الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي
كليـة العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة والحياة
قسم علـوم المـادة

رسالة محضرة لنيل شهادة

دكتـــوراه علـــــوم

تخصص كيمياء نباتية

من إعـداد: تامة نورالدين

تحت عنـــوان

الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ، الفينولات والفلافونويدات ، التربيـنات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات البـاقل و الحُميِّر الذي ينمـو في جنوب شرق الجزائر

نوقشت يوم: 2018/05/02

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

أ.د زلاقـــي عمـــار	أستاذ التعليم العالي	جـامعة أم البـــواقي	رئيسا
أ.د غـــراف نورالديـــن	أستاذ التعليم العالي	جـامعة أم البـــواقي	مشرفا ومقررا
أ.د شـــارف نورالديـــن	أستاذ التعليم العالي	جـامعة سطيـــف 1	مناقشا
أ.د عرعـــار الخميسي	أستاذ التعليم العالي	جـامعة سطيـــف 1	مناقشا
أ.د العويني صلاح الدين	أستـاذ محـاضر أ	جـامعة الـــــوادي	مناقشا

السنة الجامعية: 2018/2017

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار ....إلى من علمني العطاء دون انتظار ...والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة .....إلى معنى الحب والحنان .....أمي الحبيبة

إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي ..إلى من عرفت معها معنى الحياة.....زوجتي

إلى من شاركني حضن ألام وبهم استمد عزتي وإصراري ....اخوتي

إلى أستاذي الفاضل....غرافه نورالدين

لكل هؤلاء اهدي هذا البحث

بعد رحلة بحث و جهد و اجتهاد تكلل بإنجاز هذا البحث ،

نحمد االله عز وجل على نعمه التي منَ بها علينا

وأثني ثناء حسنا على أولئك المخلصين الذين لم يألوا جهداً في مساعدتنا

في مجال البحث العلمي ، وأخص بالذكر الأستاذ : غراف نورالدين صاحب الفضل في توجيهي

ومساعدتي في تجميع المادة البحثية ، فجزاه الله كل خير.

كما نتوجه بتحية إحترام وتقدير إلى الأساتذة الأفاضل ؛ زلاقي عمار و شارف نورالدين و عرعار الخميسي

و العويني صلاح الدين على قبولهم المناقشة والمشاركة في إثراءهذا البحث.

كما لايفوتني بتوجيه شكري واحترامي الخالص للأستاذ بن فرج الله محمد السعيد على توجيهاته

و ملاحظاته و نصائحه القيمة التي سمحت لنا بإعداد هذا البحث في أحسن الظروف.

ولا أنسى أن أتقدم بجزيل الشكر للمشرفين على مخبر المواد ذات الفعالية البيولوجية بالقطب

التكنولوجي برج سدرية بتونس والمشرفين على مخبر ترقية و تكنولوجيا الموارد الصحراوية

بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي

وأخيراً , أتقدم بجزيل الشكر إلى كل من مد لي يد العون والمساعدة في إخراج هذه الدراسة

على أكمل وجه .

*الباحث تامة نورالدين *

الملخص :

لقد شملت هذه الدراسة التعرف على النباتات التي تنمو في جنوب شرق الجزائر(الوادي) ، وقد تطرقنا لدراسة نبتتي ؛ "الباقل " ***Haloxylon articulatum* Bioss.** و " الحُميِّر " ***Arnebia decumbens* *Vent.* Coss Kral.** والتي تستخدم في الطب الشعبي لتلقي العلاج، وتمكنا في هذه الدراسة من تحديد أهم المواد الموجودة في هذه النباتات (باختلاف نسبها) والمتمثلة في المنتجات الفعالة (قلويدات , تربينات ثلاثية , فينولات) ، وذلك من خلال الكشف والإستخلاص .

وسلطنا الضوء في هذه الدراسة بصفة خاصة على تأثير المستخلصات الفينولية في النشاط المضاد للأكسدة وتأثيرها وبقية المستخلصات في النشاط المضاد للبكتيريا ، وقد تم التعرف على مكونات المستخلص الفينولي باستخدام كروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء (HPLC) ، وللحصول على معرفة دقيقة وعميقة للمستخلصات ، استخدمنا الدراسة الكمية حيث بينت النتائج أن الكمية الكلية للمركبات الفينولية للمستخلصات المدروسة كانت أكبر عند مستخلص نبات ***Arnebia decumbens* Vent. Coss et Kral.** (229,45mg EAG/ g) ، بينما كمية الفلافونويدات الكلية كانت بكمية أكبر (12,025mg EC/g)عند نبات ***Haloxylon articulatum* Bioss.** .

وبينت الدراسة أن المستخلصات الفينولية أظهرت نشاط معتبرا مضادا للأكسدة وذلك بالطرق الكيميائية و الطرق الكهروكيميائية. حيث استعملنا ثلاث اختبارات: اختبار الـ DPPH ، اختبار القدرة الإرجاعية للحديد، اختبار موليبدات الفوسفات وهي طرق كيميائية ، واختبار فولطامتري حلقي وهو اختبار كهروكيميائي .

وقد تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة بإستعمال جذر DPPH ، حيث اثبتت النتائج أن قيمة IC_{50} للمستخلص الفينولي لنبات ***Arnebia decumbens* Vent. Coss et Kral.** قدر بـ 1.45 µg/ml ، بينما كان مقدار التركيز الأدنى لدى المستخلص الفينولي لنبات***Haloxylon articulatum* Bioss** ومركب BHT ؛ 2.49 µg/ml و 11.7 µg/ml على التوالي ، وهذا يظهر مدى أهمية المستخلصات النباتية في الدراسات المستقبلية التي أعطت فعالية أقوى من مضادات الاكسدة الصناعية .

وأعطت بقية الإختبـــارات المضـــادة للأكسدة فعـــالية أكثر لدى المستخلص الفينولي لن بـــات ***Arnebia decumbens*** **Vent. Coss et Kral.** ، حيث سجلنا القدرة الإجمالية للفعالية المضادة للأكسدة (TAC) 324.15 mg EAG /g ، وحسب اختبـــار القدرة الإرجـــاعـــية للحديـــد (FRAP) 169.04 mg EAA /g وحسب إختبار الفولطامتري الحلقي كانت 178.4 mg EAG /g .

حيث وجدنا علاقة موجبة بين نتائج الفعالية المضادة للأكسدة وبين المحتوى الكلي للمركبات الفينولية لمستخلصي النباتين المدروسين ، فكلما زادت المركبات الفينولية زادت الفعالية المضادة للأكسدة .

وأظهرت النتائج أيضا فعالية كبيرة مضادة للبكتيريا للمستخلصات. حيث سجلنا فعالية تثبيطية معتبرة للمستخلص الفينولي لنبات ***Haloxylon articulatum*** **Bioss.** أعلى من القدرة لتثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد بكتيريا : ***E. coli ATCC 25922*** و ***Bacillus cereus ATCC 14579*** . وكذلك الفعالية التثبيطية المعتبرة المسجلة للم ستخلص القلويدي لنبات ***Haloxylon articulatum*** **Bioss.** أعلى من القدرة لتثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** .

وتعود هذه الفعالية الكبيرة لنبات ***Haloxylon articulatum*** **Bioss.** لإحتوائه على كمية أكبر من الفلافونويدات والقلويدات مقارنة بنبات ***Arnebia decumbens*** **Vent. Coss et Kral.** .

الكلمات المفتاحية : النباتات الصحراوية الطبية (***Haloxylon articulatum*** **Bioss.** ، ***Arnebia decumbens*** **Vent. Coss et Kral.**) , المنتجات الفعالة (الفينولات ، القلويدات ،التربينات الثلاثية) ، الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا .

Résumé :

La présente étude concerne deux espèces végétales (***Haloxylon articulatum*** **Bioss** et ***Arnebia decumbens*** **Vent. Coss et Kral.**) de la région d'el oued, utilisées dans la médecine traditionnelle. Les résultats de criblage ont révélé la présence des polyphenols, des alcaloïdes , des triterpènes etc, avec des rendements plus ou moins importants.

En plus une corrélation positive entre les substances phénoliques et l'activité antioxydante a été mise en évidence à travers la quantification des polyphenols totaux et le pouvoir antioxydant évalué par plusieurs techniques. La chromatographie (HPLC), a été employée pour identifier le contenu phénolique des extraits étudiés. La teneur en polyphenols dans la plante *Arnebia decumbens* était de 229.45mg EAG/g et la teneur des flavonoïdes dans la plante *Haloxylon articulatum* était de 12.025 mgEC/g.

les tests chimiques et électrochimiques (DPPH - Pouvoir de réduction ferrique (FRAP) - Pouvoir antioxydant total (TAC) « test de réduction du molybdène » et la Voltamétrie cyclique » des extraits phénoliques ont montré une activité antioxydante importante. la valeur de IC_{50} (DPPH) de l'extrait phénolique de plante *Arnebia decumbens.* était de 1.45µg/ml, et les valeurs de concentration minimale de la plante *Haloxylon articulatum* était pour l'extrait phénolique 2.49µg/ml et pour le composant BHT de 11.7µg/ml.

L'extrait des polyphenols de la plante *Arnebia decumbens* a révélé plus d'efficacité antioxydante (324.15mg EAG/g selon le pouvoir de réduction du fer (FRAP), 169.04 mg EAA/g selon le TAC et 178.4 mgEAG/g.) selon la voltamétrie cyclique

Les résultats ont exposé aussi une efficacité antibactérienne des extraits phénolique, et s'avère plus grande que les antibiotiques étudiés contre les bactéries : *E. coli* et *Bacillus cereus* en plus le pouvoir antibactérien des extraits alcaloïdes est plus grande que les antibiotiques étudiés contre l'especé *E. coli.*

Mots clés: Les plantes Sahariennes médicales (*Haloxylon articulatum* Bioss et *Arnebia decumbens Vent*. Coss et Kral.), les Principes actifs (polyphénols, alcaloïdes, triterpènes), l'activité antioxydant et antibactérienne.

الرمز	:	بالعربية	:	بالأجنبية
A	:	الامتصاصية الضوئية	:	Absorption optique
UV-Vis	:	مطيافية الأشعة المرئية و فوق البنفسجية	:	Spectroscopie Ultraviolet-Visible
BHA	:	بوتيل هيدروكسي الأنيسول	:	Hydroxyanisole butylé
BHT	:	بوتيل هيدروكسي تولوين	:	Hydroxytoluène butylé
Bu_4NPF_6	:		:	Tetrabutylammonium Hexafluorophosphate
DMF	:		:	N,N-diméthyleformamide
DPPH	:		:	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
Ps	:	الوزن الجاف	:	Poids sec
Gram +	:	بكتيريا إيجابية الغرام	:	Bactéries Gram positif
Gram -	:	بكتيريا سالبة الغرام	:	Bactéries Gram négatif
EAG	:	حمض الغاليك المكافئ	:	Equivalent d'acide gallique
EAA	:	حمض الأسكروبيك المكافئ	:	Equivalent d'acide ascorbique
EC	:	كاتشين المكافئ	:	Equivalent de catéchine
I%		النسبة المئوية للتثبيط		Le pourcentage d'inhibition
IC_{50}	:	التركيز الأدنى الازم لتثبيط 50 % من الجذور الحرة	:	la concentration minimale necessaire pour inhibition 50 % des radicaux libres
Ipa	:	التيار الأنودي	:	Courant anodique
PM	:	موليبدات الفوسفات	:	Phosphomolybdenum
$R^{\cdot}$	:	جذر حر	:	Radical libre
SCE	:	القطب كالوميل المشبع	:	Électrode au calomel saturé
TPC	:	التقدير الكمي للمركبات الفينولية	:	Dosage des polyphénols totaux
FVT	:	التقدير الكمي للفلافونيدات	:	Dosage des flavonoides totaux
HPLC	:	الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية	:	Chromatographie liquide de haute performance

FRAP	**:**	**اختبار القدرة الإرجاعية للحديد**	**Pouvoir de réduction ferrique**
TAC	**:**	**اختبار فعالية مضادات الاكسدة الكلية بإستعمال موليبدات الفوسفات**	**Pouvoir antioxydant total « test de réduction du molybdène »**
VMC	**:**	**اختبار كهروكيميائي " الفولطامتري الحلقي"**	**Test électrochimique « Voltamétrie cyclique »**
Ha.Ph	**:**	**المستخلص الفينولي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss**	**Extrait phénolique de la Plante " *Haloxylon articulatum* Bioss "**
Ad.Ph	**:**	**المستخلص الفينولي لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral**	**Extrait phénolique de la Plante "*Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral "**
Ha.Tr	**:**	**مستخلص التربينات الثلاثية لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss**	**Extrait des composés triterpéniques de la Plante " *Haloxylon articulatum* Bios "**
Ad.Tr	**:**	**المستخلص التربينات الثلاثية لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral**	**Extrait des composés triterpéniques de la Plante " *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral "**
Ha.Al	**:**	**المستخلص القلويدي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss**	**Extrait des alcaloïdes de la Plante " *Haloxylon articulatum* Bioss "**

الفهرس	الصفحة
إهداء.....	أ
تشكرات.....	ب
ملخص.....	ج
الرموز.....	ح
فهرس المحتويات.....	خ
قائمة الأشكال و المخططات.....	د
قائمة الجداول.....	ذ
مقـدمة عـامة.....	1

الجـزء النظـري

الفصل الأول: عموميات حول النباتات الطبية الصحراوية لمنطقة وادي سوف

I.1 . عموميات حول النباتات الطبية..... 5

I.1.1. مدخل 5

I.1.2. تعريف النباتات الطبية..... 5

I.1.3. مكونات النباتات الطبية..... 6

I.1.4. دور النباتات الطبية في العلاج 6

I.1.4.1. الوقاية..... 6

I.1.4.2 المعالجة..... 7

I.1.4.3 الوقاية من المضاعفات المرضية..... 7

I.1.5. مميزات الغطاء النباتي في منطقة وادي سوف..... 7

I.1.6. المجموعات النباتية التي تتكيف مع الوسط الصحراوي لمنطقة وادي سوف..... 8

I.1.7. بعض أنواع النباتات الصحراوية المنتشرة في منطقة وادي سوف..... 9

I.2 الدراسة النظرية للنباتات الطبية الصحراوية المختاره..... 11

I.2.1. الدراسة النظرية لنبات ***Haloxylon articulatum*** **Bioss**..... 11

1.1.2.I. تعريف..... 11

2.1.2.I. التسميات..... 12

3.1.2.I. التصنيف..... 12

4.1.2.I. خصائص وميزات النبات 12

2.2.I الدراسة النظرية لنبات .*Arnebia decumbens (Vent.)* Coss et Kral..... 14

1.2.2.I. تعريف..... 14

2.2.2.I. التسميات..... 14

3.2.2.I. التصنيف..... 15

4.2.2.I. خصائص وميزات النبات 15

المراجع..... 17

الفصل الثاني : دراسة بعض المنتجات الطبيعية المشتقة من النباتات

1. II. تعريف المنتجات الطبيعية..... 20

1. 1. II . المنتجات الأولية.(Métabolites primaires)..... 20

2. 1. II . المنتجات الثانوية(Métabolites secondaires)..... 20

2. II . المنتجات الطبيعية الفعالة 20

1. 2. II . القلويدات (Les Alcaloides)..... 21

1. 1. 2. II. مدخل 21

2.1.2.II . تعريف القلويدات 21

3. 1. 2. II . تسمية القلويدات..... 21

4.1. 2.II طريقة التعرف على القلويدات..... 22

5.1.2.II تصنيف القلويدات..... 22

6.1.2.II الدور الفيزيولوجي للقلويدات..... 27

7.1.2.II. تواجد القلويدات في النباتات..... 27

8.1.2.II الخواص العامة للقلويدات..... 27

9.1.2.II. فوائد القلويدات..... 29

2.2. II. المركبات الفينولية (Les composés phénoliques)..... 29

II 1.2.2. تعريف 29

II .2.2.2. التصنيف..... 30

II .3.2.2. الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية..... 43

II .4.2.2 أهمية الفينولات..... 48

II .3.2. التربينات (Les terpène)..... 51

II .1.3.2. تعريف..... 52

II .2.3.2. التصنيف..... 52

II .3.3.2. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للتربينات..... 58

II .4.3.2. الإصطناع الحيوي للتربينات 59

II .5.3.2. الدور الفيزيولوجي للتربينات..... 60

II .6.3.2. أهمية التربينات..... 60

II .7.3.2. الفعالية البيولوجية لبعض التربينات 61

المراجع 62

الفصل الثالث : الفعالية المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة

III .1 الفعالية المضادة للبكتيريا 67

III 1.1 مقدمة 67

III .2.1 البكتيريا 67

III .1.2.1 تمهيد 67

III .2 2.1 تعريف البكتيريا..... 68

III .3.2.1 خصائص البكتيريا..... 68

III .4.2.1 تصنيف البكتيريا..... 69

III .3.1 المضادات الحيوية..... 79

III .1.3.1 تعريف المضادات الحيوية..... 79

III .2.3.1 المضادات الحيوية تاريخيا 79

III .3.3.1 أنواع المضادات الحيوية 80

4.3.1.III تأثير المضادات الحيوية..... 80
5.3.1.III طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية..... 81
6.3.1.III البكتيريا المقاومة للمضاد الحيوي 83
2. III الفعالية المضادة للأكسدة..... 85
1.2. III مقدمة 85
2.2. III الجذور الحرة..... 85
1.2.2.III تعريف..... 85
2.2.2.III أنواع الجذور الحرة حسب استقرارها..... 86
3.2.2.III فعالية الجذور الحرة..... 87
4.2.2.III متابعة حركية الجذور الحرة 87
5.2.2.III الأكسدة العضوية 87
6.2.2.III أضرار الجذور الحرة..... 88
3.2.III مضادات الأكسدة 88
1.3.2.III تعريف 88
2.3.2.III تصنيف مضادات الأكسدة 89
3.3.2.III آليـة عمـل مضـادات الأكسـدة..... 91
4.3.2.III الحالات المرضية ذات العلاقة بالمواد المؤكسدة 92
المراجع 93

الجـزء العملي

الفصل الرابع : مـواد وطـرق الدراسـة

IV. مـواد وطـرق الدراسـة..... 98
1. IV المـواد الكيميائية..... 98
2. IV الأجهـزة..... 99
3. IV جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي 99
4. IV الدراسة الكيميائية لمنتجات الفعالة للنبات 100
1.4. IV كشف وإستخلاص القلويدات الخام 100

IV .1.1.4 الكشف عن القلويدات الخام 100

IV .2.1.4 إستخلاص القلويدات الخام 101

IV .2.4 كشف وإستخلاص التربينات الثلاثية..... 103

IV .1.2.4 الكشف عن التربينات الثلاثية..... 103

IV .2.2.4 إستخلاص التربينات الثلاثية 103

IV .3.4 كشف وإستخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدية 105

IV .1.3.4 الكشف عن الفينولات والفلافونويدات..... 105

IV .2.3.4 إستخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدية..... 105

IV .4.4 التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية . المرئية..... 108

IV .1.4.4 التعريف بالجهاز 108

IV .2.4.4 التقدير الكمي للمركبات الفينولية (TPC) (Determination of total polyphenol content) 109

IV .3.4.4 التقدير الكمي للفلافونيدات (FVT) (Determination of total flavonoids) 110

IV .5.4 التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (CLHP) (Chromatographie liquide de haute performance) 112

IV .1.5.4 الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (CLHP) 112

IV .2.5.4 التحليل الكيفي و الكمي 112

IV . 5 طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية البيولوجية 116

IV .1.5 الطرق الكيميائية والكهروكيميائية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة 116

IV .1.1.5 اختبار DPPH 116

IV .2.1.5 اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP)..... 118

IV .3.1.5 اختبـــار فعالية مضادات الاكسدة الكلية بإستعمال موليبدات الفوسفات(TAC)..... 120

IV .4.1.5 الطرق الكهروكيميائية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة (اختبار الفولطامتري الحلقي)..... 121

IV .5.1.5 المقارنة بين نتائج التحليل..... 131

IV .2.5 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا..... 132

IV 1.2.5. جمع السلالات البكتيرية المستهدفة 132
IV 2.2.5. تحضير محاليل المستخلصات النباتية 132
IV 3.2.5. تحضير الأقراص 133
IV 4.2.5. تحضير وسط الزرع 133
IV 5.2.5. تحضير المعلق البكتيري 133
IV 6.2.5. تشبيع الاقراص المحضرة بتراكيز المستخلصات 133
IV 7.2.5. قراءة النتائج 134

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

V 1. الدراسة الفيتوكيميائية الأولية لنباتي *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral..... 136
V 1.1. الكشف عن مواد الايض الثانوي في نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. 136
V 2.1. إستخلاص مواد الايض الثانوي في كل نبات 137
V 2. الدراسة الكمية للمستخلصات الفينولية 140
V 1.2. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة (UV-Visible)..... 140
V 2.2. التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible 141
V 3.2. التقدير الكمي للفينولات و الفلافونويدات بواسطة الـHPLC 143
V 3. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة 150
V 1.3. إختبار الـ DPPH 150
V 2.3. اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP)..... 153
V 3.3. اختبـار موليبدات الفوسفات (TAC) 154
V 4.3. اختبـار الفولطامتري الحلقي 155
V 5.3. مقارنة بين نتائج التحليل 156
V 6.3. نتيـــجة عـــامة..... 158
V 4. الفعالية الضادة للبكتيريا لجميع المستخلصات المدروسة 160
V 1.4. دراسة تأثير المستخلصات القلويدية للنباتات على انواع البكتيريا 160
V 2.4. دراسة تأثير المستخلصات الفينولية للنباتات على انواع البكتيريا 162

3.4.V دراسة تأثير المستخلصات التربينات الثلاثية للنباتات على انواع البكتيريا 165
4.4.V مقارنة نتائج إختبار الحساسية للمضادات الحيوية بالمستخلصات النباتية..... 168
المراجع 173
خاتمة 179
الملاحق 184

الجزء النظري	الصفحة
الفصل الأول	
الشكل 1.I صورة لشجرة *Haloxylon articulatum* Bioss.	12
الشكل 2.I صورة لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral	14
الفصل الثاني	
الشكل 1.II. أمثلة عن القلويدات الحقيقية.....	22
الشكل 2.II أمثلة عن القلويدات (Les protoalcaloides)	23
الشكل 3.II Solanidine (Les pseud-alcalaoides)	23
الشكل 4.II بنية الفينول (phénol)	30
الشكل 5.II أمثلة عن الفينولات البسيطة.....	32
الشكل 6.II أمثلة عن أحماض هيدروكسي بنزويك.....	33
الشكل 7.II أمثلة عن احماض السيناميك.....	33
الشكل 8.II أمثلة عن الكومارينات.....	34
الشكل 9.II أمثلة عن الستلبينات.....	34
الشكل 10.II الهيكل الأساسي للفلافونويدات.....	35
الشكل 11.II امثلة عن الفلافونات.....	36
الشكل 12.II امثلة عن الايزوفلافونات.....	36
الشكل 13.II أمثلة عن الفلافونولات.....	36
الشكل 14.II أمثلة عن الفلافانولات.....	37
الشكل 15.II امثلة عن الفلافانونات.....	37
الشكل 16.II أمثلة الأنثوسيانات.....	38
الشكل 17.II الشالكون نواة للفلافونويدات	39
الشكل 18.II الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية إنطلاقا من الشالكون	40
الشكل 19.II أمثلة عن الليغنان.....	41

الشكل II.20 بنية اللغنين..... 41

الشكل II.21 تانين قابل للتحلل..... 42

الشكل II.22 تانين مكثف..... 43

الشكل II.23 روابط هيدروجينية بين داخل الجزيئات للفينول البسيط..... 43

الشكل II.24 اختلاف درجة الحموضة بإختلاف المستبدلات..... 46

الشكل II.25 تفاعل اكسدة هيدروكينون..... 46

الشكل II.26 تشكل الكوماربنات..... 46

الشكل II.27 الإيزوبيران..... 52

الشكل II.28 تربينات أحادية مفتوحة الحلقة (لاحلقية)..... 53

الشكل II.29 تربينات أحادية– أحادية الحلقة..... 54

الشكل II.30 تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– ثلاثية)..... 54

الشكل II.31 تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– رباعية)..... 54

الشكل II.32 تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– خماسية)..... 55

الشكل II.33 سيسكوتربينات..... 55

الشكل II.34 التربينات الثنائية اللاحلقية..... 56

الشكل II.35 تربينات ثنائية أحادية الحلقة..... 56

الشكل II.36 تربينات ثنائية ثلاثية الحلقة..... 56

الشكل II.37 التربينات الثلاثية أحادية الحلقة مركب السكوالين..... 57

الشكل II.38 تربينات رباعية - β كاروتين..... 57

الشكل II.39 تفاعل هدرجة بيتا سيلاينين..... 59

الشكل II.40 الإصطناع الحيووي للتربينات..... 59

الفصل الثالث

الشكل III.1 الخلية البكتيرية وبنيتها..... 68

الشكل III.2 فعالية البنيسلين ضد بكتيريا ***Staphylocoque***..... 79

الشكل 3.III قطر منطقة التثبيط للبكتيريا 82
الشكل 4.III يوضح التراكيب الرنينية في جزيء DPPH 86
الشكل 5.III يوضح بنية BHA 89
الشكل 6.III يوضح بنية BHT 90
الشكل 7.III توضيح بنية لـ (AG) و (PG) 91

الجزء العملي

الفصل الرابع

الشكل 1.IV مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص القلويدات الخام..... 102
الشكل 2.IV مخطط توضيحي لمختلف مراحل استخلاص التربينات الثلاثية..... 104
الشكل 3.IV مخطط توضيحي لمختلف مراحل استخلاص الفينولات و الفلافونويدات..... 107
الشكل 4.IV المنحنى القياسي لحمض الغاليك 109
الشكل 5.IV المنحنى القياسي للكاتشين (Catechin) 111
الشكل 6.IV المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك بطريقة القدرة الإرجاعية للحديد..... 119
الشكل 7.IV المنحنى القياسي لحمض الغاليك بطريقة موليبدات الفوسفات (MP) 121
الشكل 8.IV المقادير الأساسية لمنحنى الفولطامتري الحلقي..... 123
الشكل 9.IV تفاعل أكسدة المركبات الفينولية و تشكل جذر الفينوكسيل..... 125
الشكل 10.IV بنية حمض الغاليك ومشتقاته..... 126
الشكل 11.IV آلية أكسدة حمض الغاليك و مشتقاته..... 127
الشكل 12.IV المسارى على الترتيب؛ 1 -المسرى الوجعي،2 -المسرى المساعد، 3- مسرى العمل... 128
الشكل 13.IV المنحنى الفولطامتري الحلقي للكهروليت 129
الشكل 14.IV المنحنيات الفولطامترية الحلقية لحمض الغاليك..... 129
الشكل 15.IV المنحنى القياسي لـ (AG) حسب الطريقة الفولطامترية الحلقية..... 130

الفصل الخامس

الشكل 1.V مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات القلويدية..... 138

الشكل 2.V يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية والفلافونويدية..... 139

الشكل 3.V مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للترينات الثلاثية 139

الشكل 4.V مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافونيدات 142

الشكل 5.V : كروماتوغرام العينة Ha.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(1) 143

الشكل 6.V كروماتوغرام العينة Ad.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(1) 144

الشكل 7.V مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين..... 146

الشكل 8.V كروماتوغرام العينة Ha.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(2) 146

الشكل 9.V كروماتوغرام العينة Ad.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(2) 147

الشكل 10.V منحنى بياني لتثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بدلالة تراكيز مختلفة للمستخلص Ha.Ph 151

الشكل 11.V منحنى بياني لتثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بدلالة تراكيز مختلفة للمستخلص Ad.Ph 151

الشكل 12.V منحنى بياني قياسي لتثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بدلالة تراكيز مختلفة للمركب BHT..... 152

الشكل 13.V المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (Ad.Ph)..... 155

الشكل 14.V المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (Ha.Ph) 155

الشكل 15.V حدود منطقتي القبول والرفض..... 158

الشكل 16.V مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Al_3$ 162

الشكل 17.V مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Ph_3$ 164

الشكل 18.V مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ad.Ph_3$..... 165

الشكل 19.V مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Tr_3$ 167

الشكل 20.V مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ad.Tr_3$ 168

الشكل 21.V مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Staphylococcus aureus*** ***ATCC 6816*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية 170

الشكل 22.V مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Staphyloccocus aureus*** ***méthicilline résistante*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية 170

الشكل 23.V مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية 171

الشكل 24.V مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية..... 172

قائمة الجداول

الجزء النظري	الصفحة
الفصل الأول	
الجدول 1.I إستعمالات نبات *Haloxylon articulatum Bioss.* في الطب الشعبي.....	13
الفصل الثاني	
الجدول 1.II تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها	31
الجدول 2.II تأثير الروابط الهيدروجينية على خصائص الفيزيائية لـ phénol ، résorcinol ، Phloroglucinol.....	44
الجدول 3.II بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة	51
الجدول 4.II تقسيم التربينات تبعا لعدد وحدات الايزوبرين	53
الجدول 5.II الفعالية البيولوجية لبعض التربينات	61
الفصل الثالث	
الجدول 1.III أنواع الإلتهابات التي تسببها البكتيريا الزائفة زنجارية	77
الجدول 2.III بعض مصادر العوامل المؤكسدة والعوامل المضادة للأكسدة	92
الجزء العملي	
الفصل الرابع	
الجدول 1.IV قيم الإمتصاصية لحمض الغاليك لكل تركيز	109
الجدول 2.IV قيم الإمتصاصية للكاتشين (Catechin) لكل تركيز.....	111
الجدول 3.IV زمن المكوث للفينولات المرجعية (1)	113
الجدول 4.IV الشروط التجريبية لجهاز الـ(1) HPLC لفصل المركبات الفينولية.....	113
الجدول 5.IV تغيرات نسبة الطور المتحرك A وB بلالة الزمن(1)	114
الجدول 6.IV زمن المكوث للفينولات المرجعية(2)	114
الجدول 7.IV الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC(2) لفصل المركبات الفينولية	115
الجدول 8.IV تغيرات نسبة الطور المتحرك A وB بلالة الزمن(2)	115
الجدول 9.IV السلسلة العيارية لحمض الأسكوربيك	119
الفصل الخامس	
الجدول 1.V نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في مختلف المستخلصات النباتية.....	136
الجدول 2.V مردود الإستخلاص للمنتجات الفعالة للنباتات المدروسة	137
الجدول 3.V قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة في التقدير الكمي للفينولات.....	140
الجدول 4.V كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.....	141

الجدول 5.V قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة في التقدير الكمي للفلافونويدات..... 141
الجدول 6.V كمية الفلافونيدات في المستخلصين..... 142
الجدول 7.V المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتهالجهاز:HPLC(Shimadzu).. 145
الجدول 8.V المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتها لجهاز ؛
HPLC (Agilent Technologies 1260) 148
الجدول 9.V المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتها لجهازي HPLC المستعملين 150
الجدول 10.V نتائج إختبار DPPH للمستخلصات Ha.Ph و Ad.Ph للنباتات المدروسة
والمركب المرجعي القياسي BHT..... 152
الجدول 11.V قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة والفعالية المضادة للأكسدة بإستعمال القدرة
الإرجاعية للحديد..... 153
الجدول 12.V قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة والفعالية الإجمالية المضادة للأكسدة
بإستعمال موليبدات الأمونيوم 154
الجدول 13.V كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطامتري الحلقي 156
الجدول 14.V نتائج التحليل لكميات الفينولات والفلافونويدات والطرق المستعملة في تقدير
الفعالية المضادة للأكسدة..... 157
الجدول 15.V تحليل التباين " AVOVA TABLE..... 157
الجدول 16.V التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا 160
الجدول 17.V أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص القلويدي
(Ha.Al) 161
الجدول 18.V أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الفينولي على
نبات .Haloxylon articulatum Bioss و Arnebia decumbens (Ha.Ph , Ad.Ph) 163
الجدول19.V أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص التربينات الثلاثية
على نباتي Haloxylon articulatum Bioss و Arnebia decumbens (Ha.Tr , Ad.Tr) 166
الجدول 20.V مقارنة أقطار التثبيط لتأثير المستخلصات النباتية والمضادات الحيوية على نمو
بعض البكتيريات الضارة..... 169

مقدمة عـــــامة

إن الجزائر تعتبر من الدول الغنية جدا في أعشابها الطبيعية المتنوعة ، لما لها من مساحات و مناخات متعددة : بحرية ، قارية ، صحراوية ، وهذا ناتج عن التنوع في الطاقة الشمسية وخصوبة التربة ، ولاشك أن لهذه المناخات أثر بالغ ليس فقط على التنوع النباتي ولكن أيضا على تنوع تركيب النباتات وإعطائها المميزات الخاصة.

أثبتت الدراسات بأن الجزائر تحوي ما لا يقل عن 3500 نوع من النباتات [1] ، منها ما يعود إلى المناخ الحار كمنطقة وادي سوف التي تحوي 120 نوعا نباتيا بريا، وهناك أنواع نباتية لا تظهر إلا في أماكن محدودة وهناك أنواع لا تزال مدسوسة في الطبيعة لم تكتشف بعد [2-3].

منها ما يعتبر مصدر هام للحصول على الأدوية التي تتمثل في المواد الفعالة بيولوجيا والمفصولة من النباتات الطبية ، والمصدر الثاني للأدوية الذي يستعمل كثيرا في هذا العصر هو تخليق المواد الكيميائية المصنعة في المعامل والشركات، ونتيجة للإستعمال المكثف للأدوية الصناعية ظهرت بعض الأمراض الفتاكة التي لم تكن معروفة من قبل، مثل ظهور حالات السرطان الخبيثة التي تهاجم معظم الأعضاء الداخلية، وأمراض أخرى ناتجة عن قدره البكتيريا على تطوير مقاومتها للمضاد الحيوي، حيث يشير التقرير العالمي الأول لمنظمة الصحة العالمية لعام 2014 عن مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية ، حيث يكشف أن هذا التهديد الخطير لم يعد مجرد تنبؤ للمستقبل بل إنه واقع بالفعل الآن في كل إقليم من أقاليم العالم، ويمكن أن يمس كل فرد في أي سن وفي أي بلد، فمقاومة المضادات الحيوية، والتي تحدث عندما تطرأ تغيرات على الجراثيم فتفقد المضادات الحيوية مفعولها لدى من يحتاجون إليها لعلاج العدوى، تشكل الآنَ تهديدا كبيرا للصحة العمومية [4].

