الصورة 5 : نبتة *Caucalis daucoides* L. النامية بالمسيلة.

## II- الزيوت الأساسية :

### II-1- تعريفها :

تسمى الزيوت الأساسية أيضا بالأرواح Essences أو الزيوت الطيارة Huiles Volatiles وهي خليط من مواد معقدة التركيب، تمتاز بكونها ذات رائحة عطرية وطيارة وتعتبر من أهم منتجات الأيض الثانوي تنتجها بعض النباتات الراقية الخاصة والمعروفة باسم النباتات العطرية والتابعة لعوائل نباتية محددة ونادر جدا تلك التي يتم إنتاجها من مصادر حيوانية أو من طرف الكائنات الدقيقة (Başer وآخرون، 1995) تركيبها النباتات العطرية بكميات قليلة جدا مقارنة بوزنها الإجمالي على شكل قطرات صغيرة في بنيات خاصة وفي مختلف أعضاء النبتة ، لها القدرة على التبخر والتطاير تحت الظروف العادية وهو ما يفسر إنطلاق رائحة عطرية عند نزع زهرة أو ورقة أو جزء من عضو نباتي للنبتة (Guinard، 1996) يمكن أن ترتبط مع مواد أخرى مثل الصمغ أو الراتنجات لكنها تنفصل عنها عند التقطير المائي أو المعاملة الأنزيمية، كما يسهل فصل هذه الزيوت عن الأعضاء النباتية الحاملة لها بواسطة التقطير وطرق الإستخلاص المختلفة وأشهر الطرق المعروفة لاستخلاصها طريقة التمرير على بخار الماء Hydrodistillation كما أنها تختلف كلية عن الزيوت الثابتة (زيت الزيتون) أو الدسم النباتية من حيث مكوناتها الكيميائية أو خصائصها الفيزيائية (Bakkali وآخرون، 2008).

### II-2- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية :

- عبارة عن مواد سائلة بعد تقطيرها أو استخلاصها بطرق الفصل المختلفة ونادرا ما تكون صلبة أو غير حرة لإرتباطها مع مركبات راتنجية أو غليكوسيدية.
- عديمة اللون أو بيضاء مصفرة والنادر منها أزرق أو أزرق مخضر لوجود مادة الأزولين Azulene كما في زيت نبات البابونج Chamomile.
- تتبخر أو تتطاير تحت الظروف الطبيعية و العادية وهو ما يميزها عن الزيوت الثابتة.

- لا تذوب في الماء أو قليلة الذوبان فيه بل تطفوا فوق سطحه لقلّة كثافتها النوعية عن كثافة الماء وتتراوح كثافتها النوعية بين 0.75-0.99.

- قابلة للذوبان بشدة في الإيثر، الكلوروفورم، الكحولات، في الزيوت الثابتة وفي معظم المذيبات العضوية .

- لها رائحة ونكهة مميزة وعند اختلاطها بالماء تنقل إليه رائحة عطرية كما أن لها درجة غليان متغيرة ما بين 160-240° (Bruneton، 1999).

### II-3- تواجد ، توزع وتخزين الزيوت الأساسية :

لا توجد الزيوت الأساسية إلا في النباتات الراقية وهي تنتشر في بعض الفصائل النباتية المعروفة والمحددة مثل العائلة الخيمية Apiaceae ، الشفوية Lamiaceae ، السدبية Rutaceae ، الميرتاسية Myrtaceae ، المركبة Asteraceae ، عائلة Cupressaceae ، اللوراسية Lauraceae ، الزنجبيلية Zingiberaceae ، عائلة Piperaceae ، الصنوبرية Pinaceae والنجيلية Poaceae حيث تتميز هذه النباتات باحتوائها على بنى نسيجية خاصة قادرة على تجميع الزيت والتي يمكن أن توجد على البشرة الخارجية على شكل شعيرات إفرازية كما في نباتات العائلة الشفوية Lamiaceae مثل أوراق جنس النعناع *Mentha*، كما توجد داخل الأنسجة المختلفة لبعض النباتات على شكل جيوب إفرازية كما في نباتات العائلة الميرتاسية Myrtaceae أو السدبية Rutaceae ، أو على شكل قنوات إفرازية كما في نباتات العائلة الخيمية Apiaceae والمركبة Asteraceae ، أو على شكل خلايا معزولة موجودة تحت البشرة كما هو الحال في نباتات العائلة Lauraceae والعائلة Zingiberaceae (Bruneton، 1999).

أما تخزينها فيمكن أن يتم في كل الأعضاء النباتية : الأزهار مثل الياسمين و الورد ، الأوراق مثل الكاليتوس و النعناع ، الثمار (جميع التوابل كالكروية و الينسون) ، البذور (جوزة الطيب) و أحيانا في الخشب (الصندل)، في القشرة (البرتقال والليمون) وفي الجذامير (الزنجبيل).

يذكر أن جميع الأعضاء النباتية في النبات نفسه تحتوي على الزيت الأساسي لكن التركيب الكيميائي له كما ونوعا يختلف حسب العضو النباتي (Bruneton، 1999).

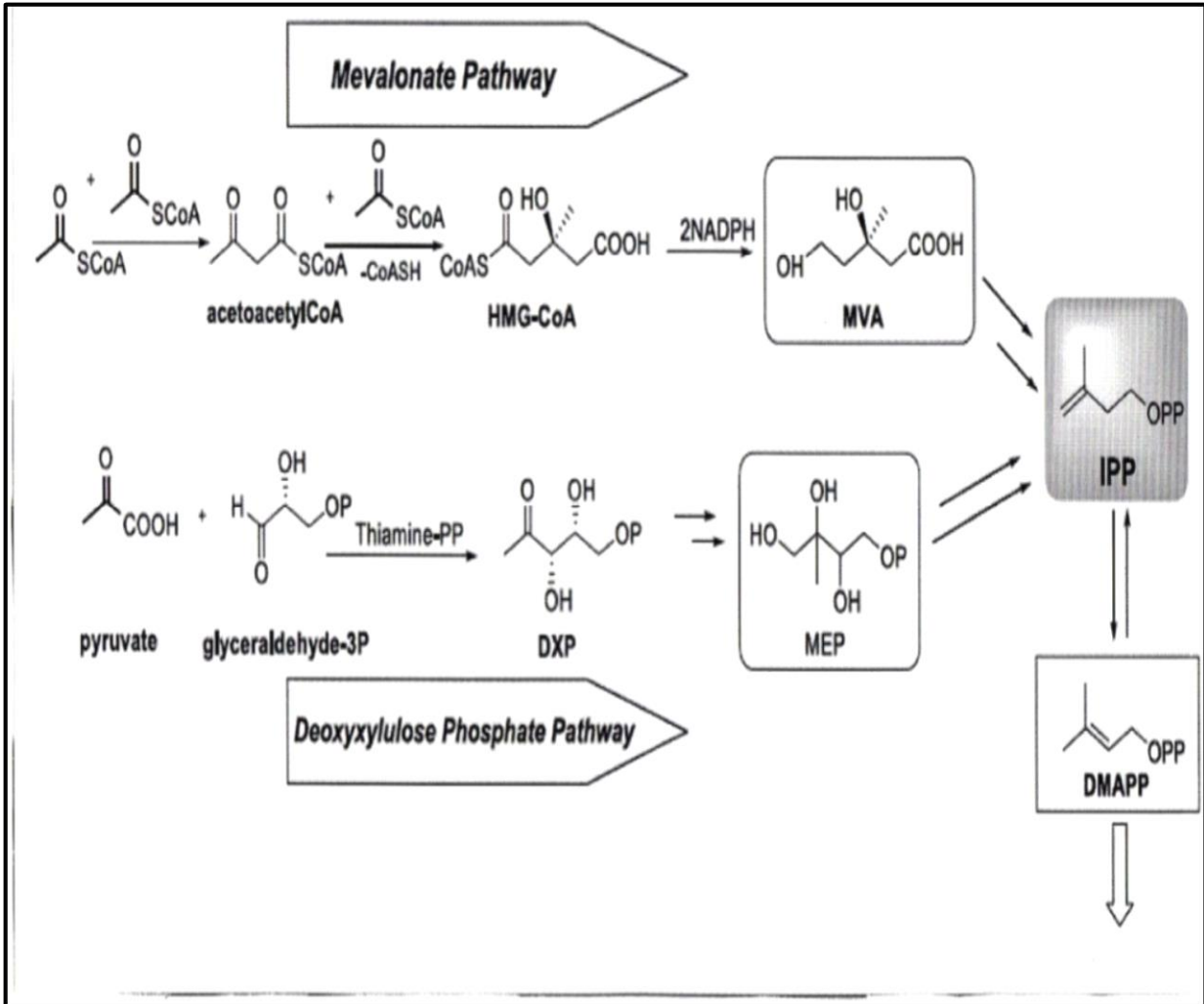
## II-4- دور الزيوت الأساسية :

لم تعرف لحد الآن الفائدة الحقيقية من الزيوت الأساسية المفرزة من طرف النباتات إلا أن هذه الأخيرة تستفيد منها بيولوجيا من حيث المساعدة على جذب الحشرات الحقلية إلى أزهارها لزيادة عملية التلقيح الخلطي بها (Cseke وآخرون، 2007) كما أن الزيوت العطرية تعمل كمواد طاردة لبعض الحشرات من خلال الرائحة المنفرة أو قاتلة للكائنات الفطرية والبكتيرية المسببة للأمراض النباتية وقد ذكر بعض الباحثين أن للزيوت الأساسية دور في الإتصال البيولوجي أي في نقل الرسائل داخل النبات (Bruneton، 1999).

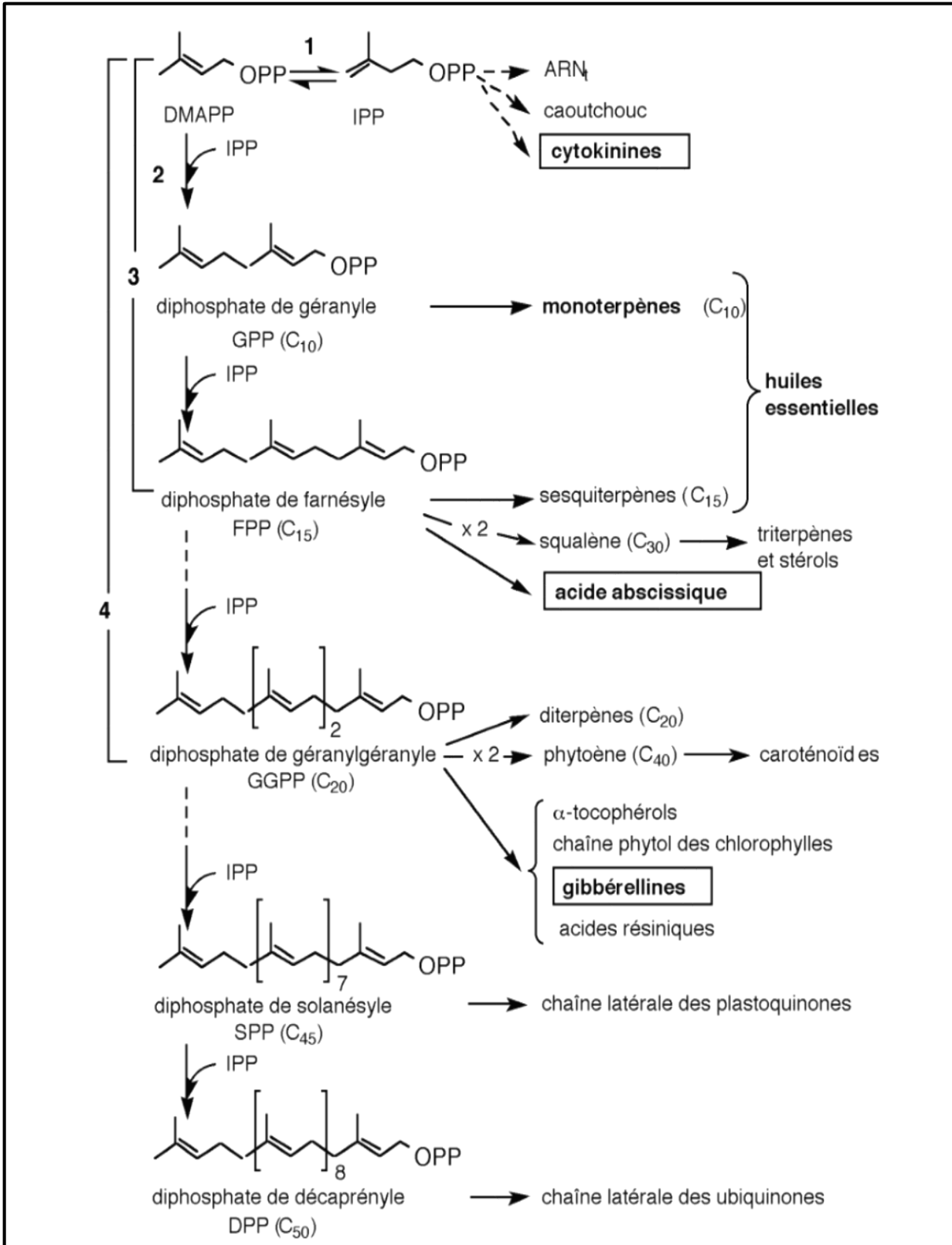
## II-5- التخليق الحيوي للزيوت الأساسية :

يتم التخليق الحيوي للزيوت الأساسية بصفة أساسية عبر مسلك Mevalonic وبصورة ثانوية عبر مسلك Deoxyxylulose phosphate إنطلاقا من المركب خماسي الكربون Isoprenylpyrophosphate (IPP) الذي يتحول إلى مركب Dimethylallyl diphosphate (DMAPP) كما يوضحه مخطط الشكلان 1 و 2 .

هذا الأخير (DMAPP) يعتبر المركب البادئ في تصنيع مختلف أنواع التربينات بعد سلسلة من التفاعلات كما يوضحه الشكل 2 يتم إنتاج التربينات الأحادية  $C_{10}$  ثم بنفس التكثيف الموالي ينتج السيسكوتربينات  $C_{15}$  ويتم هذا التصنيع في سيتوبلازم الخلية أو بداخل الصانعة الخضراء (Başer وآخرون، 1995).



الشكل 01 : مخطط التخليق الحيوي للزيوت الأساسية (Başer وآخرون، 1995)



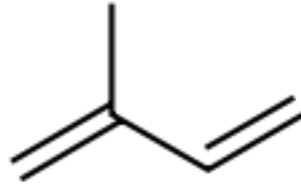
الشكل 02 : مخطط التخليق الحيوي للزيوت الأساسية وللتربينات (Başer وآخرون، 1995)

## II-6-6- المكونات الكيميائية للزيوت الأساسية :

إن الزيوت الأساسية خليط من عدة مركبات : تربينية، عطرية (فينولية) من مشتقات الفينيل بروبان وهما الأكثر تواجداً، وأحياناً مشتقات هيدروكربونية تختلف عن بعضها كيميائياً وذات مصادر مختلفة.

### II-6-6-1- المركبات التربينية Terpenes :

تسمى أيضاً Isoprenoids وتؤلف المجموعة العظمى من المنتجات الطبيعية في المملكة النباتية والتي يدخل في هيكلها مضاعفات من 5 ذرات كربون تسمى Isoprène، تعتبر التربينات الأحادية Monoterpenes أهم المجموعات الأساسية للزيوت الأساسية إلى جانب السكوتربينات والفينيل بروبانويد.



الشكل 3 : جزيئة Isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>).

### II-6-6-1-1- التربينات الأحادية Monoterpenes :

تمثل أبسط مجموعة من التربينات وهي عبارة عن إرتباط وحدتين من Isoprène (C<sub>5</sub>) لتشكيل مركب تربيني (C<sub>10</sub>) ذو صيغة عامة C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> وهي تكون أحياناً 90 % من الزيت الأساسي، إلا أن الباحثين أجمعوا على أن التخليق الحيوي يبدأ دائماً بمركب خماسي الكربون ولكن مفسفر وهو IPP لاحظ مخطط الشكل 1.




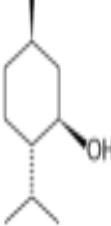

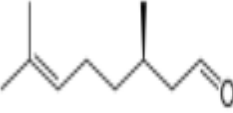
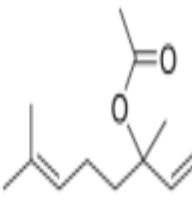


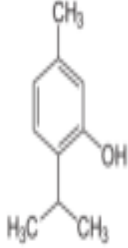
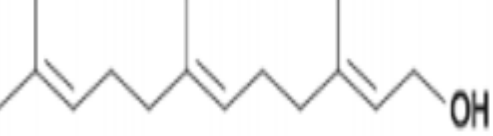
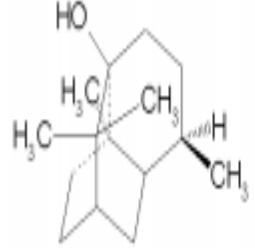
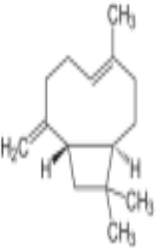
يمكن أن نميز في التربينات الأحادية : مركبات لاهلجية مثل Myrcene و Ocimene ، أحادية الحلقة مثل  $\alpha$ -Terpinene و p-Cimene أو ثنائي الحلقة مثل  $\alpha$ -Pinene ، Sabinene

وCamphene، كما يمكن أن تقسم التربينات الأحادية إلى تحت مجموعتين : هيدروكربونية لا تحتوي على الأكسوجين مثل Limonene و  $\alpha$ -Pinene أو إلى مجموعة أكسوجينية تبدي تنوعا في الوظيفة الكيميائية منها الأدهيدية مثل Citronellal أو الكحولية مثل Géraniol أو الكيتونية مثل Carvone أو الإيثرية مثل 1,8-Cinéole .

## II-6-1-2- السسكوتربينات Sesquiterpenes :

تمثل مجموعة كبيرة من التربينات تتكون نتيجة إضافة وحدة أخرى من Isoprène إلى جزيئة التربينات الأحادية لتشكيل مركب سسكوتربيني ذو صيغة عامة  $C_{15}H_{24}$  وهي تتشكل في أشكال بنيوية مختلفة مفتوحة خطية أو متفرعة، حلقية من النوع أحادي، ثنائي أو ثلاثي الحلقة كما يمكن أن تقسم السسكوتربينات بدورها إلى تحت مجموعتين : هيدروكربونية و أكسوجونية من أهمها السسكوتربينات اللاكتونية التي تعد الأكثر إنتشارا في الطبيعة كما يمكن أن تتواجد في صورة سسكوتربينات كومارينية لكنها نادرة وتتحصر في عوائل قليلة جدا مثل العائلة الخيمية (Bruneton، 1999).

يمثل الشكل التالي بعض الأمثلة لمركبات تربينية تنتمي لمجموعة التربينات الأحادية والسيسكوتربينات.

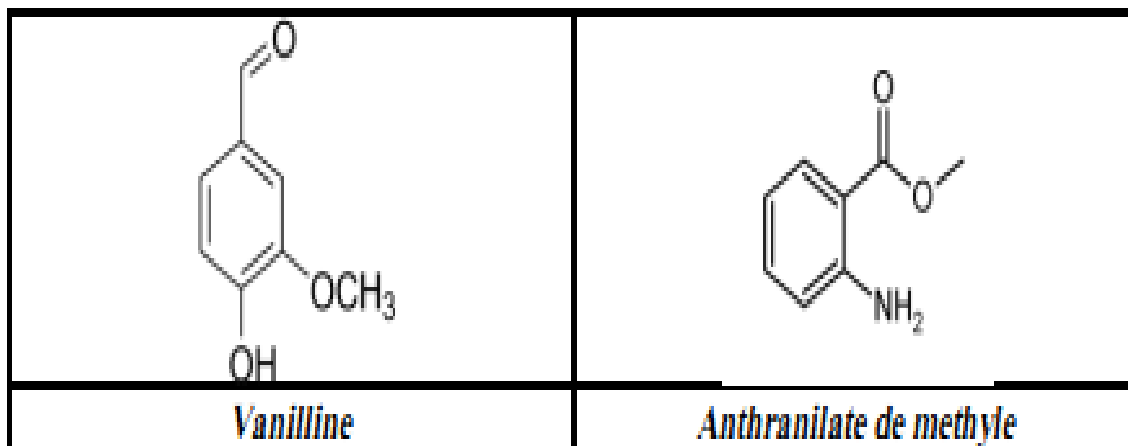
				
<i>Ocimène</i>	<i>α-terpinène</i>	<i>α-pinène</i>	<i>(+)-menthol</i>	<i>R-carvone</i>
				
<i>Citronellal</i>	<i>Acétate de linalyle</i>	<i>Eucalyptol</i>	<i>Ascaridole</i>	<i>Thymol</i>
				
<i>Farnésole</i>		<i>Patchoulol</i>	<i>β-caryophyllène</i>	

الشكل 4 : بعض المركبات الزيتية تنتمي لمجموعة Monoterpenes و Sesquiterpenes

### II-6-1-3- المركبات العطرية :

وهي عبارة عن مشتقات الفنيل بروبان ( $C_6-C_3$ ) حيث تمثل الوحدة  $C_6$  الحلقة البنزينية والتي تكسب هذه الأخيرة خصائصها العطرية. وتكون هذه المركبات عادة أقل تواجدا في الزيوت الأساسية مقارنة بالمركبات سابقة الذكر وتعتبر هذه الأخيرة مميزة للزيوت الطيارة لبعض النباتات العطرية كالبقدونس، الينسون، البسباس..... من أشهرها المركب الزيتي Anethole، Safrol، Eugenol و Estragol .

كما يمكن أن تتواجد في الزيت الأساسي مشتقات فينولية مشكلة من (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) من أشهرها Vanilline أو لاکتونات مشتقة من حمض السيناميك ويتم الإصطناع الحيوي لهذه المركبات إنطلاقاً من Phenylalanine عبر مسلك Shikimic خلافاً للتربينات (Bruneton، 1999).



**الشكل 5 :** أمثلة لمركبات Phenylpropanoids من نوع (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>).

#### II-6-1-4- مركبات من مصادر مختلفة :

تتميز هذه الأخيرة بأنها ناتجة من تحلل مواد غير طيارة مثل الأحماض الدسمة كحمض Linoléique و Linolénique فتنتج مركبات الدهيدية أو كيتونية أو أسترية مثل Octanal ، Acetate d'hexenyle أو من أكسدة مواد تربينية مثل الكاروتين الذي ينتج عنه مجموعة Ionones مثل مركب β-Ionone، هذه المركبات تتواجد أساساً في الفواكه وهي التي تكسبها نكهتها الخاصة (Bruneton، 1999).

كما يمكن للزيت الأساسي أن يحوي مواد أخرى : نتروجينية كما في زيت البرتقال والليمون Methyl anthranilate، أو كبريتية كما في زيت البصل Dimethyl sulphide .

## II-7- إستعمالات الزيوت الأساسية وفعاليتها البيولوجية :

لقد استعمل الإنسان منذ القديم خلاصات الزيوت الأساسية بغرض التطيب وكمطيبات للنكهة ، تشكيل عطور لطرد الرائحة غير المرغوبة أو في معالجة الأمراض ولازالت تستعمل لحد اليوم في الصناعات النهائية كعطور التجميل، الصابون والمنظفات، إعطاء نكهة لبعض اللحوم المعاملة والأغذية وفي الحلويات وكمكونات فعالة في المستحضرات الفموية مثل معجون الأسنان و مغاسيل الفم ومنظفاته كما أنها تستعمل حاليا في حفظ الأغذية المعلبة نظرا لخصائصها المضادة للأكسدة كما تستعمل كمواد قاتلة للحشرات ولليرقات الحشرية والطفيليات (De Martinoa وآخرون، 2009).

أما في الجانب الصيدلاني والطبي فهي مستغلة بشكل واسع نظرا لخصائصها البيولوجية المتنوعة فللزيوت الأساسية فعالية فيزيولوجية عالية ضد بعض الكائنات الممرضة فهي مضادة للبكتيريا، للفيروسات والفطريات ومضادة للإلتهاب وللسموم .

لذلك فهي تتمتع بخواص إستطبابية متعددة في علاج أمراض معينة حيث درس كثير من الباحثين تأثير هذه المادة الفعالة فوجد أنها مؤثرة ومفيدة في الوقاية من أمراض خطيرة خاصة ضد السرطان، الإيدز، الملاريا والسل (Bakkali وآخرون، 2008).

## II-8- طرق إستخلاص الزيوت الطيارة :

يوجد العديد من الطرق المستعملة لإستخلاص الزيوت الطيارة تبعا لنوع النبات أو العضو النباتي أي حسب الصفات الطبيعية للزيت ومكوناته التربينية وأهم هذه الطرق :

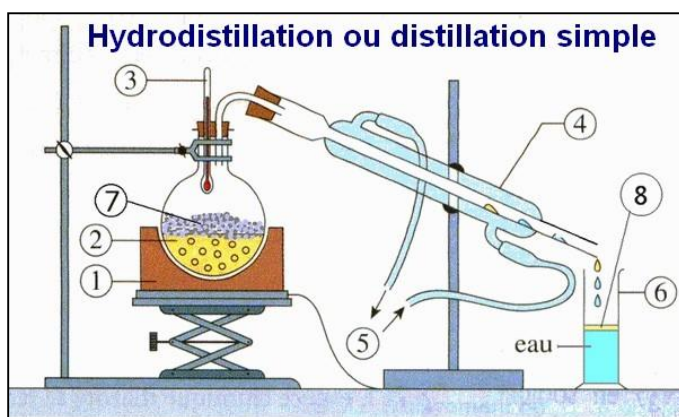
### II-8-1- الإستخلاص بالتقطير Distillation:

تعتبر هذه الطريقة من أقدم الطرق المستعملة في إستخلاص الزيوت العطرية لسهولة إستعمالها وقلة تكلفتها وقصر مدتها وهي تعتمد أساسا على خروج الزيت الطيار من أماكن تجمعها وتراكيبه الإفرازية داخل الأنسجة النباتية ثم تصاعده على هيئة غازية أو بخارية محمولا مع البخار المائي ثم مرورهما على وحدات التكثيف متحولا إلى خليط سائلي متكون من الزيت

والماء والتي يسهل بعد ذلك فصل المادة الزيتية عن الماء و تتضمن هذه الطريقة بدورها ثلاثة أنواع (Bruneton، 1999).

## II-8-1-1 Hydrodistillation التقطير المائي :

تتلخص هذه الطريقة في غمر المادة النباتية في ماء القمع الذي يقفل بغطاء محكم لضمان عدم تسرب الأبخرة الناتجة أثناء التشغيل، هذا الأخير ينتهي بوحدة التبريد أو التكثيف أين يتجمع أسفله خليط الماء والزيت بعد ذلك تفصل الطبقة الزيتية العلوية عن الماء (Bruneton، 1999).



الشكل 6 : جهاز التقطير المائي.

## II-8-1-2 Vapo-hydrodistillation التقطير المائي البخاري :

تختلف هذه الطريقة عن سابقتها في وجود حامل شبكي ضمن الجهاز يحمل المادة النباتية مما يسمح بتمرير بخار الماء على المادة النباتية عبر هذا الحامل دون وجود إتصال أو غمر للمادة النباتية في الماء الموجود في القمع وتمتاز هذه الطريقة بقلة الفقد في الزيت العطري ذي الصفات الجيدة طبيعيا وكيميائيا (Bruneton، 1999).

## II-8-1-3- التقطير البخاري :

يعتبر تصميم هذا الجهاز تقدما صناعيا متطورا حيث أن الجهاز المستعمل يشبه تماما سابقه إلا أنه لا يستعمل الماء بالمرّة بل يتصل الجهاز بالخارج بجهاز توليد البخار المشبع أو المضغوط وتضمن هذه الطريقة عدم ضياع مكونات الزيت قابلة الذوبان الشديد في ماء التقطير والتي يصعب فصلها بعد ذلك خاصة المركبات المسؤولة عن الرائحة العطرية النفاذة مثل الأسترات و الكحولات و البنزوات و الألدهيدات و الكيتونات (Bruneton ، 1999).

## II-8-1-4- الإستخلاص بالمذيبات العضوية :

تعتبر هذه الطريقة حديثة العهد استعمالا، سهلة التنفيذ وواسعة الإنتشار لدى شركات الخلاصات الغذائية وتتم باستعمال المذيبات العضوية مثل الهكسان، البترول الإثيري، البنزين ورابع كلورور الكربون إلا أن الهكسان هو المفضل والأكثر إنتشارا. حيث تغمس الأزهار الطازجة أو الأعضاء النباتية في المذيب العضوي مع الرج الجيد لعدة ساعات بعدها تجمع مستخلصات المذيب، ترشح ثم يبخر المرشح فوق حمام مائي تحت ضغط منخفض والراسب المتبقي عبارة عن عجينة الزيت العطري الخام، يتم التخلص من المواد الدهنية والشموع النباتية بإضافة الكحول الذي يرشح ثانية والرشاحة الأخيرة تبخر فوق حمام مائي لنحصل أخيرا على الزيت العطري حرا وبكميات مرتفعة الإنتاج وعالية الصفات الطبيعية والكيميائية. ونميز نوعين من المذيبات العضوية المستعملة منها الطيارة والثابتة (Bruneton ، 1999).

## II-8-1-5- الإستخلاص بالعصر الهيدروليكي أو الضغط :

وتتم هذه الطريقة بالضغط على العضو والجني مباشرة للزيت إما عن طريق العصر اليدوي أو باستعمال آلات العصر الميكانيكي لأن التراكيب الزيتية تتركز مواقعها على شكل غدّد زيتية في طبقات القشرة أو في أكياس داخل الفصوص العصيرية وهي طريقة تحافظ على الصفات الطبيعية للزيت الطيار دون حدوث أي فقد في مكوناته الكيميائية و يشيع إستعمالها في ثمار الموالح أو الحمضيات والمصادر النباتية العطرية.

وهناك طرق أخرى لكنها أقل شيوعا مثل الإستخلاص بالمعاملة الأنزيمية أو الإستخلاص باستعمال الغازات فوق حرجة Supercritiques خاصة غاز CO<sub>2</sub> (Bruneton، 1999).

## II-9- طرق تحليل الزيوت الأساسية :

نظرا لأهمية إستعمالات الزيوت الطيارة في ميادين عدة مثل صناعة العطور ومواد التجميل والصناعات الصيدلانية وفي الزراعة والصناعات الغذائية أصبح تحليل مكونات هذه المادة ومعرفة خصائصها الكيميائية أمرا ضروريا ومهما ورغم التطور العلمي الحاصل في فصل وتعريف المركبات الكيميائية إلا أن عملية تحليل هذه المادة الطيارة تبقى عملية حساسة وتستلزم إستعمال عدة تقنيات وفق تسلسل مرحلي وتعتبر تقنية كروماتوغرافيا الطور الغازي CPG أو CG أول مرحلة تقنية مستعملة في تحليل الزيوت والتي طبقت لأول مرة سنة 1975م وهي الطريقة الأكثر مرجعية وشيوعا فهي تسمح أولا بفصل المركبات الزيتية ضمن المزيج وتقدير النسبة المئوية لكل مركب مع حساب مؤشر المكوث I.R (Longevialle، 1981 ؛ Constantin، 1996)

ولكي يتم التعرف النهائي على كل مركب يتم وصل هذا الجهاز الكروماتوغرافي بجهاز آخر يمثل جهاز طيف الكتلة SM أو طيف الأشعة تحت الحمراء I.R أين تتم عملية تعريف المركبات بمقارنة مؤشر المكوث للمركبات من جهة و بالإعتماد أيضا على المعطيات الطيفية للمركبات المفصولة من جهة أخرى مع الإستناد إلى المعلومات المرجعية لخصائص هذه المكونات. تعتبر هذه التقنية الأولى كافية عادة لتحليل الزيوت الأساسية فهي تمتاز بالسرعة و الكفاءة العالية.

- في مرحلة ثانية وفي حالة ما إذا كان الزيت معقد التركيب يتم تجزئة الزيت بإستعمال كروماتوغرافيا العمود ذو الدعامة السليسية أو الألمنيومية و الأجزاء المفصولة يتم تحليلها بعد ذلك بالطريقة الأولى المذكورة سابقا .
- في مرحلة ثالثة وعند وجود بعض المركبات غير المعروفة في المكتبة المعلوماتية يصبح من الضروري تنقيتها بالطرق الكروماتوغرافية الأولية مثل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

أو كروماتوغرافيا السائل أو كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC وأخيرا يتم استعمال الطرق الطيفية المعروفة لإستنتاج وتحديد بنية المركبات المجهولة ومن أهم الطرق الطيفية المستعملة طيف الرنين النووي المغناطيسي للهيدروجين  $RMN-H_1$  أو للكربون  $RMN-C_{13}$  (Constantin، 1996).

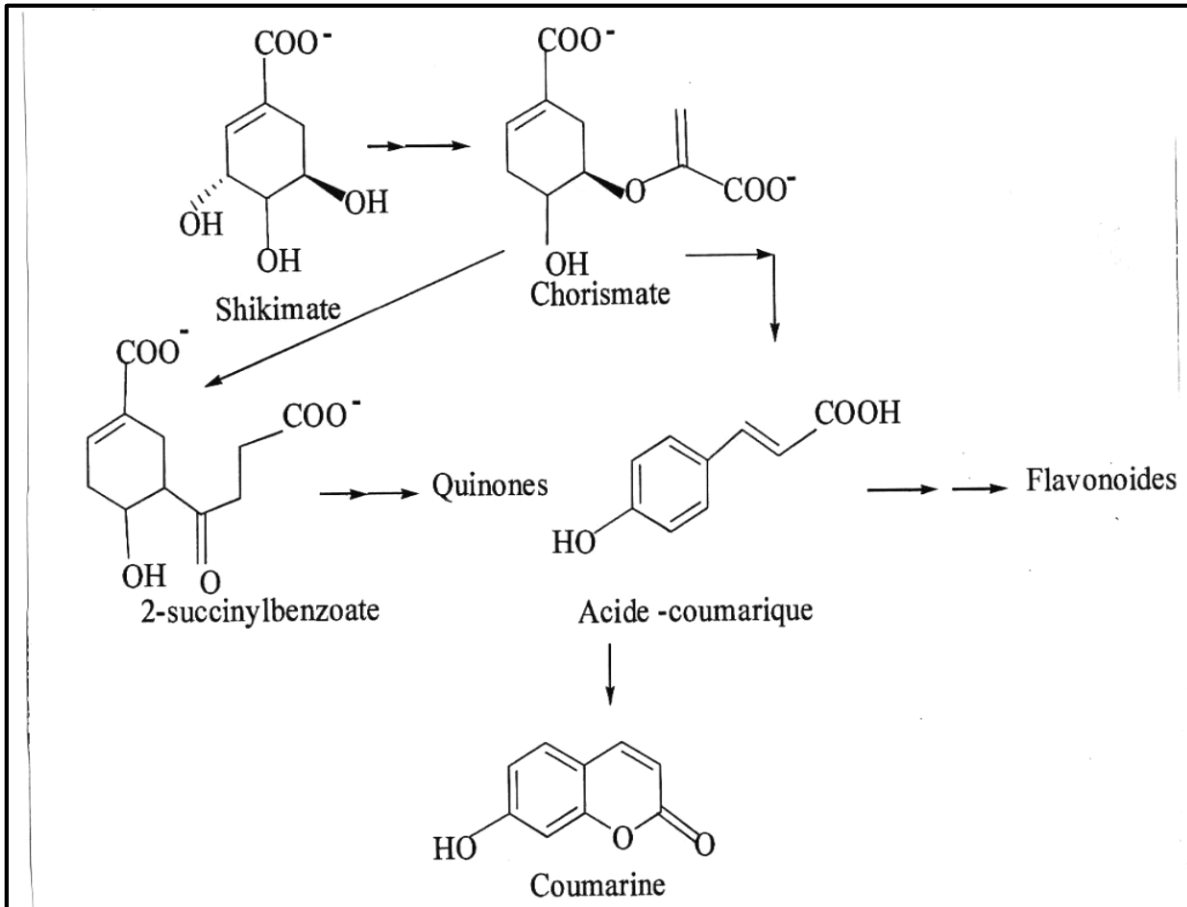
## II-10- العوامل المؤثرة في محتوى الزيوت الأساسية :

تتغير مكونات الزيت الأساسي للنبات من الناحية الكمية (مردودية الزيت) أو من الناحية النوعية من حيث عدد ونوع المركبات الزيتية وفقا لعدة عوامل داخلية من أهمها المرحلة الفينولوجية للنمو وكذلك تبعا للنوع النباتي، وخارجية من أهمها العوامل البيئية المناخية أو الترابية السائدة في تلك المنطقة الجغرافية، ظروف وطرق الإستخلاص والجنس (Bruneton، 1999).

### -III- المركبات الفينولية :

تشكل الفينولات مجموعة واسعة جدا ضمن منتجات الأيض الثانوي وهي عبارة عن مركبات عطرية تتكون من حلقة بنزين واحدة أو أكثر وحسب درجة استبدال هذه الحلقة أو التحامها تقسم المركبات الفينولية إلى فينولات بسيطة مثل الأحماض الفينولية والكومارينات وإلى متعددات الفينول مثل الفلافونويدات، التينينات واللجنين (Apak وآخرون، 2007).

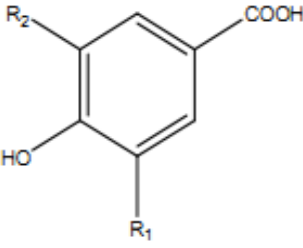
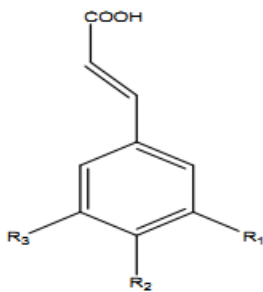
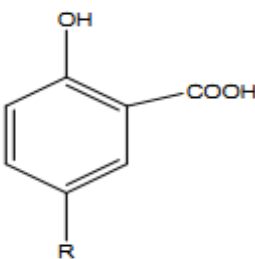
ويتم التخليق الحيوي للمركبات الفينولية من مسلكين أساسيين فالأول يتم عبر مسلك الشكيمات الذي يقود إلى تكوين حمض ، الكومارين ، الفلافونويدات، التينينات واللجنين.... أما المسلك الثاني فيتم إنطلاقا من أسيتات المألونات ويقود إلى تكوين الكرومون.



الشكل 7 : مخطط التخليق الحيوي للمركبات الفينولية (Bouheroum ، 2007).

وحسب نوع الجذور المستبدلة على حلقة البنزين تتعدد الأحماض الفينولية النباتية إلى أنواع كثيرة نلخص أشهرها في الجدول التالي :

**الجدول 6: أمثلة لأشهر الأحماض الفينولية.**

	$R_1 = R_2 = H$	Acide p- hydroxybenzoïque
	$R_1 = OH, R_2 = H$	Acide protocatéchine
	$R_1 = OCH_3, R_2 = H$	Acide vanillique
	$R_1 = R_2 = OH$	Acide gallique
	$R_1 = R_2 = OCH_3$	Acide syringique
	$R_1 = R_2 = R_3 = H$	Acide cinnamique
	$R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$	Acide p-coumarique
	$R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$	Acide caféique
	$R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H$	Acide férulique
	$R_1 = R_3 = OCH_3, R_2 = OH$	Acide sinapique
	$R = H$	Acide salicylique
	$R = OH$	Acide gentisique

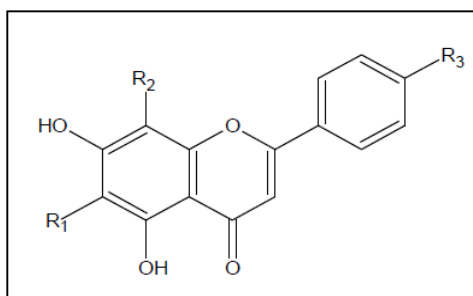
وتعتبر الكومارينات والفلافونويدات من أهم المنتجات الفينولية ضمن الأيض الثانوي لنباتات العائلة الخيمية لذا سنركز دراستنا على هذين النوعين من المواد الفعالة.

### III-1- الفلافونويدات :

#### III-1-2 - تعريفها:

تشكل الفلافونويدات قسما كبيرا من نواتج الأيض الثانوي وهي مركبات فينولية واسعة الإنتشار في النباتات وخاصة الراقية منها، تم تعريف إلى حد الآن أكثر من 9000 مركب فلافونويدي (Martens، 2005) تتوزع على جميع أجزاء النبات، لكنها تتواجد بنسبة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار والأوراق وبصورة حرة أو جليكوسيدية، اشتق اسمها من الكلمة اللاتينية Flavus وتعني الأصفر فهي المسؤولة عن وجود الألوان في الأزهار والفواكه وأحيانا الأوراق، ويتم التخليق الحيوي لها إنطلاقا من مسلك Acetate أو Shikimate (Bouheroum، 2007).

يتكون الهيكل العام لها من 15 ذرة كربون تنتظم بشكل حلقتين بنزينيتين A و B، يربط بينهما جسر من 3 ذرات كربون بشكل (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)، يكون الجسر عموما بشكل حلقة غير متجانسة أكسوجينية مشكلا الحلقة C (Havsteen، 2002).

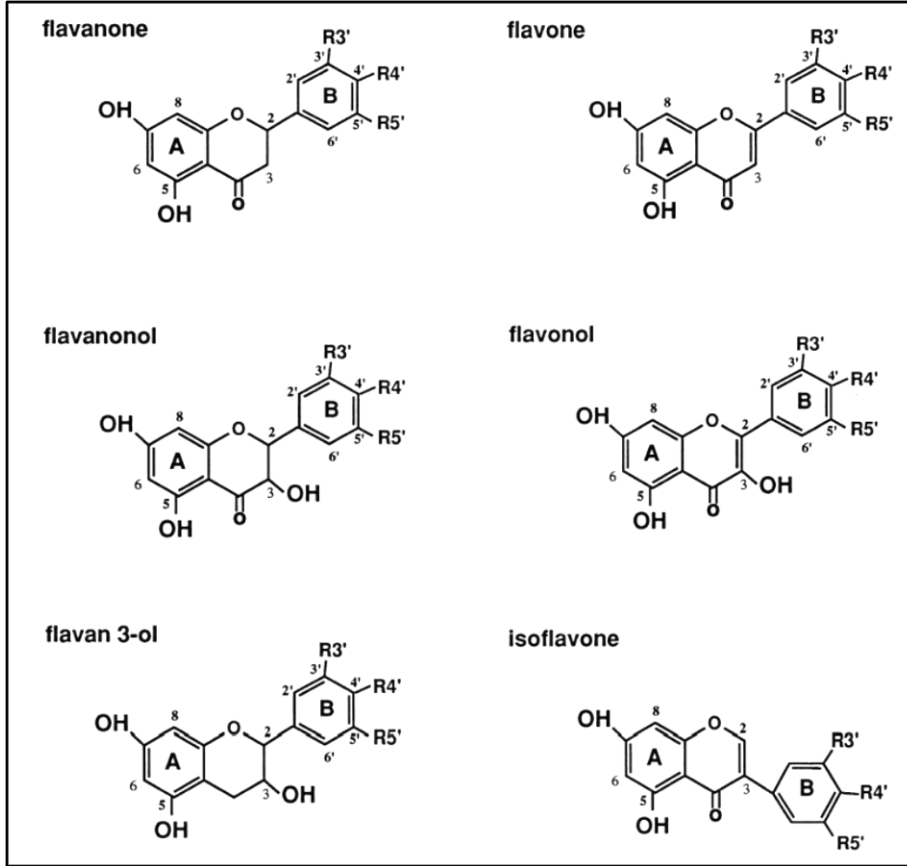


الشكل 8 : الهيكل العام للفلافونويدات .

