

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المركز الجامعي العربي بن مهدي أم البواقي
معهد العلوم الطبيعية
دائرة البيولوجيا

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير

اختصاص: منتجات طبيعية ذات أصل نباتي
"مواد حيوية فعالة"
بعنوان

استخلاص المواد الحيوية الفعالة من بعض
النباتات الطبية الجزائرية

مثل *Cotula cinerea* و *Matricaria pubescens*
و دراسة النشاطية المضادة لبعض الأحياء الدقيقة الممرضة

مقدمة من طرف:
شمسة أحمد الخليفة

لجنة المناقشة:

رئيسا	م.ج. أم البواقي	أستاذ التعليم العالي	م. ر. الحلو
مقررا	م.ج. أم البواقي	أستاذ محاضر	أ. بوشمة
ممتحنا	جامعة سطيف	أستاذ التعليم العالي	أ. بوزرزور
ممتحنا	م.ج. أم البواقي	أستاذ محاضر	ي.ع. الوهاب
ممتحنا	م.ج. أم البواقي	أستاذ محاضر	م.م. سنوسي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

شكر

﴿ الحمد لله أولا و الحمد لله آخرا ﴾

أتقدم بجزيل الشكر و التقدير إلى الأستاذ المشرف أحسن
بوشمة على مساعداته و توجيهاته لي أثناء القيام بهذا
البحث.

كما أوجه شكري إلى الأستاذ مالك رسول على قبوله
رئاسة لجنة المناقشة و على مجهوداته و نصائحه التي لم
يبخل بها علينا.

و أوجه خالص شكري للأستاذين يحي عبد الوهاب و
السنوسي محمد مراد على قبولهم المشاركة في لجنة
المناقشة و على إرشاداتهم لنا خلال المشوار الدراسي.
كما لا أنسى جميع عمال مخبر البيولوجيا، و إلى جميع
من ساعد في إنجاز هذا البحث المتواضع.

الفهرس

	قائمة الأشكال
	قائمة الجداول
	قائمة الصور
1	مقدمة.....
الجزء النظري	
3	I- النباتات الطبية.....
3	I-1- تعريفها
3	I-2- طريقة دراستها.....
6	II- دراسة المنتجات الطبيعية.....
7	II-1 تصنيف المنتجات الطبيعية.....
8	II-2 طريقة الحصول على المنتجات الطبيعية.....
9	II-3 فصل و تنقية المنتجات الطبيعية.....
10	II-4 طرق التعرف على التركيب البنائي للمنتجات الطبيعية.....
10	1. طرق التحليل الطيفي.....
10	2. الطرق الكيميائية.....
10	3. الطرق الفيزيائية.....
13	II-5 الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية.....
15	III المواد الفعالة في النبات.....
15	III-1- القلويدات Les alkaloids.....
15	III-1-1 وجود القلويدات في الطبيعة.....
17	III-1-2 إستخلاص القلويدات.....
20	III-1-3 تصنيف القلويدات.....
21	III-2- الفلافونويدات les flavonoides.....
21	III-2-1 تخليق الفلافونويدات.....
25	III-2-2 تصنيف الفلافونويدات.....
27	III-2-3 توزيع و توضع الفلافونويدات في المملكة النباتية.....
29	III-2-4 فوائد الفلافونويدات.....
29	III-3- الغلوكوسيدات Les Glucosides.....
30	III-3-1 الغلوكوسيدات الأستيرودية.....
30	III-3-2 الغلوكوسيدات الصابونية.....
31	III-3-3 الغلوكوسيدات الفينولية:.....
33	III-3-4 الغلوكوسيدات الكحولية.....

33 III-3-5 الغلوكوسيدات الألدهيدية:
33 III-3-6 الغلو كسيدات السيانيديية.
33 III-3-7 الغلوكوسيدات الكبريتية.
34 III-4- les terpenes التربينات
35 III-4-1 تصنيف التربينات.
38 III-4-2 تخليق التربينات.
40 III-4-3 إستخلاص التربينات.
41 III-5-5 الزيوت الطيارة.
41 III-5-1 طرق إستخلاص الزيوت الطيارة.
42 III-5-2 حفظ الزيوت الطيارة.
المواد و الطرق	
43	I العينات النباتية المدروسة.....
43	I-1-1 النبتة الأولى <i>Cotula cinerea</i>
43	I-1-1-1 التصنيف.....
43	I-1-2 الوصف النباتي.....
44	I-1-3 الإنتشار الجغرافي في الجزائر.....
44	I-1-4 الإنتشار الجغرافي.....
46	I-2-1 النبتة الثانية : <i>Matricaria pubescens</i>
46	I-2-1-1 التصنيف.....
46	I-2-2 الوصف النباتي.....
47	I-2-3 الإنتشار الجغرافي في الجزائر.....
47	I-2-4 الإنتشار الجغرافي.....
49	II- الدراسة الفيتوكيميائية.....
49	II-1 الكشف عن المواد الفعالة.....
49	II-1-1 اختبار الفلافونويدات.....
49	II-1-2 اختبار القلويدات.....
49	II-1-1 اختبار التانينات.....
50	II-1-4 اختبار الصابونيات.....
50	II-1-5 اختبار التربينات الثلاثية.....
51	II-1-6 اختبار الكاردينوليدات.....
51	II-1-7 اختبار الغليكوزيدات.....
51	II-1-8 اختبار الزيوت الطيارة.....
52	II-2-2 إستخلاص الفلافونويدات.....
52	II-2-1 جمع العينات.....

52 جمع العينات.....II-2-1
52 عملية الإستخلاص.....II-2-2
54 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة..... II-3
54 عامل التوزيع R_f II-4
55 الدراسة البيولوجية.....III-1
55 جمع السلالات البكتيرية..... III-1
58 تحضير السلالات البكتيرية..... III-2
58 تحضير الأقراص..... III-3
59 إختبار النشاطية التثيطية للمواد المستخلصة..... III-4
60 النتائج
60 الدراسة الفيتوكيميائية..... I-1
60 الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة..... I-1
61 الاستخلاص..... I-2
63 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و قيم R_f I-3
66 الدراسة البيولوجية..... II-1
66 النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة..... II-1
66 <i>Matricaria pubescens</i> -1-1-II
67 <i>Cotula cinerea</i> -2-1-II
71 مناقشة النتائج
75 الخاتمة
76 الملخص
	المراجع
	الملحق

قائمة الأشكال

الصفحة	الشكل
5	الشكل-1- مخطط دراسة النباتات الطبية
18	الشكل -2- إحدى الطرق المتبعة في استخلاص القلويدات
20	الشكل-3- البنية الكيميائية لـ Flavone (Phenyl 1-2 chromone)
22	الشكل -4- العلاقة ما بين الميتابوليزم الأولي والثانوي في تخليق الفلافونويدات
23	الشكل -5- تخليق الفلافونويدات
27	الشكل -6- توزيع الفلافونويدات في المملكة النباتية
30	الشكل-7- الصيغة الكيميائية لـ Rutin
31	الشكل -8- صيغة Aesculetin و Aesculin
32	الشكل-9- الصيغة الكيميائية لـ Vanilline
33	الشكل-10- الصيغة الكيميائية لوحدة الإيزوبرين
35	الشكل-11- الصيغة الكيميائية لـ Vitamine A
35	الشكل-12- الصيغة الكيميائية لـ Cholesterol
36	الشكل-14- الصيغة الكيميائية لـ β -carotene
36	الشكل-13- الصيغة الكيميائية لـ Lycopene
38	الشكل -15- مخطط التخليق الحيوي للتربينات
45	الشكل -16- رسم توضيحي لـ <i>Cotula cinerea</i>
48	شكل -17- رسم توضيحي لـ <i>Matricaria pubescens</i>
53	شكل-18- مراحل إستخلاص الفلافونويدات
66	الشكل-19- رسم بياني لتأثيرات مستخلصات نبات الفرطوفة على الأنواع البكتيرية المدروسة
67	الشكل -20- رسم بياني لتأثيرات مستخلصات نبات الشحية على الأنواع البكتيرية المختبرة

قائمة الجداول

الصفحة	الجدول
12	الجدول -1- مواقع امتصاص IR لأهم المجموعات الوظيفية الشائعة
25	الجدول -2- يبين أنواع الفلافونويدات مع بعض الأمثلة
33	الجدول -3- يوضح تسمية وعدد ذرات التربينات
43	الجدول-4- التصنيف النباتي لـ <i>Cotula cinerea</i>
46	الجدول-5- التصنيف النباتي لـ <i>Matricaria pubescens</i>
55	الجدول-6- العلاقة بين قيمة R ₁ و بنية الفلافونويد
60	جدول -7- نتائج الكشف عن المواد الفعالة في النباتين
61	الجدول -8- الأوزان المختلفة للأطوار المستخلصة من النباتين
65	الجدول-9- العلاقة بين لون البقعة للفلافونويدات و تركيبها الكيميائي
66	الجدول-10- نتائج معاملة العينات البكتيرية بمستخلصات <i>Matricaria pubescens</i>
67	الجدول -11- نتائج معاملة العينات البكتيرية بمستخلصات <i>Cotula cinerea</i>

قائمة الصور

الصفحة	الصورة
45	صورة 1- صورة فوتوغرافية لـ <i>Cotula Cinerea</i>
48	صورة 2- صورة فوتوغرافية لـ <i>Matricarea pubescens</i>
62	صورة 3- المستخلصات الفلافونويدية لـ <i>Cotula cinerea</i>
62	صورة 4- المستخلصات الفلافونويدية لـ <i>Matricarea pubescens</i>
64	صورة 5- نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
68	صورة 6- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على <i>Proteus mirabilis</i>
68	صورة 7- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على <i>Serratia. Sp</i>
69	صورة 8- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على <i>Pseudomonas. SP</i>
69	صورة 9- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على <i>Escherichia coli</i>

المقدمة:

تعتبر النباتات الطبية محل إهتمام و فضول الإنسان على مر العصور، إذ كانت و لازالت تمثل مصدرا طبيعيا للمعالجة سواء على شكل مستحضرات تقليدية أو مواد فعالة نقية. و هي تمتاز عن الأدوية الكيميائية بفعاليتها العلاجية العالية و كذلك قلة تأثيراتها الجانبية.

لذلك فليس من الغريب أن يعود الإنسان من حيث بدأ أول مرة، إلى الطبيعة و ما تحويه من خيرات. فحسب إحصائيات قدمتها منظمة الصحة العالمية سنة 1986 فإن 80% من سكان الأرض يلجئون إلى أساليب تقليدية للحصول على علاج أولي. (Fransworth, 1986)

و كغيرها من الدول فإن الجزائر تزخر بكم هائل من النباتات الطبية، و ذلك بسبب مساحتها الكبيرة من جهة و تنوع مناخها و أراضيها من جهة أخرى، الشيء الذي أدى إلى فتح المجال لتنظيم و إثراء برامج بحث متعددة الإختصاصات، و ذلك بهدف إستعمال هذا المصدر الطبيعي كعلاج. وفي هذا الإطار تندرج دراستنا هذه و التي تتعلق بالكشف عن المواد الفعالة الموجودة في بعض النباتات، و محاولة استخلاص إحدى هذه المواد.

وقد وقع اختيارنا على نبتتين من الصحراء الجزائرية و هما *Matricaria pubescens* التي تستعمل في الطب الشعبي بكثرة و *Cotula cinerea* و التي تستعمل كغذاء للابل، و حسب ما ذكره Markouk M و زملاؤه فهي تستعمل أيضا ضد أمراض الحساسية .

وقد قسمنا بحثنا هذا إلى جزئين، الجزء الأول و هو الجزء النظري و فيه: إعطاء نظرة عامة عن مراحل دراسة النباتات الطبية، ثم إجراء دراسة شاملة عن المنتجات الطبيعية، و يليه فصل حول المواد الفعالة و محاولة أخذ صورة واضحة عن كل مادة.

أما الجزء الثاني ففيه وصف للنبتين و إعطاء التصنيف النباتي لكل منهما. ثم إجراء اختبار الكشف عن وجود أو عدم وجود بعض المواد الفعالة عند هاتين النبتتين، و يليه استخلاص إحدى هذه المواد وقد وقع اختيارنا هنا على الفلافونويدات، و ذلك بسبب قيمتها الدوائية و العلاجية العالية، و بعد ذلك إجراء كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لهذه المستخلصات الفلافونويدية، و في الأخير دراسة النشاطية التثبيطية لهذه المستخلصات على بعض الأحياء الدقيقة.

I النباتات الطبية :

I-1- تعريفها :

يسمى النبات نباتا طبييا إذا امتلك عضو على الأقل من أعضائه خصائص علاجية (Bruneton، 1999). و بشيء من التفصيل؛ يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحوي في عضو من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية فعالة، بتركيز منخفض أو مرتفع، لها تأثير طبي أو فيزيولوجي أي قدرة معالجة مرض معين أو على الأقل التقليل من أعراض الإصابة به إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد إستخلاصها من المادة النباتية أو إذا ما تم إستخدامها و هي ما زالت على هيئتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا (هيكل و عمر، 1993).

النباتات الطبية لها القدرة على تركيب نوع أو أنواع من المواد الفعالة، و لا يعني هذا أن كل ما تحتويه النبتة هي مواد فعالة، بل هناك مواد غير فعالة و ليس لها أي تأثير طبي، مثل السيليلوز و اللجنين و معظم مكونات خلايا النبات. و قد قسمت المواد الفعالة النباتية على أساس تركيبها الكيميائي إلى العديد من المجموعات؛ أهمها الفلافونويدات و القلويدات و التربينات و غيرها من المواد الفعالة.

إذا عين نبات على أنه نبات طبي، فإنه يُدرج ضمن الدساتير الدوائية (Pharmacopoeia) لكن هذه الأخيرة يمكن أن تضم نباتات ليست طبية إلا أنها مستعملة في الصيدلة (Bruneton، 1999).

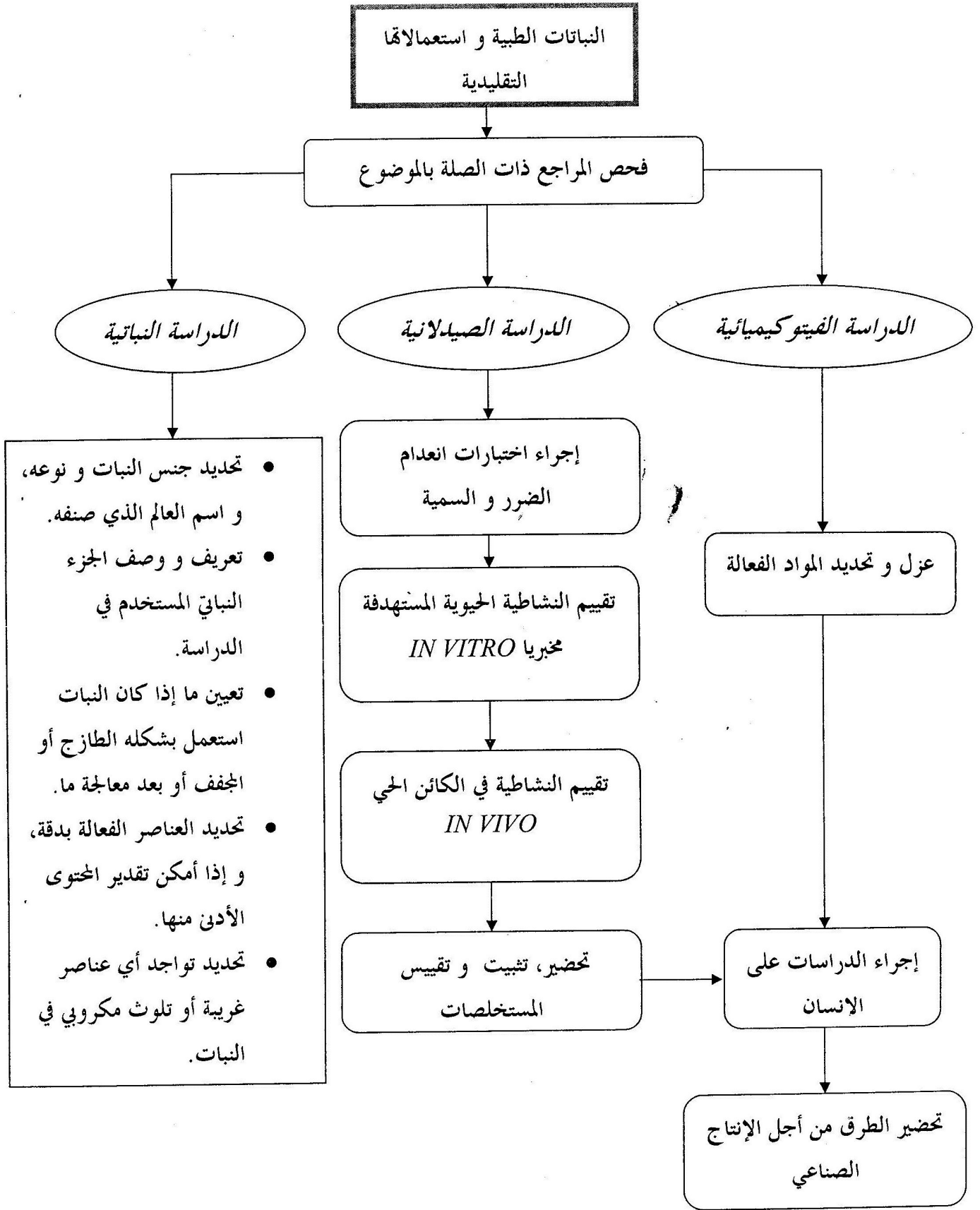
I-2- طريقة دراستها :

على العموم الإستعمال التقليدي للنبات هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطية الفيزيولوجية أو الطبية لأي دواء نباتي الأصل (Farnsworth و رفقائه، 1986؛ هيكل و عمر، 1993). فعندما يُعلم بأن نبات يستعمل في علاج مرض معين، و ذلك

من خلال شيوع استخدامه في مجال الطب الشعبي بوصفه تقليدية ما، فإن ما ينبغي القيام به هو استخلاص و تنقية جميع المكونات الفعالة المعروفة من أعضاء النبات المختلفة، ثم بعد ذلك تتم دراسة خواص المادة و صفاتها الكيميائية و تعيين التركيب الكيميائي، و يجب بالمقابل أن تجرى بحوث معمقة لدراسة التأثيرات السمية و العلاجية لهذا النبات حتى يسمح باستخدامه و إدراجه في الدساتير الدوائية بالكميات و الجرعات المسموح بها و دواعي و محاذير استعمالها من عدمه.

كذلك يمكن إدراج نبات ما بقائمة النباتات الطبية إذا أمكن فصل بعض المكونات الطبيعية منه و التي ليس لها أثر علاجي و هي على صورتها المفصولة، إلا أنه يمكن استخدامها كمواد أولية في تحضير بعض المواد الطبية (هيكل و عمر، 1993).

الدراسة الدقيقة للنباتات الطبية يجب أن تكون وفق منهجية منظمة بإحكام و مرتبة، و يجب إتباعها خطوة بخطوة للوصول إلى الهدف (شكل -1-). هذه المنهجية موجهة أساسا لإنتاج مستحضرات نافعة لكن بشرط أن تكون خالية من الخطر، لذلك فمن الواجب أولاً تحديد عدم ضرر المستحضر، و لو على حساب استبيان فعاليته (Farnsworth و رفقائه، 1986).



شكل -1- مخطط دراسة النباتات الطبية (Farnsworth و رفقائه، 1986).

II- دراسة المنتجات الطبيعية:

يطلق دارسو الكيمياء العضوية لفظ "المنتجات الطبيعية" على المركبات التي تنتج بواسطة الكائن الحي. و يشمل هذا التعريف العديد من المركبات التي تنتمي إلى طوائف مختلفة، منها ما يتم دراسته بصورة تفصيلية في معظم مراجع الكيمياء العضوية مثل الأحماض الأمينية و البروتينات و السكريات و غيرها، و منها ما يبحث عنه عادة في مراجع تخصصية. و جميع المنتجات الطبيعية تلعب دورا مهما في التفاعلات الأيضية إلا أن أكثرها لفتا للانتباه لدى دارس الكيمياء العضوية هي تلك المواد التي يتم فصلها من النباتات أو الكائنات الحية الدقيقة نظرا لأهميتها للإنسان في مجالات متعددة بغض النظر عن منفعتها للمصدر الطبيعي.

لعل حب تطلع الدارس إلى البحث عن المنتجات الطبيعية و عن فوائدها تدفعه إلى الخوض في نقاط دراسية عديدة تجعله على درجة كبيرة من الإلمام بجوانب متعددة في فرع الكيمياء العضوية. و أهم النقاط البحثية التي يتعرض لها الدارس في حقل المنتجات الطبيعية هي:

- كيفية الحصول على هذه المنتجات ، واستخلاصها من مصادرها الطبيعية.
- كيفية فصل هذه المكونات الطبيعية بعضها عن بعض بغية الحصول على مركبات نقية.
- بعد تنقية المركب الطبيعي فإن الدارس يشرع في التعرف على تركيبه البنائي، و ذلك باستخدام الطرق الفيزيائية و الكيميائية، و كذلك طرق التحليل الطيفي.
- الطرق التي تتكون بواسطتها المركبات الطبيعية داخل مصادرها الطبيعية، أي عملية الاصطناع الحيوي (Biosynthes). (الحازمي، 1995).

بغض النظر عن الاختلافات التي تكمن في الهياكل البنائية الأساسية لمركبات هذه الطوائف.