ومن جهة أخرى لوحظ أن الأدوية الطبيعية ليس لها تأثيرات جانبية ولا أضرارا سلبية عند تناولها فهي تحوي على مواد فعالة من النواحي البيولوجية و الفيزيولوجية والكيميائية داخل جسم الإنسان مؤدية إلى حصول العلاج [5].

وفي هذا المجال إنصب هذا العمل بدراسة نبتتين طبيتين بمنطقة وادي سوف وهما ؛
(*Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens* Vent. Coss et Kral) وذلك من خلال إستخلاص المنتجات الفعالة ودراسة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات .
وجاءت هذه الدراسة للأهداف التالية :

- استخـــلاص المركبـات الفينوليـــة و الفلافونويـــدية والقلويدية والتربينات الثلاثية .
- تقدير وتحديد كمية الفينـولات و الفلافونويـدات المستخلصة .
- تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لهذه المركبات بطرق كيميائية و كهروكيمائية .
- تقييم فعاليتها المضادة للبكتريا .

حيث قسمت هذه الأطروحة إلى جزء نظري يحوي ثلاث فصـول ؛ عموميـات حول النباتـات الطبية الصحراويـة والمنتجات الطبيعية الفعالة (الفينولات والفلافونويدات، القلويدات، التربينات الثلاثية) ودراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة ، بينما في الجزء العملي يحوي فصلين ؛ المواد وطرق الدراسة و مناقشة النتائج، وفي خاتمة هذا البحث عمدنا على تسجيل أهم النتائج المتحصل عليها.

الجـزء النظـري

الفصل الأول

عموميات حول النباتات الطبية الصحراوية

لمنطقة وادي سوف

في هذا الفصل قمنا بدراسة النباتات الطبية بصفة عامة ثم تطرقنا لدراسة النباتات الصحراوية لمنطقة وادي سوف بصفة خاصة.

I.1 . عموميات حول النباتات الطبية الصحراوية في منطقة وادي سوف

I.1.1. مدخل:

منذ وجود الإنسان عرف أسلوب العلاج بالنباتات و الأعشاب الط بية. وكانت جميع الأمراض والآلام تعالج بالأعشاب، وجدير بالذكر أن قدماء المصريين كانوا أول من استخدم النباتات والأعشاب الطبية و العطرية في مختلف المجالات الطبية و الغذائية . وم ع مرور الأيام وتطور الحضارات ظهرت الأدوية المصنعة كيميائيا ، وفي الوقت الحاضر استطاعت الأعشاب جذب الإهتمام من جديد نتيجة الأعراض الثانوية التي تخلفها العقاقير الكيميائية.

إن النباتات والأعشاب الطبية تختلف عن النباتات الأخرى في احتوائها على مواد لها تأثير طبي فعال و لها قيمة دوائية معتبرة. وقد أمكن حصر النباتات المستخدمة في العلاج الشعبي و استخلاص مكوناتها الفعالة وتنقيتها سواء كانت هذه المكونات الفعالة في الأوراق أو السيقان أو الجذور أو الأزهار أو الثمار ، و قد بذلت جهود كبيرة لدراسة طرق تكاثر و إنتاج النباتات الطبية بنظام الزراعة المكثفة بدلا من طرق الحصول عليها من أماكن تواجدها المنتشرة في الطبيعة مثل الصحاري [6].

عرف البدو والرحل النباتات الصحراوية بولاية الوادي منذ عهد بعيد، وعملوا على تصنيفها واستعمالها، فمنها ما تستعمل كأعشاب طبية مثل: (الزعتر ،الشيح ، الرتم) وهي متوفرة بمنطقة الطالب العربي وداخل العرق الشرقي، وأيضا في منطقة أم الطيور وضواحيها [7] .

I.1.2. تعريف النباتات الطبية:

يعرف النبات الطبي بأنه كل نبات يحتوي على الأقل في أحد أجزائه على مادة كيميائية واحدة أو أكثر يمكن أن تعالج مرضا معينا أو تقلل من الأعراض المصاحبة له [8].

I.3.1. مكونات النباتات الطبية:

* مكونات غير فعالة : وهي مواد أو مركبات ليس لها تأثير علاجي مثل: النشاء ،السيللوز والسكر.

* مكونات فعـــالة : وهي المركبات التي يرجع لها الأثر علاجي الفعال للنبات وتسمى (المنتجات الفعالة) وقسمت إلى مجموعات اعتمادا على خواصها الطبيعية والكيميائية إلى :

التربينات ومنها الزيوت الطيارة العطرية ، القلويدات ، الفينولات ، التانينات ، الصموغ والراتنجات.

تنسب النباتات الطبية من الوجهة النباتية إلى مجاميع ترتب ترتيبا تنازليا : شعبة – تحت شعبة – صف – رتبة – فصيلة – جنس – نوع إلى أن نصل إلى الاسم العلمي للنبات الطبي [8].

I.4.1. دور النباتات الطبية في العلاج :

منذ القدم و النباتات تلعب دورا هاما في الغذاء و الدواء على حد سواء ، و إن قل هذا العلاج بها فترة من الزمن في القرن الماضي بسبب الأدوية المصنعة ، فهي تعود اليوم بصورة واضحة ، ومما يؤكد هذا التوجه هو الأضرار الثانوية الناجمة عن إستعمال الأدوية الصناعية .إن طرق الكشف اللونية أتاحت الفرصة للتعرف على مختلف المواد الفعالة في كل نبتة و هذا ما أتاح لنا دراسة مختلف الخصائص الكيميائية و الحيوية لكل نبتة و بالتالي دراسة خصائصها السريرية المختلفة من استطباب وسمية و تأثيرات جانبية. والجدير بالذكر أن معظم النباتات تحتوي على أكثر من مادة فعالة وبالتالي يكون لها عدة إستطبابات في آن واحد ، فمثلا الثوم يحوي على زيوت عطرية مضادة للالتهابات ، وخمائر تساعد على الهضم ، و مواد كبريتية تفيد في معالجة ارتفاع التوتر الشرياني و الكولسترول [9].

ونتيجة الأضرار الدوائية الآخذة بالازدياد و آثارها الجانبية الآخذة بالارتفاع حينا بعد حين، كان من بين الدوافع التي جعلت العلماء يبحثون في المصادر النباتية لتحقيق السلامة الدوائية [10].

I.1.4.1.الوقايـــــة:

إن كثيرا من الأمراض يمكن الوقاية منها بالنباتات ، كهشاشة العظام (L'ostéoporose) مثلا، الذي يصيب كثيرا من النساء بعد انقطاع الدورة الشهرية، خاصة إذا تم ذلك باكرا. ولما كان هذا المرض مرتبطا بإفراز هرمون الأستروجين الذي يبدأ بالانخفاض في مرحلة ما قبل سن اليأس , فإن إعطاء النباتات المولدة للأستروجين في هذه المرحلة كنبات الميرمية ، مثلا يمنع انقطاع الدورة الشهرية في

عمر باكر و هو أحد الأسباب الرئيسية في هشاشة العظام و بذلك نكون قد تفادينا مرضا ذا مضاعفات اجتماعية و اقتصادية كبيرة . ولا فائدة من إعطاء مثل هذه النباتات بعد توقف المبيض عن العمل [9،11].

I.2.4.1.المعالجة:

مازال حتى الآن عدد كبير من العقاقير ذات المنشأ النباتي ذا قيمة علاجية كبيرة كالديجيتالين. ومؤخرا انبثقت دراسات حديثة عن فائدة الحبة السوداء في معالجة ا لأعراض المناعية. كما أن هناك دراسات أخرى لمعالجة الأعراض التي تسببها الحمى الراشحة (Virus) بالنباتات الطبية مثل: إكليل الجبل و النعناع .

ويمكن القول بأن للنباتات الطبية دورا هاما في معالجة الكثير من الأمراض [9،11].

I.3.4.1. الوقاية من المضاعفات المرضية: لكثير من الأمراض مضاعفات قد تكون في بالغ الأهمية في بعض الأحيان كداء السكري (Diabète sucré) مثلا الذي له مضاعفات وعائية تخص آفات الشبكية الوعائية، التي يمكنه تفاديها أو الخلاص منها بواسطة النباتات التي تحمي الجهاز الوعائي. فمن النباتات ما يحوي على مواد فلافونويدية التي تعطي ليونة للأوعية كذنب الخيل مثلا ، و هناك نباتات أخرى تؤثر على الجهاز الوعائي بآليات مختلفة كنبات الزعرور (*Aubépine*) . للمداواة النباتية أسسها العلمية ، فلكل نبتة خصائصها البيولوجية من استطباب و مضاد له ، و تأثيرات جانبية و مضاعفات يجب الأخذ بعين الاعتبار عند استعمالها وفق الضرورة ، وأن تتم المعالجة على أيد خبيرة للوصول إلى نتائج أفضل و إنفاق مثمر[9-10].

I.5.1. مميزات الغطاء النباتي في منطقة وادي سوف :

يتميز المظهر العام لمنطقة وادي سوف بالغطاء النباتي المفتوح و قليل الكثافة ، فالأفراد النباتية تنمو متباعدة تاركة بينها مسافات معتبرة و تمثل النباتات العشبية أغلبية الأنواع المتواجدة في المنطقة و يندر نمو الأشجار و الأشكال النباتية المتخشبة ، لذلك كانت الأراضي في سوف معرضة للتعرية و زحف الرمال ، على عكس المناطق الرطبة .

أما من ناحية التنوع فعدد الأنواع النباتية البرية محدود ولا يتعدى 120 نوع نباتي بري في منطقة سوف التي تفوق مساحتها بكثير 20000 كلم^2 ،عند مقارنتها بمساحة قدرها 10000 كلم^2 فقط في أوروبا نجد أن هذه الأخيرة تحتوي على أكثر من 150 نوع نباتي مختلف، ونفس المساحة في المناطق المدارية تضم أكثر من3000 نوع نباتي [2].

تبين هذه المقارنة مدى فقر المنطقة من الأنواع النباتية . يزداد عدد الأنواع النباتية في سوف عندما نأخذ في الحسبان الأنواع غير البرية و النامية في ظروف خاصة مثل بعض الأنواع المزروعة و بعض الأنواع الضارة المرافقة لزراعات الإنسان و القادمة عن طريق حركة و نقل الأسمدة الطبيعية أو عن طريق جلب البذور غير النقية و المحتوية على بذور الحشائش الضارة ، يرى العديد من الباحثين أن المناطق الصحراوية بما فيها منطقة وادي سوف لم تكن مركز تنويع ، وإنما هاجرت إليها الأنواع من المناطق المجاورة ، ومعنى ذلك أن الأنواع البرية الموجودة حاليا في منطقة وادي سوف لم تظهر لأول مرة في هذه المنطقة و إنما جاءتها من مناطق جغرافية أخرى عن طريق نقل و انتشار هذه النباتات بمساعدة عوامل بيئية مختلفة [2].

I.6.1. المجموعات النباتية التي تتكيف مع الوسط الصحراوي لمنطقة وادي سوف :

حتى تنمو و تتكاثر النباتات في منطقة وادي سوف لابد لها من التأقلم ، و التكيف مع الظروف المميزة لهذه المنطقة ، و المتمثلة في الجفاف و ارتفاع الشدة الضوئية، و الرياح العاصفة الكثيرة الحدوث ....

ويختلف سلوك النباتات لمقاومة هذه العوامل القاسية، فبعض الأنواع تنمو وتظهر فقط خلال الفترة المناسبة من السنة و تتفادى الفترات القاسية والجافة ، لكن بعض الأنواع الأخرى يمكنها الـنمو طوال العام و يساعدها في ذلك التحورات المرفولوجية (الشكلية) و التشريحية التي تضمن لها الإمداد الجيد بالماء و عدم ضياعه عن طريق التبخر ، و على العموم يمكن تقسيم النباتات في وادي سوف إلى مجموعتين كبيرتين هما :

1. النباتات المؤقتة سريعة الزوال :

يتبع هذا النوع من النباتات كلا من النباتات الحولية التي تقضي فترة الـجفاف على شكل بذور كامنة ، و النباتات الأرضية (géophytes) التي تتفادى فترات الجفاف ليس على على شكل بذور وإنما بواسطة أعضاء تحت أرضية كالأبصال و الريزومات والدرنات ، تظهر هذه النباتات مباشرة بعد هطول الأمطار وتتطور بشكل سريع و في فترة قصيرة تكمل خلالها كل دورة حياتها من الإنبات إلى نثر الثمار، و ذلك قبل أن تجف التربة و تختلف فترة نشاط هذه النباتات من نوع إلى الآخر، وتكون في المتوسط ما بين 6 و 8 أسابيع ولكنها قد تكون أقل من ذلك بكثير، فقد لوحظ النمو الكامل لبعض الأنواع الصحراوية من الإنبات حتى الإثمار في مدة لا تتعدى 20 يوما، كما تتميز هذه النباتات بقدرتها على الازدهار و الإثمار المبكر، و بقدرة فائقة في تنظيم حجمها تبعا لرطوبة الوسط ،حيث تبقي النباتات صغيرة جدا ، قد لا تتعدى 3 سم وتظهر الإزهار على هذه النباتات على الرغم من أنــها لا تملك سوى ورقة أو ورقتين ، وتلاحظ هذه الظاهرة على العديد من الأنواع

النباتية المنتشرة في سوف ، والتي منها نبات كريشت ونبات الإنم و العديد من الأنواع الحولية الأخرى والجدير بالذكر أن نفس هذه النباتات عندما تتوفر لها الظروف المناسبة تنمو وتتطور إلى أحجام كبيرة متفرعة و لا تزهر إلا بعد فترة طويلة نوعا ما [2].

يلحق النباتات العشبية الحولية الهاربة من الجفاف النباتات الأرضية التي تبقى في الفترات الجافة من السنة على شكل أعضاء تحت أرضية(أبصال ، درنات ... الخ) وهي تتميز بفترة نمو قصيرة إذ تستطيع النباتات العشبية الحولية سريعة الزوال ، خلال شهر أو شهرين من إكمال دورة حياتها ، ومع بداية فصل الجفاف يجف جزؤها الهوائي (الأوراق و الأغصان) ، و تبقى سوى أجزاؤها المطمورة في التربة التي توجد على عمق لا يتجاوز 20 سم ، بحيث تنتقل هذه الأعضاء إلى وضع الكمون [2].

2. **النباتات المعمرة (الدائمة)** : تعيش النباتات المعمرة و تحيا طوال السنة حتى الفصول الجافة القاسية و تسمى هذه النباتات بالنباتات الجفافية (Xérophytes)، و يساعدها في ذلك التحورات الشكلية و التشريحية التي تتمتع بها ، وتمكنها من تحاشي أو تحمل الجفاف [2].

وتمثل النقاط التالية أهم التحويرات المميزة للنباتات المعمرة في منطقة سوف:

تحـــورات الشكليـــة : مقاومة ندرة المياه وزيادة القدرة على امتصاص ، مقاومة النتح و التبخر [2].

التحورات التشريحية : مساعدة على امتصاص الماء بوجود الأوعية الخشبية الواسعة كما هو الحال في نبات الطرفة ، تغلف الجذور بعض النباتات طبقة من حبيبات الرمل مثل : نبات الحلفاء و تعمل هذه الطبقة على حماية الجذور من خطر الجفاف . بالإضافة إلى مسبق تتميز خلايا النباتات المعمرة بضغط أسموزي مرتفع يساعد على امتصاص المزيد من الماء [2].

I.7.1. بعض أنواع النباتات الصحراوية المنتشرة في منطقة وادي سوف:

أدى اختلاف و تنوع التربة في منطقة وادي سوف من مكان إلى آخر ، إلى تنوع في النباتات الصحراوية المنتشرة في المنطقة ، ونخص بالذكر منها :

* **أربيان** : هي نباتات عشبية صغيرة لا يتعدى طولها 25 سم ، تنمو زاحفة على الأرض و سرعان ما تصبح القمم مزهرة قائمة قليلا ، الأوراق خضراء مبيضة ،تكسوها شعيرات ومقسمة إلى فصوص رقيقة متطاولة .

* **أرطا** : هي شجيرات معمرة متخشبة ، يصل طولها إلى 2 متر ، ذات أغصان متخشبة رمادية أو مبيضة وتخرج منها باقات أو مجموعات من السيقان الرقيقة الخضراء ، تتميز الأرطا بثمار بيضوية تكسوها شعيرات طويلة متخشبة بنية اللون .

* **أزول** : هو نبات عشبي صغير ينمو على هيئة البصل و الثوم، تخرج الأوراق على شكل باقة و سرعان ما تظهر ساق مركزية تحمل الأزهار البيضاء .

* **سيف غراب** : نبات حولي أو معمر ، يحتوي على اللبن النباتي ،الأوراق السفلية كبيرة تتعدى 15سم طولا مفصصة و ذات حواف مسننة ، الأوراق العلوية (الساقية) معظمها غير مفصصة ،إلا أن حوافها مسننة بأسنان صغيرة واضحة ، أزهار هذا النوع صفراء اللون.

* **نتين** : ينتشر بشكل واسع في منطقة و قد يشكل مستعمرات كبيرة ، الساق متفرعة و تحمل زغبات ناعمة ، أوراق التين خضراء مصفرة، مركبة من ثلاثة وريقات بيضاوية ، الأزهار أرجوانية حمراء ، تتجمع في نورات عنقودية على قمم السيقان.

***مثنان** : هو شجيرات صغيرة طولها لا يتعدى المتر ، متفرعة وأغصانها كثيفة متشابكة السيقان الحديثة مرنة مبيضة اللون ، الأوراق حرشفية صغيرة طولها لا يتعدى 07 ملمتر . أزهار المثنان بيضاء مصفرة هي تتوزع على طول الساق .

* **مرير** : هو نبات عشبي حولي أو معمر ، ينمو على شكل باقة من الأوراق السفلية الزاحفة ، على الأرض في وسط الأوراق تنمو ساق مركزية قصيرة و التي سرعان ما يتفرع من أسفلها مجموعة من السيقان الطويلة الزاحفة ، أوراق المرير السفلية طويلة مفصص و تحمل على سطحها شعيرات زغبية كثيفة.

* **مغول ليتيمة (المرغوس)** : يتميز هذا النبات بنوراته الطويلة البيضاء ، و ينمو على شكل باقة من الأوراق السفلية المفصصة ، و في موعد الإزهار تنمو ساق طويلة في مركز الأوراق و تتفرع الساق و تحمل في نهايتها النورات الزهرية المتطاولة ، الزهرة صغيرة بيضاء تحتوي على العديد من الأسدية .

* **مرخ**: هي شجيرات من الرتم، أوراق المرخ بسيطة تتكون من ورقة واحدة ،وهي سريعة السقوط و تبقى الساق عارية من الأوراق ،أزهار المرخ تتوزع على طول الساقو هي تتميز بتويج أصفر ذهبي كبير ، الثمار مفلطحة و تحتوي على العديد من البذور .

* **لمص** : هو نبات نجيلي صغير طوله لا يتعدى 35 سم ، ينموبشكل مائل أوشبه زاحف و تنتهي الساق بسنبلة متفرعة ، الأوراق لها نصل رقيق لا يتعدى 2 ملم .

وهناك أيضا العديد من النباتات المنتشرة في وادي سوف : أشناف ،ألمه ، أمدريقة، أمرويس ، الباقل ، بربيطة، بورطلاق بوقربية ، ترثوت ، تصير ،جرجير ، جفنة، حاذ ، حارة ، حر ، جرمل ، حمير ، حلمة ، حمر ة راس ، حميميش ، حنزاب ، الحية و الميته ، خافور ،خبيز ، خرشف ،خنينة علوش ،خياطةاصحراء ، درين ، دليليعة ، ذنون، ذيل الفار ، رتم ، رغيم ، رقمة ، زيته ، سعد ، سعدان سمهري ، سنينةعزوز، سويد ، شقارة ، شيحية،شهيبة ، قرطوفة ، قرين غزال [12،13] .

I. 2. الدراسة النظرية للنباتات الطبية الصحراوية المختارة

وقع الإختيار للنباتات الطبية التي تنمو بمنطقة وادي سوف على أساس إستعمالاتها المحلية لدى الأهالي في مجال الطب الشعبي وهما ؛ (*Haloxylon articulatum* Bioss. , *Arnebia decumbens* Vent. Coss. et Kral.)

I 1.2 الدراسة النظرية لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss.

I.1.2.1 تعريـف :

يعرف عند أهل المنطقة بإسم الباقل أو الرمث وهي شجيرات صغيرة معمرة كثيرة التفرع ، ليس لها ساق رئيسية واضحة وإنما تنمو على شكل باقة من الأفرع والسيقان المتجاورة والتي تعمل على تثبيت كميات كبيرة من الرمال ، الساق مقسمة إلى سلاميات منفصلة والأوراق ضامرة جدا والأزهار غشائية وردية اللون ، تتجمع عند نهايات الأفرع [2].

فالبلقل : هو ما لا ينبت أصله وفرعه في الشتاء وقد اشتق من لفظه لفظ الفعل، فقيل بقل: أي نبت وأبقل المكان: صار ذا بقل فهو باقل.

جاء في معجم النبات من قاموس القرآن الكريم الصادر عن مؤسسة الكويت للتقدم العلمي أن البقل اسم يطلق على النباتات العشبية التي يتغذى بها الإنسان أو بجزء منها – الأوراق أو الثمار – من دون تحويله أو تغييره وهي نباتات حولية [14].

2.1.2.I التسميات:

- **التسمية المحلية:** يطلق عليه بالبالقل حسب التسمية المحلية أو بالرمث [2].
- **الاسم العلمي:** *Haloxylon articulatum* Bioss.

وهذه صورة توضيحية لشجرة الباقل **(الشكل رقم 1.I)**.

الشكل 1.I: صورة لشجرة *Haloxylon articulatum* Bioss.

3.1.2.I التصنيف [15] :

التصنيف العلمي للنبات	
المجال	Eukaryota
المملكة	Plantae
تحت المملكة	Viridaeplantae
الشعبة	Magnoliophyta
تحت الشعبة	Euphyllophytina
القسم	Magnoliopsida
تحت القسم	Caryophyllidae
فوق الرتبة	Caryophyllanae
الرتبة	Caryophyllales
تحت الرتبة	Chenopodiineae
العائلة	Chenopodiaceae
الجنس	*Haloxylon.*
الاسم العلمي للنبات	*Haloxylon articulatum* Bioss.

4.1.2.I خصائص و ميزات النبات :

النمو و الإزهار : نبات معمر أي ينمو طول العام ، وعملية الإزهار له تتم في فصل الخريف من سبتمبر حتى نهاية نوفمبر [1] .

- **أماكن التواجد بمنطقة وادي سوف :** يتواجد في المناطق الرملية الشمالية من الولاية [2] .

- **الإنتشار الجغرافي:** مستوطن في منطقة الصحراء الكبرى وحوض البحر الأبيض المتوسط [2].

- **التركيب الكيميائي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. :** من خلال دراسة بعض البحوث تبين من خلال كروماتوغرافيا الطور الغازي التي تعد احدى الطرق التي تطبق في الدراسات التحليلية للمركبات العضوية وخاصة تلك القابلة للتبخر مقدار العينة المدروسة التي تتراوح من مليغرام إلى ميكروغرام ، ازدواجية هذه الأخيرة بمطيافية الكتلة أدى إلى تحديد الصيغ الكيميائية للمركبات فهنالك عدة ابحاث قد سجلت تواجد المركبات الكيميائية التالية : المركبات الآزوتية الحلقية ، الفلافونويدات ، الزيوت الطيارة ، الكومارينات ، ستيرولات ، القلويدات مثل : (Tetrahydroisoquinoline,Beta-carboline) ، جلوكوزيدات ، الأحماض العضوية [16-20].

- **الاستعمالات في الطب الشعبي :** الباقل نبتة طبية ، كثيرة الاستعمالات الشعبية في الجنوب الجزائري أين تعرف بالاسم الشائع الرمث ، التحقيقات التي قمنا بها في هذا المجال بينت أن نبات الرمث يملك رواجا كبيرا في مداواة الأمراض الخارجية والداخلية العديدة في مختلف مناطق الوطن ، فتستعمل هذه النبتة في معالجة مختلف الأمراض الداخلية والخارجية [21-22] . وأهمها ماهو وضح في **الجدول 1.I** التالي :

الجدول 1.I : إستعمالات نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. في الطب الشعبي [23-27] .

المنطقة	العضو المستخدم	الأمراض المعالجة
ورقلة	الأوراق/الأزهار/التويج	آلام المعدة /الجروح والتعفنات / لدغات العقارب
غرداية	الأوراق/الأزهار/التويج	آلام المعدة / فتح الشهية / العقم /الأرق
بريان	الأوراق	الجروح والتعفنات
واد سوف	النبتة كاملة ماعدا الجذور	العقم /إلتهاب البروستاتة / التبول اللاإرادي
تقرت	الأوراق أو النبتة كاملة	آلام المعدة /الجروح والتعفنات / السعال /إضطرابات الحمل
البيض	الجزء العلوي	الجهاز البولي /الروماتيزم / التسمم
بشار	الأوراق/ النبتة كاملة ماعدا الأزهار	آلام العظام /السرطان
تونس	الأوراق/الجزء العلوي	آلام الرأس /الجروح والتعفنات / الجرب / أمراض العين (الرمد الحبيبي)/مرض السكر
المغرب	الجزء العلوي	إضطرابات الهضم / التسمم / الجروح

الفعالية العلاجية لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. من فوائد نبات الرمث العلاجية:

- يفيد نبات الرمث فى علاج حالات الزكام وآلام الجروح .
- يستخدم نبات الرمث فى علاج اوجاع الجسم عامة وكذلك فى حالات الوهن التى تصيب الانسان .
- يفيد فحم نبات الرمث فى علاج الحروق والجروح المتحرقة .
- يستخدم بخار نبات الرمث فى علاج امراض الروماتيزم والمفاصل
- يفيد نبات الرمث فى علاج مرضى السكر بحيث يحافظ على نسبتة فى الدم.
- شرب المستحلب يفيد ضد الإسهال والإلتهابات الناتجة عن الجراثيم في الجهاز التناسلي .
- التضميد بواسطة أوراق الباقل المهروسة مع أوراق النتين لمعالجة آلام الرأس .
- يعالج أعراض لسعات العقارب والثعابين [28،2].

2.2.I الدراسة النظرية لنبات *Arnebia decumbens Vent.* Coss et Kral.:

1.2.2.I تعريف :

يسمى عند أهل المنطقة بالحمير نسبة إلى الصبغة الحمراء الموجودة في قشرة الجذور ، وهو نبات عشبي حولي صغير لا يتعدى 25سم ، تكسوه شعيرات قاسية هذه الأخيرة تتحول إلى مايشبه الأشواك الرقيقة عند بلوغ النبات وبداية جفافه ، أوراق الحمير متطاولة وليس لها عنق واضح ، أما الأزهار فهي صفراء اللون وتتجمع في نورات قمية كثيفة وغالبا ما تتطاول هذه النورات وتتقوس عند نهايتها [2] .

2.2.2.I التسميات:

الاسم العلمي: *Arnebia decumbens Vent.* Coss. et Kral.

وهذه صورة توضيحية لنبات الحمير **(الشكل رقم 2.I)**.

الشكل 2.I: صورة لنبات *Arnebia decumbens Vent.* Coss et Kral.

3.2.2.I التصنيف [29-30] :

التصنيف العلمي للنبات	
Plantae	المملكة
Angiosperms	الشعبة
Eudicots	القسم
Asterids	الرتبة
Boraginaceae	العائلة
Arnebia	الجنس
Arnebia decumbens Vent. Coss. et Kral.	الاسم العلمي للنبات

4.2.2.I خصائص وميزات النبات :

النمو و الإزهار :

يبدأ في النمو بعد تساقط الأمطار الموسمية ، وهو يزهر بعد مدة قصيرة من الإنبات ، إلا أنه خلال المواسم الجديدة كثيرة الأمطار فإنه ينمو ويتطور كثيرا وتتأخر بذلك عملية الإزهار [2].

أماكن التواجد :

غالبا ما يرافق نباتات الشقارة والنباتات المصاحبة لها ويكون معها مجتمعات كثيفة نوعا ما خاصة في المناطق المغلقة المحمية [1].

الإنتشار الجغرافي :

ينتشر في المنطقة الصحراوية العربية ، وبعضهم يشير إلى أنه نبات مستوطن في منطقة الصحراء الكبرى[2].

التركيب الكيميائي لنبات *Arnebia decumbens Vent.* Coss. et Kral. :

هنالك عدة ابحاث قد سجلت تواجد المركبات الكيميائية التالية :الفلافونويدات، التربينات ،القلويدات مثل [31] :

benzoquinone -monoterpenylbenzoquinone - des-O-methyllasiodiplodin - naphthaquinone - Anthocianosides.

المنافع : من منافع هذا النبات أنه نبات رعوي ، وتعود الصبغة الحمراء الملونة للجذور إلى المركبات الأنتوسيانية Anthocianosides وهي إحدى أنواع المركبات الفلافونويدية وهذه المركبات تملك العديد من الخصائص البيولوجية الهامة خاصة فيما يخص التأثيرات العلاجية والتأثيرات المضادة للبكتيريا والفيروسات، هذا بالإضافة إلى إمكانية إستعمال هذه الصبغيات الطبيعية في الصناعات الغذائية كملونات طبيعية غير سامة ومضادات للاكسدة [2] .

قائمة المــراجــع العربية

[1] الدكتور حليمي عبد القادر(جويلية 1997). النباتات الطبية، وزارة الفلاحة والصيد البحري(A.N.N) ، الجزائر، ص1،2

[2] حليس يوسف (نوفمبر 2007). الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، مطبعة الوليد، الوادي – الجزائر، ص16–51، 80، 104.

[4] منظمة المجتمع العلمي العربي (ديسمبر 2016). المضادات الحيوية، ص14–15 .

[5] الشحات نصر أبو زيد(2000). الزيوت الطيارة، الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر– القاهرة.

[8] هيكل م. و عمر عبد الرزاق (1993). النباتات الطبية و العطرية كيمياؤها، إنتاجها، فوائدها. الطبعة الثانية.للنشر منشأة المعارف بالإسكندرية (مصر)، ص 13–28.

[9] الدكتور الشحات نصر أبو زيد (2007). الطب التكميلي بالعلاج الشعبي للنباتات الطبية و العطرية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع–القاهرة، ص7،8 .

[10] أبورجيع طلال و حجاوي ، غسان (2000). علم العقاقير والنباتات الطبية العملية، دار الشروق، عمان – الأردن.

[11] غسان حجاوي، حياة حسين المسيمي، رولا محمد قاسم (2009). علم العقاقير والنباتات الطبية. دار الثقافة للنشر و التوزيع، الطبعة الأولى، الإصدار الخامس.

[21] محنش ع. (2001). الدليل في التداوي بالاعشاب ، دار الهدى للنشر، عين مليلة– الجزائر .

قائمة المراجع الأجنبية

[3] L. Delille (2007), Les plantes médicinale d'Algerie, Berti Editions, Alger, p. 16,17

[13] Paul Ozenda (1977) : Flore du Sahara, 2" éd (revue et complétée). - 622 p., 176 - 60 fig. au trait, 16 pl. ph. h. t., 1 carte h.t., Editions du Centre national de la recherche scientifique. Paris.

[16] Ramasubramaniaraja R., Asian J. Pharm. (2011) , Vol. 1: Issue 4, pp 88-92,

[17] Douglas C. Smith, Shannon Forland, Evangelos Bachanos, Melony Matejka, and Valerie Barrett (2001) ; Chem. Educator, 6, 28-31.

[18] Dehak-Oughlissi K., Hammoudi R., Hadj-Mahammed M. et Badjah-Hadj-Ahmed Y. A. (2013) , Annales des Sciences et Technologie, 5 (2), 167-173.

[19] Hammoudi R. et Hadj-Mahammed M. ,(2010),Annales des Sciences et Technologie, 2 (1),1-5.

[20] El Mannoubi I., Skanji T., Barrek S., Zarrouk H. (2010) ; Journal de la Société Chimique de Tunisie, 12, 31-36.

[22] Khelifi H., Tataï J. et Kadid Y. Et. ; La Flore de la région de Messaad (wilaya de djelfa) : Ethnobotanique et lutte contre la désertification ; Institut National Agronomique INA EL Harrach Algérie.

[23]Chehma A. (Juin2006) ; Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien ; Université Kasdi Merbah Ouargla .

[24] Cheriti A., Rouissat A., Sekkoum K. et Balansard G. (1995) ; Fitotérapia, 66(6), p531.

[25] Cheriti A., Hacini S. et Hadjaj M. , (2000) ; in " 1ère African Congress in Biology and Health .

[26] Boukef M. K. (1987) ; Les Plantes dans la Médicine Traditionnelle Tunisienne, ACCT AARIS, pp 82-83.
[27] Bellakhdar J. , (1997) ; La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle ; Ed. Ibis Press Paris, p250.
[31] B. Bozan , K.H.C. Baser , S. Kara (1997), Quantitative determination of naphthaquinones of Arnebia densiflora (Nordm.) Ledeb. by an improved high-performance liquid chromatographic method, Journal of ChromatographyA , 782 (133-136) .