### III-1-2- تقسيم الفلافونويدات :

على أساس التغير في درجة تأكسد الحلقة C تقسم الفلافونويدات إلى:

فلافانول، فلافون، إيزوفلافون، ديهيدروفلافونول، فلافونول، فلافان-3-أول، شالكون، أورون وأنثوسيانين (Gebhardt وآخرون، 2005).



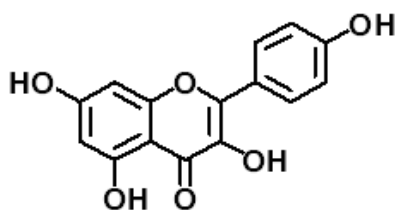
الشكل 9 : الهيكل العام لأهم أقسام الفلافونويدات.

### III-1-3- المنتجات الفلافونويدية في العائلة الخيمية :

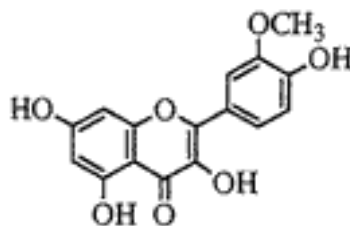
تُعرف نباتات العائلة الخيمية بتواجد المركبات الفلافونويدية في مجموعها الهوائي وبدرجة أقل في مجموعها الجذري ، خاصة من نوع Flavones و Flavonoles ولقد تم تحديد مختلف أنواع الفلافونويدات الموجودة في عدة نباتات تابعة للعائلة الخيمية من بينها; الشبث *Anethum graveolens* L. والكرفس *Apium graveolens* L. والجزر البري - *Daucus*

*carota L.* وقد كانت نتائج هؤلاء الباحثين إحتواء هذه النباتات الطبية على الفلافونويدات بنسب مختلفة كما تبين أن تحت العائلة Apioideae هي الأكثر غنى وتنوعا من حيث تواجد المركبات الفلافونويدية (Flavones، Flavonoles، Anthocyanidine) مقارنة بتحت العائلتين الأخرتين.

- من أمثلة المركبات التابعة لمجموعة Flavone نذكر مركب Apigenin، Luteolin و Chrysoeriol، ومن أمثلة الفلافونويدات التابعة لمجموعة Flavonole نذكر مركب Kampferol، Quercetin و Isorhamnetin وعن مجموعة Anthocyanidine نذكر مركب Cyanidine .  
- تتواجد هذه المركبات أحيانا بصورة حرة ولكن غالبا ما تتواجد بصورة إتروزيدية أي مرتبطة بوحدات سكرية ومنحلة في الماء ومخزنة في الفجوات الخلوية أو في السيتوبلازم (Gebhardt وآخرون، 2005)



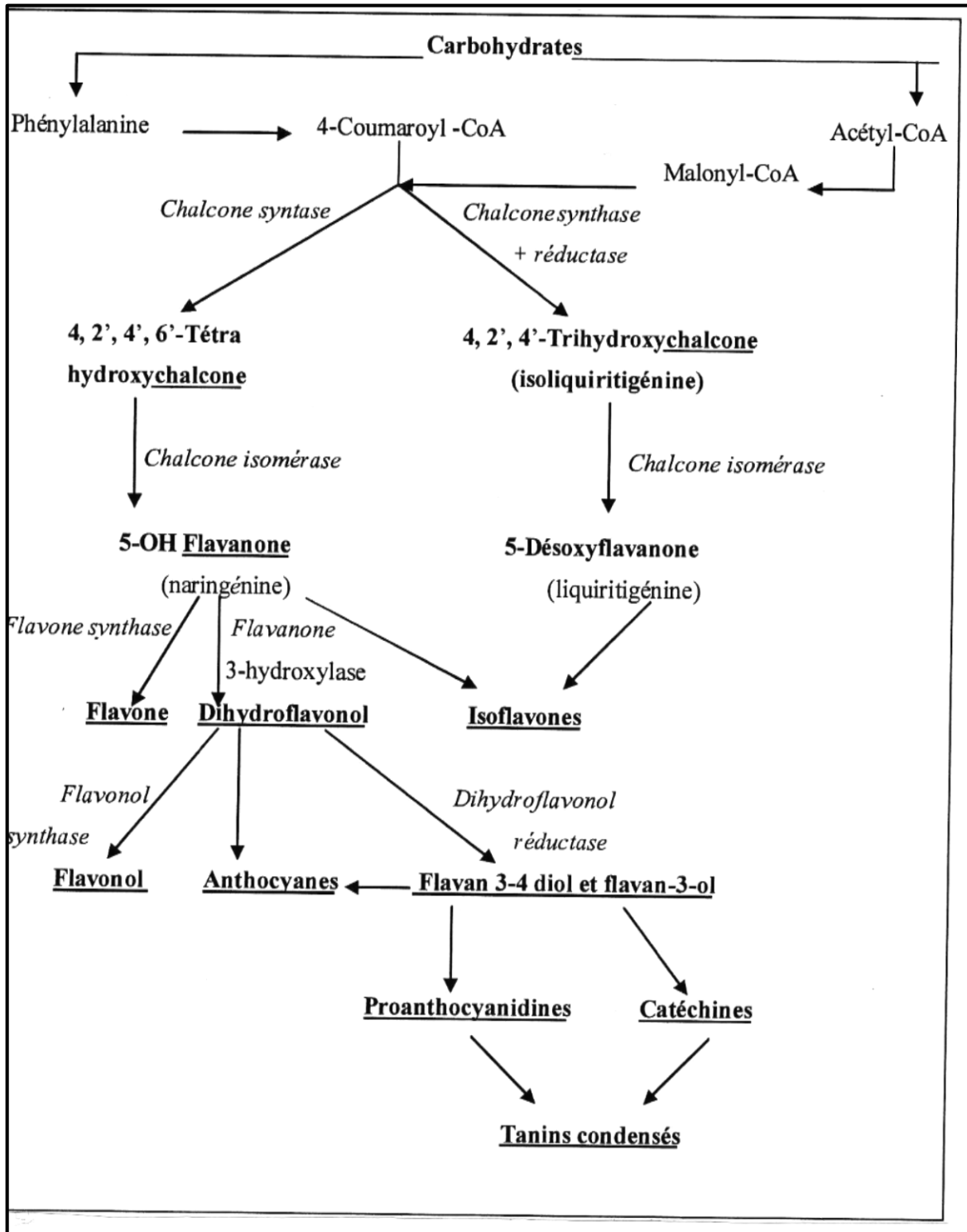
Kampferol



Isorhamnetin

### III-1-4- التخليق الحيوي للفلافونويدات :

تنشأ الحلقات الثلاث للمركب الفلافونويدي من أيض الكربوهيدرات (الغلوكوز) فالحلقة A تتكون عبر مسلك المألونات من إلتحام 3 جزيئات من Malonyl-CoA وكل جزيئة من هذه الأخيرة هي ناتجة بدورها من تكاثف جزيئتين من Acetyl-CoA.  
أما الحلقة B و C فينتجان من مسلك الشيكيمات انطلاقا من الحمض الأميني Phénylalanine الذي يتحول إلى *p*-Coumaroyl-CoA كما يوضحه الشكل (Banahmed وآخرون، 2009) .



الشكل 10 : مخطط التصنيع الحيوي للفلافونويدات (Bouheroum ، 2007).

- تخضع نوعية الفلافونويدات الناتجة لتأثير العوامل البيئية ولنوع الأنزيمات الموافقة لهذه الأيوض، حيث تشترك في تصنيع هذه المركبات الأيضية حيويًا ثلاث أنزيمات أساسية وهي : FLS : Flavonol synthase ، FHT: Flavanone 3 $\beta$ -hydroxylase ، و FNS: flavone synthase (Havsteen ، 2002).

لقد تم التأكد من تواجد هذه المركبات في مختلف أنسجة النبات من جذور، أوراق، أزهار وثمار وأن أغلب هذه الفلافونويدات تكون في صورتها الغلوكوسيدية ومخزنة في الفجوة العصارية (Gebhardt وآخرون، 2005).

### III-1-5- أهمية الفلافونويدات للنبات :

للفلافونويدات وظائف عديدة في النبات من أهمها :  
- مسؤولة على تلوين مختلف أجزاء النبات.

- نظرا لقدرتها على امتصاص الأشعة فوق بنفسجية فهي تحمي النبات من هذه الأشعة الخارجية، كما تعمل على جذب الحشرات فتضمن حدوث الإلقاح واستمرار النوع .

- الدفاع عن النبات ضد القوارض والحشرات وضد أي هجوم بكتيري أو فطري.

- يعتبر الكثير منها منظمات النمو للنبات فهي تؤثر على الهرمونات النباتية فمثلا يعمل

Kaempferol على تنشيط أنزيم الأكسين أو أكسيداز والقليل منها كمتبطات مثل Quercitol الذي يعمل على تثبيط الأنزيم سابق الذكر (Guinard ، 2000).

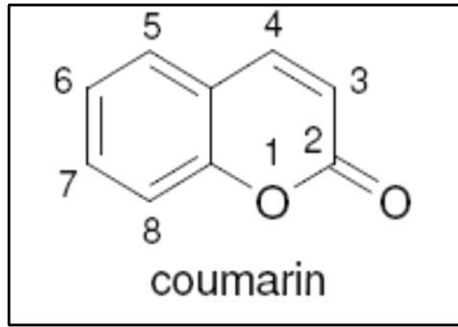
### III-1-6- الأهمية الطبية للفلافونويدات :

لقيات الفلافونويدات إهتماما كبيرا لما تمتاز به في مجال الصحة العامة من خصائص طبية إذ تعد من أهم المواد المرجعة ذات الفعالية المضادة للأكسدة Antioxidant فهي تعمل على مسك الجذور الحرة المحتوية فتثبط نشاطها وبالتالي تحمي الليبيدات الغشائية، كما تعتبر مضادات للهستامين المسبب لمرض الحساسية Antihistaminic ومضادة للالتهاب، وضد إنتشار السرطان Anticarcinogenic و لها فعالية وقائية ضد سرطان الثدي، البروستات والقولون (Gebhardt وآخرون، 2005 ؛ Pourmorad وآخرون، 2006).

### III-2- الكومارينات :

#### III-2-1- تعريفها:

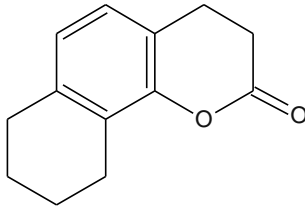
تعتبر الكومارينات المنتج الفينولي المميز جدا لأيض العائلة الخيمية والكومارين هو عبارة عن 5,6 Benzo-  $\alpha$ -pyron أو هي بالتقريب لاكتون حمض 2- هيدروكسي سيناميك (حمض الكوماريك) . و يعتبر الكومارين البسيط Coumarin الموجود في الطبيعة المركب الأم للعديد من الكومارينات وذلك بإستبدال موضع أو أكثر من المواضع غير المستبدلة من 3 إلى 8 في نواة الكومارين (Murray وآخرون، 1982).



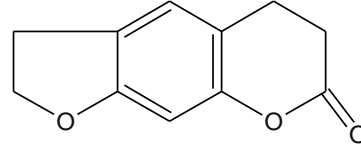
الشكل 11 : الهيكل العام للكومارينات

#### III-2-2- السمات البنيوية للكومارينات :

يمثل مركب 7-Hydroxycoumarin أو Umbelliferone المركب الأم لمعظم الكومارينات التي تم فصلها من النباتات الطبيعية. إن أغلب الكومارينات في الطبيعة فإن بنائها يتميز بوجود حلقة إضافية إلى حلقتي نواة الكومارين، هذه الحلقة إما أن تكون خماسية وهي حلقة فيوران Furane ويطلق عندئذ على الكومارينات من هذا النوع فيورانوكومارين Furanocoumarins وإما أن تكون حلقة سداسية وهي حلقة بيران Pyrane وتسمى هذه الكومارينات بيرانوكومارين Pyranocoumarins، هذا وقد تكون كل من حلقة فيوران وبيران مختزلة في هذه الكومارينات



نموذج Furanocoumarins



نموذج Pyranocoumarins

### III-2-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للكومارينات :

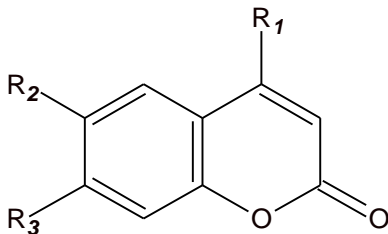
الكومارينات مواد صلبة متبلورة غير ملونة، تتميز برائحة عطرية مميزة، تنحل في الكحولات والمذيبات العضوية مثل الإيثر والكلوروفورم أين يمكن استخلاصها أما غلوكوسيداتنا فهي قابلة أيضا للذوبان في الماء، إستخلاصها وفصلها يتم بوضعها في المحاليل الكحولية ومن ثم يفصل خليط الخلاصة بإستخدام طرق الفصل اللوني (Murray وآخرون، 1982).

### III-2-4- تقسيم الكومارينات :

تقسم الكومارينات حسب Murray وآخرون (1982) إلى :

### III-2-4-1 - كومارينات بسيطة :

وتشمل المشتقات الهيدروكسيلية مثل Esculetin و Umbelliférone، والميتوكسيدية مثل Herniarin أو مثل Scopoletin، الألكيلية مثل Osthenol لجزيء الكومارين الأصلي.  
**الجدول 07 :** بنية بعض المركبات الكومارينية البسيطة والمستبدلة.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Esculetin	H	OH	OH
Herniarine	H	H	OCH <sub>3</sub>
Methylumbelliférone	CH <sub>3</sub>	H	OH
Scopolétine	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Umbelliférone	H	H	OH

### III-2-4-2- الفيرانوكومارينات :

وتتألف من إندماج حلقة الفيوران مع الكومارين في الموقع 7 وتضم هذه الفئة نموذجين أساسيين يدعى الأول بالنموذج الخطي أو البسوراليني، ويدعى الثاني بالنموذج الزاوي أو الإنجليسيني ويصادف في ثنائي هيدرو النموذجين السابقين وعادة سلاسل جانبية مثل المارمسين والكولومياندين وتعتبر هذه الكومارينات من حيث القيمة الطبية ذات نوعية عالية (Nakanichi، 1975 ؛ Kaminski وآخرون، 2003).

### III-3-4-2- البيرانوكومارينات :

تتكون هذه الفئة من مساهمة ذرة أكسجين في الموقع 7 للكومارين في تشكيل حلقة سداسية Pyrane منتجة شكلا خطيا مثل Xanthyletin، أو شكلا زاويا مثل Seselin (O'kenndy et Thornes، 1997).

### III-5-2- تواجد، تراكم وتوزع الكومارينات :

تنتشر الكومارينات في المملكة النباتية بصورة عامة، لكنها تغزر في فصائل نباتية من ثنائية الفلقة Dicotyledonae وخاصة العائلة الخيمية Apiaceae والسديبية Rutaceae، بالإضافة إلى عدد آخر من العائلات وبعض فصائل أحادية الفلقة مثل الفصيلة النجيلية Gramineae والأراشيدية Arachideae ونشير إلى أن الكومارينات يمكن أن توجد في أي جزء من النبات بما فيها الأزهار، الثمار والجذور والجدوع وحتى اللحاء و الإفرازات الراتنجية وزيت بذور النبات (Guinard، 2000).

### III-6-2- التخليق الحيوي للكومارينات:

يعتبر الحمض الأميني العطري Phenyl alanine المركب البادئ في تخليق الكومارينات، إذ يتدخل Phényl amonialyase (PAL) يتم نزع مجموعة الأمين  $\text{NH}_2$  Desamination فيؤدي

ذلك إلى تكوين حمض Cinamate وفق مسلك الشيكيمات Shikimates الذي يعتبر أحد المسالك الأساسية لتخليق المركبات العطرية الفينولية.

- يتحول حمض Cinamate إلى Hydroxycinamate (حمض الكوماريك).  
يتأسر حمض الكوماريك بارتباطه بجزيئة جلوكوز (Glc).

يؤدي تحلق Cyclisation مركب حمض الكوماريك إلى تكوين الكومارين، ويتم ذلك بغلق الحلقة برابطة أكسوجينية أنزيميا بعد خروج جزيئه الغلوكوز ليتم أخيرا تكوين مركب الكومارين، وباستبدال أحد المواقع غير المستبدلة من 3 إلى 8 في نواة الكومارين تنتج مشتقات كومارينية مختلفة (Richter، 1993).

### III-2-7- دور الكومارينات في النبات :

تتميز الكومارينات بدور دفاعي تجاه بعض الكائنات مثل بعض الحشرات واللافقاريات الأرضية، لا سيما دورها في تثبيط نمو بعض أنواع الفطريات على الأوراق والثمار أين يتم تراكمها، كما تساهم الكومارينات في بعض الأنشطة الأيضية كتنظيم النمو، كما تشتهر الفيورانوكومارينات بكونها مثبتة للنمو القمي للجذر كما أن إفرازها على سطح البذور يؤخر إنتاشها (Garcia وآخرون، 2002).

### III-2-8- الفعالية البيولوجية للكومارينات :

تبدي الكومارينات فعالية إستطبابية و فيزيولوجية جد عالية ضد بعض الكائنات الممرضة أو علاج أمراض معينة فهي :

مضادة للبكتيريا، الفطريات والفيروسات، حيث درس تأثيرها على نمو وتطور الجراثيم والخمائر وعلى التحولات الإستقلابية فيها فدللت النتائج أنها مؤثرة كلها ولها فعل انتقائي على العضيات المجهرية (Staniszewska وآخرون، 2003) وهي أيضا مضادة للملاريا والسرطان والإلتهابات (Creaven وآخرون، 2006).

- تثبيط تخثر الدم.

- في علاج أعراض بعض الأمراض العصبية مثل البر كينسون (Parkinson) (Staniszewska وآخرون، 2003) ولعلاج مضاعفات تصلب الأنسجة (Sclerosis) (Sidwa وآخرون، 2003).

- تتصف الكومارينات بميزة مشتركة وهامة وهي تحسسها للضوء لذلك تستعمل بشكل عام في العلاجات الجلدية واستنتج أن فعالية الفيروكومارينات أقوى من بقية الكومارينات في علاج مرض البهاق والبرص والصدفية ويزيد من فعالية الجلد للتحسس الضوئي ، إذ تتميز بعض الكومارينات الهيدروكسيلية بالقدرة على إمتصاص الأشعة فوق بنفسجية وهذا ما يجعلها متداولة في الاستطببات الجلدية مثل مركب Psoralen الفعال ضد مرض الصدفية Psoriasis ومثل مركب Xantotoxine الفعال ضد البهاق (Bethea، 1999). كما تعتبر الكومارينات موسعة للأوعية التاجية القلبية ممثلا في مركب Visnadine و ضد تراكم السوائل في الأنسجة (Creaven وآخرون، 2006) كما تستعمل كمقوية للأوردة وحامية للأوعية الدموية و ضد التشنجات المعوية، والعجز الوظيفي للأوعية اللمفاوية، كما تمتاز بعض الكومارينات بالخاصية المضادة للسرطان ( Peterson وآخرون، 2006).

### III-3- طرق الفصل الكروماتوغرافي للمركبات الفينولية :

هناك عدة طرق تحليلية تستعمل من أجل فصل المركبات الفينولية وتتمثل في :

- الفصل بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

- الفصل بكروماتوغرافيا الورق CP

- الفصل بكروماتوغرافيا العمود CC

- الفصل بكروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC

- الفصل بكروماتوغرافيا السائل موصولة بمطيافية الكتلة LC-MS

### III-4- التينيات :

مركبات متعددة الفينول، متعددة الهيدروكسيل، لا تحتوي على الأزوت، تذوب في الماء والكحولات والأستون وقليلة الذوبان في الإيثير، ذات تأثير قابض نتيجة اتحادها مع بروتينات اللسان، فهي تستعمل لهذا الغرض في دباغة الجلود فتجعلها مقاومة للتعفن ولا تسمح بالنفاذية لذا تسمى بالدباغيات أو العفصيات بالإضافة إلى استعمال التينيات في مجالات علاجية متعددة خاصة منها المتعلقة بالجهاز الهضمي والأمراض الجلدية. توجد التينيات بكميات كبيرة في النباتات ويقترن وجودها على وجه الخصوص في الأنسجة ذات المظهر الخشن، وغالبا تكون موجودة أو مركزة في خلايا خاصة، مُبعثرة في نسيج البرنشم، وهي تُجمع على شكل حبيبات داخل السيتوبلازم أو مدمصة داخل الأغشية بحيث أن التينيات نادرا ما تكون حرة داخل الخلايا. تتوزع التينيات في عوائل نباتية معروفة منها : السنوبرية Confièreae، الشفوية Lamiaceae، البقولية Fabaceae، الآسية Myrtaceae، الوردية Rosaceae و الروبية Rubiaceae. تتوزع داخل النبات الواحد في الجذور، القشور، الريزومات، السوق، الأوراق، الأزهار، الثمار والبذور (Bruneton، 1999).

### III-4-1- تقسيم التينيات :

#### ■ التينيات القابلة للتحلل بالماء Tanins hydrolysables

هي عبارة عن قليلة أو متعددة الأستر فيها سكر و عدد متغير من الحمض الفينولي، السكر في الغالب هو الجلوكوز أما الحمض الفينولي فيكون إما حمض القاليك gallique في حالة تينيات جليك Tanins galliques وإما حمض HHDP (l'acide hexahydroxydiphénique) و مشتقاته في حالة تينيات جليك Tanins galliques الغير نقية (Bruneton، 1999).

#### ■ التينيات المكثفة : Tanins condensés

هي عبارة عن مكثف الفلافانيك flavanique الذي يتركب من وحدات flavan-3- ol (Bruneton، 1999).

#### IV- الفعالية البيولوجية :

حظيت النباتات الطبية في الفترة الأخيرة بمكانة هامة في الإنتاج الزراعي والصناعي عند كثير من الدول المنتجة لها باعتبارها المصدر الأساسي للعقاقير والأدوية، إذ تنتج هذه النباتات ضمن أيوضها الثانوية مواد كيميائية فعالة حيويًا، وتمتاز بتأثيرات بيولوجية وإستطبابية عالية ضد كثير من الحالات المرضية من بينها حالة الإجهاد التأكسدي.

#### IV-1- الإجهاد التأكسدي :

تحتاج ظاهرة التنفس الخلوي إلى غاز الأوكسوجين ( $O_2$ ) أين يتم أكسدة المادة الأيضية السكرية داخل عضية الميتوكوندري إلى طاقة كيميائية على شكل ATP والتي تعتبر ضرورية لكافة أنشطة الخلية، غير أن عمل الميتوكوندري ليس دوماً مثالياً لأن هناك نسبة ضئيلة من هذا الغاز تتحول إلى ما يسمى بالأنواع الأوكسوجينية النشطة reactive oxygene species (ROS). في الحالات العادية يكون إنتاج هذه الأخيرة ROS تحت رقابة خلوية بتدخل أنظمة الجسم الطبيعية المضادة للأكسدة، وعندما تعجز هذه الأنظمة عن تعديل نشاط هذه الأنواع الجذرية يحدث ما يسمى بالإجهاد التأكسدي الذي يكون السبب في تقادم العديد من الحالات المرضية. فالإجهاد التأكسدي عبارة عن خلل في التوازن بين النظام الدفاعي المضاد للأكسدة و إنتاج الجذور الحرة الأوكسجينية (Gutman، 2001).

من أهم نتائج الإجهاد التأكسدي في الجسم حدوث تلف لبروتينات و دهون الخلية في البداية وبمرور الزمن للحامض النووي الريبى المنقوص الأوكسجين ADN، فتتعطل وظائف الأنسجة المختلفة ( النسيج العصبي، الأوعية الدموية، الغدد ...) مؤدية في الأخير إلى أمراض خطيرة متعددة ومميتة.

#### IV-1-1- الجذور الحرة:

هي عبارة عن جزيئات أو ذرات تتولد داخل الجسم بشكل أعزب للإلكترونات وهي عموماً مشتقات لذرة الأوكسوجين مثل  $O_2^-$  (superoxide anion radical) و  $OH^\cdot$  (hydroxyl radical)

أو مشتقات لذرة النتروجين، أو مركبات أكسوجينية نشطة مثل ثاني أكسيد الهيدروجين  $H_2O_2$  أو ثاني أكسيد الآزوت  $ONOOH$  (Favier، 2003).

وللجذور الحرة مصدران أما الأول فهو خارجي حيث يمكن لها أن تتكون نتيجة عوامل بيئية كالتلوث والإشعاعات وتناول الأطعمة الملوثة بالمواد الكيميائية والأطعمة الحافظة الملونة وإستنشاق مواد التنظيف الكيميائية أو المبيدات الحشرية أو التعرض للتلوث بالزئبق في الأسماك الملوثة أو حشوات الأسنان المعدنية أو الرصاص في الدهانات والألمنيوم والبلاستيك و الثاني عبارة عن مصدر خلوي فيمكن للجذور الحرة أن تنتج تحت تأثير عامل فيزيائي مثل الأشعة أو تفاعلات كيميائية خاصة إنزيمية حيث أن كل تفاعل يدخل فيه الأكسجين و يكون هناك نظام مرجع قادر على نقل الإلكترونات يمكن أن يحرر جذور حرة.

وتسعى الجزيئات الحرة لإكمال ما ينقصها من الكترولونات بهجومها على مركبات تمتلك كمّاً من الالكترولونات ضمن ذراتها ( الجذر الحر هو جسم مؤكسد لأنه يكتسب إلكترونات). هذه الجزيئات تجول داخل الجسم وحالما ترى مركباً يعيد لها الاستقرار يمنحها الالكترولونات ترتبط به وتغير بنيته الجزيئية وهذه المهاجمة تؤدي لمشاكل صحية خطيرة خاصة في حالة الهجوم على ليبيدات أغشية العصبونات وليبيدات الأغشية الخلوية حيث تعمل على أكسدتها (Pourmourad وآخرون، 2006).

إن أكسدة هذه المركبات تسهل وصول الجذور الحرة إلى داخل الخلايا لتهاجم مركبات أخرى ذات أدوار بنائية وظيفية هامة كالبروتينات والإنزيمات وبالتالي قد يؤدي ذلك لخلل وظيفي معين ويعتبر أخطر ما تقوم به الجذور الحرة هو الارتباط بالحموض النووية إذ أن هذا الارتباط يسبب تخرب في البنية قد يكون قطعاً لسلاسل النكليوتيدات وتغير بنية ADN أو ARN والتي تؤدي بعد ذلك إلى ظهور ترجمة خاطئة وحدوث سرطانات وتوليد طفرات (Neffati وآخرون، 2009).

#### IV-1-2- مضادات الأكسدة :

يتميز الجسم بنظام دفاعي ضد الإنتاج المفرط للجذور الحرة الأوكسجينية و الأنواع النيتروجينية النشطة، حيث يمكن تمييز نظامين إحداهما إنزيمي و الآخر لا إنزيمي :

■ **النظام الإنزيمي :** يتكون من عدة إنزيمات لها قدرة القضاء على الجذور الحرة و عدة أنواع أوكسجينية أخرى مثل أنزيمات القلوتاثيون بروكسيد Glutathione peroxidase و catalase و superoxide dismutase .

■ **النظام غير الإنزيمي :** حيث تعتبر الأغذية خاصة النباتية منها مصادر طبيعية مهمة لمضادات الأكسدة و هي إما معدنية مثل السيلينيوم و الزنك أو فيتامينية مثل الفيتامين C و E أو متعددة الفينولات مثل الفلافونويدات .

لقد زاد الإهتمام كثيرا في الفترة الأخيرة بالأغذية ذات المصادر النباتية المحتوية على المركبات الفينولية والتي تمتاز بالخاصية البيولوجية المضادة للأكسدة وعلى رأسها الفلافونويدات والكومارينات فهذه الأخيرة لها القابلية الطبيعية للأكسدة من قبل الجذور الحرة إلى جانب مواد فينولية أخرى كالأحماض الفينولية ، الكاروتينويدات ، التينينات.....

تمتاز الفلافونويدات بقدرة إقتناص الجذور الأوكسجينية النشطة لكل من  $OH^*$  و  $O_2^*$  وذلك بإعطائها ذرة هيدروجين أو إلكترون، فالنشاط المضاد للأكسدة يعتمد على مجاميع الهيدروكسيل في الحلقة الفينولية A, B أو C والتي لها القدرة على إعطاء الإلكترون للجذر الحر وبالتالي فهي تحمي الليوبروتينات وتثبط عملية فوق الأكسدة الليبيدية.

إذن فمضادات الأكسدة Antioxidants هي المركبات التي ترتبط بالجذور الحرة وتعمل على تقويضها و أسرها فتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم وتحمي أعضاء الجسم من الأكسدة، وتلعب المركبات الفينولية الموجودة في الأغذية النباتية دورا كبيرا في ذلك لما لها من قابلية كبيرة على الارتباط بها والتفاعل معها (Markowicz Bastos وآخرون، 2007).

#### IV-2- مرض الزهايمر Alzheimer :

الزهايمر من أكثر الأمراض شيوعاً وإثارة للقلق مع تقدم الناس في السن وهو داء يصيب المخ ويتطور ليفقد الإنسان ذاكرته وقدرته علي التركيز والتعلم وقد يتطور ليحدث تغييرات في شخصية المريض فيصبح أكثر عصبية أو قد يصاب بالهلوسة أو بحالات من الجنون المؤقت (Rinne وآخرون، 1988).

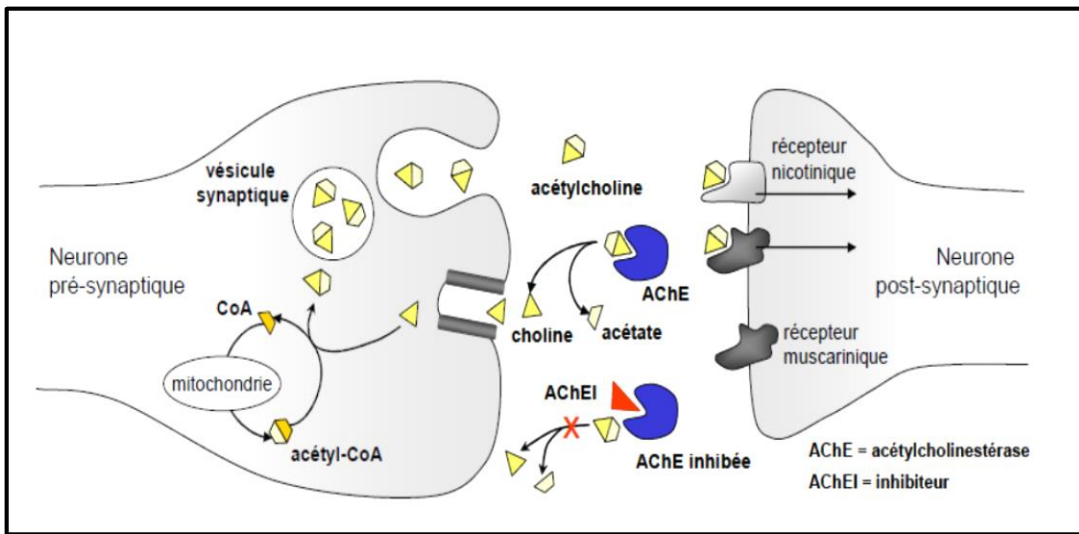
ولا يوجد حتى الآن علاج لهذا المرض الخطير إلا أن الأبحاث في هذا المجال تتقدم من عام لآخر لإقتراح أدوية جديدة أو تحسين فعالية الأدوية المتاحة خاصة فيما يتعلق بالنقص الموجود في إنتاج وإفراز الوسيط الكيميائي (الأسيتيل كولين) في مستوى أنسجتهم العصبية المخية والداء مسمى على اسم العالم الألماني Aloysius Alzheimer الذي وصفه ويُكتشف المرض بوجود لويحات plaques حول وداخل خلايا المخ كما تتكون كتل داخل الخلايا العصبية فيتقلص المخ ويفقد مظهره المتجدد (Rinne وآخرون، 1988).

#### IV-2-1- مضادات الأسيتيل كولين أستيراز:

الأسيتيل كولين عبارة عن مادة كيميائية تفرز في مستوى المشابك Synapsis من قبل الغشاء قبل مشبكي للخلية العصبية فتتحرر هذه المادة في مستوى الشق أو الفراغ المشبكي لتتثبت أخيراً على مستقبلات غشائية نوعية موجودة على الغشاء بعد المشبكي للعصبون الموالي فتؤدي إلى توليد سيالة عصبية كهربائية منبهة وبعد مدة زمنية يحتاج الجسم لتوقيف هذه الرسالة فيتدخل طبيعياً أنزيم Acetyl cholinesterase (AChE) وذلك بتفكيك هذه المادة إلى مركبي الأسيتات والكولين اللذان يعاد إمتصاصهما من طرف العصبون أو في مستوى اللوحة المحركة بالعضلات ، وإعادة تركيبهما وإفراز هذه المادة الكيميائية من جديد لتكوين سيالة عصبية جديدة.

كما يوجد في الجهاز العصبي المركزي أنزيم آخر مشابه للأنزيم السابق يسمى Butyrylcholinesterase (BChE) يساهم في تنظيم مستوى مادة الأستيل كولين في هذا الجهاز ويعرف تواجده أيضا في خلايا الكبد والأنسجة ذات الصلة بها.

إذن فالأستيل كولين هو وسيط كيميائي ينقل السيالة العصبية في المشابك العصبية بشكل كيميائي بسبب وجود الفراغ المشبك وليس بشكل كهربائي كما هو حاصل على سطح الأعصاب وأليافها (Rinne وآخرون، 1988).



**الشكل 12 :** كيفية عمل الأستيل كولين وأنزيم AChE في المشبك العصبي.

في الجانب الطبي تستعمل صيدلانيا كثير من الأدوية لتثبيط عمل أنزيم AChE من أجل معالجة أعراض مرض الزهايمر Alzheimer الذي يصيب فئة كبيرة من المتقدمين في السن ( فقدان الذاكرة) والذين يعانون فيزيولوجيا من نقص كبير في إنتاج وإفراز هذا الوسيط الكيميائي (الأستيل كولين) في مستوى أنسجتهم العصبية المخية ومن بين أهم هذه الأدوية Galanthamine والذي تسمى بأسماء تجارية عديدة أشهرها Réminyl (Cummings وآخرون، 1998 ؛ Perry وآخرون، 1977).

من أجل ذلك دأب كثير من الباحثين للكشف عن مثبطات جديدة لأنزيم AChE وباستعمال عدة طرق تمكنهم من قياس نسبة التثبيط للأنزيم AChE وهي تعتمد في معظمها أساسا على القياس اللوني Colorimétrique من أشهرها طريقة Ellman وطريقة Fast Blue B.

لقد بين كثير من الباحثين في الفترة الأخيرة من بينهم Dincel ومساعدوه (2014) أن المركبات الكومارينية المستخلصة من النبتة الطبية *Heracleum platyenum* (Apiaceae) لها فعالية مضادة لأنزيم Choline esterase لكنها ليست كلها فعالة ، حيث وجد أن بعض المركبات ضعيفة الفعالية عندما تكون مفصولة لوحدها.

مثلا إختبر الباحث Aazza ومساعدوه (2011) فعالية عدة زيوت أساسية وذات أهمية غذائية وإستهلاكية (بعضها من العائلة الخيمية) وكذا لمركباتها الكيميائية الأساسية المفصولة فوجد أنها فعالة لكنها تتفاوت فيما بينها في شدة الفعالية المضادة لأنزيم Choline esterase.

#### 3-IV- الفعالية المضادة للبكتيريا :

لقد اختصت كثير من الأبحاث بدراسة الكائنات الحية وحيدة الخلية المعروفة بالبكتيريا والتي تصنف ضمن مجموعة Procaryotes والتميزة بقدرتها وتنوعها على التسبب في الأمراض سواء البشرية منها أو غير البشرية، حيث يقوم الباحثون بتتميتها مخبريا تحت ظروف متنوعة من درجة الحرارة والحموضة ثم تجريبها واستنتاج نوع المادة الفعالة التي تثبطها نسبيا أو تقتلها كلية، إلى جانب ذلك تحديد تركيبها الكيميائي والكيميوحيوي والتعرف على المستضدات والسموم وردود الفعل التي تنتجها في أنسجة العائل، واستعمال هذه الأحياء كعوامل تصنيع مواد فعالة لمكافحة المرض ومنع حدوثه كوننا لا نستطيع استئصال هذه الكائنات من بيئتها بل تفادي الإصابة بها والتحسين من طرق التحكم فيها.

وضمن هدفنا العام والمتعلق بدراسة الفعالية البيولوجية لنباتات العائلة الخيمية المذكورة سابقا أردنا أن نختبر الفعالية المضادة للبكتيريا لهذه النباتات : لزيوتها الأساسية من جهة ولمركباتها الفينولية من جهة أخرى ، ومقارنة مدى فعالية هذين المادتين البيوحيويتين وقد تم إختيارنا

لسلالات بكتيرية متنوعة موجبة وسالبة الغرام باعتبارها مسؤولة عن عدد كبير من الأمراض التي تصيب الإنسان .

#### IV-3-1- خصائص ومميزات السلالات البكتيرية المدروسة :

##### -■- *Escherichia coli* :

و تمثل أكبر قسم من الكائنات الدقيقة تنتمي بكتيريا هذا النوع إلى عائلة *Enterobacteriaceae* والتي تعيش في الأنبوب الهضمي لكنها ممرضة للجهاز البولي تتميز بأنها عصوية متحركة بأسواط جسمية سالبة الغرام، تعتبر أيضا واحدة من أهم أسباب الإسهال الحاد في العالم و هي تحدث عدد كبير من القتلى في الدول النامية وهذا راجع لإنتاجها سموم داخلية entérotoxine طولها 6 ميكروميتر و عرضها من 0.3 إلى 1 ميكروميتر، تنمو بسرعة في أوساط مثالية بعد 24 ساعة من الحضانة في درجة حرارة 37 م° (Berche وآخرون، 1989؛ Avril وآخرون، 1992).

##### -■- *Klebsiella pneumonia* :

تنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae* و هي عبارة عن عصويات سالبة الغرام غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة، قطرها من 3 إلى 4 مم ، تؤدي غالبا إلى إلتهابات في المجاري والجهاز التنفسي بأشكال متعددة و إلى إلتهابات المسالك البولية بنسبة قليلة. تعتبر من بين البكتيريا البيئية حيث تتواجد في الماء، تربة، هواء، كما يمكن أن تتواجد في براز الإنسان بشكل طبيعي و قد تتواجد أيضا في الجهاز الهضمي و الجهاز التنفسي (Ferron، 1979؛ Berche وآخرون، 1989).

##### -■- *Staphylococcus aureus* :

تنتمي إلى عائلة *Micrococcaceae* وإلى جنس *Staphylococcus* المنقسم إلى شطرين *Staphylos* بمعنى عنقود عنب و *Kokkos* بمعنى حبوب متجمعة على شكل كومة غير منتظمة ، يعتبر النوع *S. aureus* أكثر الأنواع إمراضا في هذا الجنس وخطورة على الإنسان (Avril وآخرون، 1992).

## I - الدراسة الفيتوكيميائية :

لقد شملت الدراسة البحثية 5 نباتات أختبرت من الفصيلة الخيمية بعضها لم يسبق دراستها فيتوكيميائيا من قبل والأخرى تعرضت لدراسات قليلة في الجزائر أو عبر العالم ونلخص قائمة النباتات التي قمنا بدراستها كما يلي :

*Daucus sahariensis* Murb.

*Daucus reboudii* Coss.

*Bupleurum plantagineum* Desf.

*Pituranthus scoparius* Benth.et Hook.

*Caucalis daucoides* L.

وقد تضمنت هذه الدراسة الكيمياء نباتية المراحل التالية :

### I-1 - جمع وتحضير العينات النباتية :

قمنا بعدة خرجات ميدانية عبر بعض ولايات الوطن، جمعنا فيها عدة عينات نباتية تابعة للعائلة الخيمية، تم تعريفها بعد ذلك من طرف مختصين في التصنيف النباتي وهما الدكتور رباح خلاف من جامعة المسيلة و الدكتور Errol Vela من جامعة Montpellier 2 بفرنسا، بعد ذلك تم إنتقاء النباتات المهمة. وقد أثمر بحثنا المتواصل في التعرف على أنواع مهمة حيث تم تجميع الكمية الممكنة منها مع تسجيل مكان وفترات الجمع و المرحلة أو المراحل الفينولوجية للنبات التي قطفت فيها .

بعد الإنتهاء من مرحلة التجميع تم بعناية خاصة عزل العينات النباتية كل على حدى ثم فصل الأعضاء النباتية لكل عينة، بعد تجفيفها في الظل تم حفظها بعد ذلك في أكياس ورقية خاصة ومرقمة في جو جاف إلى غاية بداية مرحلة الإستخلاص.

### **I-1-1-1-1 : تحضير العينة. *Daucus sahariensis* Murb.**

تم تجميع نبتة *Daucus sahariensis* Murb. في منطقة صحراوية بوسعادة - ولاية المسيلة بتربة رملية عام 2009، بعد الإطلاع على أهم المواقع العلمية تبين أنه لم يسبق التعرض مطلقا لدراسة هذا النبات من طرف الباحثين لذا حاولنا في بحثنا هذا التركيز على دراسة منتجاته الأيضية الثانوية.

حرصنا في البداية على جمع مختلف أعضائها (جذور، سيقان، أوراق وثمار) كما تم في العام 2011 تجميع النبتة كاملة ضمن 3 مراحل مختلفة من النمو (قبل الإزهار، الإزهار، الإثمار).

### **I-1-1-2-1 : تحضير العينة. *Daucus reboudii* Coss.**

تم تجميع الجزء الهوائي للعينة النباتية *Daucus reboudii* Coss. بالمحمية الوطنية بقوراية - بجاية غربا في مرحلة الإثمار بمنطقة غابية تسود فيها أشجار البلوط وهذا في نهاية شهر جويلية 2010.

### **I-1-1-3-1 : تحضير العينة. *Bupleurum plantagineum* Desf.**

تم تجميع الجزء الهوائي للنبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. بالمحمية الوطنية بقوراية ولاية بجاية بتربة صخرية وهذا على مرحلتين : قبل الإزهار في شهر أفريل وأثناء مرحلة الإزهار في شهر جوان 2010.

### **I-1-1-4-1 : تحضير العينة. *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook.**

تم تجميع النبتة المعروفة محليا باسم (لقزاح) *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook. بتربة صخرية بجبال مدينة المسيلة في مرحلة الإزهار وهذا في شهر أكتوبر 2010، قمنا بعد ذلك بفصل الأزهار عن الجزء الهوائي للنبتة.

### **I-1-1-5-1 : تحضير العينة. *Caucalis daucoides* L.**

تم تجميع الجزء الهوائي لنبتة *Caucalis daucoides* L. بتربة طينية بجبال غابة الدريعات ولاية المسيلة أثناء مرحلة قبل الإزهار وهذا في شهر ماي 2011.

تم بعد ذلك التأكد من تصنيف وتسمية العينات النباتية الخمسة من طرف مختص في التصنيف النباتي : الدكتور Errol Vela من جامعة Montpellier 2 بفرنسا كما تم ترقيم العينات المجففة ووضعها بمخبر الجزيئات الحيوية و التحسين النباتي بجامعة أم البواقي.