كما أن هناك صفة أخرى تجمع معظم هذه المركبات و هي صفة المنشأ، أي الطريقة أو المسار التي تتكون بواسطتها داخل مصادرها الطبيعية. و من هذا المنطلق فإن هناك بعض المصادر تلجأ لتصنيف المنتجات الطبيعية إلى عدد أقل من الطوائف، أي أنه يمكن تصنيفها إلى أربع مجموعات كبيرة هي الغليكوزيدات، التربينات، القلويدات و الفينولات.

II-2 طريقة الحصول على المنتجات الطبيعية:

الطريقة المألوفة للحصول على المنتجات الطبيعية من النباتات هي سحق الأجزاء النباتية، و من ثم الاستخلاص باستخدام مذيبات مناسبة مثل الكلوروفورم و الكحول، و في كثير من الحالات قبل استخدام مذيبات قطبية كهذه فإن الأجزاء النباتية تعامل بالإيثر البترولي، و ذلك لاستخلاص المركبات الهيدروكربونية مثل بعض التربينات و الدهون. و عندئذ تطبق عملية الاستخلاص بواسطة مذيبات قطبية أكثرها استخداما الكلوروفورم و الكحول، حيث ينقع المتبقي من الأجزاء النباتية بعد مستخلص الإيثر في أحد المذيبات المناسبة وذلك وفق نوع المادة المراد استخلاصها. (الحازمي، 1995).

II-3 فصل و تنقية المنتجات الطبيعية:

إذا ما بخر المذيب المستخدم في استخلاص المركبات الطبيعية فإنه يتخلف خليط من المركبات، حيث يتم فصله بطريقة أخرى، و عملية الفصل هذه تعتمد دون شك على الخواص الفيزيائية و الكيميائية لمكونات الخليط.

يتم فصل و تنقية المركبات العضوية بواسطة التقطير بأنواعه، أو بواسطة إعادة البلورة، و هذه الطرق تستخدم في عالم المنتجات الطبيعية. فمثلا إذا كان هناك خليط من مركبات طبيعية إلا أن المركبات السائدة هي مركب أو اثنان فإنه عندئذ يمكن الاعتماد على التنقية بواسطة التقطير أو البلورة وفقا لطبيعة المركب. و لكن الذي يقابل الدارس في معظم الحالات خلاف ذلك. حيث تتألف الخلاصة الطبيعية من العديد من المكونات، لدرجة أنه يصعب فصل بعضها عن بعض بواسطة طرق الفصل العادية المذكورة آنفا. و عليه فإن أفضل طريقة يتبعها العامل عندئذ في حقل المنتجات الطبيعية لفصل هذه المنتجات هي طرق الفصل اللوني (الكروماتوغرافيا) حيث توجد أربعة أنواع رئيسية من هذه الطرق هي:

❖ كروماتوغرافيا العمود

❖ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

❖ كروماتوغرافيا الورق

❖ كروماتوغرافيا السائل - الغازي

تعتمد هذه الطرق على مبدأ انتشار الطور حيث تتم إزاحة إحدى مكونات الخليط بواسطة مذيب معين يسمى الصنف المتحرك الذي يمر بدوره على صنف آخر يعرف بالطور الثابت. و تستخدم جميع أنواع الكروماتوغرافيا في فصل خليط من المنتجات الطبيعية إلا أن أكثرها استخداما هي طريقة العمود التي تستخدم عندما تكون كمية الخليط لا بأس به مقارنة بكمية خليط آخر يعالج بطرق الفصل اللوني الأخرى. و الأطوار الثابتة المستخدمة لتعبئة العمود متعددة إلا أنه يمكن القول أن أكثرها استخداما السيليكاجيل و عديد الأמיד (بولي أميد). كما أن اختيار المذيبات (الصنف

المتحرك) لتلمص أو تحريك مكونات الخليط خلال عمود الفصل ليس بالأمر السهل، إلا أن الأنسب بهذا الصدد هو استعمال المذيبات في عملية تتناسب مع قطبيتها، بحيث يتدرج الاستخدام من المذيب غير القطبي، إلى المذيب ذي القطبية المعتدلة، ثم المذيبات القطبية.

II-4 طرق التعرف على التركيب البنائي للمنتجات الطبيعية:

الطرق التي يمكن أن نتبعها لمعرفة بناء مركب طبيعي هي الطرق نفسها المتبعة لمعرفة بناء مركب عضوي و هي الطرق الفيزيائية و الكيميائية، و طرق التحليل الطيفي.

1. الطرق الفيزيائية:

تعيين درجة الإنصهار أو درجة الغليان و الذوبانية و الرائحة و قياس الفعالية الضوئية و ما إلى ذلك.

2. الطرق الكيميائية:

و هنا يتم إجراء التفاعلات التي تحدد هوية المجموعات الفعالة الموجودة ببناء المركب الطبيعي. ويمكن أن يتبع ذلك تحضير مشتقات للمركب، هذا و من بين التجارب المهمة التي يجريها الكيميائي بغية التعرف على المركب الطبيعي عملية تكسيره إلى جزيئات صغيرة يسهل التعرف عليها، و هذه قد يتعذر إجراؤها، و ذلك عندما يكون تركيز المركب الطبيعي ضئيلا جدا في مصدره. و هنا يلجأ الدارس إلى تحضير المركب من جزيئات صغيرة، و من ثم تقارن خواص هذا المركب مع نظيرها للمركب الطبيعي المغاير.

3. طرق التحليل الطيفي:

يستخدم الكيميائي في وقتنا الحاضر الطرق الفيزيائية الحديثة، و ذلك بغية التعرف على بنية المركبات العضوية، هذا بالإضافة إلى ما يجريه من طرق تقليدية. و لقد برز الدور المهم لهذه الطرق في التعرف خاصة على المركبات الطبيعية المعقدة البناء. و سنذكر هنا أهم الطرق الفيزيائية المعمول بها حاليا و منها:

• الأطياف الإلكترونية:

لما كانت الأطياف الإلكترونية جلية في التعرف على جزيئات المركبات العضوية التي تحوي مجموعات فعالة بها إلكترونات حرة، أو تلك الجزيئات التي تحوي روابط مضاعفة في حالة متناوبة، فإن هذه الأطياف تلعب دورا مهما في التثبت من البنية التركيبية للمنتجات الطبيعية التي تحوي جزيئاتها في الغالب هذا الطابع من الصفات و على الأخص التربينات التي يتميز معظمها بوجود الروابط المضاعفة في بنائها. فهناك قواعد افتراضية (وودويرد-فيزر) لحساب طول الموجة التي تمتص المركبات التي تحوي في بنائها روابط مضاعفة متناوبة. و المتبع في استخدام هذه القواعد هو البدء بطول موجة معين (نقاس بالمليمكرون أو النانومتر) للمركب الأم كأساس، و من ثم تضاف الزيادة المقابلة لكل مجموعة بديلة تتوافر بجزيء هذا المركب.

• أطياف الأشعة تحت الحمراء:

على الرغم من أن أطياف الأشعة تحت الحمراء (IR) لمركب ما، لا تمكن من معرفة الصيغة البنائية لهذا المركب إلى أنه يمكن جمع المعلومات الكثيرة من واقع هذه الأطياف التي تقوم بتشخيص المجموعات الوظيفية. ومن هنا فإن هذه الوسيلة الطيفية تعتبر من أحد الوسائل التي تساعد في توضيح بنية المركبات العضوية، ولن نتعرض هنا إلى الناحية التفصيلية بصدد تفسير أطياف IR للمركبات العضوية إلا أننا نورد جدول -1- الذي يحوي مواقع امتصاص IR لأهم المجموعات الوظيفية الشائعة.

جدول -1- مواقع امتصاص IR لأهم المجموعات الوظيفية الشائعة

كثافة الحزمة الطيفية	موقع امتصاص الحزمة الطيفية (سم ⁻¹)	الرابطة
قوية	3970-3850	C-H الألكانات
متوسطة الشدة	3090-3010	C-H الألكينات
قوية	3300	C-H الأستيلينات
متوسطة الشدة	3100-3010	C-H المركبات العطرية
متغيرة الشدة	1670-1610	C=H الألكينات
متغيرة الشدة	1600-1500	C=H المركبات العطرية
متغيرة الشدة	2260-2100	C≡H الألكاينات
قوية	1360-1180	أمينات، إيمينات 
قوية	2280-2120	نيتريلات C≡N
قوية	1300-1050	كحولات، إيثرات، أحماض كربوكسيلية، أسترات C=O
قوية	*1780-1650	ألدهيدات، كيتونات، أحماض كربوكسيلية، أسترات
متوسطة الشدة	3540-3200	أمينات، أميدات 
حادّة متغيرة الشدة	3650-3590	الكحولات، الفينولات - H-O (غياب الروابط الهيدروجينية)
عريضة متغيرة الشدة	3600-3200	(وجود الروابط الهيدروجينية)
عريضة	3200-2700	الأحماض الكربوكسيلية

* الاكتونات الرباعية و كلوريدات الأحماض تمتص مجموعة الكربونيل فيها عند ≈ 1820 سم⁻¹

• أطياف الطنين النووي المغناطيسي RMN:

بالمقارنة للوسائل الطيفية أنفة الذكر، فإن أطياف الطنين النووي المغناطيسي تعطي معلومات أوفر عن البنية التركيبية للجزيئات العضوية وعلى الأخص عن الهيكل البنائي للمركب. وهناك العديد من النوى التي تتمتع بخواص مغناطيسية أي أنه يمكن دراستها بواسطة ظاهرة الطنين المغناطيسي، إلا أن أطياف الطنين النووي المغناطيسي للبروتونات (H) والكربون 13 (C13)، أوسعها تطبيقاً، نظراً لما تقدمه من معلومات تفصيلية عن بنية المركبات العضوية.

• أطياف الكتلة:

تعتبر أطياف الكتلة من الطرق الفيزيائية الجيدة التي تقدم المعلومات الجمة عن بنية المركبات العضوية إذ يتمكن دارس الكيمياء العضوية، وفقاً لهذه الطريقة، من تقدير الأوزان الجزيئية بواسطة جهاز يدعى مطياف الكتلة الذي يمكن بواسطته قياس طيف الكتلة لمادة عضوية في بضع دقائق، وبصورة دقيقة يتم تقدير الوزن الجزيئي لهذه المادة مقارنة بالطرق الأخرى المألوفة لتقدير الأوزان الجزيئية. (الحازمي، 1995).

II-5 الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية:

يقصد بالاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية الطريقة التي تتكون بواسطتها هذه المنتجات داخل مصادرها الطبيعية. حيث أن التفاعلات التي تحدث في عمليات الاصطناع الحيوي للمركبات الطبيعية ما هي إلا تفاعلات مألوفة لدارسي الكيمياء العضوية. ولا تتعدى هذه التفاعلات أن تكون تفاعلات أكسدة، اختزال، ألكلة ذرة نتروجين أو أوكسجين، أسيلة، انتزاع ثاني أكسيد الكربون من مجموعة كربوكسيل، وغيرها من التفاعلات المعروفة.

أما الفارق بين إجراء هذه التفاعلات في المختبر و حدوثها داخل جسم الكائن الحي فيمكن في الظروف التي تتم عندها هذه التفاعلات، حيث ينجز الكثير منها في المختبر

عند درجات حرارة عالية، الأمر الذي لا يمكن تصور حدوثه داخل الجسم الحي، فكل حيوان أو نبات يمتاز بدرجة حرارة معينة تلائم ظروف معيشتة. و على الرغم من أن درجة حرارة الكائن الحي الملائمة لمعيشتة تكون منخفضة مقارنة بدرجة حرارة التفاعلات التي يتم إنجازها في المختبر إلا أن هذه التفاعلات تحدث داخل جسم الكائن الحي و ذلك بمساعدة الإنزيمات الموجودة داخل الجسم. و من المعتقد أن الوحدات الأساسية التي تستخدمها الخلية في صنع أو بناء المركبات الطبيعية هي الماء، و ثاني أكسيد الكربون، و حمض النمل (حمض فورميك) و حمض الخل. و يكون الحمض الأخير داخل الجسم على هيئة مشتق Acetyl CoA الغني بالطاقة. و يعتبر هذا المركب وحدة أساسية تبدأ منها بناء معظم المنتجات الطبيعية، كالأحماض الأمينية، التربينات، المركبات الفينولية، المضادات الحيوية، و ما إلى ذلك. (الحازمي، 1995).

III المواد الفعالة في النبات :

III-1- القلويدات Les alkaloides :

معظم القلويدات مركبات صلبة غير قابلة للذوبان في الماء، و لكنها تذوب في الإيثانول، الكلوروفورم و بعض المذيبات العضوية الأخرى، و القليل منها سوائل تذوب في الماء مثل النيكوتين.

توجد ذرة النيتروجين في أغلب القلويدات على هيئة نيتروجين ثالثي. يحوي التركيب البنائي لكثير من هذه المركبات على مجموعات فعالة بها ذرة الأوكسجين مثل المجموعة الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر. (الحازمي، 1995).

تشكل القلويدات تنوع كبير و هي مركبات لها أهمية كبيرة خاصة عند البيولوجين و الصيادلة نظرا لخصائصها السمية و الدوائية. و أول مركب قلويدي عزل هو الأفيون سنة 1803. (Guignard، 1996).

III-1-1- وجود القلويدات في الطبيعة:

لقد كان المصدر الرئيس للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة، مثل الحشرات و الكائنات البحرية الدقيقة، و النباتات الدنيا. هذا ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى، و توجد بكثرة عند مغلفات البذور Angiospermes خاصة في ثنائيات الفلقة. و أكثر عائلات ذوات الفلقتين تواجد فيها هي: العائلة الخشخاشية *Papaveraceae* و العائلة الباذنجانية *Solanaceae*. كما يمكن للنبات الواحد أن يحتوي على أكثر من قلويد و قد تختص بعض العائلات بإنتاج قلويد معين كإنتاج قلويد المورفين في العائلة *Papaveraceae*. (الحازمي 1995).

و على المستوى الخلوي فالقلويدات تترسب على مستوى الفجوات و توزعها فيما بعد داخل النبتة يكون حسب النوع، فمثلا في نبات *Papaver somniferum* (الخشخاش المنوم) توجد القلويدات في الثمار غير الناضجة و الناضجة.

و في نبات *arabica coffea* (القهوة) لا توجد القلويدات إلا في البذور و غالبا ما تترسب القلويدات في أماكن مختلفة عن التي صنعت فيها كما في نبات التبغ *Nicotiana tabacum* تصنع القلويدات في الجذور ثم تهجر إلى الأوراق و في وقت الإزهار و الإثمار تهجر من الأوراق إلى الأزهار و الثمار مع تحول جزء من Nicotine إلى مركب Nornicotine (الحازمي، 1995) و (هيكل، 1993).

و تنتشر هذه المركبات في الكثير من الأجناس النباتات المختلفة. من أهم هذه الفصائل النباتية المشهورة باحتوائها على القلويدات الفصائل التالية :

Papaveraceae الفصيلة الخشخاشية

Solanaceae الفصيلة الباذنجانية

Compositae(Asteraceae) الفصيلة المركبة

Apocynaceae الفصيلة الدفالية

Cataceae الفصيلة الشوكية

Leguminosae الفصيلة البقلية

Liliaceae الفصيلة الزنبقية

Rutaceae الفصيلة السذبية

وتختلف كمية توافر القلويدات باختلاف أنواع جنس النبات الواحد. هذا وقد يتواجد القلويد الواحد في أجناس كثيرة من النباتات. زد على ذلك أن بعض القلويدات وعلى الأخص القلويدات المعقدة التركيب مثل المورفين (*Morphine*) يقتصر تواجدها على نوع واحد أو ربما جنس واحد من النبات.

القلويدات قد تكون مركزة في جزء واحد من النبات دون غيره من الأجزاء الأخرى التي يخلو منها أو ربما يحتوي بعضها على كميات يسيرة من هذه القلويدات. و من

الملاحظات المهمة في كيمياء القلويدات التي يتم استخلاصها من النبات الواحد في الغالب يكون لها بناء هيكل واحد. (الحازمي، 1995) و (Guignard، 1996).

III-1-2- إستخلاص القلويدات:

يكشف عن وجود القلويدات على كمية بسيطة من الأجزاء النباتية للتأكد من وجودها. و الطريقة المألوفة بهذا الصدد هي استخلاص الأجزاء النباتية الجافة بالكحول الإيثيلي (80%) مع الغلي، و بعد التبريد يتم الترشيح و يغسل المتبقي بكحول الإيثانول، و من ثما تبخر الرشاحة و يعامل المتبقي منها بالماء. يحمض عندئذ هذا المحلول المائي بحمض الهيدروكلوريك (2%)، و يتم عندئذ ترسيب القلويدات بواسطة كاشف ماير أو أي كاشف آخر، فإذا ما كانت النتيجة إيجابية فإنه يتم استخلاص القلويدات على الكميات الكبيرة من الأجزاء النباتية وفقا للطريقة التالية:

تعامل الأجزاء النباتية أولا بالإيثر البترولي، و ذلك للتخلص من المركبات غير القطبية الموجودة مثل الدهون و الشموع حيث إن الكثير من النباتات و على الأخص بذور و أوراق هذه النباتات تحوي الكميات الكبيرة من هذه المركبات غير القطبية. ولحسن الحظ فإن معظم القلويدات غير ذوابة في الإيثر البترولي. وبدون شك فإن بقاء الدهون و الشموع قد يسبب الكثير من الصعوبات في عملية الفصل، حيث إنها تكون مستحلبات.

ويتم استخلاص القلويدات بعد التخلص من الدهون باستعمال المذيبات المناسبة. و أنسب المذيبات المستخدمة هنا هو كحول إيثيلي (95%)، كما يوضح الشكل (2). حيث إن معظم القلويدات تتوفر في الطبيعة على هيئة أملاح لها خاصية الذوبان في الكحول المخفف.

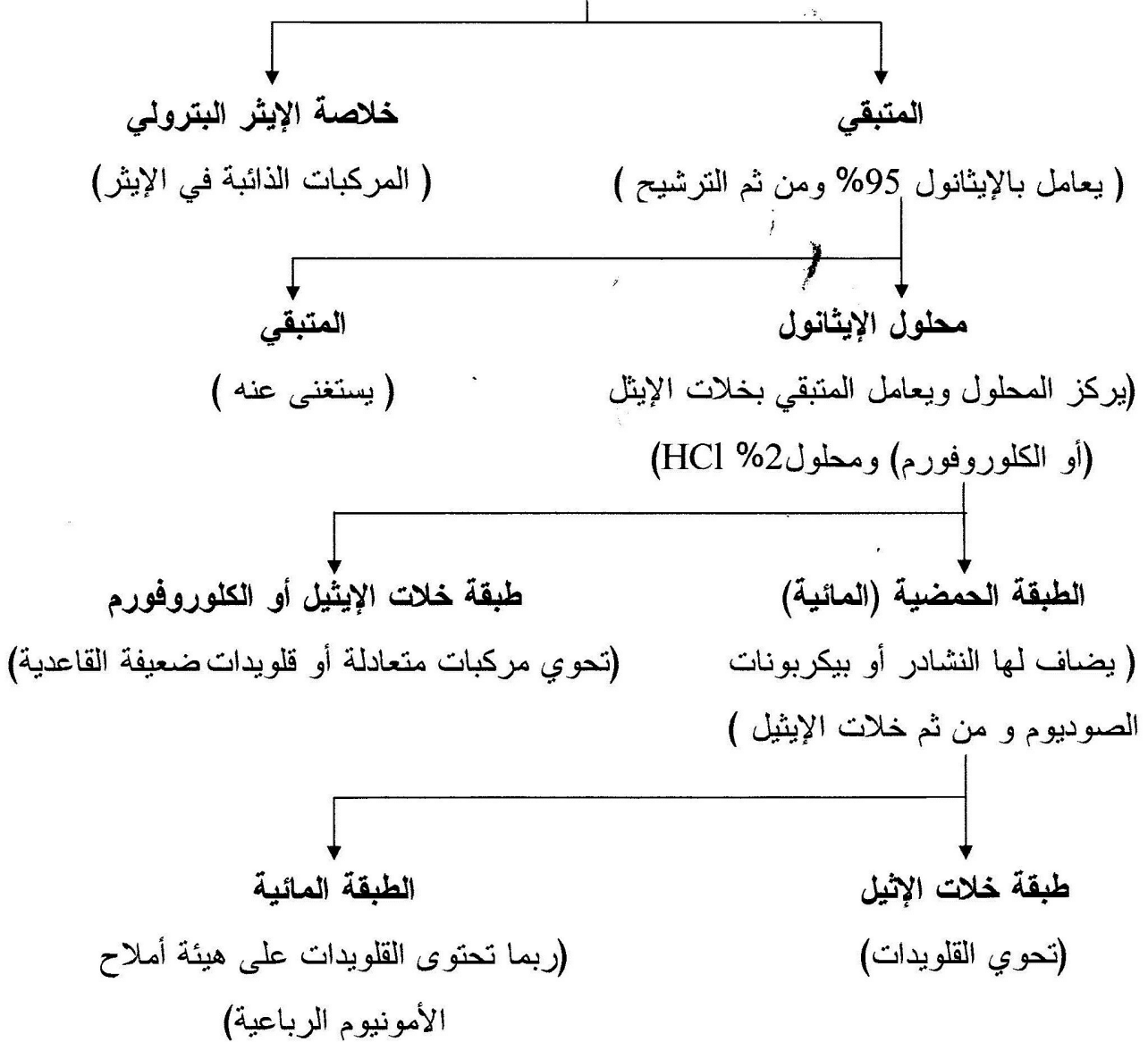
يركز حجم المحلول الكحولي، و من ثما يعامل بمحلول حمضي مخفف (HCl عادة)، و مذيب عضوي مثل أسيتات الإيثيل (خلات الإيثيل) أو الكلورفورم حيث تبقى المركبات القلوية في الطبقة الحمضية، بينما تستخلص المركبات المتعادلة و المركبات ذات الخاصية القاعدية الضعيفة في الطبقة العضوية.