صفحات الأنترنت

[6] http.//www.wadsouf.com/node/136 . 25/02/2013.
[7] http://www.siyaha eloued.com/node/29. 25/02/2013.
[12] http://www.kayba.ahlamontada.net/t16580-topic . 25/02/2013.
[14] http://www.nazme.net/ar/index.php/pshow_articles&id:835. (02/01/2013) .
[15] http://zipcodezoo.com/index.php/Haloxylon_articulatum. (10/01/2013).
[28] http://www.attarzaman.com/benefits/2661-2661. (01/02/2013) .
[29] https://en.wikipedia.org/wiki/Arnebia_decumbens. (01/06/2014)
[30] http://zipcodezoo.com/index.php/Arnebia_decumbens/More_Information. (04/06/2014)

الفصل الثاني

دراسة بعض المنتجات الطبيعية

المشتقة من النباتات

خصصنا في هذا الفصل التعرف على المنتجات الطبيعية المراد دراستها وهي : الفينولات و القلويدات و التربينات وتبيان بنياتها وأنواعها و الفوائد الصحية لها .

II .1. تعريف المنتجات الطبيعية :

المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج إنطلاقا من عمليات الأيض [1].

ونميز منها قسمين: منتجات أولية و منتجات ثانوية.

II .1.1. المنتجات الأولية (métabolites primaires):

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية و الضرورية لبقاء الخلية و الجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية ؛ التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون والبروتين [1-2].

II .2.1. المنتجات الثانوية (métabolites secondaires):

هناك عديد من المركبات التى تنتج فى النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها [2] .

وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ولها إستعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة ، إذ تعتبر مركبات القسم الأول هي المواد البادئة لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي ؛ وهناك ثلاث مواد أولية رئيسية وهي ؛ حمض الشيكميك والأسيتات والأحماض الأمنية [1].

II .2. المنتجات الطبيعية الفعالة:

كل عنصر نباتي مؤكد يحتوي على عدد من المركبات التي تنتج من عمليات الأيض الثانوي للنبتة بحيث تمثل المنتجات الطبيعية الفعالة لها، والتي يمكن تقسيمها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر إلى آخر ، فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها ، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيراتها الفزيولوجية ، كما تصنف أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها

على هيئة مجموعات حيث تصنف إلى ؛ التربينات وأشباهها ، القلويدات وأشباهها ، الزيوت الطيارة ، المضادات الحيوية و الفيتامينات ، المركبات الفينولية [1،3].

II .1.2 القلويدات (Les Alcaloïdes) :

II .1.1.2 مدخل

بدأ اكتشاف القلويدات في النباتات المحتوية عليها بفصل قلويد المورفين (Morphine) في نبات الخشخاش (Poppy capsile) عام 1817 م بواسطة الألماني (Surterner) ، و أول من أطلق اسم القلويدات على هذه المجموعة من المركبات هو العالم (Meissner) عام 1819 ، ثم تتابع اكتشاف عدد آخر من القلويدات منها : Quinine ، Emetine ، Strychnine حتى وصل عددها إلى ما يقارب 1900 قلويد ، وفي سنة 1950 ثم اكتشاف قلويدات العناقية (Vinca) و المعروف بتأثيره ضد خلايا السرطان ، حيث تعبر العناقية عن جنس نباتي في الفصيلة الدفلية ، تحوي مواد قلويدية فعالة في النبتة مثل مركبات ؛ (vinblastine , vincristine) ، .وهي منتجات نباتية توقف نمو الخلايا السرطانية فتقوم بمنع الخلايا السرطانية من الانقسام والتكاثر خلال عمليات الانقسام الخلوي وهذا ما يؤدي إلى موتها[4].

II .2.1.2 تعريف القلويدات :

هي مركبات صلبة غير ذائبة في الماء لكنها تذوب في الايثانول والايثر والكلوروفورم ، والقليل منها سوائل يذوب في الماء مثل النيكوتين المتحصل عليه من " التبغ " ، توجد ذرة نتروجين في غالبية اشباة القلويدات علي شكل نتروجين ثلاثي . يحتوي التركيب البنائي لكثير من هذه المركبات علي مجموعات فعالة بها ذرة أكسجين مثل الهيدروكسيل أو الكيتون أو الكاربوكسيل ، وتتصف الكثير من أشباه القلويات بالفعالية القوية وذلك إذا ما وجدت بها ذرة كربون أو أكثر غير متماثلة في تركيبها البنائي، تبرز أهمية أشباه القلوي دات في تأثيراتها الفزيولوجية و الطبية ،لأن معظمها غير سامة ولها استخداماتها المختلفة بجرعات بسيطة [5-7] .

II .3.1.2 تسمية القلويدات :

ينتهي اسم القلويدات بالمقطع (ine) و تتم تسمية القلويدات حسب أحد الطرق التالية :

- تسمى بعض القلويدات حسب الإسم (اللاتيني) الأول للنبات المستخلص منه و مثال ذلك : قلويد Atropine المستخلص من أوراق نبات *Atropia belladona* .

- وتسمى بعض القلويدات حسب الإسم اللاتيني الثاني للبنات المستخلص منه و مثال ذلك : قلويد Belladonine المستخلص من أوراق نبات *Atropia belladona* .
- كما تسمى بعض القلويدات حسب تأثيرها الفسيولوجي (العلاجي) ومثال ذلك : قلويد (مخدر Narcotine = Narcotic) و (مقيء Emetine = Emetic) .
- وأيضا تسمى بعض القلويدات حسب خواصه الفيزيائية كما في قلوية ماص للرطوبة (Hygrine=Hygroscopic) .
- تسمى بعض القلويدات حسب اسم مكتشفها مثل قلويد Pelletierine باسم العالم Pelleter .
- تسمى بعض القلويدات حسب اسم النبات الشائع و مثال ذلك : قلويد Ergometrine المستخلص من جذور فطر Claviceps purpura المعروف باسم الشائع له فطر Ergot [8-9].

II .4.1.2 طريقة التعرف على القلويدات : تتم عملية التعرف على القلويدات بمعرفة ؛

درجة الانصهار ، معرفة أملاحها ومشتقاتها ، معرفة درجة ذوبانيتها في مختلف المذيبات ، تغير لونها باستخدام العوامل الملونة ، التعرف على القلويدات باستخدام (Spectro photo meter) [7-8].

II .5.1.2 تصنيف القلويدات :

1- حسب الفعالية البيولوجية : وبدورها يمكن أن نقسمها إلى ثلاثة أقسام؛

- **القلويدات الحقيقية (Les alcaloides vrais) :**

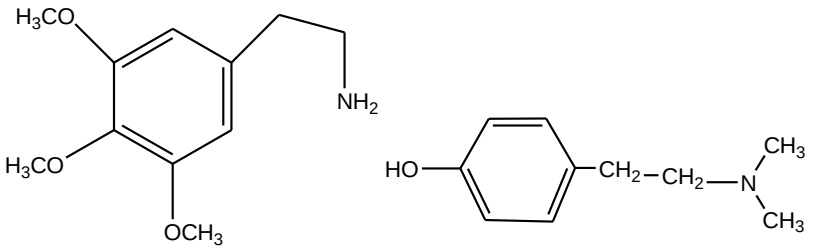
تحتوي على ذرة آزوت داخل الحلقة الكربونية (hétérocylique)، وهي مركبات قاعدية و تتواجد في الحالة الطبيعية كأملاح، و هي تتشكل إنطلاقا من أحماض أمينية و**الشكل II .1** مثال على ذلك [9-11].

Tropane Cicutine ou conine

الشكل II .1: أمثلة عن القلويدات الحقيقية .

- **Les protoalcalaoide :**

هي أمينات بسيطة لها ذرة آزوت خارج الحلقة وهي مركبات قاعدية تنتج من أيض الأحماض الأمينية و **الشكل 2.II** هومن الأمثلة على ذلك [9-11] .

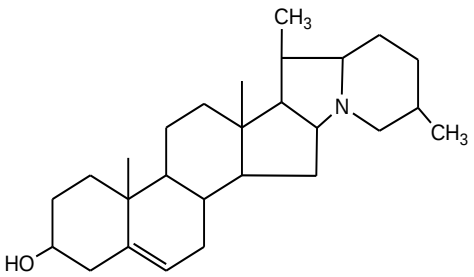


Mescaline Hordenine

الشكل 2.II: أمثلة عن القلويدات **protoalcalaoide**

- **القلويدات الكاذبة (les pseudo–alcalaoide) :**

لها كل خصائص القلويدات، لكنها ليست مشتقة من أحماض أمينية. هذا القسم يحوي القلويدات الستيرودية و القلويدات البيرينية و**الشكل 3.II** مثال على ذلك [9-11].

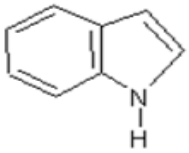
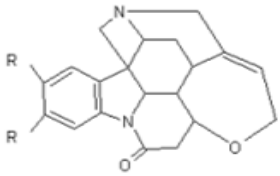
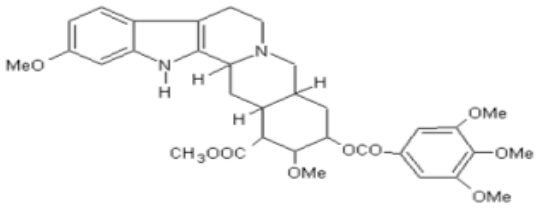


Solanidine
(alcaloïde steroïdique)

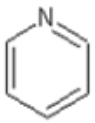
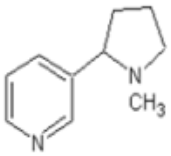
الشكل 3.II: Solanidine (Les pseudo–alcalaoides)

2 -**حسب البنية الكيميائية** : قسم القلويدات تبعا لتركيبها الكيميائي إلى عدد من الأصناف يعتمد على تركيب الحلقة غير المتجانسة التي تتكون منها تلك القلويدات [12-13]:

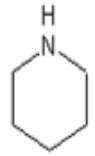
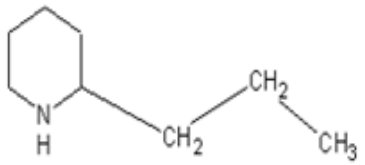
➢ **لقلويدات التي تحتوي على مجموعة الإ ندول:**

الهيكل الأساسي	أمثلة
- إندول indole 	- ستريكنين (strychnine)  - ريسيربين (reserpine) 

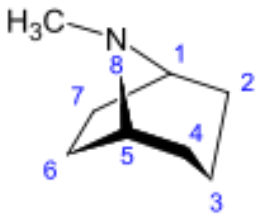
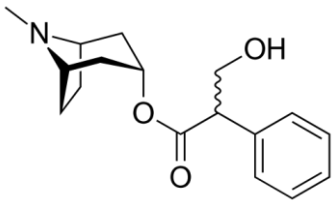
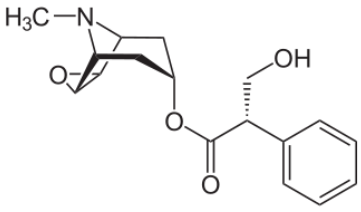
➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة بيريدين :**

الهيكل الأساسي	أمثلة
- بيريدين pyridine 	- نيكوتين (nicotine) 

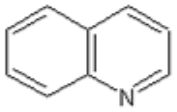
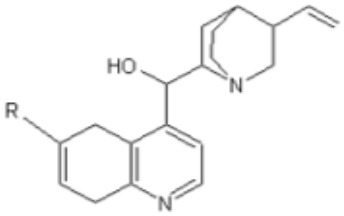
➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة بيبريدين :**

الهيكل الأساسي	أمثلة
بيبريدين – pipéridine 	كونين – (coniine) 

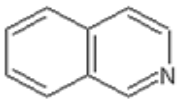
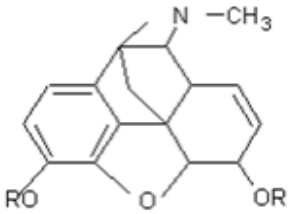
➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة التروبان** : مجموعة التروبان عبارة عن حلقتين من البيبريدين والبيروليدين مشتركتين عن طريق ذرتي الكربون .

الهيكل الأساسي	أمثلة
تروبان **Tropane** 	**Atropine**  **scopolamine** 

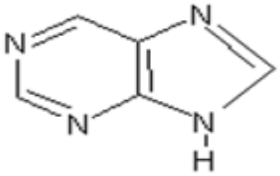
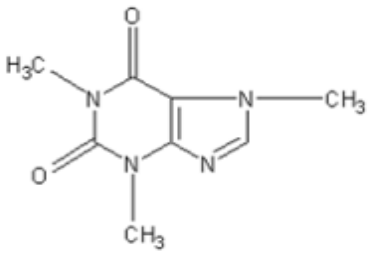
➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة الكينولين :**

الصيغة الاساسية	امثلة
- كينولين Quinoline 	- كينين (quinine)  Quinine , quinine : R = OMe Cinchonine , cinchonine : R = H

➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة إيزوكينولين :**

الصيغة الاساسية	امثلة
- إيزوكينولين isoquinoline 	- مورفين (morphine) 

➢ **القلويدات التي تحتوي على مجموعة البيورين :**

الصيغة الاساسية	امثلة
بيورين : purine 	كافين : (caffeine) 

II.1.2.6 الدور الفيزيولوجي للقلويدات:

كل القلويدات لها نشاط فيزيولوجي مكثف، علاجي أو سمَي، مثل: الموروفين، الكافايين، الستريكينين، أو الالكينين، و أكثر من 3000 من القلويدات لها خصائص علاجية في الأغلب مهمة.

و بما أن القلويدات مركبات عضوية نيتروجينية تتكون من أحماض أمينية مثل الألانين، الليسين، الفينيل ألانين و التربتوفان، لذا فمن المحتمل أن يكون لها دور فيزيولوجي في عمليات البناء الحيوي، وقد تعتبر القلويدات مخزون للنتروجين الزائد عن احتياج النبات [5 ، 14] .

II.1.2.7 تواجد القلويدات في النباتات :

توجد القلويدات في أجزاء النبات المختلفة ومن أمثلة ذلك ؛

- **السيقان:** يستخلص قلويدات emetine, cephaline من السيقان لنبات *cephalic lpeca Cauhna*.
- **الأوراق** : تستخلص القلويدات Hyoscyamine , Hyoscine من أوراق النبات *Atropa belladena* .
- **الجذور** : تستخلص قلويد Aconitine من جذور نبات *Aconitum napellus* .
- **البذور** : يستخلص قلويد Strychnine من بذور نبات *Strychnus nusc vomica* .
- **الثمار** : يستخلص قلويد Pepeine من ثمار نبات *Black pepper* .
- **اللحاء** : يستخلص قلويد Quinine من لحاء نبات *Cinchona* .

كل أجزاء النبات : يستخلص قلويد Hyoscine من معظم أجزاء النبات : *Datura stramonium* [14] .

II.1.2.8 الخواص العامة للقلويدات :

- تحتوي القلويدات بإضافة إلى الآزوت (N) على عنصري (H.C) و بعضها يحتوي على عنصر(O) .
- معظم القلويدات غير الطيارة صلبة الملمس، أما القلويدات الطيارة فهي سائلة و لا تحتوي على عنصر (O).
- معظم القلويـدات عديـمة الرائحة غير الطيارة متبلورة ، لونـها أبيض ، مرة المذاق ، ويخرج عن هذه

القلويدات التالية :

- قلويدات Berberine , Colchicine صفراء اللون .

- قلويد Caradine برتقالي اللون .

- قلويد Sanguinarine عديم اللون .

- القلويدات عديمة اللون يمكن أن تكون أملاح ملونة مثل :

- Sanguinarine salt أحمر اللون – Hydrastuinine salt أصفر اللون .

- معظم القلويدات متبلورة صلبة إلا : قلويد Nicotine pilocarpine , Spartine و غيرها عبارة عن سوائل .

- معظم القلويدات لا تذوب في الماء أو تذوب بشكل جزئي ما عدا قلويد colchicine إلا أنها تذوب جيدا في كحول و الكلوروفورم ، كما أنها تشكل أملاح ذائبة في الماء .

- معظم القلويدات لها تأثير فسيولوجي و منها ما هو سام جدا .

- من الممكن ترسب قلويدات باستعمال مواد التالية :

- Maye 's Reagen - Marne 's Reagent - Tannic acid - Picric acid - cd k13 - Wagner's Regent-Dragendorff 's Reagent.

- لمعظم القلويدات خاصية التناظر Stéréo isoméries .

- معظم القلويدات تؤثر على الضوء المستقطب .

- تتوزع القلويدات في المملكة النباتية و توجد في المملكة الحيوانية و الفطريات .

- تشتق القلويدات من خمسة أحماض أمينية أساسية هي :

Tyrosine -Tryptamine - Phenylalanine – Lysine - Ornithine [15].

9.1.2.II فوائد القلويدات :

- ✓ مسكنة للآلام مثل : Morphime , Hyoscine .
- ✓ موسعة للقصبات الهوائية مثل : Theophylline .
- ✓ مرخية للعضلات مثل : Tubocuraine .
- ✓ رافعة للضغط مثل : Ephédrine ، أو خافظة للضغط مثل : Réserpine .
- ✓ موسعة لحدقة العين Atropine أو مضيقة لحدقة العين acide pilocarpine.
- ✓ طاردة للديدان Pelletiérine.
- ✓ قلويدات Virca مضادة للسرطان كمركبات ؛ (vincristine , vinblastine).
- ✓ مخدرة موضعية Cocaïne.
- ✓ منبهة Caféine.
- ✓ مدرة للبول Xanthines [15،7،5].
- ✓ تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها يحمي النبات من الحشرات الضارة .

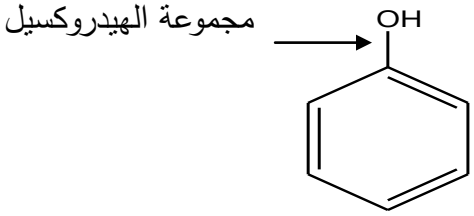
2. 2. II المركبات الفينولية Les composés phénolique :

1.2.2. II تعريف :

المركبات الفينولية هي من مركبات ناتج الأيض الثانوي موجودة في جميع النباتات الوعائية وهي واحدة من أكبر المجموعات والمواد الموزعة على نطاق واسع في المملكة النباتية ، و يوجد ما يقارب 8000 مركب موجود في جميع الأنسجة النباتية تحمي تلك المواد النبات من أعدائه من الحشرات أو تجذب إليها حشرات مفيدة وعلى الأخص النحل بغرض نقل حبوب اللقاح و التخصيب [16]. وتحمي المركبات الفينولية أو ما تعرف بمتعدد فينولات النبات من تأثيرات الأكسدة حيث تعمل كمضادات تأكسد ؛ كما تحمي النبات

من الأشعة فوق البنفسجية الضارة خلال عملية الت ركيب الضوئي. تحتوي المركبات الفينولية على مجموعة هيدروكسيل واحدة أو أكثر متصلة مباشرة بحلقة عطرية (أروماتية) .

الفينول: هو الهيكل الذي تقوم عليه المجموعة بأكملها. الحلقة العطرية في هذه الحالة هي بطبيعة الحال البنزين و **الشكل 4.II** الموالي يوضح بنية الفينول [17].



الشكل 4.II: بنية الفينول (phénol)

بالنسبة للحالة الطبيعية لمعظم المركبات الفينولية فهي لا توجد حرة داخل خلايا النبات بل توجد مرتبطة فى شكل(غليكوزيدات أسترات ايثرات) و توجد عدة مسارات للاصطناع الحيوي للمركبات الفينولية وأهمها مسا ر حمض الشيكيميك و مسار الخلات تعتبر البوليفينولات من المواد الصحية اللازمة للجسم. وتوجد تلك المواد في ثمار أرونيا (نوع من التوت) وأوراق العنب وثمار العنب وفي زيت الزيتون وفي الرمان، ونبات الشاي، والسمسم البري، وقشرة شجرة الصنوبر الثمري، وتستخرج البوليفينولات مثل الفلافونويدات من قشرة شجر الأرزية للإستخدامات الطبية [18-19].

2.2.2.II التصنيف :

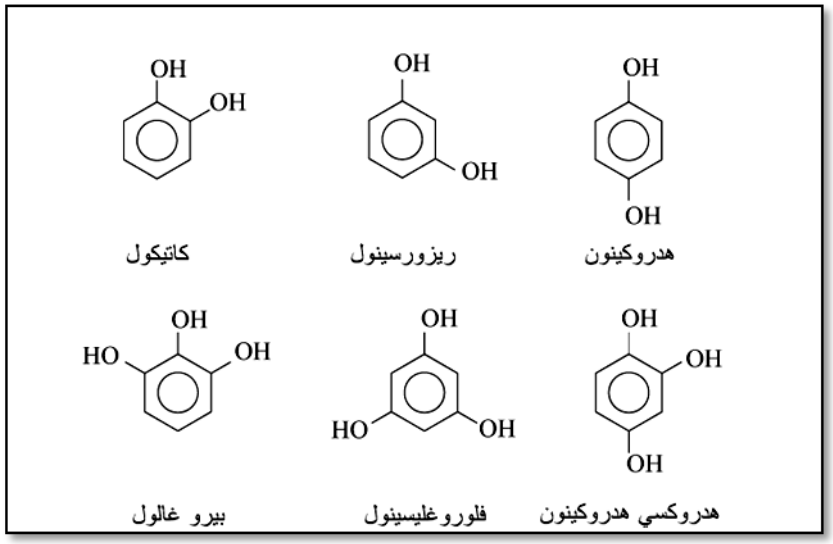
يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة والمتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية و عدد الحلقات الأروماتية و العناصر المرتبطة بها و نلخص عملية التصنيف في **جدول 1.II** التالي [20-21] :

جدول 1.II : تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها

الهيكل الكربوني الاساسي	الصنف	
C_6	الفينولات البسيطة	**Phénols simples**
$C_6 - C_1$ $C_6 - C_3$	الأحماض الفينولية الكربوكسيلية - أحماض هيدروكسي بنزويك - أحماض هيدروكسي سينامك	**Acides phénols** Acides hydroxybenzoïque Acides hydroxycinnamiques
$C_6 - C_3$	الكومارينات	**Coumarines**
$C_6 – C_2 – C_6$	الستلبينات	**Stilbènes**
$C_6 – C_3 – C_6$	الفلافانويدات - الفلافونات - الفلافونولات - الفلافانولات - الفلافانونات - ايزوفلافونات - انثوسيانات	**Flavonoïdes** -Flavones -Flavonols -Flavanols -Flavanones -Isoflavones -Anthocyanes
$(C_6 – C_3)_2$	الليغنان	**Lignages**
$(C_6 – C_3)_n$	اللغنين	**Lignines**
$(C_6 – C_3 – C_6)_n$	التانينات - تانينات قابلة للتحلل - تانينات مكثفة	**Tannins** -Tannins hydrolysables -Tannins condensés

1) – الفينولات البسيطة Phénols simple (C_6) :

وهى التي تحتوي على حلقة بنزين مرتبطة بواحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل. فهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات (ورديات، خلنجية) ، و**الشكل 5.II** يبين بعض بنى الفينولات البسيطة [22].



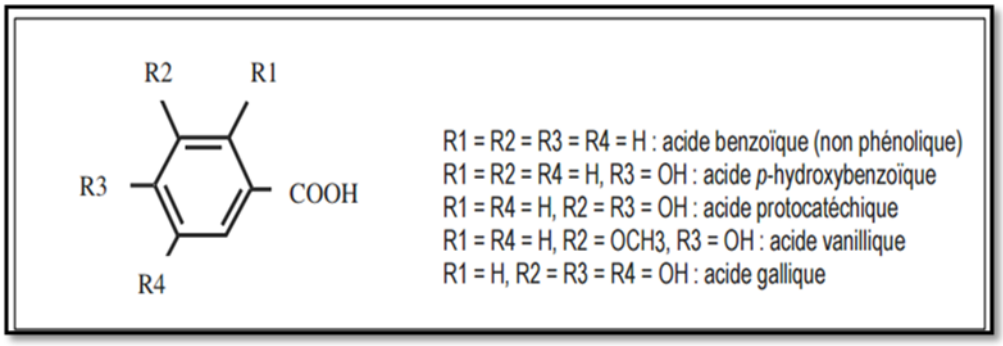
الشكل 5.II: أمثلة عن الفينولات البسيطة

2) – الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides phénols carboxyliques

تحتوي الأحماض الكربوكسيلية الفينولية على مجموعة حامضية وهى مجموعة الكربوكسيل COOH وكذلك واحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل OH وتنقسم إلى مجموعتين :

أ– الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك Acides hydroxybenzoique (C_6– C_1) :

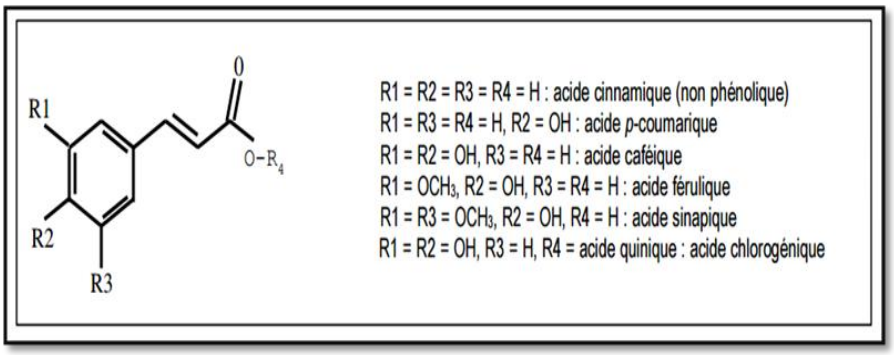
في هذا النوع تكون حلقة الفينول الأروماتية التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة الكربوكسيل COOH أي هيكله الاساسي حمض البنزويك هذه الأحماض هي شائعة جدا سواء في شكل حر او في شكل استرات أو جليكوسيدات. هذه الفئة هي وفيرة في النباتات والأغذية، بما في ذلك التوابل والفراولة وبعض التوت الأحمر والبصل فيها تركيزات يمكن أن تصل إلى عدة عشرات من ملليغرام لكل كيلوغرام من الفاكهة. ونوضح في **الشكل 6.II** الأحماض الأكثر شيوعا [23].



الشكل II.6: أمثلة عن أحماض هيدروكسي بنزويك

أ - أحماض هيدروكسي سينامك Acides hydroxycinnamiques (C_6–C_3) :

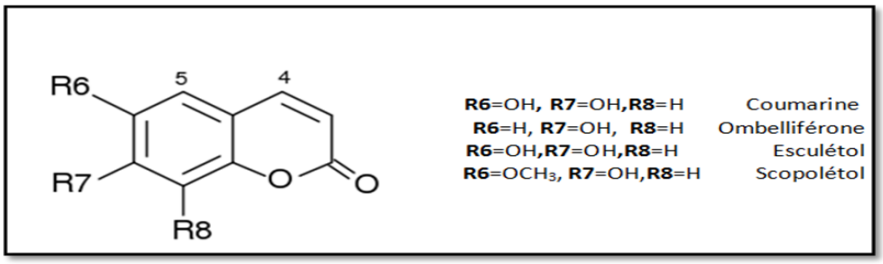
في هذا النوع تكون الحلقة الفينولية التي تحتوي على مجموعات الهيدروكسيل مرتبطة بمجموعة الكربوكسيل عن طريق سلسلة أليفاتية غير مشبعة تتكون من 3 كربونات وهيكلها الاساسي حمض السينامك. نادرا ما توجد في شكل حر وغالبا ما تقترن مع سكريات أ و البوليولات مثل حمض الكينيك وحمض الكافييك هو الممثل الرئيسي لهذه الفئة يوجد في العديد من النباتات (حبوب القهوة والطماطم والزيتون والتفاح) ، و خاصة في الفواكه وهي تمثل 75–100٪ من المحتوى الكلي للحمض hydroxycinnamic من معظم الفواكه، وذلك أساسا في شكل أستر حمض الكينيك (حمض الكلوروجينيك) ، و هذا الأخير موجود بتوكيز عال جدا في التفاح (430 ملغ / كلغ) والقهوة يمكن أن يحتوي كوب واحد 70–350 ملغ ، و **الشكل 7.II** يوضح بعض الأمثلة عن أحماض السينامك [24].



الشكل II.7 :أمثلة عن أحماض السينامك

3) – الكومارينات Coumarines (C_6–C_3) :

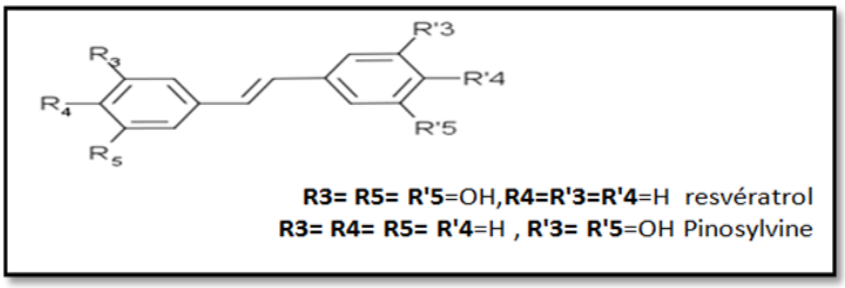
تم عزل الكومارينات سنة 1820 ، ومن ثم حتى سنة 1996 توصل العلماء إلى إكتشاف حوالي 1300 كومارين . واشتقت هذه التسمية من النبات الذي فصل منه أول مرة من قبل الباحث Vogel(1820) , إذ تتشكل الكومارينات أساسا من الهيكل الأساسي (C_6–C_3) وهي عبارة عن حلقة بنزينية مرتبطة مع ذرة غير متجانسة تحوي ذرة أكسجين وبها وظيفة كيتونية ، ويمكن إلحاق الكومارينات بأحماض السينامك إذ تتحلل هذه الأخيرة بسهولة عند احتوائها على هيدروكسيل في الموقع ortho لتعطي كومارينات [25]. ويعتبر امبيليفرون (7–هيدروكسي كومارين) هو المركب الأم لمعظم الكومارينات التي تم فصلها فى الطبيعة ، و **الشكل 8.II** يوضح بعض أمثلة عن الكومارينات .



الشكل 8.II: أمثلة عن الكومارينات

4) – الستلبينات Stilbènes (C_6 –C_2 –C_6):

هي مركبات تحتوي على حلقتين عطريتين ويربطها رابطة ثنائيه وهيكلها هو C_6–C_2–C_6 ، وتشكل نظام مترافق، هذه الميزة تعطي له ا فـعالية عاليـة نظرا للـرنين الإلكتووني في الجزيء كله ومن بينها مركب ريسفيراترول resvératrol ؛ وهي تحمي من الأشعة فوق البنفسجية و **الشكل 9.II** يوضح بعض أمثلة عن الستلبينات [21].



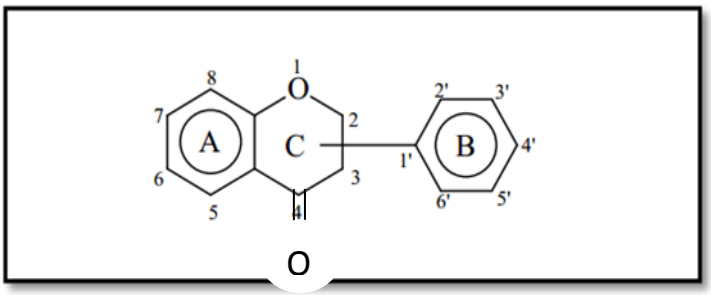
الشكل 9.II : أمثلة عن الستلبينات

5) - الفلافونويدات Flavonoïdes ($C_6 - C_3 - C_6$) :

أ. تعريف :

لقد أثارت الفلافونيدات اهتمام العديد من الباحثين منذ أمد بعيد لفائدتها الصيدلية وعرفت منذ 1952من طرف العالمان (Geissman,Hinreiner) وهي أكثر المركبات الفينولية إنتشارا ، الفلافونيدات إحدى مجموعات المكونات الطبيعية الأكثر عددا إذ تم حصر أكثر من 4300 بنية في صورة إيتيروزيدية أو أجليكونية في الوقت الحاضر ، وهي الأكثر شيوعا في الأصناف النباتية حيث توجد في معظمها تقريبا [26].

مصطلح فلافونيد في اللغة الأجنبية مشتق من الكلمة اللاتينية flavus و تعني أصفر و هي عبارة عن صباغات نباتية صفراء موزعة في جميع أجزاء النبات كثيرة التواجد في الجزء الهوائي منه ، مسؤولة عن ألوان الأزهار، الفواكه و أحيانا الأوراق توجد في الفجوات على مستوى الخلية بشكل إتيروزيدات منحلة في الماء و هذا لإرتباط الجزء السكري بها و الفلافونويدات هي مركبات بها C_{15} وكلها لها بنية $C_6-C_3-C_6$ ، عبارة عن ثلاث حلقات حلقتين بنزين (A,B) وحلقة غير متجانسة اوكسجينية pyrane (C) و نظام الترقيم يبد أ من الحلقة C كما هو موضح في **الشكل II.10** [21، 27] .

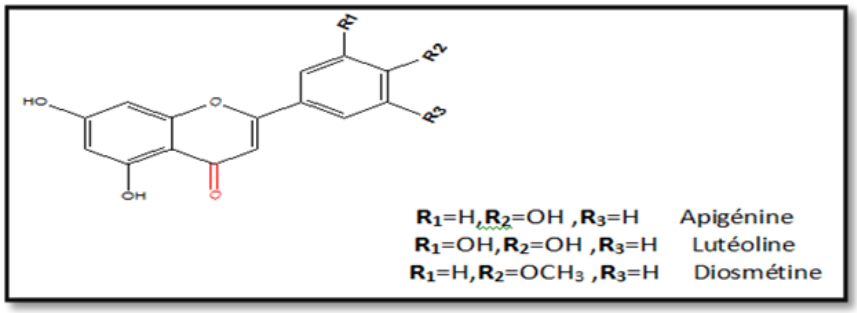


الشكل II.10 : الهيكل الأساسي للفلافونويدات

ب. تصنيف :

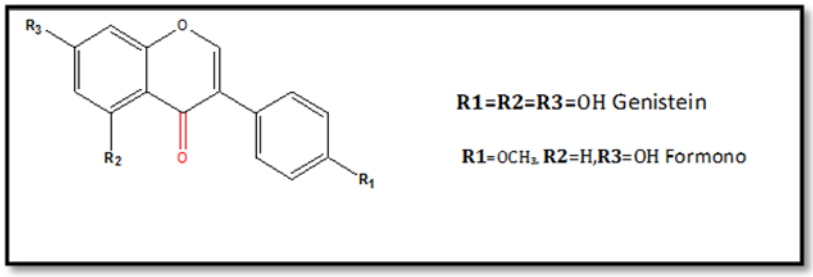
و هناك عدة فئات للفلافونويدات وتصنف حسب درجة ت أكسد نواة البير ون (cycle pyrone) C وحسب موضع ارتباط الحلقة B بالحلقتين C التي هي: (Flavones ؛ الفلافونات) ، (Flavonols ؛ الفلافونولات) ، (Flavanols ؛الفلافانولات) ، (Flavanones ؛ الفلافانونات) ، (Isoflavones ؛ ايزوفلافونات) (Anthocyane ؛ انثوسيانات) .