### **I-2- دراسة الزيوت الأساسية :**

من أهم منتجات الأيض الثانوي المميزة لنباتات الفصيلة الخيمية نذكر الزيوت الأساسية و المركبات الفينولية (الفلافونويد) والتي قمنا باستخلاصها تبعا للطرق والوسائل المناسبة لكل مادة فعالة.

### **I-2-1- إستخلاص الزيوت الأساسية :**

#### **I-1-2-1- الإستخلاص بطريقة التقطير المائي :**

تم الإنطلاق في الجزء العملي باستخلاص الزيوت الطيارة للنباتات المعدة للدراسة باستعمال جهاز الجرف ببخار الماء من نوع Clevenger حيث يتم وضع كمية 150-300 غ من المادة النباتية المجففة أو الطرية والمقطعة إلى أجزاء صغيرة في الأنبوب القمعي ثم يضاف لها كمية من الماء المقطر، يتم تشغيل الجهاز بضبط دقيق لدرجة حرارة تبخر الماء ومراقبتها في كل لحظة وبمرور الزمن يتم إستخلاص الزيوت الأساسية بطريقة التقطير المائي Hydrodistillation أي تحميل جزيئات الزيت المحتواة في المادة النباتية من طرف بخار الماء الذي يتجمع بعد ذلك في صورته السائلة لتظهر طبقة زيتية تعلو الماء، يتم بعد ذلك (2-3 سا) توقيف الجهاز ثم سحب الطبقة الزيتية بواسطة حقنة خاصة (Flamini وآخرون، 2006) ، يتم استخلاص الزيت الأساسي للنبات كليا أو لكل عضو على حدى (جذور، سيقان، أوراق، أزهار و ثمار) في حالة توفر الكمية النباتية الكافية.

بعد وضع المستخلص في أنبوب إختبار مكتوب عليه البيانات اللازمة يتم وزن كمية الزيت الطيار المستخلصة من كل عضو بواسطة ميزان حساس من خلال تسجيل وزن الأنبوب قبل وبعد وضع المستخلص، تحفظ العينات في ثلاجة بدرجة حرارة منخفضة 4 م° إلى حين تحليلها.



الصورة 6 : إستخلاص الزيوت الطيارة باستعمال جهاز Clevenger.

### I-2-2- التحليل الفيزيوكيميائي للعينات الزيتية :

تم تحليل كل عينة زيتية باستعمال جهاز كروماتوغرافيا الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة GC-MS فمن كل عينة تم أخذ كمية زيتية قليلة (0.2 مكرو لتر) ثم تخفف بالهكسان بنسبة (30-1) ليتم بعد ذلك حقنها بدقة شديدة و دفعة واحدة في جهاز كروماتوغرافيا الغاز الموصول بمطيافية الكتلة، ننتظر بعد الحقن مدة زمنية (60 د) ليتمكن الجهاز من فصل وتحليل مكونات المزيج الزيتي.

نحصل بعد ذلك على التسجيل الكروماتوغرافي المزود بقيم زمن المكوث (زمن الإحتباس) للمركبات المكونة للمزيج ونسبة كل مركب دون تسميته، ثم بعد ذلك يتم تشغيل البرنامج الخاص الموجود في الكمبيوتر للتعرف على اسم كل مركب اعتمادا على الجداول والبيانات المسجلة سابقا لكل مركب زيتي معروف وكذلك للألكانات المحقونة (زمن مكوثه ومؤشر كوفاتس ) وكذلك على المعلومات المتعلقة بمطيافية كتلته ومن خلاله يتم حساب مؤشر كوفاتس باستعمال برنامج ضمن الجهاز الأصلي ، وقد تم إجراء هذا القسم العملي بمخبر قسم العلوم الصيدلانية و الكيمياء البيوعضوية بجامعة Pisa بإيطاليا عامي 2010 و2012.

### I-2-2-1- مبدأ عمل جهاز كروماتوغرافيا الغاز الموصول بمطيافية الكتلة GC-MS :

يستعمل الكيميائيون عبر الزمن عدة طرق لتحليل مكونات الزيوت الطيارة ومع التقدم التكنولوجي الحاصل أصبحت طريقة كروماتوغرافيا GC-MS هي الأكثر شيوعا واستعمالا ونجاعة نظرا لسرعتها في التحليل ودقتها وحساسيتها للمركبات الزيتية حتى في التراكيز الضعيفة جدا وكذا قدرة تعرفها على هوية عدد كبير من المركبات الزيتية الموجودة في المزيج الزيتي ضمن خليط واحد.

يعتمد مبدأ هذه الطريقة على وجود طور ثابت (العمود الشعري) وآخر متحرك عبارة عن غاز حامل الهليوم عادة أو النتروجين، يمر الطور المتحرك حاملا معه المزيج الزيتي عبر العمود الشعري فيحدث خلال ذلك إدمصاص لمكونات المزيج ولأن مكونات المزيج ذات معدل إدمصاص متباين ضمن الطور الثابت فإن مكونات هذا المزيج ستجرف بسرعات مختلفة وذلك تبعاً لقوة التأثيرات المتبادلة بين المزيج من جهة والطور الثابت والمتحرك من جهة أخرى أي يخرج المكون الأقل إدمصاصا أولاً ثم المكون الثاني وهكذا تتمكن بهذه التقنية من فصل وتعريف المركبات الطيارة المحمولة بواسطة التيار الغازي لذا سميت هذا الطريقة بكروماتوغرافيا الغاز وهي تقنية ذات سرعة عالية ودقة كبيرة (Tranchant، 1995).

### I-2-2-2- مكونات الجهاز GC-MS وطريقة التحليل :

جهاز الكروماتوغرافيا من النموذج Varian CP-3800 مزود بعمود شعري (DB-5) طوله 30 م ذو قطر داخلي 0,25 مم مطلي بطلاء معدني رقيق بسماك 0.25 ميكرومتر، ومتصل بجهاز آخر لمطياف الكتلة من نوع Varian Saturn 2000 حيث يكون مزودا بكاشف خاص يقدر مطيافية كتلة كل مركب من خلال تأينه. أما الطور المتحرك فيتمثل في غاز الهليوم الخامل، بعد حقن العينة الزيتية في العمود دفعة واحدة وهي على شكل محلول مذاب في الهكسان بواسطة إبرة حقن خاصة، تحمل وتنجرف مكونات المزيج الزيتي من طرف غاز الهليوم بسرعات مختلفة عبر العمود وبعد مدة زمنية محددة يتم خروج كل مركب على حدى أين يتم عن طريق الكاشف الحساس تحديد نوع و نسبة المركبات المفصولة من خلال قياس التغير في أحد

الخواص الفيزيائية (التأين)، هذا الكاشف موصل بمسجل يسجل القمم الكروماتوغرافية مباشرة حيث يكون لكل مادة قمة مميزة يقدر الكاشف نسبة كل مركب من خلال مسافة القمة التي يرسمها المسجل، يتم حساب قيمة مؤشر المكوث (الإستبقاء) R.I والتي يعبر عنها أيضا بمؤشر كوفاتس K. I بالإستعانة بجداول تضم زمن الإستبقاء للمركبات النقية والمعروفة مسبقاً (Flamini وآخرون، 2013).

زمن المكوث أو الإستبقاء هو الزمن المستغرق من بدء الحقن إلى الزمن الذي يخرج فيه المركب من العمود ويتم حساب مؤشر المكوث لكل مركب زيتي بالإعتماد على زمن المكوث للألكان الذي يخرج من العمود قبل المركب الزيتي وكذلك على الألكان الذي يخرج بعده ومن ثم تطبيق العلاقة الرياضية التالية (Tranchant، 1995):

$$K.I = 100[n + (T_x - T_n) / (T_N - T_n)]$$

$T_x$  = زمن المكوث للمركب الزيتي المجهول

$T_N$  = زمن المكوث للألكان البعدي

$T_n$  = زمن المكوث للألكان القبلي

$n, N$  = عدد ذرات الكربون للألكان (الهيدروكربون) القبلي أو البعدي

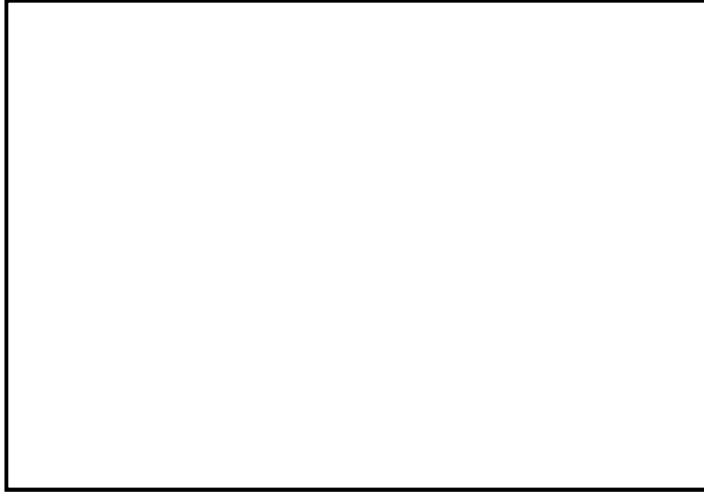


الشكل 12 : مكونات جهاز كروماتوغرافيا الغاز - مطيافية الكتلة.

### I-2-2-3- الشروط التجريبية وطريقة التحليل :

- درجة حرارة الفرن مبرمجة من 60°C إلى 240°C لتبخير العينة.
- ينتقل غاز الهليوم الحامل عبر العمود بسرعة 1 مم في الدقيقة.
- يتم حقن كمية 0,2 ميكرو لتر من عينة الزيت والذي يكون منحلًا في الهكسان (10%).

استندنا أيضا في تحديد هوية المركبات الزيتية المجهولة على مقارنة قيمة زمن المكوث لمختلف المركبات المكونة للعينة الزيتية المدروسة والتي تم الحصول عليها في تسجيلنا الكروماتوغرافي ومقارنتها بسلسلة الهيدروكربونات n-hydrocarbons من جهة والبرنامج التجاري الموجود في جهاز الكمبيوتر NIST 98 و ADAMS من جهة أخرى وكذلك بالإستعانة بأطياف الكتلة للمركبات الزيتية النقية المعلومة والمعلومات المعروفة حولها مسبقا (Jennings وآخرون، 1980؛ Davies، 1990؛ Adams، 1995).



الصورة 7 : جهاز كروماتوغرافيا الغاز الموصول بمطيافية الكتلة .

### I-3- دراسة المركبات الفينولية :

#### I-3-1- إستخلاص المركبات الفينولية :

في البداية تضمنت دراسة المركبات الفينولية الحصول على المستخلص الميثانولي من أجل قياس المحتوى الفينولي الكلي ثم إختبار الفعالية المضادة للأكسدة لهذا المستخلص وقمنا من أجل ذلك بغمر المادة النباتية لكل عينة في مذيب الميثانول 80 % لمدة 24 ساعة ثم تبخير هذه الخلاصة الكحولية باستعمال جهاز التبخير الدوراني والحصول على المستخلص الخام وهذا لكل النباتات المعدة للدراسة.

كما تضمنت المرحلة الثانية إستعمال مجموعة من المذيبات العضوية متدرجة القطبية وفق ترتيب محدد ( هكسان، كلوروفورم أو ثنائي كلور الميثان، الميثانول) وبعد عملية التبخير والحصول على المستخلصات الخام عمدنا للكشف عن المركبات الفينولية ومقارنة وجودها ضمن هذه المستخلصات المختلفة حيث قمنا بعملية الفصل الكروماتوغرافي باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM أين تم الكشف الأولي عن هذه المركبات من حيث عددها وأنواعها وهذا بالإستعانة بجهاز الأشعة فوق بنفسجية وباستعمال مركبات قياسية.

#### I-3-2- تقدير الفينولات الكلية :

تم تقدير المحتوى الفينولي الكلي بواسطة الكاشف اللوني Folin-Ciocalteu باستعمال جهاز المطياف Spectrophotomètre UV-Vis (Slinkard and Singleton، 1977). هذا الإختبار يعتمد على إرجاع كاشف Folin أو Acide phosphotungstique-phosphomolybdique في وسط قاعدي حيث يتم أخذ 10 مكرو لتر لكل مستخلص نباتي منحل في الميثانول و يضاف إليها 90 مكرو لتر من الماء المقطر و 40 مكرو لتر من الكاشف Folin-Ciocalteu والمميه 10 مرات ( 4 مل من Folin-Ciocalteu / 40 مل ماء مقطر)، يخلط المزيج ويحضن لمدة 4 دقائق بعدها نضيف إليه 60 مكرو لتر من محلول كربونات الصوديوم  $Na_2CO_3$  بتركيز 2 % (2غ/100مل ماء مقطر).

يمزج الخليط النهائي جيدا ثم يحضن لمدة 2 سا في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة العادية. يتم بعد ذلك قياس قيم الإمتصاص الضوئي للمستخلصات النباتية بواسطة جهاز المطياف الضوئي المذكور سابقا في طول موجة 760nm (Öztürk وآخرون، 2011).

في المقابل يتم تحضير منحنى المعايرة باستعمال المركب الفينولي المكافئ Pyrocatechol وفي تراكيز متزايدة من 0 إلى 80 ميكروغ / مل حيث يتم قياس قيمة الإمتصاص مقابل كل تركيز، والنتائج المحصل عليها يتم ترجمتها إلى رسم بياني.

وإعتقادا على المعادلة المحصل عليها من الرسم البياني للمعايرة تمكننا من قياس النسبة الفينولية حيث تم التعبير عن هذه النسبة بواسطة ميكروغرام المركب المعايير Pyrocatechol لميلي غرام المستخلص النباتي ( $\mu\text{g PE/mg}$ ).

$$A = 0.08237 \text{ pyrocatechol}(\mu\text{g}) + 0.00058 \quad (R^2 : 0.9985)$$

### I-3-3- الدراسة الكروماتوغرافية :

إعتمدنا في عملية الفصل الكروماتوغرافي أساسا على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة الجاهزة من النوع GF254 وبعد تحديد خط الإنطلاق بحوالي 2 سم من القاعدة توضع نقاط صغيرة من المستخلصات الخام بقطر لا يتعدى 5 ملم بواسطة أنبوبة شعرية أما من الأعلى فتحدد جبهة المذيب ثم يوضع نظام المذيب المستعمل في الحوض المخصص لعمل الكروماتوغرافيا ويغلق لمدة ساعة قبل وضع الصفائح الكروماتوغرافية حتى يتشبع الحوض بنظام المذيب المستعمل، بعدها توضع الصفائح بعناية ويغلق الحوض بإحكام حتى تتم الهجرة في ظروف ملائمة .

عند وصول المذيب إلى خط جبهة المذيب تخرج الصفائح لتجف في الهواء الجوي ثم يلاحظ لون البقع باستعمال الأشعة فوق بنفسجية (U.V) على الموجتين 254 و 365 نانومتر، بعد إظهار البقع نقوم بقياس مسافة هجرة البقع من الخط الابتدائي إلى جبهة المذيب والتي يعبر

عنها بمعامل الإنسياب ( $R_f$ ) ثم مقارنة هذا المعامل مع معاملات الإنسياب للمركبات المرجعية المتوفرة.

إعتمدنا بعد ذلك على خاصية تلون هذه المركبات المفصولة باللون الأزرق الفاتح أو البنفسجي بالنسبة للكومارينات أو باللون البرتقالي والأصفر للفلافونويدات تحت جهاز الأشعة فوق بنفسجية (UV) بعد استعمال الرش بالكواشف المناسبة حيث يرش اللوح الكروماتوغرافي على الترتيب بالكاشف الأول Polyethylen glycol ثم يتبع بالكاشف الثاني Naturstoffe حيث تبدو المركبات الفينولية ملونة، منفصلة و ذات معاملات إنسياب ( $R_f$ ) مختلفة وهذا بعد تجريب أنظمة مذيية متعددة ثم إختيار أحسن نظام فصل مع أحسن هجرة للبقع بالرغم من أن هذا الكشف أولي فقط ولا نستطيع الجزم على أنها كومارينات أو فلافونويدات إلا باستعمال HPLC و RMN ولكن لتعزيد نتائج المعايرة الكلية للفينولات فقط .

### I-3-3-1- نظام المذيب المستعمل :

جربنا في البداية لفصل المركبات الفينولية حوالي 5 أنظمة لمذبيات مختلفة بغية إختيار أحسن نظام مذيب.

**جدول 08 :** الأنظمة المذيية المستعملة في عملية الفصل الكروماتوغرافي.

نظام المذيب المستعمل (الطور المتحرك)	الرقم
Chloroforme - Acetate déthyl (8: 2)	01
Chloroforme - MeOH (9: 1)	02
Chloroforme - MeOH (7: 3)	03
n -Hexane - Dichloromethane (4: 0.5)	04
Acetate déthyl - n Hexane (4: 1)	05

أين تظهر تحت الأشعة فوق بنفسجية بقع زرقاء فاتحة أو داكنة يعتقد أنها كومارينات (ويبقى ذلك مرهون بالتحليل الطيفي) ، وبقع أخرى تظهر برتقالية أو صفراء يعتقد أنها فلافونويدات، لنقوم بعد ذلك بحساب معامل الإنسياب لكل بقعة بعد تعيين موقعها حيث يكون معامل الإنسياب لهذه البقع متقاربا مع حساب عدد البقع التي تمثل عدد المركبات المفصولة حيث يحسب معامل الإنسياب (Rapport frontal) =  $R_f$  للبقع وفقا للعلاقة التالية :

$$\text{معامل الإنسياب } R_f = \frac{\text{المسافة التي تقطعها البقعة}}{\text{المسافة بين نقطة الإنطلاق وجبهة المذيب}}$$

#### I-4- الفعالية البيولوجية :

##### I-4-1- الفعالية المضادة للأكسدة :

تم قياس فعالية تثبيط الجذور الحرة من طرف المستخلصات الزيتية أو المستخلصات الميثانولية الخام باستعمال الجذر الحر DPPH وهو يعتبر أحد الإختبارات الشائعة جدا والمستعملة من أجل معرفة كفاءة المستخلصات النباتية كمواد طبيعية مضادة للأكسدة (Markowicz Bastos وآخرون، 2007).

يعتمد مبدأ هذه الطريقة على إرجاع المركب 2.2 diphenyl 1 picryl hydrazyl أو DPPH ذو اللون البنفسجي (الصورة الحرة) إلى 2.2 diphenyl 1 picryl hydrazine ذو اللون الأصفر (الصورة المرجعة)، إذن DPPH هو جذر حر يمكن إرجاعه من طرف المركب AH الذي يمنحه الهدروجين وهذا حسب المعادلة الكيميائية التالية :



وقد استعملنا لتحديد نشاط إزالة الجذور الحرة في المستخلص النباتي المخطط المستعمل من طرف Blois (1958).

حيث بدأنا بوضع 120 ميكرو لتر من الميثانول في كل الحفرة 96 الموجودة في الطبق الزجاجي (96-well microplate reader) ثم نضيف إلى كل منها 40 ميكرو لتر من محلول المستخلصات النباتية المحضرة والتي تم مزجها جيدا، بعدها نضيف إليها 40 ميكرو لتر من محلول DPPH المنحل في الميثانول بتركيز 0.4 ميلي مول.

توضع الأطباق في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة العادية لمدة 30 د، تتم القراءة بقياس قيم الإمتصاص في طول موجة 517nm وكلما كانت قيم الإمتصاص منخفضة كلما كانت فعالية تثبيط الجذر الحر كبيرة، قمنا بتكرار كل عينة ثلاث مرات .

المراقبة السالبة (Control) تمت باستعمال محلول DPPH مع الميثانول لوحده.

- إستعملنا مركب  $\alpha$ -Tocopherol كمركب قياسي أو مرجعي.

في وجود مضاد الأكسدة شدة الإمتصاص تتناقص ويتم التعبير عن نتائج تثبيط إزالة الجذر الحر DPPH % I وفقا للمعادلة بالنسبة التالية :

$$I\% = (A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{Control}} \times 100$$

I% : النسبة المئوية لتثبيط الجذر الحر

A<sub>sample</sub> : قيمة الإمتصاص الضوئي لعينة المستخلص النباتي

A<sub>Control</sub> : قيمة الإمتصاص الضوئي بدون عينة المستخلص النباتي

#### I-4-2- الفعالية المضادة للكولين أستيراز :

##### ■ - طريقة Ellman :

إستعملنا من أجل الكشف عن فعالية وقدرة الزيوت الطيارة أو المستخلصات الميثانولية الفينولية في تثبيط أنزيم Acetyl choline estérase (AChE) أو أنزيم Butyrylcholinesterase (BChE) طريقة Ellman (1961) والتي تعتمد أساسا على تفكيك مادة acetylthiocholine من طرف أنزيم الأستيل كولين إستيراز ، هذا التفاعل ينتج عنه مادة thiocholine الذي بدوره يتفاعل مع Dithio-bisnitrobenzoate (DTNB) من أجل تشكيل الأنيون 5- thio-2-nitrobenzoate ذو اللون الأصفر (Ellman وآخرون، 1961).

وقد تم تكييف هذه الطريقة الشائعة في المخبر حيث أصبحت تستعمل فيها أطباق صغيرة يحتوي كل طبق على 96 حفرة تسمح باستعمال عينات كثيرة تضاف إليها مواد التفاعل بعد إضافة الأنزيم.

### الشكل 13 : تفاعلات طريقة Ellman اللونية.

وقد اتبعنا في قياس نسبة تثبيط هذا الأنزيم المخطط التالي :

وضعنا في كل حفرة 150 ميكرو لتر من فوسفات الصوديوم  $(\text{PH}=8)\text{Na}_2\text{Hpo}_4$  وأضفنا لها 10 ميكرو لتر من العينات النباتية المذابة في الميثانول ، ثم أضفنا إليها 20 ميكرو لتر من أنزيم AChE أو من أنزيم BChE يتم مزج الخليط جيدا ثم حضنه لمدة 15 د عند درجة حرارة 25 م°.

بعد ذلك نضيف 10 ميكرو لتر من DTNB ( 0.5 ميلي مول) ثم 10 ميكرو لتر من مادة التفاعل acetylthiocholine iodide ( 0.71 ميلي مول) أو 10 ميكرو لتر من مادة التفاعل butyrylthiocholine chloride ( 0.2 ميلي مول) لمدة 10 دقائق، إن إماهة هذه المادة Substrat يتم تقديرها عن طريق قياس نسبة الإمتصاص الضوئي وهذا بتكون الأنيون -5 thiocholine مع DTNB هو نتيجة تفاعل DTNB مع thio-2-nitrobenzoate ذو اللون الأصفر والذي هو نتيجة تفاعل DTNB مع thiocholine الذي هو ناتج بدوره عن الإماهة الأنزيمية لمادة التفاعل المذكورة سابقا، قمنا بتكرار التجربة

لكل عينة ثلاث مرات وإستعملنا للمراقبة الإيجابية Galanthamine كمركب قياسي أو مرجعي (Öztürk وآخرون، 2011).

تم تحديد النسبة المئوية لتنشيط العينة للأنزيم بمقارنة نسبة تفاعل العينات المحتوية على المستخلصات النباتية بتلك الفارغة (الشاهدة) وباستعمال الصيغة التالية :

$$I\% = (E-S) / E \times 100$$

I%: النسبة المئوية لتنشيط الأنزيم

E: نشاط الأنزيم بدون عينة المستخلص النباتي

S: نشاط الأنزيم في وجود العينة

#### I-3-4-3- الفعالية المضادة للبكتيريا :

إستعملنا لإختبار فعالية الزيوت الأساسية أو المستخلصات الفينولية للنباتات المدروسة طريقة الإنتشار في وسط مغذي باستعمال الأقراص مع ثلاث سلالات بكتيرية مرجعية لقياس قطر منطقة التنشيط (Murray وآخرون، 1995).

#### I-3-4-1- تحضير الأقراص والأوساط المغذية :

تم تحضير عدد من الأقراص المتجانسة في المخابر بنفس القطر إنطلاقا من ورق وتمان 3 Papier wattman N°3 ثم تعقم بوضعها في علبة بتري زجاجية بها 10 مل من الماء المقطر، وتحفظ في autoclave مدة 20 دقيقة في حرارة 120°م.

أما أوساط الزرع التي تطبق عليها الأقراص فتحضيرها يكون بإذابة جيلوز Milleur Hinton في حمام مائي، ثم يسكب في علب بتري حيث لا يزيد سمك الجيلوز عن 4 ملم، تترك العلب لتجف مدة 30 دقيقة في حرارة 37°م.

#### I-4-3-2- زرعة السلالات البكتيرية :

- بواسطة ماصة باستور معقمة تكشط من 4- 5 مستعمرات بكتيرية معزولة إبتداء من المزارع البكتيرية النقية المحضرة مسبقا.

- تحمل البكتيريا في 10 مل من الماء الفيزيولوجي وتحفظ في الحاضنة (37 م، 15 دقيقة).  
- تغمس écouvillon في المعلق البكتيري المحضر مسبقا وتمسح على سطح الجيلوز من الأعلى إلى الأسفل بشكل خطوط مستمرة ومتراصة مع تدوير طبق بيتري 60° في كل مرة، وإعادة تحميل écouvillon عند الزرع في عدة أطباق بيترية.

#### I-4-3-3- تطبيق الأقراص على المزارع البكتيرية :

إنطلاقا من نواتج الإستخلاص المحصل عليها والمتمثلة في المستخلصات الميثانولية وكذا مستخلصات الزيوت الطيارة للنباتات الخمس المدروسة يتم تحضير عدة تخفيفات متزايدة من كل مستخلص نباتي ميثانولي أو زيتي حيث تخفف المحاليل الناتجة إلى النصف، الربع والثلث، باستعمال Dimethyl sulfoxide (DMSO) كمادة مخففة .

تشبع الأقراص المعقمة بالمحاليل الناتجة وذلك بوضع قطرة قطرة (10ميكرو لتر) من كل تخفيف على كل قرص يترك ليجف وبواسطة ملقط معقم يوضع في كل علبه بتري مزروعة مسبقا بالبكتيريا 04 أقراص مختلفة التركيز لنفس المستخلص.

تترك علب بتري مدة 15 دقيقة في جو المختبر قبل حفظها في الحاضنة (37 م، 18-24 ساعة) بشكل مقلوب ليلاحظ بعدها ظهور مناطق التثبيط حول الأقراص ثم قياس أقطارها عموديا وأفقيا بالمسطرة ونأخذ المتوسط بالمليمتر(ملم).

المراقبة السالبة (Control) تمت باستعمال محلول Dimethyl sulfoxide (DMSO) .  
المراقبة الإيجابية تمت باستعمال المضاد الحيوي Ampicillin (10µg/ mL).

## II-1- التحليل الفيزيوكيميائي للزيوت الأساسية :

### II-1-1- دراسة الزيت الأساسي لنبته *Daucus sahariensis* Murb. :

#### II-1-1-1- التحليل الفيزيوكيميائي لأعضاء نبتة *Daucus sahariensis* Murb. :

لخصت نتائج التحليل الفيزيوكيميائي للزيت الأساسي للأعضاء التالية : جذور، سيقان ، أوراق وثمار نبتة *Daucus sahariensis* Murb. في الجدول التالي :

**جدول 09:** المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لأعضاء نبتة *Daucus sahariensis* Murb.

المركبات الزيتية	R.I	الجذور (%)	السيقان (%)	الأوراق (%)	الثمار (%)
(E)-2-Hexenal	856	-	-	0.1	tr
2-Heptanone	891	-	-	tr	-
Heptanal	900	1.7	0.2	0.3	tr
Tricyclene	928	0.7	tr	tr	-
$\alpha$ -Thujene	931	tr	0.3	tr	tr
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>939</b>	<b>tr</b>	<b>18.6</b>	<b>5.4</b>	<b>13.1</b>
Camphene	953	-	1.6	0.7	0.9
Thuja-2,4(10)-diene	957	-	-	0.2	tr
Benzaldehyde	961	-	-	tr	tr
Heptanol	969	-	-	tr	-
Sabinene	976	0.1	7.3	0.9	2
$\beta$ -pinene	980	0.3	tr	0.4	1.8
6-Methyl-5-hepten-2-one	985	-	-	0.1	tr
3-Octanone	988	-	-	tr	-
<b>Myrcene</b>	<b>991</b>	<b>1.2</b>	<b>16.7</b>	<b>4.5</b>	<b>5.7</b>
Octanal	1002	3.4	0.3	tr	tr
$\alpha$ -Phellandrene	1005	tr	tr	tr	tr
$\alpha$ -Terpinene	1018	0.3	0.6	0.3	0.2
<i>p</i> -Cymene	1027	0.4	0.3	0.7	0.5
<b>Limonene</b>	<b>1031</b>	<b>1.2</b>	<b>13.7</b>	<b>3.9</b>	<b>9.4</b>
1,8-Cineole	1035	-	-	-	tr
(Z)- $\beta$ -Ocimene	1041	0.1	0.9	0.4	0.8
Phenyl acetaldehyde	1045	-	-	0.2	tr
(E)- $\beta$ -Ocimene	1051	tr	0.3	tr	0.2
$\gamma$ -Terpinene	1062	0.7	1.2	0.5	1.2
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1070	tr	0.1	tr	tr

Terpinolene	1089	1.7	1.9	-	0.3
<i>p</i> -Cymenene	1090	-	-	0.8	-
2-Nonanone	1091	0.4	-	tr	-
Perillene	1099	tr	0.7	0.9	0.3
Linalool	1100	0.1	-	tr	-
Nonanal	1103	0.8	0.2	0.3	tr
1,3,8- <i>p</i> -Menthatriene	1112	-	-	tr	tr
<i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	1123	tr	0.2	0.4	0.1
$\alpha$ -Campholenal	1127	-	-	0.2	-
Alloocimene	1129	-	-	-	tr
<i>cis</i> -Limonene oxide	1135	-	-	-	tr
<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol	1139	-	-	tr	tr
<i>trans</i> -Sabinol	1140	-	-	0.2	-
<i>trans</i> -Pinocarveol	1141	tr	0.4	0.4	0.1
<i>cis</i> -Verbenol	1142	0.1	0.5	0.9	0.4
<i>trans</i> -Verbenol	1144	0.3	0.1	tr	-
$\beta$ -Pinene oxide	1158	tr	0.1	tr	-
( <i>E</i> )-2-Nonenal	1160	0.6	0.2	0.7	tr
<i>cis</i> -Chrysanthenol	1161	1	tr	0.4	1.2
Isoborneol	1162	0.4	tr	-	tr
<i>p</i> -Menth-1,5-dien-8-ol	1166	tr	0.4	0.5	tr
Terpinen-4-ol	1178	1.5	2	0.9	0.4
<i>p</i> -Cymen-8-ol	1185	2.8	1	0.8	0.2
Cryptone	1186	-	-	-	tr
<i>trans-p</i> -Mentha-1(7),8-dien-2-ol	1190	-	-	-	tr
$\alpha$ -Terpineol	1192	0.1	0.3	0.3	0.2
Myrtenal	1194	-	-	tr	tr
Methyl chavicol	1197	-	1.2	2	0.5
Decanal	1205	2.6	tr	0.2	tr
Verbenone	1207	tr	0.2	0.2	0.2
<i>trans</i> -Carveol	1219	tr	0.4	0.2	0.1
<i>cis</i> -Carveol	1231	-	0.1	-	tr
Carvone	1244	-	0.2	0.2	tr
<b><i>cis</i>-Chrysanthenyl acetate</b>	1263	tr	1.1	<b>5.3</b>	<b>7.4</b>
Isobornyl acetate	1286	3.6	4	4.2	1.7
<b>(<i>E</i>)-Anethole</b>	1290	<b>10.8</b>	-	-	-
<i>trans</i> -Pinocarvyl acetate	1299	-	-	-	tr

Carvacrol	1300	-	-	-	tr
<i>trans</i> -Carvyl acetate	1339	-	-	-	tr
$\alpha$ -Cubebene	1351	-	-	-	tr
$\alpha$ -Copaene	1376	0.2	0.3	0.3	-
( <i>E</i> )- $\beta$ -Damascenone	1382	-	-	0.2	-
$\beta$ -Cubebene	1290	tr	0.1	0.2	tr
$\beta$ -Elemene	1391	-	-	-	tr
Methyl eugenol	1403	0.2	tr	0.2	0.2
$\beta$ -Caryophyllene	1418	0.4	tr	0.5	0.3
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotene	1439	-	0.3	0.1	tr
$\alpha$ -Humulene	1455	2.8	0.8	2	3.2
( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnesene	1459	-	-	-	-
<i>trans</i> -Cadin-1(6),4-diene	1470	-	-	tr	-
$\gamma$ -Muurolene	1477	-	-	-	tr
Germacrene D	1480	0.2	1.8	1.9	0.5
Bicyclgermacrene	1494	-	-	0.3	0.3
$\alpha$ -Muurolene	1500	-	-	tr	-
<i>trans</i> - $\beta$ -Guaiene	1503	-	-	-	tr
$\beta$ -Bisabolene	1509	-	0.7	0.2	0.1
<i>trans</i> - $\gamma$ -Cadinene	1513	-	-	0.1	tr
<b>Myristicin</b>	<b>1520</b>	<b>29.2</b>	<b>8</b>	<b>34.3</b>	<b>43.9</b>
$\alpha$ -Calacorene	1542	-	-	0.1	-
Elemicin	1554	tr	-	0.2	0.3
( <i>Z</i> )-3-Hexenyl benzoate	1570	-	-	0.2	tr
Spathulenol	1576	0.5	0.6	1	0.4
Caryophyllene oxide	1581	tr	0.2	0.6	Tr
$\beta$ -Oplophenone	1606	-	-	0.2	-
Humulene oxide II	1607	0.5	0.6	1.9	0.3
$\alpha$ -Acorenol	1632	-	-	0.3	-
T-Cadinol	1641	-	-	0.3	tr
$\beta$ -Eudesmol	1649	0.3	0.7	2.2	0.1
$\alpha$ -Cadinol	1654	-	-	-	0.2
Apiole	1678	-	-	0.4	-
<i>epi</i> - $\alpha$ -Bisabolol	1686	0.6	2.3	4.8	0.3
Hexahydrofarnesylacetone	1845	-	-	0.2	-

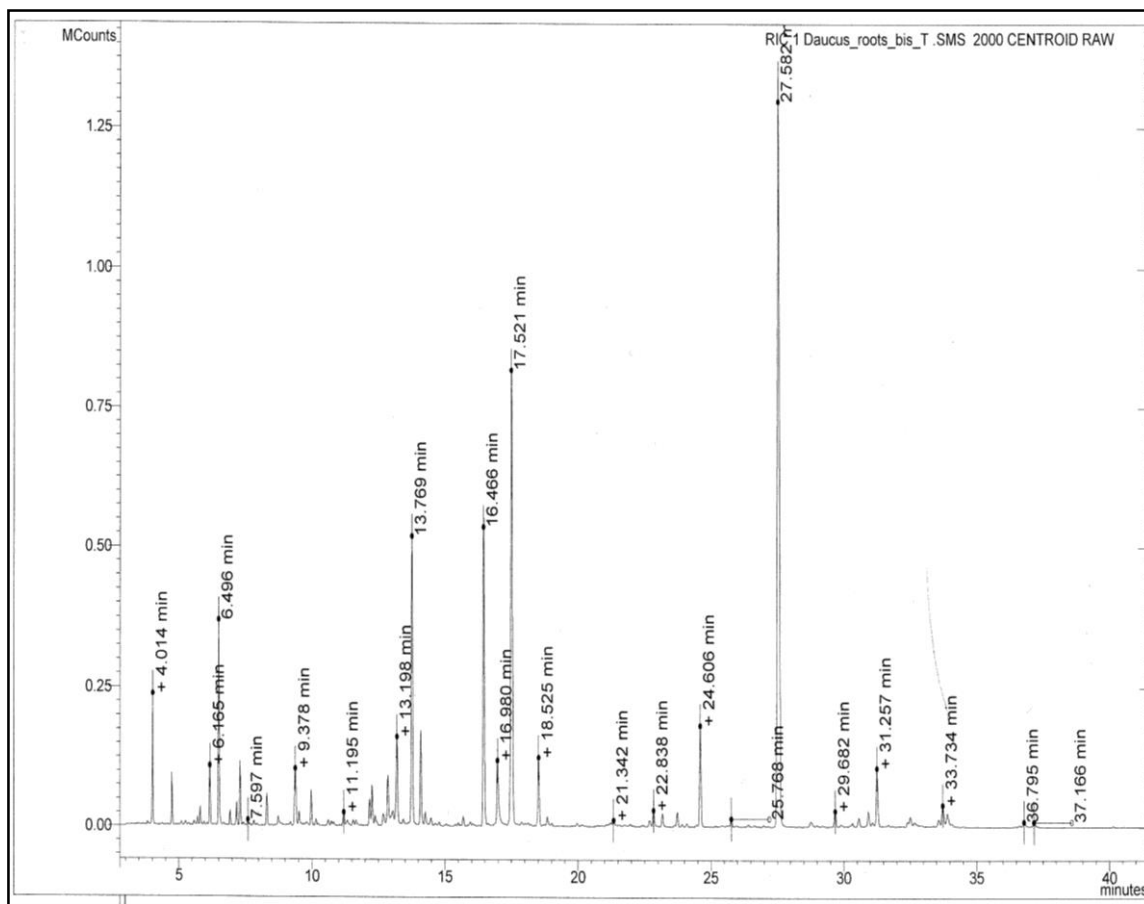
## II-1-1-1-1- زيت الجذور :

تم تحديد 36 مركب في الزيت الأساسي للجذور مع وجود 16 مركب آخر بنسبة أقل من 0.1 % (أثار قليلة) أي في المجموع 52 مركب يوافق 94 % من مكونات الزيت الكلي ، حيث مثلت فيها Phenylpropanoids النسبة الكبرى 47.7 % (وهي أكبر نسبة مسجلة مقارنة بالأعضاء الأخرى) وممثلة أساسا في مركب myristicin بنسبة معتبرة 29.2% والذي يبدو في التسجيل الكروماتوغرافي المبين أسفله نو زمن مكوث 27.58 د، متبوعا بمركب (E)- anethole 10.8% وهو يبدو بزمن مكوث 17.52 د، هذا الأخير تبين وجوده في الجذور فقط بصورة استثنائية وانعدامه تماما في باقي الأعضاء.

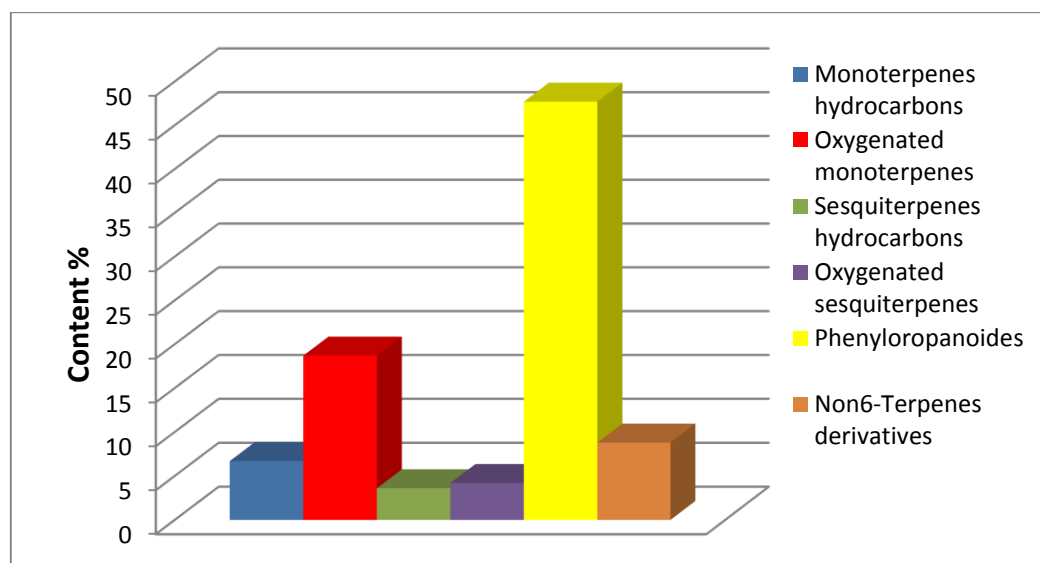
وبمرتبة ثانية Monoterpene بنسبة 25.4 % بصفة خاصة التواجد الأكبر للتربينات الأحادية الأكسوجينية (18.7%) وعلى رأسها مركب cis-chrysanthenyl acetate (8%) و isobornyl acetate (3.6%)، أما القسم الهيدروكربوني فقد تواجد بنسبة متوسطة 6.7% مع تمثيل متقارب للمركبات التابعة له.

وقد تميز زيت الجذور أيضا بوجود مشتقات غير تريينية أكسيجينية بنسبة 13.1%، أما Sesquiterpene فقد كانت آخر مجموعة ترتيبية وبنسبة ضعيفة جدا 7.8% بقسميها الهيدروكربوني 3.6% والأكسوجيني 4.2%.

أما مردودية الزيت فقد قدرت بنسبة 0.03 % للوزن الجاف.



الشكل 14 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لجذور *D. sahariensis* Murb.



الشكل 15 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الطيار لجذور *D. sahariensis* Murb.

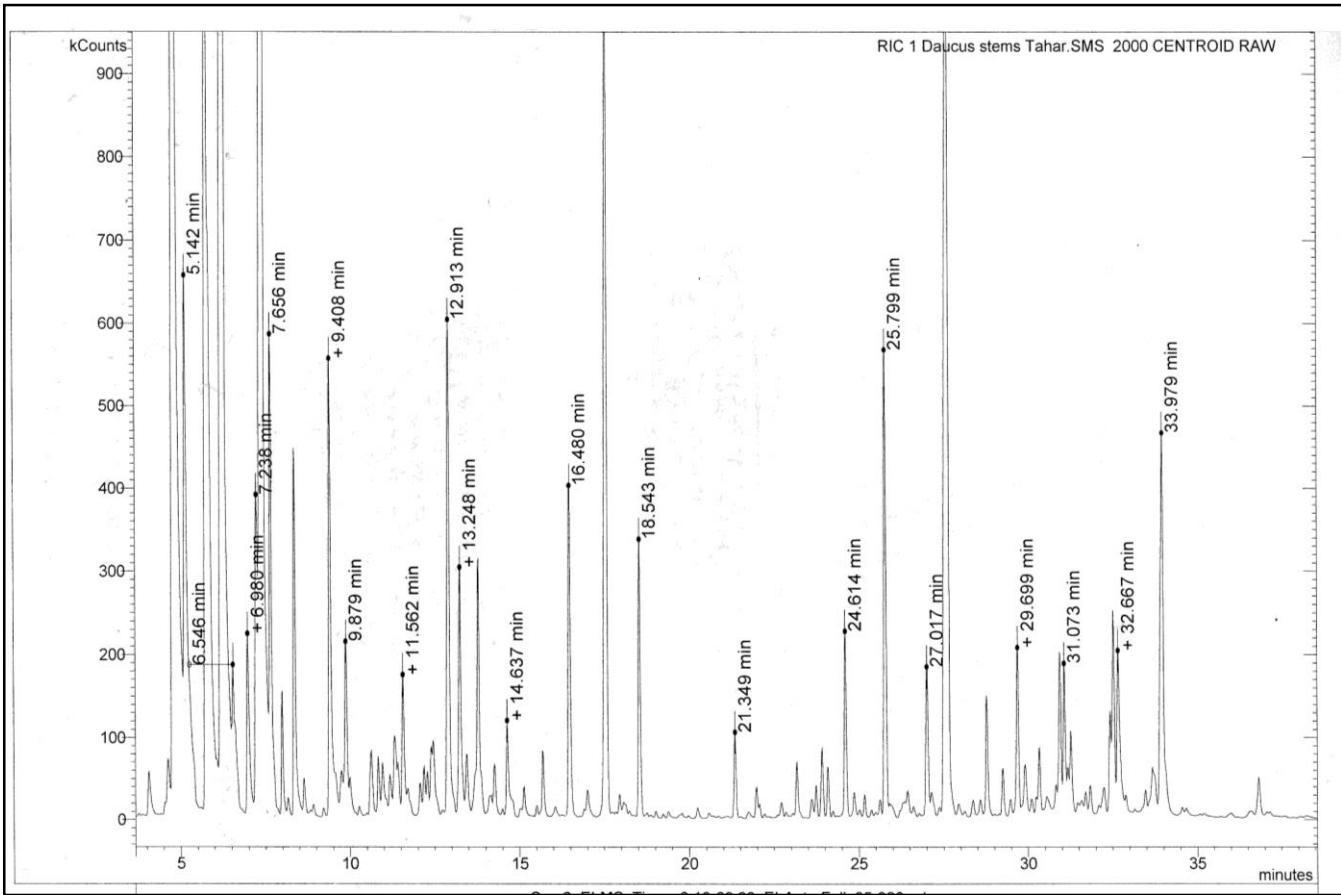
## II-1-1-1-2- زيت السيقان :

تم تحديد 45 مركب مع 14 مركب آخر بشكل أثار أي في المجموع 59 مركب زيتي يوافق 97.3 % من الزيت الكلي وعلى خلاف الأعضاء الأخرى نلاحظ جليا سيطرة كبيرة لمجموعة Monoterpene بنسبة 77 % مثل القسم الهدروكربوني منها 63.8 % ممثلا أساسا في  $\alpha$ -Pinene (18.6%) ، ثم Myrcene (16.7%) و Limonene (13.7%) ، أما القسم الأكسوجيني فقد كان بنسبة 13.1 % أهم مركباته Isobornyl acetate (4%).