تضاف القاعدة إلى الطبقة الحمضية حتى يصبح المحلول قاعديا حيث تتحول القلويدات عندئذ إلى حالتها الحرة.

ومن ثم تستخلص بالمذيبات العضوية المناسبة. ويستخدم في معظم الحالات الكلوروفورم وخلات الإيثيل (الشكل-2-). (الحازمي 1995).

الأجزاء النباتية

(تعامل بإيثر البترول)



شكل -2- إحدى الطرق المتبعة في استخلاص القلويدات

III -1-3- تصنيف القلويدات:

قد تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها ولكن تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون استخدام مثل هذا التقسيم . هذا وهناك تصنيف جامع إلى حد ما لأنواع المختلفة من القلويدات، إذ تقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسة هي:

✓ **القلويدات الحقيقية:** يشمل هذا القسم تلك القلويدات التي تكون ذرة نتروجينها جزءا من الحلقة غير المتجانسة، وفي الغالب تتكون في الطبيعة (النباتات) على هيئة أملاح. كما أنها تشتق من الحموض الأمينية.

✓ **القلويدات الأولية:** ويضم هذه القسم تلك الأفراد الأمينية البسيطة التركيب، وفيها ذرة النتروجين لا تشكل جزءا من الحلقة غير متجانسة ويطلق أحيانا على القلويدات التي تنتمي إلى هذا القسم الأمينات البيولوجية.

✓ **القلويدات الكاذبة:** و يضم تلك القلويدات التي لا تشتق من الأحماض الأمينية، على الرغم من أنها تتصف بالخاصية القاعدية. يندرج تحت هذا القسم القلويدات السترويدية و القلويدات البيورينية (Purines).

ولعل هذا التقسيم مقبول لمعالجة أفراد هذه الطائفة من المنتجات الطبيعية على الرغم من أن هناك بعض الشذوذ لأفراد قليلة من هذه المركبات.

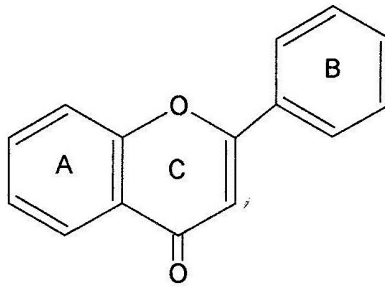
تنتهج غالبية المصادر تقسيم القلويدات إلى مجموعات تبعا لتركيبها البنائي، حيث يؤخذ بعين الاعتبار طبيعة النوى غير المتجانسة الموجودة بجزيئات هذه المركبات، و من بين هذه المجموعات نجد: مجموعة فنيل إيثيل أمين، مجموعة بيروليدين، مجموعة بيريدين، مجموعة بيبيريدين، مجموعة كينولين، مجموعة أيزوكينولين، مجموعة الإندول و غيرها. (الحازمي، 1995) و (الحسيني والمهدي 1990).

III-2 - les flavonoides

اشتقت كلمة فلافونويد من الكلمة اللاتينية flavus و التي تعني اللون الأصفر. و الفلافونويدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأوراق، الثمار و أحيانا الأوراق (Bruneton , 1993).

تحتوي جميع الفلافونويدات 15 ذرة كربون في بنائها موزعة على ثلاث حلقات تعرف بالفلافون الشكل-3- و الذي يعتبر المركب الأم للفلافونويدات. (الحازمي، 1995).

و صيغته هي:



الشكل-3- البنية الكيميائية لـ Flavone (Phenyl 1-2 chromone)

تصنع الفلافونويدات في الكلوروبلاست و ذلك من خلال مركب Cinnamoyl CoA الذي يقدم من الشبكة الإندوبلازمية من المألونات malonate بعض الفلافونويدات تغادر البلاستيدات و تُخزن في الفجوات . (Guignard et al., 1985).

III-2-1 - تخليق الفلافونويدات:

الفلافونويدات تنتج من طريقتين متكاملتين وهما طريق حمض الشيكيميك و طريق حمض المألونيك. وهما يلتقيان عند مركب الشالكون Chalcone. و هذا الأخير يتم تكوينه من تكاثف ثلاث وحدات Malonyl-CoA مع وحدة من 4-Comaryl-CoA المتحصل عليه ابتداء من الشيكيميك.

(Hahlbrock et Grisebach, 1975; Wong, 1976).

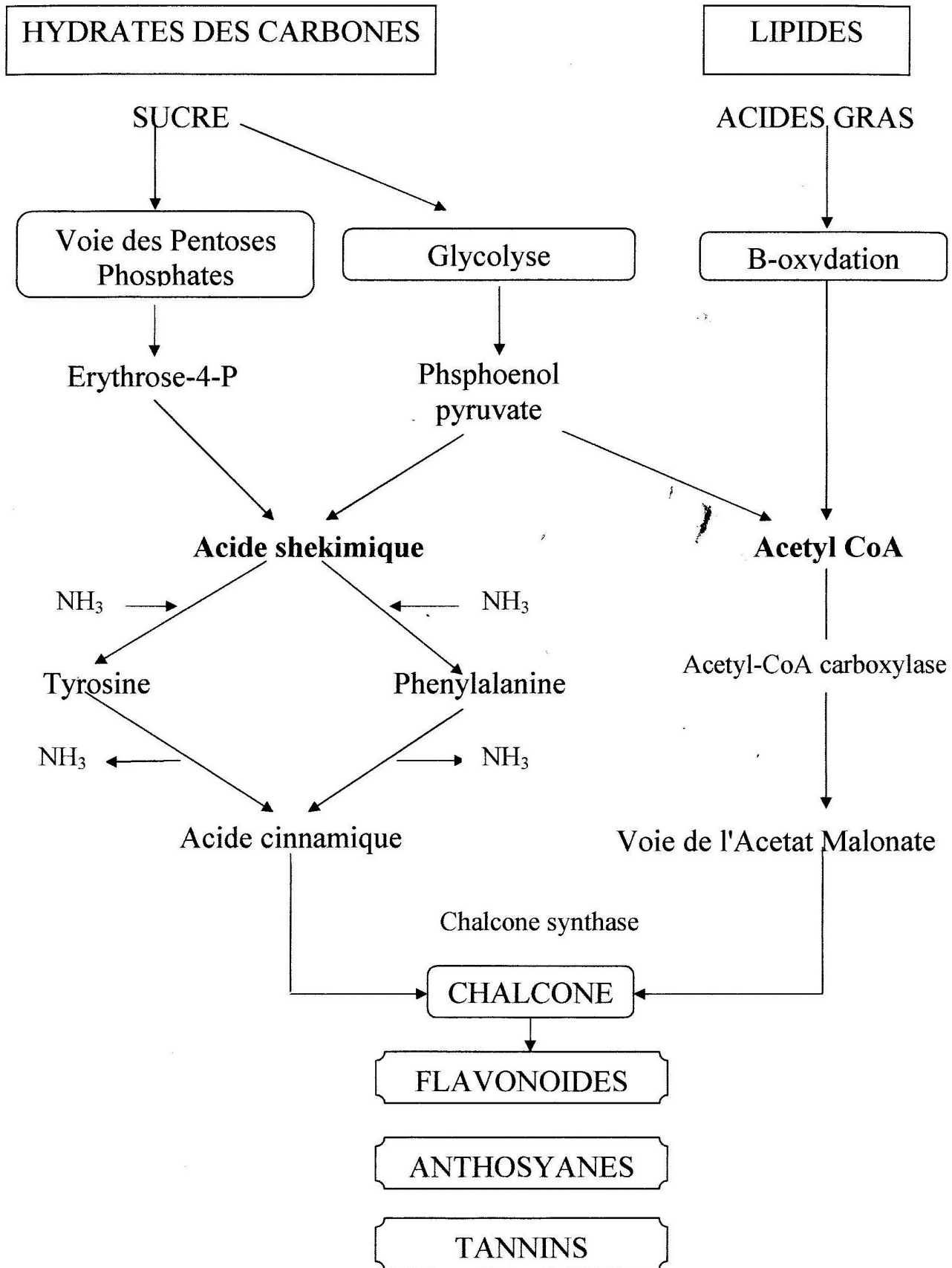
1. طريق حمض الشيكيميك La voie de l'acide shikimique :

و هو الطرق الذي يتم من خلاله تشكيل النواة البنزينية، و كما هو موضح في الشكل 4 فإنه يتم تكوين المشتقات (C6-C3) الناتجة عن حمض الشيكيميك تحت فعل إنزيمين هما : Tyrosine Ammonia- و Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL) هما : Tyrosine Ammonia-lyase (TAL) و بالتالي تشكيل النواة B و الحلقة غير المتجانسة للفلافونويد. (Haslam, 1993).

2. طريق حمض المالونيك La voie de l'acide malonique :

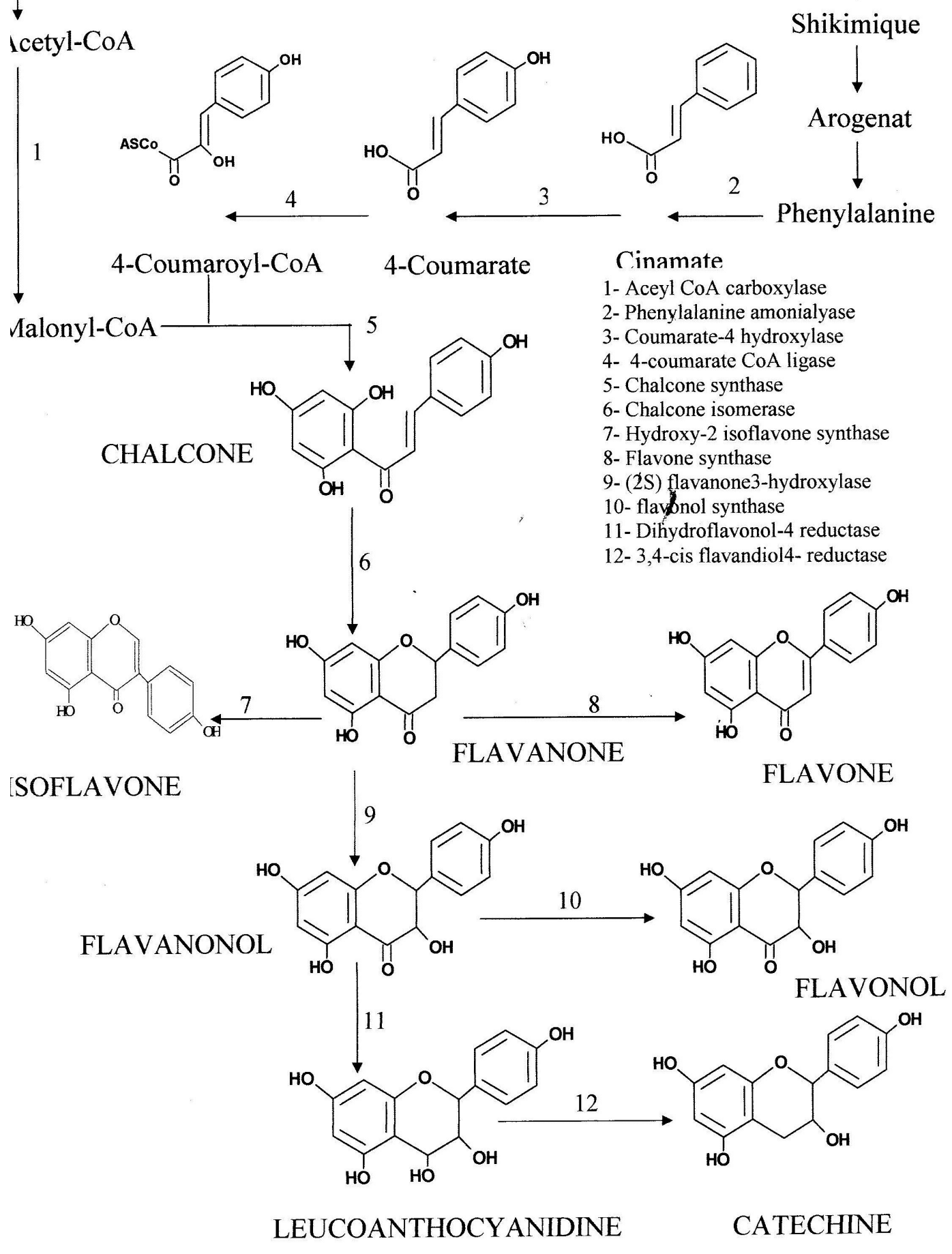
يتم من خلاله تكوين حلقة ابتداء من البولي سيتونيك Polycétonique و المتحصل عليها عن طريق تكاثف وحدات الأسيئات و الذي يحدث بعد إضافة الكربوكسيل لـ Acetyl-CoA، وهذا التفاعل يحفز بواسطة إنزيم Acetyl-CoA carboxylase. (Richter, 1993)

الطريقتين يشتركان في تفاعل تكاثف جزيئة 4-Comaryl-CoA مع ثلاث جزيئات Malonyl-CoA عن طريق تدخل إنزيم Chalcone synthase. البنية القاعدية الأولى (C6-C3-C6) تكون على شكل شالكون الشكل-5- الذي يعتبر كوسيط لتخليق مختلف الفلافونويدات، بحيث يتحول إلى فلافانون عن طريق إغلاق الحلقة غير المتجانسة، الذي يعتبر الجذع المشترك لتشكيل الأقسام الفلافونويدية: الفلافونات، الفلافانولات، و الإيزوفلافونات و... (Haslam, 1993).



الشكل -4- العلاقة ما بين الميتابوليزم الأولي والثانوي في تخليق الفلافونويدات

CARBOHYDRATES



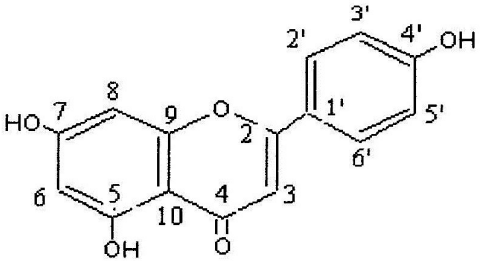
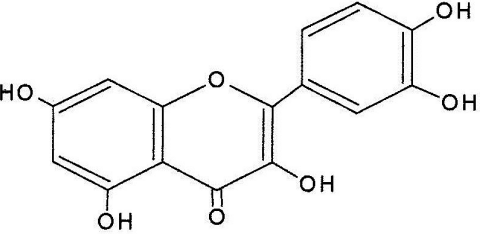
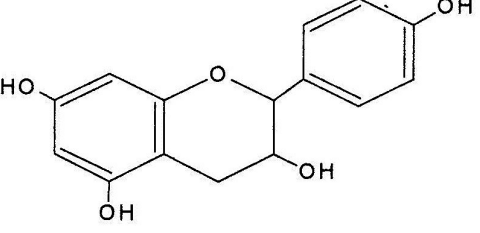
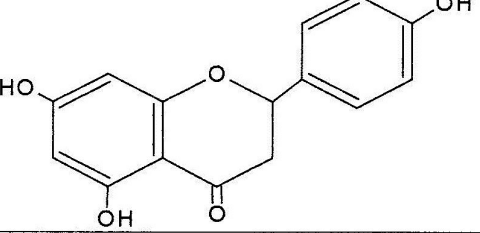
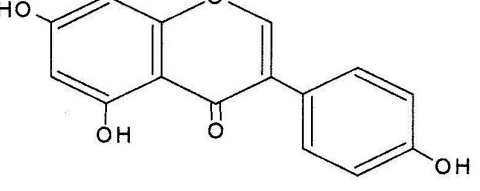
الشكل - 5 - تخليق الفلافونويدات

III-2-2- تصنيف الفلافونويدات:

تحتوي هذه المركبات على مجموعات بديلة هي في الغالب مجموعات الهيدروكسيل أو الميثوكسيل. و قد توجد هذه المركبات على هيئة غليكوزيدات (يحتوي بنائها على وحدات سكرية) و التي قد تكون على هيئة سكر أحادي أو ثنائي، أو ربما يدخل في بناء السكر أكثر من وحدتي سكر أحادي. هذا وقد تكون وحدة السكر مرتبطة إلى ذرة أو كسجين مجموعة الهيدروكسيل أو مرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية. وأغلب السكريات الأحادية الداخلة في بناء الفلافونويدات هي الغلوكوز، الغلاكتوز، الأرابينوز، الرامنوز و الزيلوز. ويطلق على الفلافونويدات التي تحوي مجموعة أو أكثر من المجموعات آنفة الذكر على حلقتي A و B أو أحدهما بالفلافونات.

أما إذا وجدت مجموعة بديلة هيدوكسيلية على الموضع رقم 3 لمركب فلافوني فإنه يطلق عندئذ على المركب الجديد فلافونول. و إذا كان الموضع 3 مشبعا في مركب فلافون فيسمى المركب عندئذ فلافانول. كما أن هناك مركبات وثيقة الصلة بالتركيب البنائي للفلافونات تسمى إيزوفلافونات و هي لا تختلف في بنائها على الفلافونات إلا باختلاف موضع إرتباط الحلقة B حيث توجد مرتبطة بالموضع 3، و الجدول-2- بين بعض الأمثلة (الحازمي، 1995).

جدول -2- يبين أنواع الفلافونويدات مع بعض الأمثلة

<p style="text-align: center;">Flavone</p> 	<p style="text-align: center;">Chrysin</p> <p style="text-align: center;">Apigenin</p> <p style="text-align: center;">Salviginin</p> <p style="text-align: center;">Luteolin</p> <p style="text-align: center;">Diosmetine</p>
<p style="text-align: center;">Flavonol</p> 	<p style="text-align: center;">Quercetin</p> <p style="text-align: center;">Kaempferol</p> <p style="text-align: center;">Rhamnetin</p> <p style="text-align: center;">Patuletin</p> <p style="text-align: center;">Myricetin</p>
<p style="text-align: center;">Flavan 3 ol</p> 	<p style="text-align: center;">Flavanol</p>
<p style="text-align: center;">Flavanone</p> 	<p style="text-align: center;">Naringenin</p> <p style="text-align: center;">Pinocembrin</p> <p style="text-align: center;">Eriodictyol</p>
<p style="text-align: center;">Isoflavone</p> 	<p style="text-align: center;">Ginestein</p> <p style="text-align: center;">Orobol</p> <p style="text-align: center;">Formononetin</p>

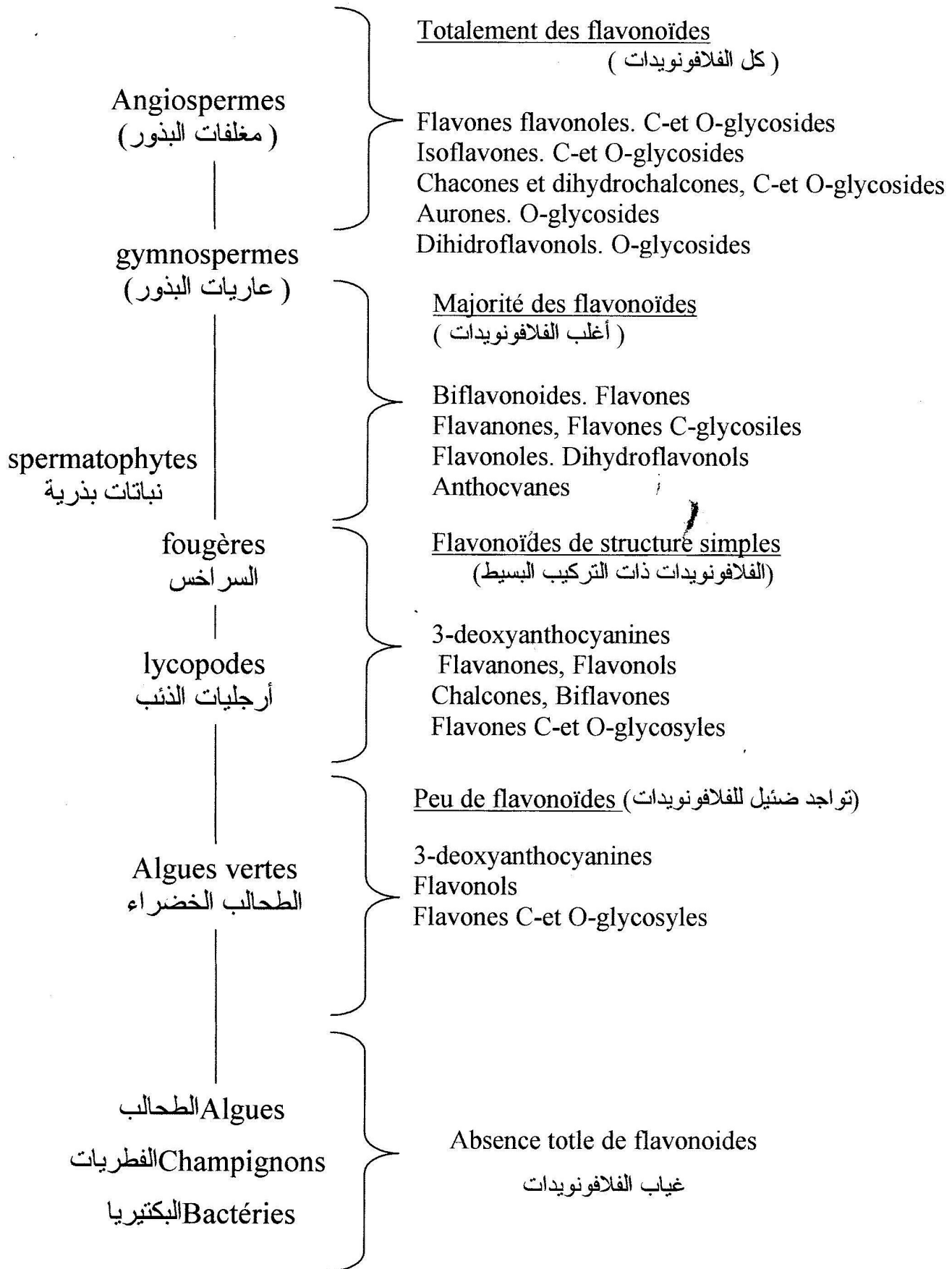
III-2-3- توزيع و توضع الفلافونويدات في المملكة النباتية :

توجد الفلافونويدات في كل المملكة النباتية ما عدا الطحالب، وهي توجد في جميع أجزاء النباتات الراقية (جذور، سيقان، أوراق، أزهار، بذور، حبوب الطلع و الخشب).