- **الفلافونات Flavones** : تحتوي الحلقة الغير متجانسة Pyrane على مجموعة كربونيل و رابطة غير مشبعة للكربونين C_2-C_3 و ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 2 كما يوضحه **الشكل 11.II** [28].



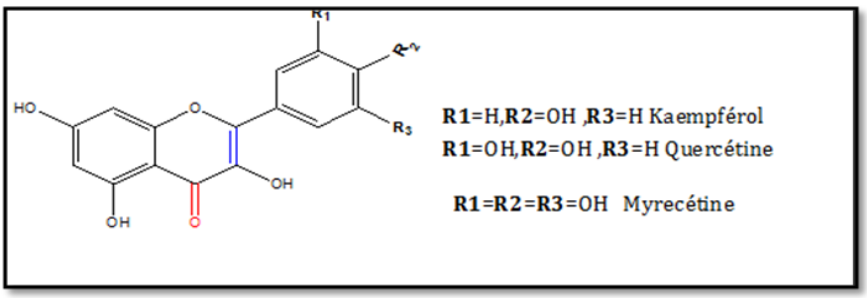
الشكل 11.II : أمثلة عن الفلافونات

- **ايزوفلافونات Isoflavones** : الإختلاف بينها و بين الفلافونات هو ا رتباط الحلقة **B** مع الحلقة **C** انطلاقا من الكربون كما يوضحه **الشكل 12.II** [27].



الشكل 12.II : أمثلة عن الايزوفلافونات

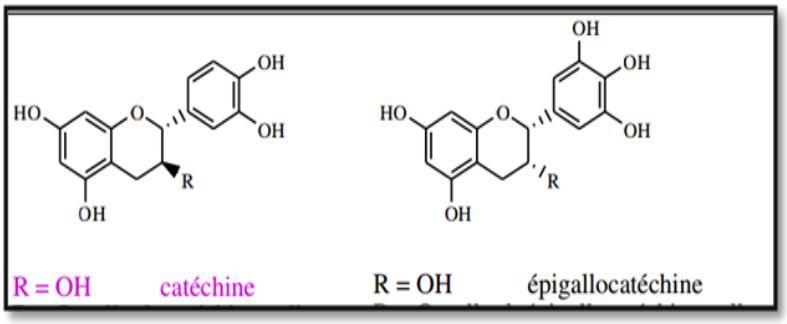
- **الفلافونولات Flavonols** : هيكلها الأساسي مثل الفلافونات بالإضافة إلى مجموعة هيدروكسيل في الموضع 3 ، وهو كما يوضحه **الشكل 13.II** [28].



الشكل 13.II: أمثلة عن الفلافونولات

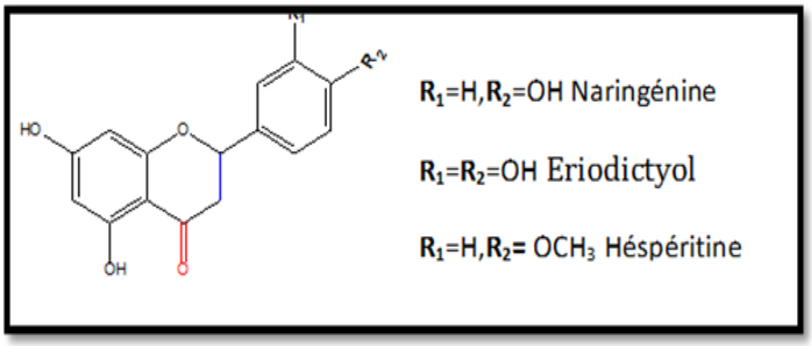
- **الفلافانولات Flavanols :**

إرتباط الحلقة B يكون في الموضع 2 بالإضافة إلى مجمعة هيدروكسيل في الموضع 3 و تكون الرابطة C_2–C_3 مشبعة كما في **الشكل 14.II** [29].



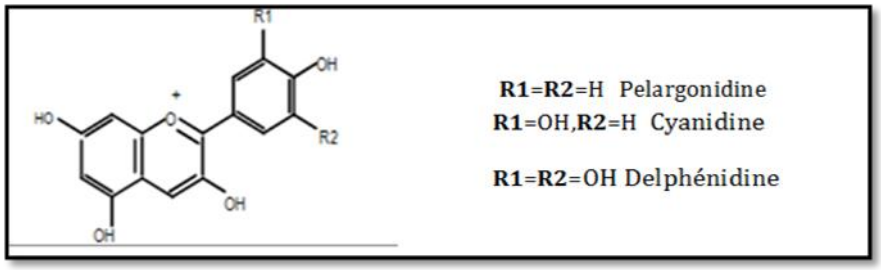
الشكل 14.II :أمثلة عن الفلافانولات

- **الفلافانونات Flavanones :** تتميز الفلافانونات بعدم وجود الرابطة المزدوجة بين C2 و C3 ، الفواكه الحمضية هي المصدر الرئيسي للفلافانونات و أهمها هي l'ériodictyol في الليمون و naringénine في البرتقال الهندي ، و l'hespéritine في البرتقال و يحتوي عصير البرتقال ما بين 200 و 600 ملغ في اللتر من l'hespéritine ، كما في **الشكل 15.II** [30].



الشكل 15.II: أمثلة عن الفلافانونات

- **أنثوسيانات Anthocyanes :** في هذه المجموعة تكون الحلقة الغير متجانسة كاتيونية في الموضع 1 و هي أصباغ وتوجد في شكل جليكوسيدات مستقرة وقابلة للذوبان في الماء ، حمراء في وسط حامضي ، وتتحول الى الأزرق البنفسجي في وسط معتدل أو قاعدي ضعيف ، وهو موضح في **الشكل 16.II** [31].



الشكل II.16: أمثلة الأنثوسيانات

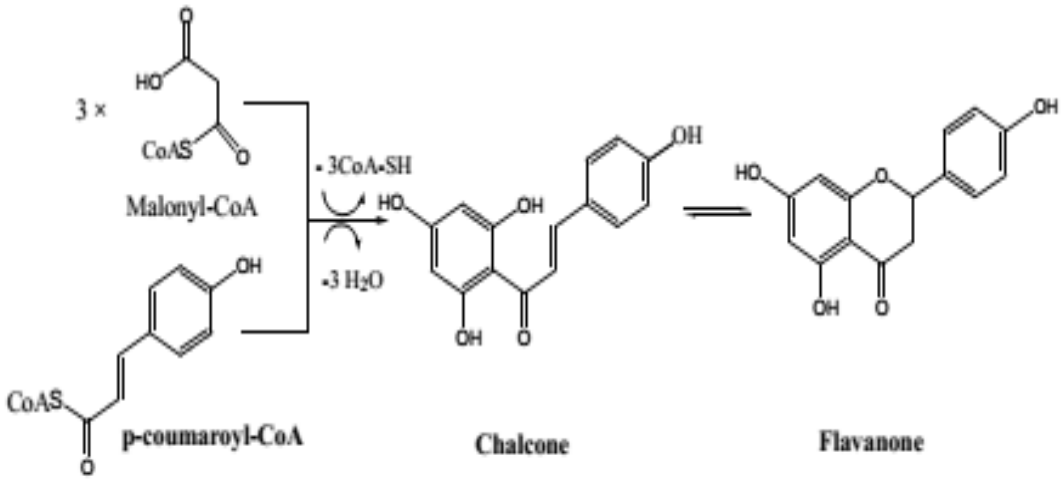
ج. تواجد الفلافونيدات :

تتواجد الفلافونيدات على مستوى الخلية النباتية في صورة إيتروزيدات ذوابة في الماء م تركزة في حويصلة الخلية ، أما الفلافونيدات الذوابة في المذيبات الغير قطبية (كالفلافونيدات عديدة الميتوكسيل) فتتواجد في سيتوبلازم الخلية ، و تتموضع الفلافونيدات حالة وجودها في صورة أجليكونات (aglycons) على الأنسجة السطحية للأوراق حيث تكون ملازمة لمواد مفرزة ، هي الأخرى ليبوفيلية وهو حال نباتات المناطق الجافة والشبه الجافة ، وعموما توجد أغلب الفلافونيدات في النباتات بشكل محمي (إيتروزييدات) ، بينما توجد الأجليكونات في الأنسجة النباتية الميته وكذلك في خشب الأشجار ، وتحتوي معظم الأغذية ذات الأصل النباتي (بصل ، تفاح ، توابل ، ليمون ...) وبالأخص المشروبات (شاي ، عصير الفواكه ...) على كميات معتبرة من الفلافونيدات [1].

د. الإصطناع الحيوي للفلافونويدات :

بينت التجارب التي أجريت باستعمال ^{14}C لمعرفة طرق الإصطناع الحيوي للفلافونويدات وجود طريقين : طريق الخلات و طريق الشيكيميك و الإنزيم الأساسي هو Chalcone synthase (CHS) .

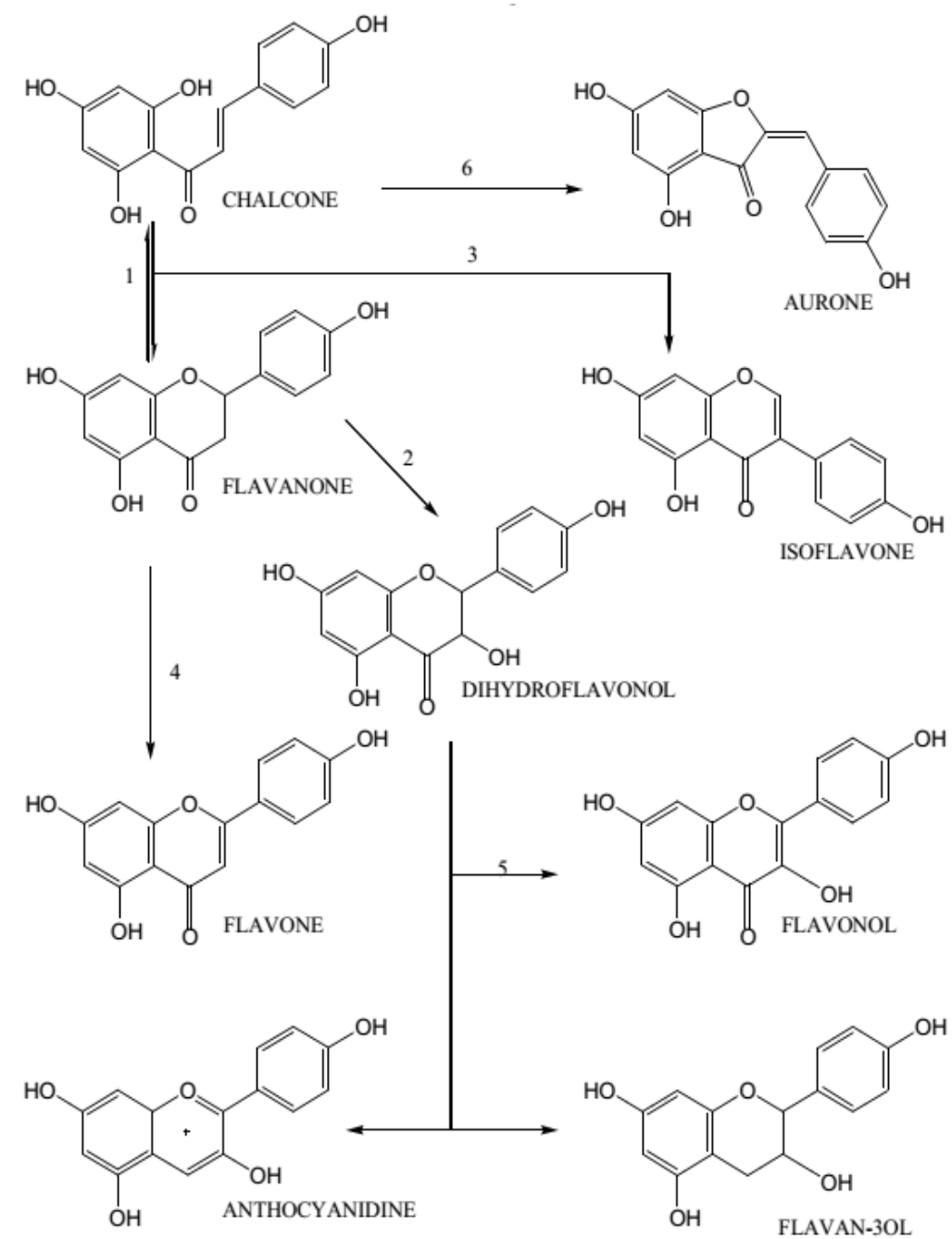
وأهم الطرق هو طريق الشيكيميك : حيث أثبتت التجارب على عددا كبيرا من المركبات المختلفة أن لحمض الشيكيميك دور في تكوين الحلقة B ، إذ أن تكاثف ثلاث وحدات من خلات الايثيل في صورة مالونات كوانزيم A يؤدي إلى تشكيل الحلقة A لتتحد مع حمض باراكوماريك،هذا التكاثف يؤدي إلى تكوين نواة الشالكون.
و يعتبر 4,2',4',6'–tetrahydroxychalcone نقطة انطلاق لاصطناع العديد من الفلافونويدات بمساعدة إنزيمات تخص كل مرحلة كما يوضحه **الشكل II.17**.



الشكل II.17: الشالكون نواة للفلافونيدات

ينتج الفلافانون من عملية تحوير فراغية نوعية ابتداءا من الشالكون كما أن إعادة الترتيب للفلافانون بمساعدة Iso flavone syntase تقود الى الإيزوفلافون، أماالإنزيم Flavanone Hydroxylase فيحفز تفاعل تثبيت الهيدروكسيل على الفلافانون لنحصل على ثنائي هيدروالفلافونول.

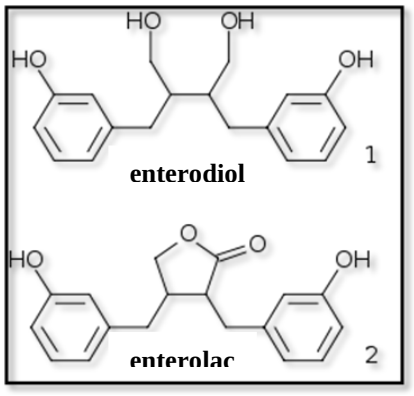
بالوصول إلى مرحلة الشالكون تبدأ مرحلة تصنيع مختلف الهياكل اعتمادا على عدة إنزيمات و**الشكل II.18** يوضح أهم مراحله [1،21].



الشكل 18.II: الإصطناع الحيوي لمختلف الهياكل الفلافونويدية انطلاقا من الشالكون

6) الليغنان Lignane $(C_6 - C_3)_2$:

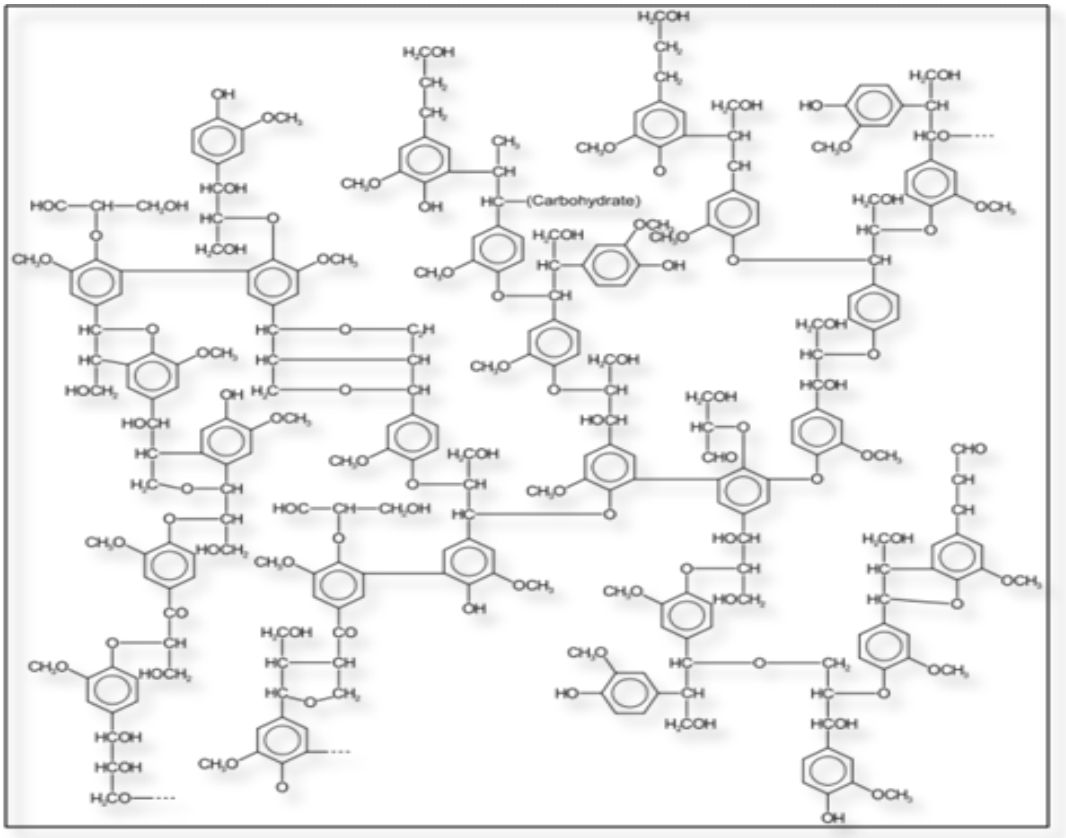
و هي مركبات تتكون من ثنائي وحدات فينيل بروبان C_6–C_3 وتنتج طريق تفاعل ديمرة Dimérisation للفينولات المستبدلة والمشتقة من حمض السيناميك ، كما يوضحه **الشكل II.19** [32].



الشكل II.19 : أمثلة عن الليغنان

7) اللغنين Lignines $(C_6 - C_3)_n$:

يعتبر اللغنين أهم ثانى مركب عضوي بعد السليولوز و حيث أنه يساعد على صلابة النباتات وتحملها الظروف الجوية على الأرض وقد وضع Freudenberg , Nrish سنة 1968 تصور لتركيب اللجنين كما في **الشكل II.20** التالي [33] :



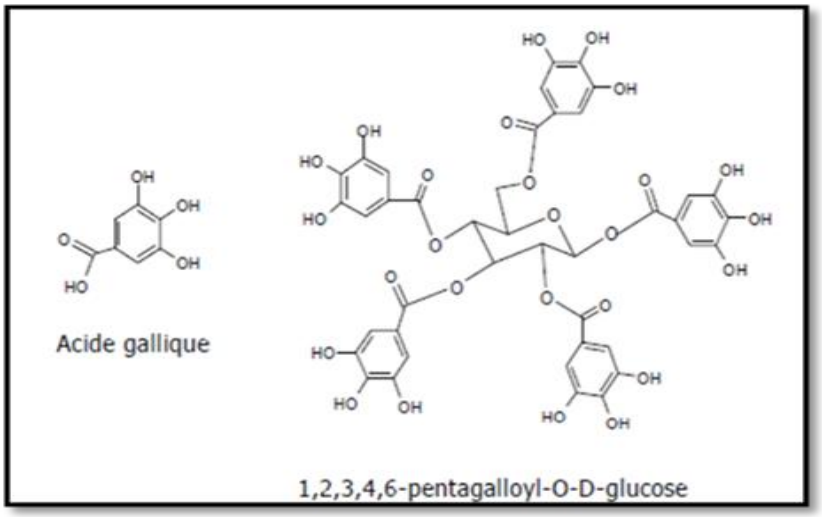
الشكل II.20 بنية اللغنين

8) التانينات Tannins :

التانينات أو ما تسمى بالعفص هي محتويات فجوية ذات خواص فينولية ، توجد ذائبة أو مترسبة في خلايا النسيج الضام أو الحشوي لعديد من الأنواع النباتية.ومن مميزاتها تقوم بترسيب البروتين و دباغة الجلود و تنقسم إلى نوعين تانينات قابلة للتحلل و تانينات مكثفة غير قابلة للتحلل [21].

- **تانين قابل للتحلل Tannins hydrolysables :**

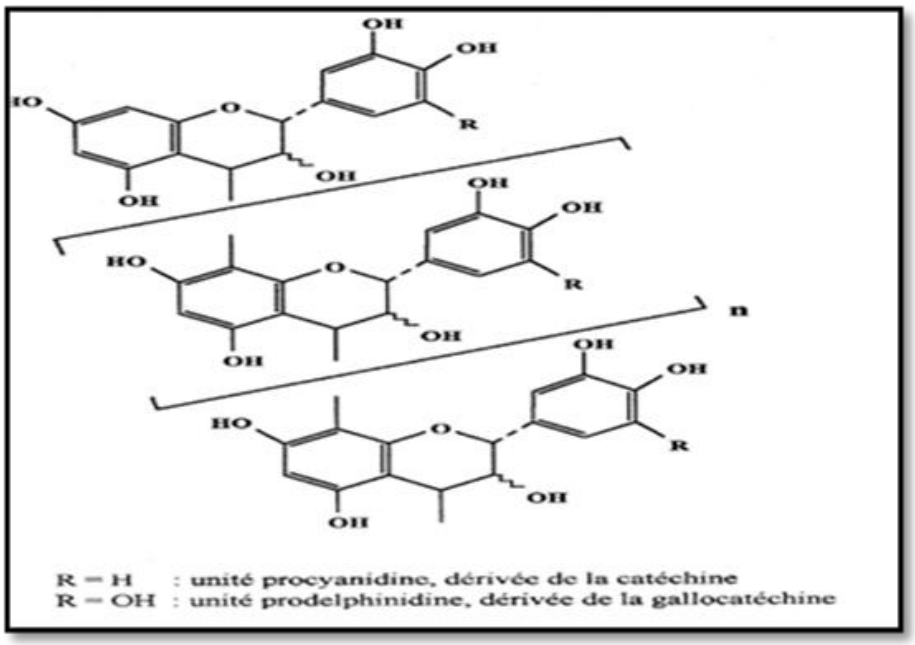
وهي عبارة عن جزيئات معقدة أسترات لسك ر(عديد الهيدروكسي) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول ، تحللها ينتج شقا سكريا في غلب الأحيان يكون الغلوكوز وشقا فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك أو من حمض الإيلاجيك ، كما في **الشكل II.21** [34].



الشكل II. 21: تانين قابل للتحلل

- **تانينات مكثفة Tannins condensés :**

وهي مركبات فلافونويدية مكثفة في شكل أوليجومير أو بوليمار oligomer ou polymère ، وهي تتكون من وحدات فلافانول (chatéchine) و ترتبط هذه الوحدات في الكربون C4 للوحدة العليا و C8 للوحدة التي تليها ، كما في **الشكل II.22** [35] .

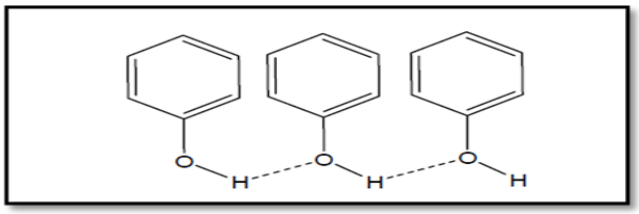


الشكل22.II: تانين مكثف

3.2.2.II. الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية :

✓ الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية ، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم وكربونات الصوديوم ، بينما الأحماض الفينولية تذوب وتستخلص بمذيبات عضوية قطبية في وسط حمضي مخفف ، كذلك كلا الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء [36] .

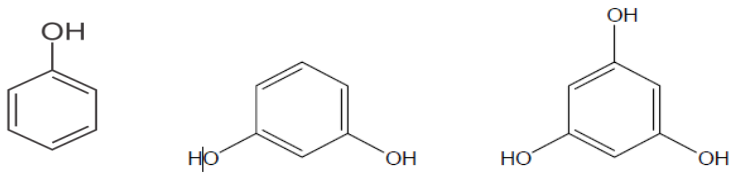
✓ بروتون مجموعة الهيدروكسيل للفينول هو من أسباب تشكيل الروابطة الهيدروجينية . ويظهر أدناه ثلاثة جزيئات الفينول مع روابط الهيدروجين التي تشير إليها الخطوط المتقطعة كما في **الشكل 23.II.**



الشكل 23.II: روابط هيدروجينية بين جزيئات الفينول البسيط

إن تشكيل الروابط الهيدروجين داخل الجزيئات أقل من الروابط الهيدروجين بين الجزيئات ، حيث أن الأول يعمل على التقليل من التفاعل والثاني يمكن أن يعقد من عملية التنقية [37].

✓ تأثير الروابط الهيدروجينية على الذوبانية و درجة الغليان: الرابطة الهيدروجينية أضعف من الرابطة التساهمية المشتركة، والمسافة بين نواة الهيدروجين ونواة الأكسجين أكبرمن ذلك في الرابطة التساهمية ، وجود الروابط الهيدروجينية بين الجزيئات يرفع من ذوبانية ودرجة غليان المركبات، لأن هناك حاجة إلى المزيد من الطاقة لكسر الروابط بين الجزيئات . وتذوب الفينولات في الماء بنسبة أقل من ذوبانيتها في المذيبات القطبية الأخرى و**الجدول 2.II** التالي يدرج الخصائص الفيزيائية للـ phénol،résorcinol Phloroglucinol، التي تتأثر بالروابط الهيدروجينية.



Phénol Résorcinol Phloroglucinol

الجدول 2.II: تأثير الروابط الهيدروجينية على خصائص الفيزيائية للـ phénol و résorcinol و Phloroglucinol

المركب	Phénol	Résorcinol	Phloroglucinol
درجة الذوبان (الإنصهار)	41°C	118°C	218°C
الذوبانية في الايثانول	ذوبا نية عالية	1 g/0.9 ml	1 g/12 ml
الذوبانية في الماء	1 g/15 ml	1 g/0.9 ml	1 g/100 ml

✓ الخاصية الحمضية للفينولات : بما أن الفينول هو بنزين مع مجموعة هيدروكسيل، فإن تفاعل المركبات الفينولية لها العديد من الخصائص الكيميائية : لحلقة البنزين أول خاصية هي الحموضة . ويعتبر مركب ما حمضي عندما يمكن أن يحرر بروتون (H^+) في محلول ويرمز لثابت الحموضة بـ Ka حيث :

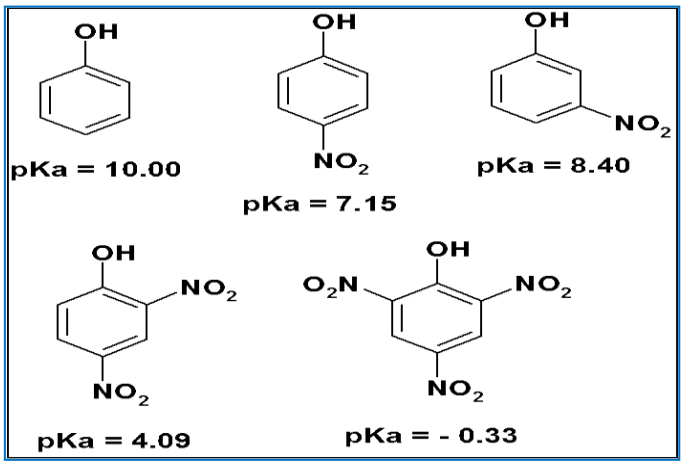
المركبات الفينولية هي بشكل عام أحماض ضعيفة وبالمقارنة مع الكحولات الأليفاتية فهي أكثر حمضية، يرجع الفرق بين حامضية الكحولات و الفينولات إلى درجة إستقطاب الرابطة (O–H) فى الفينولات أكبر منها في الكحولات و يعزى السبب الى ظاهرة الرنين فى الفينولات فبسببها تتولد شحنة كهربية موجبة على الأكسيجين ينتج عنها سهولة تأين الرابطة (O–H) . إلى بروتون و أنيون الفينولات، وبالتالي الفينول هو حمض ضعيف.

✓ تأثير المستبدلات على الحامضية : ويعتمد الـ pKa للمركبات الفينولية على التركيب الكلي للجزيء وطبيعة المستبدلات على الحلقة العطرية و تزداد حامضية الفينول بوجود مجموعات ساحبة للإلكترونات . فمثلا بالرغم من أن الفينول حامض إلا أنه أضعف حامضية من حامض كربونيك فهو مثلا يتفاعل مع هيدروكسيد الصوديوم و يكون الملح المقابل و ماء لكنه لا يتفاعل مع كربونات الصوديوم. أما 2,4,6– ثلاثي نيتروفينول له قيمة pKa= 0.71 ، أي ما يعادل حمض قوي ، هذه القيمة المنخفضة pKa هي نتيجة لسحب مجموعة النترو NO_2 للإكترونات [37].

- الفعل الساحب : و يمكن معرفة تأثير المجموعات على حامضية الفينول بمقارنة ثوابت تأينها (pKa) فى الماء عند درجة الحرارة 27 مئوية. و توضح هذه الثوابت أن المجموعات الساحبة للإلكترونات ترفع الحامضية و يتوقف التأثير على موقع المجموعة بالنسبة لمجموعة الهيدروكسي و عددها.

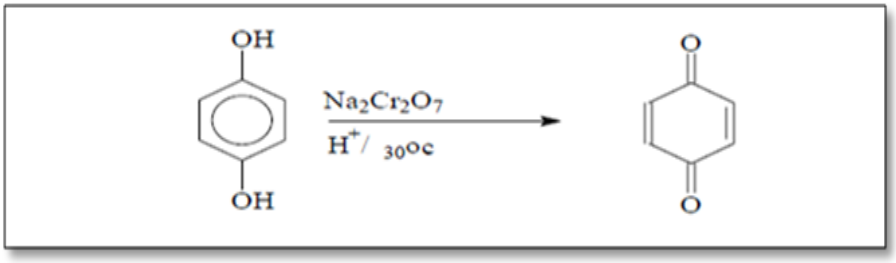
- الفعل المانح: أما المجموعات المانحة للإلكترونات فتقلل من حامضية الفينولات و يتوقف التأثير أيضا على موقع المجموعة بالنسبة لمجموعة الهيدروكسي و عددها [38].

اختلاف درجة الحموضة بإختلاف المستبدلات يوضحه **الشكل II.24** .



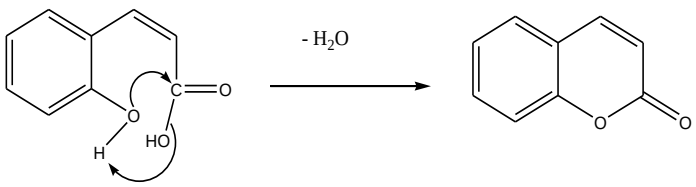
الشكل 24.II: إختلاف درجة الحموضة بإختلاف المستبدلات

✓ أكسدة الفينولات : تتأكسد الفينولات بسهولة ، حيث العينات التي تترك معرضة للهواء لبعض من الوقت عادة ما يتغير لونها إلى الداكن كالفواكه ، وذلك بسبب الأكسدة للمركبات الفينولية كما في **الشكل 25.II** [39].



الشكل 25.II : تفاعل أكسدة هيدروكينون

✓ عند تأكسد حمض السرينيك في الوضع ortho للسلسلة الجانبية تكون حلقة اللاكتون ، ومع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين ، لذا يعتبر فزيولوجي أنشط من الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات و **الشكل 26.II** يبين طريقة تشكله [39].



الشكل 26.II: تشكل الكومارينات

- ✓ أسترة الفينولات : أسترات (RCOOR) تتشكل عن طريق تفاعل حمض كربوكسيلي مع مجموعة الهيدروكسيل من الكحول، يمكن لمجموعة الهيدروكسيل من المركبات الفينولية المشاركة في تشكيل أستر[39].

- ✓ الفلافونويدات مركبات ملونة ، وهي تتواجد في جميع أجزاء النباتات حيث تتواجد بكثرة في الجزء الهوائي وخاصة الأوراق والأزهار إذ تتسبب في تلوين هذه الأخيرة [40].

- ✓ تتغير ألوان الفلافونيدات باختلاف أنواعها فمثلا :الفلافونات ، الفلافونولات تتواجد بألوان تتدرج من الأصفر حتى الأحمر أما الأنتوسيانيدات فلها ألوان متعددة كالأحمر الغامق، البنفسجي و الأزرق [40].

- ✓ تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية ، وتتصف الفلافونيدات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية , وبالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل(الميثانول , الإيثانول , الأستون , الماء) [41].

- ✓ المركبات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات والفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر [41].

- ✓ كما لها دور في نمو و حماية النبات وهذا بتفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية كما تتكامل فى مابينها لتساهم فى مايسمى:Phytoalexines و هو إنتاج النبتة لأيض يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا والفطريات [42].

- ✓ الفلافونويدات عبارة عن مركبات قادرة على التقاط العديد من الأنواع المؤكسدة مثل :أيونات فوق الأكسيد، الجذر الهيدروكسيلي، الجذر البيروكسيلي والأكسجين الأحادي ،حيث تم تحديد علاقة بين بنية الفلافونويد والنشاطية المضادة لأكسدة [43].