تليها مجموعة Sesquiterpene بنسبة 10.8 % مع وجود القسم الهدروكربوني والأكسوجيني بنسب متقاربة 4.3%، 6.5% على الترتيب.

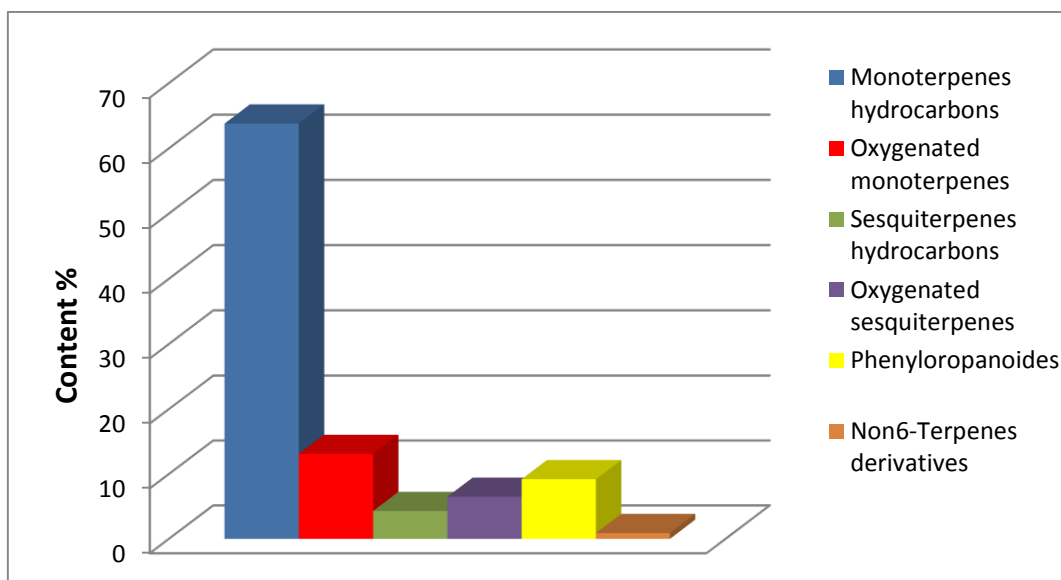
أما Phenylpropanoids فقد كانت آخر مجموعة ترتيبية 9.2 % عكس الأعضاء الأخرى وممثلة بمركبين هما Myristicin (8%) و Methyl chavicol (1.2%).

أما مردودية الزيت فقد قدرت بنسبة 0.06% للوزن الجاف.



الشكل 16 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي

لسيقان. *Daucus sahariensis* Murb.



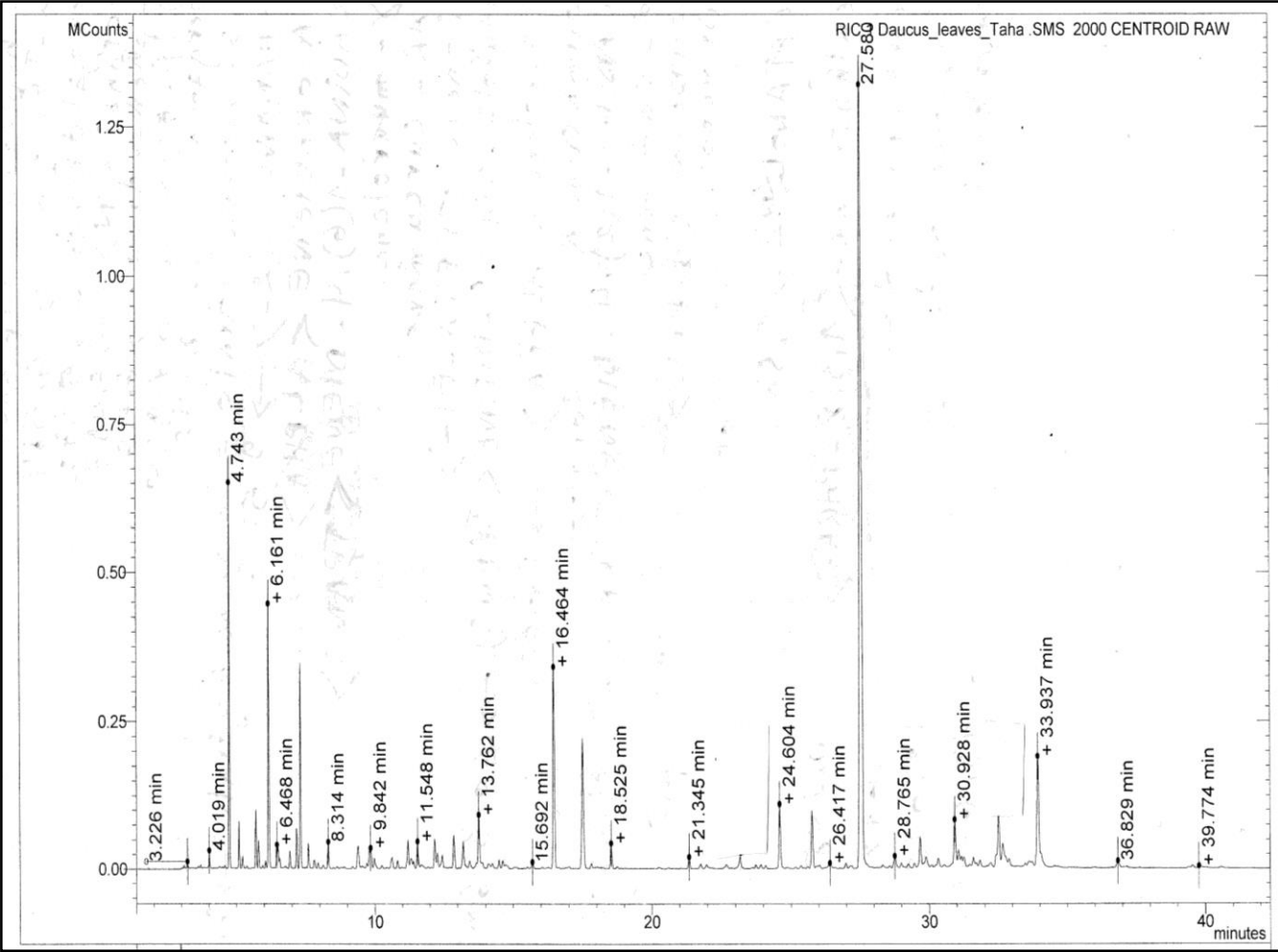
الشكل 17 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الطيار لسيقان *D. sahariensis* Murb.

### II-1-1-1-3- زيت الأوراق :

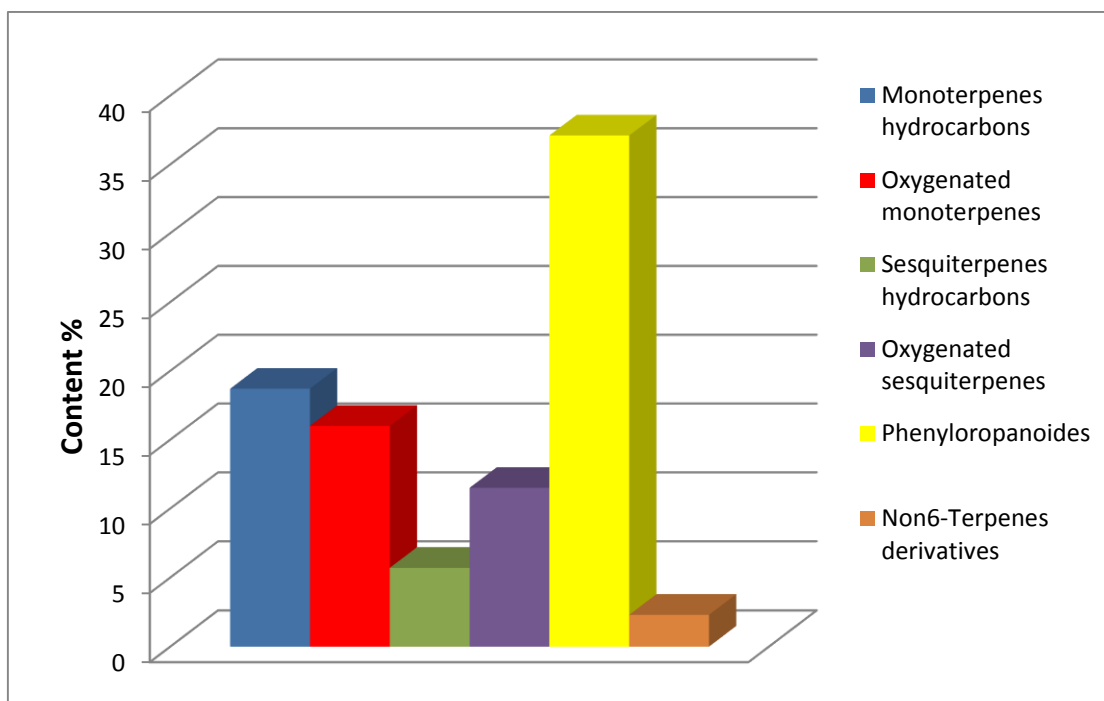
تم تعريف 61 مركب مع 19 مركب آخر بشكل أثار (> 0.1%) أي بمجموع 80 مركب زيتي يوافق 91.3% من الزيت الكلي، تمثلت المجموعة الأساسية في Phenylpropanoids بنسبة 37.1% يمثلها المركب الأساسي Myristicin (34.4%)، تليها مجموعة Monoterpene 34.7% مع نسب متقاربة للمركبات الأساسية فيها والمتمثلة في:  $\alpha$ -Pinene (5.4%) ، *cis*-Chrysanthenyl acetate (5.3%) و *epi*- $\alpha$ -Bisabolol (4.8%).

أما أضعف نسبة فقد مثلتها مجموعة Sesquiterpene 17.2%.

كما بينت التحاليل وجود مشتقات غير تربينية بنسب ضعيفة جدا 2.3% مع مردودية منخفضة للزيت تمثل 0.02% للوزن الجاف.



الشكل 18 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لأوراق *Daucus sahariensis* Murb.

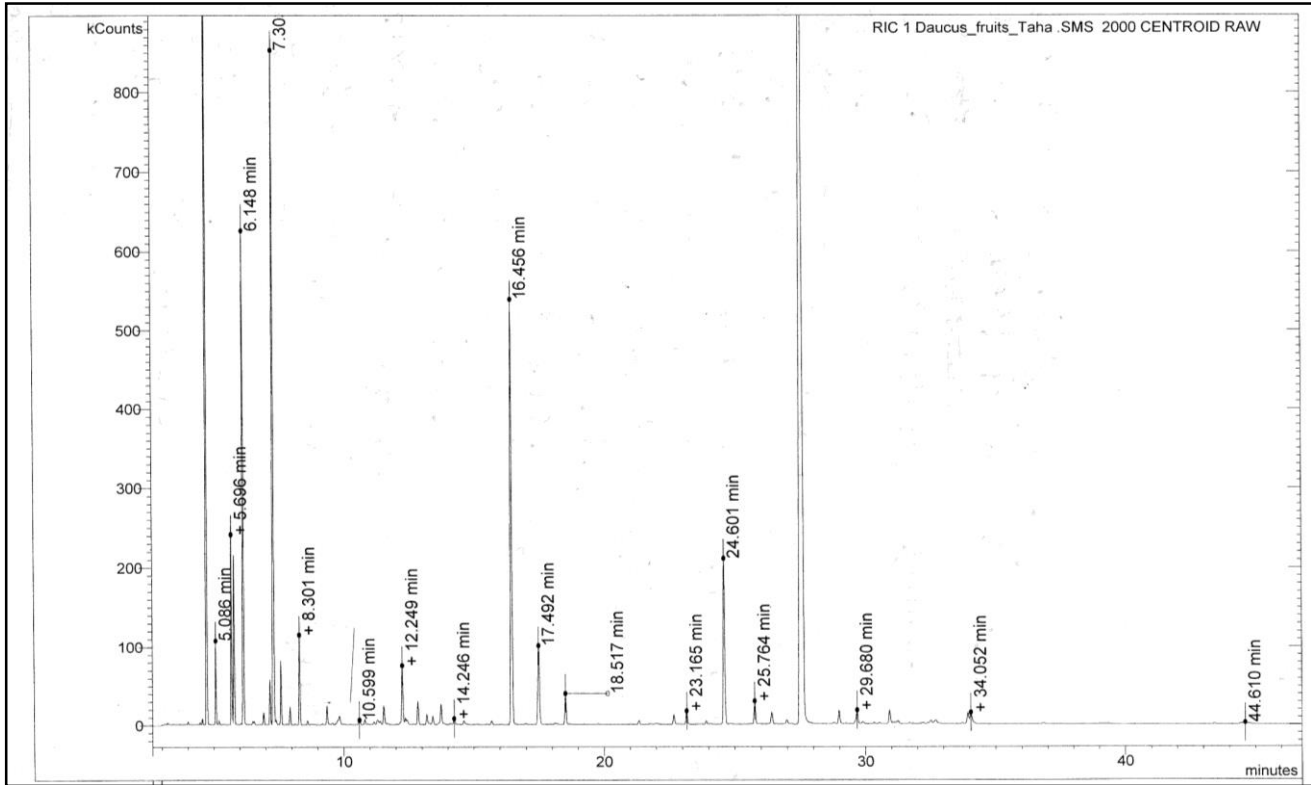


الشكل 19 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الطيار لأوراق *D. sahariensis* Murb.

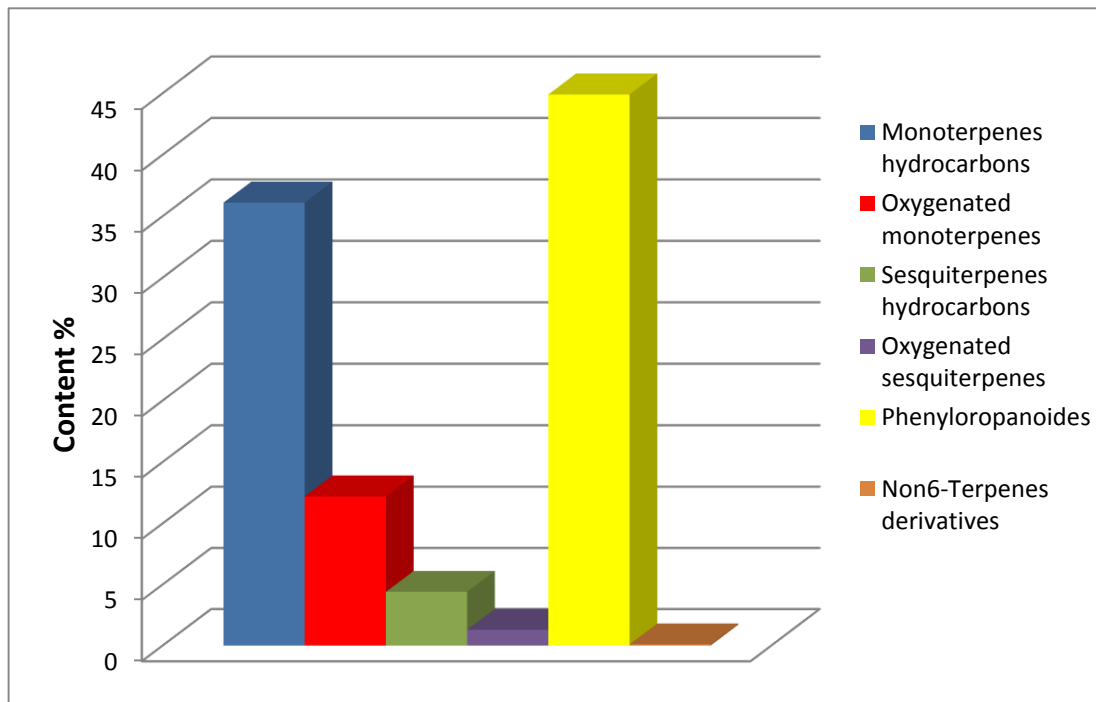
## II-1-1-1-4- زيت الثمار :

تم تحديد 38 مركب مع 39 مركب آخر بشكل آثار أي أنه تم تعريف 77 مركب إجمالي يوافق 98.9 % من مكونات الزيت الكلي ، تميز هذا الزيت بإحتوائه على نسبة كبيرة من Myristicin (43.9%) مما رفع من نسبة مجموعة Phenylpropanoids إلى 44.9% ، متبوعة بمجموعة Monoterpene والتي شكلت فيها المركبات الهيدروكربونية نسبة 36.1 % من أهمها  $\alpha$ -Pinene (13.1%) ، Limonene (9.4%) أما المركبات الأوكسوجينية فكانت بنسبة 12.2% على رأسها *cis*-Chrysanthenyl acetate (7.4%)

بالنسبة لمجموعة Sesquiterpene فقد كانت ضعيفة جدا 5.7%، كما اظهرت التحاليل أيضا وجود مشتقات غير تربينية ضمن زيتها الأساسي على شكل آثار. وبالنسبة لمردودية الزيت فقد منحت الثمار أكبر مردودية مقارنة بالأعضاء الأخرى حيث قدرت ب 0.54 % .

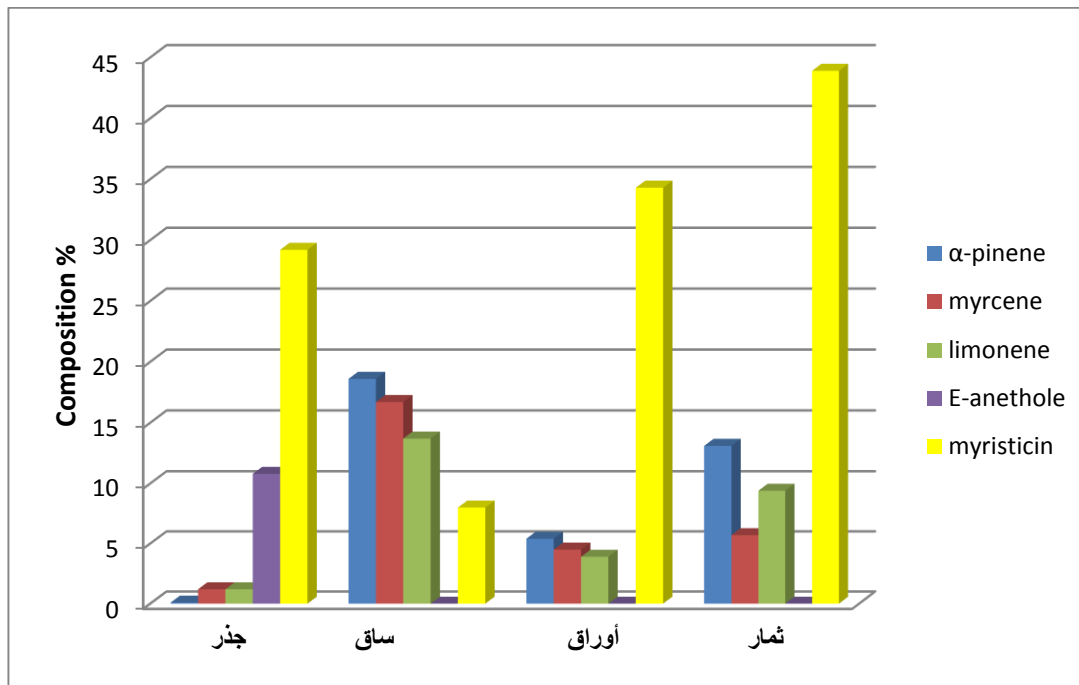


الشكل 20 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لثمار *Daucus sahariensis* Murb.

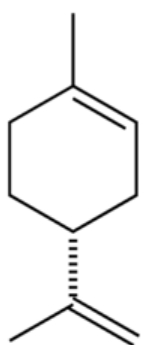


الشكل 21 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الطيار لثمار *D. sahariensis* Murb.

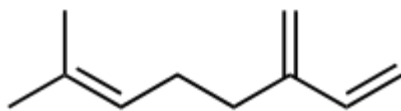
يمكن تمثيل المركبات الأعظمية للزيت الأساسي لمختلف أعضاء *Daucus sahariensis* Murb. في الهستوغرام التالي :



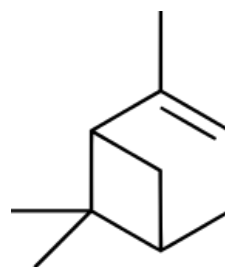
الشكل 22 : هستوغرام المركبات الأعظمية للزيت الطيار لأعضاء *D. sahariensis* Murb.



limonene



Myrcene



α-Pinene

الشكل 23 : بنية بعض المركبات الأعظمية للزيت الأساسي *D. sahariensis* Murb.

في دراسة مشابهة بينت نتائج الباحث Radulovic وآخرون (2011) في دراسة لمختلف أعضاء الجزر المزروع بصربيا أن الزيت الطيار لأزهاره تتكون أساسا من التربينات الأحادية  $\alpha$ -pinene (28%) و sabinene (16.8%) في حين أن ثماره تتكون أساسا من geranylacetate (53.2%) أو من مركب carotol (55.2%) في عينات أخرى، بينما زيت جذوره يتكون أساسا من السسكويتربينات الهيدروكربونية  $\beta$ -caryophyllene و  $\gamma$ -bisabolene.

وبمقارنة نتائج تحليل عيناتنا تبين أن زيت الجذور والأوراق والثمار مميز بسيطرة مجموعة Phenylpropanoids وبصورة خاصة وجود Myristicin كمركب أساسي فيه مع تسجيل أعلى نسبة له في الثمار، الأوراق ثم في الجذور ، أما زيت السيقان فقد انفرد بزيت طيار يحتوي على نسبة عالية من التربينات الأحادية خاصة الهيدروكربونية منها.

لقد بين Radulovic وآخرون (2011) أن الزيت الأساسي للنوع *Daucus guttatus* L. يحتوي على نسبة عالية من الفينيل بروبانويد (59%) وبصورة خاصة مركب Apiole (43.3%) المركب الذي لم يتم تبيان وجوده سابقا بهذه النسبة في شتى أصناف الجزر *D. carota* ssp ولا حتى في مختلف الأنواع التابعة لهذا الجنس *Daucus* sp. أما الزيت الأساسي للنبتة النامية بالجزائر *Daucus crinitus* Desf. فقد كان غنيا جدا بالمركب الفينيل بروبانويدي - Isochavicol بنسبة 39% (Lanfranchit وآخرون، 2010).

وفي تركيا حلل Ozcan et Chalchat (2007) الزيت الأساسي لثمار *Daucus carota* L. المزروع ووجدوا أن المركب الأساسي فيه يتمثل في Carotol (66.78%) متبوعا بمركب Daucene (8.74%) و  $\alpha$ -Farnesene (5.86%)، في حين أن Imamu ومساعدوه (2007) وجدوا أن المركب الأساسي في زيت صنف من الجزر *Daucus carota* ssp sativa المزروع في أذربكستان غني جدا بمركب  $\beta$ -bisabolene (80.49%)، كما بين Mockute و Nivinskiene (2004) أن الزيت الأساسي لصنف الجزر *Daucus carota* ssp carota النامي بليتوانيا يحتوي على نسبة كبيرة من مركبي sabinene و  $\alpha$ -pinene ، والنتائج متقاربة

ومتشابهة مع تلك المتعلقة بالجزر النامي ببولندا (Staniszewska وآخرون، 2001؛ Góra وآخرون، 2002).

أما في لبنان فقد كانا *trans-Methyl isoeugenol* و  $\beta$ -Bisabolene المركبان الزيتيان الأساسيان في ثمار الجزر *Daucus carota ssp. maximus* (Saad وآخرون، 1995).

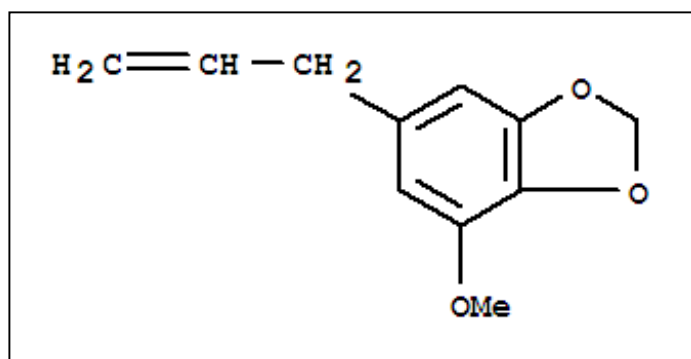
في الصين بين Wu وآخرون (2006) تواجد  $\alpha$ -pinene بنسبة كبيرة في زيت الجزر *Daucus carota subsp. sativus* ، في المقابل كان Daucol و Carotol هما المركبان المسيطران لنفس النوع والنامي بمناطق أسيوية أخرى (Ashraf وآخرون، 1979؛ Benecke وآخرون، 1987) وكذلك للنوع *Daucus carota L. var. boissieri* (Hilal وآخرون، 1979)، لكن Pinilla ومساعدوه (1995) وجدوا أن geranyl acetate يمثل نسبة عالية في الزيت الأساسي لتحت النوع *Daucus carota ssp. Gummifer* . وفي البرتغال كانت النسبة الكبيرة لمركب Elemicin (31%) مميزة جدا للجزر البرتغالي الأصيل *Daucus carota ssp halophilus* (Tavares وآخرون، 2008) أما Chizzola (2010) فقد أشار إلى وجود نسبة معتبرة من  $\alpha$ -terpinolene (26-56%) في الجزر النامي بفيينا.

فيما يتعلق بأنواع أخرى تابعة للجنس *Daucus* فقد بين Flamini ومساعدوه (2006) أن الزيت الأساسي لأوراق وثمار *Daucus gingidium* النامي بإيطاليا يحتوي على نسبة كبيرة من مركبي sabinene (26-60%) و  $\alpha$ -pinene (10-12%)، والنتيجة متشابهة مع تلك التي وجدها Djarri ومساعدوه في الجزائر (2006) حيث بين أن  $\alpha$ -pinene (39.7%) و sabinene (21.2%) هما المركبان الأساسيان أيضا في الجزء الهوائي. *Daucus reboudii* Coss.

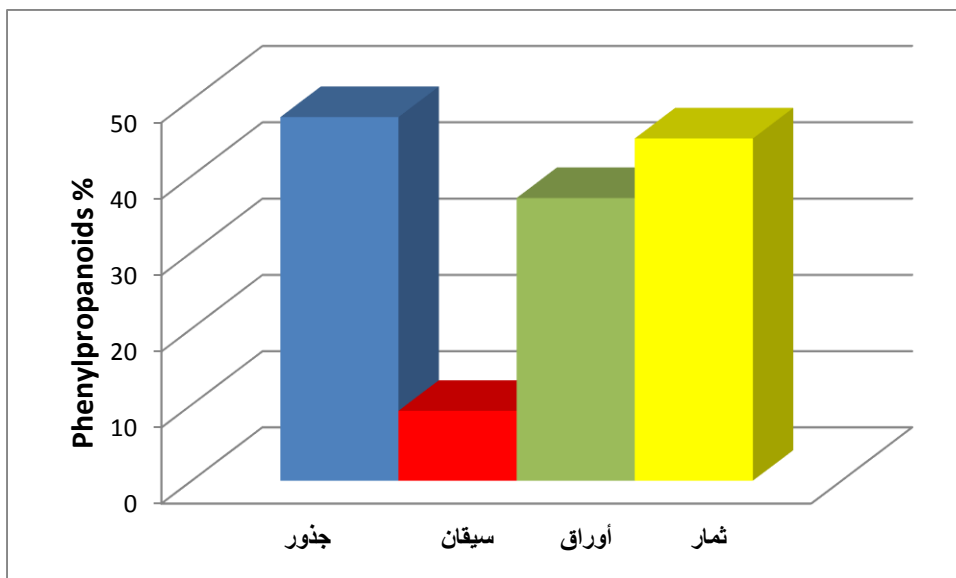
أما Laouer ومساعدوه (2012) فقد حلل الزيت الأساسي لنبتة *Daucus setifolius* Desf. النامية بمنطقتين مختلفتين من الجزائر (بجاية و سكيكدة) ووجدا أن المادة الطيارة فيه تتكون أساسا من sabinene (37.6، 38.4%) و  $\beta$ -pinene (28.6، 41.1%) .

مما جعلنا نستنتج أن مكونات الزيت الأساسي تختلف تبعا لنوع العضو النباتي الشيء الذي بينه سابقا مجموعة من الباحثين لأنواع أخرى تابعة لجنس *Daucus* (Saad وآخرون، 1995; Wu وآخرون، 2006).

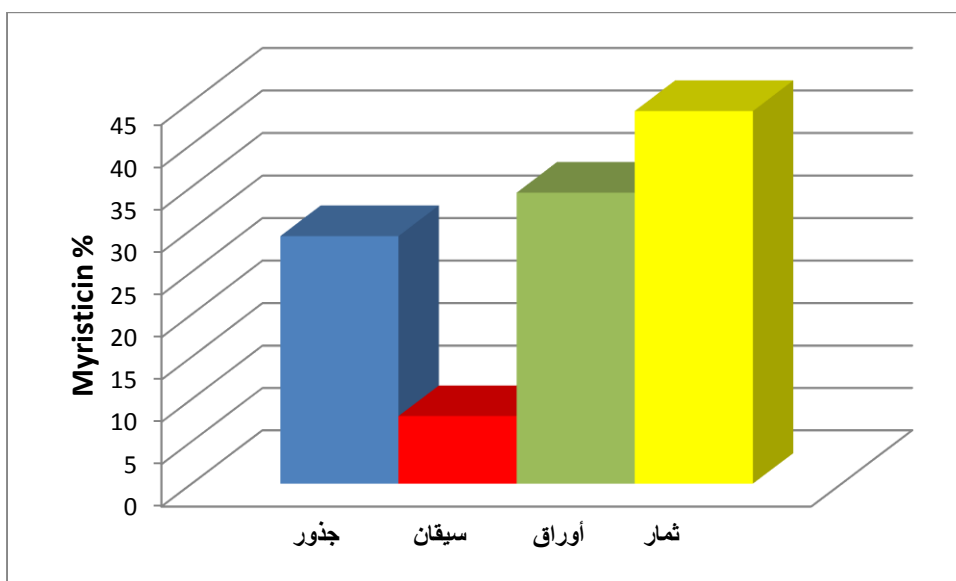
وفي الخلاصة فإن **Myristicin** مركب كيميائي مميز لزيت *Daucus sahariensis* Murb. وهي النتيجة المهمة جدا التي توصلنا إليها بعد تحليل الزيت الأساسي لمختلف أعضاء هذا النبتة الصحراوية حيث كشفنا بصورة خاصة أن ثمارها غنية جدا بهذا المركب **43.9 %** (Smaili وآخرون، 2011) وعند مقارنتها بنتائج الأبحاث المذكورة سابقا لمختلف أجناس *Daucus* اتضح أن هذا المركب غير موجود في معظم الزيوت الأساسية لأنواع هذا الجنس ماعدا في حالة خاصة في زيت جذور نبتة *Daucus carota* L. ssp. *maritimus* النامية بتونس حيث كان متواجدا بنسبة **29.7 %** (Jabrane وآخرون، 2009) وكتلك التي بينها Radulovic وآخرون (2011) في زيت *Daucus guttatus* ssp *zahariadii* النامية بصربيا حيث كانت نسبة **Myristicin** تساوي **15.4 %**.



الشكل 23: مركب Myristicin.



الشكل 24 : هستوغرام تغيرات مجموعة Phenylpropanoides للزيت الطيار في الأعضاء الأربعة لنبته *D. sahariensis* Murb.



الشكل 25 : هستوغرام تغيرات مركب Myristicin في الزيت الطيار للأعضاء الأربعة لنبته *D. sahariensis* Murb.

أما فيما يتعلق بوجود مركب *(E)*-Anethole وبنسبة معتبرة في زيت الجذور فقد كان أيضا ملفتا للإنتباه ويعتبر وجوده حالة استثنائية حيث أن جميع الأبحاث المنشورة حول مكونات الزيت الأساسي لأنواع *Daucus* لم تشر إطلاقا إلى وجود هذا المركب (Smaili وآخرون، 2014)

فمن المعلوم أن (E)-Anethole مركب أساسي يشتهر وجوده ضمن الزيت الطيار لنبتتين من العائلة الخيمية وهو البسباس Gaertner *Foeniculum vulgare* (Mill) و الينسون *Pimpinella anisum* Vill الذي تصل نسبته إلى 92.7% (Garcia-Jimenez، 2000).

## II-1-1-2- دراسة الزيت الأساسي خلال 3 مراحل من النمو:

نتائج تحليل العينات الزيتية لنبته *Daucus sahariensis* Murb. والمجمعة خلال ثلاث مراحل مختلفة من النمو : قبل الإزهار Phase végétative ، الإزهار La floraison ، الإثمار La fructification تم توضيحها في الجدول التالي :

**جدول 11 :** المركبات الكيميائية للزيت الأساسي خلال 3 مراحل من النمو لنبته - *Daucus sahariensis* Murb.

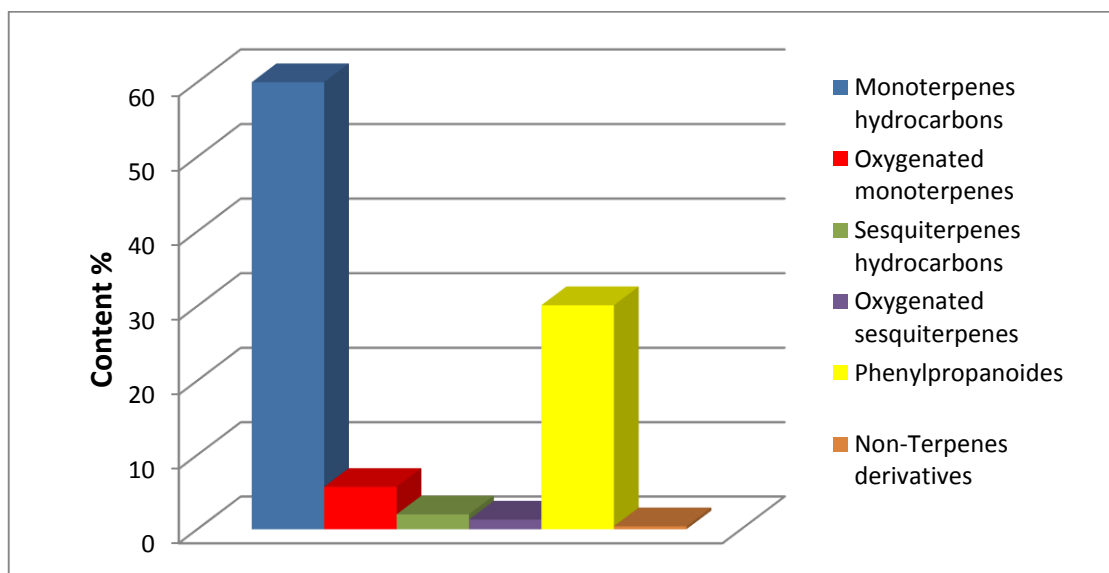
المركبات الزيتية	R.I.	قبل الإزهار (%)	الإزهار (%)	الإثمار (%)
(E)-2-hexenal	856	0.2	Tr	-
Heptanal	900	tr	tr	Tr
Tricyclene	928	-	-	Tr
$\alpha$ -thujene	931	tr	tr	Tr
<b><math>\alpha</math>-pinene</b>	<b>939</b>	<b>13.0</b>	<b>14.8</b>	<b>11.6</b>
Camphene	953	1.1	1.1	0.7
Sabinene	976	0.5	3.1	3.7
$\beta$ -pinene	980	1.0	1.7	1.4
6-methyl-5-hepten-2-one	985	tr	tr	-
<b>Myrcene</b>	<b>991</b>	<b>31.1</b>	<b>20.7</b>	<b>6.7</b>
Octanal	1002	0.2	0.2	Tr
$\alpha$ -phellandrene	1005	tr	-	Tr
$\alpha$ -terpinene	1018	tr	0.2	Tr
<i>p</i> -cymene	1027	1.0	0.9	0.4
Limonene	1031	5.3	9.3	11.5
1,8-cineole	1035	tr	-	Tr

(Z)- $\beta$ -ocimene	1041	3.0	2.4	1.2
Phenylacetaldehyde	1045	tr	tr	Tr
(E)- $\beta$ -ocimene	1051	0.9	0.8	0.4
$\gamma$ -terpinene	1062	0.6	1.1	1.1
<i>cis</i> -sabinene hydrate	1070	tr	tr	Tr
Terpinolene	1089	2.5	2.6	0.6
2-nonanone	1091	tr	-	-
6,7-epoxy myrcene	1095	-	tr	-
<i>trans</i> -sabinene hydrate	1097	-	-	Tr
Perillene	1099	0.5	0.4	-
Nonanal	1103	tr	tr	-
1,3,8- <i>p</i> -menthatriene	1112	tr	tr	-
<i>cis</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	1123	tr	tr	Tr
$\alpha$ -campholenal	1127	tr	tr	Tr
<i>cis</i> - <i>p</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	1139	tr	tr	Tr
<i>trans</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	1141	tr	tr	Tr
<i>cis</i> -verbenol	1142	tr	0.2	Tr
<i>trans</i> -verbenol	1146	tr	-	-
$\beta$ -pinene oxide	1152	-	tr	-
(E)-2-nonenal	1154	tr	tr	-
<i>cis</i> -chrysanthenol	1161	1.2	0.1	0.2
Isoborneol	1162	tr	tr	Tr
terpinen-4-ol	1178	0.2	0.5	0.4
<i>p</i> -cymen-8-ol	1185	0.5	0.6	0.2
$\alpha$ -terpineol	1192	0.2	0.2	0.2
Decanal	1205	tr	tr	Tr
<i>trans</i> -carveol	1219	tr	tr	Tr
<i>cis</i> -carveol	1231	tr	tr	-
Carvone	1244	tr	tr	Tr
<i>cis</i> -chrysanthenyl acetate	1263	1.0	2.9	4.2
isobornyl acetate	1286	2.1	1.9	1.0
<i>trans</i> -pinocarvyl acetate	1299	tr	tr	Tr
$\alpha$ -cubebene	1351	tr	-	Tr
$\alpha$ -copaene	1376	tr	tr	-
$\beta$ -bourbonene	1384	-	tr	Tr
$\beta$ -cubebene	1390	tr	tr	Tr
methyl eugenol	1403	tr	tr	-
Dodecanal	1408	-	-	Tr
$\beta$ -caryophyllene	1418	0.3	tr	-
$\beta$ -cedrene	1420	tr	-	-
<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamotene	1439	tr	-	Tr
$\alpha$ -guaiene	1440	-	tr	-
Aromadendrene	1442	-	-	Tr

$\alpha$ -humulene	1455	0.6	0.7	0.4
(E)- $\beta$ -farnesene	1459	tr	tr	-
$\alpha$ -acoradiene	1463	-	tr	Tr
$\gamma$ -muurolene	1477	tr	tr	-
germacrene D	1480	0.8	0.5	0.5
Valencene	1492	-	tr	-
Bicyclogermacrene	1494	tr	tr	Tr
$\alpha$ -muurolene	1500	-	tr	-
germacrene A	1503	tr	-	-
(Z)- $\gamma$ -bisabolene	1509	0.3	0.2	Tr
trans- $\gamma$ -cadinene	1513	tr	tr	-
<b>Myristicin</b>	<b>1520</b>	<b>29.8</b>	<b>30.0</b>	<b>51.7</b>
cadina-1,4-diene	1532	-	-	Tr
Elemicin	1554	0.3	0.2	0.5
(Z)-3-hexenyl benzoate	1570	tr	tr	Tr
germacrene D-4-ol	1574	tr	-	-
Spathulenol	1576	0.2	0.2	Tr
caryophyllene oxide	1581	tr	tr	Tr
Cedrol	1596	tr	-	-
humulene oxide II	1607	0.4	0.2	Tr
humulane-1,6-dien-3-ol	1620	0.1	0.1	-
1- <i>epi</i> -cubenol	1628	tr	-	Tr
$\gamma$ -eudesmol	1631	tr	-	-
T-cadinol	1641	tr	tr	Tr
$\beta$ -eudesmol	1649	0.1	0.2	0.2
$\alpha$ -eudesmol	1652	-	-	Tr
$\alpha$ -cadinol	1654	0.2	0.2	0.1
$\alpha$ -bisabolol	1683	0.3	0.3	0.2
<i>epi</i> - $\alpha$ -bisabolool	1686	-	-	0.3
<b>Total identified</b>		<b>99.5</b>	<b>98.5</b>	<b>99.4</b>

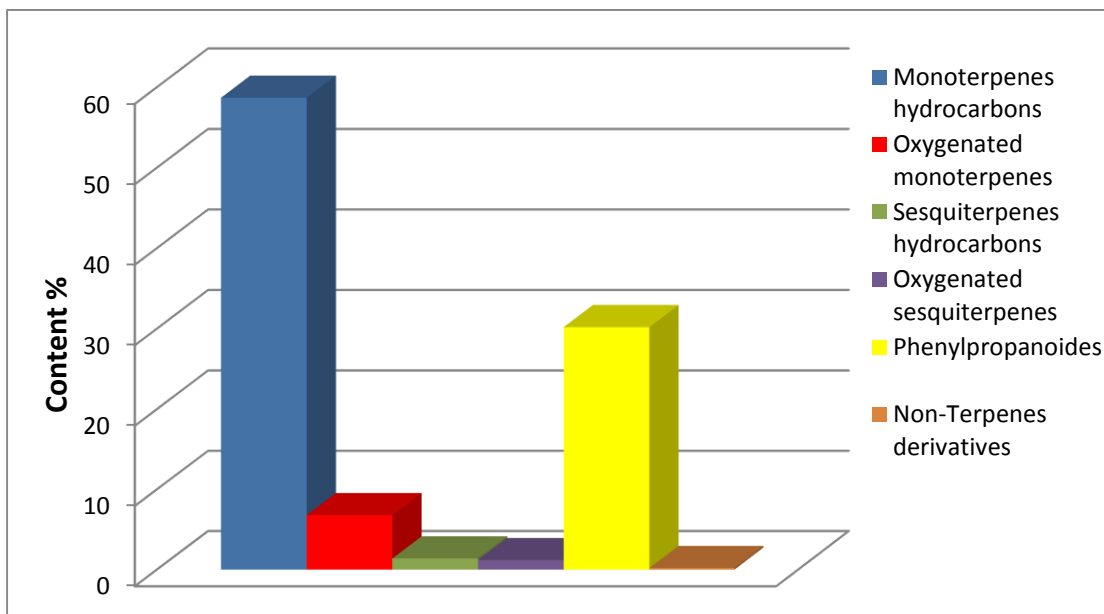
- تم تحديد 88 مركب إجمالي مع وجود إختلاف كمي ونوعي معتبر بين العينات الثلاث ففي زيت المرحلة الأولى ( قبل الإزهار) تم تحديد 74 مركب زيتي يوافق 99.5% من مكونات الزيت الكلي حيث مثلت فيها مجموعة Monoterpene النسبة الكبرى 65.7% (شكلت فيها التربينات الأحادية الهيدروكربونية النسبة العظمى 60% أما الأوكسوجينية فكانت نسبتها ضعيفة جدا 5.7%)، متبوعة بمجموعة Phenylpropanoids بنسبة 30.1% ممثلة أساسا بمركب Myristicin (29.8%) ، أما ثالث مجموعة وهي Sesquiterpene فقد كانت بنسبة ضعيفة جدا 3.3%. إن ما يميز هذه المرحلة هو التركيز الكبير لمركب Myrcene (31.1%).