توجد الفلافونويدات في السراخس و عاريات البذور أين يختلف توزيعها تبعا للأعضاء (خشب ، أوراق ..) لكن تنوعها التركيبي الأقصى يظهر عند مغلفات البذور الشكل 6، فمثلا يمكن أن نصادف أكثر من 30 نوع فلافونويدي عند العائلة المركبة.

الأشكال الفلافونويدية المرتبطة بالسكريات والمنحلة في الماء تتجمع في الفجوات وتتركز تبعا للأنواع في خلايا البشرة Epiderme للأوراق أو تتوزع بين البشرة والميزوفيل (خلايا الأوراق الوسطى).

أما الفلافونويدات غير المرتبطة بالسكريات فهي تتجمع في المناطق المحبة للدهون Lipophylique مثل الغدد المفرزة للزيوت وشموع وراتجنيات الأوراق.
(Bruneton , 1999)



الشكل -6- توزيع الفلافونويدات في المملكة النباتية

III-2-4- فوائد الفلافونويدات :

الفعل الجاذب: تعمل على جذب الكائنات بواسطة اللون ،الذوق والرائحة .
اللون : خاصة الجذب الحشرات لإكمال عملية التلقيح وتوزيع البذور .
الذوق : بعض النباتات تطرد الحشرات بواسطة ذوقها غير المستحب .
الحماية : بعض الفلافونويدات الموجودة في خشب الصلب لها خواص مبيدة للفطريات والبكتيريا وحتى الحشرات .
كما تلعب الفلافونويدات دور شاشة لتصفية الأشعة الشمسية ،فهي تحمي النبات من الأشعة فوق البنفسجية ،خاصة الأحماض النووية .
تحتوي العائلة المركبة على العديد من المركبات الفلافونويدية ومنها على سبيل المثال Apigenin و هو عبارة عن (Tri-hydroxy flavon) الموجود في نورات البابونج *Roman chamomille* ، و يستعمل كطارد للآرياح المعديّة ، و كمضاد لحالات الدوسنتاريا .

III-3- الغليكوزيدات Les Glucosides:

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي و التي تحتوي ضمن تركيبها على شق سكري ، غالبا سكر الجلوكوز و الذي يُعزى إليه تسميتها بالغليكوزيدات. و يتضح ذلك عندما تتحلل الغليكوزيدات مائيا (بفعل الإنزيمات أو التسخين مع الأحماض أو القلويات) و ينتج عن هذا التحلل الجزء السكري المختزل بالإضافة إلى مكونات أخرى غير سكرية Aglucone أو Génine. و التي تُسمى بالجزء الأغليكوني و الذي يُعزى إليه التأثيرات الفسيولوجية أو العلاجية و كذلك الخواص الكيميائية للغليكوزيدات . (الحسيني والمهدي، 1990) و (هيكل، 1993).

و يمكن تقسم الغليكوزيدات بناءا على السكر الموجود بالغليكوزيد، أو تبعا للتركيب الكيميائي للجزء الأغليكوني في الغليكوزيد و الذي يتوقف عليه الإستخدام الطبي

للغليكوزيد، و هذا الأخير هو الأكثر إستخداما في تقسيم الغليكوزيدات و عليه يمكن تقسيم الغليكوزيدات إلى المجموعات التالية: (هيكل، 1993).

Steroides glycosides	الغليوكوزيدات الستيرويدية
Saponines glucacides	الغليوكوزيدات الصابونية
Penolique Glucocides	الغليوكوزيدات الفينولية
Alcoolique glucocides	الغليوكوزيدات الكحولية
Aldehydique Glycosides	الغليوكوزيدات الألهيدية
Cyanodique glycosides	الغليوكوزيدات السيانيدية
Thioglycosides	الغليوكوزيدات الكبريتية

III - 3-1 الغليوكوزيدات الستيرويدية:

يحتوي الجزء غير السكري فيها على النواة الأسترويدية بحيث يرتبط بها كل من السكر واللاكتون، ويعود الفضل لهذه المجموعة في علاج حالات القلب المختلفة، كتتنظيم ضرباته وانقباضات عضلاته وتقويته كما لها تأثير على إدرار البول. (الحسيني والمهدي، 1990). ومن أهم الغليوكوزيدات التابعة لهذه المجموعة :

• Digitoxin و Gitoxin و Gitalin في أوراق نبات الديجيتاليس *Digitalis lutea.L*

• Scillarin A و Scillarin B في أوراق نبات بصل العنصل *Urignia moritima*

III - 3-2 الغليوكوزيدات الصابونية:

كما هو معروف من اسمها فإن الجزء غير السكري فيها يتكون من الصابونين الذي يؤدي تعاطيه في الدم إلى تكسير الكريات الحمراء وفقد الهيموغلوبين فيها، مؤدية إلى تسمم. ولكن تناولها عن طريق الجهاز الهضمي لا يبدي أي تسمم (الحسيني والمهدي، 1990).

III-3-3 الغليكوزيدات الفينولية:

و تحتوي في جزءها غير السكري على مواد فينولية و تتواجد هذه الغليكوزيدات في الأنسجة التخزينية مثل البذور أو الأنسجة الجافة و الميتة للنبات كالقلف أو قلب الخشب. (الحسيني والمهدي، 1990).

و يمكن تقسيم هذه المجموعة من الناحية الكيميائية إلى ما يلي: (هيكل، 1993).

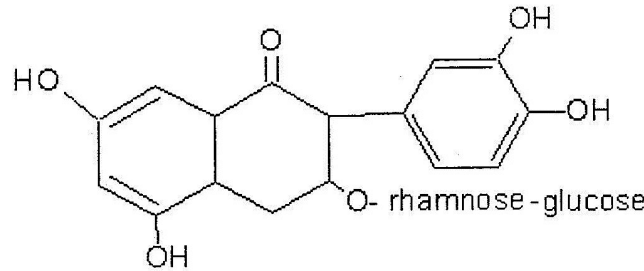
◀ الغلوكوسيدات الفينولية البسيطة Simple Penolique Glucocides:

تتحلل غليكوزيدات هذه المجموعة مائيا و ينتج عن تحللها أغليكونات فينولية ، ومن أمثلة الغلوكوسيدات الفينولية البسيطة غليكوزيد الساليسين Salicin الذي يتواجد في قلف نبات الصفصاف *salix alba* و الذي يُستخدم كخافض لدرجة الحرارة ، و كذلك غليكوزيد الأربوتون Arbutin الذي يتواجد في نبات عنب الدب *Uva-ursi* و يُستخدم هذا الغليكوزيد كمطهر للمجري البولية . (هيكل، 1993).

◀ الغلوكوسيدات الفلافونيدية Flavonoide glycoside:

تتحد في هذه المجموعة مع الجزء السكري للمركبات الفلافونيدية أو مشتقاتها والمسؤولة عن الألوان المختلفة في بتلات الأزهار ومن الغلوكوسيدات التابعة لهذه المجموعة ما يلي:

- الروتين Rutin الذي يوجد في نبات الحنطة السوداء *Fsculentun esculentun*.
- أبين Apiin في أوراق نبات الكرافس *Apium grawedens* (الحسيني والمهدي ، 1990 ،



الشكل-7- الصيغة الكيميائية لـ Rutin

◀ الغلوكوسيدات الأنثراكينونية Anthraquinone glycoside :

في هذه المجموعة الجزء غير السكري يكون Anthraquinone أو مشتقاته يتحد مع سكر ليكون الغلوكوسيد الأنثراكينوني مثل :

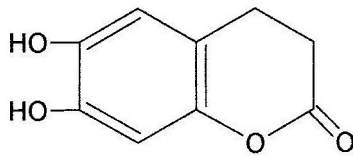
- Emodin في نبات الرواند *Chinese rhubarb*
- Sennoside في نبات السينامي *Cassia acutifolla* (الحسيني والمهدي، 1990).

◀ الغلوكوسيدات الكومارينية Coumarin glycosides :

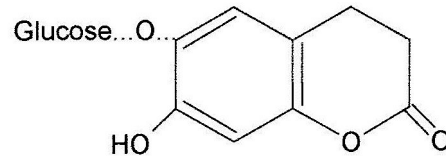
و هي مشتقات للكومارين، يتواجد هذا النوع من الغلوكوسيدات في قرابة 150 نوع نباتي موزعة في ثلاثون عائلة، حيث تُكسب المنتجات النباتية روائح مميزة خاصة منتجات العائلة البقولية.

و هذه الغلوكوسيدات تُعتبر ذات قيمة محدودة من الناحية الطبية إلا أن إستعمالها في الصناعة يُعتبر أكثر شيوعاً و إنتشاراً، حيث تُستخدم كمكسبات للطعم و النكهة، و في صناعة الروائح، كما أنها تُستخدم أيضاً كمبيدات للقوارض حيث تؤدي إلى زيادة سيولة الدم و منع تجلطه.

و من غليكوزيدات هذه المجموعة أسكيولين Aesculin و أسكيوليتين Aesculetin و يتواجدان في نبات أبو فروة *Aesculus hypocastanum* . (هيكل، 1993).



Aesculetin



Aesculin

الشكل -8- صيغة Aesculetin و Aesculin

III -3-4 الغلوكوسيدات الكحولية:

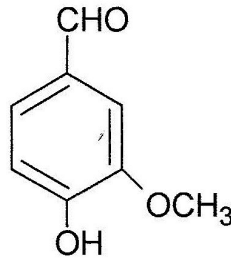
يتميز جزئها غير السكري بأنه ذو طبيعة كحولية كما في Salicin .



والذي يوجد في أوراق نبات الصفصاف *Salix alba L* (الحسيني والمهدي، 1990).

III -3-5 الغلوكوسيدات الأدهيدية:

والجزء غير السكري في هذه المجموعة يكون من مواد الأدهيدية و كمثل على ذلك السكريات غير المتجانسة المنتمية لهذه المجموعة الـ Vanilline في ثمار نبات الفانيليا *Vanilla planifolia* (الحسيني والمهدي، 1990).



الشكل-9- الصيغة الكيميائية لـ Vanilline

III -3-6 الغلوكوسيدات السيانية:

يحتوي جزءها غير السكري على حامض الهيدروسيانيك Hydrocyanique وأهم الغلوكوسيدات التابعة لهذه المجموعة:

– Amygdalin في ثمار نبات: اللوز المر *Amygdalus communis-dulcis*

– Linamarin في بذور نبات: الكتان *Linum usitatissimum* (الحسيني والمهدي، 1990).

III -3-7 الغلوكوسيدات الكبريتية:

الجزء غير السكري فيها يكون الكبريت أو أملاح الكبريت ذات التأثير الطبي و من الغلوكوسيدات الكبريتية ما يلي:

- سنجرين Sinigrin: في بذور نبات الخردل الأسود *Brassica nigra* ذات التأثير المقيء.

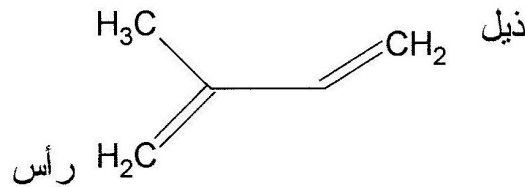
- سينالبيين Sinalbin: في بذور نبات الخردل الأبيض *Brassica alba*
- جلوكونابين Gluconapin في بذر اللفت *Brassica napus* (الحسيني والمهدي، 1990).

III- 4- التربينات les terpenes :

والوحدة البنائية لها هي الإيزوبرين Isoprene (C_5H_8) ذات 5 ذرات كربون و هي تنتج عن تجمع مجموعات من وحدات الـ Isoprene. (الحسيني والمهدي، 1990). و وفقا لهذه القاعدة تُقسم التربينات حسب Guignard إلى:

جدول -3- يوضح تسمية وعدد ذرات التربينات (Guignard, 1996)

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	عدد وحدات الأيزوبرين
10	أحادي التربين Monoterpenes	2
15	سيسكوتربين Sesquiterpenes	3
20	ثنائي التربين Diterpenes	4
30	ثلاثي التربين Triterpenes	6
40	رباعي التربين Tetraterpenes	8
أكبر من 40	متعدد التربين Polyterpenes	أكبر من 8



الشكل-10- الصيغة الكيميائية لوحدة الإيزوبرين

III - 4 - 1 تصنيف التربينات:

• التربينات الأحادية Monoterpenes :

التربينات الأحادية مركبات طيارة يُعزى إليها في المقام الأول الرائحة الزكية التي يتميز بها الكثير من النباتات. و الكثير من التربينات الأحادية لها أهميتها التجارية حيث يستخدم في العطور، كما يستخدم البعض منها في الطب و في أغراض مختلفة، أما بالنسبة للنبات ذاته فإنه يعتقد أنها تلعب دور تنافري إتجاه الأحياء التي تأكلها مثل الحشرات أو الإوز الذي لا يأكل أوراق النعناع و كذلك الحيوانات المجترة لا تأكل أوراق الأشجار الغرائية بسبب وجود تربينات أحادية مثل البينين، كما يمكن أن تلعب دور جاذب للحشرات لإتمام عملية التلقيح.

التربينات الأحادية الطبيعية منها ما هو حلقي و منها ما هو مفتوح، كما أن الحلقي منها يتميز بهياكل بنائية مختلفة. فالتربينات الأحادية الحلقية تُقسم إلى أحادية الحلقة و ثنائية الحلقة. كما أن مركبات ثنائية الحلقة قد تُقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسية و ذلك وفقا لحجم الحلقات الداخلة في البناء .

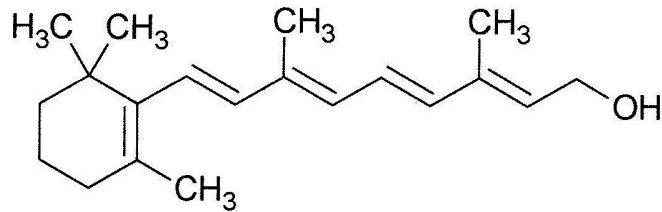
• التربينات نصف الثلاثية (السيكوتربينات) Sesquiterpenes :

هي مركبات يدخل في تركيبها 15 ذرة كربون أي ثلاث وحدات أيزوبرين، تتحد هذه الوحدات مع بعضها بطرق مختلفة، و ينتج عن هذا الإتحاد سيكوتربينات مختلفة البناء قد تكون مفتوحة أو حلقية، أحادية أو ثنائية أو ثلاثية الحلقة . و من أمثلتها نيروليدول Nerolidol و الفارنيسول.

• التربينات الثنائية Diterpenes :

معظمها مواد صلبة، قد تكون هذه التربينات مركبات مفتوحة مثل الفيتول Phytol الذي يدخل في تركيب الكلوروفيل، و قد تكون ذات صيغ حلقية إما أحادية أو ثنائية أو ثلاثية أو حتى رباعية الحلقة.

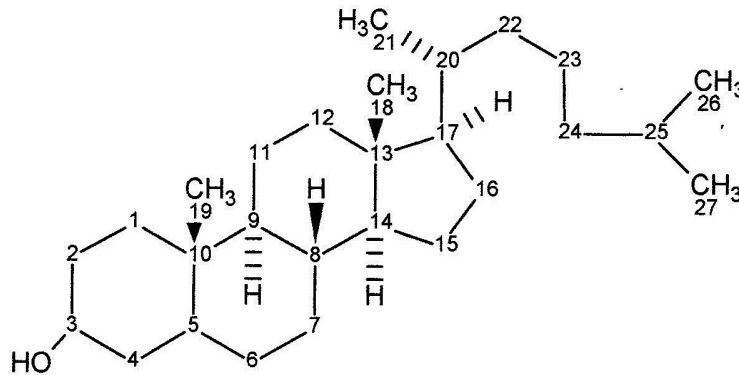
ومن أمثلة التربينات الثنائية الحلقة هو فيتامين A الذي يوجد في نبات البقدونس *Petroselinum saltvium*. (الحسيني والمهدي، 1990).



الشكل-11- الصيغة الكيميائية لـ Vitamine A

• التربينات الثلاثية Triterpenes:

التربينات الثلاثية هي مركبات صلبة ذات 30 ذرة كربون، ويدخل في تركيب هذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات هي الأكثر تواجد في الطبيعة و التي تعتبر كمضادات طبيعية ضد الفطريات، و تنتج هذه المركبات من تماكب جزئيات من Isoprene و تعطي خاصة مركبات Sterols و Steroides و من أمثلتها الكوليستيرول (Guignard, 1996) و (الحازمي، 1993).



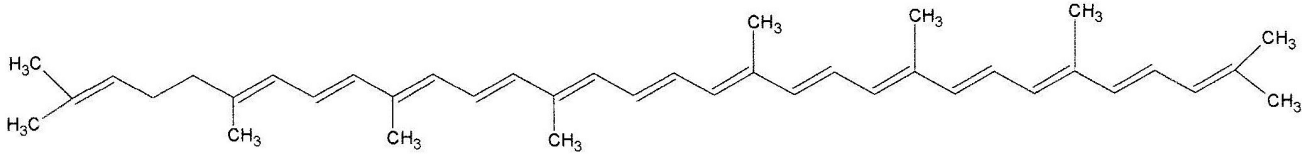
الشكل-12- الصيغة الكيميائية لـ Cholesterol

• التربينات الرباعية Tetraterpenes:

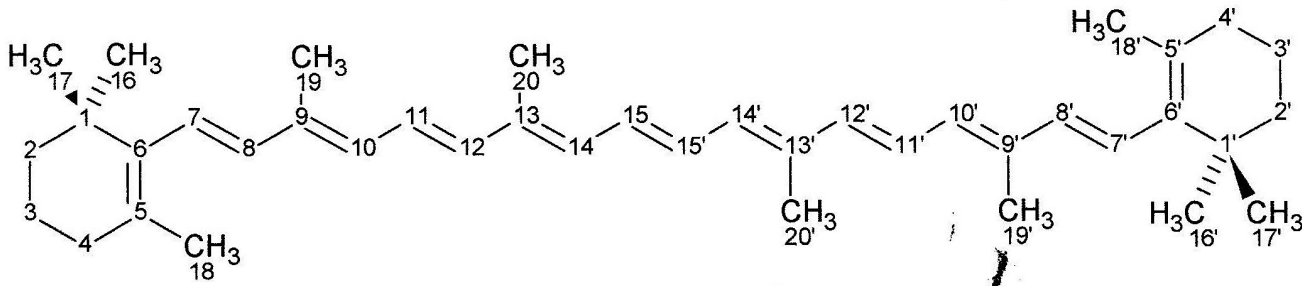
تحتوي على العديد من المركبات الملونة بالأصفر، البرتقالي والأحمر التي تلون العديد من الثمار والأزهار ومنها مجموعة الكاروتينيدات التي تلعب دور هام في مسك الطاقة الشمسية في عملية التمثيل الضوئي، كما تلعب دور وقائي لنبات ضد الإشعاعات المضرة كالأشعة فوق البنفسجية (Guignard, 1996).

و من هذه التربينات نجد ليكوبان Lycopene و β -كاروتين β -carotene

صيغتهما على التوالي:



الشكل-13- الصيغة الكيميائية لـ Lycopene



الشكل-14- الصيغة الكيميائية لـ β -carotene

• متعدد التربين Polyterpenes:

هي عبارة عن تجمع كبير لوحدات Isoprene، وتتشكل من أكثر من 45 ذرة كربون.

من أهم مجاميعها:

* Polyisoprénoides : هي كحولات تمتلك من 30c إلى 110c.

* Plastoquinones : هي عبارة عن quinones بها سلسلة جانبية ذات 45c إلى 50c.

* Epyquinonnes : مركب مهم للسلسلة التنفسية لنقل الـ e^- .