- ✓ تشكيل معقدات المركبات الفينولية مع المعادن (Fe,Al) واسعة الإستعمال، وخاصة عند إستظهار الكروماتوغرامات لتحديد هذه الجزيئات وبالأخص عند إجراء أطياف الإمتصاص ، كما تدخل هذه المعقدات في الطبيعة وتشارك في تلوين النباتات وقد لاحظ الباحثان Jurd و Geissman (1956) خلال أشغالهما على العديد من المركبات الفينولية الطبيعية الممتلكة لبعض المجموعات البنيوية قدرتها على تشكيل معقدات مع المعادن ، كما بين هذان الباحثان أن البنية العامة للجزيئات بإمكانها أن تتدخل في تشكيل المعقدات ،

فعلى سبيل المثال يتغير كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ بدرجة أقل في طيف إمتصاص Pyroctéchol عن طيف 3,4−dihydroxychalcone الممتلك لمجموعة كربونيل C=O [40].

✓ يشكل كلوريد الأمنيوم $AlCl_3$ معقدات مع مركبات الفلافونيد نلخص مجملها في الحالتين الآتيتين:

- معقدات مستقرة : تتشكل في حالة تواجد مجموعة هيدروكسيل في الوضع C_3 وC_5 مع مجموعة كربونيل في الوضع C_4.
- معقدات غيرمستقرة : تتشكل في حالة تواجد مجموعتين الهيدروكسيل في الموضعين (C_3، C_4) (C_5،C_6) (C_7 ، C_8) [2].

II.4.2.2 أهمية الفينولات :

1. أهمية الفينولات بالنسبة للنبات :

بالرغم مما تقدمه المركبات المستخلصة من النباتات من فوائد عظيمة للإنسان، فإن دورها للنبات نفسه لم يكن معروفا ، فكثفت الأبحاث على زراعة الأنسجة النباتية داخليا (التجارب التي تحدث على النبات وهو يقوم بجميع وظائفه in vivo) وخارجيا (التجارب التي تتم داخل أنابيب الاختبار in vitro) أدت إلى معرفة الدور الفزيولوجي لمنتجات الأيض الثانوي، فهي تؤمن العيش للنبات في ظروف حياته القاسية . يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو وقد لوحظ أيضا أن الفينولات تلعب دورا في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية، فبعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوراق والجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات الطفيلية [43].

2. الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية :

- **الفاعلية المضادة للأكسدة :** تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة تعد كمخالب (مفخخة) لتوقف عملية انتشار الجذور الحرة الناجمة عن التلوث ، حيث أن حماية القلب والأوعية الدموية بالمركبات الفينولية أصبحت الأكثر رسوخا. يتم إمتصاص المركبات الفينولية من خلال الحاجز المعوي ومن ثم الوصول إلى الأنسجة المستهدفة ، حيث يمكن أن تؤدي إلى وقاية الجسم من تعرضه للأكسدة ، والأمراض المختلفة مثل؛ أمرض القلب والسرطان وأمراض الأعصاب [41].

ولأن الفلافونويدات من أهم الفينولات المضادة للأكسدة فإنها تقوم بتثبيط الأكسدة الفوقية للبيدات في المرحلة الإبتدائية بإقتناصها الجذور الهيدروسكيل و ذلك لقدرتها على التداخل مع الطبقة ثنائية اللبيد للغشاء الخلوي ، كما تنهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة وذلك بمنح ذرات الهيدروجين لجذور البيروكسي ($ROO^{\cdot}$ proxy) أو ($RO^{\cdot}$ alcoxyle) مشكلة بذلك جذر الفلانويد .

وفي المجال الإقتصادي لها أهمية كبيرة في الصناعات الغذائية حيث تستعمل كمضادات للتأكسد ومثبطات للإنزيمات، كما يتم استعمالها في صناعة مواد التجميل حيث تحمي البشرة الخارجية من الأشعة فوق البنفسجية [44].

- **الفعالية العلاجية** : تملك الفينولات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة وعلى الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية ومضادة للالتهابات ، ومنها مثبط و منها محفز للأنزيمات، مضادة للأورام. تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية (OH) فكلما كثر وجودها في المركب زاد في هنشاطه المضاد (المقاومة للأورام) .

أيضا تعمل على التقليل من نفاذية و هشاشة الشعيرات الدموية ، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية و الوظيفية للشعيرات الدموية ، وكذلك فإن لها دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابوليزم حمض الأراكيدونيك(Acide arachidonique) .

وفي السنوات الأخيرة ، ظهر و بشكل جلّي نتائج الأبحاث المكثفة في ميدان الطّب و البيولوجيا أظهرت الفعالية البيولوجية للفلافونيدات و كذا التأثير الدوائي للفلافونيدات و التي بدأت بأعمال Gyorigyi Szent باكتشافه للمادة الفعالة وأوصلت للتعرف إلى الفعاليات الآتية [45] :

* **مضادات للحساسية** : يعود هذا الفعل إلى تأثير الفلافونيدات على إنتاج histamine المسبب للحساسية و ذلك بتثبيطها لبعض الأنزيمات المحفزة كـــ: AMP cyclique phosphodiesterase و ATPase Ca^{2+}dépendante فمثلا هذا الأخير يساعد على تحرير طاقة تسهل للأغشية الخلوية امتصاص الكالسيوم مما يسمح بت حرير histamine المخزن داخل الحويصلات. كما أثبتت الدراسات أن مركب quercétine أظهر قدرة أكبر من تلك التي لـ Cromoglycate de sodium و هو الدواء المستعمل لتثبيط histamine [46] .

* **مضادات للالتهاب** :تحت تأثير lipooxygénase(2) و Cyclooxygénase(1) يحدث الأيض الذي ينتج عنه acide arachidonique المحرض لحدوث الحساسية ، و قد أثبت Landolfi و فريقه أن بعض الفلافونيدات قادرة على تغيير مسار الاصطناع الحيوي لهذا الحمض داخل الصفائح الدموية ، حيث ثبت أن كلاّ من quercétine و myricétine في تراكيز عالية يثبطان الأنزيمين (1) و (2) أما عند تراكيز واطئة فيثبطان الأنزيم (2) ، وبالنسبة للأنزيم (1) فيثبطه كل من apigénine و chrysine . [47]

* **مضادات للقرحة** : في تجارب أجريت على فئران المختبرات، ثبت أن quercétine وnaringénine يلعبان دورا هاما في معالجة القرحة و حماية خلايا المعدة منها ، و بشكل خاص ثبت أن quercétine تظهر فعالية في إنتاج mucus الذي يعد فخا للجذور الحرة المسببة لهذا المرض [46].
كما نشرت أبحاث لـ Izzo : تدرس العلاقة بين خصائص كل من naringénine ، quercétine ،rutine و kaempférol و بين RAF(Platelet Activating Factor) وهو عنصر قوي مسبب للقرحة [48].

* **مضادات للسرطان** : وفق دراسة Bracke فإن لـ catéchine والموجود في كل أنواع الشاي خاصة الأخضر، فعالية ضد – ورمية حيث يثبط t-PA (tissue-type plasminogen activator) وذلك بربطه بـ: laminine وهي جزيئة تلعب دورا هاما عند موت الخلايا ، كما أن هذا الفلافونيد يعزز منمقاومة Collagène المنظم لنمو الخلايا و يثبط Collagènase[49].
إن مركب quercétine أيضا تكبح تزايد نمو الخلايا و تغلق بعض المواقع المستقبلة للهرمونات [50] .
ونبين في و**الجدول II.3** بعض المركبات الفينولية التي تستعمل لعلاج العديد من الأمراض.

الجدول 3.II : بعض المركبات الفينولية المستعملة في الطب و الصيدلة .

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الكومارينات	حماية الأوعية الدموية مضاد للأمراض الجلدية (البهاق)
الفلافونيدات	مضاد للالتهاب مضاد للسرطان يخفض ارتفاع الدم مدر للبول تمنع تخثر الدم
الأحماض الفينولية	مضاد البكتيريا مضاد للطحالب
Proanthocyanidines	تمتن العظام مضاد للسرطان مضاد للالتهابات
Phytoestrogéne	مكمل غذائي

تمتلك المركبات الفينولية أهمية كبيرة من حيث أن للفينولات فعالية بيولوجية عالية جدا خاصة فعاليتها المضادة للبكتيريا، فهذه المركبات تساهم طبيعيا بشكل كبير في حماية النباتات من البكتيريا. إذ أن المركبات الفينولية وخاصة الفلافونويدات تتداخل مع الأحماض النووية وتثبط تركيب الـ ADN و الـ ARN للبكتيريا[51] .

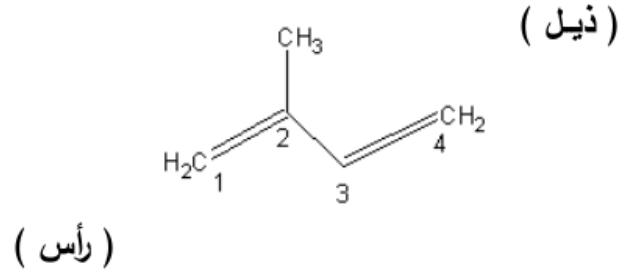
3.2.II. التربينات (Les terpène) :

لعل أكثر أنواع التريبينات انتشارا في الطبيعة هي التريبنات الثلاثية، ويعرف منها لحد الآن أكثر من 4000 بنية ناشئة من أكثر من 40 هيكلا مختلفا مشتملة على C_{30} أي (06) وحدات Isopentenyl، وهي مركبات عديمة اللون، صلبة أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية، وهي مواد فعالة ضوئيا (متعددة المراكز الكيرالية)، وتتوفر في الطبيعة في صورة حرة أو على هيئة ايتروزيدية، تتفرع التريبنات الثلاثية في حلقة époxysqualéne -2.3- 3S وأحيانا من الـ squaléne نفسه المصنع حيويا (وهو المركب الأم لمختلف

التربينات الثلاثية)، وهي تحتوي في أغلب الأحيان على مجموعة هيدروكسيل في الموقع C_3 بسبب فتح الإيبوكسيد، وتمثل التربينات الثلاثية وحدة بيانية كبيرة معقدة نسبيا، تشمل حلقات متعددة مع بعضها [51].

1.3.2.II. تعريف

تؤلف التربينات المجموعة العظمى من منتجات المملكة النباتية والكثير من الزيوت الطيارة في النباتات العطرية حيث أنها تشتق من اسم تربين من المركبات التي يمكن فصلها "زيت التربين" التي يتم الحصول عليها من شجرة الصنوبر ...، تحتوي التربينات على مركبات ذات صيغ كيميائية تدخل في هياكلها مضاعفات من 5 ذرات كربون أو مضاعفات وحدة الايزوبين: وهي عبارة عن 2- ميثيل 1،3- بيوتادايين، يطلق على المركبات التي تحتوي على عدد من ذرات الكربون 10 أو 15 أو 25 اسم التربينات، يطلق على هذه القاعدة قاعدة الايزوبرين ، و**الشكل II.27** يمثل الوحدة الأساسية الإيزوبرينات التي تشكل التربين Terpène [52].



الشكل II.27: الإيزوبرين.

2.3.2.II. التصنيف

التركيب البنائي للتربينات تبنى من قوالب يحتوى كل منها على خمس ذرات كربون وهى ما تعرف لأيزوبرين Isoprène ، وتقسم التربينات إلى مجموعات تبعا لاحتواءها على وحدات الايزوبرين، تشمل لتربينات بنيات مختلفة فهناك بنيات كبيرة وأخرى صغيرة وهناك الخطية والحلقية وقد تحتوي على الأكسجين أو الآزوت . ويمكن تقسيم التربينات على أساس عدد وحدات isoprène إلى عدة أقسام ويمكن تلخيص ذلك في **الجدول 4.II** [52].

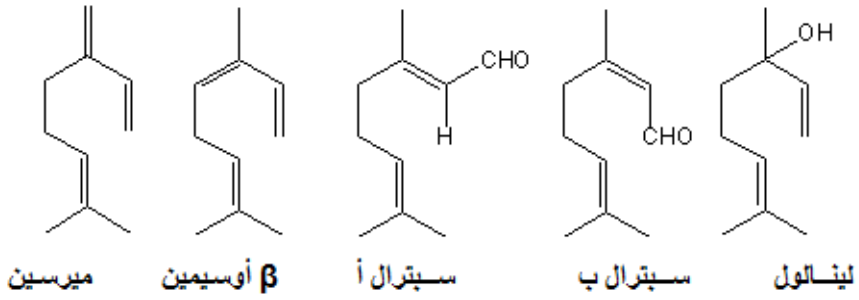
الجدول 4.II: تقسيم التربينات تبعا لعدد وحدات الايزوبرين.

التربينات	عدد ذرات الكربون	الصيغة الجزيئية	عدد الوحدات
أحادية	10	$(C_5H_8)_2$	2
سيسكوتربينات	15	$(C_5H_8)_3$	3
ثنائية	20	$(C_5H_8)_4$	4
سيستربينات	25	$(C_5H_8)_5$	5
ثلاثية	30	$(C_5H_8)_6$	6
رباعية	40	$(C_5H_8)_8$	8
عديدة	n*5	$(C_5H_8)_n$	N

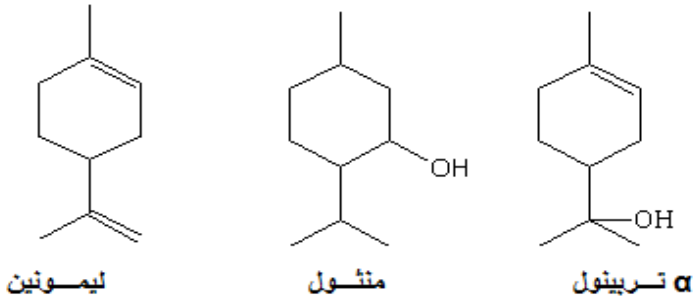
1 - تربينات أحادية

وهي أكثر الأنواع انتشارا في المملكة النباتية ويستخدم العديد منها في صناعة العطور ويعزي إليها الرائحة الزكية التي يتميز بها العديد من النباتات. والتربينات الأحادية يدخل في بنائها وحدتين أيزوبرين.

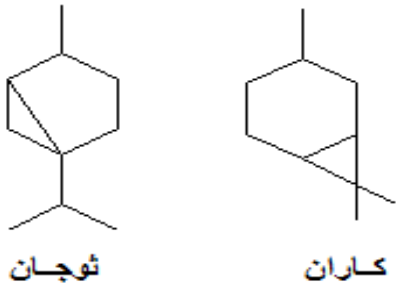
التربينات الأحادية قد تكون هيدروكربونات فقط لا تحتوي علي مجموعات وظيفية سوي رابطة أو أكثر من الروابط الثنائية وبعضها قد يحتوي علي مجموعة هيدروكسيل أو الدهيد أو سيتون أو غيرها ومنها الحلقية والمفتوحة ومنها أحادية الحلقة والثنائية الحلقة، كما في **الأشكال II.28-29- 30 -31** [53].



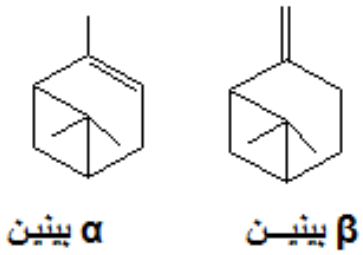
الشكل 28.II: تربينات أحادية مفتوحة الحلقة (لاحلقية).



الشكل 29.II: تربينات أحادية– أحادية الحلقة.

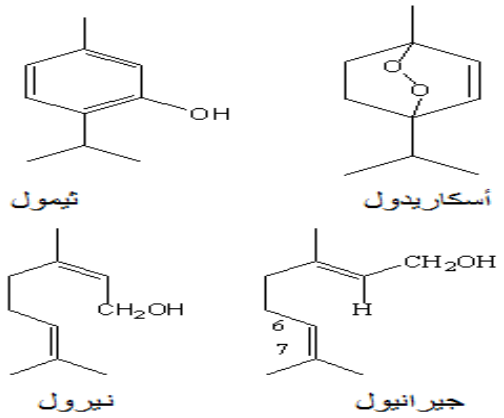


الشكل 30.II: تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– ثلاثية).



الشكل 31.II : تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– رباعية).

وتوجد في الطبيعة بعض التربينات الأحادية على هيئة أكسيد مثل مركب الأسكاريدول الذي يوجد في زيت الكينوديوم وهو طارد للديدان. وبعضها يحتوي على حلقة عطرية مثل مركب الثيمول ، الذي يوجد في زيت الزعتر ، كما في **الشكل 32.II** [53] .

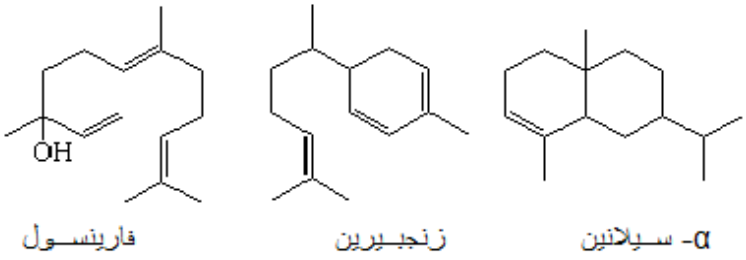


الشكل II.32: تربينات أحادية– ثنائية الحلقة (سداسية– خماسية).

يوجد الجيرانيول في زيوت الجيرانيوم واللافندر وزيت الزعتر، وللجيرانيول إيزومير وهو النيرول الذي يوجد في عشب الزنجبيل، والجيرانيول والنيرول سوائل عديمة اللون ولها روائح مستحبة [53].

2 - <u>سيسكوتربينات</u>

تتوافر في الزيوت الطيارة للنباتات العطرية، تتكون من ثلاثة وحدات أيزوبرين تتحد مع بعضها بطرق مختلفة فتنتج سيسكوتربينات مختلفة البناء فقد تكون مفتوحة أو حلقية أو أحادية أو ثنائية أو ثلاثية الحلقة ومنها الاوكسيجينية وغير الاوكسيجينية. السيسكوتربينات اللالكتونية هي الأكثر انتشارا في الطبيعة ويتركز وجودها في الفصيلة المركبة ومنها نباتات الشيح والبعثيران والأقحوان والقرطم ، و **الشكل II.33** يبين بعض الأمثلة عن السيسكوتربينات [52].



الشكل II.33 : سيسكوتربينات.

3 - <u>تربينات ثنائية</u>

تتكون من أربع وحدات أيزوبرين، وهي أما أن تكون لاحلقية (مفتوحة) أو حلقية وقد تكون أحادية الحلقة أو ثنائية أو ثلاثية أو رباعية. معظمها مواد صلبة والقليل منها يتوافر في الزيوت الطيارة والكثير منها تم عزله من

الراتنجات والأجزاء الخشبية للنباتات. توجد في نباتات الفصيلة الشفوية مثل نباتات الجعد والسدر والسالفيا. لبعض التربينات الثنائية نشاط ضد كل من البكتيريا والخلايا السرطانية[52].

من التربينات الثنائية اللاحلقية مركب الفايتول وهو ينتج من التحلل المائي للكلوروفيل المادة المسئولة عن عملية التمثيل الضوئي في عالم النباتات الخضراء ، و**الشكل 34.II** يبين بنية التربينات الثنائية اللاحلقية [52].

الشكل 34.II: التربينات الثنائية اللاحلقية.

من التربينات الثنائية أحادية الحلقة مركب الريتنول (فيتامين) وهو يتوافر في زيت كبد الحوت والقرش وبعض الخضروات ويؤدي نقصه إلى ضعف الأبصار عند الإنسان كما في **الشكل 35.II** [52] .

الشكل 35.II : تربينات ثنائية أحادية الحلقة.

من التربينات الثنائية الثلاثية الحلقة الكوران ويوجد في نبات السدر، كما في **الشكل 36.II** .

الشكل 36.II: تربينات ثنائية ثلاثية الحلقة.

4 - <u>سيستربينات</u>

يتكون من خمس وحدات أيزوبرين. تتوافر في الراتنجات ولا يعرف منها إلا القليل ويندر وجودها في الأجزاء الخشبية للنباتات [52].

5 - تربينات ثلاثية

تتكون من ستة وحدات أيزوبرين. مركبات صلبة تتوافر في الراتنجات ولكن توافرها في الأجزاء الخشبية يكون بشكل أكبر. لبعض التربينات أهمية بيولوجية والبعض منها لها تأثير على بعض الحشرات وأظهر البعض نشاطا ضد الميكروبات. تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية متعددة ويحتوي التركيب البنائي لها علي أربع أو خمس حلقات وهي الأكثر انتشارا في الطبيعة [51].

ومن التربينات الثلاثية أحادية الحلقة مركب السكوالين الذي يمكن الحصول عليه من زيت كبد القرش وزيت الزيتون وبعض الخضروات ، كما في **الشكل II.37** [51].

الشكل II.37: التربينات الثلاثية أحادية الحلقة مركب السكوالين.

6 -تربينات رباعية (الكاروتينويدات)

تتكون من 8 وحدات أيزوبرين ، تتوافر في جميع أنسجة النباتات التي لها القدرة علي القيام بعملية التمثيل الضوئي ، فهي تتوافر في الأجزاء الخضرية للنباتات الزهرية والطحالب والبكتيريا، كما تتوافر في الجذور وفي الأوراق الزهرية وعلى الأخص الأوراق الصفراء، ومن أمثلة ذلك β –كاروتين كما يوضحه **الشكل II.38** [52].

أمكن فصل أربعة متشكلات من الكاروتينويدات من نبات الجزر وهي α، β، γ، δ كاروتين وجميعها مواد ملونة ، وفصل من نبات الطماطم مركب من الكاروتينويدات يسمي الليكوبين وهو على هيئة بلورات حمراء. وتوجد مشتقات أكسيجينية للكاروتينويدات تسمي الزانثوفيلات مثل مركب الليوتين الذي يعتبر الصبغة الرئيسية في الفلفل الأحمر.

يتكون التربين الثنائي الريتنول من انفصام β كاروتين بواسطة البكتيريا في المخاط المعوي [52].

الشكل II.38: تربينات رباعية – β كاروتين

7 - التربينات المتعددة :

تنشأ التربينات العديدة من الإضافة المتكررة لوحدات الإيزوبرين إلى بعضها (**Polyisoprène**).

تتوافر في شمع الأوراق وعصارة الأشجار اللبنية، مثال لها المطاط الطبيعي الذي يوجد في الطبيعة على هيئة مستحلب لبني يحصل عليه من أشجار المطاط في بعض المناطق الاستوائية [52].

II.3.3.2. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية لتربينات :

- التربينات الاحادية عادة ما تكون على شكل سائل , بإستثناء مركب الكافور الذي يكون في حالة صلبة , الصيغ الموضحة السابقة لتربينات ذات البنى الاحادية غالبا ماتكون كيرالية حيث يمكن ان نجد المركب (R) (dextrogure) أو (levogyre) (S) كما في مركب Menthol الذي يحوي على 3 ذرات كربون غير متناظرة ممكن ان نجد ثمانية مماكبات فراغية على هيئة (S) أو (R) [52] .

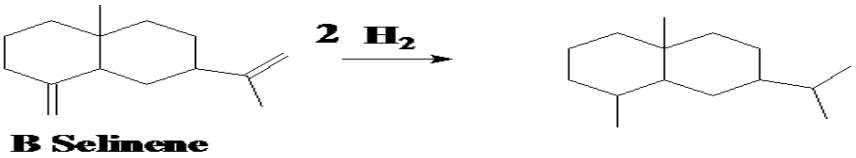
- التربينات الثنائية لها وزن جزيئ عالي بالمقارنة مع السيسكوتربان وهذا يؤدي إلى أن وجودها نادر في الزيوت الطيارة كما أنها بطيئة التبخر ومعدل أكسدتها أخفض [52].

- التربينات الثلاثية هي مركبات صلبة ، بيضاء ، أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية ، و هي مواد فعالة ضوئيا (متعددة المراكز الكيرالية) ، موجودة في الطبيعة في صورة حرة ، و يدخل في التركيب البنائي لهذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة , و يعرف حتى الوقت الحاضر حوالي 40 هيكلا بنائيا يتألف منها التركيب البنائي لجميع التربينات الثلاثية [51].

- تعتبر التربينات الاحادية جد نشطة نظرا لوجود الروابط المضاعفة المعزولة أو المترافقة .

- يمكن ان نجد أيضا تفاعل الاكسدة الذي يتعلق بموضع Allyl في التربينات وهاذا التفاعل شائع جدا مما يفسر حساسية العطور للهواء أما في ما يخص الكحولات (كحول تربيني) يمكن أن تتعرض لنزع الماء.

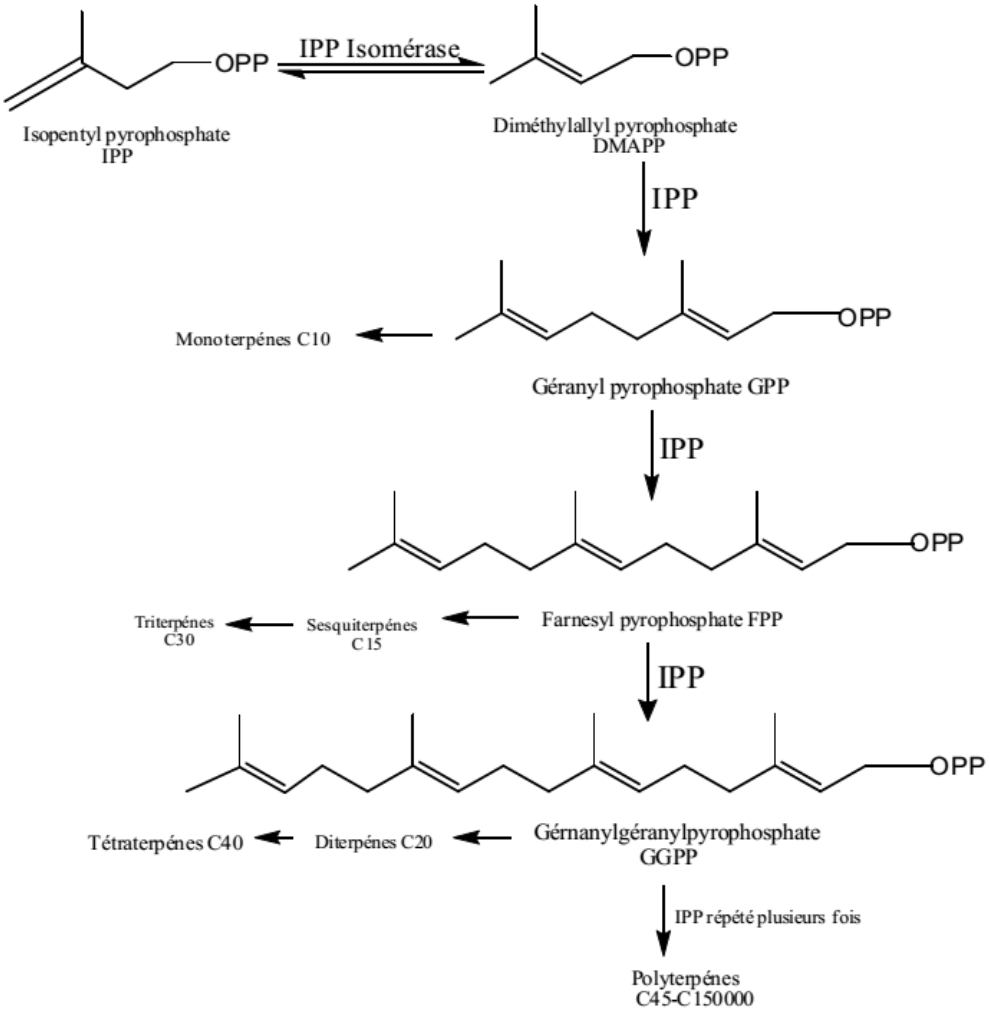
- من امثلة تفاعلات الهناء لدينا هدرجة بيتا سيلاينين في وجود عامل حفاز يِدي إلى ناتج صيغته الإجمالية ($C_{15}H_{28}$) مما يدل على أن هذا المركب يحتوي على رابطتين مضاعفتين كما في **الشكل II.39** التالي [52].



الشكل 39.II: تفاعل هدرجة بيتا سيلاينين

4.3.2.II. الإصطناع الحيوي للتربينات :

لقد أثبتت الدراسات أن الوحدة الأساسية لتشكيل التربينات ليست Isoprène ذاتها بل وحدة شبيهة لها و هي Isopentényl pyrophosphate (IPP) ، و **الشكل 40.II** يوضح الاصطناع الحيوي للتربينات إنطلاقًا من وحدة IPP [53].



الشكل 40.II :الإصطناع الحيوي للتربينات

II .5.3.2. الدور الفيزيولوجي للتربينات :

تلعب التربينات دورا كبيرا بالنسبة للنبات حيث تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات، كما أنها مسؤولة على اللون الأصفر للأزهار ، وتعد التربينات من المركبات الأساسية التي تدخل في الأدوية التقليدية، فلها العديد من التأثيرات الصيدلانية [54].

II.6.3.2. أهمية التريبينات :

- **أهمية التريبينات الثلاثية :**

إن الأهمية العلاجية والاستعمال الصناعي للتربينات الثلاثية يجعل منها منتوج الأيض ثانوي ذات أهمية أولى تبرز في: أهمية المقويات القلبية الاتروزيدية والتي لم يعوضها أي من المنتجات الاصطناعية تماما حتى الآن. كما تتميز بعض التربينات الثلاثية بخواصها المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة، فاللمونين *Limonine* هو الأساس المر لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية وخماسية الحلقة ذات الطعم المر *limonoids*، *quassinoids* والتي تظهر أساسا في الفصائل السذابية (*Rutaceae*)، السيماروبية *simarubacea*.

كما أنها ذات أهمية معتبرة في التصنيف الكيميائي في حين أن أهمية هرمونات *ecdysones* تكمن في أنها مضادات للحشرات، وهو ما يتيح للنبات حماية ذاتية من أضرار التي تسببها الحشرات [51].

- **أهمية التربينات في الطب :**

فبعض التربينات تكون إيزوميرات بعضها يسبب المرض والايزومر الآخر يساعد على علاجه .

وتستخدم التربينات في صناعة العقاقير الطبية كالفيتامين A [51].

- **أهمية التربينات في الصناعة :**

1- بعض التربينات تدخل في نكهات الأطعمة فمثلا :

- السترال يدخل في تكوين عصارة الليمون وله كذلك رائحة الليمون .
- الليمونين يوجد في الليمون والبرتقال .
- المينثول له رائحة النعناع .

- المنثون يوجد في زيت النعناع الحار .

2- تدخل التربينات في صناعة المطاط الطبيعي.

3- تدخل التربينات في صناعة العطور [55].

II.7.3.2. الفعالية البيولوجية لبعض التربينات :

تنسب إلى منتجات الأيض الثانوي التربيني العديد من الفعاليات البيولوجية حيث يمكن أن نشير إلى بعض تلك الفعالية المنسوبة لبعض جزيئات التربينات في **الجدول II.5** الآتي .

الجدول II.5 : الفعالية البيولوجية لبعض التربينات [56-57] .

التربينات	
نوع التربين	الفاعلية البيولوجية
Azuléne (Sesquiterpène)	Anti-inflammatoire مضاد للالتهاب
Thuyone (monoterpène)	Stupéfiant مخدر، مدهش
Linalol, Cinéol, géraniol (monoterpène)	Antiseptique مطهر
Ascaridol (monoterpène)	Vermifuge طارد للديدان
Jatrophane (diterpène)	Anti-cancer مضاد للسرطان
Paralian (diterpène)	Anti-VIH مضاد للسيدا

المراجع بالعربية :

[1] حسين دندوقي (1989). دراسة الميتابوليزم الفلافونيدي لنبات Inula viscosa، مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة ، ص 13.

[51] حسين دندوقي (2002). دراسة الأيض الثانوي الفلافونيدي والتربيني لبعض أنواع الضايات الصحراء *الجزائرية* . مذكرة دكتوراه دولة في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة، ص 56، 72، 73 ، 86 ، 87.

المراجع اللاتنية :

[2] M. Hhurableille (1980). Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom 1 Généralisés. Mongraphies. Masson, p.10-18 ,261-266

[3] L. Delille (2007), Les plante médicinale d'Algerie, Berti Editions, Alger, p. 16,17

[4] Arnold Brossi, The Alkaloïds, Chemistry and Pharmacology, Academic Press, 1989.

[5] Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako p.10.

[6] Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. p.32

[7] Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

[8] Jacques E. Poisson (2011) , article Alcaloïdes, Encyclopædia Universalis .

[9] Rakotonanahary, M. (2012). thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

[10] R. Manske (1981) ,The Alkaloids: Chemistry and Physiology, Chemistry and Physiology, Volume 1 à 20, Academic Press Inc.

[11] Cyril, T. (2001).étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de Catharanthus Roseusen, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. p. 28

[12] Tadeusz Aniszewski (2007) , Alkaloids - Secrets of Life, Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, Elsevier .

[13] Wilhelm, N. (1998). Botanique générale. 10eme Ed. De boeck. Paris, bruxcelles. p.319

[14] Berkov S., Zayed R. Doncheva T. (2006),"Alkaloid patterns in some varieties of Datura stramonium″, Fitoterapia, 77, 179-182.

[15] Demeyer K. Dejaegere R. (1997), "Nitrogen and alkaloid accumulation and partitioning in Datura stramonium L. , ″ Journal of Herbs,Spices & Medicinal plants, 5, 15-23.

[16] Bahorun, T. (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias. p83-94.

[17] Nkhili, Ez-zohra. (2004). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier. p.378

[18] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. p45, 287–306.

[19] Paul Arnaud (1994), Cours de chimie organique - Premier cycle universitaire, Dunod , p. 312, 471 (ISBN 2 04 019716 8)

[20] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier (2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)

[21] Bruneton, J. (2009), Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, p.1120, 1288 ISBN 978-2-7430-1188-8)

[22] Laraoui, H. (2007). "Etude Phyotchimique L'Extrait Chloroformique de BupleurumAtlanticum"Docteur de l'université Louis pasteur (Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna).