- في زيت المرحلة الثانية (قبل الإزهار) تم تحديد 69 مركب يوافق 98.5% من مكونات الزيت الكلي ورغم انخفاض نسبة Myrcene إلى 20.7% مع زيادة في  $\alpha$ -pinene و limonene فإن ترتيب المجموعات قد بقي نفسه تقريبا مثل المرحلة السابقة فمجموعة Monoterpene كانت هي الأكبر 65.5% تليها مجموعة Phenylpropanoids بنسبة 30.2% مع بقاء نسبة Myristicin ثابتة تقريبا (30%)، وأخيرا مجموعة Sesquiterpene بنسبة 2.6%.
- في زيت المرحلة الثالثة (الإثمار) تم تعريف عدد أقل من المركبات 62 مركب يوافق 99.4% من المركبات الزيتية الكلية، لكن ما يميز هذه المرحلة هو سيادة مجموعة الفينيل بروبانويد Phenylpropanoids حيث بلغت نسبة 52.2% وهذا بسبب التزايد الكبير جدا لنسبة مركب Myristicin (51.7%)، في حين تتراجع مجموعة Monoterpene إلى المرتبة الثانية 45.5% (بسبب التناقص المعتبر لمركب Myrcene 6.7% و Limonene 11.6%)، وفي الترتيب الأخير مجموعة السيسكوتربينات بنسبة ضعيفة 1.7%.
- في العينات الثلاث تم تحديد مشتقات غير تربينية بنسبة ضئيلة جدا في عيني قبل الإزهار (0.4%) و أثناء مرحلة الإزهار (0.2%)، وعلى شكل آثار في زيت مرحلة الإثمار.

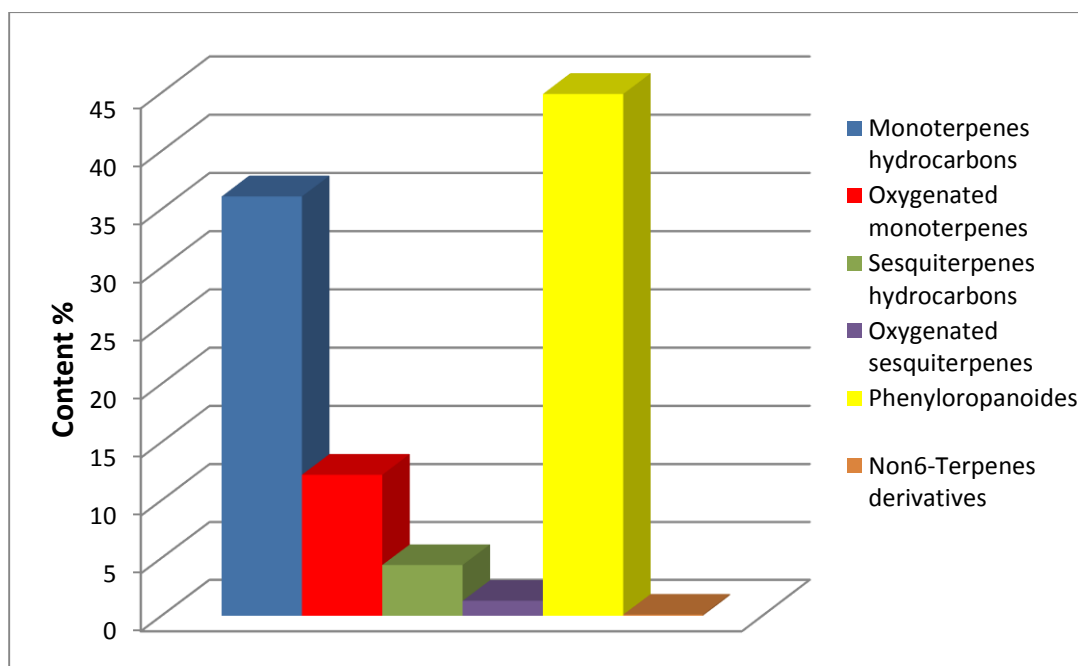


الشكل 26 : هستوغرام المجموعات الكيميائية في الزيت الطيار في مرحلة قبل الإزهار لنبته

*D. sahariensis* Murb.

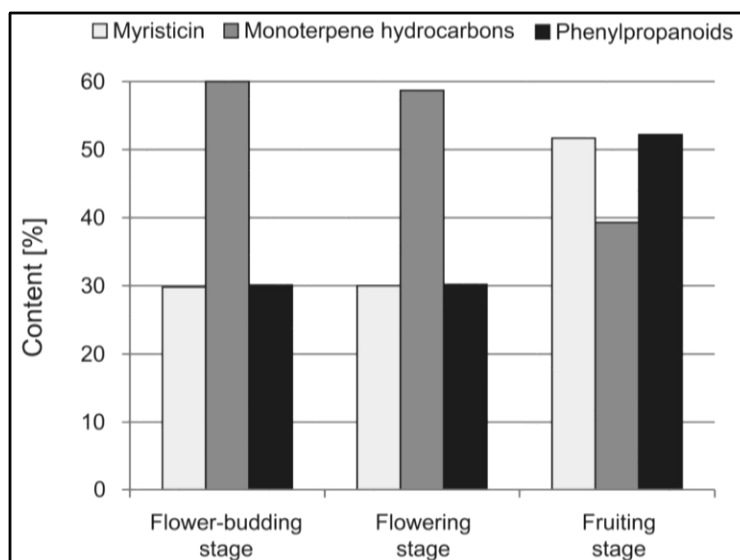


الشكل 27 : هستوغرام المجموعات الكيميائية في الزيت الطيار في مرحلة الإزهار لنبتة *D. sahariensis* Murb.

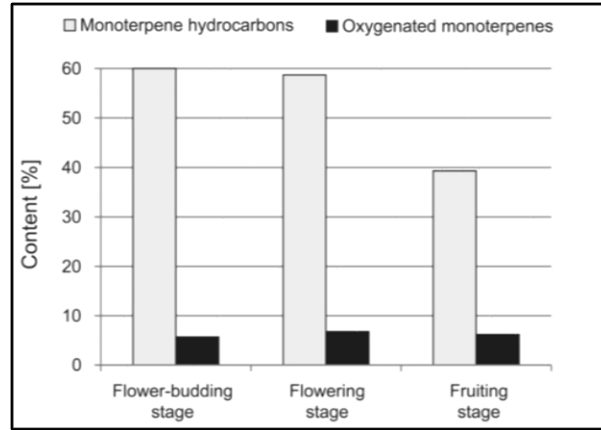


الشكل 28 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الطيار في مرحلة الإثمار لنبتة *D. sahariensis* Murb.

- هذه النتائج تتوافق مع ما بينه باحثون آخرون حول التغير الكمي والنوعي للزيوت الطيارة خلال مراحل النمو المختلفة، فقد وجد Tavares وآخرون (2008) تغيرات كبيرة في مكونات الزيت الطيار لنبته *Daucus carota ssp halophilus* والمجمعة خلال مرحلتين مختلفتين من النمو (الإزهار والإثمار)، بصفة مميزة تزايد تركيز مركب Elemicin ذو الطبيعة الفينيل بروبانويدية من 5.9% إلى 31% ، كما بين Gonny وآخرون (2004) أن نسبة (E) Methyl isoeugenol في الزيت الأساسي لنبته *Daucus carota L.* النامية بكورسيكا – فرنسا تزداد بنسبة معتبرة وملفتة من التركيز 0.1% قبل الإزهار إلى غاية 41.6% في مرحلة الإثمار.
- أما في أجناس أخرى للعائلة الخيمية بينت Neffati وآخرون (2009) وجود تغيرات معتبرة في الزيت الأساسي خلال 4 مراحل من النمو للنبته الخيمية *Pituranthos chloranthus*.
- وفي الخلاصة فإن زيت كل من مرحلتي قبل الإزهار و الإزهار تميز بسيطرة مجموعة التربينات الأحادية الهيدروكربونية (أساسا بسبب التركيز العالي لمركب Myrcene و  $\alpha$ -Pinene)، أما زيت مرحلة الإثمار فقد تميز بسيطرة مجموعة Phenylpropanoids (بسبب التركيز الكبير لمركب Myristicin)، وبالتالي فإن أهم تغير كمي كان في مجموعتي التربينات الأحادية والفينيل بروبانويد دون حدوث أي تغير في مجموعة السيسكوتربينات.



**الشكل 29:** هستوغرام تغيرات Monoterpene hydrocarbons و Phenylpropanoids ومركب Myristicin خلال المراحل الثلاث من النمو لنبته *Daucus sahariensis*



الشكل 30 : تغيرات Monoterpenes hydrocarbones و Oxygenated monoterpenes خلال المراحل الثلاث من النمو لنبته *Daucus sahariensis* Murb.

### II-1-1-3- مردودية الزيت الطيار خلال المراحل الفينولوجية الثلاث:

نتائج تقدير الزيت الأساسي خلال ثلاث مراحل مختلفة من النمو (قبل الإزهار، إثمار، إثمار) لنبته *Daucus sahariensis* Murb. تم تقديرها كميًا حيث بينت النتائج اختلافًا كبيرًا في مردودية الزيت الطيار خلال المراحل الثلاث من النمو حيث كانت ضعيفة في مرحلة قبل الإزهار وقدرت 0.23%، أما في مرحلتَي الإزهار و الإثمار فقد كانت كبيرة 0.63%، 0.68% على التوالي، هذه النتائج مفيدة جدًا لمعرفة أحسن مرحلة يتم فيها جمع أكبر كمية للزيت الأساسي وكذلك معرفة مسبقًا لخصائصه الكيميائية.

وختامًا لهذه النتائج فإن ما يجدر قوله هو أن الزيت الأساسي لهذه النبتة العطرية غني جدًا بمركب المرستسين خاصة في مرحلة الإثمار، هذا المركب العطري هو جزيئة هامة في صناعة العطور ومستحضرات التجميل وكمادة منكهة في الغذاء كما اشتهر هذا الأخير باستعماله في صناعة المبيدات نظرا لخصائصه القاتلة للحشرات (Lichtenstein وآخرون، 1974 ؛ Berembau وآخرون، 1985).

بالإضافة إلى ذلك استخدمت هذه الجزيئة النشطة بيولوجيا في الطب الحديث كعامل مضاد للجراثيم ، ضد الكوليرا والمغص البطني ، الغثيان والإسهال ( Lee et Park، 2011) وضد الإجهاد العصبي (Leiter وآخرون، 2011).

إن النسبة العالية لمجموعة Phenylpropanoids وبصورة خاصة مركب Myristicin في الزيت الأساسي لهذه النبتة الصحراوية يجعلنا نفكر إلى إقتراح زراعة هذه النبتة في المناطق الزراعية الهامشية وإستغلال محصولها الزيتي الذي يعتبر مصدرا جيدا لهذا الجزيئة الفعالة (Myristicin) في بلدنا ، على سبيل المثال لصناعة المبيدات الحيوية المشتقة من النباتات كبدايل للمبيدات الاصطناعية .

## II-1-2- نتائج تحليل الزيت الأساسي لنبتة *Daucus reboudii* Coss.

تم توضيح نتائج تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبتة *Daucus reboudii* Coss. في الجدول التالي :

### الجدول 13 : المركبات الكيميائية ونسبتها للزيت الأساسي لنبتة *Daucus reboudii* Coss.

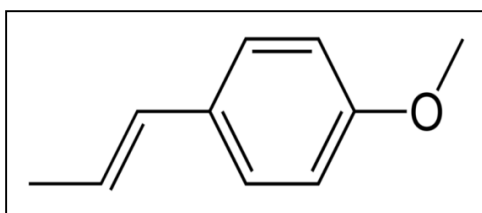
المركبات الزيتية	مؤشر المكوث R.I	نسبة المركبات الزيتية (%)
n-nonane	900	0.5
$\alpha$ -pinene	939	0.3
Myrcene	991	0.6
p-cymene	1027	0.3
Limonene	1031	3.6
$\gamma$ -terpinene	1062	0.1
n-undecane	1100	0.2
<b>Estragol</b>	<b>1197</b>	<b>21.2</b>
N-decanal	1205	0.2
trans-carveol	1219	0.1
Carvone	1244	0.2
Cis-chrysanthenyl acetate	1263	1
<b>(E)-Anethole</b>	<b>1290</b>	<b>59.4</b>
Carvacrol	1300	0.2

Undecanal	1305	0.4
Dodecanal	1409	4.4
$\beta$ -caryophyllene	1418	0.4
$\alpha$ -humulene	1456	0.3
( <i>E</i> )- $\beta$ -farnesene	1460	0.1
germacrene D	1480	0.4
$\beta$ -selinene	1485	0.3
Valencene	1493	0.2
Tridecanal	1509	0.1
Myristicin	1520	0.8
Caryophyllene oxide	1581	0.4
epi- $\alpha$ -bisabolol	1686	0.1
Tetradecanal	1702	0.7
Hexadecanol	1842	0.1
<b>Total identified (%)</b>		<b>%99.3</b>

تم تحديد 28 مركب زيتي وهو ما يوافق 99.3 % من مكونات الزيت الكلي والذي تميز بسيطرة كبيرة جدا لمجموعة الفينيل بروبانويد 81.4 % ممثلة أساسا في مركب (*E*)-Anethole بنسبة 59.4 % متبوعا بمركب Estragol (21.2 %)، وفي المرتبة الثانية تأتي مجموعة التربينات الأحادية 6.7 % من أهمها مركب Limonene (3.6 %) كما تميز زيت هذه النبتة الأصيلة بوجود مشتقات غير تربينية بنسبة 7.3 % يمثلها بصورة رئيسية مركب Dodecanal (4.4 %) أما مجموعة السيسكوتربينات فقد تمثلت بنسبة ضئيلة جدا 2.2 % ، كما بينت النتائج مردودية متوسطة لزيت هذه النبتة بلغت 0.23 % للوزن الجاف لها .

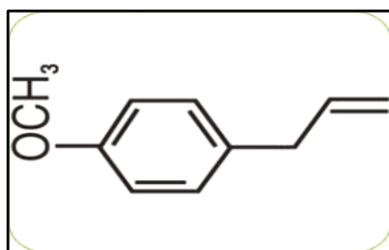
إن هذه النتائج مخالفة تماما لتلك التي وجدها Djarri وآخرون (2006) حيث وجد أن الزيت الأساسي لنفس النوع النامي بمنطقة أخرى - المحمية الوطنية للقالا الطارف والمجمع خلال مرحلة أخرى (مرحلة الإزهار) يتكون أساسا من التربينات الأحادية 84.2 % حيث تمثلت المركبات الأساسية في  $\alpha$ -pinene (39.7 %) و sabinene (21.2 %)، في حين تغيب مجموعة الفينيل بروبانويد كلية في هذا الزيت، في حين كانت هي المجموعة الأساسية في عينتنا المدروسة والمجمعة من المحمية الوطنية بقوراية- بيجاية خلال مرحلة الإثمار، الشيء الذي

يجعلنا نبحث عن تفسير لهذا الإختلاف الكلي بين النتيجتين، إن هذا التغير النوعي الجذري في مكونات الزيت الطيار لهذا النوع بين مرحلة الإزهار (نتائج Djarri ومعاونيه) ومرحلة الإثمار (نتائج بحثنا) قد يكون سببه مرحلة النمو التي لها تأثير كبير في مكونات الزيت الطيار للنبتة العطرية وهو ما لاحظته كثير من الباحثين في زيوت النباتات العطرية، أو لإختلاف العوامل البيئية بين المنطقتين كالتربة والمناخ (Djarri وآخرون، 2008).

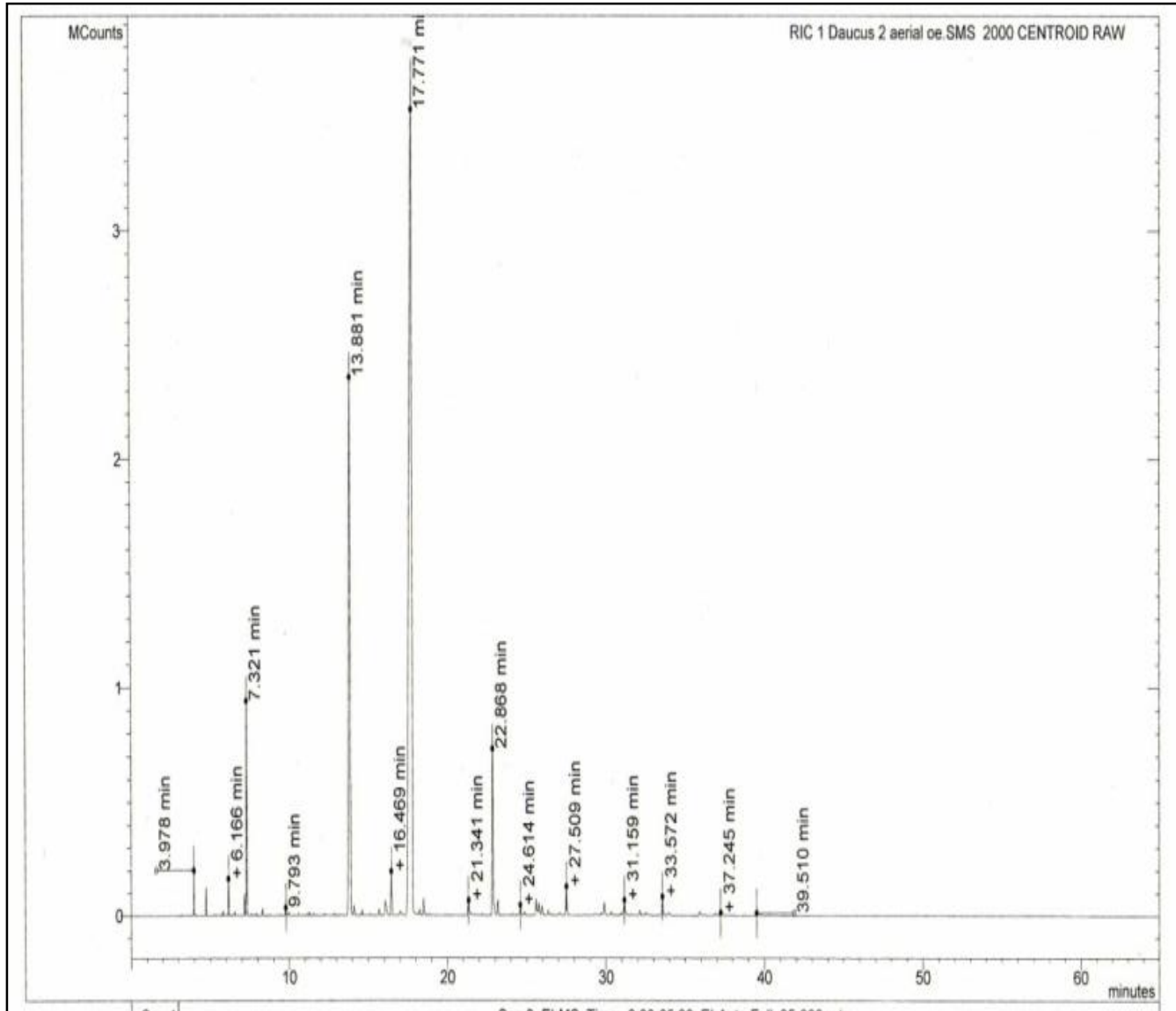


الشكل 31 : مركب (E)-Anethole.

إن (E)-anethole مركب كيميائي يستعمل بكثرة في تعطير وحفظ الأغذية المعلبة لخصائصه المضادة للبكتيريا و الفطريات أو ضد الأكسدة (De marteno وآخرون، 2009) وهو معروف تواجده بنسبة كبيرة في نبتتين من العائلة الخيمية في زيت البسباس -*Foeniculum vulgare* (Mill) Gaertner (Garcia-Jimenez وآخرون، 2000) وفي زيت نبتة الينسون (*Pimpinella anisum* Vill. (Gende وآخرون، 2009).

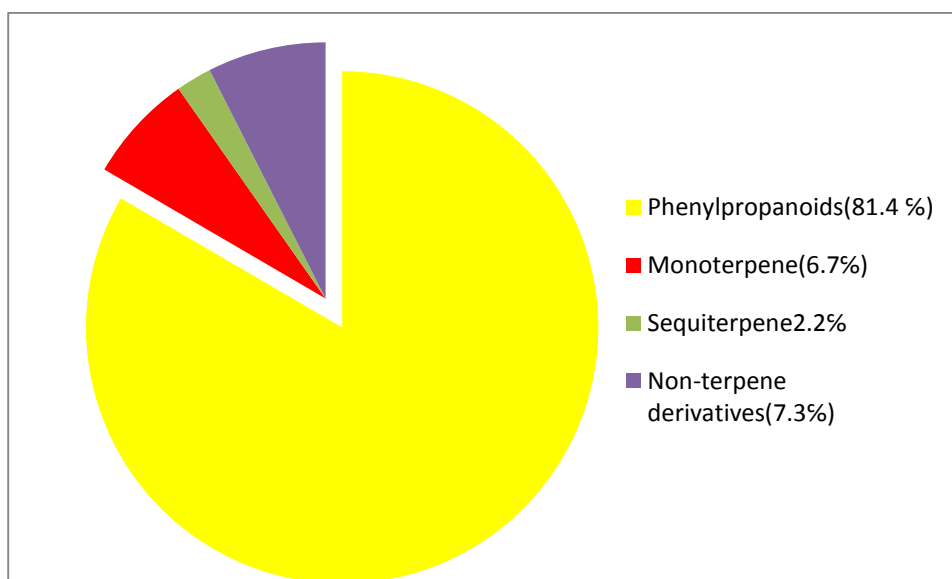


الشكل 32 : مركب Estragol.



الشكل 33 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي  
 لنبته *Daucus reboudii* Coss.

يمكن تمثيل المجموعات الكيميائية الأساسية في الهستوغرام التالي :



الشكل 34 : هستوغرام المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي لنبته *Daucus reboudii* Coss.

### II-1-3- نتائج تحليل الزيت الطيار لأوراق *Bupleurum plantagineum* Desf. خلال مرحلتين من النمو :

نتائج تحليل الزيت الأساسي لأوراق نبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. والمجمعة خلال مرحلتين من النمو تم توضيحها في الجدول التالي :

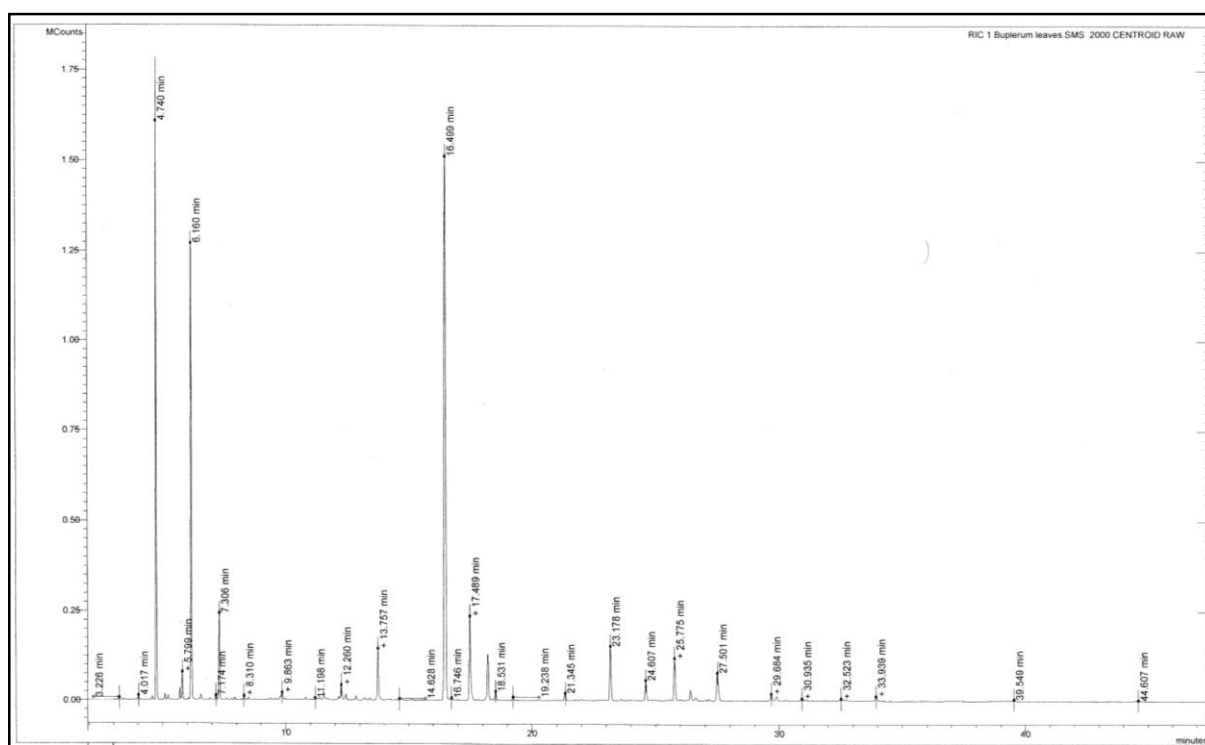
الجدول 14 : المركبات الكيميائية ونسبتها في الزيت الأساسي لأوراق نبتة - *Bupleurum plantagineum* Desf.

المركبات الزيتية	R.I	قبل الإزهار (%)	بداية الإزهار (%)
Heptanal	900	-	0.16
$\alpha$ -Thujene	931	0.2	-
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	939	<b>25.4</b>	<b>18.4</b>
Camphene	953	0.3	0.2
thuja-2,4(10)diene	957	-	0.2
Sabinene	976	0.6	0.4
$\beta$ -pinene	980	1.4	1
<b>Myrcene</b>	991	<b>23.1</b>	<b>16.5</b>
$\alpha$ -phellandrene	1005	-	0.2
p-cymene	1027	-	0.2
<b>Limonene</b>	1031	<b>4.6</b>	<b>3.3</b>
(E)- $\beta$ -ocimene	1051	1.1	Tr

y-terpinene	1062	0.2	-
Trans sabinol	1071	-	0.6
Cis- sabinene hydrato	1073	0.1	-
$\alpha$ -Pinene oxide	1090	0.4	-
Cis- verbinol	1105	0.4	-
Cis- chrysantenol	1160	0.2	-
4- terpineol	1178	0.5	0.2
$\alpha$ -Terpineol	1180	0.2	-
p-cimen 8-ol	1185	-	0.2
Estragol	1190	-	2.5
<b>cis- Chrysanthenyl acetate</b>	<b>1263</b>	<b>33.8</b>	<b>33.5</b>
(E)-anethole	1290	-	4.9
Carvacrol	1291	--	2.5
Myrtenyl acetate	1212	0.3	0.2
$\alpha$ -copaenne	1376	tr	0.4
$\beta$ -caryophyllene	1418	1.9	3
$\alpha$ -humulene	1455	0.4	1.2
Germacrene D	1480	1.4	2.3
Bicyclogermacrene	1494	0.5	0.7
Myristicin	1520	0.7	1.9
Spathulenol	1576	0.2	0.5
Caryophyllene oxide	1581	0.2	0.4
Humulene oxide II	1607	tr	0.2
$\beta$ -eudesmol	1649	tr	0.3
$\alpha$ -cadinol	1654	tr	0.2
$\alpha$ -bisabolool	1683	Tr	0.4
Dill apiole	1701	0.2	Tr
<b>Total identified (%)</b>		<b>96.1</b>	<b>99.2</b>

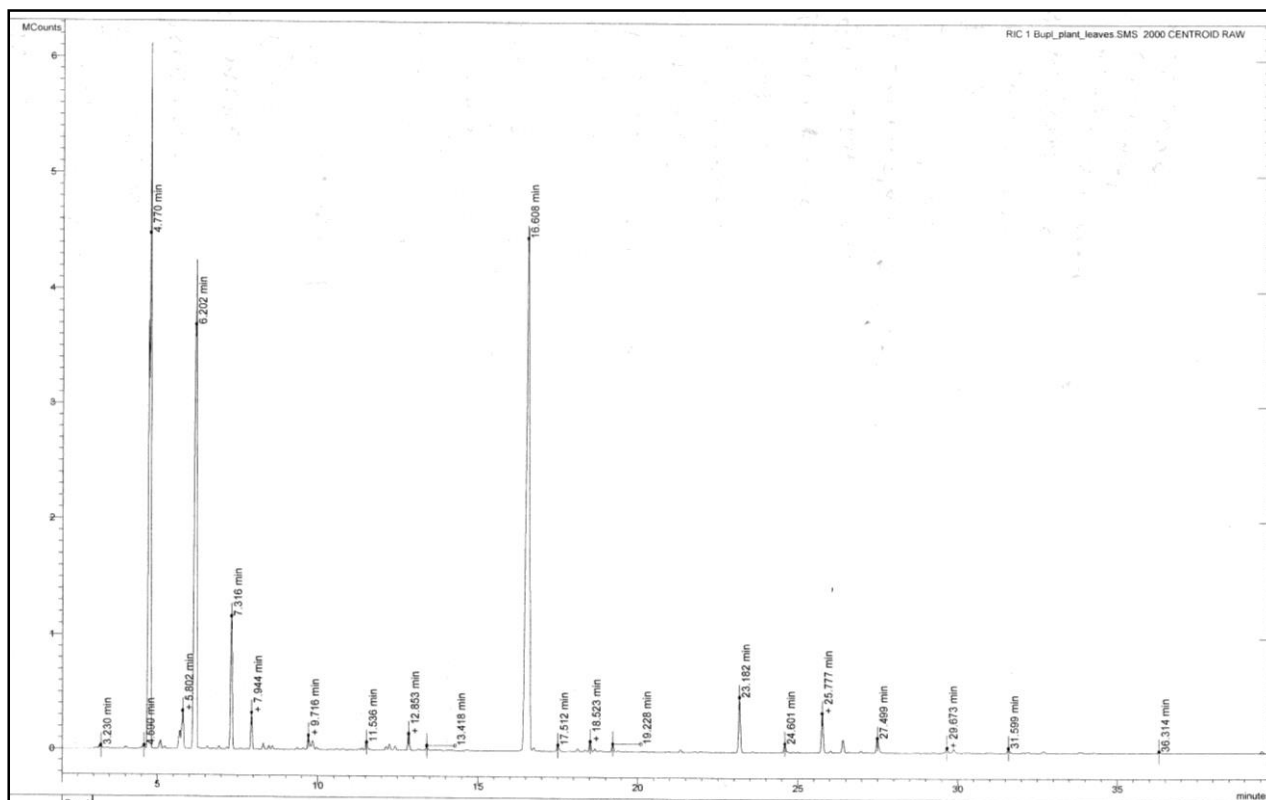
تم تحديد 31 و 29 مركب زيتي في مرحلتي قبل الإزهار والإزهار، يوافق 96.1 % و 99.2 % من مكونات الزيت الكلي على الترتيب، حيث تمثلت المجموعة الأساسية لكلتا العينتين في التربينات الأحادية والتي قدرت ب 76.9 %، 93.5 % على الترتيب أخذت فيها التربينات الأحادية الهيدروكربونية النسبة الكبرى 39.7 % و 56.8 % وممثلة أساسا في مركب  $\alpha$ -pinene و Myrcene و Limonene. بينما تركيز التربينات الأحادية الأوكسوجينية كان معتبرا أيضا 37.2 % ، 36.7 % بسبب النسبة المعتبرة لمركب Cis- chrysanthenyl acetate والذي كان أساسيا في كلتا العينتين. أما مجموعة السيسكوتربينات فقد كانت ضعيفة ومتقاربة في العينتين 9.7 و 4.6 على الترتيب، بالنسبة لمجموعة الفينيل بروبانويد فقد كان هناك فرق بين زيت المرحلتين فالأولى احتوت على نسبة 9.3 % وهي أكبر بكثير إذا قورنت بتركيزها في المرحلة الثانية 0.9 %.

- وبمقارنة نتائج التحليل تبين وجود تغير كمي بسيط وآخر نوعي مهم بين العينتين، فالتغير الكمي تمثل في اختلاف نسبة المركبات الزيتية الأساسية بين أوراق المرحلتين ( قبل الإزهار، الإزهار) حيث كانت وفق الترتيب والنسبة التاليين: *cis*-Chrysanthenyl acetate (33.8-33.5) ،  $\alpha$ -pinene (18.4-25.4) ، myrcene (16.5-23.3) و limonene (4.6-3.3) .
- أما عن التغير النوعي المهم فقد تمثل في تواجد المركبين *(E)*-anethole (4.9%) و Estragol (2.5%) في الزيت الأساسي لمرحلة الإزهار وإنعدامهما تماما في مرحلة قبل الإزهار مما يشير إلى بداية حدوث تغير نوعي في مكونات الزيت الأساسي أثناء الانتقال من قبل مرحلة الإزهار إلى الإزهار أي بداية تفعيل مسار إنتاج مشتقات الفينول بروبانويد بفعل تزايد نشاط الأنزيمات الموافقة لهذه المركبات (وهي النتيجة المشابهة للتي رأيناها سابقا في حالة الزيت الطيار لثلاث مراحل مختلفة من نمو نبتة *Daucus sahariensis*).

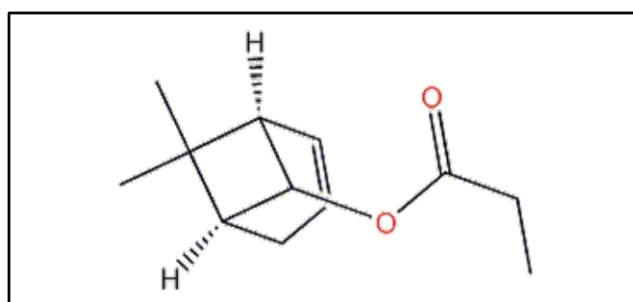


الشكل 35 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي

لأوراق *Bupleurum plantagineum* Desf. أثناء الإزهار.



الشكل 36 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لأوراق *Bupleurum plantagineum* Desf. قبل الإزهار.

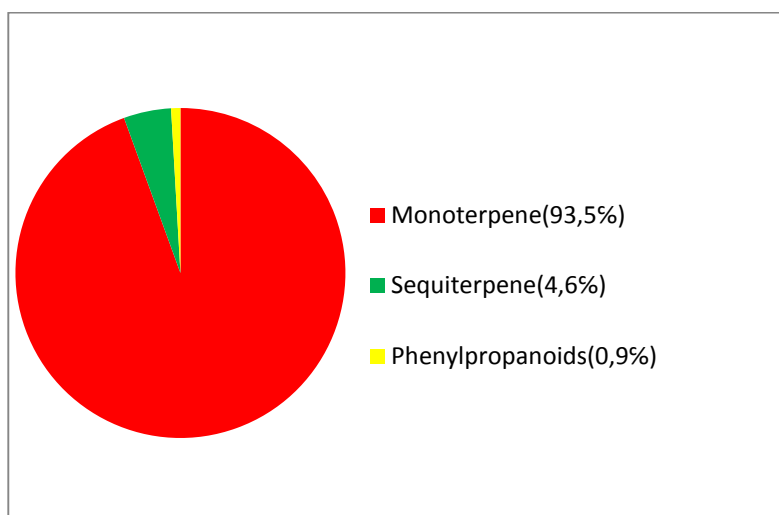


الشكل 37 : مركب *cis*-Chrysanthenyl acetate

- لقد حل الباحث Laouer ومساعدوه (2009) الزيت الأساسي لهذه النبتة الأصيلة والتي جمعها من منطقة مجاورة أخرى Cap Carbon ببجاية وتبين أن المركب الأساسي فيه هو  $\alpha$ -

pinene (31.9%) متبوعا بمركب *cis*-chrysanthenyl acetate (28.2%) ، myrcene (24.8%) و limonene (5.1%).

وبمقارنة هذه النتائج بتلك التي بينها سابقا فإن المركب *cis*-chrysanthenyl acetate كان أساسيا في عينتنا المدروسة بدلا من  $\alpha$ -pinene ، وبنسبة أكبر في كلا زيتي المرحلتين المدروسين من المركب  $\alpha$ -pinene عكس ما وجد الباحث Laouer ومساعدوه أما المركبات الأساسية الإجمالية الأخرى فقد كان الفرق في نسبتها طفيفا وبنفس الترتيب تقريبا.



**الشكل 38:** هستوغرام المجموعات الكيميائية في الزيت الأساسي *B. plantagineum* Desf.

#### **II-1-4- نتائج تحليل الزيت الطيار لأزهار *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) :**

لخصت نتائج تحليل الزيت الأساسي لأزهار *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) في

الجدول التالي :

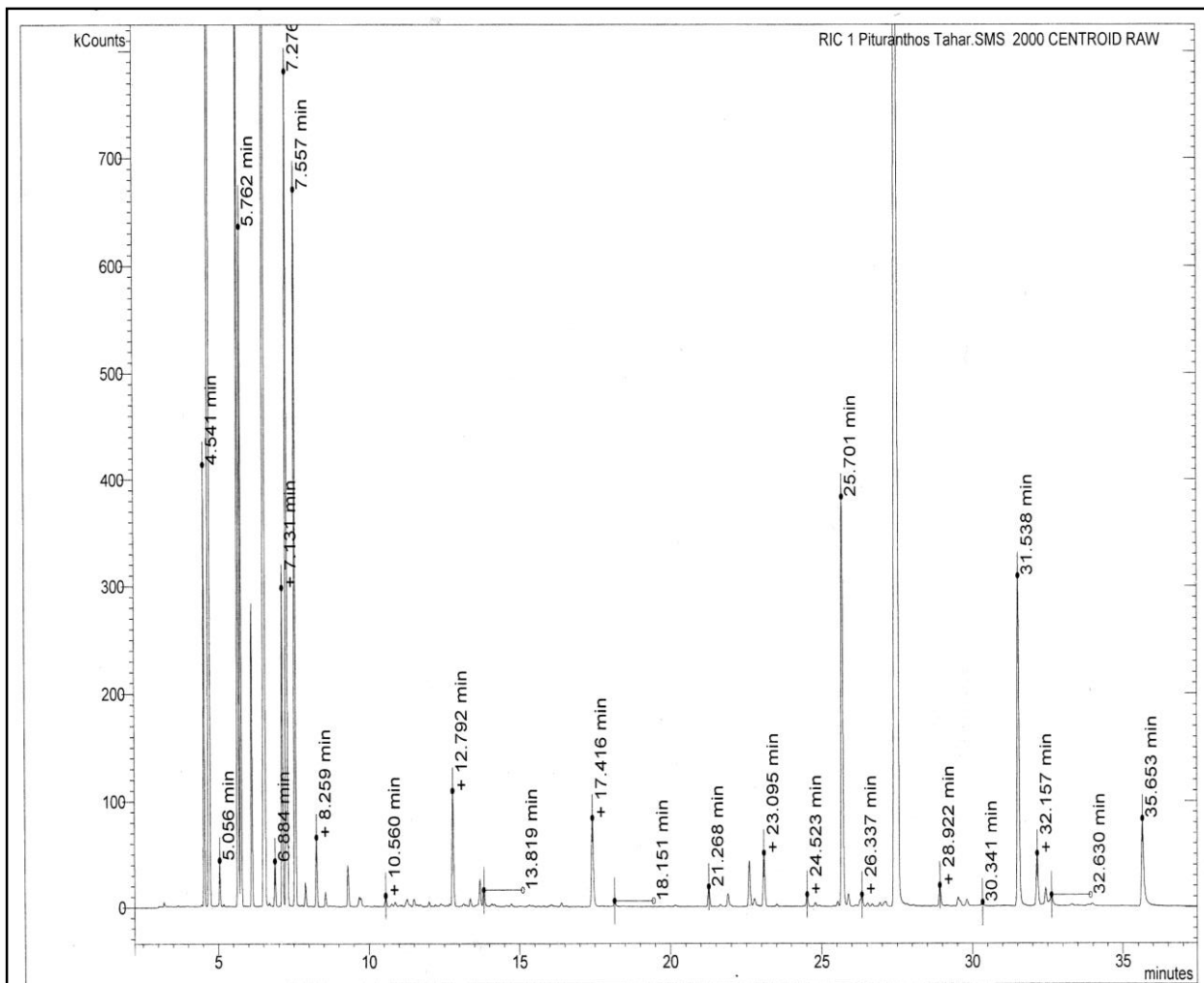
الجدول 15 : المركبات الكيميائية ونسبتها في الزيت الأساسي لأزهار - *Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.)

المركبات الزيتية	R. I	النسبة (%)
$\alpha$ -thujene	931	2.1
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>939</b>	<b>17.4</b>
Camphene	953	0.2
Sabinene	976	7.5
$\beta$ -pinene	980	3.7
Myrcene	991	1.7
<b><math>\alpha</math>-Phellandrene</b>	<b>1005</b>	<b>15.6</b>
$\alpha$ -terpinene	1018	0.7
<i>O</i> -cymene	1026	1.9
$\beta$ -phellandrene	1032	6.1
( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimene	1041	4.7
( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimene	1051	0.2
$\gamma$ -terpinene	1062	0.5
Terpinolene	1070	0.3
<i>trans</i> --sabinene hydrate	1089	0.2
terpinen-4-ol	1178	0.9
methyl chavicol	1197	0.3
( <i>E</i> )-anethole	1290	1.0
$\alpha$ -copaene	1376	0.2
$\beta$ -cubebene	1390	0.1
methyl eugenol	1403	0.5
$\beta$ -caryophyllene	1418	0.5
germacrene D	1480	4
Bicyclogermacrene	1494	0.2
<b>Myristicin</b>	<b>1520</b>	<b>24.1</b>
Elemicin	1554	0.2
germacrene D -4-ol	1576	0.1
epi- $\alpha$ -cadinol	1642	0.6
$\beta$ -eudesmol	1649	0.2
$\alpha$ -cadinol	1654	0.2
apiole	1678	3.4
<b>Total identified (%)</b>		<b>99.8</b>

تم تحديد 31 مركب زيتي يوافق 99.8 % من الزيت الكلي تميز بتواجد مجموعة التربينات الأحادية بنسبة كبيرة 63.7 % من أهمها المركبات الهيدروكربونية  $\alpha$ -pinene (17.4 %) ،  $\alpha$ -Phellandrene (15.6 %) ، Sabinene (7.5 %) و  $\beta$ -Phellandrene (6.1 %) أما المجموعة الكيميائية الثانية فقد تمثلت في الفينيل بروبانويد 29.5 % ممثلة بصورة رئيسية في مركب Myristicin (24 %) مع apiole بنسبة ضئيلة (3.4 %).