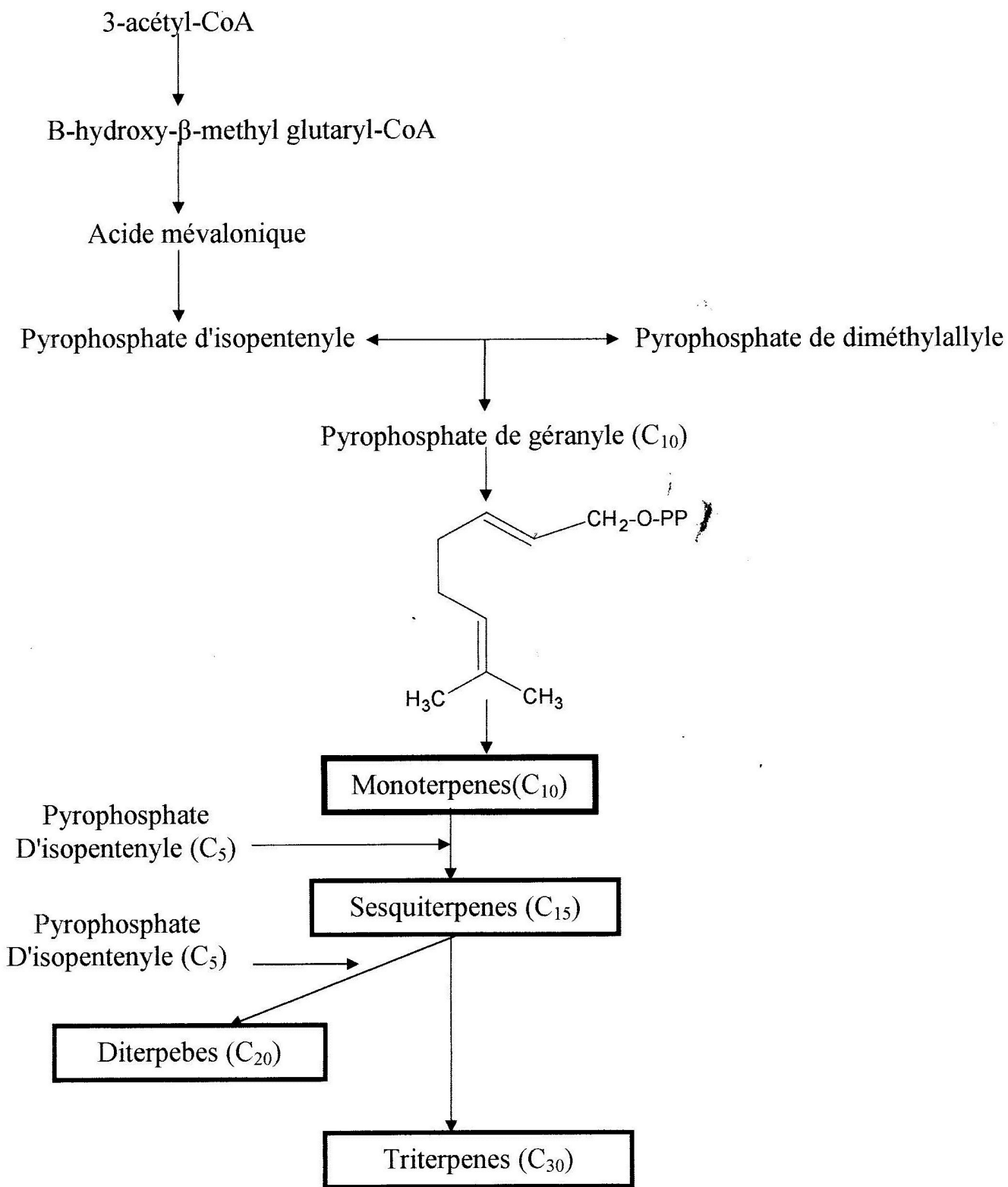
* Les gommes : هي تجمعات عالية من 500 إلى 5000 مركب إيزوبريني، وتعتبر اللبانات les gommes الأكثر استعمالا و هي تفرز من طرف نبات *Hevea brasiliensis* و نبات *Gutta parcha* (Guignard, 1996).

III- 4- 2- تخليق التربينات:

تخلق التربينات حيويًا انطلاقًا من وحدة Acetyl-CoA، إذ تتجمع ثلاث وحدات منها لإعطاء مركب β -hydroxy- β -methylglutaryl-CoA والذي يتم إرجاعه فيما بعد إلى حمض Mevalonique. هذا الأخير بعد تنشيطه يخضع لعملية انتزاع لجريئة CO_2 وجريئة H_2O ليعطي وحدة Pyrophosphate d'isopentenyle. وهي الوحدة الأيزوبرينية الأساسية لتكوين التربينات، والتي قد يحدث لها تماكب لتعطي مركب Pyrophosphate de diméthylallyle.

اثر ذلك وبتجميع وحدتين متماكبتين من هذا المركب ينتج Pyrophosphate de géranyle طليع التربينات الأحادية (C10). وبإضافة وحدة أيزوبرينية إلى هذه الأخيرة تتكون السيسكو تربينات (C15)، والتي يمكن أن ترتبط بها وحدة أيزوبرينية أخرى فتعطي التربينات الثنائية (C20)، أو ترتبط بها وحدتان منها فتعطي التربينات الثلاثية (C30) (شكل 15).

(Paris و Hurabielle، 1981) و (Torsell، 1989) و (Mann و رفاؤه، 1998).



الشكل -15- مخطط التخليق الحيوي للتربينات

III- 4- 3 إستخلاص التربينات:

تنتشر التربينات بأنواعها في المملكة النباتية مع العلم أنه قد تم عزل القليل من التربينات من مصادر طبيعة أخرى. كما أن الطرق المتبعة لاستخلاص التربينات من النباتات متعددة إلا أن أهمها التقطير بالبخار أو الاستخلاص بواسطة مذيبات عضوية متطايرة. وتعتبر طريقة التقطير بالبخار أكثر طرقا استخداما، وعلى الأخص لاستخلاص التربينات الأحادية والسيكوتربينات وبعض التربينات الثنائية، إذ تعتبر هذه الأفراد الدنيا من التربينات، المكونات الأساسية للزيوت الطيارة المفصولة من الأجزاء المختلفة للنباتات.

تسحق الأجزاء النباتية جيدا، ومن ثم تقطر بالبخار. وإذا كان من خصائص مركب تربيني معين التكسر تحت ظروف هذه الطريقة فإن الباحث يلجأ عندئذ للطريقة الثانية، حيث يستخدم إيثر البترول للاستخلاص عند درجة حرارة (50°م) لمدة كافية أي كفيلة باستخلاص جميع المركبات التربينية، أو على الأقل معظم الكمية الموجودة من هذه المكونات، ومن ثم يتم تقطير الإيثر عند ضغط منخفض. ويتم بعد ذلك فصل الزيوت الطيارة بواسطة التقطير التجزيئي حيث تتقطر التربينات الهيدروكربونية أولا، ومن ثم تتقطر التربينات الأوكسিজينية والسيكوتربينات. ومن الطرق المستخدمة على نطاق واسع لفصل التربينات بعضها عن بعض وسيلة الفصل اللوني، سواء طريقة الطبقة الرقيقة أو طريقة العمود أو HPLC. وتعتبر طريقة العمود (على Silica gel) من أنسب طرق الفصل اللوني لفصل معظم التربينات العالية مثل التربينات الثنائية، الثلاثية و الرباعية، و ذلك بعد أن يتم إستخلاصها من مصادرها الطبيعية بواسطة مذيبات معتدلة القطبية مثل الكلوروفورم.

III -5- الزيوت الطيارة:

تتكون معظم الزيوت الطيارة من مزيج من الهيدروكربونات و المركبات الأوكسيجينية المشتقة من الهيدروكربونات. و بعض الزيوت الطيارة تتكون فقط من الهيدروكربونات و لا يحتوي إلا على كمية محدودة من المركبات الأوكسيجينية مثل زيت الفلفل الأسود. و البعض الآخر يتكون فقط من المركبات الأوكسيجينية مثل زيت القرنفل. و تعتمد رائحة أي زيت عطري طيار أو طعمه بصفة أساسية على مثل هذه المركبات الأوكسيجينية التي تذوب في الماء بنسب متفاوتة كما في ماء الزهر و ماء الورد. كذلك فإن هذه المركبات الأوكسيجينية تذوب في الكحول بنسب أعلى من نسب ذوبان الهيدروكربونات.

و من المركبات الأوكسيجينية التي توجد ب الزيوت الطيارة ما يلي:

- | | | |
|--------------|--------------|-----------------|
| 1- الكحولات | 2- الأثيرات | 3- الأوكسيدات |
| 4- الكيتونات | 5- الفينولات | 6- البيروكسيدات |

هذا بالإضافة إلى كل من المركبات الكبريتية و النيتروجينية و الهيدروكربونات. و ينتمي معظم هذه المركبات إلى مجموعة التربينات التي تخلق حيويًا بالنباتات من خلال دورة الأسيئات.

III -5-1 طرق إستخلاص الزيوت الطيارة:

تتواجد الزيوت العطرية الطيارة بالنباتات المختلفة بنسب متفاوتة من نبات إلى آخر، و كذلك من عضو نباتي إلى آخر في نفس النبات، كما تتواجد هذه الزيوت الطيارة على صور مختلفة في النباتات الحاملة لها، فيمكن أن تتواجد على صورتها الحرة مباشرة أو تكون على هيئة مركبات غليكوزيدية أو غير ذلك.

و عليه فإنه يتم إختيار أو تفضيل طريقة معينة للإستخلاص حسب التركيب الكيميائي للزيت العطري أو حسب مكان تواجده في الأنسجة النباتية، و على العموم فإن هناك عدة طرق لإستخلاص الزيوت الطيارة نذكر منها:

1. الإستخلاص بالتقطير ومنه:

• التقطير بالماء.

• التقطير بالماء و البخار معا.

• التقطير بالبخار.

2. الإستخلاص بالمذيبات العضوية. وهذه تقسم حسب نوعية المذيب المستخدم

إلى:

• الإستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة (الهكسان و الإيثر البترولي

و غيرهما.)

• الإستخلاص بالمذيبات العضوية غير الطيارة كالشحوم و الدهون

و الزيوت الثابتة سواء في وجود الحرارة أو غيابها.

3. الإستخلاص بالضغط أو الوخز أو الطرد المركزي.

4. الإستخلاص بالتحلل المائي (الإنزيمي أو الحامضي).

III-5-2 حفظ الزيوت الطيارة:

بعد استخلاص الزيوت الطيارة و تخزينها نجد أنها تتعرض إلى بعض العوامل و الظروف التي من شأنها أن تحدث تغيرات طبيعية و أخرى كيميائية في صفات هذه الزيوت مما يؤدي إلى فسادها و إنخفاض جودتها، لذلك كان من الضروري معرفة العمليات التي تؤدي إلى فساد الزيوت الطيارة و من أهمها الأكسدة و التحلل المائي و تبادل المجموعات النشطة في التركيب الكيميائي للزيت الطيار. و من العوامل التي تساعد على زيادة تأثيرات هذه العمليات هي الضوء و الحرارة و الأكسجين و ذرات الماء الدقيقة المعلقة بالزيت الطيار، و كذلك الذرات الدقيقة الناتجة من معادن أواني الإستخلاص و الحفظ كالحديد و غيره.

و طالما أن أسباب التلف معروفة، فهذه يمكن التغلب عليها قبل و أثناء تخزين الزيوت الطيارة العطرية. فيمكن نزع ذرات الماء المعلقة بالزيت بوضع كبريتات الصوديوم

اللامائية ثم الترشيح باستخدام مرشحات الضغط. كذلك تعبأ الزيوت في أواني زجاجية قاتمة اللون و عند درجة حرارة منخفضة و بعيدا عن الضوء. هذا فضلا عن عدم ترك الهواء داخل العبوات فوق الزيت، و يفضل وجود غاز خامل كالنيتروجين بدلا من الهواء.

III-5-3 استعمالات الزيوت الطيارة:

يسند إلى الزيوت الطيارة القيام بدور هام في اقتصاديات الإنسان ويستدل على ذلك من خلال الكمية المستهلكة منها سنويا، هذا بالإضافة إلى تنوع وتعدد مجالاتها استخداماتها، فهي تستخدم في المجالات العلاجية كمواد طاردة للديدان أو مدرة للبول أو مواد مطهرة أو طاردة للرياح والغازات المعوية والمعدية، كما أن لبعضها تأثيرا موضوعيا ظاهريا على الجلد. هذا فضلا عن دورها كمحسنات لطعم بعض العقاقير. نجد أيضا أن النباتات العطرية والطبية المحتوية على الزيوت الطيارة قد تستخدم في المجالات الغذائية كتوابل أو بهارات أو مكسبات للطعم أو النكهة أو الرائحة في بعض الأغذية، أو كمشروبات.

بالإضافة إلى ذلك فإن الدور الأساسي لمجال استخدام الزيوت الطيارة هو تصنيع الروائح والعطور ومستحضرات التجميل كمركبات الزينة المتنوعة الأغراض.

مِنْ مَعْرِفَةِ الْوَالِدِ الْمَوْلَى

I العينات النباتية المدروسة:

1-I-1 النبتة الأولى *cotula cinerea*:

1-1-I-1 التصنيف:

الاسم العلمي: *Cotula cinerea Del*مرادفه: *Brocchia cinerea (Del) Vis*

الاسم الشائع: الشيحية، الروبيطة، شيحة البل.

الجدول-4- التصنيف النباتي لـ *Cotula cinerea*

Espèce	<i>cinerea</i>	النوع
Genre	<i>Cotula</i>	الجنس
Famille	Asteraceae (Composées)	العائلة
Order	Tubiflorales	الرتبة
Class	Dicotyledons	الطائفة
Embranchement	Angiospermes	الشعبة
Règne	Végétales	المملكة

I-1-2 الوصف النباتي:

نبات عشبي حولي صغير 10 – 40 سم، تكسوه شعيرات دقيقة مبيضة، السيقان قائمة، أو زاحفة قليلا، أسطوانية، صفراء مخضرة، الأوراق خضراء مبيضة تحمل شعيرات كثيفة صوفية المظهر، ثخينة، مقسمة في جزئها العلوي إلى 3-5 فصوص، الرؤيسات صغيرة 6 – 10 سم قطراً، القناب مكون من قنابات تشبه الأوراق من حيث اللون و الشعيرات، الأزهار جمعها أنبوبية، صفراء ذهبية، الأكينات مفلطحة صغيرة جداً، تحمل شعيرات عند جزئها العلوي. (أنظر الشكل -16-).

ينمو النبات في أواخر الشتاء في جانفي - فيفري و يتم الإزهار بعد ذلك بقليل، يزدهر و يُكوّن مجتمعات واسعة في المناطق الرملية المسطحة و نادراً ما ينمو في مناطق الكتبان الرملية الكثيفة.

I-1-3 الإنتشار الجغرافي في الجزائر:

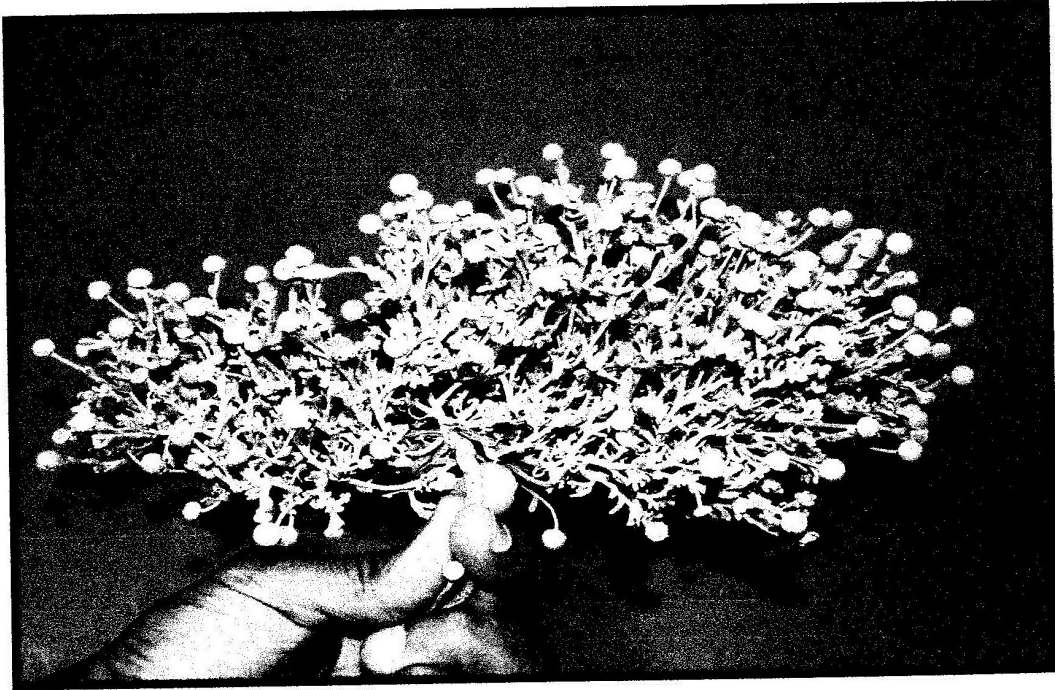
ينمو في المناطق الصحراوية و في المناطق شبه الجافة.

I-1-4 الإنتشار الجغرافي:

ينتشر في الصحراء الكبرى و في صحاري آسيا الهندية الإيرانية و صحاري شبه الجزيرة العربية. (Ozenda P. 1977) و (Quezel P.1963).



الشكل -16- رسم توضيحي لـ *Cotula cinerea*



الصورة-1- صورة فوتوغرافية لـ *Cotula Cinerea*

2-I-2 النبتة الثانية : *Matricaria pubescens*

1-2-I التصنيف :

الاسم العلمي : *Matricaria pubescens* (def)

مرادفه : *Chlamydomora pubescens* Coss et Dr

الاسم الشائع : القرطوفة، القريطفة.

الجدول-5- التصنيف النباتي لـ *Matricaria pubescens*

النوع	<i>pubescens</i>	Espèce
الجنس	<i>Matricaria</i>	Genre
العائلة	Asteraceae (Composées)	Famille
الرتبة	Tubiflorales	Order
الطائفة	Dicotyledons	Class
الشعبة	Angiospermes	Embranchement
المملكة	Végétales	Règne

2-2-I الوصف النباتي:

نبات عشبي حولي يصل طوله إلى 25 سم ارتفاعا، الساق أسطوانية متفرعة، خضراء داكنة، (شديدة الاخضرار)، الأوراق متبادلة، خضراء داكنة، تحمل شعيرات متفرقة مفصصة بفصوص مسننة، الرأس صغير جدا أصفر اللون، قطره من 5-8 ملم، محمولة على عنق رقيقة، القنابات ذات حواف علوية، و مسننة بأسنان صغيرة جداً، الأزهار كلها أنبوبية الأكينات مصفرة، ملساء. (الشكل-17-).

ينمو النبات في أواخر الشتاء في جانفي- فيفري و تزهر في الربيع (مارس - أفريل). تنمو في المناطق المسطحة شبه طينية أو الرملية قليلا.

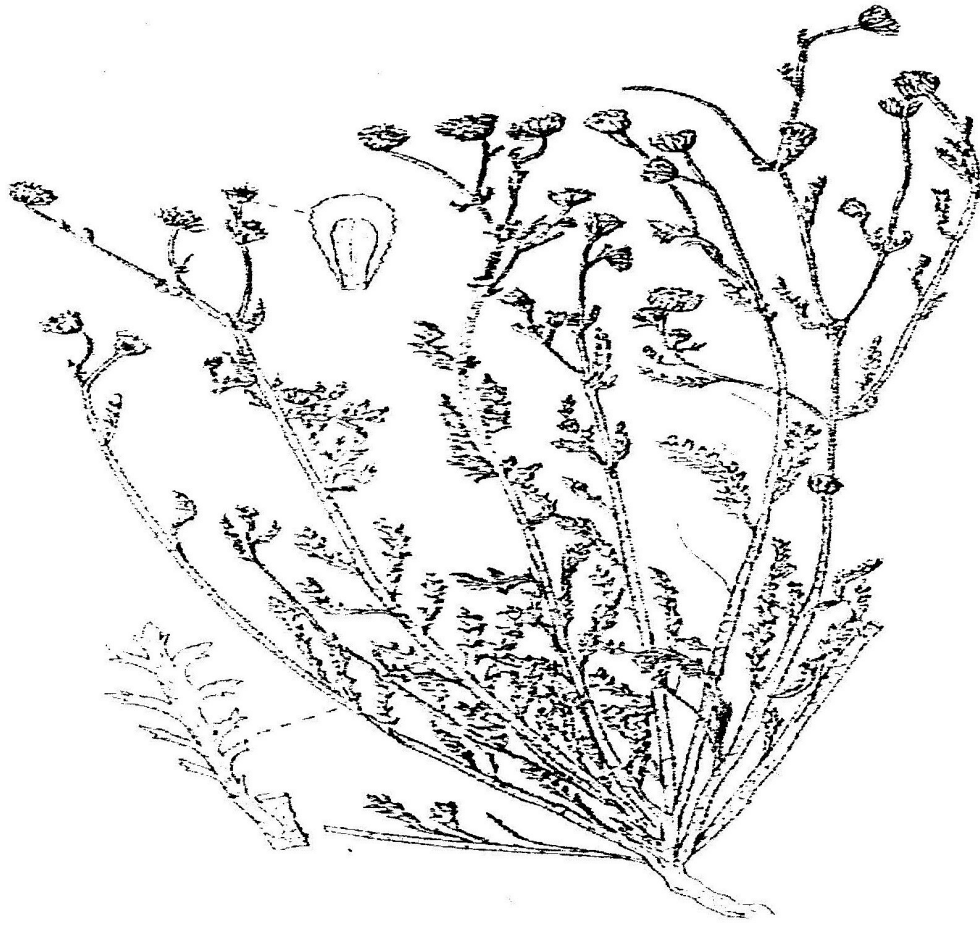
I-2-3 الإنتشار الجغرافي في الجزائر:

تنتشر في المناطق الشبه الجافة و شمال الصحراء و في جبال الأطلس الصحراوي.

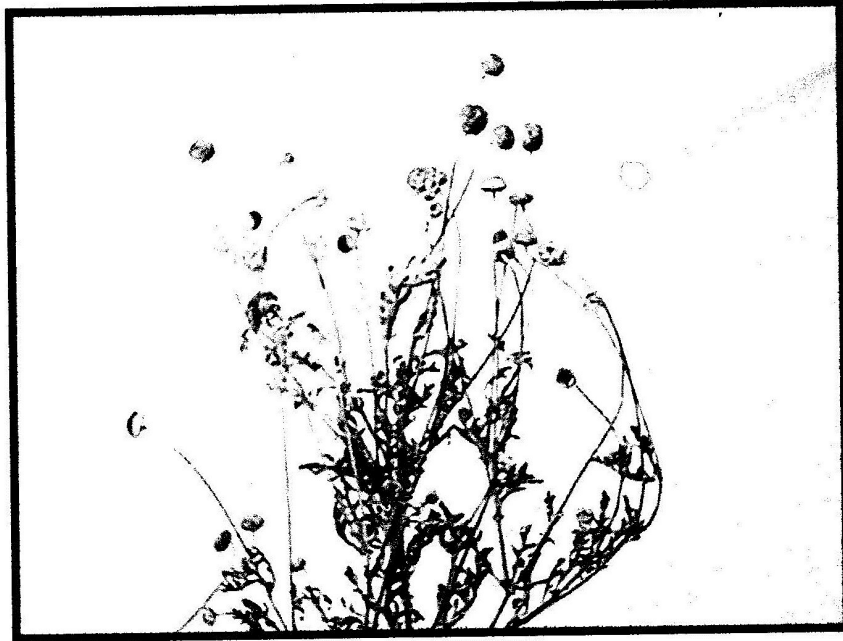
I-2-4 الإنتشار الجغرافي:

نبات مستوطن Endemique في شمال إفريقيا.