[23] Lee, Hur, H.J., Lee, C. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. J. Agric. Food Chem. p53, 1990-1995

[24] Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S., et Hansen. (2000). Content of phenolic acids dehydrodimersin 17 rye (Secale Cereale L.) varieties, J.Agric. Food Chem. p48, 2000, 2837.

[25] Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001).The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. Food and Chemical Toxicology, p39, 153-162

[26] Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol.Therapeut. p96, 67– 202

[27] Naught MC, Alan D; Wilkinson, Andrew; IUPAC(1997), "IUPAC Compendium of Chemical Terminology", Flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) (2 ed.), Oxford: Blackwell Scientific, doi:10.1351/goldbook.F02424

[28] Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., inganusong, R., Chen, S.S.(2004). Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. Food Hum. Nutr, 59: 113-122.

[29] Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol.Therapeut. p96, 67– 202

[30] Edenharder, R., Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. Mutat. Res. p540, 1–18.

[31] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier(2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, p. 398 (ISBN 2-7430-0805-9).

[32] - Umezawa, T. (2003). Diversity in lignan biosynthesis. Phytochem. Rev. 2(3): 371-390

[33] J.F. Morot Gaudry, Les Lignines, Introduction, Académie d'Agriculture de France, 2010.

[34] - Mueller-Harvey, I. (2001). Analysis of hydrolysable tannins. Anim. Feed Sci.Technol. p91, 3-20.

[35] Schofield, P., Mbugua, D.M. et Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. Anim.Feed Sci. Technol. p91, 21-40.

[36] Osman, A. M.; Wong, K. K. Y.; Fernyhough, A. (2006). "ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts".

Biochemical and Biophysical Research Communications. 346 (1): 321–329.

[37] Sabiha Achat. (2013) , Polyphenols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions metalliques, thèse de doctorat, Universite A. MIRA-BEJAIA

[38] C. Ekouma (2003), Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisees dansle traitement des infections urinaires de la cystite, thèse de doctorat, Université de Bamako, p.30,31.

[39] - Middleton et al., (2000) ; Ksouri et al., (2007). (Activite-antioxydante composes-phenoliques pdf).

[40] Chun OK., Chung SJ, Song WO. (2007), « Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults », The Journal of nutrition, vol. 137, no 5, p. 1244-1252 .

[41] Halliwell, B.(1994) « Free radicals and antioxidants : a personal view» Nutr. Rev. 52: 253-265.

[42] Mc.Lure, J.W. (1975) In « Physiology and Fonction of flavonoids» (Harborne, J.B. eds) Chapman and Hall. London, 970-1055.

[43] - Maillard, M. N., (1996). Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. 148p.

[44] Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L. thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

[45] . Mabry, T.J., Thomas, M.B., Markham, K.R.(1970) « The systhematic identification of flavonoids », p. 13, Springer-Verlag, Berlin .

[46] . Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F.(1999) « Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs » Review. Life Sci. 65: 337-53.

[47] Landolfi, R., Mower, R.L., Steiner, M.(1984) « Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids » Structure-activity relations. Biochem Pharmacol. 33:1525-1530.

[48] Izzo,A.A.(1996) « PAF and the digestive tract » A review. J. Pharm. Pharmacol. 48: 1103- 11.

[49] Scutt, A., Meghji, S., Canniff, J.P., Harvey, W.(1987) « Stabilisation of collagen by betel nut polyphenols as a mechanism in oral submucous fibrosis» Experientia. 43: 391-393.

[50] Makimura, M., Hirasawa, M., Kobayashi, K., Indo, J., Sakanaka, S.,Taguchi, T., Otake, S.(1993) « Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity » J Periodontol. 64:630-636.

[52] Said Rahal(2009)."Chimie des produits naturels et des êtres vivants",Alger, p.13 , 26-30. ISBN : 9961.0.0775.1.

[53] E. Kolli (2013), Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires d'espèces du genre Centaurea. Activité cytoxique. Thèse de doctorat. Constantine : université Constantine 1,18-19p.

[54] Eberhard Breitmaier (2006). Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones. John Wiley & Sons. pp. 1–13. ISBN 3527317864.

[55] C. Ekouma (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisees dansle traitement des infections urinaires de la cystite, thèse de doctorat, Université de Bamako, p.30,31.

[56] L.Messal (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (Artemisia Herba Alba). Thèse de doctorat, Université de Constantine , p. 9 .
[57] B.Ramli (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante Inula viscosa de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. thèse de Magister. Université d'Oran, p.33.

الفصل الثالث

الفعالية المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة

1.III الفعالية المضادة للبكتيريا

1.1. III مقدمة

تحمل المملكة النباتية الكثير من أنواع النباتات التي تحتوي على مواد ذات قيمة دوائية والتي لم يتم اكتشافها ويتم فحص كمية كبيره من النباتات باستمرار لمعرفة قيمتها الدوائية .

في مطلع القرن العشرين تطور موضوع علم العقاقير بشكل أساسي من الجانب النباتي العلمي ، كونه متعلق بشكل خاص في وصف وتحديد العقار ، م عظم الدراسات العقارية تركز على النباتات الصيدلانية والأدوية المستمدة من النباتات.

ولمعرفة اهمية العقاقير النباتية لابد من دراسة الفعالية البيولوجية ، التي تهتم ب دراسة المواد الكيميائية المشتقة من النباتات وتأثيرها على نمو أنواع بكتيرية ممرضة مختلفة [1] .

2.1 . III البكتيريا

1.2.1.III تمهيد

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى ، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض واستعمل بعضها في عمليات تخمر مختلفة .

ولقد كان لاكتشاف المجهر الأثر الكبير في التعرف عليها , أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي "باستير" حيث اكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر واكتشف أيضاً طعومها وارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن ان توجد بالسوائل وخاصة الحليب .

أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا .

ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيراً بالأمراض التي تسببها للإنسان , ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه العادمة والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [2].

2.2.1.III تعريف البكتيريا:

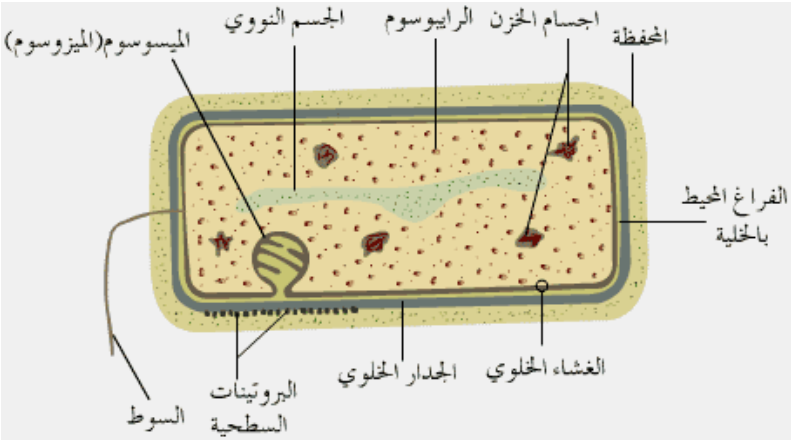
البكتيريا كائنات دقيقة الحجم ، لا ترى إلا بالمجهر ، توجد البكتيريا في كل مكان، في الهواء وفي الماء، وعلى جسم الإنسان وداخل قناته الهضمية وجهازه التنفسي .

وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية[3].

3.2.1.III خصائص البكتيريا:

- ✓ البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يراوح حجمها بين 0.3-2 ميكرون.
- ✓ كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .
- ✓ تتميز ببساطة التركيب :

إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كرومو زوماً حلقياً واحدا DNA ولا يحتوي على بروتين الهستون وقد يحتوي على واحد أو اكثر من جزيئات DNA على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموسوم ، والرايبوسومات وبعض الأجسام التخزينية و **الشكل 1.III** يوضح بنيتها .



الشكل 1.III : الخلية البكتيرية وبنيتها

- ✓ تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس , متماسك , متمم للبكتيريا , وهو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الإضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة .

وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف الخلية تدعى capsule .

- ✓ درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37-45°م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة [4].

4.2.1.III تصنيف البكتيريا: صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير:

- **من حيث توزيع أسواطها:** فيمكن تقسيمها إلى [5] ؛

1 -بكتيريا وحيدة السوط .

2 -بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد.

3 -بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل الخلية.

- **من حيث الشكل :**

1 -البكتيريا العصوية (Bacilli): التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.

2 -البكتيريا الكروية (Cocci): التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة .

3 -البكتيريا الحلزونية (Spiral):التي تأخذ الشكل الحلزوني.

4 -البكتيريا الواوية (Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية [5] .

- **من حيث الوسط التي تعيش فيه:** فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع [5] ؛

1 -بكتيريا هوائية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

2 -بكتيري الاهوائية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط ، في غياب الهواء الجوي.

3 -بكتيريا لاهوائية اختيارية (Anaerobic Facultative) : وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو ، في ظل وجود الهواء الجوي أوعدمه.

- **من حيث التغذية :** فيمكن تقسيمها إلى نوعين [5] ؛

1 -بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.

2 -بكتيريا عضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر.

- **من حيث طريقة التلوين (GRAM):**

يمكن توضيح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين , حسب تقنية **(GRAM)** نسبة للعالم **J.GRAM** المكتشفة سنة 1884 , واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

1- بكتيريا (gram positive) : ويرمز لها بالمز +GRAM عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.

2- بكتيريا (gram négative) : ويرمز لها بالمز -GRAM تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) , أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram négative) [6] .

- **من حيث الأثر على الإنسان:** يمكن تقسيمها إلى نوعين ؛

1- بكتيريا نافعة :

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة ، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام ، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم، مثل الفيتامينات ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة. وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، ويلعب دوراً هاماً في غذاء النبات؛ إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أوليّ، يستطيع من خلاله النبات أن يكوّن البروتين ، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، وكذا المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان. ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا نتاج عمل البكتيريا النافعة.

و حديثاً تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث. ويطلق على كل هذه الأنواع البكتيرية اسم البكتيريا النافعة (Beneficial Bacteria), ويطلق على هذا النوع من البكتيريا اسم البكتيريا الممرضة (Pathogenic Bacteria)[7] .

2- البكتيريا الإنتهازية :

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها، عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب، تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديداً من الأمراض، وذلك، على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين. ويطلق على هذه البكتيريا، اسم البكتيريا الانتهازية (Opportunistic Bacteria) [7].

3- البكتيريا الضارة :

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة , وذلك على نحو ما يحدث في أمراض؛ السل، والكوليرا ، والتيفويد ، والسعال الديكي ، والزهري والسيلان .

✍ ومن بين البكتيريات الضارة و المسببة للأمراض ؛

- **إشيريشيا كولي *Escherichiacoli*** : هي بكتيريا ذات -Gram , وهي البكتيريا التي تنتمي إلى؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Proteobacteria**
القسم	**Gammaproteobacteria**
الرتبة	**Enterobacteriales**
العائلة	**Enterobacteriaceae**
النوع	***Escherichia***
الصنف	***Escherichiacoli***

وهي بكتيريا هوائية ذات غرام سلبي , تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة , تكون متحركة على شكل عصيات, مسببة للأمراض من هذه الأمراض : أمراض الجهاز البولي , الإسهال الطفيلي إلتهاب السحايا وتسمم الدم [7-8].

وهناك عدة سلالات وقد إخترنا منها : ***E. coli ATCC 25922***

- **ستافيلوكوكيز أروز *Staphylococcus aureus*** :

هي بكتيريا ذات + Gram تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Firmicutes**
القسم	**Bacilli**
الرتبة	**Bacillales**
العائلة	**Staphylococcaceae**
النوع	***Staphylococcus***
الصنف	***Staphylococcus aureus***

وهي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لـــــون أصفر براق , عديمة الحركة , تكون عناقيد على شكل أكوام , وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه . هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد و تسبب تسمم الغذاء وتتسبب في إلتهابات جلدية خطـــيرة , ويتسبب هذا الـــنوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل انتشارها في الأماكن المزدحمة المغلقة ،وقد تسببت البكتيـريا في موج ـــات وبائيـة ووفيات هائلة نتيـجة التهـــابات الرئتين، وخراريـج المـخ ، وأمراض السحايا، وتسمم الدم، وغيرها من أمراض القاتلة [7،9].

وهناك عدة سلالات وقد إخترنا منها :

- ❖ ***Staphyloccocus aureus ATCC 6816***
- ❖ ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante***

- **العصوية الشمعية أو باسيلس سيريس باللاتينية (*Bacillus cereus*) :**

هي بكتيريا متوطنة تَعيش في التربة ، وهي بكتيريا ذات +Gram وهي عصوية الشكل ومُتحَرِكة. هذه السُلالة تُسبب المرض للإنسان والتي تَنتقل إليه عبر الأغذية الملوثة ومدة المرض من 6-24 ساعة ، هذا نتيجة لتناول الأطعمة المعلبة بعد الطبخ وبعد الاستعمال الأول (الأرز المطبوخ على سبيل المثال).

التسمم الغذائي التي تسببه العصوية الشمعية يأخذ شكلين:

1. شكل قيء ، يرافقه غثيان.
2. شكل الإسهال، يرافقه ألم في البطن .

في كلتا الحالتين ، هو حميد العدوى ، عادة في غضون 24 ساعة ، في حالة حدوث تسمم ، قد يكون هناك إرتشار للبكتيريا على شكل التهابات كإلتهاب السحايا وغيرها .

طرق الوقاية: عدم ترك الأغذية المطبوخة بحرارة الغرفة لأكثر من ساعة والتبريد السريع للطعام وحفظها الثلاجة [10-13] .

وهي تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Firmicutes**
القسم	**Bacilli**
الرتبة	**Bacillales**
العائلة	**Bacillaceae**
النوع	***Bacillus***
الصنف	***Bacillus cereus***

ولها عدة سلالات وقد إخترنا منها : ***Bacillus cereus ATCC 14579 .***

- **كلبسولابنوموني *Klebsiella pneumoniae* :**

هي بكتيريا ذات Gram- والتي تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Proteobacteria**
القسم	**Gammaproteobacteria**
الرتبة	**Enterobacteriales**
العائلة	**Enterobacteriaceae**
النوع	***Klebsiella***
الصنف	***Klebsiella pneumoniae***

وتتواجد في الجهاز التنفسي والمثانة البولية للإنسان وهي من البكتيريات الإنتهازية , حيث تتسبب في الأمراض التنفسية و البولية مثل ؛ (إلتهاب الرئة , الضيق التنفسي ....) وتسبب أيضا تعفن الدم حين الصدمات [14].

وهناك عدة سلالات وقد إخترنا منها :

- ***Klebsiella pneumoniae CIP 104727***
- ***Klebsiella pneumoniae CIP 105705***

- **اللستيريا مولدة للوحيدات *Listeria monocytogenes***

هي بكتيريا ذات Gram+ ، و الليستيريا سميت على اسم مكتشفها جوزيف ليستر .
هذا هو النوع الوحيد من جنس الليستيريا الممرضة للإنسان، مما تسبب داء الليستريات . وهي على شكل عصية صغيرة، لاهوائية إختيارية تستطيع العيش بوجود الأكسجين أو بغيابه . ، تتواجد في كل مكان (التربة والنباتات والمياه).
ووفقا لبعض الدراسات فإن من 1-10٪ من البشر هم حاملين أصحاء للبكتيريا *monocytogenes* المتواجدة في أمعائهم [15].

البكتيريا عند تناولها في أي طعام يمكن أن تمر من خلال جدار الأمعاء وتحدث أعراض مختلفة مثل الانفلونزا ، وخاصة في النساء الحوامل ، وفي الجنين والطفل (التهاب السحايا حديثي الولادة على وجه الخصوص أو الإجهاض أو infantiseptica تورمات ناتجة عن تلوث بالمشيمة) [16].

وهي البكتيريا التي تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Firmicutes**
القسم	**Bacilli**
الرتبة	**Bacillales**
العائلة	**Bacillaceae**
النوع	***Listeria***
الصنف	***Listeria monocytogenes***

وهناك عدة سلالات وقد إخترنا منها : ***Listeria monocytogenes ATCC 19115***

- **زائفة زنجارية *Pseudomonas aeruginosa***

هي بكتيريا ذات -Gram منتشرة بكثرة، يمكن أن تسبب أمراض عند الحيوانات بما فيها البشر . وهي تعتبر ايجابية السترات، وتحوي انزيم الكاتالاز (Catalase) ، و كانت نتيجة إختبار الاوكسيداز لها إيجابي. تتواجد هذه البكتيريا في التربة، والمياه، والنباتات، والجلد، ومعظم البيئات سواء الطبعية، او التي هي من صنع الإنسان وتتواجد في جميع أنحاء العالم. تزدهر هذه البكتيريا في الأجواء طبيعية، بل أيضا في الأجواء قليلة الاكسجين، ومن ثم توسعة لتشمل العديد من البيئات الطبيعية والاصطناعية ، وفي البيئة الحيوانية تتغذى على مجموعة واسعة من المواد العضوية، و أيضا لديها إمكانيات متعددة، فعند اصابتها للكائن الحي تدمر أنسجته وتصيب الكائنات التي تعاني من نقص في المناعة [17].

من أعراض أمراضها هي التهاب المعمم وتعفن الدم ، وإذا كان انتشارها يحدث في أجهزة الجسم الحيوية مثل الرئتين أو المسالك البولية أو الكليتين، يمكن أن تكون قاتلة نظراً لأنها تتغذى على السطوح الرطبة.

وهي أيضا من مسببات طفح الحمام الحار الجلدي، وهي أيضا قادرة على تحليل المواد الهيدروكربونية وقد استخدمت لتكسير القطران والنفط عند حدوث تسرب في النفط[18-19] .

وهي تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Proteobacteria**
القسم	**Gammaproteobacteria**
الرتبة	**Pseudomonadales**
العائلة	**Pseudomonadaceae**
النوع	***Pseudomonas***
الصنف	***Pseudomonas aeruginosa***

وقد إخترنا منها ؛ ***Pseudomonas aerigunosa HM 627579***

من الامراض التي تسببها البكتيريا الزائفة زنجارية :

وهو مرض إنتهازي، يسبب للفرد امراض نقص المناعة داخل المستشفيات ، الزائفه الزنجارية عادة ما تصيب الشعب الهوائية والمسالك البولية، الحروق، الجروح، ويسببأيضا التهابات الدم الاخرى ، و**الجدول III .1** الموالي يبين بعض أنواع الإلتهابات المذكورة [20] ;

جدول III .1: أنواع الإلتهابات التي تسببها البكتيريا الزائفة زنجارية .

الالتهابات	الفئات المعرضة للخطر
الإلتهاب الرئوي	مرض التليف الكيسي
عدوى المسالك البولية	-
إلتهاب المعدة والأمعاء	الأطفال ومرضى السرطان
إلتهاب الجلد والأنسجة اللينة	ضحايا الحروق والمرضى الذين يعانون من التهابات الجروح

ومنه نقول أن الزائفة الزنجارية ؛

- هي السبب الأكثر شيوعا لالتهابات جروح الحروق للأذن الخارج يق (إلتهاب الأذن الخاجية) ، وهي أيضا المستعمرة الأكثر جذبا في الأجهزة الطبية ، حيث يمكن للزائفه أن تتنتشر عن طريق المعدات الطبية الملوثة والتي لم تحصل على تنظيف صحيح أو عن طريق أيدي العاملين في مجال الرعاية لصحية [21] .
- كما يمكن للزائفة أن تتسبب في الالتهابات الرئوية المكتسبة من المجتمع ، فضلا عن الاتهابات الرئوية المرتبطة بالتنفس الصناعي، حيث أنها واحدة من أكثر العوامل المسببة المعزولة في العديد من الدراسات [22-23] .
- مرضى التليف الكيسي مهيئون للاصابة بالزائفة الزنجارية في الرئتين ، وبما أن هذه البكتيريا تحب البيئات الرطبة، مثل أحواض المياه الساخنه وحمامات السباحه ، فالزائفة الزنجارية قد تكون سبب شائع لـ " طفح الحمام الساخن " (التهاب الجلد) و إلتهاب الأذن الخارجية "أذن السباح"، الناتج عن قلة الاهتمام المناسب والدوري لنوعية المياه [21].
- هي السبب الأكثر شيوعا لالتهابات الحروق ، وعدوى ما بعد الجراحه عند المريض.
- الزائفه الزنجاريه كثيرا ما ترتبط مع التهاب العظم النقي الناجمة عن الجروح في القدم.

- **السَّلْمونيلَةُ التِّيفِيَّةُ الفَأْرِيَّة : (*Salmonella typhimurium*)**

السلمونيلا جنس من العصيات المعوية ذات Gram- لاهوائية لا تشكل أبواغاً وتنتج كبريت لهيدروجين طولها بين 1 و7 µm ، وسمكها 0.3 - 0.7 µm [24].

تمت تسمية البكتيريا على اسم العالم دانيال سالمون (1850–1914)، وهو اختصاصي أمريكي بالبابتولوجيا .

أغلب أنواعها قادر على الحركة بفضل الأهداب المحيطية ، تشكل مستعمرات مستديرة بيضاء ضاربة إلى الرمادي على أوساط الزرع الصلبة ، وفي الأوساط السائلة تشكل عكراً وراسباً وأحياناً أغشية .

أغلب السلمونيلات ممرضة (التهاب المعدة والأمعاء) ، ويكون بداية الظهور عموما خلال 8–12 ساعة بعد تناول الطعام ، ومن أعراضها ؛ ألم في البطن والاسهال ، وأحيانا الغثيان والقيء، والأعراض تستمر ليوم أو أقل، وعادة ما تكون خفيفة ، ويمكن أن تكون أكثر خطرة عند كبار السن أو عند الوهن .

يقسم الجنس إلى عدة أنواع تشمل حوالي 1200 نمط [25] ، تختلف عن بعضها بالبنية والخواص الكيميائية الحيوية [26] وهي تنتمي إلى ؛

التصنيف العلمي	
المملكة	**Bacteria**
التصنيف	**Proteobacteria**
القسم	**Gammaproteobacteria**
الرتبة	**Enterobacteriales**
العائلة	**Enterobacteriaceae**
النوع	***Salmonella***
الصنف	***Salmonella typhimurium***

وقد إخترنا نوع معين من هذه السلاسلات وهي : ***Salmonella typhimurium ATCC 13311***

علاج هذه الأمراض الناجمة عن البكتيريا , يتم عن طريق استعمال المضادات الحيوية .

- فما هي المضادات الحيوية وما طريقة تأثيرها ؟

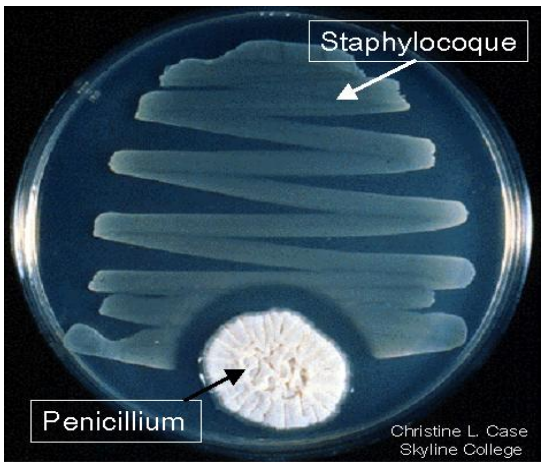
III 3.1. المضادات الحيوية:

III 1.3.1. تعريف المضادات الحيوية :

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ، ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيراً عن التعريف الحالي والذي ذكره waksman سنة 1945 ، في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراد مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات [27].

III 2.3.1. المضادات الحيوية تاريخيا :

رغم أن مفهوم المضاد الحيوي لم ينشأ إلا في القرن العشرين ، إلا أن أستخدامها قد بدأ في الصين منذ أكثر من 2500 سنة . و كثيرا من الحضارات القديمة كالحضارة الفرعونية و الحضارة الأغريقية قد أستعملوا النباتات في علاج الكثير من الأمراض و العدوى دون التنبه إلى المادة الفعالة داخل النباتات . فى ألمانيا عام 1909 طور بول أرليك (Paul Ehrlich) مضاد حيوي ضعيف المدى أسمه سالفرسان (Salvarsan) و أستخدم في علاج السيلان الذى كان منتشر بكثرة في هذه الفترة ، و كان الإكتشاف الحقيقي للمضادات الحيوية في إنجلترا عام 1928 بواسطة ألكساندر فليمينج (Alexander Fleming) حيث أكتشف البينسلين وأثبت أن عفن *Penicillium notatum* ينتج مادة البنسلين القادرة على القضاء على بعض أنواع الجراثيم مثل *Staphylocoque* و **الشكلIII 2.** يوضح هذه الفعالية .



الشكلIII 2. : فعاليةالبنيسلين ضد بكتيريا *Staphylocoque*

وبعد عشرة أعوام قام أرنست تشين و هاورد فلوري بتحضير نوع صافى من البينسلين وحصل الثلاثة على جائزة نوبل في الطب عام 1945.

ومنذ ذلك الوقت اكتشفت مئات من المضادات الحيوية، وأمكن التعرف عليها واستعمل بعضها في العلاج الداخلي للإنسان [28].

III 3.3.1. أنواع المضادات الحيوية :

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين [29]:

- ✓ مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية : يمنع تكاثرها ، وهو مايساعد في القضاء عليها مثل: سلفوناميد, كلورامفينكول .
- ✓ مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية : إما عن طريق التأثير على جدار خليتها ، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها و انفجارها ،أوبمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل :أمبسلين , جنتاميسين , بنسيلين .

III 4.3.1. تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب , أو كبح الميكروبات , وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Cell Wall) , أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell) , او يعمل على مستوى الخلية لايقاف تصنيع البروتين (Protein Synthesis) [30].

- **العمل على جدار الخارجي للبكتيريا :** المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane .

وهذا يوقف نموها وعملها ويمكن ان يشمل تدمير تلك الأخيرة بالفعل ، وتعمل وفق هذا الاسلوب من العمل [30]:

- ✓ بنسلين Penicillin .
- ✓ سيفلوسبورين Cephalosporin .
- ✓ فانكوميسين Vancomycin .
- ✓ سيكلوسبرين Cyclosporine .

العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا :

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذيه الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية) ، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا ، هذا ما يسمح بتدميرها , مثل ؛ polymyxines (lipopeptides cycliques) يعمل وفق هذا الاسلوب من العمل [30].

العمل على تثبيط نمو ADN : يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN–ADN , حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN للبكتيرية وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل [30] :

- ✓ ستربتوميسين Streptomycin
- ✓ كاناميسين Kanamycin
- ✓ أرثروميسين Erythromycin
- ✓ ريفامبيسين Rifampicin
- ✓ سبترين Septrin

III 5.3.1. طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية

تمهيد:

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة .

بعض المضادات الحيوية تملك فاعلية (كبير ة أو صغيرة) الذي يختلف حسب البكتيريا الحساسة لفعل المضاد .

- **نظرية** : معرفة الفاعلية للمضادات الحيوية (المقاومة الطبيعية للبكتيريا) تسمح بالقيام بالمعالجة .
- **حقائق** : البكتيريا تستطيع أن تملك مقاومة للمضاد الحيوي بتعديل أساسي لجيناتها .
- **نتيجة** : معرفة العنصر البكتيري لا يسمح بتوقع الفاعلية للمضاد الحيوي[28–30].

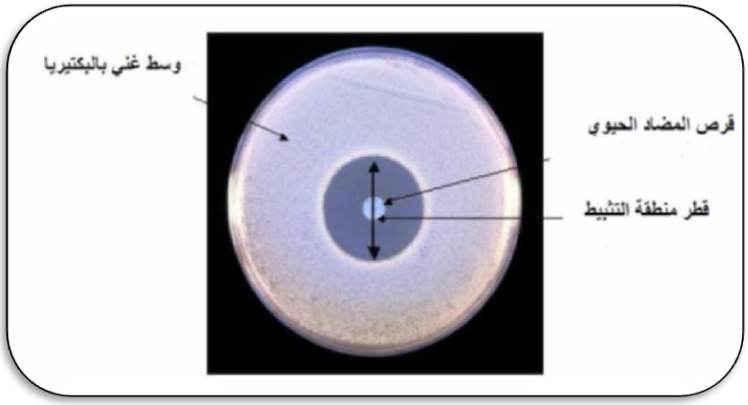
- **خواص الجذمة البكتيرية (la souche bactérienne) :**

في علم الطب , حتى تتم المعالجة يجب معرفة تركيز المضاد الحيوي للقضاء على البكتيريا وذلك من خلال مضاعفة التركيز حتى الوصول للمطلوب حيث بإرتفاع التركيز تقل مقاومة البكتيريا .

- **كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:** ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الإنتشار .

طريقة الإنتشار (Méthode de diffusion): من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وتقدير تركيز المضاد الحيوي القادر على احداث هذا التأثير , نلجأ الى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار على وسط صلب , حيث تحضر الاقراص بورق واتمان الذي يشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تاثيرها على البكتيريا) وتوضع في احواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح , وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها ، وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الاخرى[28،31].

و **الشكل III .3** يبين قطر منطقة التثبيط بدلالة تركيز معلوم .



الشكلIII .3 : قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

وفي هذه الدراسة إخترنا نوعين من المضادات الحيوية وهي :

- **بنسلين (Penicillin) :** وهي من أهم وأقدم المضادّات الحيويّة ودورها هو إيقاف تصنيع الجدار الخلويّ البكتيريّ ، وهي تؤثر في الغالب على البكتيريات + Gram [32].

- **بوليميكسين B (Polymyxin B):** وهو مضاد حيوي ، لديها عمل مبيد للجراثيم ضد جميع العصيات -Gram [33].

6.3.1.III البكتيريا المقاومة للمضاد الحيوي :

خلال القرن العشرين الماضي، شكل إكتشاف وتطوير الأنواع المختلفة من المضاد الحيوي ثورة في علاج الأمراض المعدية ، حيث لديها قدرة فائقة على مقاومة الأمراض والعدوى التي تسببها الجراثيم والميكروبات. إلى أن إخترقت الأدوية المضادة للميكروبات مجال الممارسة العملية، فقد أدى ذلك إلى تطور ظهور جراثيم مقاومة لتأثير الأدوية المضادة للميكروبات مما يجعل هذه الأدوية غير فعالة في علاج ومقاومة الأمراض [34].

- فما هي مقاومة المضادات الحيوية؟

- **تعريف :**

هي قدرة الميكروبات (البكتيريا، الفطريات، الفيروسات، الطفيليات) الممرضة على البقاء والتأقلم بشتى الطرق لملائمة البيئة المحيطة على الرغم من اعطاء أكثر من نوع من المضادات الحيوية [34].

- **أسباب مقاومة المضادات الحيوية:**

تكون المقاومة على شكل طفرة جينية تلقائية أو مكتسبة أو إكتساب جين مقاوم من بكتيريا أخرى حتى وإن كانت من سلالة أخرى وذلك عن طريق عملية نقل الجين الأفقي (horizontal gene transfer) ويعود سبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات بسبب التعرض الكثير للمضادات الحيوية وصرفها بدون وصفة طبية وبالتالي ظهور أجيال جديدة من البكتيريا المقاومة والذي يدعو إلى استخدام خطط علاجية بديلة.

على الرغم من أن المضادات الحيوية تقتل البكتيريا، الا أنها ليست فعالة ضد الفيروسات. ولذلك، فإنها لن تكون فعالة ضد العدوى الفيروسية مثل نزلات البرد، والسعال، وأنواع كثيرة من التهاب الحلق والانفلونزا ، فاستخدام المضادات الحيوية ضد الالتهابات الفيروسية لن تعالج العدوى، لن تساعد الشخص بالشعور على نحو أفضل،فلا لزوم لها، والآثار الجانبية لها ضارة جدا. وقد تساهم في تطوير البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية [34].

- **مضاعفات مقاومة المضادات الحيوية:**

- قد تؤدي كثرة تناول المضادات الحيوية للإصابة بالإسهال نتيجة لمقاومة البكتيريا للدواء، أو الإصابة بالاتهابات الفطرية لدى النساء.
- تؤدي مقاومة المضادات الحيوية لوجود أنواع جديدة مقاومة من البكتيريا مما يعني ظهور بعض الأمراض والآعراض التي تحتاج آليات جديدة في العلاج.
- تدهور بعض الحالات المصابة بعدوى ناتجة عن بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية، مما يزيد من فرص تدهور الحالة وتعرضها للوفاة.
- تقلل مقاومة المضادات من فاعلية العلاج مما يعني بقاء المرضى ناقلين للعدوى لمدة أطول مما يزيد من فرص انتشار المرض ألشخاص آخرين [34].

- **الوقاية من مقاومة المضادات الحيوية:**

للمرضى والعاملين في مجال الرعاية دورا هاما في مكافحة ومقاومة المضادات الحيوية على حد سواء. حيث يستطيع المريض الحد من مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وذلك بترشيد إستهلاك الأدوية المضادة للميكروبات حاليا واستخدامها بحكمة ومنهجية عن طريق:

- حصر إستخدامها فقط عند الضرورة الفعلية لها في الاستخدامات الطبية وفي الحالات التي تكون فاعليتها مثبتة.
- تحديد الأطباء لمسببات المرض (نوع الجراثيم المسببة للمرض) ونوع الأدوية المضادة لها بفاعلية قبل البدء في أي علاج بالأدوية المضادة للميكروبات.
- تطوير فئات جديدة من الأدوية المضادة للميكروبات.
- إتباع نظام حياتي جيد من ناحية النظام الغذائي و القيام بتمارين رياضية.
- أخذ العلاج كاملا حتى لو شعرت بتحسن قبل اتمامه.
- عدم مشاركة المضاد مع مريض آخر [34].