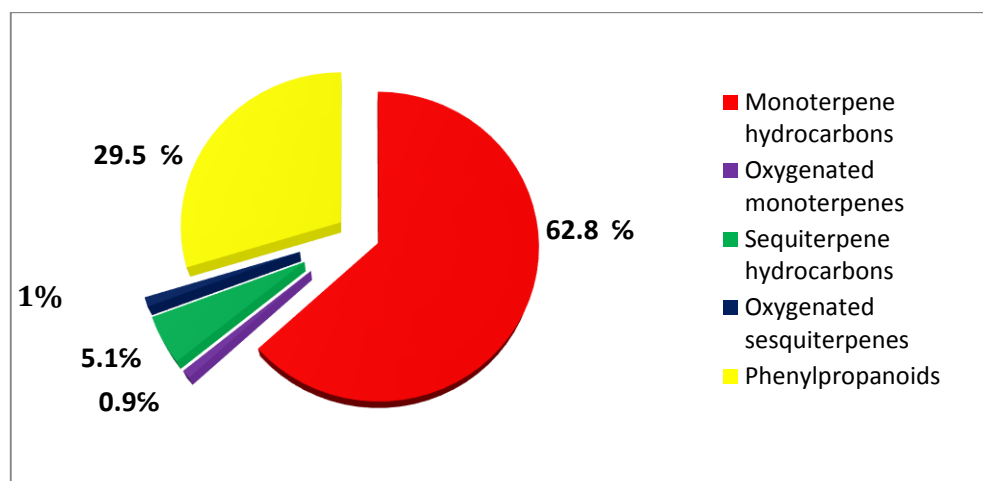
وفي الترتيب الأخير مجموعة السيسكوتربينات بنسبة ضئيلة جدا 6.1 % من أهمها مركب Germacrene D بنسبة 4 % .

أما مردودية زيت الأزهار فقد كانت معتبرة وقدرت 1 % من الوزن الجاف.



الشكل 39 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لأزهار  
*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) نبتة

كما يمكن تمثيل نسبة المجموعات الكيميائية الممثلة في الزيت الأساسي لهذه النبتة في الهستوغرام التالي :



**الشكل 40:** هستوغرام المجموعات الكيميائية في الزيت الأساسي لأزهار نبتة *Pituranthos scoparius*(Coss.et Dur.)

## II-1-5- نتائج تحليل الزيت الطيار للجزء الهوائي *L. Caucalis daucoides* :

نتائج تحليل الزيت الأساسي للجزء الهوائي *L. Caucalis daucoides* تم توضيحها في الجدول التالي :

**الجدول 16 :** المركبات الكيميائية ونسبتها في الزيت الأساسي للجزء الهوائي - *Caucalis daucoides* L.

المركبات الزيتية	R.I	نسبة المركبات (%)
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	939	<b>22.2</b>
camphene	954	0.4
Sabinene	977	0.7
$\beta$ -pinene	980	3.5
myrcene	992	6.88
p-cymene	1027	0.6
Limonene	1031	1.1
<b><math>\beta</math>-Phellandrene</b>	<b>1032</b>	<b>15.6</b>
$\gamma$ -terpinene	1062	2.9
Linalol	1100	0.3
Thymol	1291	1.5

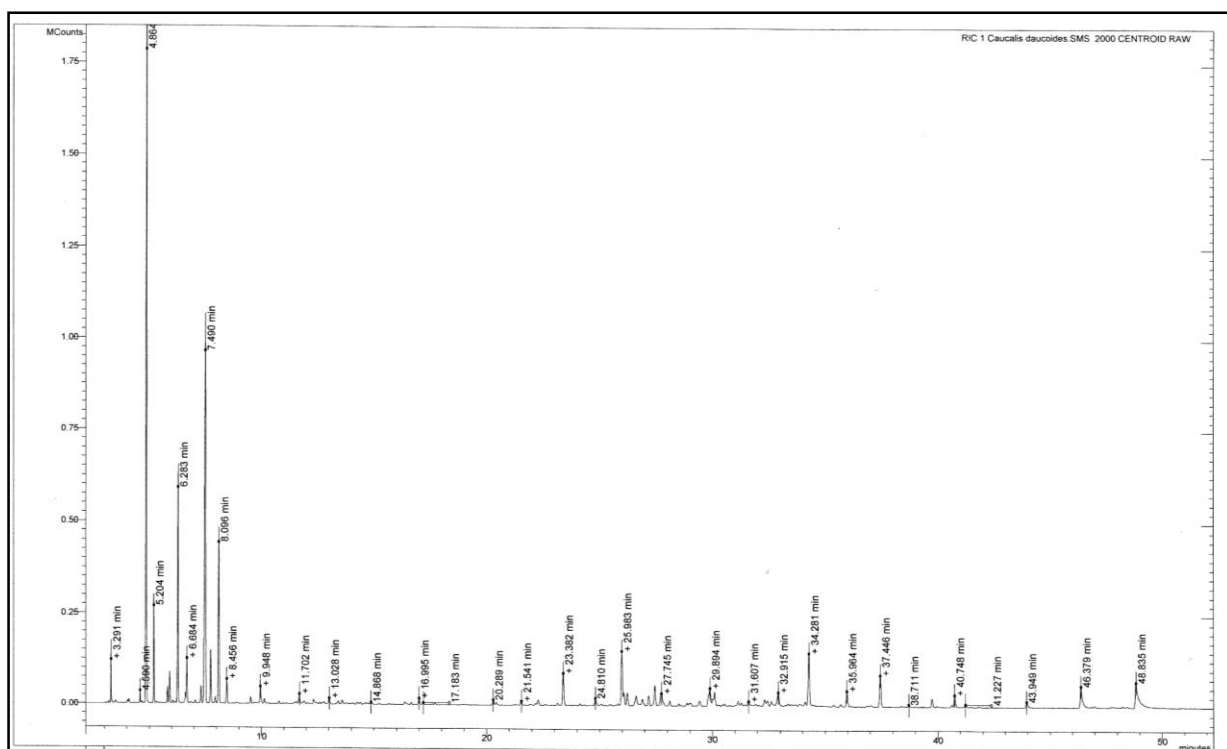
$\alpha$ -cubebene	1351	0.5
$\alpha$ -copaene	1376	0.9
$\beta$ -bourbonene	1384	0.8
$\beta$ -cubebene	1390	1.7
$\beta$ -caryophyllene	1418	0.5
$\beta$ -gurjunene	1428	0.2
$\alpha$ -humulene	1455	0.4
germacrene D	1480	2.7
Bicyclgermacrene	1494	3.2
$\alpha$ -bulnesene	1503	0.2
$\beta$ -bisabolene	1509	4.4
<i>trans</i> - $\gamma$ -cadinene	1513	0.3
Myristicin	1520	2.5
Spathulenol	1576	0.8
Globulol	1584	0.3
humulene oxide II	1607	0.2
Dill apiole	1622	4.7
T- cadinol	1641	0.3
$\alpha$ -cadinol	1654	0.5
Apiole	1680	4.5
<b>Total identified (%)</b>		<b>87.3</b>

تم تعريف 31 مركب زيتي ما يوافق 87.3 % من مكونات الزيت الكلي حيث احتلت مجموعة Monoterpene النسبة الكبرى 55.9 % وبصورة خاصة التركيز الكبير للمركب الهيدروكربوني  $\alpha$ -Pinene (22.2 %) ومركب  $\beta$ -Phellandrene (17.6 %) وفي المرتبة الثانية مجموعة Sesquiterpene بنسبة 17.17 % ممثلة بصورة أساسية في مركب  $\beta$ -Bisabolene (4.4 %) أما ثالث مجموعة مهمة فقد تمثلت في مجموعة Phenylpropanoids بنسبة 11.6 % من بين المركبات الأساسية فيها dill-apiole (4.7 %) و Apiole (4.5 %).

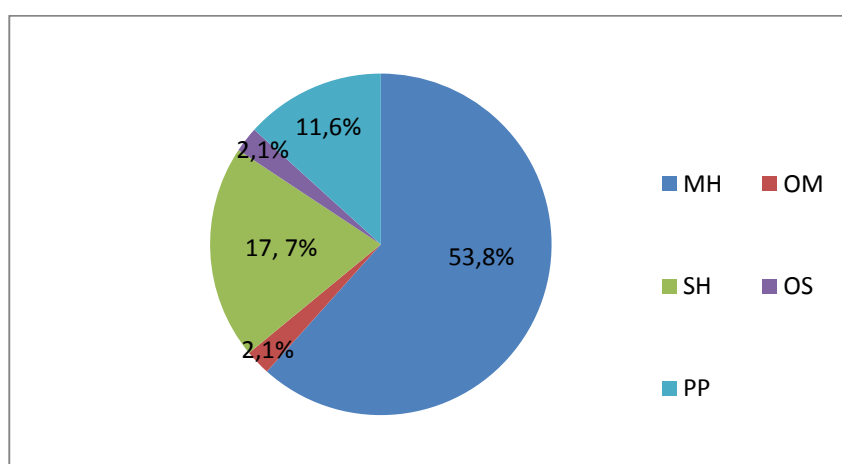
أما مردودية الزيت للنبته فقد كانت ضعيفة جدا وقدرت 0.07 % للوزن الجاف.

إن النتائج المحصل عليها تختلف تماما عن نتائج Bucar ومساعدوه (2001) الذي بين أن مجموعة التربينات نصف الثلاثية Sesquiterpenes هي المجموعة الكيميائية المسيطرة في زيت هذه النبتة النامية بأوربا وبصورة أساسية في مركب Spathulenol. وهذا الاختلاف يمكن أن يفسر بتأثير العوامل البيئية السائدة في تلك المنطقة وبصورة أساسية طبيعة المناخ أو التربة.

بالنسبة للمجموعات الكيميائية الأساسية فيمكن تمثيلها في الشكل التالي :



الشكل 41 : كروماتوغرام الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة (GC-MS) للزيت الأساسي لنبتة *L. Caulis daucoides*



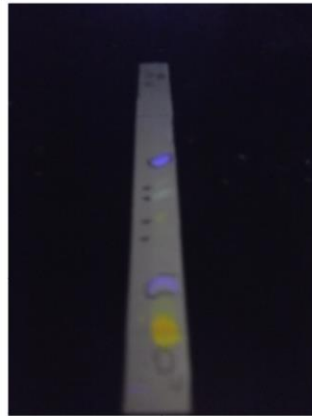
الشكل 42 : نسب المجموعات الكيميائية للزيت الأساسي لنبتة *Caulis daucoides* L.

## II-2- المركبات الفينولية :

### II-2-1- التحليل الكروماتوغرافي :

نتائج التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات الموضوعة في المذيبات متزايدة القطبية (الهكسان، الكلوروفورم، الميثانول) للنباتات الخمس المدروسة تم ملاحظتها في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM ومقارنتها، وهذا من خلال عدد ونوع المركبات و البقع المسجلة ، لونها ومعامل إنسيابها.

ضمن المستخلصات الأربعة لنفس النبات لاحظنا إنعدام كلياً للمركبات الفينولية في مستخلص الهكسان ، ووجود بقعة زرقاء واحدة (كومارين) في مستخلص الكلوروفورم أو مستخلص كلوروفورم- ميثانول(9-1)، أما البقع البرتقالية والصفراء (الفلافونويد) فقد كانت جلية وواضحة في مستخلص الميثانول (5 بقع) مع ظهور بقعتين زرقاوتين ذات معامل انسياب  $R_{f1}=0.3$  ،  $R_{f2}=0.7$  وهذا تحت جهاز الأشعة فوق بنفسجي UV حيث تم استنتاج نوع من أنواع المركبات الكومارينية (بقعتين زرقاوتين) وهذا باستعمال أحد المركبات القياسية والذي تمثل في سكوبوليتين ( $R_{f2}=0.7$ ).



الصورة 10 : كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلص الميثانولي لثمار

*Daucus sahariensis*

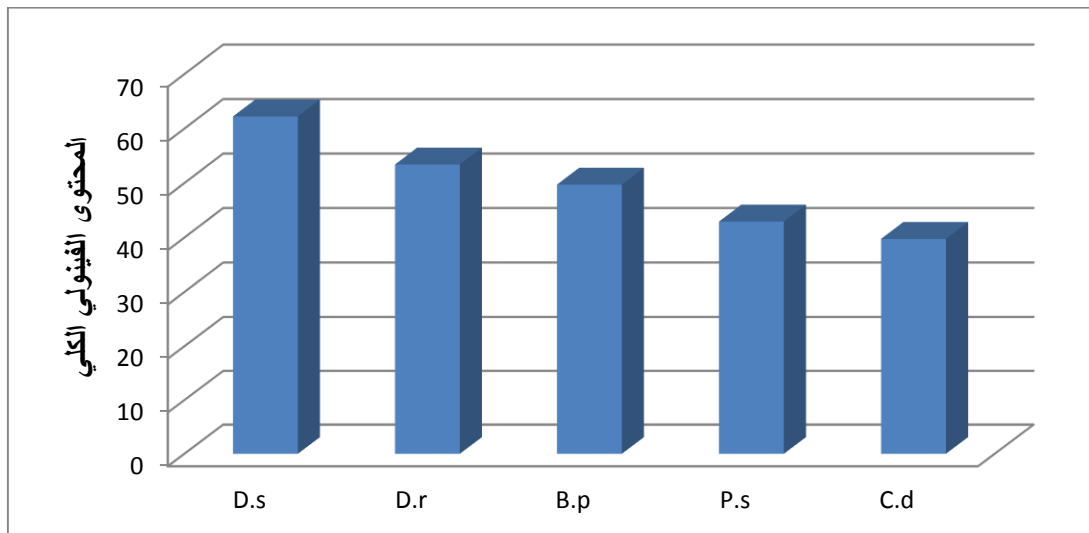
ونظرا لكون المستخلص الميثانولي يحتوي على أكبر عدد من المركبات الفينولية إستعملنا هذا الأخير في تجاربنا المولية المتعلقة بالفعالية البيولوجية.

## II-2-2- نتائج تقدير الفينولات الكلية :

نتائج تقدير المحتوى الفينولي الكلي للنباتات الخمس المدروسة تم توضيحها في الجدول التالي :  
**جدول 17 : نتائج المحتوى الفينولي الكلي للنباتات الخمس المدروسة.**

	<i>D.sahariensis</i>	<i>D.reboudii</i>	<i>B.plantagineum</i>	<i>P.scoparius</i>	<i>C.daucoides</i>
المحتوى الفينولي الكلي µg PE/mg	62.23±0.32	53.41±0.46	49.72±0.36	42.93±0.20	39.75 ±0.59

تم تقدير المحتوى الفينولي الكلي بطريقة Folin-Ciocalteu إذ احتوت هذه النباتات على نسبة مختلفة من الفينولات الكلية حيث أظهر النوعان *Daucus reboudii* و *Daucus sahariensis* نسبة عالية ومتقاربة  $62.23 \mu\text{g PE/mg}$ ،  $53.41$  متبوعة بنبته *Bupleurum plantagineum*  $49.72 \mu\text{g PE/mg}$  أما *Pituranthos scoparius* و *Caucalis daucoides* L. فقد احتوى النوعان على نسبة أقل  $42.93$  ،  $39.75 \mu\text{g PE/mg}$  على الترتيب.



**الشكل 43 : هستوغرام المحتوى الفينولي الكلي للنباتات الخمس المدروسة.**

(D.s=*D.sahariensis* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

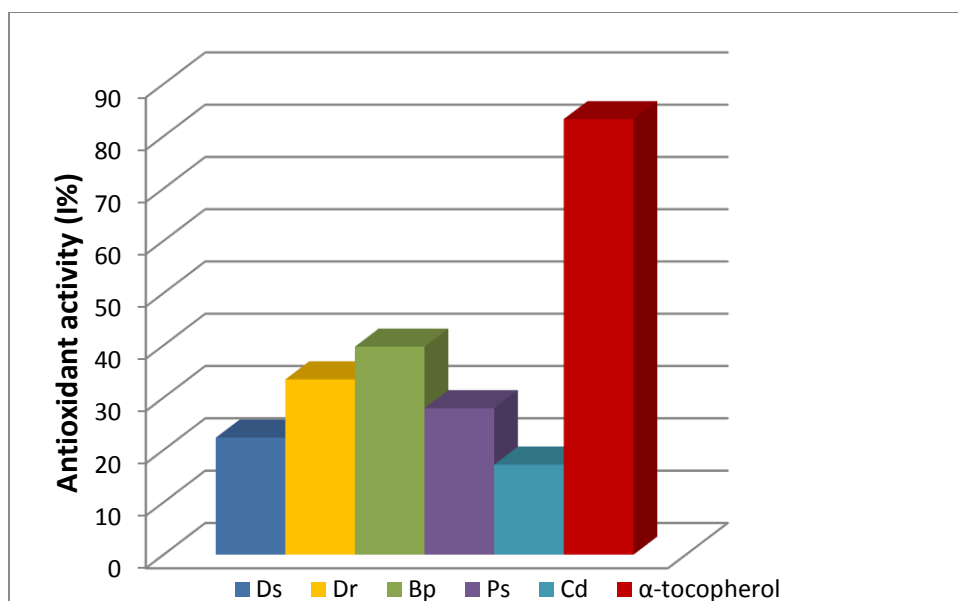
لحد الآن لا توجد دراسات منشورة سابقة تتعلق بتقدير المحتوى الفينولي الكلي لهذه النباتات الخمس المدروسة ، لكن بالمقابل تم بإسهاب دراسة الفينولات الكلية لكثير من نباتات الفصيلة الخيمية Apiaceae خاصة تلك المستعملة في الجانب الغذائي أو التعطيري مثل الجزر، البقدونس، الكرفس والبسباس ..... إذ أكدت جميع هذه الدراسات أن نباتات هذه الفصيلة تنتج ضمن أيوضها الثانوية هذا النوع من المركبات الكيميائية بصورة معتبرة خاصة منها الفلافونويد والكومارين (Bagdassarian وآخرون، 2013) .

إلا أن هناك تفاوتاً كميًا ونوعيًا بين أجناس أو أنواع هذه الفصيلة (Christova-Bagdassarian وآخرون، 2014) وهذا يعزى للأنزيمات الموافقة لتصنيع كل نوع أو منتج كيميائي والتي يتحكم فيها المجموع المورثي لخلايا النوع أو الجنس النباتي (Gebhardt وآخرون، 2005).

## II-3- نتائج الفعالية البيولوجية :

### II-3-1- الفعالية المضادة للأكسدة :

- تم تمثيل نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية للنباتات الخمس المدروسة في الشكل التالي :



(D.s=D.saharienses ; D.r=D.reboudii ; B.p=B.plantagineum ; P.s=P.scoparius ; C.d=C.daucoides)

**الشكل 44 :** هستوغرام الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية للنباتات المدروسة في التركيز 800µg/ml .

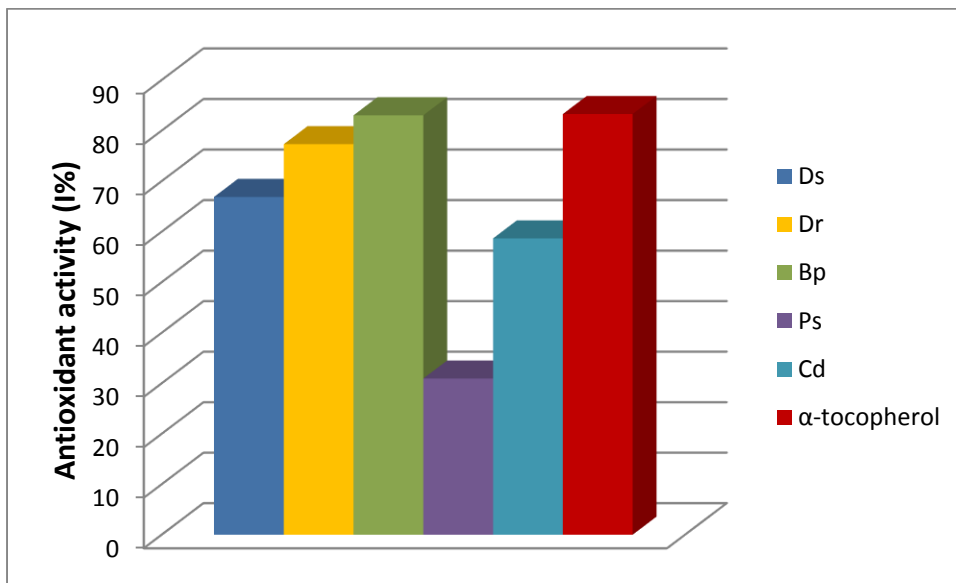
أبدت المستخلصات الزيتية نسب تثبيط للجزر الحر متوسطة إلى ضعيفة عند جميع النباتات المدروسة إذا ما قورنت بالمركب القياسي الذي نسبة تثبيطه 83.27% ، حيث أن أحسن فعالية ضد أكسدة سجلت من طرف مستخلص *Bupleurum plantagineum* Desf. بنسبة تثبيطية 39.75% ثم بنسب أضعف عند باقي المستخلصات.

لقد إختبر الباحث De Martinoa ومعاونوه (2009) فعالية أنواع كثيرة من الزيوت الأساسية لنباتات إستهلاكية من العائلة الخيمية (وكذا لمركبات زيتية مفصولة) ومدى قدرتها المضادة للأكسدة فوجد أن بعضها ضعيف مثل نبات *Pimpinella anisum* و حيث كانت نسبة تثبيط الجزر الحر DPPH تساوي 19%، والبعض الآخر متوسط مثل *Foeniculum vulgare* بنسبة

32.3% و *Carum carvi* بنسبة 54% وهذا يمكن أن يرجع إلى نوع المركب الزيتي الأعظمي الذي يسود الزيت الأساسي.

لكن بالمقابل إختبر Neffati وآخرون (2009) الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي للنبتة الطبية *P. chloranthus* النامية بتونس ووجدوا أن زيتها فعال جدا.

- كما تم تمثيل نتائج الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الميثانولية للنباتات الخمس المدروسة في الشكل التالي :



(D.s=*D.sahariensis* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

**الشكل 45 :** هستوغرام الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الميثانولية للنباتات المدروسة في التركيز 800µg /ml .

نلاحظ أن جميع المستخلصات النباتية الخمس كانت ذات فعالية مضادة للأكسدة لكن بوجود تفاوت نسبي بينها إذ أبدى مستخلص نبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. أقوى نسبة تثبيط بلغت 83.02% وهي تعادل نسبة المركب القياسي α-Tocopherol . يليها مستخلص نبتة *Daucus reboudii* Coss. الذي كان ذو نسبة تثبيطية كبيرة أيضا ، وبدرجة أقل - *Daucus sahariensis* Murb. و *Caucalis daucoides* L. أما مستخلص نبتة *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook. فقد سجل أدنى نسبة تثبيط للجذر الحر DPPH.

إن هذه النتائج تتوافق مع كثير من الأبحاث المنشورة والتي بينت أن مستخلصات نباتات العائلة الخيمية Apiaceae التي هي غنية جدا بالمركبات الفينولية : متميزة بكونها عالية المستوى في تثبيطها للجذور الحرة (Ghanem وآخرون، 2012)، خاصة منها تلك المستعملة في الإستهلاك المطبخي كتوابل (Hossain وآخرون، 2011)، وقد تم التأكد بصورة خاصة من قدرة وفعالية الفلافونويدات كمواد مضادة للأكسدة (Bencheraiet وآخرون، 2011)، بالإضافة إلى الأحماض الفينولية، الكومارينات أو لمواد فينولية أخرى موجودة في المستخلص الميثانولي، والتي يمكن أن تكون أيضا نتيجة التأثير المشترك لكل هذه المحتويات (Jelena وآخرون، 2013).

من أجل المقارنة تم جمع نتائج الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الميثانولية من جهة وللزيوت الأساسية من جهة أخرى للنباتات الخمس المدروسة في الجدول التالي :

**جدول 18 : نتائج الفعالية المضادة للأكسدة للنباتات المدروسة في التركيز 800µg /ml.**

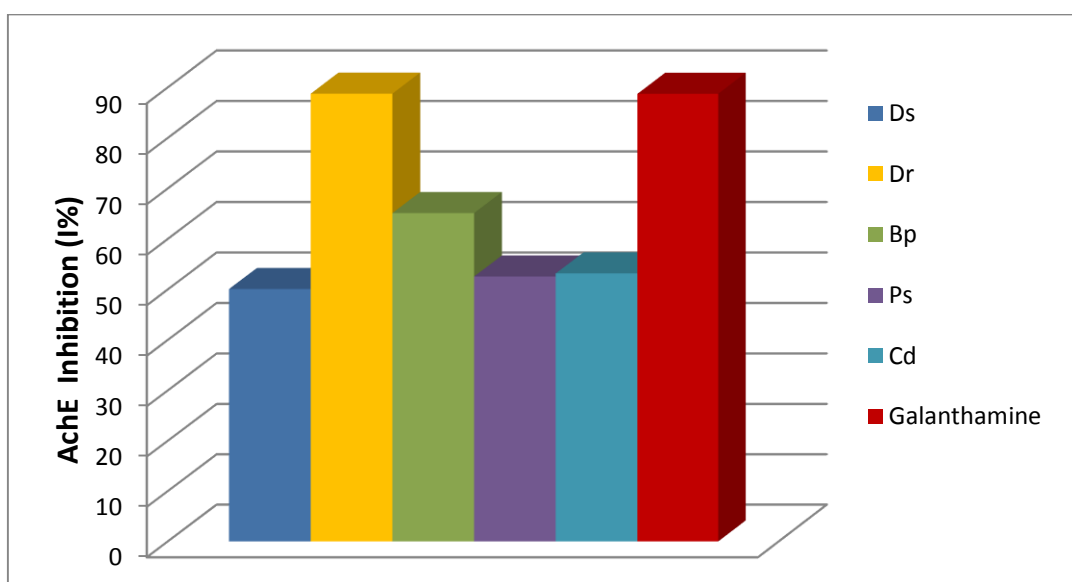
العينة النباتية	I% نسبة التثبيط	
	الزيت الأساسي	المستخلص الميثانولي
<i>Daucus sahariensis</i> Murb.	22.34±0.19	66.87±0.68
<i>Daucus reboudii</i> Coss.	33.48±0.79	77.31±1.12
<i>Bupleurum plantagineum</i> Desf.	39.75±0.17	83.02±0.32
<i>Pituranthus scoparius</i> Benth.et Hook.	27.98±0.44	30.95±0.86
<i>Caucalis daucoides</i> L.	17.19±1.63	58.67±0.63
<b>α-Tocopherol (standard)</b>	<b>83.27±0.14</b>	

بمقارنة فعالية المستخلصين الميثانولي والزيتي يبدو أن كل المستخلصات الميثانولية للنباتات المدروسة ذات فعالية مضادة للأكسدة معتبرة مقارنة بالمركب المرجعي، وهي كبيرة جدا إذا ما قورنت بفعالية المستخلصات الزيتية الذي كانت ضعيفة.

## II-3-2- نتائج الفعالية المضادة لأنزيم الكولين إستراز:

### II-3-2-1- الفعالية المضادة لأنزيم Acetyl choline estérase (AChE) :

تم تمثيل نتائج الفعالية المضادة لأنزيم Acetyl choline estérase من طرف الزيوت الأساسية للنباتات الخمس المدروسة في الشكل التالي :

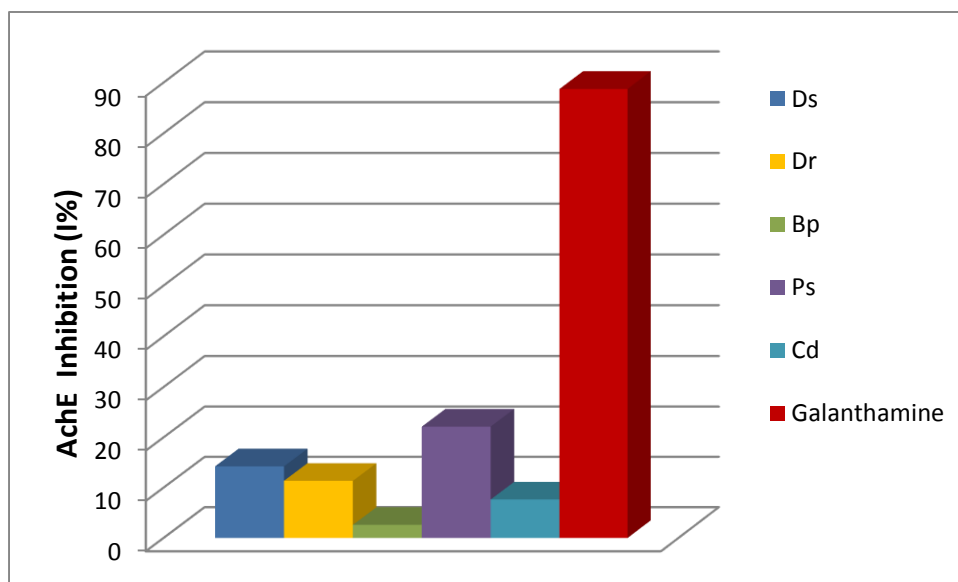


(D.s=*D.saharienses* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

**الشكل 46 :** هستوغرام فعالية الزيوت الأساسية المضادة لأنزيم Acetyl choline estérase للنباتات المدروسة في التركيز 800µg/ml .

أظهرت جميع مستخلصات الزيوت الأساسية فعالية معتبرة ضد أنزيم Acetyl choline estérase كان أشدها من طرف نبتة *Daucus reboudii* Coss. بنسبة 88.76% حيث عادت النسبة التثبيطية للمركب القياسي Galanthamine ، يليها زيت نبتة *Bupleurum* - *plantagineum* Desf. الذي سجل أيضا نسبة تثبيطية عالية تساوي 65.12% أما باقي المستخلصات فقد كانت نسبها متقاربة وهي تفوق أيضا في مجمل العينات نسبة تثبيط 50%.

- كما تم تمثيل نتائج الفعالية المضادة لأنزيم Acetyl choline estérase من طرف المستخلصات الميثانولية للنباتات الخمس المدروسة في الشكل التالي :



(D.s=*D.saharienses* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

**الشكل 47 :** هستوغرام فعالية المستخلصات الميثانولية المضادة لأنزيم Acetyl choline - estérase للنباتات المدروسة في التركيز  $800\mu\text{g/ml}$ .

نلاحظ جليا أن المستخلصات الميثانولية لجميع النباتات المدروسة ضعيفة جدا إلى عديمة الفعالية في تثبيطها لأنزيم الأستيل كولين إستراز حيث أن أعلى نسبة تثبيطية سجلت من طرف مستخلص نبتة *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook. الذي لم يتجاوز نسبة 22% مثلما سجل مستخلص نبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. أدنى نسبة تثبيطية بلغت 2.62%.

ومن أجل المقارنة جمعنا نتائج قياس الفعالية المضادة لأنزيم الأستيل كولين إستراز للمستخلصات الميثانولية وللزيوت الأساسية معا للنباتات الخمس المدروسة في الجدول التالي :

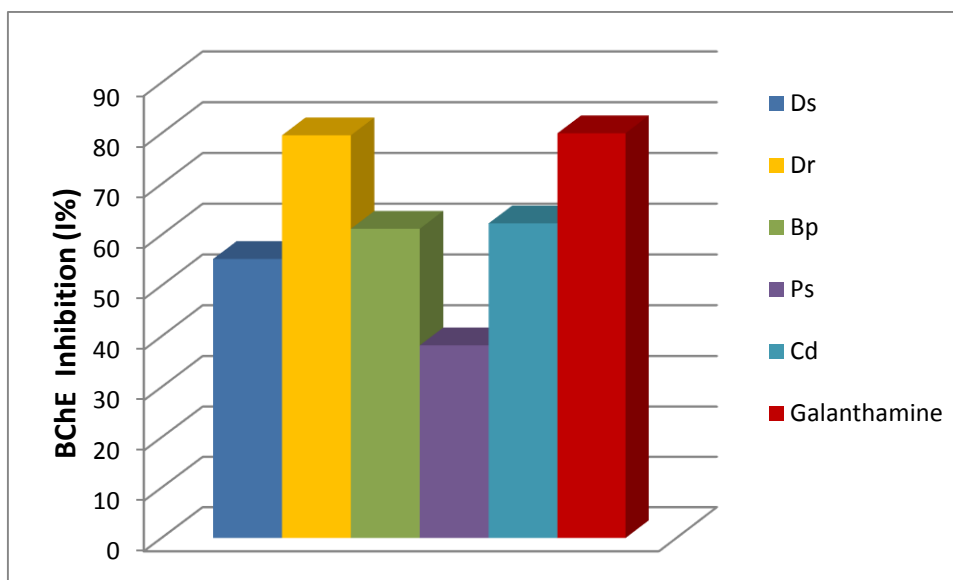
**جدول 19 :** نتائج الفعالية المضادة للأستيل كولين إستراز للنباتات المدروسة في التركيز . 800µg /ml

العينة النباتية	I% نسبة التثبيط	
	الزيت الأساسي	المستخلص الميثانولي
<i>Daucus sahariensis</i> Murb.	50.08±1.88	14.25±1.22
<i>Daucus reboudii</i> Coss.	88.76±0.68	11.37±0.86
<i>Bupleurum plantagineum</i> Desf.	65.12±0.85	02.62±0.43
<i>Pituranthus scoparius</i> Benth.et Hook.	52.56±0.77	22.14±1.27
<i>Caucalis daucoides</i> L.	53.18±0.46	07.66±0.25
<b>Galanthamine</b> (standard)	<b>88.74±1.14</b>	

يتضح من الجدول المقارن أن المستخلصات الميثانولية لجميع النباتات المدروسة ضعيفة جدا في فعاليتها و تثبيطها لأنزيم الأستيل كولين إستراز بالمقابل تبدي الزيوت الأساسية فعالية بيولوجية معتبرة في ذلك مقارنة بالمركب المرجعي Galanthamine مع وجود تفاوت نسبي بين هذه الأنواع النباتية الخمسة.

### II-3-2-2 -الفعالية المضادة لأنزيم (BChE) Butyrylcholinesterase :

- تم تمثيل نتائج الفعالية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase من طرف الزيوت الأساسية للنباتات المدروسة في الشكل التالي :

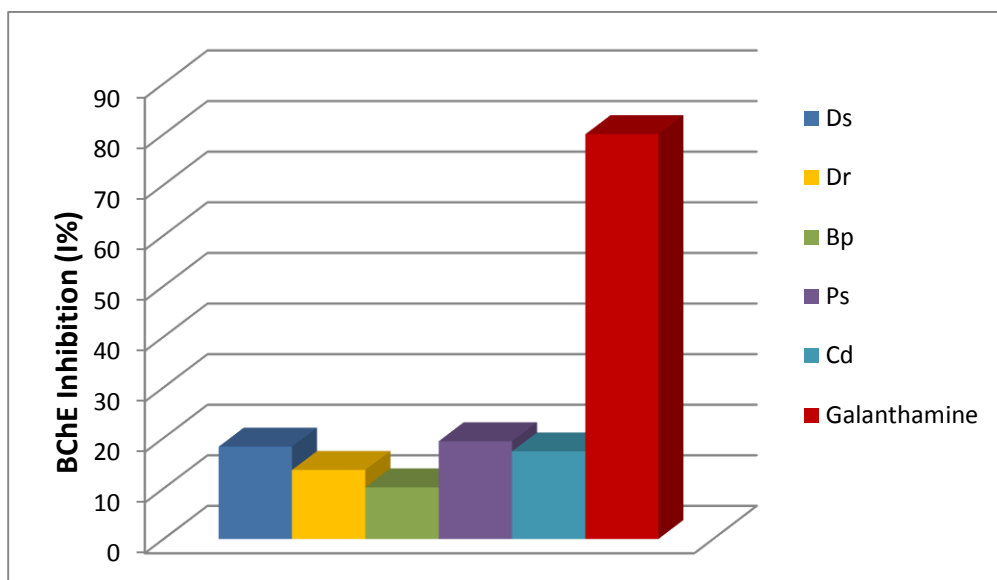


(D.s=*D.sahariensis* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

**الشكل 48 :** هستوغرام فعالية الزيوت الأساسية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase للنباتات المدروسة في التركيز  $800\mu\text{g/ml}$ .

أظهرت جميع مستخلصات الزيوت الأساسية فعالية معتبرة ضد أنزيم Butyrylcholinesterase estérase كان أحسنها من طرف نبتة *Daucus reboudii* Coss. بنسبة 79.62% وهي تقارب النسبة التثبيطية للمركب القياسي Galanthamine ، يليها زيت نبتة *Caucalis daucoides* L. وزيت نبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. الذان سجلا أيضا نسبة تثبيطية عالية تساوي 62.27% و 61.21% على الترتيب. أما *Daucus sahariensis* - Murb. فقد كان زيتها ذو نسبة تثبيط تساوي 55.26%. وأضعف نسبة سجلت من زيت نبتة *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook. بقيمة 38.23%.

- كما تم تمثيل نتائج الفعالية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase من طرف المستخلصات الميثانولية للنباتات الخمس المدروسة في الشكل التالي :



(D.s=*D.sahariensis* ; D.r=*D.reboudii* ; B.p=*B.plantagineum* ; P.s=*P.scoparius* ; C.d=*C.daucoides*)

**الشكل 49 :** هستوغرام فعالية المستخلصات الميثانولية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase للنباتات المدروسة في التركيز  $800\mu\text{g/ml}$ .

يتجلى بوضوح من الهستوغرام أعلاه أن المستخلصات الميثانولية لجميع النباتات المدروسة ضعيفة الفعالية في تثبيطها لأنزيم Butyrylcholinesterase حيث أن أعلى نسبة تثبيطية سجلت من طرف مستخلصي نبتة *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook. بنسبة 19.35 % و مستخلص نبتة *Daucus sahariensis* Murb. بنسبة 18.27 % متبوعا بمستخلص *Caucalis-Bupleurum-* *Daucus reboudii* Coss. ثم 17.34 % أما 13.66 % أما *Bupleurum-* *plantagineum* Desf. فقد سجلت أضعف نسبة تثبيطية 10.22 %.

- حسب الأبحاث المنشورة والمتعلقة بفعالية الزيوت الأساسية المضادة للكولين أستيراز فقد بين Aazza ومساعدوه (2011) القدرة الكبيرة للزيوت الأساسية لنبتة العائلة الخيمية *Foeniculum vulgare* Mill في تثبيطها لأنزيم الكولين أستيراز، وكذلك الشأن لنباتات أخرى من العائلة الخيمية (Golfakhrabadi وآخرون، 2015)، وهذه النتائج تتوافق مع نتائجنا المحصل عليها بشأن الفعالية الكبيرة للزيوت الأساسية لعيناتنا المدروسة.

- حسب الأبحاث المنشورة والمتعلقة بفعالية المستخلصات الميثانولية المضادة للكولين أستيراز، فقد إختبر العديد من الباحثين فعالية هذه المستخلصات ومقارنتها بمستخلصات مذيبات عضوية مختلفة لمستخلص نفس النبتة، أو نفس المذيب لنباتات مختلفة.

من أهم هذه الأبحاث ما نشره Gholamhoseinian ومعاونوه (2009)، حيث بين أن المستخلصات الميثانولية لعدة نباتات نامية بإيران متفاوتة النسبة التثبيطية وأن من بين النباتات العديدة المخضعة للتجريب (100نبتة) كانت النبتة الطبية (*Levisticum officinale* (Apiacee) أحسنهم فعالية وبنسبة تثبيط عالية 67 %، إلى جانب نبتة *Bergeris integrima* ونبتة *Rheum ribes* (Polygonaceae) بنسبة تثبيط تفوق 50 % أما باقي النباتات فقد كانت دون ذلك. كما تم فصل كومارينات النبتة الطبية *Heracleum platytaenium* وتجريب فعاليتها المضادة للكولين أستيراز فوجد أنها ذات فعالية بيولوجية لكن تختلف من مركب كوماريني إلى آخر (Dincel وآخرون، 2013).

وبالنسبة لنتائجنا فيمكن أن نفسر ضعف فعالية المستخلصات الميثانولية المضادة للكولين أستيراز ربما لنوع المذيب المستعمل (الميثانول) حيث أن لاحظ كثير من الباحثين في دراسات عديدة وباستعمال عدة مذيبات عضوية أن نسبة الفعالية المضادة لأنزيم الكولين أستيراز للمستخلص النباتي تتغير حسب نوع المذيب المستعمل في عملية الإستخلاص، فعلى سبيل المثال بين Ertaş ومعاونوه (2014) في دراسة حديثة أن المستخلص المائي، الإيثر بترولي أو الميثانولي للنبتة الطبية النامية بتركيا *Achillea cappadocica* Hausskn et Bornm. ضعيف الفعالية حيث كانت النسبة التثبيطية للمستخلص الميثانولي ضعيفة (0% و 21%) مقارنة بمستخلص الأستون الذي أبدى فعالية أكبر (22% و 70%)، رغم أن جميع هذه المستخلصات الأربع تحتوي على نسبة متقاربة من المحتوى الفينولي الكلي. كما يمكن تفسير هذه النتائج أيضا في أن منتجات الأيض الثانوي لبعض النباتات البرية لهذه الفصيلة غير فعالة طبيعيا إتجاه أنزيمي AChE و BChE وهو ما تم ملاحظته أحيانا في بعض الحالات لفصائل نباتية أخرى.

وبهدف المقارنة جمعنا نتائج قياس الفعالية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase للمستخلصات الميثانولية وللزيوت الأساسية معا في الجدول التالي :

**جدول 20 :** نتائج الفعالية المضادة لأنزيم Butyrylcholinesterase للنباتات الخمس المدروسة في التركيز 800µg /ml .

العينة النباتية	I% نسبة التثبيط	
	الزيت الأساسي	المستخلص الميثانولي
<i>Daucus sahariensis</i> Murb.	55.26±1.22	18.27±1.88
<i>Daucus reboudii</i> Coss.	79.62±0.86	13.66±0.68
<i>Bupleurum plantagineum</i> Desf.	61.21±0.43	10.22±0.85
<i>Pituranthus scoparius</i> Benth.et Hook.	38.23±1.27	19.35±0.77
<i>Caucalis daucoides</i> L.	62.27±0.25	17.34±0.46
<b>Galanthamine</b> (standard)	<b>80.02±1.02</b>	

يتضح من الجدول المقارن أيضا أن جميع المستخلصات الميثانولية ذات فعالية تثبيطية ضعيفة اتجاه أنزيم Butyrylcholinesterase ، أما بالنسبة للزيوت الأساسية فقد أظهرت فعالية بيولوجية واضحة في ذلك مقارنة بالمركب المرجعي Galanthamine مع وجود تفاوت نسبي بين هذه الأنواع النباتية الخمس.