(Ozenda P. 1977) و (Quezel P.1963).



شكل -17- رسم توضيحي لـ *Matricarea pubescens*



الصورة-2- صورة فوتوغرافية لـ *Matricarea pubescens*

II- الدراسة الفيتوكيميائية:

II-1 الكشف عن المواد الفعالة:

II-1-1 اختبار الفلافونويدات:

نضع 10 غ من المادة الجافة في 150 ملل HCl (1%) لمدة ليلة كاملة ثم يُرشح:
 * نأخذ 5 ملل من الراشح و نضيف له 2.5 ملل من كحول أميليك Alcool Amilique (C₅H₁₁OH). تلون الطبقة الكحولية بالأصفر دلالة على وجود فلافونويدات حرة.
 * نبخر الطبقة المائية للاختبار السابق، نضع الراسب في 3 ملل من HCl و نسخن بالطف (نغلي الراسب مع 3 ملل من HCl) لمدة دقيقتين ثم نبرد المحلول الحمضي و نضيف له 2.5 ملل من كحول أميليك. ظهور اللون الأصفر يدل على وجود فلافونويدات غليكوزيدية. (A Trease و W.L. Evans 1987).

II-1-2 اختبار القلويدات:

ينقع 10 غ من المسحوق النباتي في 50 ملل من HCl مخفف (1%) ، و يُرشح المستخلص الحمضي ثم يُجعل قلويا بالأمونيا (NH₃)، نستخلص الراشح بواسطة 20 ملل من الكلوروفورم، و نكرر العملية 3 مرات، ثم نأخذ 30 ملل من الراشح و نبخرها حتى الجفاف و نذيب الراسب في 2 ملل من HCl مخفف، و في الأخير تضاف له قطرات من كاشف Mayer. ظهور اللون الأصفر في الحال يدل على وجود القلويدات. (I Balbaa و آخرون. 1981).

II-1-1 اختبار التانينات Les Tannins:

نأخذ 10 غ من المادة الجافة، و نستخلص المادة بواسطة الكحول الإيثيلي Ethanol (50%) ثم نرشح، و بعد ذلك نضيف للراشح قطرات من كلوريد الحديد FeCl₃. ظهور اللون الأخضر يدل على إيجابية التفاعل. (A Trease و W.L. Evans 1987).

II-1-4 اختبار الصابونيات Les Saponines:

يُغلى 2 غ من المسحوق النباتي مع 80 ملل من الماء المقطر، يُرشح، يُبرد، و الراشح يُرج رجا قويا.

ظهور رغوة يدل على وجود الصابونيات. (Stock R. Rice S. B. F. 1967).

II-1-5 اختبار التربينات الثلاثية Les Triterpene:

تؤخذ 5 غ من المادة الجافة و تُستخلص بالإيثانول 70%، يُخمر المستخلص الكحولي حتى الجفاف، و يذاب الراسب في 20 ملل من الكلوروفورم، ثم يُرشح و الراشح يُقسم إلى جزئين:

*اختبار Liberman Bouchard:

يُضاف للجزء الأول 1 ملل من حمض الخليك اللامائي (الثلجي) و يُتبع بإضافة 1 ملل من حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) على جدار الأنبوب. ظهور اللون الأحمر البنفسجي عند نقطة الاتصال بين الطبقتين ثم تحوله إلى أخضر يدل على وجود التربينات الثلاثية.

*اختبار Salwaski:

يُضاف للجزء الثاني حجم مساوي له من حمض الكبريت المركز. ظهور اللون الأصفر و تحوله إلى الأحمر يدل على إيجابية التفاعل. (Culei I. 1983).

II-1-6 اختبار الكاردينوليدات:

*اختبار Killer Kiliani:

يُنقع 10 غ من المسحوق النباتي في 20 ملل من الماء المقطر ثم يُرشح، نخلط 10 ملل من الراشح مع 10 ملل من مزيج الكلوروفورم و الإيثانول (5:5) تُبخر الطبقة العضوية، و الراسب يذاب في 3 ملل من حمض الخليك الثلجي، ثم تضاف له قطرات من كلوريد

الحديدك و تتبع مباشرة بإضافة 1 ملل من حمض الكبريت المركز على جدار الأنبوية و بإحتراس شديد.

ظهور اللون الأخضر المزرق يدل على إيجابية التفاعل.

(Raman A. و Hough P. J. 1998)

II-1-7 اختبار الغليكوزيدات:

في حوجلة سعتها 500 ملل يوضع 10غ من المسحوق النباتي، ثم يضاف إليه 5 ملل من حمض الطرطريك 2% في الايثانول. يسخن المزيج في حمام مائي تحت مكثف (تقطير مرتد) لمدة ساعتين. يرشح الراسب ثم يغسل بالإيثانول.

يوضع الراسب في الماء المقطر الساخن، و في أنبوب اختبار يوضع 2 ملل من المحلول و تضاف له قطرة أو قطرتين من محلول فهلينغ. يسخن المزيج في حمام مائي. يدل إرجاع محلول فهلينغ على وجود الغليكوزيدات. (Balbaa S. I و آخرون. 1981).

II-1-8 اختبار الزيوت الطيارة:

ينقع 10غ من المسحوق النباتي في الإيثانول 70%، يوضع الراشح في جهاز الجرف ببخار الماء، ثم يسخن بلطف لمدة 4-5 ساعات.

يدل ظهور الطبقة الزيتية على الخلاصة على وجود الزيوت الطيارة.

(Pellitier J و Salle J.I. 1991).

II-2- إستخلاص الفلافونويدات:

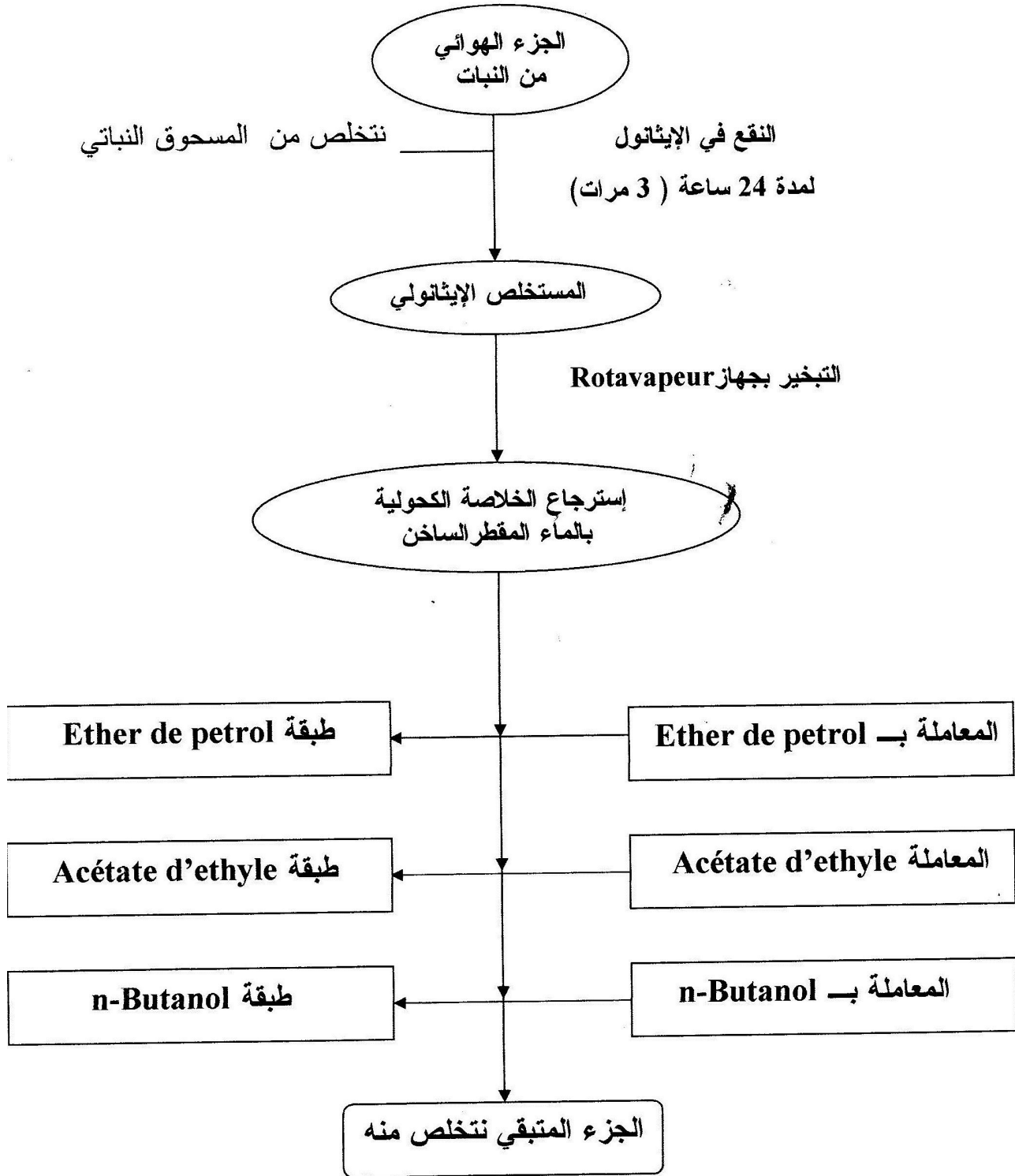
II-2-1 جمع العينات:

تم جمع نباتات *Cotula cinerea* المعدة للدراسة في شهر ماي سنة 2004 من منطقة الحمراية بالوادي، أما نباتات *Matricaria pubescens* فقد جُمعت من منطقة الشقة ببسكرة، في أواخر شهر أفريل و بداية شهر ماي من سنة 2004، ولقد تم تجفيف النباتات المدروسة في جو الغرفة بعيدا عن أشعة الشمس، ثم فتت إلى أجزاء صغيرة و حفظت في مكان بعيد عن الرطوبة.

II-2-2 عملية الإستخلاص:

تم إتباع الطريقة الكلاسيكية في فصل الفلافونويدات و المبينة في الشكل-18- بحيث قمنا بنقع 100 غ من كل نبتة في الإيثانول لمدة ليلة كاملة و على ثلاث مرات، بحيث يتم تغيير الإيثانول كل مرة. ثم نقوم بعملية الترشيح، و بعدها نقوم بتبخير المحلول للحصول على المستخلص الإيثانولي الخام، ثم يُسترجع المستخلص الكحولي بالماء المقطر، و بعد ذلك نقوم بمعاملته بعدة محاليل كيميائية، و ذلك للحصول على مستخلصات هذه المواد الكيميائية.

بحيث نضيف Ether de Petrole للمستخلص الكحولي لنحصل بعد الرج الخفيف على طبقتين، نقوم بفصل طبقة الأيثر للحصول على طبقة Ether de Petrole. و الباقي يعامل بـ Acetat de Ethyl و بنفس الطريقة السابقة نحصل على طبقة الـ Acetat، و نفس الشيء من أجل الحصول على طبقة n-Butanol. كل طبقة من هذه الطبقات تُقسم إلى جزئين و يُبخر كل جزء على حدا، الجزء الأول نقوم بإذابته في الميثانول و ذلك لإستعماله في الكروماتوغرافيا، أما الجزء الثاني فنذوبه في الماء من أجل إستعماله في الكشف عن النشاطية التثبيطية للأحياء الدقيقة إتجاه هذه المواد.



شكل-18- مراحل إستخلاص الفلافونويدات

II-3- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة:

هذا النوع من الكروماتوغرافيا يسمح بإعطاء صورة عن المجموعات الفلافونويدية المكونة للعينات النباتية وكذلك اختيار أحسن مذيب للعزل، و يتم الفصل في هذا النوع من الكروماتوغرافيا باستعمال طبقة محضرة من طور ثابت ممدد في صفيحة مستوية من الزجاج، و نظرا لأن هذه الطبقة تكون رقيقة فإن انتقال الطور المتحرك عبرها يكون سريعا و يتم بالخاصية الشعرية غالبا، و لأن الطور المتحرك يعبر الطبقة الرقيقة إنطلاقا من إحدى حافتيها إلى الحافة الأخرى المقابلة فإنه ينقل معه أي مكون مثبت على الطبقة بسرعة يحددها معمل توزيع المركب بين الطور الثابت و الطور المتحرك و الذي يعبر عنه بمعامل الهجرة أو معامل التوزيع R_f .

للقيام بعملية الكروماتوغرافيا قمنا بأخذ كمية قليلة من كل عينة من العينات المدروسة بواسطة أنبوبة شعرية و وضعت على بعد 1 سم من الحافة السفلية للطبقة الرقيقة المشبعة بالسليكاجيل Silica gel كطور ثابت، ثم مررت في غرفة الإظهار و التي تحتوي على مملص تم اختياره بعد تجربة عدة محاليل، و عندما يصل المذيب إلى 0.5 سم من نهاية الطبقة تنزع هذه الأخيرة و تجفف ثم تعرض للأشعة فوق البنفسجية UV، عندها يلاحظ ظهور عدة مركبات بمعاملات توزيع مختلفة.

II-4- عامل التوزيع R_f :

حركية مركب في مذيب نوعي تعطي قيمة R_f (Audigié et al., 1995). مقارنة قيم R_f للمركب الفلافونويدي مع مركبات قياسية معروفة تسمح بإعطاء معلومات أولية عن بنية الفلافونويد (الجدول-6) (Kacem, 1998).

الجدول-6- العلاقة بين قيمة R_f و بنية الفلافونويد

R_f	بنية الفلافونويد
R_f منخفضة عند المذيبات القطبية.	وجود مجموعات هيدروكسيلية
R_f مرتفعة عند المذيبات المائية.	سكريات hydroxylation
R_f منخفضة عند المذيبات الكحولية.	Hydroxyles méthyles
R_f مرتفعة عند المذيبات الكحولية.	Méthylayion d'un Hydroxylen 5

القيمة R_f يعبر عنها بـ

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي تقطعها المادة المدروسة}}{\text{المسافة التي يقطعها المذيب}}$$

III- الدراسة البيولوجية:

III-1- جمع السلالات البكتيرية :

تم جمع العينات البكتيرية من مستشفى الدقي بقسنطينة، بمساعدة أستاذ مختص في مجال الأحياء الدقيقة، و هذه العينات البكتيرية هي:

1- *Proteus mirabilis* :

تتنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae*، و هي بكتيريا عصوية جد متحركة لإحتوائها على أسواط طويلة، غرام (-)، تعيش في التربة و الماء فهي هوائية و لاهوائية، لها القدرة على تكسير السكر، مقاومة للكلور فونيكول ChloromPhinicol و Colshisine، نجدها عادة على مستوى القناة الهضمية للإنسان و الحيوان.

لها القدرة على احداث المرض حيث تسبب عدوى كلوية و التهاب السحايا الدماغية، من خصائصها البيوكيميائية ما يلي :

Oxydase(-), Nitrate(+), ONPG(-), Urease(+), H₂S(+), Indole(-),
Gélatinase (+).

Urease (-), Lipase (+), Gelatine (+), VB (+).

ومن خصائصها التوكسيناتية:

الكوليرا، الإسهال، التهابات الجهاز الهضمي، التهابات العين، التهابات

التهاب، التهابات العين، التهابات

عذرة عن عصيات سالية البرام، متحركة، عادة بحدتها في الجهاز الهضمي للإنسان،

4-Enterobacter:

.catalase (+),oxydase (+), Gelatinase (-), ADH(+), مختبرية للإنزيمات،

ومن خصائصها التوكسيناتية:

التهاب، التهابات العين، التهابات الجهاز الهضمي للإنسان، التهابات

عذرة على مستوى الخلد، المسالك البولية، قد بحدتها في الماء، التربة، وحتى

(40°C - 37°C) على النمو على قدرة على التكاثر، المطهرات، بؤبؤ السكريات و ينتج أحماض، قادرة على النمو على

التهاب، التهابات العين، التهابات الجهاز الهضمي للإنسان، التهابات

عذرة على مستوى الخلد، المسالك البولية، قد بحدتها في الماء، التربة، وحتى

3-Pseudomonas sp:

Serratia fonticola البؤبؤ التوكسيناتية

ONPG(+), DNase(+), Lipase (+), VP (+), Gelatinase (+), (H₂S-) ADH(-).

التهاب، ومن خصائصها التوكسيناتية:

التهاب، التهابات العين، التهابات الجهاز الهضمي للإنسان، التهابات

عذرة على مستوى الخلد، المسالك البولية، قد بحدتها في الماء، التربة، وحتى

التهاب، التهابات العين، التهابات الجهاز الهضمي للإنسان، التهابات

عذرة على مستوى الخلد، المسالك البولية، قد بحدتها في الماء، التربة، وحتى

2-Serratia SP:

:Klebsiella pneumoniae -5

تنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae*، و هي بكتيريا عصوية سالبة لصبغة غرام، هوائية و لا هوائية، غير متحركة، تصيب الجهاز التنفسي للإنسان. و من خصائصها البيوكيميائية:

Oxydase (-), Catalase (-), ODC (-), ADH (-), ONPG (+), LDC (+), Uréase (+).

:Staphilococcus aureus -6

تنتمي إلى عائلة *Staphylococcaceae*، توجد في الماء، الهواء، التربة، الجلد و المواد الغذائية الملوثة، كروية موجبة الغرام، غير متحركة و لا تشكل جراثيم، هوائية و لا هوائية، بعد زرعها في وسط مغذي لمدة 24 ساعة تكون مستعمرات. تعتبر بكتيريا ممرضة، خاصة للمجترات، كما أنها تصيب الإنسان على مستوى الجلد و الأنبوب الهضمي.

ومن خصائصها البيوكيميائية ما يلي :

Catalase (-), Oxydase (-), VB (-), Novobiocine (+), DNase (+).

:Escherichia coli -7

تنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae*، عصوية، سالبة لصبغة غرام، هوائية، تعيش مترممة في الجهاز الهضمي، تسبب تعفنات للمجاري البولية (80% من التعفنات البولية)، و كذلك تعفنات للدم، و في الجهاز الهضمي، وأيضا إلتهاب السحايا. و من خصائصها البيوكيميائية:

Oxydase (-), Nitrate (+), Glucose(+), Lactose (+), Indole (+).NO3+

مختزلة للنيترات. (Sites Web).

III-2- تحضير السلالات البكتيرية:

العينات البكتيرية تزرع في أوساط Bouillons Nutritifs وتحفظ عند درجة حرارة 37°م، لمدة 18 ساعة قبل استعمالها في دراسة الفعالية البيولوجية، وذلك للوصول إلى الطور اللوغاريتمي للعينات البكتيرية.

III-3- تحضير الأقراص:

يتم تحضير الأقراص ابتداءً من ورق Watheman، و التي يتم قصها إلى أقراص صغيرة بقطر 5 ملم لكل قرص، و بعد ذلك نقوم بوضع هذه الأقراص في علبة بيتري Boite Pétri محتوية على 10 ملم من الماء المقطر، ثم نضع بجهاز الأوتوكلاف Autoclave لمدة 20 دقيقة و درجة حرارة 120°م. بعد ذلك يتم حقن كل قرص بـ 0.5 مل من المادة الفعالة المستخلصة من النبات بالتركيز المطلوب.

III-4- إختبار النشاطية التثبيطية للمواد المستخلصة:

• وسط الزرع:

في هذه المرحلة نقوم بوضع وسط (GN) Gélose Nutritive في أطباق بيتري في وسط معقم، و بارتفاع 4 ملم.

• الزرع البكتيري:

نقوم بأخذ 1 ملم من وسط Bouillons Nutritive المزروعة به البكتيريا بواسطة ماصة باستور معقمة، و وضعها في طبق بيتري المحتوي على GN، نقوم برج الطبق رجا خفيفا حتى تشمل البكتيريا كل السطح و الباقي نتخلص منه، ثم نترك الطبق لمدة 15 دقيقة و عند درجة حرارة 37°م ليتجمد الوسط.

سنة ١٤٢٥ هـ
١٤٢٥ هـ
١٤٢٥ هـ
١٤٢٥ هـ

النتائج:

I- الدراسة الفيتوكيميائية:

I-I- الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة:

بعد إجراء الاختبارات الحيوية للنببتين لوحظ غياب تام للقلويدات في هذه العينات النباتية على عكس الفلافونويدات و الغليكوزيدات ، و النتائج كاملة مبينة في الجدول -7-.

جدول -7- نتائج الكشف عن المواد الفعالة في النباتين

القرطوفة <i>Matricaria pubescens</i>	الشيحية <i>Cotula cinerea</i>	المواد الفعالة
+	+	الفلافونويدات
-	-	القلويدات
-	+	التربينات
+	+	الكرودينيوليدات
+	+	التانينات
-	-	الصابونيات
+	+	الغليكوزيدات
-	+	الزيوت الطيارة

I-2- الاستخلاص:

تم استخلاص الأطوار الثلاثة من خلال نقع 100 غ من العينات النباتية المدروسة في الإيثانول عدة مرات مع تغيير الإيثانول كل 24 ساعة، و بعد التبخير تذاب الخلاصة في الماء المقطر و توضع في حوجلة بسعة 500 مل.