III .2 الفعالية المضادة للأكسدة:

III .1.2 مقدمة : إن الأغشية الخلوية والبروتينات والدهون للجسم تتعرض للهجوم بواسطة الجذور الحرة وعلى مدى سبعين سنة اعتيادية من عمر الإنسان ، فإن الجسم يولد مايعادل حوالي سبعة عشر طناً (17.000كيلوجرام) من الجذور الحرة . لذا فإن جسم الإنسان يحتاج إلى دفاعات فعالة مضادة للأكسدة في كل الأوقات ، لذا فإن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو مهمة لصحة و حياة الإنسان ومع ذلك ، فإننا لايمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة ، فالجسم يستخدمها لتحطيم الجراثيم ، بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة ، لذلك تقوم مضادات الأكسدة الغذائية بالمساعدة على إعادة التوازن [35].

III .2.2 الجذور الحرة :

III .1.2.2 تعريف : . الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة أوموجبة ، تحتوي في تركيبها الالكتروني على إلكترون منفرد (غير متزاوج) أو أكثر ، ويكون معظمها شديد الفعالية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من الكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي، تتولد هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسيطية شديدة الفعالية و تنتهي بنهايتها ، وتتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات التسلسلية و التفاعلات المتعاقبة و بعض التفاعلات الأخرى مثلا لبلمرة و التفاعلات الضوئية و تلك المدحثة بتسليط الأشعة الكهرومغناطيسية و الدقائق الإشعاعية الأخرى [36].

الجذور الحرة أنواع منها تلك التي تحتوي على إلكترون منفرد واحد ومتعادلة الشحنة مثل ذرات الهيدروجين والنيتروجين والفلور و الكلور ، جذور المثيل ($CH_3^{\cdot}$) و الفينيل ($C_6H_5^{\cdot}$) والهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$) والبيروكسيد($HOO^{\cdot}$) ، ومنها التي تحتوي على الكترونين منفردين أو أكثر (غير مزدوجة) و متعادلة الشحنة مثل ذرة الأكسجين (:O:) وجذورالميثيلين (CH_2^{-}) حيث تدعى هذه الجذور بالجذور الثنائية (diradicals) وتكون هذه الجذور أشد فعالية وأقل عمرا من جذور النوع السابق ، أما الجذور الحرة الموجبة و السالبة الشحنة فهي جذور شديدة الفعالية و ذات أعمار قصيرة جدا [36].

مثل:

$(SCN)_2^{\cdot -}$, $(I_2)^{\cdot -}$, $(C_6H_6)^{\cdot -}$, $(N_2H_4)^{\cdot +}$, $(NH_3)^{\cdot +}$, $(CH_4)^{\cdot +}$, $(H_2O)^{\cdot +}$

III .2.2.2 أنواع الجذور الحرة حسب استقرارها:

تقسم الجذور الحرة بصورة عامة من حيث استقرارها الى نوعين :

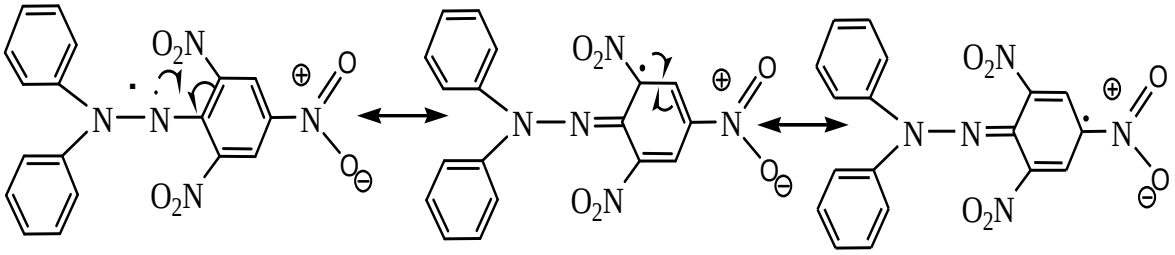
1) الجذور النشطة (الغير مستقرة) :

وهي التي أعمارها قصيرة جدا ، يشمل هذا النوع الجذور الحرة ذات العناصر مثل ذرات الهيدروجين والنيتروجين والفلور و الكلور والبروم واليود و الجذور التي لها وزن جزيئي صغير بصورة عامة مثلا المثيل $(CH_3)^{\cdot}$ والإيثيل $(C_2H_5)^{\cdot}$ والفينيل $(C_6H_5)^{\cdot}$ والهيدروكسيل $(OH)^{\cdot}$ ، يتراوح أعمار حياة هذه الجذور من رتبة الميكروثانية أوأقل [36].

2) الجذور المستقرة :

وهي التي لها أعمار طويلة حيث تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو حتى بالأيام مثل جذر (DPPH) ؛ 2,2'-diphényle-1-picrylehydrazyle ، فمثلا محلول الجذر الأولي كون ذو لون أصفر و مستقرا بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات ، أما الجذر الثاني فيكون مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود ويكون مستقر لعدة أيام .

ونستطيع القول بأن معظم الجذور الأروماتية التي تشتمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي تكون مستقرة في أغلب الأحيان . ويعزى استقرار هذا النوع من الجذور لعدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر، وخير مثال على هذه الحالة عدم تمركز الإلكترون المنفرد بجذر (DPPH) ، كما في **الشكل III .4** الموالي [36].



الشكل III .4: يوضح التراكيب الرنينية فى جزىء **DPPH**

III .3.2.2 فعالية الجذور الحرة:

معظم الجذور الحرة على درجة عالية من الفعالية وعادة لا يمكن فصلها ، وفي بعض الأحيان لابد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور ، وطاقات التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية تقرب من الصفر غالبا ومع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوحدتين مع بعضهما البعض. ومثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار، وينطبق هذا التفاعل على خطوة الإيقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على الاتحاد بين الجذور السريعة [36-37].

III .4.2.2 متابعة حركية الجذور الحرة:

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة ، القصيرة منها لايمكن متابعة حركية تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل أطياف الكتلة وأطياف الرنين النووي المغناطيسي ، أما الجذور المستقرة نسبيا فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها بالطرق التقليدية مثل قياس التغير بالتوصيلة الكهربائية بدلالة الزمن ، أو التغير بالتركيز المولاري بدلالة الزمن ، أو التغير بحجم الغاز عن طريق التسحيح بالحامض أو القاعدة و لكن أدق هذه الطرق هي قياس تغير كثافة الضوء الممتص بدلالة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية–المرئية(UV-V) شرط أن يمتص الجذر الحر الضوء بمنطقة تختلف عن منطقة امتصاص المادة الناتجة فمثلا يمتص الجذر ثلاثي فينيل المثيل($Ph_3\dot{C}$) الضوء عند 345nm و عند 510nm بينما يمتص ثلاثي فينيل ميثان ($Ph_3\dot{C}$)الضوء عند 262nm فقط [36].

III .5.2.2 الأكسدة العضوية:

الأكسدة العضوية هي تحول المركبات في وجود أكسجين الهواء والعوامل المساعدة على الأكسدة ، وجود كميات ضئيلة من بادئات الجذور الحرة الموجودة في الهواء ومدى حساسية المركبات للضوء.

ويعتبر فساد الأطعمة من نتائج الأكسدة الذاتية ، فالسلاسل غير المشبعة في الأحماض الدهنية تتأكسد إلى أحماض كربوكسيلية ذات أوزان جزئية أقل ، معظمها ذات رائحة كريهة جدا.

ويعتبر تلف معظم المواد العضوية عند تعرضها للهواء والضوء كجفاف الطلاءات ، وتغير تركيبة اللدائن والمطاط وتحول المذيبات إلى بروكسيدات أحد نواتج هذه الأكسدة [38-40].

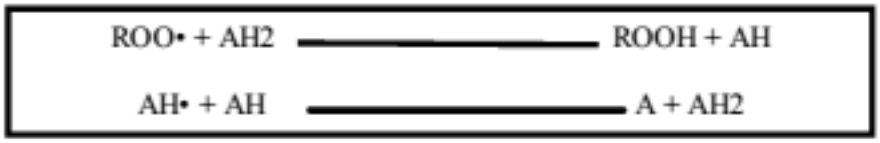
III .6.2.2 أضرار الجذور الحرة :

عند عدم تمكن الأنضمة المضادة للأكسدة من مواجهة تدفق الأنواع الأكسجينية المتكونة ، تخضع الخلية لظاهرة التوتر التأكسدي ويسبب هذا الأخير على هذا الأساس ثلاث أضرار ؛ إما ضرر واقع على مستوى الحامض النووي ، وهنا ت كمن خطورة الجذور الحرة بإمكانية تفاعلها مع الأحماض النووية والذي يؤدي للإضرار بالخلية وقد يسبب تدميرها أو ضعف في المناعة ، وإما ضرر على مستوى البروتينات والذي يؤدي إلى تغيير طبيعة البروتينات ومن ثم تحويل في وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية ، وأخطر ضرر هو الضرر واقع على مستوى الدهون أو الأكسدة الفوقية لها ، إذ تنتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمر أطول و إنتشار أوسع مسببا عموما خلايا سرطانية ، كما يمكن أن تنجم عنها أضرار أخرى كأمراض القلب ، والأوعية الدموية [41].

III .3. 2 مضادات الأكسدة :

III .1.3. 2 تعريف :

هي مركبات إما ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تقويضها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم ، إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط التي تسببه ذرات الأوكسجين الشارد يق لحماية خلايا الجسم ، و إما لأنها تمنع تكوين الجذور الحرة أو أن تصلح الضرر الناتج عنها أي هي عبارة عن مو مانحة لذرات الهيدروجين إذ أنها تتحد مع الجذر الحر و تحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية :



والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة .

ويمكن تقسيم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى الطبيعية و المصنعة [42-43].

III .2.3.2 تصنيف مضادات الأكسدة :

1.مضادات الأكسدة الطبيعية :

هي عبارة عن مركبات يكون مصدرها نباتي منها الخضروات، الفواكه، والحبوب، النباتات الطبية، والأعشاب العطرية. التي تحتوي على المركبات الفينولية مثل الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، الأنتوسيانيدات، التانينات، الكومارينات، الكاروتينويدات ، و الفيتامينات، و معادن، أثبتت عدة دراسات أن الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية راجع إلى خاصية الأكسدة والإرجاع والتي يمكن أن تلعب دورا هاما في امتصاص أو تعديل الجذور الحرة و تمنع الأكسجين الأحادي و الثلاثي وتفكك البروكسيدات. أو مصدر حيواني منها اللحوم الحمراء، ولحوم الدواجن والأسماك و البيض والتي تحتوي على الفيتامينات (C, E, A,) ، الأحماض الدهنية 3-أوميغا، و معادن نادرة مثلا السيلينيوم، المنغنيز، مغنيسيوم، الزنك [44-46].

2.مضادات الأكسدة الاصطناعية :

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة لمنع فسادها منها :

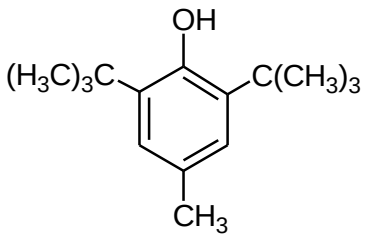
1) BHA (Buthylhydroxylanizole) : لا يوجد هذا المركب في الطبيعة ولكن هي صنع بطريقة Butylation للمركب parametoxyphenol ، و لـ BHA صيغتين ، ولكليهما رائحة الفينول ويذوبان بشكل جيد في الدهون ومن أهم خواص هذين المركبين هو قدرتهما على المحافظة على قابليتهما كمواد مضادة للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين كالقلي مثلا ، و له الصيغ التالية كما في **الشكلIII .5** : [47،43]

3-tert-butyl-4-methoxyphenol 2-tert-butyl-4-methoxyphenol

الشكلIII.5 : يوضح بنية **BHA**

2) BHT(Buthylhydroxytoluéne) :

يعتبر مركب BHT من مضادات الأكسدة التي تصنع تجاريا لاستعماله في المنتجات البترولية و المطاط و استعمل بعد ذلك في منتجات الأغذية ، المركب النقي ذو لون أبيض وهو مادة متبلورة عديم الرائحة ، لايذوب في الماء لكنه يذوب في المذيبات العضوية و الدهون ، وصيغته كالتتالي كما في **الشكلIII. 6** [43،47،48] :



2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (Butyl hydroxy toluène)

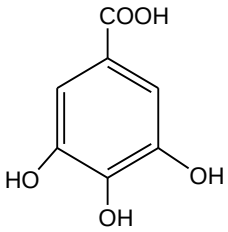
الشكل III. 6 : يوضح بنية **BHT**

3) حمض الغاليك وبروبيل الغالات propyle gallate et Ac.gallique:

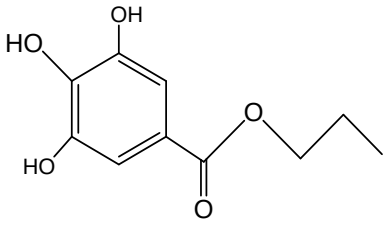
يذوب حمض الغاليك في الماء و لكنه قليل الذوبان في الزيوت.

ولأجل السماح باستعمال هذه المواد في الأغذية، يجب أن تكون ذات درجة سمية ضعيفة وأن تكون فعالة بتراكيز منخفضة و في أنواع عديدة من الدهون وأن لاتضيف نكهة أورائحة أو لونا غير مرغوب فيه للمنتوج [42].

أما بروبيل غالاتي فهو استر تشكل من التكثيف حمض الغال يك و بروبانول ، وهذا المضادة للأكسدة يضاف إلى الأطعمة التي تحتوي على الزيوت والدهون لمنع منع الأكسدة ، ويتم استخدامه تحت رقم E310 ، وهو ي حمي الأكسدة بواسطة بيروكسيد الهيدروجين والأكسجين الجذور الحرة ، وصيغتهما كالتالي كما في **الشكلIII. 7** [49].



3,4,5-trihydroxybenzoicacid
(Ac.gallique)



Propyl 3,4,5-trihydroxybenzoate
(propyle gallate)

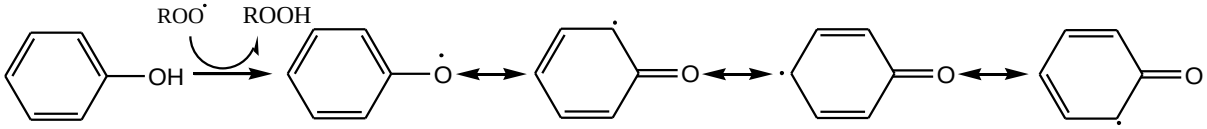
الشكلIII. 7 : توضيح بنية لـ (AG) و (PG)

III .3.3. 2 آليـــة عمـل مضـــادات الأكســـــدة :

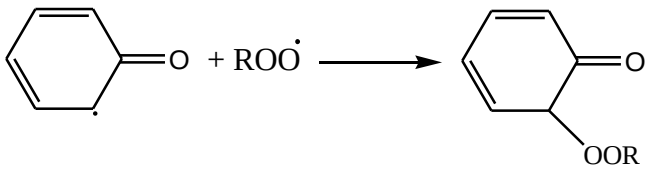
تعمل مضادات الأكســدة الأوليــة على إعــاقة و قطــع تفــاعلات الانتشــار و بالتالي تبطئ عملية الأكسدة ، وتعود لتتسارع عند نفاذه ، ويعد متعددات الفينول من أهم مضادات الأكسدة و خاصة تلك التي تحمل زمرتي هيدروكسيل أو زمرة هيدروكسيل و مستبدل في المواقع أورتو أو بارا، وهي فعالة بالتراكيز المنخفضة و بالدسم الحيوانية أكثر من الدسم النباتية .

تتميز جذور المواد الدسمة بتفاعلية عالية و تدخل بسرعة في التفاعلات الانتشار من خلال سحب الهيدروجين أو بتفاعل مع الأكسجين .

حيث تقوم المركبات الفينولية بدور المستقبلات للجذور الحرة المتشكلة في مرحلة البدء و ذلك من خلال التنازل عن $H^{\cdot}$ ليشكل جذر الفينوكسيل المستقر بسبب صيغه الطنينية التالية [50-53]:



وتتفاعل المضادات الأكسدة الفينولية مع الهيدروبيروكسيدات كالتالي:



III. 2. 4.3. الحالات المرضية ذات العلاقة بالمواد المؤكسدة :

عندما يزيد تعرض دفاعات الجسم إلى العوامل المؤكسدة وتصبح غير قادرة على معادلتها يطلق على هذه الحالة الإجهاد التأكسدي ، وهي عبارة عن حالة من عدم التوازن بين العوامل المحثة للتأكسد(العوامل المؤكسدة) والعوامل المضادة للأكسدة انظر **الجدولIII 2.** . وفي الحالة الطبيعية ،تكون العوامل المؤكسدة مثبطة بتأثير الدفاعات ضد الأكسدة ، أما في حالة إنتاج المواد المؤكسدة أو النقص في النظام الدفاعي فيمكن أن يختل هذا الاتزان ، مسبباً إجهاداً تأكسدياً و هذا ما يؤدي الى ظهور أمراض عديدة مثلاً مراض القلب والأوعية الدموية و السرطان و الشيخوخة و غيرها [54].

الجدول III 2. : بعض مصادر العوامل المؤكسدة والعوامل المضادة للأكسدة

العوامل المؤكسدة	العوامل المضادة للاكسدة
الالتهابات	*Vitamine E*
التدخين	*Vitamine C*
التمارين الرياضية العنيفة	*Uricacid*
الملوثات البيئية	*Carotenoide*
الاشعاع	*Glutathion*
الوجبة الغنية بالاحماض الدهنية عديدة اللاتشبع	*Superoxyde dismutase*
العوامل المسرطنة	*Catalase*

قائمة المراجع العربية

[2] عابد أ (2009), "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران" , مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة , ص 36.

[3] د.محمد عبد المحسن معارج (1995) ؛ وراثة الأحياء الدقيقة . شركة الشهاب للنشر والتوزيع. ص؛ 18–20 .

[29] د. عادل نوفل(1981) ، جامعة دمشق، كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري) .

[36] م. بوقوادة (2008) .« دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي»، مذكرة ماجيستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،.

[37] موريسون وبويد، ترجمة فاروق قنديل وصلاح القادري(2000).الكيمياء العضوية، منشورات المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر، دمشق.

[38] س.هـ. باين، هندريكسون، د.ج. كرام، ج.س. هاموند(1995) .الكيمياء العضوية المجلد الثاني الطبعة الرابعة ، الدار الدولية للنشر و التوزيع.

[39] الدكتور ى . ل. على(2002). " الأسس الإلكتروني لميكانيكية التفاعلات العضوية " الطبعة الأولى ، دار الفجر للنشر و التوزيع.

[42] أل دبليو.أوراند،أي إي وودز، ترجمة د.عادل جورج ساجدي، د.علاء يحي محمد علي(1983) .كيمياء الأغذية ، جامعة البصرة .الطبعة الأولى.

[43] د.باسل كامل دلالي ، د.كامل الركابي(1981) . كيمياء الأغذية ،دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل.

[47] فؤاد عبد العزيز الشيخ(1999) . صناعة زيت النخيل ومشتقاته،دار النشر للجامعات الطبعة الأولى.

[48] د. رضوان صدقي فرج (1991) ، كيمياء البيبيدات ،مركز النشر لجامعة القاهرة .

قائمة المراجع الأجنبية:

[1]Bruneton J & Barton D (1987).Éléments de Phytochimie et de Pharmacognosie , Technique et documentation,Paris – France .

[4] Pr.Emile de Lavergne,Jean-Claude Burdin (1973):Les Bactéries.3éméed.,Paris . P 11-14.

[5] Courvalin .P.(1992). Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes. ASM News . 58:368-375 .

[6] Jorgensen . J.H., Ferraro .M. J.(1998). Antimicrobial susceptibility testing : general principles and contemporary practices. Clin. Infect. Dis . 26: 973-980 .

[7] Robert-Dernmet . S. (1995) . Antibiotique et antibiogrammes .Décarie Vigot, Montréal . p 322.

[8] Brazilian Journal of Microbiology(2006) ISSN 1517-8382..

[9] Brazilian Journal of Microbiology (2003)ISSN 1517-8382.

[11] El Kahoui, R. (1999). Relations entre macromolécules organiques bactériennes et dépôts carbonates d'eau douce (Doctoral dissertation) ; (résumé Inist-CNRS).
[13] Bâtir en terre de Laetitia Fontaine et Romain Anger(2009) , p 198, ISBN 978-2-7011-5204-2.
[15] Ellin Doyle (2011) , « Virulence characteristics of Listeria mnocytogenes » , Food Research Institut, University of Wisconsin-Madison .
[17] S. Mans, S. Canouet (2008) , « Pseudomonas aeruginosa : Une histoire d'eau » , Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales du Sud-Ouest.
[19] Cryz S. , Pitt, E. Furer, et R. Germanier (1984) . Role of lipopolysaccharide in virulence of Pseudomonas aeruginosa. Infect. Immun. 44:508-513
[20] Aeschlimann, J. R.(2003), The role of multidrug efflux pumps in the antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa and other Gram-negative bacteria: insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. Pharmacotherapy 23:916-924
[21] De Kievit,D. Parkins, R. J. Gillis, R. Srikumar, H. Ceri, K. Poole, B. H. Iglewski, et D. G. Storey (2001) , Multidrug efflux pumps: expression patterns and contribution to antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms. Antimicrob. Agents Chemother. 45:1761-1770.
[22] Poole, K. (2001) , Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa and related organisms. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 3:255-264
[23] Rada B, Lekstrom K, Damian S, Dupuy C(2008), Leto TL. The Pseudomonas toxin pyocyanin inhibits the dual oxidase-based antimicrobial system as it imposes oxidative stress on airway epithelial cells. J Immunol. 1;181(7):4883-93.
[24] Giannella RA (1996). Baron S et al (eds.), Baron's Medical Microbiology (4 th ed.). Univ of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1.
[25] Euzéby J.P.(02-12- 2008) ."List of prokaryotic names with standing in nomenclature - Genus Salmonella" .
[27] Ericsson .H .M. O Sherris .J .C. (1971). Antibiotic Sensitivity Testing. Report of an International Collaborative Study.-Actes . path. Microbiol. Scand., B Suppl. pp. 90,217 .
[28] Baurer .A , W ., Kirry . W.M.M.,Sherries.J.C.A., Turch .M (1966) . Antibiotic susceptiblity testing by a standardized single disk method.-Amer. J. Clin. Pathol., 45:493-496.
[30] Guerin-Faublée . V., Carret .C.(1999) .L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites . Journées nationales GVT-INRA . pp .5-12 .
[31] Poncea. G;Fritzr; Del Vallc.et Rouras I(2003). Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie.
[35] C.Enrique, P.Lester (2002). « Handbook of Antioxidants», 2eme ed, New York Basel.Marcel Dekker, Inc.
[40] Vollhardt K., Schore .N. E, (1999) « Traité de la chimie organique » traduction 3em ed,. De Boeck et larcier.s.a.
[41] Anyasor G., Kayode O.(2010) . Comparative Antioxidant, Phytochemical and Proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vernonia amygdalina and Talinum triangulare. Pakistan Journal of Nutrition 9 (3).p: 259- 264.
[44] Larson, R. A., (1988): The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27: 969-978. Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992): Phenolic antioxidants. Critical .

[45] Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992): Phenolic antioxidants. Critical Reviews of Food Science & Nutrition, 32: 67-103.
[46] Osawa, T. (1994): Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In I. Uritani, V. V. Garcia, & E. M. Mendoza (Eds.), Postharvest biochemistry of plant food-materials in the tropics (pp. 241-251). Tokyo, Japan: Japan Scientific Societies Press.
[50] Mark Percival. (1998). "Antioxidants". Clinical Nutrition Insights, 31: 01-04.
[51] Shahidi, F. (2000) . Antioxidants in food and food antioxidants. Nahrung, 44: 158-163.
[52] Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83: 547-550.
[53] Pala, F. S., and Gürkan, H. (2008) .The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. Advances in Molecular Biology, 1: 1-9.
[54] A. Favier (2003). « le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimenta dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .édité par la société française de chimie (SFC) .ISSN 0151 9093.

صفحات الانترنت

[10] http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/cereus.html (12/05/2015)
[12] http://www.lrmh.fr/lrmh/w_publications/microbio/biomt.htm | Site Laboratoire de recherche des monuments historiques (20/05/2015)
[14] https://en.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae (15/06/2015).
[16] https://en.wikipedia.org/wiki/Listeria_monocytogenes (25/06/2015).
[18] https://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa (02/09/2015).
[26] http://www.uniprot.org/taxonomy/90371(12/09/2015).
[32] https://en.wikipedia.org/wiki/Penicillin.
[33] https://en.wikipedia.org/wiki/Polymyxin_B.
[34] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521(01/12/2017).
[49] https://en.wikipedia.org/wiki/Propyl_gallate(14/01/2016) .

الجزء العملي

الفصل الرابع

مواد وطرق الدراسة

في هذا الفصل تم توضيح كيفية جمع العينات و تهيئتها للدراسة، ومن ثم الكشف عن المنتجات الفعالة ، ثم يليها إستخلاص المنتجات الفينولية والقلويدية والتربينات الثلاثية ، ثم حددنا كمية المركبات الفينولية الكلية، كما حددنا الكمية الكلية للفلافونويدات ، وتم التطرق للتحليل الكمي والنوعي للمنتجات الأيض الثانوي الفينولية .

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات العينات للنباتات ؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية .

حيث استعملنا ثلاث اختبارات كيميائية :(1- اختبار الـ DPPH ، 2- اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) ، 3- اختبار موليبدات الفوسفات(TCA)) ، بينما الإختبار الكهروكيميائي هو إختبار الفولطامتر الحلقي (VMC).

هذا العمل تم على مستوى مخابر تثمين وترقية الموارد الصحراوية(VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي ، ومخبر النباتات القاسية (LPE) بالقطب التكنولوجي ببرج السدرية بتونس.

كما تمت الدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمعضم المستخلصات النباتية على تسع سلالات بكتيرية ، خمسة منها غرام سالب واربعة سلالات بكتيرية غرام موجب .

وتمت تجارب الفعالية المضادة للبكتيريا للنبتات الصحراوية على مستوى مخبر المواد النشطة بيولوجيا (LSBA) بالقطب التكنولوجي ببرج السدرية – تونس .

IV . مـــــواد وطــرق الدراســـة:

1.IV المـــواد الكيميائية : جميع المواد الكيميائية المستخدمة في التحليل الكمي وكذ الكواشف الكيميائية والمذيبات من قبل وهي ذات نقاوة عالية . (Sigma Aldrich Alpha Asear (France شركة

- كاشف Folin-Ciocalteu، N_2CO_3، $AlCl_3$، $(NH_4)_2SO_4$، حمض الغاليك (Acide gallique)، الكاتشين (catechine) ، (DPPH) ، $(K_3Fe(CN)_6)$ ، حمض الأسكوربيك (ascrobique acide)، BHT ، موليبدات الفوسفات (phosphomolybdenum) كلها ذات نقاوة (99%).

والملحق رقم 01 يوضح بعض المواد الكيميائية المستعملة .

2.IV الأجهـــزة : أجـــريت هذه دراسة باستعمال الأجهزة التالية:

- جهاز التبخير الدوار(Rotavapeur) نوع RV06-ML .
- بجهاز مطياف (UV-1601; UV–visible spectrophotometer; Shimadzu)
- جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (HPLC) من انتاج شركة ؛

1- HPLC (Agilent Technologies 1260, Germany) المزودة بكاشف الأشعة فوق البنفسجية ذات صمام ثنائي (DAD) ومجهزة بعمود الفصل مليئة بـــ silica gel ، octadecyl نوع (ZorbaxEclipse XDB- C18 4.6 × 100 ملم ، 3.5 ميكرون).

2- HPLC (SHIMADZU , Japan) وهي مرفقة ببرنامج تشغيل (LC sohition) ومجهزة بعمود الفصل مليئة بـ silica gel، octadecyl نوع (C18 (25cm x 46mm)– (RP–HPLC والملحق رقم 02 يوضح بعض صور الأجهزة المستعملة .

3.IV جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي :

- **مدخل:**

يعتبر المسح الفيتو كيميائي من أقدم الدراسات في مجال الكيمياء النباتية ، والفائدة من عملية المسح الفيتو كيميائي البحث على المنتجات الطبيعية في مختلف أعضاء النبات قبل إجراء الفصل الكمي، ولذلك يعتبر دراسة كيميائية بحتة، لكن استغلت حديثا إلى جانب أدوات وطرق الفصل مثل HPLC ، RMN ، UV، IR في تعزيز عمليات تصنيف النباتات المنتمية لنفس الفصائل النباتية . قبل الشروع في عملية المسح الفيتو كيميائي لأي نبات يجب التطرق لبعض الأساسيات كموعد القطف و مراحله ثم التجفيف و من بعد ذلك تبدأ عملية الكشف عن المنتجات الفعالة المتواجدة فيها [1].

- **مرحلة القطف:**

تعتبر عملية القطف من أهم خطوات عملية استخلاص المواد الكيمائية الفعالة، حيث تم قطف الأجزاء الهوائية (الأوراق و الأزهار) في شهر مارس، وهو موعد إزهار النباتات الصحراوية؛ (*Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral.) التي تنمو بـمنطقة وادي سوف التي تقع بين الإحداثيات الجغرافية التالية ؛ خط عرض 33,37° وخط طول 6,848.

مرحلة التجفيف:

قبل الشروع في عملية التجفيف تجزأ مختلف أعضاء النبات الكل على حدا (الأوراق ، الأزهار) ثم تنقى من الطفيليات، ويتم تقسيمها إلى أجزاء صغيرة لكي تسهل عملية التجفيف، ثم ننشرها في الظل على قطعة من القماش أو الورق مع تقليبها من حين لآخر ثم يتم حفظها في مكان بعيدا عن الرطوبة والشمس في مكان جيد التهوئة ، لمدة ثلاث أسابيع [1-2].

وبعد تجفيف الأجزاء الهوائية للنبته تسحق ثم تحفظ في علبة محكمة الغلق، إلى غاية الاستعمال.

IV. 4 الدراسة الكيميائية للمنتجات الفعالة للنبات :

تعتبر الدراسة الكيميائية للمنتجات الفعالة للنباتات الصحراوية بالمرحلة الهامة، حيث يتم فيها الكشف والإستخلاص و من ثم التقدير الكمي والنوعي بمختلف طرق التحليل المطيافية أو الكروماتوغرافية.

IV.1.4 كشف وإستخلاص القلويدات الخام :

IV.1.1.4 الكشف عن القلويدات الخام :

نأخذ 1غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ، ونضيف لها 5 مل من حمض الكلور (1% HCl) ثم نرشحها ، و نضيف إلى الرشاحة محلول الأمونياك (NH_3) حتى يصل إلى درجة قاعدية (pH=9) ، ثم نستخلص المحلول بواسطة الكلورفورم ($CHCl_3$) من 2- 3 مرة ، نقوم بتبخير الكلورفورم و الراسب نضيف له 2 مل من حمض الكلور (HCl ، 1%) .

نقوم بإضافة ثلاث قطرات من كاشف ماير ، نلاحظ تعكر المحلول أو وجود راسب يدل على وجود القلويدات بصفة عامة [3].

2.1.4.IV إستخلاص القلويدات الخام :

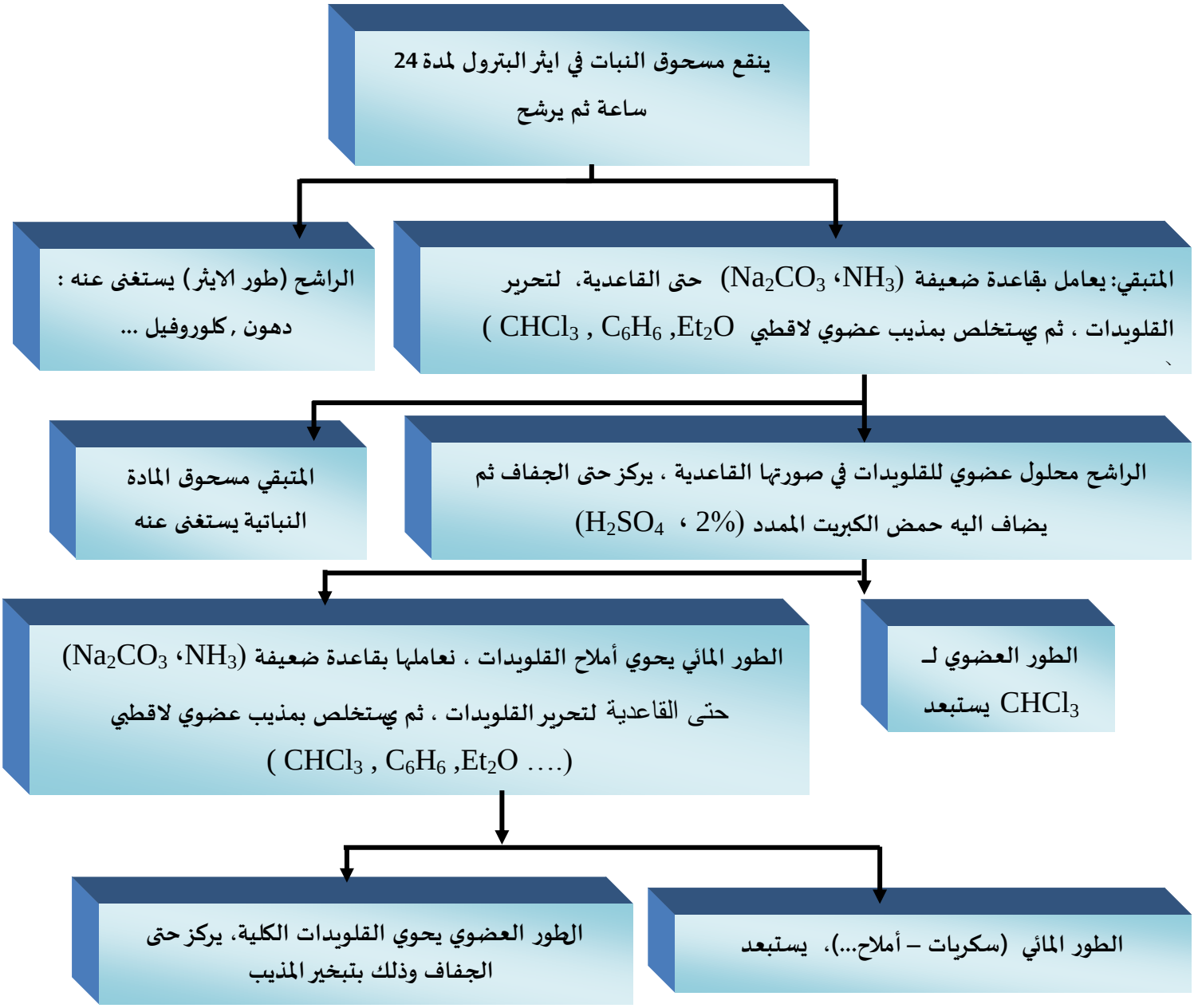
1) <u>تحرير القلويدات بشكلها القاعدي واستخلاصها :</u>

بعد سحق الأجزاء النباتية الجافة لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. ، نزن 100غ ثم نرقعها في الإيثر البترولي ، ثم يتم ترشيحه بغية التخلص من الكلوروفيل والدهون، ثم نعالجه في أغلب الحالات بقاعدة ضعيفة مثل (النشادر NH_3 ، أو كربونات الصوديوم $NaCO_3$...)، بهذه الطريقة تتحرر القلويدات ثم نستخلصها بمذيب عضوي لاقطبي مثل (Et_2O، C_6H_6، $CHCl_3$...)، ليتم الاستخلاص على البارد بالنقع أو باستخدام جهاز سوكسلي (Soxhlet)، نحصل في كل الحالات على حثالة (مسحوق نبات مستنفذ) ومحلول عضوي للقلويدات في صورها القاعدية.