### II-3-3-3- نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا :

#### II-3-3-3-1- الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Daucus sahariensis* Murb. :

تم تمثيل نتائج قياس الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي وللزيت الأساسي لنبته *Daucus sahariensis* Murb. في الجدول التالي :

**الجدول 21 :** نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Daucus sahariensis* Murb.

السلالة البكتيرية	نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (ملم)				
		5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	DMSO	Amp
<i>E.coli</i> ATCC25922	م. ميثانولي	6 ± 1	9 ± 0	14 ± 1	0	25
	ز. أساسي	8 ± 1	9 ± 1	17 ± 0		
<i>K. pneumoniae</i> 22	م. ميثانولي	7 ± 0	9 ± 1	9 ± 1	0	10
	ز. أساسي	7 ± 0	7 ± 0	11 ± 1		
<i>S.aureus</i> ATCC6538	م. ميثانولي	7 ± 0	9 ± 1	9 ± 1	0	43
	ز. أساسي	10 ± 0	12 ± 1	16 ± 1		

#### ■- الزيت الأساسي :

نلاحظ أن الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبته *Daucus sahariensis* Murb. يملك نشاطا مضادا للبكتيريا مع الإختلاف في درجة تأثيره على الأنواع البكتيرية الثلاث (سالبة أو موجبة الغرام) وعلى السلالة الواحدة حسب تركيز الزيت الطيار فبالنسبة لتأثيره على السلالة البكتيرية *E.coli* ATCC 25922 بلغ قطر منطقة التثبيط 17ملم في التركيز الأم 20mg/ml أما في التراكيز الأخرى المخففة فقد كانت منطقة التثبيط تتناقص إلى 9 و 8 مم على الترتيب. كما نلاحظ أن الزيت الأساسي كان له تأثير ضد بكتيري على السلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 التي ظهرت حساسيتها الكبيرة في التركيز الأم 20mg/ml حيث بلغ قطر منطقة تثبيط 16 مم والذي يتناقص مع انخفاض تركيز الزيت. في حين نجد أن تأثير المستخلص

الزيتي على *Klebsiella pneumonia 22* كان شديدا جدا مقارنة بالمركب القياسي Amp حيث ظهرت منطقة تثبيط كبيرة قطرها 11م في التركيز الأم.

### ■- المستخلص الميثانولي :

أظهر المستخلص الميثانولي لنبته *Daucus sahariensis* Murb. فعالية متوسطة اتجاه السلالة *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 بمنطقة تثبيط قطرها 14 مم وضعيفة ضد *E.coli* ATCC 6538 بقطر تثبيطي قدره 09 مم ، أما اتجاه السلالة *Klebsiella pneumonia 22* فقد بلغ قطر منطقة التثبيط 9 ملم في التركيز الأم 20mg/ml وهي قيمة معتبرة إذا ما قورنت بنتيجة المضاد الحيوي القياسي Amp. هذه الفعالية التثبيطية المعتبرة اتجاه السلالة البكتيرية *Klebsiella pneumonia 22* يمكن أن تكون بسبب النسبة الكبيرة للمركب الفينيل بروبانويدي Myristicin ضمن زيت هذه النبتة.

رغم عدم وجود دراسات سابقة حول فعالية زيوت ومستخلصات هذه النبتة الجزائرية إلا أن هناك دراسات سابقة عديدة حول الفعالية المضادة للبكتيريا لأنواع نباتية تابعة للجنس *Daucus* بينت جميعها أنها ذات فعالية بيولوجية، فقد أكد Lanfranchit ومساعدوه (2010) فعالية الزيت الأساسي للنبته النامية بالجزائر. *Daucus crinitus* Desf. اتجاه مجموعة من السلالات البكتيرية، كما إختبر الباحث Radulović ومساعدوه (2011) فعالية زيوت الجزر *D. carota* و *Daucus guttatus* ووجدوا أيضا أنهما فعالين ضد هذه الكائنات البكتيرية. ونفس النتيجة بالنسبة لدراسات أخرى عديدة تمت على زيوت الجزر بأصنافه الأخرى (Imamu وآخرون ، 2007).

من جهة أخرى أجريت دراسات على مستخلصات نباتات أنواع هذا الجنس *Daucus* وبينت أيضا أنها ذات فعالية مضادة للمكروبات (Ravindra وآخرون ، 2003).

### II-3-3-2- الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Daucus reboudii* Coss. :

تم تمثيل نتائج قياس الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي وللزيت الأساسي

لنبنة *Daucus reboudii* Coss. في الجدول التالي :

**الجدول 22 :** نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لنبنة *Daucus reboudii* Coss.

السلالة البكتيرية	نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (مم)				
		5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	DMSO	Amp
<i>E.coli</i> ATCC25922	م. ميثانولي	0	7± 0	10 ± 1	0	25
	ز. أساسي	8 ± 1	9± 0	12± 1		
<i>K. pneumoniae</i> 22	م. ميثانولي	0	0	7 ± 1	0	10
	ز. أساسي	8 ± 0	9± 0	10 ± 0		
<i>S.aureus</i> ATCC6538	م. ميثانولي	0	8± 1	11± 1	0	43
	ز. أساسي	12 ± 0	14 ± 1	17 ± 1		

■ - الزيت الأساسي :

نلاحظ أن الزيت الأساسي لنبنة *Daucus reboudii* Coss. ذو فعالية معتبرة اتجاه السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC6538 حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 17ملم في التركيز الأم 20mg/ml أما في التراكيز الأخرى المخففة فقد كانت منطقة التثبيط تتناقص. كما نلاحظ أن للزيت الأساسي تأثير ضد بكتيري متوسط على السلالتين *E.coli* ATCC 25922 و *Klebsiella pneumoniae* 22 حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 12، 10م على الترتيب في التركيز الأم 20mg/ml والقطر يتناقص مع انخفاض تركيز الزيت.

هذه الفعالية التثبيطية المعتبرة اتجاه السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 يمكن أن تكون بسبب النسبة الكبيرة لمركب (E)-Anethole ضمن زيت هذه النبتة أو للفعل التآزري لكل المركبات.

■ - المستخلص الميثانولي :

يبدو أن المستخلص الميثانولي لنبنة *Daucus reboudii* Coss. كان له فعالية متوسطة على السلالات البكتيرية الثلاث المدروسة *E.coli* ATCC 25922، *Klebsiella pneumoniae* 22 و

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 بمنطقة تثبيط قطرها 10، 7 و 11 مم على الترتيب في التركيز الأم 20mg/ml أما في التراكيز الأخرى المخففة فقد كانت منطقة التثبيط تتناقص.

نظرا لعدم وجود دراسات سابقة حول فعالية زيوت ومستخلصات هذه النبتة الأصيلية فقد لاحظنا أن نتائج الدراسات المنشورة المتعلقة بالفعالية المضادة للبكتيريا لمختلف الأنواع التابعة لهذا الجنس، جميعها كانت ذات فعالية حيوية (Ahmed وآخرون، 2005) وهو ما يتوافق مع نتائجنا المحصل عليها.

### II-3-3-3- الفعالية المضادة للبكتيريا لنبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. :

تم توضيح نتائج قياس الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي وللزيت الأساسي لنبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. ضمن التراكيز المختلفة في الجدول التالي:

**الجدول 23 :** نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لنبتة *Bupleurum plantagineum* Desf.

السلالة البكتيرية	نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (مم)				
		5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	DMSO	Amp
<i>E.coli</i> ATCC25922	م. ميثانولي	14 ± 1	16 ± 0	18 ± 1	0	25
	ز. أساسي	7 ± 1	8 ± 0	14 ± 1		
<i>K. pneumoniae</i> 22	م. ميثانولي	0	0	0	0	10
	ز. أساسي	8 ± 0	9 ± 0	9 ± 0		
<i>S.aureus</i> ATCC6538	م. ميثانولي	5 ± 1	8 ± 1	9 ± 0	0	43
	ز. أساسي	7 ± 0	11 ± 1	19 ± 1		

### ■- الزيت الأساسي :

نلاحظ أن تأثير الزيت الأساسي لنبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. كان أكبره على السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 حيث بلغ قطر منطقة التثبيط

19ملم في التركيز الأم 20mg/ml. كما نلاحظ أن للزيت الأساسي تأثير ضد بكتيري على السلالة *E.coli* ATCC 25922 التي ظهرت حساسيتها الكبيرة في التركيز الأم 20mg/ml حيث بلغ قطر منطقة تثبيط 14 مم الذي يتناقص مع انخفاض تركيز الزيت. في حين نجد أن تأثير المستخلص الزيتي على نمو *Klebsiella pneumonia* 22 أيضا بدرجة تثبيط معتبرة مقارنة بالمضاد الحيوي Amp حيث كان قطره المنطقة 9 ملم. والذي يمكن أن يكون سبب هذه الفعالية هو إحتواء هذا الزيت على نسبة كبيرة من *Cis- Chrysanthenyl acetate* و  $\alpha$ -Pinene.

### ■ - المستخلص الميثانولي :

لقد سجل المستخلص الميثانولي لنبته *Bupleurum plantagineum* Desf. فعالية تثبيطية كبيرة على السلالة *E.coli* ATCC 25922 بمنطقة تثبيط قطرها 18 مم، وتتناقص في التراكيز الأخرى المخففة، أما ضد السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 فقد كان القطر التثبيطي صغيرا 9 ملم ومنعدمة تماما اتجاه السلالة *Klebsiella pneumonia* 22.

- هذه النتائج تتوافق مع الأبحاث السابقة حول الفعالية المضادة للبكتيريا لزيت هذه النبتة *Bupleurum plantagineum* Desf. حيث إختبر الباحث Laouer ومساعدوه (2009) الفعالية ضد مكروبية للزيت الأساسي لهذه النبتة الجزائرية ضد سبعة أنواع بكتيرية حيث بينت النتائج فعالية متوسطة ضد هذه السلالات البكتيرية منها *S. aureus* ATCC 6538 و *E.coli* ATCC 25922، وكانت الفعالية التثبيطية أكبر ضد البكتيريا *Nocardia asteroides*. ومن جهة أخرى بين العديد من الباحثين أن الزيت الأساسي للجنس *Bupleurum* يمتاز بفعالية مضادة للبكتيريا معتبرة وهي تختلف من نوع نباتي لآخر (Ashour et Wink، 2011).
- كما بينت كثير من الأبحاث أيضا أن مستخلصات أنواع هذا الجنس تملك فعالية مضادة للبكتيريا لما تحتوي من مركبات فلافونويدية، كومارينية و فينولية متعددة (Yen وآخرون، 1991; Pistelli وآخرون، 1996; Ashour et Wink، 2011).

### II-3-3-4- الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Pituranthos scoparius* Benth.et Hook :

تم توضيح نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي وللزيت الأساسي لنبته *Pituranthos scoparius* Benth.et Hook ضمن التراكيز المختلفة في الجدول التالي :

**الجدول 24 :** نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Pituranthos scoparius* Benth.et Hook

السلالة البكتيرية	نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (ملم)				
		5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	DMSO	Amp
<i>E.coli</i> ATCC25922	م. ميثانولي	7 ± 1	15 ± 0	20 ± 1	0	25
	ز. أساسي	10 ± 1	10 ± 0	15 ± 1		
<i>K. pneumoniae</i> 22	م. ميثانولي	7 ± 0	7 ± 1	7 ± 1	0	10
	ز. أساسي	0	0	0		
<i>S.aureus</i> ATCC6538	م. ميثانولي	0	0	0	0	43
	ز. أساسي	9 ± 0	17 ± 1	22 ± 1		

#### ■- الزيت الأساسي :

نلاحظ أن فعالية الزيت الأساسي لنبته *Pituranthos scoparius* Benth.et Hook ضد السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 كانت معتبرة حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 18ملم في التركيز الأم أما في التراكيز الأخرى المخففة فقد كانت منطقة التثبيط تتناقص. كما نلاحظ أيضا أن للزيت الأساسي تأثير ضد بكتيري على السلالة *E.coli* ATCC 25922 التي ظهرت حساسيتها الكبيرة في التركيز الأم 20mg/ml حيث بلغ قطر منطقة تثبيط 15 مم. في حين نجد أن تأثير المستخلص الزيتي على *Klebsiella pneumoniae* 22 كان منعدما في مختلف التراكيز.

## ■ - المستخلص الميثانولي :

يبدو أن المستخلص الميثانولي لنبته *P.scoparius* Benth.et Hook كان له فعالية معتبرة ضد السلالة *E.coli* ATCC 25922 بمنطقة تثبيط قطرها 20 مم وكذلك اتجاه السلالة البكتيرية *Klebsiella pneumoniae* 22 فقد كانت فعالية حسنة مقارنة بالمراقبة الإيجابية للمضاد الحيوي (Amp) حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 7 ملم في التركيز الأم 20mg/ml. أما فعاليته ضد 6538 *Staphylococcus aureus* ATCC فقد كانت منعدمة ولم يثبط كلية نمو البكتيريا .

هذه النتائج تتوافق مع ما وجدته Benmekhbi ومساعدوه (2008) بشأن فعالية مستخلصات نبته *P. scoparius* Benth.et Hook حيث أختبر فعالية المستخلص البوتانولي (يحتوي على الفلافونويات الغلوكوسيدية) لهذه النبته الطبية إتجاه 6 سلالات بكتيرية ممرضة ووجدوا أن هذا المستخلص ذو فعالية معتبرة ضد هذه البكتيريا خاصة ضد *E.coli* ATCC 25922 .

أما الزيوت الأساسية لهذه النبته فقد أكدت الدراسات فعالية هذه المادة الطيارة اتجاه العديد من السلالات البكتيرية الممرضة (Boutaghane وآخرون، 2004؛ Dahia وآخرون، 2007).

### II-3-3-5- الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Caucalis daucoides* L.

تم توضيح نتائج قياس الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص الميثانولي وللزيت الأساسي لنبته *Caucalis daucoides* L. ضمن التراكيز المختلفة في الجدول التالي :

**الجدول 25 :** نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لنبته *Caucalis daucoides* L.

السلالة البكتيرية	نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (ملم)				DMSO	Amp
		5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml			
<i>E.coli</i> ATCC25922	م. ميثانولي	0	0	10	0	25	
	ز. أساسي	7 ± 1	7 ± 0	7 ± 1			
<i>K. pneumoniae</i> 22	م. ميثانولي	0	0	0	0	10	
	ز. أساسي	0	7 ± 0	8 ± 0			
<i>S.aureus</i> ATCC6538	م. ميثانولي	0	7 ± 1	9 ± 1	0	43	
	ز. أساسي	8 ± 0	12 ± 1	15 ± 1			

## ■ - الزيت الأساسي :

نلاحظ أن فعالية الزيت الأساسي لنبته *Caucalis daucoides* L. كان ضعيفا على السلالة البكتيرية *E.coli* ATCC 25922 حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 07 ملم في التركيز الأم 20mg/ml وبقي ثابتا في التراكيز الأخرى المخففة. كما نلاحظ أن للزيت الأساسي تأثير ضد بكتيري مهم على السلالة *Klebsiella pneumonia* 22 التي أظهرت حساسية كبيرة في التركيز الأم 20mg/ml بمنطقة تثبيط قطرها 08 مم الذي يتناقص مع انخفاض تركيز الزيت.

نفس الشيء بالنسبة للسلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 حيث ظهرت مناطق تثبيط صغيرة ومتقاربة قطرها 15مم ، 12 مم و 08 مم على الترتيب بعد التخفيف.

## ■ - المستخلص الميثانولي :

يبدو أن المستخلص الميثانولي لنبته *Caucalis daucoides* L. كان له فعالية متوسطة على السلالتين *E.coli* ATCC 25922 و *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 بمنطقة تثبيط قطرها 9،10 مم على الترتيب في التركيز الأم 20mg/ml. أما اتجاه السلالة البكتيرية *Klebsiella pneumonia* 22 فقد كان المستخلص عديم الفعالية تماما ونمو كامل لهذه السلالة البكتيرية عبر كامل الطبق وضمن التراكيز الثلاث.

لقد أكدت الأبحاث العديدة على أن نباتات العائلة الخيمية بصفة عامة تمتاز بفعاليتها المثبطة لنمو البكتيريا (Kumarasamy وآخرون، 2005؛ Küpeli وآخرون، 2006؛ Jelena وآخرون، 2011) وهو ما يتوافق مع النتائج المحصل عليها لنبته *Caucalis daucoides* L. وفي الخلاصة فقد كانت نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا مختلفة سواء بين العينات النباتية الخمس لنفس المادة الفعالة من جهة، أو بين المستخلص الميثانولي والزيتي من جهة أخرى.

فبالنسبة لنفس المادة الفعالة فهذا قد يكون راجعا ذلك لإختلاف المكونات الكيميائية لكل عينة نباتية من حيث نوع المركبات الأعظمية ونسبتها.

أما إذا قارنا بين فعالية المستخلصين فهذا يمكن أن يكون راجعا للطبيعة الكيميائية المختلفة بين هذين المادتين والناشئتين من مسلكين مختلفين والخصائص البيو فعالة لكل مادة.

		التراكيز وقطر منطقة التثبيط (مم)			
السلالة البكتيرية		25µg/ml	100µg/ml	500µg/ml	2000µg/ml
<i>E.coli ATCC25922</i>	م.م	6.00 ± 00	6.66 ± 1.52	7.33± 0.57	7.33± 1.15
	ز.أ	7,5 ± 1.73	8,5 ± 1.52	9,00 ± 00	10.66 ± 1.52
<i>Klebsiella pneumonia</i>	م.م	..	08 ± 00	11.33± 1.52	12.66± 1.15
	ز.أ	..	8.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	10.00± 00
<i>S. aureus</i>	م.م	6,5± 1.15	8± 00	8,16± 1.52	9,33 ± 1.73
	ز.أ	8,50 ± 1.00	10,00 ± 00	11,33 ± 1.73	15,83 ± 1.00

م.م = مستخلص ميثانولي ز.أ = زيت أساسي

I% / النباتات المدروسة	800µg /ml	400µg /mg	200µg /mg	100µg /mg	50µg /mg
<i>D.sahariensis</i>	7.17	6.15	3.99	3.11	1.85
<i>D.reboudii</i>	5.22	5.03	2.88	2.18	1.02
<i>B.plantagineum</i>	8.02	7.12	5.33	4.22	2.18
<i>P.scoparius</i>	4.54	4.10	2.44	2.13	1.11
<i>C.daucoides</i>	3.99	3.00	2.66	2.11	0.99

I% / النباتات المدروسة	800µg /mg	400µg /mg	200µg /mg	100µg /mg	50µg /mg
<i>D.sahariensis</i>	2.277	1.123	0.878	0.325	0.211
<i>D.reboudii</i>	1.332	0.999	0.845	0.412	0.458

<i>B.plantagineum</i>	1.289	1.113	0.798	0.322	0.117
<i>P.scoparius</i>	1.721	1.669	0.669	0.338	0.121
<i>C.daucoides</i>	0.918	0.854	0.743	0.389	0.046

### 1-7 -1-2-1 نتائج الفعالية المضادة للأوكسدة: للمستخلصات الميثانولية :

(Aazza وآخرون، 2011).

### III-2-1-1-1 للمستخلصات الزيتية :

نتائج الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلصات الزيتية للنباتات الخمسة المدروسة لخصت في

الجدول التالي

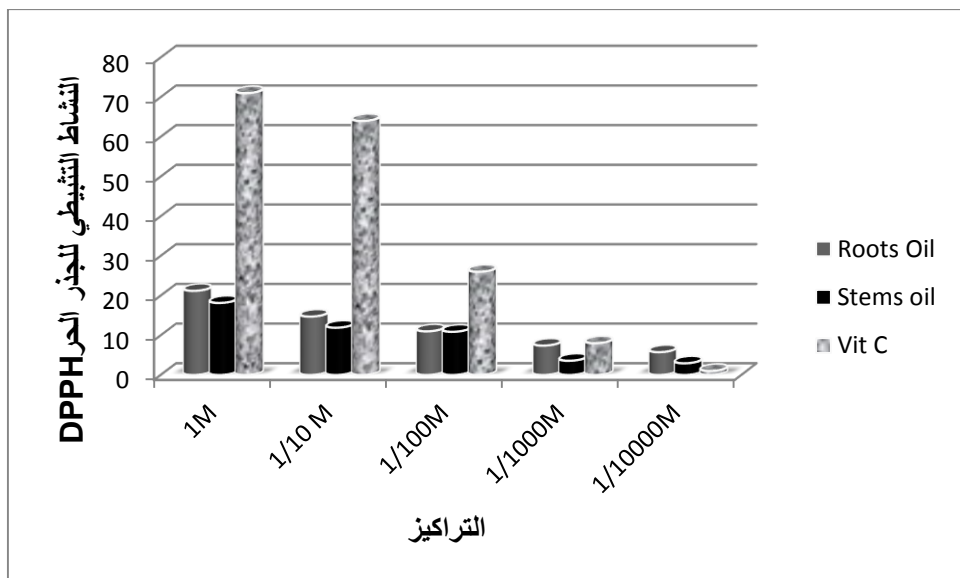
### جدول 16 : نتائج الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلصات الزيتية للنباتات المدروسة

النباتات /IC <sub>50</sub> المدروسة	800µg /mg	400µg /mg	200µg /mg	100µg /mg	50µg /mg
<i>D.sahariensis</i>	0.477	0.322	0.173	0.122	0.100
<i>D.reboudii</i>	0.590	0.471	0.331	0.212	0.102
<i>B.plantagineum</i>	1.167	0.988	0.742	0.988	0.921
<i>P.scoparius</i>	0.331	0.236	0.112	0.099	0.087
<i>C.daucoides</i>	0.233	0.217	0.099	0.088	0.054

حيث يبدو أن هذه المستخلصات الزيتية ذات فعالية متوسطة، وتتناقص بتناقص تراكيز العينات الزيتية، كما يبدو جليا أن نبتة *B.plantagineum* كان زيتها ذو فعالية مضادة للأوكسدة أكبر من الأنواع الأربعة الأخرى.

أعضاء مفصلة

نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الجذور والسيقان تم توضيحها في الهستوغرام التالي

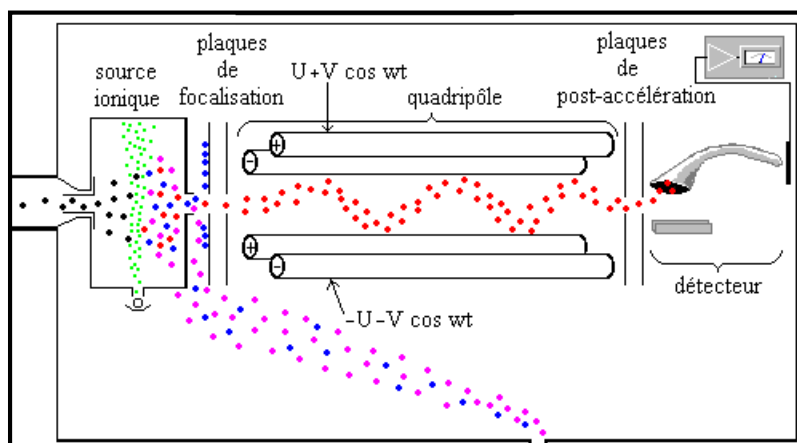


الهستوغرام 5 : نتائج الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الجذور والسيقان لنبته *D.sahariensis*

من خلال النتائج المحصل عليها اتضح أن فعالية زيت الجذور والسيقان كانت متوسطة مقارنة بالمركب القياسي Vit c والتي كانت فعاليته كبيرة جدا.

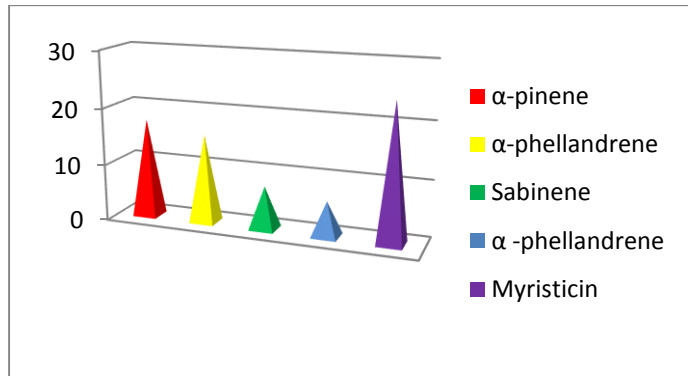
كما نلاحظ أيضا أن فعالية زيت الجذور كانت أكبر نسبيا من فعالية زيت السيقان حيث كان ذلك واضحا في التركيز 1 مول وفي معظم التراكيز المخففة الأخرى، ونفس سبب ذلك بالإختلاف الموجود في المركبات الكيميائية للزيتين وهو ما تم توضيحه سابقا في التحليل الكيميائي حيث أن زيت الجذور يحتوي على نسبة أكبر من مركبات phenyl propanoide مقارنة بزيت السيقان الغني بالمركبات التابعة لمجموعة monoterpenes.

وفي المقابل كانت فعالية المركب القياسي Vit c ضعيفة جدا إلى درجة أنها تكاد تنعدم في التركيز المخفف جدا 1/10000 مول يقابله فعالية ضعيفة (لكنها موجودة) لزيت العضوين المدروسين.



يمثل  $IC_{50}$  تركيز عينة المستخلص النباتي التي يتم بها تثبيط 50 % من الجذر الحر و يتم حساب هذه القيمة من خلال الرسم البياني المحصل عليه عند حساب النسبة المئوية للتثبيط % I المقابلة لمختلف تراكيز العينة النباتية حيث تقدر هذه القيمة من الرسم البياني.

نوع المستخلص	قطر منطقة التثبيط (مم)				
	Amp	DMSO	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml
المسالة البكتيرية					
<i>E.coli</i> ATCC25922	م.ميثانولي	0	6 ± 1	9 ± 0	14 ± 1
	ز.أساسي	0	8 ± 1	9 ± 0	17 ± 1
<i>K. pneumoniae</i> 22	م.ميثانولي	0	7 ± 0	9 ± 1	9 ± 1
	ز.أساسي	0	7 ± 0	7 ± 0	11 ± 0
<i>S.aureus</i>	م.ميثانولي	0	7 ± 0	9 ± 1	9 ± 1
ATCC25923	ز.أساسي	0	10 ± 0	12 ± 1	16 ± 1



### III - الخاتمة :

تعتبر الفصيلة الخيمية Apiaceae من بين العائلات النباتية المتميزة بمنتجاتها الأيضية الثانوية والتي من أهمها الزيوت الأساسية والمركبات الفينولية، وفي ضوء الدراسة البحثية التي أنجزناها على 5 نباتات من هذه العائلة والتي كانت إحداها أول دراسة فيتوكيميائية غير مسبوقة واستنادا للنتائج المحصل عليها والمقدمة آنفا أمكننا الوقوف على ما يلي :

#### 1- الزيوت الأساسية :

بينت نتائج التحليل الفيزيوكيميائي للزيوت الأساسية لمختلف النباتات المدروسة وجود تباين معتبر بين مكوناتها سواء تعلق الأمر بأعضاء النوع الواحد أو بأنواع تنتمي لنفس الجنس أو بأنواع تنتمي لأجناس مختلفة.

■ - فبالنسبة للنوع الواحد وبمقارنة التحليل الفيزيوكيميائي للزيوت الأساسية للنبات الصحراوية *Daucus sahariensis* Murb. بينت النتائج وجود إختلاف كمي ونوعي معتبر لمكونات مختلف أعضائها ، فقد أظهرت الثمار احتوائها على أكبر نسبة من Myristicin متبوعة بالأوراق ثم السيقان كما أظهرت الجذور تركيبة إستثنائية من حيث احتواء زيتها على (E)-Anethole أما زيت السيقان فقد كان مميزا بسيطرة المجموعة الكيميائية Monoterpene خلافا لتركيب الثمار والأوراق والجذور التي تميزت بسيطرة مجموعة Phenylpropanoids .

كما تبين من خلال التقدير الكمي للزيوت الأساسية أن الثمار والأزهار على الترتيب هي الأعضاء الأكثر احتوائا على المادة الطيارة. و إتضح أيضا أن المكونات الكيميائية للزيت الطيار تتغير كما ونوعا تبعا لمرحلة النمو فبالنسبة للتغير الكمي أظهرت هذه النبتة العطرية مردودية زيتية كبيرة في مرحلة الإثمار أما التغير النوعي المهم الذي بيناه فهو سيطرة مجموعة Monoterpene في مرحلة قبل الإزهار مقارنة بما وجدناه في مرحلة الإثمار من إرتفاع لنسبة Phenylpropanoids.

أما بالنسبة للنوع الثاني *Daucus reboudii* Coss. فقد كانت نتائج تحليل زيتها الطيار مختلفة تماما إذ تميزت بغياب تام لمركبات Monoterpene وكانت مجموعة Phenylpropanoids هي المجموعة المسيطرة وممثلة أساسا في مركبي (E)-Anethole و Estragol.

■- بمقارنة النوعين التابعين لنفس الجنس اتضح أن هناك تباين كبير جدا بينهما بمعنى تركيبات زيتية مختلفة ففي النوع الأول *Daucus sahariensis* Murb. كان Myristicin هو المركب الأساسي أما في النوع الثاني *Daucu.reboudii* Coss. فقد تمثل في (E)-Anethole و Estragol.

■- بمقارنة أنواع تنتمي لأجناس مختلفة فالنتائج بينت أيضا إختلافا كبيرا من حيث المركبات الأساسية حيث أن الجنس *Daucus* التابع لقبيلة Dauceae هو الأكثر تنوعا من جهة، وبمركبات زيتية أساسية تختلف عن الأجناس الأخرى مقارنة بجنس *Bupleurum* حيث كان زيت النوع *Bupleurum plantagineum* Desf. غنيا بمركب *cis- Chrysanthenyl acetate* ، Myrcene و  $\alpha$ -Pinene ، أو جنس *Pituranthos* حيث كان *Pituranthos scoparius* - (Coss.et Dur.) غنيا بمركبات Myristicin ،  $\alpha$ -Pinene و  $\alpha$ -Phellandrene (هذان الجنسان مصنفاً ضمن قبيلة Apieae)، أما الجنس *Caucalis* و المصنف ضمن قبيلة Scandiceae وبالنسبة للنوع المدروس *Caucalis daucoides* L. فقد كان غنيا بمركب  $\alpha$ -Pinene و Germacrene D.

## 2- المركبات الفينولية :

أظهرت نتائج تقدير المحتوى الفينولي الكلي والمتبوعة بالتحليل الكروماتوغرافي للطبقة الرقيقة أن جميع النباتات المدروسة غنية بالمركبات الفينولية (أحماض فينولية، كومارينات و فلافونويدات ) خاصة الجنس *Daucus* مع تفاوت كمي واختلاف نوعي بين الأنواع المدروسة وهو الشيء الذي أكده سابقا مجموعة من الباحثين على أن نباتات الفصيلة الخيمية غنية بالكومارينات والفلافونويدات وأن هذه النسبة متفاوتة بين الأجناس حيث أظهرت كل من *Daucus sahariensis* Murb. و *Daucus reboudii* Coss. نسبة عالية ومتقاربة من الفينولات

الكلية قدرت ب (53.41، 62.23µg PE/mg) على الترتيب متبوعة بنبتة *Bupleurum*-  
*Pituranthos scoparius* (Coss.et Dur.) أما (49.72 µg PE/mg) *plantagineum* Desf.  
و *Caucalis daucoides* L. فقد احتوتا على نسبة أقل (39.75 ، 42.93µg PE/mg).

### 3- الفعالية البيولوجية :

بينت نتائج تقدير الفعالية البيولوجية أن كل من الزيوت الطيارة و المستخلصات الكحولية  
للنباتات المدروسة ذات فعالية بيولوجية لكنها ذات درجة تأثير مختلفة في كل نوع من الفعالية.  
■ - فبالنسبة للفعالية المضادة للأكسدة أبدت المستخلصات الهيدروميثانولية فعالية أكبر بكثير من  
مستخلصات الزيوت الأساسية مع وجود تفاوت معتبر بينها من حيث شدة هذه الفعالية، و  
بمقارنة الأنواع الخمس المدروسة أبدى المستخلص الميثانولي لنبتة *Bupleurum*  
*plantagineum* Desf. نسبة تثبيطية عالية جدا 83.02% ثم نبتة *Daucus reboudii* Coss.  
بنسبة 77.31%.

■ - فيما يتعلق بالفعالية المضادة لأنزيم Choline esterase : بنوعيه ضد أنزيم AChE أو ضد  
أنزيم BChE فقد أبدت الزيوت الأساسية نسبة تثبيطية كبيرة كان أشدها من طرف نبتة  
*Daucus reboudii* Coss. حيث بلغت نسبة تثبيطية كبيرة 88.76% و 79.62% على  
الترتيب، إلى جانب زيوت النباتات الأربعة الأخرى، أما فعالية المستخلصات الميثانولية فقد  
كانت ضعيفة جدا أو منعدمة أحيانا.

■ - وبالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا فقد أظهرت كل من الزيوت الأساسية و المستخلصات  
الميثانولية فعالية حيوية واضحة كانت ضعيفة أحيانا ضد بعض السلالات البكتيرية ، أو  
متوسطة إلى كبيرة إتجاه سلالات بكتيرية أخرى، فبالنسبة للزيوت الأساسية قدمت نتائج أبحاثنا  
هذه غير المسبوقة نتائج مهمة تمثلت في فعالية زيت *D.sahariensis* Murb. و نشاطه المضاد  
للسلالة البكتيرية *Klebsiella pneumonia* 22 ودرجة أقل على السلالة البكتيرية - *E.coli*  
ATCC 25922.

وبالنسبة للمستخلصات الميثانولية فقد كانت النتائج متباينة الفعالية كان أقواها من طرف المستخلص الميثانولي لنبته *Pituranthus scoparius* Benth.et Hook ضد السلالة - *E.coli* ATCC 25922 وكذلك اتجاه السلالة البكتيرية *Klebsiella pneumonia* 22 إذا ما قورنت بنتيجة المراقبة الإيجابية للمضاد الحيوي Ampicilline .

وتكملة لما قدمناه في هذه الدراسة البحثية المتواضعة فإننا نسعى ونتطلع مستقبلا للتعمق أكثر في النقاط التي أثارت اهتمامنا ومنيبت بانشغال باحثين ساهموا من خلال المنشريات في تقديم تعليقات هامة فيما يخص مركب المرستسين من جهة ومن جهة أخرى نأمل في الغوص أكثر في الفعالية المضادة للكولين استراز على أساس أننا حصلنا على نتائج مشجعة جدا تدفعنا لكيفة تحقيق عمل داخل الحيوان التجريبي *In vivo*، كما نأمل كذلك في فصل مركبات فينولية من النبات الصحراوي الأصيل *D.sahariensis* Murb.

## REFERENCES :

### A

**Aazza, S., Lyoussi, B., Miguel, M.G. (2011).** Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds, *Molecules*, 16, 7672-7690.

**Adams, R.P. (1995).** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Allured, Carol Stream, IL, USA.

**Ahmed, A.A., Bishr, M.M., El-Shanawany, M.A., Attia, E.Z., Ross, S.A., Pare, P.W. (2005).** Rare trisubstituted sesquiterpene daucanes from the wild *Daucus carota*, *Phytochemistry*, 66, 1680-1684.

**Ahmed, A. A., Hegazy, M-E., Zellagui, A., Rhouati, S., Sayed, A., Ohta, S., Hirata, T. (2007).** Ferulsinaic acid a sesquiterpene coumarin with a rare carbon skeleton from *Ferula* species, *Phytochemistry*, 68, 680- 686.

**Akgul, Y., Aktas, L.Y., Anil, H. (2009).** Compounds from Flowers of *Daucus carota* L. ssp. *carota* and their Antioxidant Activity, *Chemistry of Natural Compounds*, 45(6).

**Al-Safadi, B. (2008).** Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria, *Biologia*, 63(2), 177-182.

**Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., Özyurt, D. (2007).** Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC, *Molecules*, 12, 1496-1547.

**Ashour, M.L., Wink, M. (2011).** Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63, 305-321.

**Ashraf, M., Sandra, P.J., Saeed, T., Bhatti, M. K. (1979).** Studies on the essential oils of the Pakistani species of the Umbelliferae. Part XXXI. Wild *Daucus carota* (carrot) seed oil, *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 22, 258-259.

**Avril, J.L., Dabermat, H., Denis, F., Monteil, H. (1992).** Bactériologie clinique, Edition Marketing (1<sup>ère</sup> edition) Paris.

### B

**Baeva, R. T., Karryev, M.O. (1983).** Flavonoids of *Bupleurum rotundifolium*, *Chemistry of Natural Compounds*, 5, 615-618.

- Bagdassarian, V. L., Bagdassarian, K. S., Atanassova, M. (2013).** Phenolic Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activities from the Apiaceae Family (Dry Seeds), *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences*, 2(4), 26-31.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils - A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
- Benahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Laouer, H., Verité, P., Seguin, E. (2008).** Flavonoids from *Bupleurum montanum* Coss. (Apiaceae), *Chem. Nat. Comps*, 44, 510-511.
- Banahmed, M. (2009).** Contribution a l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & *Dur.* et *Bupleurum montanum* Coss., Thèse de doctorat d'état en chimie organique, Université Mentouri – Constantine.
- Banahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Laouer, H., Vérité, P., Seguin, E. (2011).** Constituents from *Bupleurum montanum* Coss. (Apiaceae), *Arabian Journal of Chemistry*.
- Banerji, M.J., Rej, R.N., Handa, K.L. (1977).** Occurrence of anomalin in *Bupleurum falcatum* Linn. (Umbelliferae), *Indian. J. Chem B*, 15(B), 293-294.
- Barrero, A. F., Haïdour, A., Sedqui, A., Ibn Mansour, A., Rodríguez-García, I., López, A., Muñoz-Dorado, M. (2000).** Saikosaponins from roots of *Bupleurum gibraltarium* and *Bupleurum spinosum*, *Phytochemistry*, 54, 741-745.
- Barrero, A.F., Haïdour, A., Muñoz-Dorado, M., Akssira, M., Sedqui, A., Ibn Mansour, A. (1998).** Polyacetylenes, terpenoids and flavonoids from *Bupleurum spinosum*, *Phytochemistry*, 48, 1237-1240.
- Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., Askun, T., Tumen, G. (2009).** Anti-tuberculosis Activity of *Daucus littoralis* Sibth. et Sm. (Apiaceae) From Turkey, *Journal of Essential Oil Research*, 21(6), 572-575.
- Baser, K.H.C. (1995).** A Manual on Essential Oil Industry. UNIDO, Vienna, p 155.
- Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N., Rosselli, S. (2009).** Antimicrobial and Antioxidant Activities of Coumarins from the Roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae), *Molecules*, 14, 939-952.
- Battandier, J.A., Trabut, L. (1902).** Flore analytique et synoptique de l'Algérie et de la Tunisie, Alger, 155.
- Bencheraiet, R., Kherrab, H., Kabouche, A., Kabouche, Z., Jay, M. (2011).** Flavonols and Antioxidant Activity of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae), *Records of Natural Products*, 5(1), 52-55.

- Bencheraiet, R., Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R., Jay, M. (2012).** Flavonol 3-O-Glycosides from Three Algerian *Bupleurum* Species, *Records of Natural Products*, 6(2), 171-174.
- Benecke, R., Reichold, K., Kessel, M., Schmidt, W. (1987).** Essential oil content and composition of the seeds of various cultivars of *Daucus carota* L. ssp. *sativus* (Hoffm.) Arcang, *Pharmazie*, 42, 256-259.
- Benmekhbi, L., Kabouche, A., Kabouche, Z., Ait-Kaki, B., Touzani, R., Bruneau, C. (2008).** Five glycosylated flavonoids from the antibacterial butanolic extract of *Pituranthos scoparius*, *Chemistry of Natural Compounds*, 44: 639-641.
- Berche, P., Gaillard, J.L., Simont, M. (1989).** Bactériologie: les bactéries des infections humaines, Flammarion (1<sup>ère</sup> édition), Paris.
- Berembaum, M., Neal, J.J. (1985).** Synergism between myristicin and xanthotoxin, a naturally occurring plant toxicant, *Journal of Chemistry Ecology*, 11, 1349-1358.
- Bezanger- Beauquesne, L., Pinkas, M. , Torck, M. (1986).** Les Plantes dans la Therapeutique Moderne, 2<sup>ème</sup> édition, Maloine Paris.
- Bishayee, A., Sarkar, A., Chatterjee, M. (1995).** Hepatoprotective activity of carrot (*Daucus carota* L.) against carbon tetrachloride intoxication in mouse liver, *Ethnopharmacology*, 47, 69-74.
- Blois, M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200.
- Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil, S., Boukhris, M., Sayadi, S. (2009).** Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia, *African journal of Biotechnology*, 8(24), 7017-7027.
- Bouheroum, M. (2007).** Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*, Thèse de doctorat d'état en chimie organique, Université Mentouri-Constantine, p21, 42.
- Boutaghane, N., Nacer, A., Kabouche, Z., Ait-Kaki, B. (2004).** Comparative Antibacterial Activities of the Essential oils of *stems and seeds of Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional sahara, *Chemistry of Natural Compounds*, 40, 606-607.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> éditions, Edition Tec&Doc.

**Bruneton, J. (2005).** Plantes Toxiques, Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3<sup>ème</sup> éditions, Edition Tec & Doc, p 111-129.

**Bucar, F., Maleš, Ž., Kujundžić, N. (2001).** Composition of the essential oils of *Caucalis platycarpos* L., *Acta Pharmaceutica*, 51(3), 219-223.

## C

**Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., Varguas, R. (1987).** Bactériologie médicale, Techniques usuelles, SIMEP. Paris.

**Celiktas, O.Y, Bedir, E., Vardar Sukan, F. (2007).** *In vitro* antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide, *Food Chemistry*, 101, 1457-1464.

**Chizzola, R. (2008).** Composition of the fruit essential oil of *Bupleurum fruticosum* Growing in southern France, *Chemistry of Natural Compounds*, 44(6), 638-639.

**Chizzola, R. (2010).** Composition of the Essential Oil from *Daucus carota* ssp *carota* Growing Wild in Vienna, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(1), 12-19.

**Christensen, L.P., Brandt, K. (2006).** Bioactive polyacetylenes in food plants of the Apiaceae family: Occurrence, bioactivity and analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 683-693.

**Christova-Bagdassarian, V. L., Bagdassarian, K. S., Stefanova, M. M., Ahmad, A. (2014).** Comparative Analysis of Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Rutin, Tannins and Antioxidant Capacity in Apiaceae and Lamiaceae families, *Indian Horticulture Journal* , 4(3/4), 131-140.

**Constantin, E. (1996).** Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1-14.

**Cseke, L.J., Kaufmanb, B., Kirakosyanb, A. (2007).** The Biology of Essential Oils in the Pollination of Flowers, *Natural Product Communications*, 2, 1317-1336.

**Cummings, J. L., Back, C. (1998).** The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease, *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 6, 64-78.

## D

**Dahia, M., Laouer, H., Chaker, A.N., Prado, S., Meierhenrich, U.J., Baldovini, N. (2007).** Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Pituranthos chloranthus* Volatile Oil, *Natural Product Communications*, 2, 1159-1162.

**Dahia, M., Siracusa, L., Laouer, H., Ruberto, G. (2009).** Constituents of the Polar Extracts from Algerian *Pituranthos scoparius*, *Natural Product Communications*, 4, 1691-1692.