و الشكل -18- يبين المراحل التي تم بها استخلاص الأطوار الثلاثة لكل نبتة.

وبعد الحصول على كل طور يتم تقسيمه إلى جزئين:

1. الجزء الأول تم إذابته في الميثانول ليستعمل في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.
 2. الجزء الثاني تم إذابته في الماء المقطر، و يحفظ في درجة حرارة 4° م لإستعماله في دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة.
- بعد إتمام عملية الإستخلاص و قبل إذابة المستخلصات في الماء المقطر و الميثانول قمنا بحساب مختلف الأوزان بالغرام لكل طور فكانت النتائج كما في الجدول -8-:

جدول -8- الأوزان المختلفة للأطوار المستخلصة من النبتتين

الوزن الجاف الذي تم إذابته في الميثانول	الوزن الجاف الذي تم إذابته في الماء المقطر	الأطوار المستخلصة	النبات
0.76	0.53	n-Buanol	Matricaria pubescens
0.15	0.10	Acetat de ethyl	
0.20	0.14	Ether de petrole	
0.40	0.30	n-Buanol	Cotula cinerea
0.16	0.26	Acetat de ethyl	
0.37	0.30	Ether de petrole	

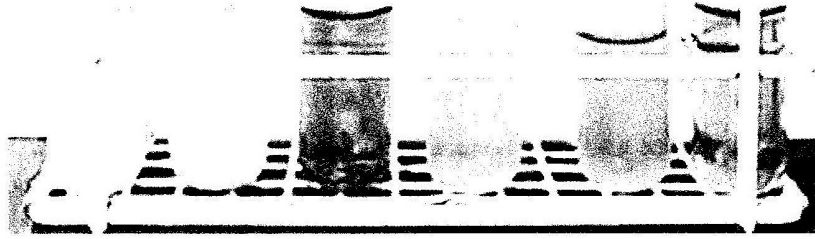
و كما يتضح من خلال الجدول أن مردود النبتتين كان متقارب حيث يصل 1.79% عند *Cotula cinerea* و يصل إلى 1.88% عند *Matricaria pubescens*.



الذائبة في الماء

الذائبة في الميثانول

Acetat Ether n-Butanol
Acetat Ether n-Butanol



الصورة 3- المستخلصات الفلافونويدية لـ *Cotula cinerea*



الصورة 4- المستخلصات الفلافونويدية لـ *Matricaria pubescens*

I-3- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و قيم Rf:

من أجل معرفة عدد و نوع المركبات الموجودة في كل طور قمنا بإجراء كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، فتحصلنا على النتائج التالية:

1. *Cotula cinerea*

❖ **Phade n-Butanol**

منطقة واحدة عند $Rf = 0.62$ ذات لون بنفسجي فاتح.

❖ **Phade Ether de Petrole**

منطقة عند $Rf = 0.32$ ذات لون بنفسجي فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.86$ ذات لون بنفسجي فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.96$ ذات لون بني فاتح.

❖ **Phade Acetat de Ethyl**

منطقة عند $Rf = 0.37$ بلون بنفسجي.

2. *Maricarea pubescens*

❖ **Phade n-Butanol**

منطقة عند $Rf = 0.48$ ذات لون أحمر فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.67$ ذات لون أحمر.

منطقة عند $Rf = 0.74$ ذات لون بنفسجي فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.78$ ذات لون أحمر.

منطقة عند $Rf = 0.84$ ذات لون بنفسجي فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.91$ ذات لون أزرق.

منطقة عند $Rf = 0.96$ ذات لون برتقالي.

❖ **Phade Ether de Petrole**

منطقة عند $Rf = 0.37$ ذات لون بني فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.67$ ذات لون أحمر فاتح.

النتائج

منطقة عند $Rf = 0.78$ ذات لون بنفسجي فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.84$ ذات لون بنفسجي فاتح.

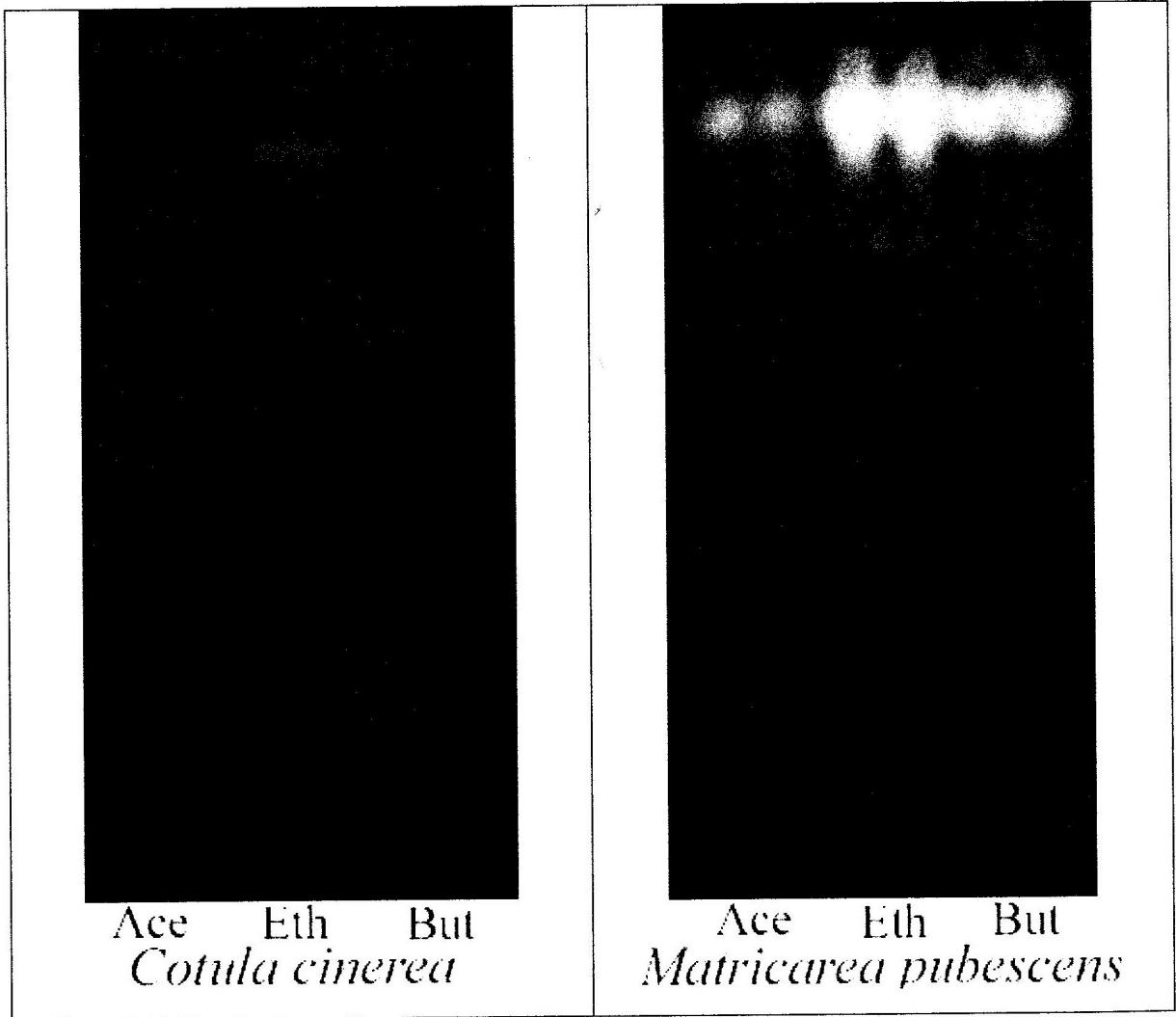
منطقة عند $Rf = 0.91$ ذات لون أزرق.

منطقة عند $Rf = 0.98$ ذات لون برتقالي.

❖ Phase Acetat de Ethyl

منطقة عند $Rf = 0.32$ ذات لون بني فاتح.

منطقة عند $Rf = 0.91$ ذات لون بنفسجي.



الصورة -5- نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

باستعمال المذيب (Acetat d'ethyl : n-butanol 1 :1)

و اعتمادا على ما قاله كل من Markhem 1982 و Harborne 1975 بأن هناك علاقة بين الفلورة (Fluorescence) التي يبدئها المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) و بين التركيب الكيميائي للمركب فإنه يمكن إعطاء بنية أولية تقريبية للمركبات الموجودة في كل طور. و الجدول -9- يبين العلاقة بين لون البقعة للفلافونويدات و تركيبها الكيميائي.

الجدول-9- العلاقة بين لون البقعة للفلافونويدات و تركيبها الكيميائي

نوع الفلافونويد	لون المركبات تحت UV
<ul style="list-style-type: none"> ● فلافون ● 7,6,5 أو 8,7,5 ثلاثي هيدروكسي فلافون ● فلافونول مستبدل في الموضع رقم 3 ● شالكون chalcone 	بنفسجي أسود
<ul style="list-style-type: none"> ● فلافونول أو فلافونول يملك OH- في الموضع رقم 3 ● فلافون أو فلافونون بدون OH- في الموضع رقم 5 ● فلافونول مستبدل في الموضع 3 أو بدون OH- في الموضع 5 	بنفسجي نيلي
<ul style="list-style-type: none"> ● فلافونول مع OH- حر في 3 و مع أو بدون OH- في 5 	أصفر أو أصفر فاتح
<ul style="list-style-type: none"> ● إيزوفلافون isoflavone 	برتقالي لامع
<ul style="list-style-type: none"> ● أوران Aurone 	أصفر مخضر
<ul style="list-style-type: none"> ● شالكون chalcone 	أخضر
<ul style="list-style-type: none"> ● فلافونون بدون OH- في الموضع رقم 5 	أزرق مخضر

II- الدراسة البيولوجية:

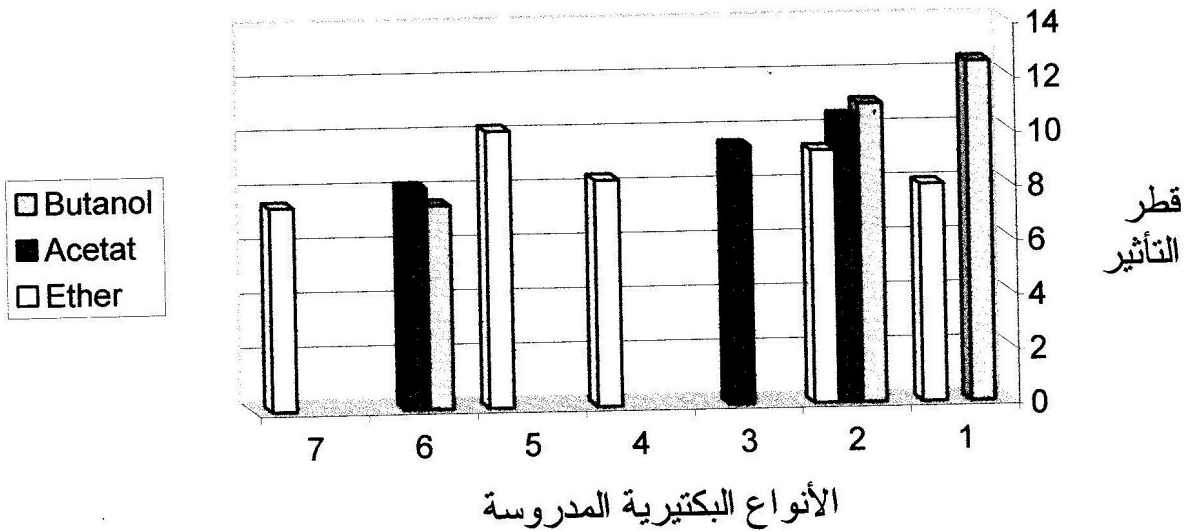
II-1- النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة:

II-1-1- *Matricaria pubescens* :

جدول -10- نتائج معاملة العينات البكتيرية بمستخلصات *Matricaria pubescens*

العينات البكتيرية المدروسة							الأطوار
7	6	5	4	3	2	1	
/	7.5	/	/	/	11	12.5	n-Butanol
/	8.16	/	/	9.5	10.5	/	Acetat d'ethyl
7.5	/	10.2	8.33	/	9.3	8	Ether de petrol

الشكل-19- رسم بياني لتأثيرات مستخلصات نبات القرطوفة على الأنواع البكتيرية المدروسة

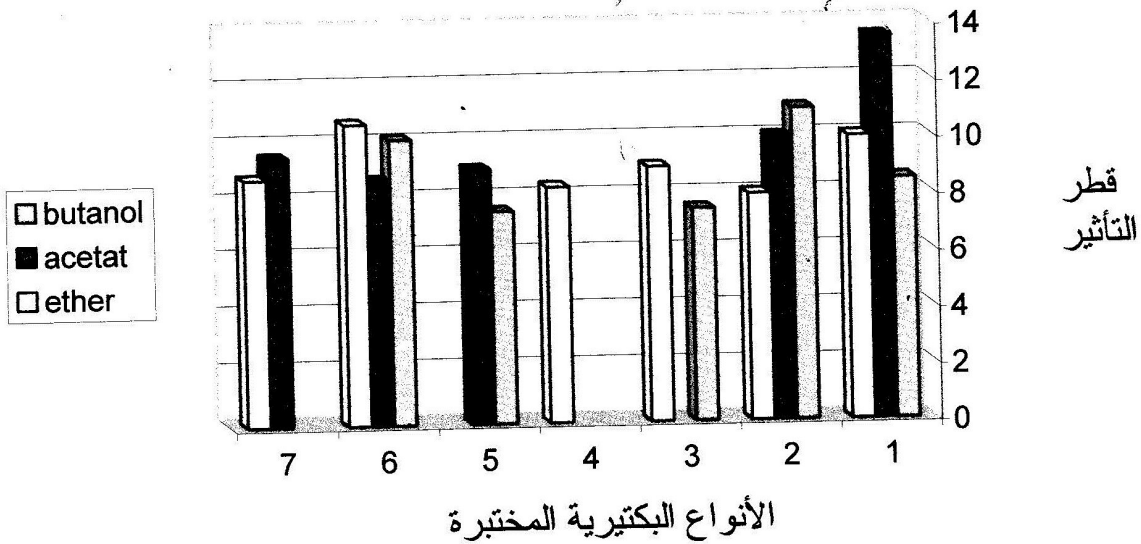


: *Cotula cinerea* -2-1-II

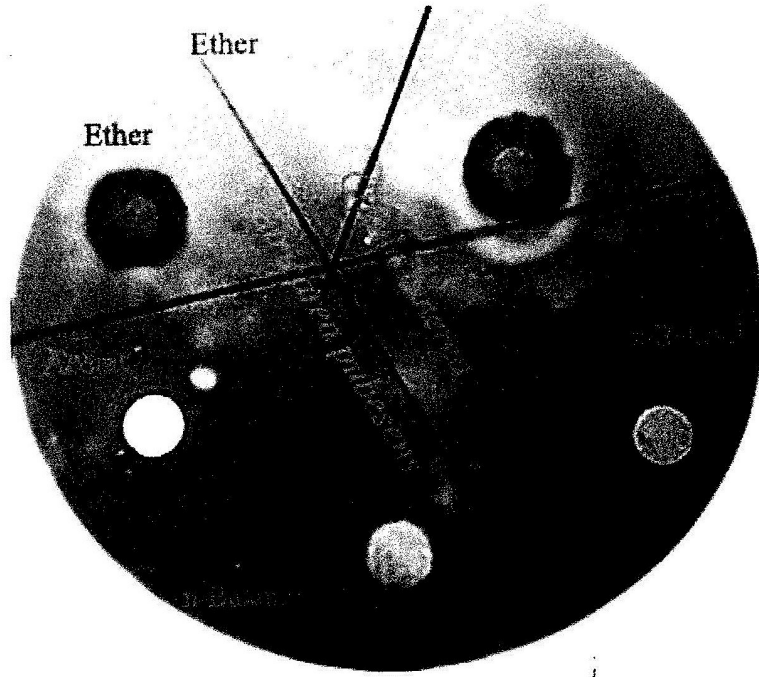
جدول -11- نتائج معاملة العينات البكتيرية بمستخلصات *Cotula cinerea*

العينات البكتيرية المدروسة							الأطوار
7	6	5	4	3	2	1	
/	10.1	7.5	/	7.5	11	8.5	n-Butanol
9.5	8.66	9	/	/	10	13.5	Acetat d'ethyl
8.75	10.66	/	8.33	9	8	10	Ether de petrol

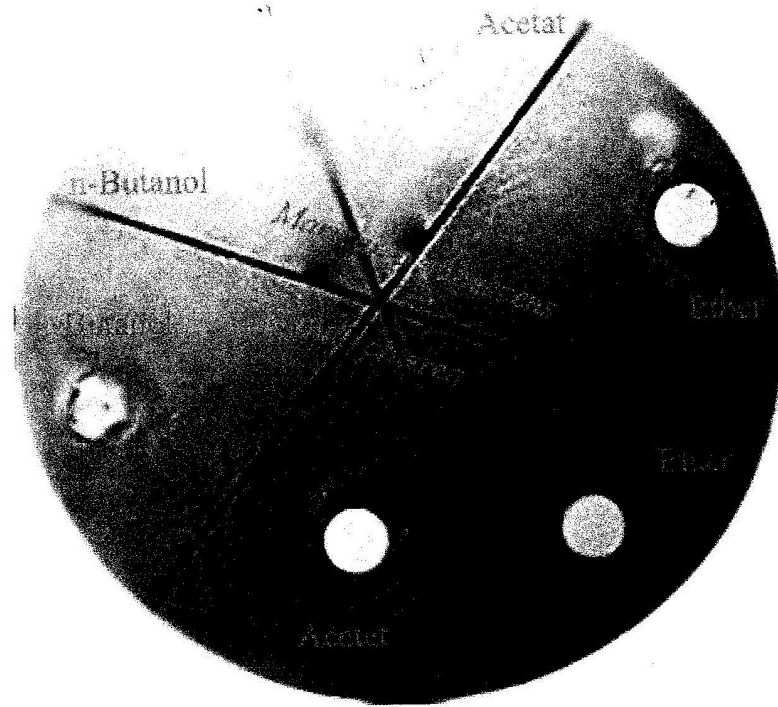
الشكل -20- رسم بياني لتأثيرات مستخلصات نبات الشيحية على الأنواع البكتيرية المختبرة



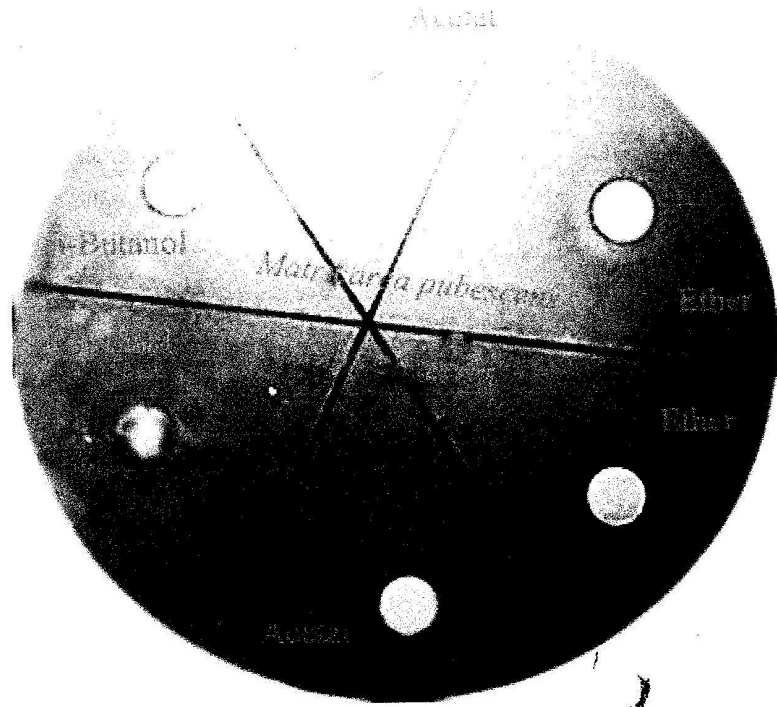
- حيث أن البكتيريا:
- 1 هي *Proteus mirabilis*
- 2 هي *Serratia. sp*
- 3 هي *Pseudomonas. sp*
- 4 هي *Enterobacter. sp*
- 5 هي *Klebsiella pneumonia*
- 6 هي *Staphylococcus aureus*
- 7 هي *Escherichia coli*



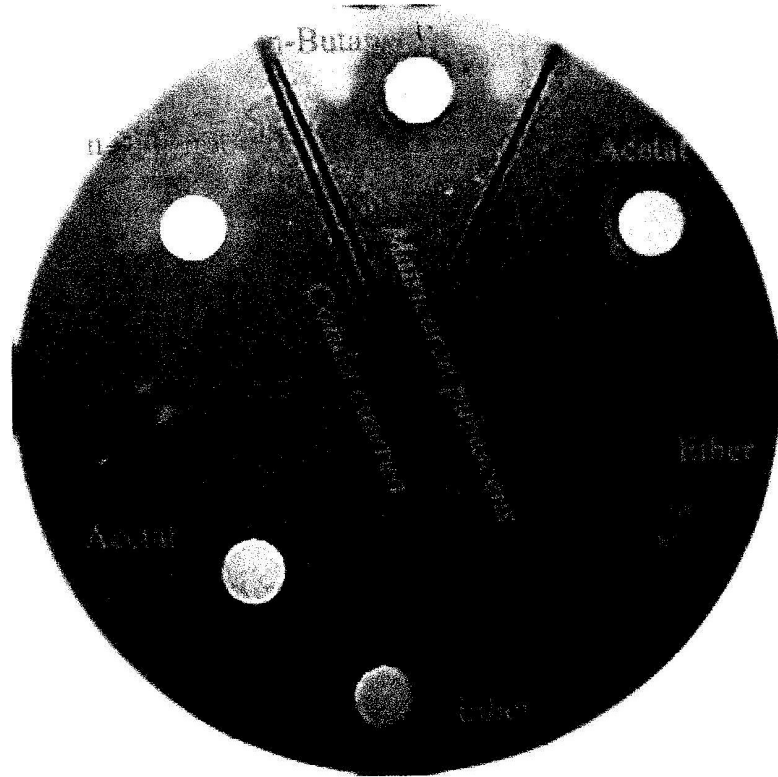
صورة -6- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على *Proteus mirabilis*



صورة -7- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على *Serratia. Sp*



صورة -8- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على *Pseudomonas. SP*



صورة -9- التأثير التثبيطي للمستخلصات الفلافونويدية على *Escherichia coli*

مناقشة النتائج:

قبل أن نبدأ في مناقشة النتائج نشير فقط إلى أن النبتة *Matricaria pubescens* لم تدرس من قبل و المعلومات عنها شحيحة جدا بالرغم من استعمالها بكثرة في الطب الشعبي خاصة عند سكان الصحراء.

أما نبتة *Cotula cinerea* فلقد درسها Markouk و زملائه من جامعة قاضي عياض بالمغرب، و أشار إليها بأسم القرطوفة و هو الإسم الشائع لدى سكان الصحراء الجزائرية للنبتة *Matricaria pubescens*.

و هذه النبتة - *Cotula cinerea* - تستعمل كغذاء للإبل، و كذلك ضد أمراض الحساسية. (Markouk و زملاؤه، 1999).

عند دراسة الاختبارات الحيوية لـ *Cotula cinerea* و *Matricaria pubescens* وجد تطابق كبير في المحتوى الكيميائي للنبتتين بحيث لوحظ الغياب التام لكل من القلويدات و الصابونيات في كلا النبتتين و وجود الفلافونويدات و الكردينوليدات و التانينات و كذلك الغليكوزيدات عند النبتتين.

و يكمن الاختلاف فقط في التربينات و الزيوت الطيارة حيث كان الاختبار إيجابي عند *Cotula cinerea* و سلبي عند *Matricaria pubescens*.

و بالنظر للرائحة التي تمتلكها نبتة *Cotula cinerea* فإنه مؤكد أن نوع التربينات التي تمتلكها *Cotula cinerea* هي عبارة عن زيوت طيارة.

قبل أن نخوض في النتائج الخاصة بالإستخلاص يجب أن نشير أولا إلى الأنواع الفلافونويدية التي يتم إستخلاصها بإستعمال المذيبات العضوية التي قمنا باستعمالها في عملية الإستخلاص بحيث أن:

- Ether de petrole : يستعمل في استخلاص الفلافونويدات البسيطة.
- Acetat d'ethyl : يستعمل في إستخلاص mono-o-glycosides و جزئيا di-o-glycosides.
- n-butanol : يستعمل في إستخلاص الباقي من di-o-glycosides، و tri-o-glycosides و c-glycosides.

بمقارنة النتائج المتحصل عنها سابقا فيما يخص المردود و ما قيل سابقا نجد أن المكونات di-o-glycosides، و tri-o-glycosides و c-glycosides هي الأكثر تواجد بالمقارنة مع الفلافونويدات البسيطة و mono-o-glycosides.

نلاحظ أن مردود n-Butanol كان عاليا بالمقارنة مع مردود كل من Acetat d'ethyl و Ether de petrole عند نبات *Matricaria pubescens* الشيء الذي يؤكد أن نبات *Matricaria pubescens* غني بـ di-o-glycosides، و tri-o-glycosides و c-glycosides.

و نفس الشيء يمكن قوله بالنسبة لـ *Cotula cinerea* مع ملاحظة أن مردود Ether de petrole كان مقارب لمردود n-Butanol.

أما فيما يخص نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة فلقد قمنا بتجربة عدة محاليل فكان أفضلها المملص Acetat d'ethyle و n-Butanol (1:1)، بحيث لوحظت عدة بقع في كلا النباتين فبالنسبة لـ *Cotula cinerea* تحصلنا على 3 بقع في مستخلص ether de petrol بقيمة $R_f = 0.32$ و 0.86 و 0.96 و بقعة واحدة عند مستخلص n-Butanol بقيمة $R_f = 0.62$ ، و بقعة واحدة في مستخلص Acetat d'ethyl بقيمة $R_f = 0.37$.

أما بخصوص النبتة *Matricaria pubescens* فقد لاحظنا وجود عدد كبير من البقع في المستخلصات الثلاثة، بقيم R_f مختلفة. و ألوان هذه البقع سواء عند *Matricaria pubescens* أو *Cotula cinerea* فقد كانت أغلبها إما ذات لون بنفسجي أو أزرق فاتح أو حتى أحمر فاتح (قريب من البرتقالي). مما يدل على أن معظم الفلافونويدات الموجودة في كلا النبتتين من نوع فلافونولات أو فلافونات، و ذلك حسب ما أشار إليه كل من Markhem 1982 و Harborne 1975.

لدراسة الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للمواد الفعالة الفلافونويدية المستخلصة من الأطوار المختلفة Acetat d'ethyle و n-Butanol و Ether de petrole للنبتتين *Matricaria pubescens* و *Cotula cinerea* استعملنا طريقة الانتشار على الجيلوز.

و عموماً، فلقد أظهرت هذه الأطوار مناطق تثبيط متباينة من نوع بكتيري لآخر و من طور لآخر في كلا النبتتين.

حيث كانت مناطق التثبيط عند بكتيريا *Staphylococcus aureus* الموجبة لصبغة غرام 10.1، 8.66 و 10.66 ملم للأطوار n-Butanol، Acetat d'ethyle و Ether de petrole على الترتيب المستخلصة من نبات *Cotula cinerea*، و هذا التثبيط يعتبر متوسطاً على العموم. أما بالنسبة لـ *Matricaria pubescens* فقد كانت مناطق التثبيط 7.5 و 8.16 ملم لـ n-Butanol و Acetat d'ethyl بينما لم تتأثر بكتيريا *Staphylococcus aureus* بطور Ether de petrole.

مما يدل على أن المواد الفعالة الفلافونويدية المستخلصة من *Matricaria pubescens* لم يكن لها تأثير واضح على بكتيريا *Staphylococcus aureus*. أما فيما يخص السلالات البكتيرية السالبة لصبغة غرام و المعروفة بمقاومتها للمضادات الحيوية فلقد أظهرت البكتيريا *Proteus mirabilis* حساسية واضحة اتجاه الأطوار الثلاثة لـ *Cotula cinerea* و خاصة طور Acétate d'éthyle حيث لوحظت به أكبر منطقة تثبيطية بـ 13.5 ملم، و كذلك اتجاه طور n-Butanol لـ *Matricaria pubescens* فقد كانت المنطقة التثبيطية ذات قطر 12.5 ملم.

نفس الشيء يمكن أن نقوله بالنسبة للبكتيريا *Serratia. Sp* لكن بدرجة أقل من تلك التي أبدتها بكتيريا *Proteus mirabilis*.

أما البكتيريا *Klebsiella pneumonia* فقد أظهرت منطقة تثبيط بقطر 10.2 ملم عند طور Ether de petrole لـ *Matricaria pubescens*، و منطقتين بقطر 7.5 و 9 ملم للطورين n-Butanol و Acétate d'éthyle لـ *Cotula cinerea*.

و فيما عدا هذا فقد أظهرت باقي الأنواع البكتيرية مقاومة واضحة إتجاه هذه الأطوار، و خاصة البكتيريا *SP Enterobacter*. حيث عرفت منطقة تثبيط بقطر 8.33 ملم عند مستخلص Ether de petrole لكلا النباتين.

الخاتمة:

أعطى الكشف عن المواد الفعالة في النباتين عن غياب القلويدات في النباتين و وجود الفلافونويدات في كليهما، أما التربينات فكان الإختبار إيجابي عند *Cotula cinerea* و سلبي عند *Matricaria pubescens*.

و بعد إجراء عملية الإستخلاص للمواد الفلافونويدية كان المردود متقارب عند النباتين حيث كان المردود %1.88 عند *Matricaria pubescens* و %1.80 عند *Cotula cinerea*.

و هذه المستخلصات الفلافونويدية أجرينا عليها كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، و ذلك لإعطاء نظرة عن أهم الأنواع الفلافونويدية الموجودة في كل طور من الأطوار النباتية المستخلصة.

و بعد إجراء النشاطية التثبيطية للمستخلصات الفلافونويدية على الأحياء الدقيقة فقد أدت هذه المستخلصات إلى تثبيط بعض السلالات البكتيرية، حيث كانت أهم نتيجة تحصلنا عليها عند مستخلص Acetat d'ethyl لنبات *Cotula cinerea* أدى إلى منطقة تثبيطية بقطر 13.5 ملم للبكتيريا *Proteus mirabilis*.

و كذلك مستخلص n-Butanol لنبات *Matricaria pubescens* الذي أدى إلى تثبيط نفس بكتيريا *Proteus mirabilis* - بقطر 12.5 ملم.

رغم أن النتائج كانت مقبولة إلا أن التطبيق الفعلي للمستخلصات الفلافونويدية هذه يتطلب بحثا و دراسات أعمق و تشمل هذه الدراسات:

❖ إخضاع المستخلصات الفلافونويدية لإختبارات إنعدام السمية و ذلك للتأكد من خلوها من أي أخطار تحول دون استعمالها.

❖ تعميق الدراسة على هذه المستخلصات بإستعمال طرق و تقنيات أكثر حداثة و دقة و توسيع مجالات الكائنات الحية الدقيقة المختبرة و كذا عدد العينات المختبرة من كل نوع.

❖ إجراء الإختبارات على الكائنات الحية ثم توسيعها أكثر فأكثر حتى تشمل الإنسان.

المخلص:

في هذا البحث ركزنا دراستنا على نبتتين طبيبتين من الصحراء الجزائرية وهما *Cotula cinerea* و *Matricaria pubescens*.

تمكنا في هذه الدراسة من تحديد أهم المواد الفعالة الموجودة في كل نبات، و كذلك القيام بإستخلاص الفلافونويدات من النبتتين بإستعمال عدة مذيبات.

مكن التحليل الكيمائي للمستخلصات الفلافونويدية بإستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من الكشف على أنواع الفلافونويدات الموجودة في كل نبتة.

نتائج النشاطية التثبيطية لهذه المستخلصات الفلافونويدية على سبعة أنواع بكتيرية أعطت مناطق تثبيط معتبرة عند بعض البكتيريا. حيث أعطت المستخلصات الفلافونويدية لـ *Cotula cinerea* مناطق تثبيط أهم من تلك التي تحصلنا عليها عند *Matricaria pubescens*.

Résumé

Dans ce travail de recherche, on a basé sur l'étude de l'activité biologique de deux plantes médicinale algérienne *Cotula cinerea* et *Matricaria pubescens*.

On a procédé à faire des tests chimique pour révéler les substances bio actives dans les deux plante citées ci-dessus suivi par l'extraction par différent système de solvants.

Les analyses chimiques des extraits flavonique ont été faites par la chromatographie sur couche mince et ce pour connaître les différents types de flavonoides existant dans chaque plante.

Les résultats de l'activité inhibitrice des extraits flavonique sur sept types bactériennes donne des zones d'inhibition considérable chez certaines bactéries. Les résultats aussi montrent que l'extrait flavonique de la plante *Cotula cinerea* donne des zones d'inhibition plus importante par rapport à celui de la plante *Matricaria pubescens*.

Abstract

In this research work, our study is based on biological activity of two Algerian medicinal plants *Cotula cinerea* and *Matricaria pubescens*.

We have done a chemical tests in order to reveal the bioactive substances in the two plants mentioned above followed by extraction using different solvent system.

The chemical analysis of the flavonic extracts have been done by thin layer chromatography so that to show the different types of flavonoides existing in each plant.

The results of the inhibitory activity of these flavonic extracts on seven types of bacteria gave zones of considerable inhibition in certain bacteria. The results also show that the flavonic extract from *Cotula cinerea* plant gave a more important inhibition zones compared to that of *Matricaria pubescens*.

2022年12月22日

المراجع باللغة العربية:

- 1- الحسيني محمد - تهاني المهدي ، 1990، النباتات الطبية زراعتها مكوناتها واستخداماتها العلاجية - مكتبة ابن سينا للنشر و التوزيع و التصدير - القاهرة ص:8-93،13-176،103-245.
- 2- الحازمي، ح، م. و الشويمان س. (1986). المبادئ الأساسية في أطياف المركبات العضوية. الطبعة الثانية. مكتبة الخريجي، الرياض، السعودية.
- 3- حسن م الحازمي (1995). المنتجات الطبيعية. الطبعة الثانية. عماد شؤون المكتبات، جامعة الملك سعود (السعودية).
- 4- عزوزي س(2004). دراسة منتجات الأيض الثانوي للنباتين *Ammoides* و *Enanthe globuloda L* و *puisilla* (Asteraceae). أطروحة ماجستير، معهد الكيمياء، جامعة قسنطينة
- 5- قسيمة خ (2002). الزيت الأساسي للحبة السوداء *Nigella sativa L* : تركيب كيميائي و نشاطية مضادة للأحياء الدقيقة. معهد البيولوجيا. جامعة سطيف.
- 6- . قليعة ج (2000). استخلاص المركبات الكومارينية من نبات الشبث *Anethum Graveolens*. أطروحة ماجستير، معهد العلوم الدقيقة، المركز الجامعي أم البواقي.
- 7- هيكل م. س. و عمر ع. ع. (1993) . النباتات الطبية و العطرية، كيمياؤها، إنتاجها، فوائدها. الطبعة الثانية. الناشر منشأة المعارف بالإسكندرية (مصر).
- 8- شكري إ. سعد. (1994). النباتات الزهرية: نشأتها و تطورها. دارالفكر العربي، القاهرة، مصر. ص 687.

المراجع باللغة الأجنبية:

- 1- Audigié CL., Dupont G. et Zonszain F. (1995). Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome 1, P 47-51. Doin (ed). Paris.
- 2-Balbaa S. I., Hilal S. H. and Zaki A. Y. (1981). Medicinal Plant Constituents; General organization for University and School book, Egyptien Dar El Kotob.
- 3-Belaiche P.(1979). Traité de pytothérapie et d'aromathérapie. Ed.Maloine S. A.,Paris,. P-1,915
- 4-Berche P., Gaillard J.N., Simonet M.(1989). Bactériologie, Bactéries des infections humaines. P.302-3003. Flammarion Médecine-Science (ed.). Paris.
- 5-Bjondi D., Cianci P., Geraci C., Ruberto G. (1993). Antimicrobial activity and chemical composition of essentielle oils from Sicilian aromatic Plants. flavour and fragrance journal, Vol. 8: P.331-337.
- 6-Brouillard R.; Figueiredo P., El Habiri M.; Dangles O. (1977). Molecular interaction of phenolic compounds in relation to the colour of fruit and vegetables. P.30-49. In phytochemistry of fruit and vegetables proceedings of the phytochemical society of Europe. Oxford, UK: Clarendon press.
- 7-Bruneton J. (1993) Pharmacognosie , Phytochimie , Plantes médicinales , technique et documentation .P.266-275.2^{ème} édition .Lavoisier .Paris
- 8-Bruneton J. (1999) Pharmacognosie , Phytochimie , Plantes médicinales. 2^{ème} édition .Lavoisier . technique et documentation. Paris, P.1095.
- 9-Croteau R . and Ronald R. C (1983) Terpenoides. J. Chromatography library, 22B, 150-151.
- 10-Culei I. (1983). Methodology for Analysis of Vegetable Drugs ; Faculty of Pharmacy, Bucharest, Romania.
- 11-Derache R. (1986). Toxicologie et sécurité des aliments, Technique et documentation. P.150. Lavoisier (ed.). Paris.
- 12-Duraffourd C.,D'hervicourt L.et Lapraz J. C. (1990). Cahier de pytothérapie clinique. 2^{ème} Ed. Masson, Paris, T. 1,89 P.
- 13-Franswoth N. R., Akerelo O.; Bingel A. S.; Soejarto D. D. et Guo Z. (1986). Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bull. O. M. S., 64 (2), 159-175.
- 14- Guignard jean – louis, (1996), Biochimie végétale, Masson- Paris 1^{ère} édition.

- 15-Guignard J.L., Cosson L., Henry M. (1985). Abrégé de phytochimie.
- 16-Hammer K, A., Carson C. F. and Riley T. V. (1998). *In vitro* activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida* spp. J. Antimicrob. Chemother., 42, 591-595.
- 17-Harborne J. H.; Mabry T. J. and Mabry A.; (1975). The Flavonoids, Tomel; academic press London.
- 18-Haslam E.(1993). Shikimic acid, metabolism and metabolites. P.331-343. Jhon Wiley et sons (ed).
- 19-Hough P. J. and Raman A. (1998). Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts; 1st Edition. Chapman and Hall.
- 20-Ikan R. (1991). Natural products a laboratory guide. P.1. 2nd edition. Academic press, New York.
- 21-Janssan A. M., Scheffer J. J. C., and Svendsen A. B. (1987). Antimicrobial activity of essential oils :A 1976-1986 literature review. Aspects of test methods . Plants Med,; 53, 277-280.
- 22-Kacem N.(1998). Contribution phytochimique à l'étude des composés flavoniques de la plante *Teucrium flavum* L (Labiées). Thèse de Magister. Institut de chimie, Université de Constantine.
- 23-Kamoun P. (1991). Appareils et méthodes en biochimie P.131.141. 3^{ème} Edition. Flammarion médecine science. Paris.
- 24-Keith W. and John W.(1995). Principles and techniques of bacterial biochemistry. Cambridge University Press, London, pp : 522.
- 25-Lahouesna (2002). Effet biologiques de polyphénols extraits de plantes médicinales (*Ranunculus repens* L et *Thymus hirtus* Willd) sur l'activité de micro-organismes responsables de certaines pathologies. Faculte de Sience, Université de Constantine.
- 26- Markhem K. R. (1982). Techniques of flavonoid identification; academic press London.
P.141-147. Masson (ed.). Paris.
- 27-Markouk M., Redwane A., Lazrek H.B., Janna M.(1999). Antibacterial activity of *Cotula Cinerea* extracts. FITOTERAPIA, P 314-316.

28-Marmonier A. A. (1987) Introduction aux technique d'étude des antibiotiques. In: Carbonnelle B.; Denis F., Marmonier A. A., Pinon G. et vargues R. Bactériologie médicale. 3^{ème} Ed. Simep, Paris, pp : 288.

29-Ozenda P. (1977). Flore du sahara. P 438,440. 2^{ème} Edition. Centre Nationale de la Recherche Scientifique. Paris.

30-Quezel P., Santa S., Schotter O. (1963). Nouvelle flore de l'algerie et des Régions désertiques méridionales. P980-981, 988. Tome II. Edition. Centre Nationale de la Recherche Scientifique. Paris.

31-Randerath K. (1971). Chromatographie sur couches minces. P.6, 67-70. 2^{ème} Edition. Gauthier-villars éditeurs. Paris.

32-Rees S. B., Harborne J. B. (1985). The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemie* . 24 : 2225-2231.

33-Reinold L., Harborne J. B., Swain T.(1981). *Progress in phytochemistry*. Vol.6. P.127. Pergamon press (ed.). New York.

34-Reinold L., Harborne J. B., Swain T.(1981). *Progress in phytochemistry*. Vol.7. P.198. Pergamon press (ed.). New York.

35- Salle J.I.; Pellitier J. (1991). Les huiles essentielle, synthèse d'aromatherapies et introduction à la sympatérapies . Edition Frison- Roche, Paris.

36-Stock R. Rice S. B. F. (1967). *Chromatographic Methods*; Science Peperback, 2nd Edition.

37-Trease A., Evans W.L. (1987). *Textbook of Pharmacognosy*; Bailliere Tindall and Cox, London, 3rd.

Sites Web:

www.biomath.jussieu.fr/bacterio/

www.bacterio.cict.fr/bacdico/

مجلس
العلماء
بمكة

الملحق

تحضير بيئة الحساء المغذي (Bouillon nutritive):

الكمية المستعملة بالغرام	المركب
5غ	كلوريد الصوديوم
5غ	بيبتون
5غ	مستخلص اللحم
1000 ملل	ماء مقطر

تتم إذابة المركبات المستعملة في الماء المقطر و التسخين، بعد ذلك يضبط الـ pH عند -7.2 [7.0] تعقم البيئة في الحاضنة Autoclave تحت ضغط جوي قدره 1.5 ضغط جوي، ودرجة حرارة 121°م، لمدة زمنية تقدر بـ 20 دقيقة.

وبعد تحضير البيئة تحفظ في درجة حرارة منخفضة لحين استعمالها.

تحضير بيئة الأجار المغذي Gelose nutritive:

هذه البيئة هي نفسها بيئة Bouillon nutritive مضاف إليها مادة الأجار قدرها 15 غ في 1000 ملل ماء مقطر.

الكمية المستعملة بالغرام	المركب
5غ	كلوريد الصوديوم
5غ	بيبتون
5غ	مستخلص اللحم
1000 ملل	ماء مقطر

البيئة الغذائية Bouillon nutritive سائلة و عليه فإن استعمالها لتنمية البكتيريا يكون من خلال وضعها في أنابيب اختبار. والبيئة الغذائية gelose nutritive صلبة و عليه فإن استعمالها لتنمية البكتيريا و معاملتها بالمواد الحيوية قيد الدراسة يكون من خلال وضعها في أطباق بتري.