**Davies, N.W. (1990).** Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases, *Journal of Chromatography*, 50, 1-24.

**De Martinoa, L., De Feoa, V., Fratiannib, F., Nazzaro, F. (2009).** Chemistry, Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities of Volatile Oils and their Components, *Natural Product Communications*, 4, 1741-1750.

**Dincel, D., Hatipoglu, S. D., Goren, A. C., Topcu, G. (2013).** Anticholinesterase furocoumarins from *Heracleum platytaenium*, a species endemic to the Ida Mountains, *Turkish Journal of Chemistry*, 37, 675 – 683.

**Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Vérité, P. (2006).** Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss., *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 647-649.

**Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Groult, M-L., Vérité, P. (2008).** Variability of Two Essential Oils of *Kundmannia sicula* (L.) DC, A Traditional Algerian Medicinal Plant, *Molecules*, 13, 812-817.

**Downie, S.R., Ramanath, S., D S. Katz-Downie, E Lianas . (1998).** Molecular Systematics of Apiaceae Subfamily Apioideae : Phylogenetic Analyses of Nuclear Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer, *American Journal of Botany*, 85(4), 563–591.

**Drude, O. (1898).** Umbelliferae. In: Die natürlichen Pflanzenfamilien, Engler A & Prantl K, editor, 63-150.

## **E**

**El-Alfy, T.S., El-Dahmy, S., Koheil, M.A., Shehata, A. H., El-Migirab, S. I. (1994).** Study of the essential oil of *Daucus syrticus* Murb. Bull., *Fac. Pharm. Cairo*, 32, 76.

**El Amine Dib, M., Djabou, N., Desjobert, J-M, Allali, H., Tabti, B., Muselli, A., Costa, J. (2010).** Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation, *Chemistry Central Journal*, 4:16.

**Eldahshan, O. A., Ayoub, N. A., Singab, A-E. B. , El-Azizi, M. M. (2002).** Carotamine, a Unique Aromatic Amide from *Daucus Carota* L.Var Biossieri (Apiaceae), *Molecules*, 7, 501-506.

**Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, Jr. V., Featherstone, R. M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.

**Emilio, L.G. (1994).** The daucane (carotane) class of sesquiterpenes, *Phytochemistry*, 37, 597-632.

**Ertaş, A., Boğa, M., Hasimi, M., Yesil, Y., Goren, A.C, Topcu, G, Kolak, U. (2014).** Antioxidant, anticholinesterase, and antimicrobial activities and fatty acid constituents of *Achillea cappadocica* Hausskn. et Bornm., *Turkish Journal of Chemistry*, 38, 592 - 599.

## **F**

**Favier, A. (2003).** Mécanismes biochimiques Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*, 108.

**Ferron, A. (1976).** Bactériologie (à l'usage des étudiants en médecine), Edition Gouan et Roque (8<sup>ème</sup> édition).

**Flamini, G., Cioni, P.L., Maccioni, S., Baldini, R. (2006).** Composition of the essential oil of *Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium*, *Food Chemistry*.

**Flamini, G., Cioni, P. L. (2007).** Seasonal variation of the chemical constituents of the essential oil of *Santolina estruca* from Italy, *Chemistry & Biodiversity*, 4, 1008-1019.

**Flamini, G., Smaili, T., Zellagui, A., Gherraf, N., Cioni, P.L. (2013).** Effect of growth stage on essential-oil yield and composition of *Daucus sahariensis*, *Chemistry & Biodiversity*, 10, 2014-2020.

**Fu, H-W., Zhang, L., Yi, T., Tian, J- K. (2009).** A New Sesquiterpene from the Fruits of *Daucus carota* L., *Molecules*, 14, 2862-2867.

**Fu, H-W., Zhang, L., Yi, T, Feng, Y-l, Tian, J-K. (2010).** Two new guaiane-type sesquiterpenoids from the fruits of *Daucus carota* L., *Fitoterapia*, 81, 443-446.

## **G**

**Garcia-Jimenez, N., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A. (2000).** Chemical composition of fennel oil, *Foeniculum vulgare* Miller. from Spain, *Journal of Essential Oil Research*, 12(2), 159-162.

- Gebhardt, Y., Witte, S., Forkmann, G. (2005).** Molecular evolution of flavonoid dioxygenases in the family Apiaceae, *Phytochemistry*, 66, 1273–1284.
- Gende, L.B, Maggi, M.D., Fritz, R., Eguaras, M.J., Bailac, P.N., Ponzi, M.I. (2009).** Antimicrobial Activity of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* Essential Oils Against *Paenibacillus* larvae, *Journal of Essential Oil Research*, 21(1), 91-93.
- Gilani, A.H., Shaheen, E., Saeed, S.A., Bibi, S., Irfanullah, S.M., Faizi, S. (2000).** Hypotensive action of coumarin glycosides from *Daucus carota*, *Phytomedicine*, 7, 423-426.
- Glisic, S.B., Mistic, D.R., Stamenic, M.D., Zizovic, I.T., Asanin, R.M., Skala, D.U. (2007).** Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity, *Food Chemistry*, 105, 346-352.
- Gonny, M., Bradesi, P., Casanova, J. (2004).** Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy, *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 424-433.
- Ghanem, M.T., Radwan, H.M., Mahdy, S., Elkholy, Y.M. (2012).** Phenolic compounds from *Foeniculum vulgare* ssp. *Piperitum* (Apiaceae) herb and evaluation of hepatoprotective antioxidant activity, *Pharmacognosy Res*, 4(2), 104-108.
- Gholamhoseinian, F., Moradi, M.N., Sharifi-far, F. (2009).** Screening the methanol extracts of some Iranian plants for acetylcholinesterase inhibitory activity, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 105-112.
- Golfakhrabadi, F., Khanavi, M., Ostad, S. N., Saeidnia, S., Yousefbeyk, F., Ardekani, M. (2015).** Biological Activities and Composition of *Ferulago carduchorum* Essential Oil, *J. Arthropod-Borne Dis*, 9(1), 104-115.
- Góra, J., Lis, A., Kula, J., Staniszewska, M., Woloszyn, A. (2002).** Chemical composition variability of essential oils in the ontogenesis of some plants, *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 445-451.
- Guinard, J- L. ( 2000).** Biochimie végétale, 2<sup>ème</sup> volume, Dunod-Paris, p 86, p 167-168.
- Gunaydina, K., Erimb, F.B. (2002).** Determination of khellin and visnagin in *Ammi visnaga* fruits by capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, 954, 291-294.

**Gupta, K.R., Niranjana, G.S. (1982).** A new flavone glycoside from seeds of *Daucus carota*, *Planta Med*, 46, 240-241.

**Gutman, J. (2001).** Glutathione aide essentielle à une bonne santé . Gutman & Schettini Inc., Montréal, Canada.

**Grzebelus, D., Baranski, R., Spalik, K., Allender, C. Simon, P. W. (2011).** *Daucus*, *Wild Crop Relatives Genomic and Breeding Resources*.

## **H**

**Halliwell, B. (1994).** Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence, *The Lancet*, 344, 721.

**Harborne, J.B. (1971).** Flavonoid and phenylpropanoid patterns in the Umbelliferae. In : *The Biology and Chemistry of the Umbelliferae*, Heywood V.H. (Ed.), Academic Press, London, 293-314.

**Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medicinal significance of the flavonoides, *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.

**Heywood, V.H. (1971).** Systematic survey of old world Umbelliferae, *Bot. J. Linn. Soc*, 64 (1), 31-41.

**Heywood, V.H., Moore, D.M., Richardson, I.B.K., Stearn, W.T. (1996).** Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale, p218- 219.

**Hilal, S.H., ElShamy, A.M., Haggag, M.Y. (1977).** A study of the volatile and fixed oils of the fruits of *Daucus carota* L. var. *boissieri*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 509-520.

**Hilton-Simpson, M. W. (1922).** Arab medicine and surgery, Oxford Univ Press, Humphrey Milford, London.

**Hossain, N.P., Brunton, A.B., Martin-Diana, M., Wilkinson, M.B. (2008).** Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants, *Rasayan. J. Chem*, 1(4), 751-756.

## **I**

**Imamu, X., Yili, A., Aisa, H.A., Maksimov, V.V., Veshkurova, O.N., Salikhov, S. I. (2007).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Daucus carota ssp sativa* seeds, *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), 495-496.

## **J**

**Jabrane, A., Ben Jannet, H., Harzallah-Skhiri, F., Mastouri, M., Casanova, J., Mighri, Z. (2009).** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity, *Chemistry & Biodiversity*, 6.

**Jelena, S., Mateji, A., Džamić, M., Tatjana, M. (2013).** Total phenolic and flavonoid content, antioxidant and antimicrobial activity of extracts from *Tordylium maximum*, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(01), 055-059.

**Jennings, W., Shibamoto, T. (1980).** Qualitative Analysis of Flavour and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Chromatography, Academic Press, New York, USA.

**Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.K., Stevens, P.F. (1999).** Plant Systematics: A Phylogenetic Approach, 3<sup>ème</sup> éd, Sinauer Associates, p387.

## **K**

**Kaminski, M., Rafal, K., Marcin, M. K. (2003).** HPLC-DAD in identification and quantification of selected coumarins in crude extracts from plant cultures of *Ammi majus* and *Ruta graveolens*, *Journal. Sep. Sci*, 26, 1287-1291.

**Kjeldsen, F., Christensen, L. P., Edelenbos, M. (2003).** Changes in Volatile Compounds of Carrots (*Daucus carota* L.) During Refrigerated and Frozen Storage, *J. Agric. Food Chem*, 51 (18), 5400-5407.

**Krolicka, A., Kartanowicz, R., Wosinski, S.A. (2006).** Induction of secondary metabolite production in transformed callus of *Ammi majus* L. grown after electromagnetic treatment of the culture medium, *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 1386-1391.

**Kujundzic, N . Stanic, G . Vukusic, I. (1992).** A study of the Chemical-Composition of the Plant *Caucalis platycarpus* L., *Acta Pharmaceutica*, 42(1), 91-93.

**Kumarasamy, Y., Nahar, L., Byres, M., Delazar, A., Sarker, S.D. (2005).** The assessment of biological activities associated with the major constituents of the methanol extract of wild carrot (*Daucus carota* L.) seeds, *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 5, 61-72.

**Küpel, E., Tosun, A., Yesilada, E. (2006).** Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Seseli* L. species (Apiaceae) growing in Turkey, *Journal of Ethnopharmacology*, 104, 310-314.

## L

**Lanfranchi, D-A., Laouer, H., El Kolli, M., Prado, S., Maulay-Bailly, C., Baldovini, N. (2010).** Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria, *J. Agric. Food Chem.*, 58 (4), 2174-2179.

**Laouer, H., Hirèche-Adjal, Y., Prado, S., Boulaacheb, N., Akkal, S., Singh, G., Singh, P., Isidorov, V.A., Szczepaniak, L. (2009).** Chemical composition and Antimicrobial activity of essential oil of *Bupleurum montanum* and *B.plantagineum*, *Natural Product Communications*, 4(11), 1605-1610

**Laouer, H., Bouheda, A., Bouchekrit, M., Boulachaab, N., Sahli, F., Akkal, S. (2012).** Chemical and Biological Study of Essential Oils of Two Populations of Algerian *Daucus setifolius*, The 3<sup>rd</sup> International Symposium on Medicinal Plants, Their Cultivation and Aspects of Uses, Jordan.

**Lara, T., Chericoni, S., Bader, A, Pistelli, L., Calderone, V., Enrica, M. (2005).** Vasorelaxant effects of the chloroformic crude extract of *Bupleurum fruticosum* L. (Umbelliferae) roots on rat thoracic aorta, *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 93-97.

**Lee, J.Y., Park, W. (2011).** Anti-Inflammatory Effect of Myristicin on RAW 264.7 Macrophages Stimulated with Polyinosinic-Polycytidylic Acid, *Molecules*, 16, 7132-7142.

**Leiter, E., Hitchcock, G., Godwin, S., Johnson, M., Sedgwick, W., Jones, W., MaCall, S., Ceremuga, T.E. (2011).** Evaluation of the anxiolytic properties of myristicin, a component of nutmeg, in the male Sprague-Dawley rat, *AANA Journal*, 79, 109-114.

**Lichtenstein, E.P., Liang, T.T., Schulz, K.R., Schnoes, H.K., Carter, G.T. (1974).** Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22, 658-664.

**Liu, C. T., Chuang, P. T., Wu, C. Y., Weng, Y. M., Chen, W., Tseng, C. Y. (2006).** Antioxidative and *in vitro* hepatoprotective activity of *Bupleurum kaoi* leaf infusion, *Phytother. Res.*, 20, 1003-1008.

**Lund, E.D. (1992).** Polyacetylenic carbonyl compounds in carrot, *Phytochemistry*, 31, 3621-3623.

## M

**Mabberley, D.J. (2008).** Mabberley's Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses, New York, Cambridge University Press.

**Majumder, P.K., Dasgupta, S., Mukhopadhaya, R.K., Majumdar, U.K., Gupta, M. (1997).** Anti-steroidogenic activity of the petroleum ether extract (fatty acids) of carrot (*Daucus carota* L.) seeds in mouse ovary, *Ethnopharmacology*, 57, 209-212.

**Mani, V., Parle, M., Ramasamy, K.A., Abdul Majeed, A. B. (2010).** Anti-Dementia Potential of *Daucus carota* Seed Extract in Rats, *Pharmacologyonline*, 1, 552-565.

**Mansour, E-S., Matoog, G.T., Khalil, A.T., Marwan, E.M., Sallam, A.A. (2004).** Essential Oil of *Daucus glaber* Forssk, *Z. Naturforsch*, 59c, 373-378.

**Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, L.A., Catharino, R.R., Sawaya, A. F., Cunha, I.S., Carvalho, P.O., Eberlin, M.N. (2007).** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts, *Molecules*, 12, 423-432.

**Marzouki, H., Khaldi, A., Falconieri, D., Piras, A., Marongiu, B., Molicotti, P., Zanetti, S. (2010).** Essential Oils of *Daucus carota* subsp. *carota* of Tunisia Obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction, *Natural Product Communications*, 5, 1955-1958.

**Massada, Y. (1976).** Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, J. Wiley & Sons, New York, USA.

**Masuda, T. S., Yonemori, Y., Oyama, Y., Takeda, T., Tanaka, T. (1999).** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: Activity of the leaf extracts from seashore plants, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47(4), 1749-1754.

**Maxia, A., Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2009).** Supercritical extraction and biological assays of essential oils from *Daucus carota* subsp. *carota* growing wild on the Mediterranean coast and on the Atlantic coast, *Fitoterapia*, 80, 57-61.

**Maxia, A., Frau, M.A., Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2011).** Biological Assays and Chemical Composition of Volatile Oils of *Bupleurum fruticosum* L. (Apiaceae), *Records of Natural Product*, 5(2), 92-99.

**Mazzoni, V., Tomi, F., Casanova, J. (1999).** A daucane-type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 268-272.

- Mech-Nowak, A., Świdorski, A., Kruczek, M., Łuczak, I., Kostecka- Gugala, A. (2012).** Content of carotenoids in roots of seventeen cultivars of *Daucus carota* L., *Acta biochimica polonica*, 59(1),139-141.
- Meng-lan, S, Fa-ting, P., Zehui, P.,Watson, M.F., Cannon, J. F. M., Holmes-Smith, I., Kljuykov, E. V., Phillippe, L. R., Pimenov, M.G. (2005).** Apiaceae (Umbellifereae), *Flora of China*, 14, 1-205.
- Meyer, S., Reeb, C., Bosdeveix, R. (2004).** Botanique Biologie et Physiologie Végétales, Maloine Paris.
- Minh Diep, P.T., Pawlowska, A.M., Cioni, P.L., Minh, C.V., Huong, L.M., Braca, A. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Clausena indica* (Dalz) Oliv.(Rutaceae) essential oil from Vietnam, *Natural Product Communications*, 4, 869-872.
- Mockute, D., Nivinskiene, O. (2004).** The sabinene chemotype of essential oil of seeds of *Daucus carota* L. ssp. *carota* growing wild in Lithuania. *Journal of Essential Oil Research*, 16, 277-281.
- Murphy, E., Nahar, L., Byres, M. (2004).** Coumarins from the seeds of *Angelica sylvestris* (Apiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 203-207.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C, Yolke, R.H. (1995).** Manual of clinical microbiology, 6<sup>th</sup> ed, ASM press, Washinton DC, USA.
- Murray, R. D. H., Mèndez, j., Brown, A. (1982).** The natural coumarins: occurrence, chemistry and Biochemistry, J. W & Sons.

## N

- Neffati, A., Bouhlel, I. Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Limen, I., Kilani, S. (2009).** Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(2): 187-194.
- Neffati, A., Hennequin, D., Basset, B., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K., Barillier, D., Ledauphin, J. (2009).** Influence of Growth Phase and Geographic Origin on the Essential Oil Composition of *Pituranthos chloranthus* from Tunisia, *Natural Product Communications*, 4, 1585-1594.

## O

**Ocete, M.A., Risco, S., Zarzuelo, A., Jimenez, J. (1989).** Pharmacological activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltarium*: anti-inflammatory activity and effects on isolated rat uteri, *Journal of Ethnopharmacol*, 25, 305-313.

**O'kenndy, R., Thornes, R.D. (1997).** Coumarins-biology Applications and mode of action, John Wiley & Sons.

**Olle, M., Bender, I. (2010).** The content of oils in umbelliferous crops and its formation, *Agronomy Research*, 8(III), 687-696.

**Özcan, M.M., Chalchat, J.C. (2007).** Chemical composition of carrot seeds (*Daucus carota* L.) cultivated in Turkey : characterization of the seed oil and essential oil, *Grasas y Aceites*, 58 (4), 359-365.

**Ozenda, P. (1991).** Flore et végétation du sahara, 3<sup>ème</sup> édition, Centre National de la Recherche Scientifique (C.N.R.S), Paris, p355-362.

**Öztürk, M., Emin Duru, M., Kivrak, S., Mercan-Doğan, N., Türkoglu, A., Ali Özler, M. (2011).** *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three Agaricus species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most mushrooms, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1353-1360.

## P

**Perry, E. K., Gibson, P. H., Blessed, G. (1977).** Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue, *Journal of the Neurological Sciences*, 34, 247-265.

**Peterson, S., Lampe, J.W., Bammler, T. (2006).** Apiaceous vegetable constituents inhibit human cytochrome P-450 activity and hCYP1A2-mediated mutagenicity of aflatoxin, *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1474-1484.

**Pimenov, M.G., Leonov, M.V. (1993).** The Genera of the Umbelliferae, Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

**Pinilla, M.G., Alonso, M.J.P., Negueruela, A.V. (1995).** Volatile constituents from fruits of *Daucus carota* L. ssp. *gummifer* Hooker fil, *Journal of Essential Oil Research*, 7, 433-435.

**Pistelli, L., Bertoli, A., Bilia, A. R., Morelli, I. (1996).** Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots, *Phytochemistry*, 41, 1579-1582.

**Pistelli, L. (2006).** The chemistry and biological activity of the genus *Bupleurum* in Italy, *Scientific Evaluation and Clinical Applications*, Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis, 117-131.

**Plazonić, A., Bucar, F., Maleš, Ž., Mornar, A., Nigović, B., Kujundžić, N. (2009).** Identification and Quantification of Flavonoids and Phenolic Acids in Burr Parsley (*Caucalis platycarpus* L.), Using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Mass Spectrometry, *Molecules*, 14, 2466-2490.

**Plazonić, A. , Bucar, F., Maleš, Ž., Mornar, A., Nigović, B., Kujundžić, N. (2011).** Characterization and quantification of flavonoid aglycones and phenolic acids in the hydrolyzed methanolic extract of *Caucalis platycarpus* using HPLC-MS/MS, *Chemistry of natural compounds*, 47, 26-30.

**Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N. (2006).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian, *African journal of biotechnology*, 1142-1145.

## **Q**

**Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome II, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique (C.N.R.S), 15 Quai Anatole France, Paris.

## **R**

**Radulović, N., Đorđević, N., Stojanović-Radić, Z. (2011).** Volatiles of the Balkan endemic *Daucus guttatus* ssp *zahariadii* and cultivated and wild-growing *D. carota* - A comparison study, *Food Chemistry*, 125, 35-43.

**Ravindra, P.V., Narayan, M.S. (2003).** Antioxidant activity of the anthocyanin from carrot (*Daucus carota*) callus culture, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(5), 349-355.

**Renato, D., Bernard, D., Herman, N. E., Horold, S. G. (1990).** Microbiologie, Fourth edition J. B lippincott company (New York), 231.

**Richter, G. (1993).** Métabolisme des Végétaux physiologie et biochimie, Presses

**Rinne, J. O., Sako, E., Paljarvi, L., Molsa, P. K., Rinne, U. K. (1988).** A comparison of brain choline acetyltransferase activity in Alzheimer's disease, multi-infarct dementia, and combined dementia, *Journal of Neural Transmission*, 73, 121-128.

## S

**Saad, H.E.A., ElSharkawy, S.H., Halim, A.F. (1995).** Essential oils of *Daucus carota* ssp *Maximus*, *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 70, 79-84.

**Singab, A., Khalifa, T., Mahran, G.H., Okada, Y., Matsumaru, Y., Nishino, H., Okuyama, T. (1998).** A new flavonoid glycoside from *Pituranthos tortuosus* Desf, Benth & Hook, *Natural Medicine*, 52, 191-194.

**Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977).** Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods, *Am. J. Enol. Viticult*, 28, 49-55.

**Smaili, T., Zellagui, A., Cioni, P.L., Flamini, G. (2011).** A Myristicin-rich Essential Oil from *Daucus sahariensis* Growing in Algeria, *Natural Product Communications*, 6, 883-886.

**Smaili, T., Zellagui, A., Gherraf, N., Flamini, G., Cioni, P.L. (2011).** Essential oil content of the flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria, *Medicinal Plants*, 3(2).

**Smaili, T., Zellagui, A., Rebbas, K., Belkassam, A. (2014).** Variation in essential oil of *Daucus sahariensis*, The 45<sup>th</sup> International symposium on essential oils (ISEO), Istanbul, 245.

**Spichiger, R.E., Savolainen, V-V., Figeat, M. (2004).** Botanique Systematique des Plantes à Fleurs, 3<sup>ème</sup> édition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes Lausanne.

**Staniszewska, M., Kula, J. (2001).** Composition of the essential oil from wild carrot umbels (*Daucus carota* L. ssp. *carota*) growing in Poland, *Journal of Essential Oil Research*, 13, 439-441.

**Stefan, M., Forkmann, G., Matern, U. (2001).** Cloning of parsley flavone synthase I, *Phytochemistry*, 58, 43-46.

**Stenhagen, E., Abrahamsson, S., McLafferty, F.W. (1974).** Registry of Mass Spectral Data. J. Wiley & Sons, New York, USA.

**Swigar, A.A., Silverstein, R.M. (1981).** Monoterpenes. Aldrich Chem. Comp., Milwaukee, USA.

## T

**Tavares, A.C., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Lopes, M.C., Canhoto, J., Salgueiro, L.R. (2008).** Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 129-134.

**Tavares, A.C., Salgueiro, L.R., Canhoto, J. M. (2010).** *In vitro* propagation of the wild carrot *Daucus carota* L. subsp. *halophilus* (Brot.) A. Pujadas for conservation purposes, *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*, 46, 47-56.

**Torck, M., Trotiw, F. (1980).** Plantes médicinales des régions tempérées, Maloine, Paris, p 225.

**Touil, A., Rhouati, S., Creche, J. (2006).** Flavonoid glycosides from *Pituranthos chloranthus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 42, 104-105.

**Tranchant, J. (1995).** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris.

## U

**Utrilla, M.P., Zarzuelo, A., Risco, S., Ocete, M.A., Jimenez, J. Gamez, J. (1991).** Isolation of a saikosaponin responsible for the anti inflammatory activity of *Bupleurum gibraltarium* Lam. root extract, *Phytother. Res*, 5, 44-45.

## V

**VanWyk, B-E., Wink, M. (2004).** Medicinal Plants of the World: An Illustrated Scientific Guide to Important Medicinal Plants and Their Uses, Portland, OR: Timber Press.

**Verite, P., Nacer, A., Kabouche, Z., Seguin, E. (2004).** Composition of seed and stem essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 562-564.

**Vernin, G., Lageot, C., Chiglione, C., Dahia, M., Parkanyi, C.J. (1999).** GC/MS analysis of the volatile constituents of the essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. Et Dur.) Benth. et Hook. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 11, 673-676.

**Vesna, K., Rada, I., Katiea, S., Mitan, M. (1989).** Fatty oil from the fruit of wild (*Daucus carota* ssp. *carota*) and cultivated carrot (*Daucus carota* L. ssp. *sativus*) (Hoffm). *Acrang. Pharmazie*, 44, 166-167.

## W

**Williams, C.A., Harborne, J.B. (1972).** Essential oils in the spiny fruited Umbelliferae, *Phytochemistry*, 11, 1981-1987.

**Wu, Y., Xu, Z.L., Li, H.J., Meng, X., Bao, Y.L., Li, Y.X. (2006).** Components of essential oils in different parts of *Daucus carota* L. var. *sativa* Hoffm, *Chemical Research Chinese University*, 22, 328-334.

## Y

**Yen, M. H., Lin, C. C., Chuang, C. H., Liu, S. Y. (1991).** Evaluation of root quality of *Bupleurum* species by TLC scanner and the liver protective effects of “Xiao-chai-hu-tang” prepared using three different different *Bupleurum* species, *J. Ethnopharm*, 34, 155-165.

## Z

**Zgorka, G., Dragan, T., Glowniak, K. (1998).** Determination of furanochromones and pyranocoumarins in drugs and *Ammi visnaga* fruits, *Journal of Chromatography A*, 797, 305-309.

**Zhao, Y-Y., Luo, H., Wang, B., Ma, L., Tu, G.N., Zang, R.Y. (1996).** Triterpenoid saponins from *Bupleurum smithii* var. *parvifolium*. *Phytochemistry*, 42, 1673-1675.

**Zidorn, C., Johrer, K., Ganzera, M., Schubert, B., Sigmund, E. M., Mader, J. (2005).** Polyacetylenes from the Apiaceae vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2518-2523.

**Zellagui, A., Gherraf, N., Rhouati, S. (2012).** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Ferula vesceritensis* Leaves, endemic in Algeria, *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2(31).

الملحق

جدول 1: تصنيف الفصيلة الخيمية Apiaceae (Downie وآخرون ، 2006).

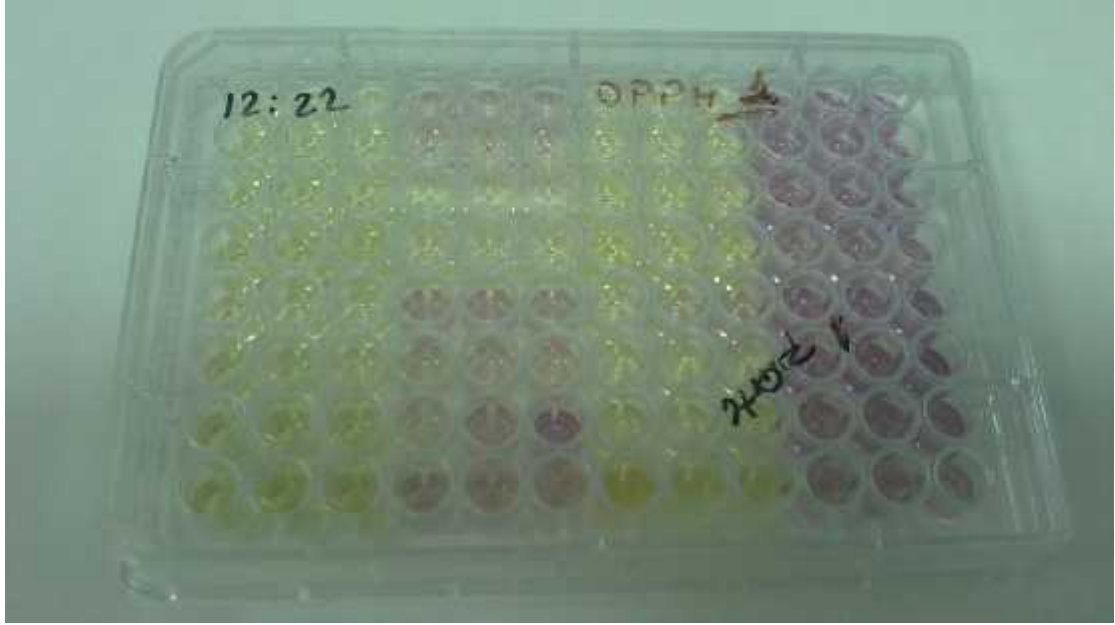
	تحت عائلة (Sous famille)	قبيلة (Tribu)	تحت قبيلة (Sous Tribu)	
الفصيلة الخيمية  Apiaceae (Umbellifereae)	Apiioideae	Echinophoreae		
		<b>Scandiceae</b>	Scandicinae Caucalidinae	
		Coriandreae		
		Smyrnieae		
		<b>Apiaceae</b>	Carinae Seseliniae	
		Peucedaneae	Anglicinae Ferulinae Tordylinae	
		Laserpitieae	Silerinae Elaeselininae Thapsiinae	
		<b>Dauceae</b>		
		<b>Saniculoideae</b>	Saniculeae Lagoeciae	
		<b>Hydrocotyloideae</b>	Hydrocotyleae Mulineae	

**جدول 02 : نسبة المجموعات الكيميائية لزيوت أعضاء *D. sahariensis* Murb.**

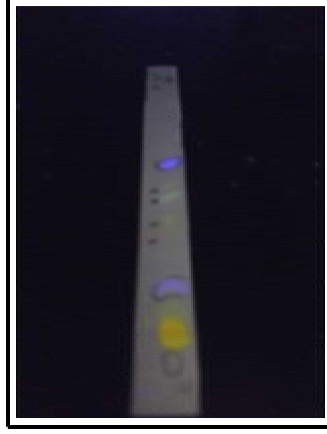
المجموعات الكيميائية	الجزور	السيقان	الأوراق	الثمار
<b>Monoterpene hydrocarbons</b>	6.7	<b>63.8</b>	<b>18.7</b>	<b>36.1</b>
Oxygenated monoterpenes	<b>18.7</b>	13.1	16	12.2
Sesquiterpene hydrocarbons	3.6	4.3	5.7	4.4
Oxygenated sesquiterpenes	4.2	6.5	11.5	1.3
<b>Phenylpropanoids</b>	<b>47.7</b>	9.2	<b>37.1</b>	<b>44.9</b>
Non-terpene derivatives	8.8	0.9	2.3	Tr
<b>Total identified (%)</b>	<b>94</b>	<b>97.8</b>	<b>91.3</b>	<b>98.9</b>

**جدول 03 : نسبة المجموعات الكيميائية في زيوت المراحل الثلاث لنبتة *Daucus sahariensis* Murb.**

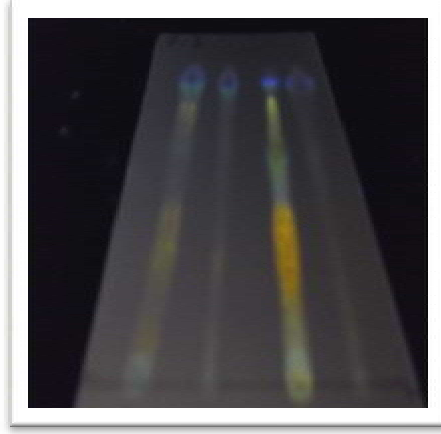
المجموعات الكيميائية	قبل الإزهار (%)	الإزهار (%)	الإثمار (%)
<b>Monoterpene hydrocarbons</b>	<b>60.0</b>	<b>58.7</b>	39.3
Oxygenated monoterpenes	5.7	6.8	6.2
Sesquiterpene hydrocarbons	2.0	1.4	0.9
Oxygenated sesquiterpenes	1.3	1.2	0.8
<b>Phenylpropanoids</b>	30.1	30.2	<b>52.2</b>
Non-terpene derivatives	0.4	0.2	Tr
<b>Total identified (%)</b>	<b>99.5</b>	<b>98.5</b>	<b>99.4</b>



**الصورة 1 :** التطبيق من نوع 96-well microplate reader المستعمل في قياس الفعالية المضادة للأكسدة والأستيل كولين أستيراز.



الصورة 01 : كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلص الميثانولي لثمار  
*Daucus sahariensis*



الصورة 02 : كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمذيبات الأربعة لمستخلص ثمار  
*Ducus sahariensis* Murb.

**جدول 2 : أزمنة المكوث بالدقيقة لأهم المركبات الزيتية في جهاز كروماتوغرافيا الغاز من نوع.....تاع بيزا**

المركبات الزيتية	زمن المكوث (د) R.T
$\alpha$ -thujene	
$\alpha$ -pinene	
Sabinene	
$\beta$ -pinene	
Myrcene	
$\alpha$ -phellandrene	
p-cymene	
Limonene	
(E)- $\beta$ -ocimene	
$\gamma$ -terpinene	
Trans sabinol	
Cis sabinene hydrate	
$\alpha$ -Pinene oxide	
Cis verbinol	
Cis chrysantenol	
4- terpineol	
$\alpha$ -Terpineol	
p-cimen 8-ol	
Estragol	
<i>cis</i> - chrysanthenyl acetate	
(E)-anethole	
Germacrene D	
Bicyclogermacrene	



## RESUME

Le but de cette étude est d'extraire les huiles essentielles et les composés phénoliques de cinq plantes de la famille des Apiaceae; *D.sahariensis*, *D.reboudii*, *B.plantagineum*, *P.scoparius* et *C.daucoides* puis de les analyser par les méthodes et les techniques appropriées. On a analysé les huiles essentielles en utilisant la chromatographie GC-MS pour identifier leur composition. Les résultats ont montré leur richesse en huiles volatiles avec des disparités importantes. En ce qui concerne *Daucus sahariensis*, cette plante saharienne qui n'a pas fait encore l'objet d'une étude, nous avons identifié 88 composés. Par ailleurs, elle était très riche en Phenylpropanoïdes et principalement le **Myristicin**, dont la quantité est différente en particulier dans les fruits, les feuilles et les racines (43,9%, 34,3%, 29,2%) par rapport aux tiges (8%). Cette plante qui a été recueillie au cours de trois phases de son évolution a révélé des résultats différents. La présence du Myrcène dans la phase qui précède la floraison est avec un taux de (31%) par rapport à la phase de floraison et de fructification où le Myristicin a été le composant principal avec un taux de (30%, 51,7%). Ce dernier fut le pourcentage le plus élevé, retrouvé chez toutes les espèces de *Daucus* dans le monde. Ce taux n'a pas encore dépassé la valeur de 29%. En ce qui concerne l'espèce endémique qui pousse dans le Nord, *D. reboudii*, le nombre des composés identifiés dans la partie aérienne a été de 28. Le composant principal est (*E*)-Anéthole (59,4%). Les principaux composés d'huile de *B.plantagineum* sont cis-Chrysanthenyl acétate (33,5 %),  $\alpha$ -Pinène (18,4 %) et Myrcène (16,5%), alors que les composants majeurs de l'essence de *P.scoparius* sont :  $\alpha$ -Phellandrène (15,6%),  $\alpha$ -Pinène (17,4%) et Myristicin (24,1%), tandis que l'huile de *C.daucoides* est riche en  $\alpha$ -Pinène(22.2%)et $\beta$ -Phellandrene(15.6%).

En ce qui concerne le deuxième type de métabolites secondaires (les composés phénoliques), on a utilisé la chromatographie CCM et nous avons déterminé le contenu phénolique total en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Ces plantes contiennent des taux différents de cette teneur. *D.sahariensis* et *D.reboudii* ont enregistré des taux élevés (62.23, 53.62  $\mu$ gPE / mg), suivi par *B.plantagineum* (49.72) puis *P.scoparius* et *C.daucoides* qui contenaient le moins de contenu (42.93, 39.75  $\mu$ gPE/mg).

A la fin, on a effectué l'activité biologique des deux extraits bioactives: antioxydantes, anticholinestérase et antibactériennes. Les extraits méthanol ont une activité antioxydante élevée par rapport aux huiles volatiles, mais ce est le contraire pour l'activité anticholinestérase. Pourtant, les deux extraits ont même une activité antibactérienne importante vis-à-vis des trois souches bactériennes étudiées.

### Mots clés:

Apiaceae, huiles essentielles, composés phénoliques, GC-MS, CCM, phénols totaux, activité biologique.

## ABSTRACT

The aim of this study is to extract the essential oils and the phenolic compounds of five plants of the Apiaceae family; *D.sahariensis*, *D.reboudii*, *B.plantagineum*, *P.scoparius* and *C.daucoides* then analyzing them using the appropriate methods and techniques. We have analyzed the essential oils on the basis of the chromatography GC-MS to identify their composition. Surprisingly, the results showed their richness with the volatile oils with a significant variety in term of number and type. As far as *Daucus Sahariensis*, this saharien plant which has not been studied before, the number was between 80 to 88 compounds. Moreover, it was so rich with the Phenylpropanoids constituent mainly the **Myristicin** which its quantity was different especially in the fruits and the leaves (43.9%, 34.3%) in comparison with the roots and the stems (29.2%, 8%). This plant which was collected during three stages revealed different rates of oil. There was high presence of Myrcene in the flower budding stage with the amount of (31%) compared with the presence of the Myristicin as the principal compound with the rate of (51.7%, 30%) during the flowering and fruiting stages. This was the highest percentage till now in all *Daucus* species growing in the world that did not exceed 29%.

Concerning the endemic species growing in the North, *D. reboudii*, the number of the identified compounds in the aerial part was 28. The main constituent was (*E*)-Anethole (59.4%) while in the oil of *B.plantagineum*, the principal compounds were *cis*-Chrysanthenyl acetate (33.5%),  $\alpha$ -Pinene (18.4%) and Myrcene (16.5%). In the volatile oil of *P.scoparius*, the main constituents were Myristicin (24.1%),  $\alpha$ -Pinene (17.4%) and  $\alpha$ -Phellandrene (15.6%) while the oil of *C.daucoides* was rich with  $\alpha$ -Pinene (22.2%) and  $\beta$ -Phellandrene (15.6%).

As far as the second kind of secondary metabolites (phenolic compounds), we have used the CCM chromatography then we have determined the total phenolic content based on the Folin-Ciocalteu method. These plants contained different rates of the phenolic content. *D.sahariensis* and *D.reboudii* have recorded high rates (62.23, 53.62  $\mu$ g PE/mg) followed by *B.plantagineum* (49.72) then *P.scoparius* and *C. daucoides* which contained the least content (42.93, 39.75  $\mu$ g PE/mg).

At the end, we have performed the biological activity of these two bioactive extracts: antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activity. The results revealed a greater antioxidant activity of the methanol extracts in comparison with essential oil, however it is was the opposite for the anticholinesterase activity. Yet the two extracts process antibacterial activity with clear variation between the plant samples towards bacterial strains.

### Key words:

Apiaceae, essential oils, phenolics compounds, GC-MS, CCM, total phenolics, biological activity.

L'huile de *D.sahariensis* a montré, surtout *Bacillus subtilis* ATCC. Cette étude a également illustré l'activité antioxydante des deux extraits; Cependant, l'extrait méthanol de *B.plantagineum* a révélé le meilleur potentiel antioxydatif en comparaison avec les autres espèces étudiées.

The oil of *D.sahariensis* showed an important anti-bacterial activity towards three bacterial strains mainly against *Bacillus subtilis* ATCC. This study has also illustrated their antioxidant activity. The methanol extracts have high activity compared with the volatile oils. However, the methanol extract of *B.plantagineum* revealed the highest percentage in comparison with the other studied species.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة البحثية إلى إستخلاص الزيوت الأساسية والمركبات الفينولية لخمس نباتات من الفصيلة الخيمية Apiaceae *D.sahariensis* ، *D.reboudii* ، *B.plantagineum* و *P.scoparius* و *C. daucoides* ثم تحليلها باستعمال التقنيات والطرق المناسبة حيث تم تحليل الزيوت الأساسية بكروماتوغرافيا الغاز الموصولة بمطيافية الكتلة GC-MS للتعرف على مكوناتها. بينت النتائج غنى النباتات المدروسة بالزيوت الطيارة مع وجود تباين معتبر من حيث عدد ونوع المركبات فبالنسبة للنوع *D.sahariensis* كان العدد من 80 إلى 88 مركب والجديد أن هذا النوع الأصيل يحظى لأول مرة بالدراسة ومميزا بغناه بمركبات الفينيل بروبنويد وخاصة **Myristicin** التي كانت نتائجها متباينة جدا في الثمار والأوراق (43.9%، 34.3%) منه في الجذور والسوق (29.2%، 8%) كما أن هذه النبتة المجمعة في ثلاث مراحل فينولوجية مختلفة أظهرت تركيبة زيتية مختلفة كان أهمها النسبة المعتبرة لمركب Myrcene (31.1%) في مرحلة قبل الإزهار مقارنة بمرحلتى الإزهار و الإثمار حيث احتوى في مقابل ذلك على Myristicin كمركب أساسي (30-51.7%) وهي أعلى نسبة مكتشفة حاليا في كل أنواع *Daucus* المنتشرة في الطبيعة.

أما عن النوع الثاني الأصيل والنامي بالشمال فإن الجزء الهوائي لنبتة *D.reboudii* كان عدد المركبات المعروفة هو 28 مركب أما المركب الأساسي فيه هو (E)-Anethole (59.4%)، بينما نبتة *B.plantagineum* كانت المركبات الأساسية هي *cis*- Chrysanthenyl acetate (33.5%) ،  $\alpha$ -Pinene (18.4%) و Myrcene (16.5%) أما نبتة *P.scoparius* فقد احتوى زيتها على Myristicin (24.1%) ،  $\alpha$ -Pinene (17.4%) و  $\alpha$ -Phellandrene (15.6%) كمركبات رئيسية في حين كان زيت نبتة *C. daucoides* غنية بمركبي  $\alpha$ -Pinene (22.2%) و  $\beta$ -Phellandrene (15.6%).

أما التقنيات المستعملة في النوع الثاني من الأيوض الثانوية والخاص بالمركبات الفينولية تم استعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM ثم تقدير المحتوى الفينولي الكلي بطريقة Folin-Ciocalteu حيث احتوت هذه النباتات على نسبة مختلفة من المحتوى الفينولي إذ أظهرت *D.sahariensis* و *D.reboudii* نسبة عالية ومتقاربة (62.23، 53.41  $\mu$ g PE/mg) متبوعة بـ *B.plantagineum* (49.72) أما *P.scoparius* و *C. daucoides* فقد إحتوتا على نسبة أقل (42.93، 39.75) على الترتيب. في المرحلة الأخيرة من هذا العمل تم إنجاز الفعالية البيولوجية لكلا المستخلصين الحيويين؛ المضادة للأكسدة، لأنزيم الكولين أستيراز وللبكتيريا حيث اتضح أن المستخلصات الميثانولية ذات فعالية مضادة للأكسدة أكبر من الزيوت الأساسية، بالمقابل كانت المستخلصات الزيتية شديدة الفعالية في تثبيطها للكولين أستيراز، في حين أن كلتا المادتين الفعالتين كانتا ذات فعالية ضد بكتيرية مع وجود تفاوت واضح بين العينات النباتية في فعاليتها البيولوجية اتجاه نوع السلالة البكتيرية.

### الكلمات المفتاحية :

الفصيلة الخيمية Apiaceae، الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية، GC-MS، المحتوى الفينولي الكلي، الفعالية البيولوجية.