2) <u>التنقية</u> :

المحلول العضوي السابق ذكره يحوي على شوائب عديدة ، ولتنقيتها نمرر القلوي-دات من الطور العضوي إلى الطور المائي (حمضي) وذلك بمعاملتها بحمض الكبريت الممدد (2%) للتخلص من الشوائب الذائبة في المذيب العضوي (كلوروفيل– دهون– صمغ...)، ثم تنقل القلويدات مجددا من الطور المائي إلى الطور العضوي القاعدي وذلك بمعاملتها بقاعدة ضعيفة حتى القاعدية وهذا ل لتخلص من الشوائب الذائبة في الماء (سكريات – أملاح...) ، ثم نستخلصها مجددا بمذيب عضوي لاقطبي (Et_2O، C_6H_6، $CHCl_3$...)، ثم نفصل ال طور العضوي الذي يحوي القلويدات الكلية ويركز دون الجفاف ، ثم نجفف الطور العضوي بـ Na_2SO_4 ويرشح ثم يركزمن جديد حتى الجفاف ويتم وزنه ، ثم يحفظ في الثلاجة، نرمز للمستخلص الجاف لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. بالرمز **(Ha.Al)** [4].

- ✓ ويمثل ا **الشكل 1.IV** الموالي , مختلف خطوات الاستخلاص التي سلكناها.



الشكل 1.IV : مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص القلويدات الخام .

2.4.IV كشف و إستخلاص التربينات الثلاثية :

1.2.4.IV الكشف عن التربينات الثلاثية :

نأخذ 5غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونضعها في 20 مل من كلورفورم ($CHCl_3$)، بعد الترشح نضيف إلى الرشاحة 1 مل من حمض الكبريت (H_2SO_4) على جدار الأنبوب، نلاحظ ظهور اللون الأخضر ليتحول إلى اللون الأحمر وهذا في نقطة تلاقي الطورين ، مما يدل على وجود الستيرولات و التربينات الثلاثية [5].

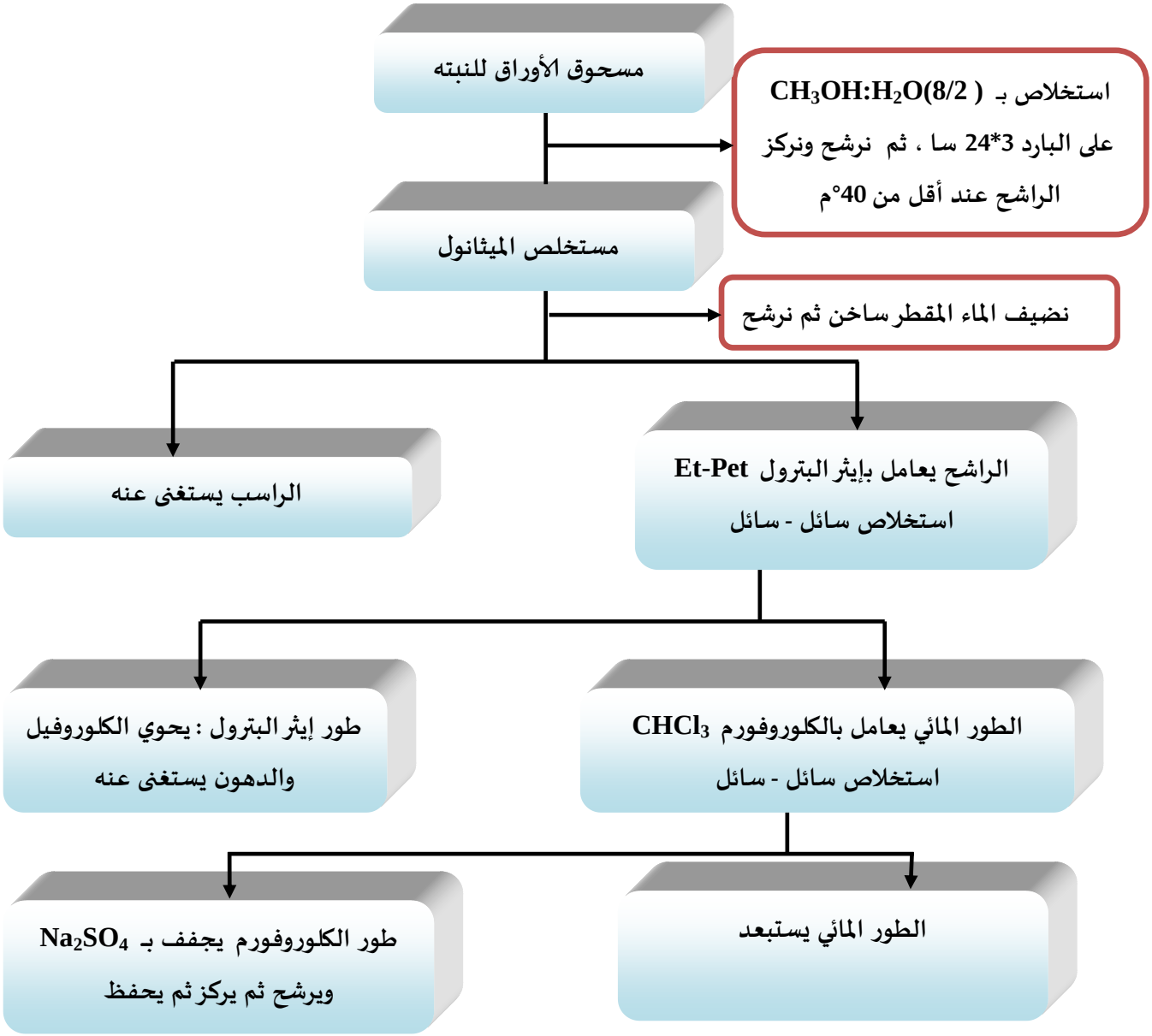
2.2.4.IV إستخلاص التربينات الثلاثية :

نسلك في هذا العمل بروتوكولا لإستخلاص التربينات الثلاثية، وذلك بأن ننقع 100غ من مسحوق نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. في كمية كافية من خليط 2\8 (ماءاميثانول) مدة 72 ساعة وذلك بتجديد المذيب كل 24 ساعة، بعد الترشيح والتركيز دون الجفاف وتحت ضغط منخفض عند أقل من 40 م°، نعامل المستخلص الميثانولي بـ 1 لتر ماء مقطر، ونتركه ليلة كاملة في الثلاجة، بعدها نرشح المحلول، ونجري على الراشح استخلاصا من نوع سائل–سائل باللمذيبات التالية: الإيثر البترولي Et-Pet (1*150 ملل) ، الكلوروفورم $CHCl_3$ (3*150 ملل) ، نفصل الطور العضوي للكلوروفورم الذي يحوي التربينات الثلاثية ويركز دون الجفاف .

وفي الأخير يجفف طور الكلوروفورم بـ Na_2SO_4 ويرشح و يركز حتى الجفاف، ثم يتم وزنه ثم يحفظ في الثلاجة .

نسلك نفس بروتوكول الإستخلاص مع نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral .. نرمز للمستخلص الجاف لنبات ؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. بالرمز **(Ha.Tr)** ، ونرمز للمستخلص الجاف لنبات؛ *Arnebia decumbens Vent Coss. et* Kral. بالرمز **(Ad.Tr)** [5].

- ✓ يمثل **الشكل 2.IV** الموالي , مختلف خطوات الاستخلاص التي سلكناها.



الشكل 2.IV: مخطط توضيحي لمختلف مراحل استخلاص التربينات الثلاثية

3.4.IV كشف وإستخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدية :

1.3.4.IV الكشف عن الفينولات والفلافونويدات :

1. الكشف عن الفينولات :

باضافة قطرات من محلول كلوريد الحديد الى المحلول الفينولي ، يتحول المحلول الى اللون البنفسجي وهذا دليل على وجود الفينولات [6].

2. الكشف عن الفلافونيدات العامة :

نأخذ 2غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونضعها في 30 مل من حمض الكلور الممدد (HCl %1) ثم تترك لمدة 24 ساعة، نقوم بعملية الترشيح ونجري الاختبارات التالية :

نأخذ 5 مل من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الأمونيوم (NH_4OH) حتى القاعدية، نلاحظ ظهور اللون الأصفر الفاتح دليل على وجود الفلافونيدات [7].

2.3.4.IV إستخلاص المركبات الفينولية و الفلافونويدية :

بعد سحق الاجزاء النباتية الجافة لنبات *Haloxylon articulatum Bioss.* ، نقوم بتنقيع 100غ منه في خليط من (ماء/ ميثانول) (70/30) الساخن ، ونتركه لمدة 24 ساعة مع الرج الميكانيكي وتجديد للمذيب في كل مرة (ثلاث مرات على الأقل) وهذا للحصول على مستخلص ميثانولي كاف ومعتبر يستنفد النسيج النباتي .

و بعد كل عملية ترشيح ركزنا المستخلصات الميثانولية إلى حد قريب من الجفاف , تحت ضغط منخفض في جهاز المبخر الدوراني على ان يعاد استعمال المذيب في كل مرة للعملية الموالية (يحضى الميثانول بالافضلية في عمليات الاستخلاص لسهولة التخلص منه) ، ثم نضيف للمستخلص الميثانولي الإيثر البترولي بغية تخليصها من الدهون والشموع والكلوروفيل ، وبعد فصل الطور العضوي للإيثر , نذيب للمستخلص المركز 300 مل من الماء المقطر ال ساخن وتركناه ليلة كاملة , ثم نقوم بالترشيح لإزالة الراتنجات وبقايا الغبار .

يعتبر استعمال الماء هاما جدا لتجزئة المحلول , بغية اجراء استخلاص جديد من نوع سائل – سائل في قمع الفصل ، ونستخدم لهذا الغرض مذيبين عديمي الامتزاج مع الماء وهما على التوالي : أسيتات الإيثيل (1*300 مل) ثم البوتانول (3*300 مل) , لاحظنا بمجرد ترك مستخلص الاسيتات للراحة تشكل راسب والذي يفصل بالترشيح ، ثم جمعنا مستخلصات الطور العضوي للبوتانول وركزت تحت ضغط منخفض دون الجفاف .

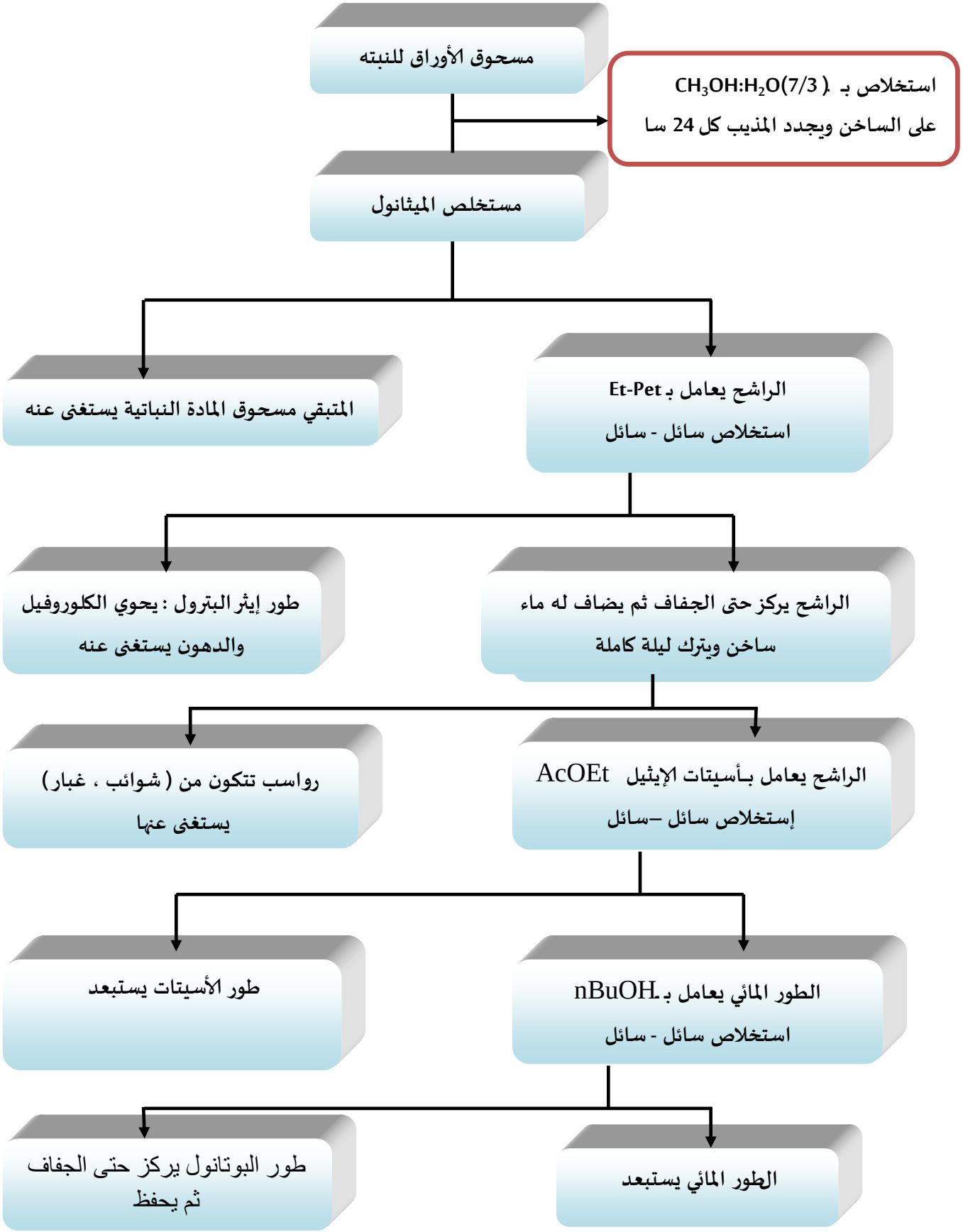
وفي الأخير المستخلص الناتج نذيبه في كمية من الميثانول لإزالة اثار الاسيتات والبوتانول ، ثم يجفف بـ Na_2SO_4 ويرشح ثم يركز حتى الجفاف ، ثم يتم وزنه ويحفظ في الثلاجة .

نسلك نفس بروتوكول الإستخلاص لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral .

نرمز للمستخلص الجاف لنبات .*Haloxylon articulatum* Bioss بالرمز ؛ **(Ha.Ph).**

والمستخلص الجاف لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral بالرمز ؛ **(Ad.Ph)** [5،8،9،10].

- ✓ ويمثل **الشكل 3.IV** مخطط يوضح مختلف خطوات الاستخلاص التي سلكناها.



الشكل 3.IV : مخطط توضيحي لمختلف مراحل استخلاص الفينولات و الفلافونويدات

4.4.IV التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ـ المرئية:

1.4.4.IV التعريف بالجهاز: تعد هذه التقنية من أقدم طرق التحليل الكيفي و الكمي وأكثرها إستخداما، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات ، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طولها الموجي λ) ما بين 400 – 800 نانومتر.

يتكون الجهاز من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد و مقياس الكثافة الضوئية (Photometre)، حيث يتم وضع المحاليل المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب خاص (Cuve) يسمح بمرور الضوء بين المصدر الضوئي والـ Photometre، وبالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالإمتصاصية و **الشكل 7.IV** يمثل رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible .

عند تعرض الـ Photometre للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتص من قبل المحلول، حيث يعتمد تغير إمتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة الممتصة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالإعتماد على إمتصاص الضوء عند طول موجي محدد، فعندما نمرر ضوء ذو طول موجي محدد خلال المحلول فإنه هناك علاقة بين تركيز المذاب وكمية الضوء المنقولة حسب قانون Beer Lambert [11].

$$A = log \frac{I_0}{I}$$

حيث: I_0: شدة الضوء الوارد و I: شدة الضوء الصادر.

يمكننا من خلال مطيافية الأشعة UV-Visible قياس الإمتصاصية لمادة مذابة عند طول موجي (λ) معين، أو إنتاج طيف إمتصاصية في مجال طول موجي محدد فـيعطي طيف شدة الإمتصاص بدلالـة طـول الموجة (λ) [12].

2.4.4.IV التقدير الكمي للمركبات الفينولية *(Determination of total polyphenol content): (TPC)*

يتم تقدير المركبات الفينولية بطريقة العالم *Singleton-Rossi* بمساعدة كاشف Folin ciocalteu ، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض Phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض (Phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_{40}$) والذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد (W_8O_{23}) والموليبدين (Mo_8O_{23}) ذات اللون الأزرق.

المركبات الفينولية تقدر كميا بواسطة جهازمطيافية الأشعة UV-Visible حيث يستعمل حمض الغاليك (acide gallique) كفينول مرجعي عند طول موجة $\lambda = 765$ nm [13-14].

1. رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

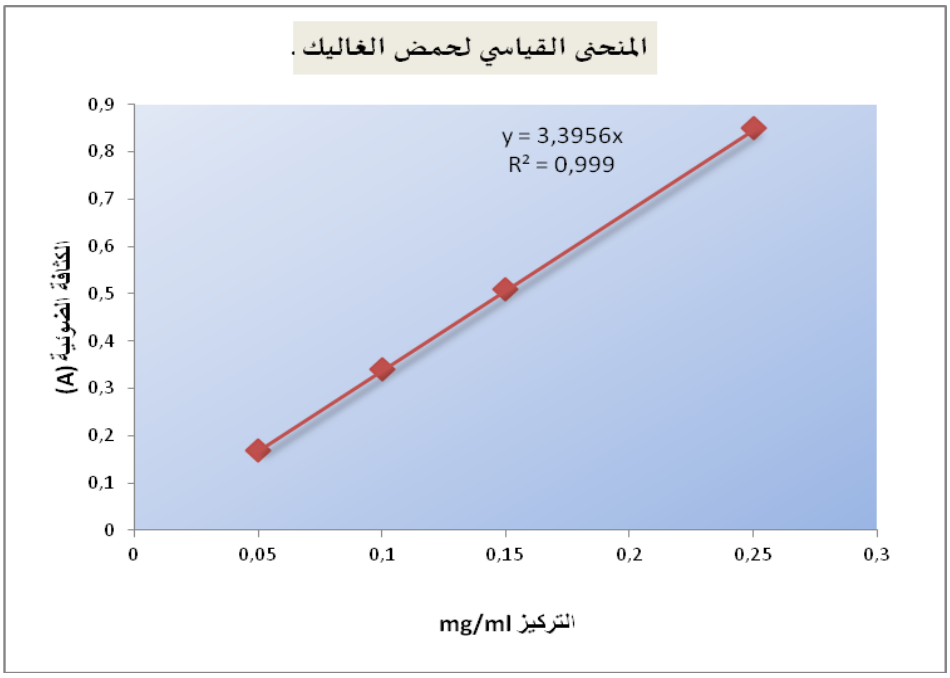
نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزها تتراوح ما بين 0.03 و 0.3 ملغ/مل في أنابيب إختبار، نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممددة ونظيف لها 0.5 مل من كاشف Folin ciocalteu (الممدد 10 مرات)، ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%)، نضع المحاليل في مكان مظلم لمدة 30 دقيقة، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لكل تركيز بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-Visible عند الطول الموجي **$\lambda = 765$ nm** [15].

إنطلاقا من قيم الإمتصاصية (A) لمحاليل حمض الغاليك نرسم المنحنى القياسي الذي يبين التغير في الإمتصاصية بدلالة التركيز وهي مدونة في **الجدول IV. 1** .

الجدول IV. 1 : قيم الإمتصاصية لحمض الغاليك لكل تركيز

التركيز ملغ /مل	0.05	0.1	0.15	0.25
الامتصاصية A	0.1698	0.3397	0.509	0.849

انطلاقا من النتائج المدونة في الجدول نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز ب (mg/ml) و من خلال نتائج قيم الإمتصاصية بدلالة التركيز نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك كما في **الشكل 4.IV** .



الشكل 4.IV : المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

2. حساب كمية الفينولات في العينة:

نعامل مسخلصات العينات ذات التركيز 0.5mg/ml بنفس معاملة حمض الغاليك، وبعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية له ا ، نستخدم المنحنى القياسي لحمض الغاليك لحساب تركيز الفينولات في العينات المدروسة.

3.4.4.IV التقدير الكمي للفلافونيدات *(Determination of total flavonoids) : (FVT)*

نستعمل في هذه التجربة فلافونيد للكاتشين **(Catechin)** كفلافونويد مرجعي لرسم المنحنى القياسي ، حيث تعتمد هذه الطريقة على قدرة تكوين المعقد البني بين ثلاثي كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافانويدات ، المعقد البني ثابت ويمتص عند طول موجة **λ=510nm** .

1. رسم المنحنى القياسي للكاتشين (Catechin) :

نقوم بتحضير محاليل ممددة للكاتشين **(Catechin)** في المثانول تراكيزها تتراوح ما بين (0.03 و 0.3 mg/ml) ، وفي أنابيب إختبار نأخذ 500 µl من المحاليل الممددة ونظيف على التوالي ؛ 75µl من محول نتريت الصوديوم ($NaNO_2$ 5%)، وبعد 5 دقائق نضيف 125 µl من ثلاثي كلورير الألمنيوم ($AlCl_3$ الممدد 10%) وبعد 6 دقائق ، نضيف لها أيضا 500µl من محلول هيدروكسيد الصوديوم

(NaOH , 1N) و 500µl من الماء المقطر ، يترك المزيج لمدة 30 دقيقة في الظلام حتى إتمام التفاعل ، ثم نقرأ شدة الامتصاص الضوئي لكل محلول عند طول الموجة **λ=510 nm** [16-20].

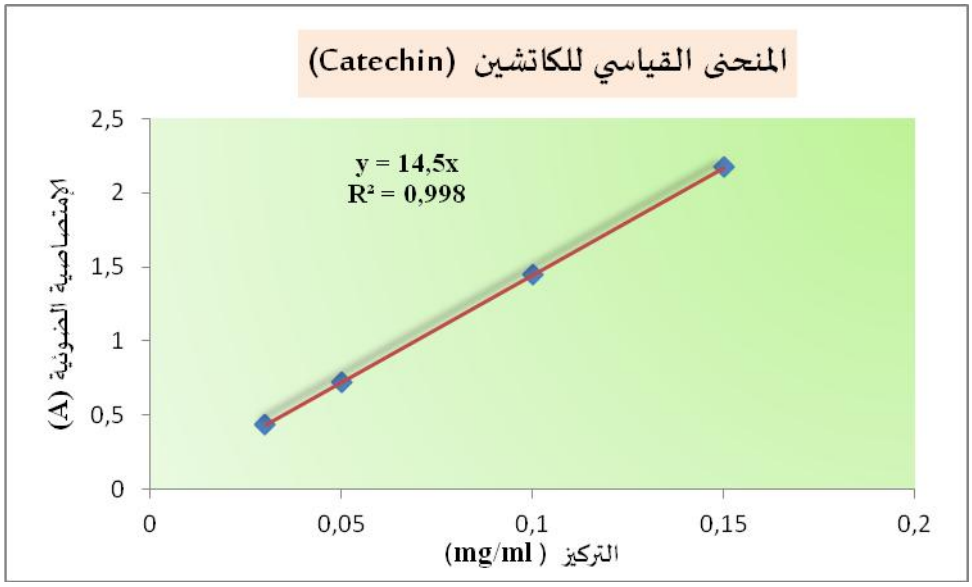
قيم الإمتصاصية مدونة في **الجدول IV. 2** .

الجدول2.IV : قيم الإمتصاصية للكاتشين **(Catechin)** لكل تركيز .

التركيز (ملغ/مل)	0.03	0.05	0.1	0.15
الإمتصاصية	0.435	0.724	1.450	2.175

انطلاقا من النتائج المدونة في الجدول نرسم المنحنى القياسي للكاتشين **(Catechin)** الذي يبين تغير الامتصاصية الضوئية (A) بدلالة التركيز ب(mg/ml).

و **الشكل 5.IV** يمثل المنحنى القياسي للكاتشين **(Catechin)** .



الشكل 5.IV : المنحنى القياسي للكاتشين **(Catechin)**.

2. حساب كمية الفلافونيدات في المستخلصات:

نعامل مسخلصات العينات ذات التركيز 0.5mg/ml بنفس معاملة للكاتشين **(Catechin)** ، وبعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لها ، نستخدم المنحنى القياسي للكاتشين**(Catechin)** لحساب تركيز الفلافونيدات في العينات المدروسة.

5.4.IV التحليـــل الكيفي بواسـطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفـــاءة العـــــالية (CLHP): (Chromatographie liquide de haute performance)

1.5.4.IV الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (CLHP):

وهي تطوير لكروماتوغرافيا العمود الكلاسيكي، الطور المتحرك فيها سائل غالبا ما يكون مذيب عضوي أو الماء، أما الطور الثابت صلب (عمود مملوء بمادة صلبة)؛ طور صلب عادي غير قطبي أو قليل القطبية وغالبا ما يكون من gel de selise ، أو طور معكوس (la phase inverse) قطبي بإستخدام الماء أو الكحول. تستعمل هذه التقنية لفصل المواد الثقيلة، كما أننا لا نحتاج لتحويل المركبات إلى مواد طيارة. في معظم التحاليل طور متحرك واحد يكفي لفصل كل مكونات الخليط، ويسمى هذا النظام بـ elution isocratique، ولكن عندما يكون هناك إختلافا كبيرا في زمن المكوث t_r (temps de rétention) يفضل إستخدام طورين متحركين يغير أحدهما قطبية الآخر، ويسمى هذا النظام بالتصفية التتابعية التدريجية.

التصفية التتابعية التدريجية (elution gradient): في هذا النظام نسب الطورين المتحركين تتغير بإستمرار أثناء التحليل [21-22].

2.5.4.IV التحليل الكيفي و الكمي :

للتأكد من وجود المركبات الفينولية وعددها نستعمل جهاز الـ HPLC ، حيث اسعملنا لهذا الغرض نوعين مختلفين HPLC ؛

1 - **HPLC (Shimadzu) :**

نحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز له، ثم نحقن بعد ذلك العينة (المستخلص) المراد تحليله في نفس شروط حقن المركب المرجعي وبنفس الحجم(20 µl) بتركيز 5ملغ/ 1مل من الميثانول100%، ثم نقرأ على الكروماتغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارها مع القيم المرجعية، وبذلك نحدد المركبات الفينولية الموجودة في العينة [23-24].

- المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها مدونة في **الجدول3.IV .**

الجدول IV. 3 : زمن المكوث للفينولات المرجعية **(1)**.

المركبات الفينولية المرجعية	زمن المكوث t_r(min)
Acide ascorbique	**4.21**
Acide chlorogénique	**13.52**
Acide caféique	**16.3**
Quercitine	**20.37**
Vanilline	**21.46**
Rutine	**28.22**

شروط التجربة: **الجدول IV.4** يوضح الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية في العينات المدروسة .

الجدول IV.4 : الشروط التجريبية لجهاز الـ **HPLC (1)** لفصل المركبات الفينولية.

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس RP-HPLC
العمود	(25cm x 46mm) C18
حجم الحقن	20µl
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	λ=300nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25°C
الطور المتحرك	(A) :acetonitrile (B): (0.2% acide acetique)

تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بلالة الزمن موضحة في **الجدول IV.5** .

الجدول5.IV : تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بلالة الزمن **(1)**.

الزمن (min)	نسبة %(A)	نسبة %(B)
0.01	10	90
0.02	10	90
6	14	86
16	17	83
23	19	81
28	23	77
30	10	90
50	10	90

- 2 HPLC (Agilent Technologies 1260) :

بنفس الطريقة نحقن العينة (المستخلص) المراد تحليله في نفس شروط حقن المركب المرجعي و بـالحجم (20 µl) بتركيز 50ملغ/ 1مل من الميثانول100 %، ثم نقرأ على الكروماتغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارها مع القيم المرجعية، وبذلك نحدد المركبات الفينولية الموجودة في العينة [23-24].

- المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها مدونة في **الجدول IV .6** .

الجدول IV .6 : زمن المكوث للفينولات المرجعية **(2)**.

Identification (المركبات الفينولية المرجعية)	Temps de rétention (min) (t_r(min) (زمن المكوث
Acide gallique	**8.6**
Catechin	**10.33**
Resorcinol	**15.80**
Acide p-coumarique	**24.10**
coumarine	**25.85**
Acide trans- hydroxycinnamique	**27.65**
luteolin 7-O glucoside	**29.40**
hyperoside	**31.22**
Nobiletin	**32.19**
Myricetin	**34.30**

شروط التجربة: **الجدول IV. 7** يوضح الشروط التجريبية لجهاز الـ HPLC لفصل المركبات الفينولية في العينات المدروسة:

الجدول IV. 7 : الشروط التجريبية لجهاز الـ **HPLC(2)** لفصل المركبات الفينولية [23].

العامل	الشروط
النظام	ZorbaxEclipse XDB
العمود	(4.6 x 100 mm, 3.5 µm) - C18
حجم الحقن	2 0µL
معدل الحقن	0.4 ml/min
طول الموجة	λ=200 à 400 nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25°C
الطور المتحرك	(A) :Méthanol (B): (Eau milliQ contenant 0.1 % d'acide formique)

تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بلالة الزمن موضحة في الجدول **الجدول IV.8** .

الجدول IV. 8 : تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بلالة الزمن **(2)**.

الزمن (min)	نسبة %(A)	نسبة %(B)
0	10	90
5	20	80
10	30	70
30	50	50
40	60	40
45	70	30
50	90	10
55	50	50
60	10	90

ملاحظة : نقوم بحقن كل محلول من المحاليل القياسية وبتراكيز مختلفة في جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء HPLC ، ثم نرسم المنحنى القياسي ومعادلة تغير المساحة بدلالة التركيز لكل محلول قياسي . أنظر الملحق رقم 03 .

5.IV طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية البيولوجية :

1.5.IV الطرق الكيميائية والكهروكيميائية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

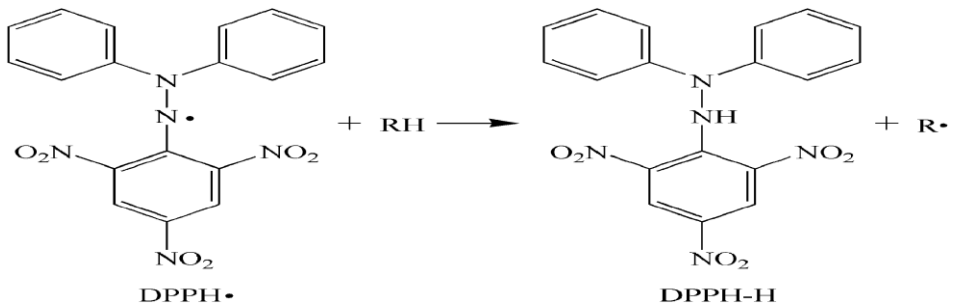
وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة ، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها : اختبار(DPPH) ، اختبار القدرة الإرجاعية للحديد ، اختبـــار فعالية مضادات الاكسدة الكلية (TAC) بإستعمال موليبدات الفوسفات ، هذه الطرق تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين [25-38] .

ومن الطرق الكهروكيميائية لتقدير مضادات الأكسدة الفولطامتري الحلقي [39-42].

1.1.5.IV اختبار DPPH :

(DPPH) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) هي مادة صلبة لونها بنفسجي– مسود ، يشتق هذا الجذر الحر من جزيئة (DPPH-H) ثنائي فينيل بكريل هايدرازين (1,1-Diphenyl- 2-picrylhydrazine) وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر ، كما هي موضحة في **الشكل 6.IV** .

وهو اختبار مضاد للجذور الحرة وقد سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف العالم " Marsden Blois " سنة 1958 ، ولقد إعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة :[43 -44]



الجذر الحر DPPH ذو اللون البنفسجي | الجزيء المستقر DPPH-H ذو اللون الأصفر

الشكل 6.IV : معادلة تثبيط جذر **DPPH** في وجود مضادات الجذور الحرة

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذور الحرة حيث يترك 30 دقيقة مباشرة مع المستخلصات المضادة للجذور ،مع العلم أن الجذر ($DPPH^{\cdot}$) مستقر نسبيا ، يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور ليتحول إلى (DPPH–H) مع نقصان الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمية λ_{max}=**517 nm** [45 -47].

إن قدرة مضادات الجذور الحرة تحدد بعبارة كمية حسابية بدلالة تركيز المحلول لتثبيط 50% من الجذور الحرة ، النتيجة نعبر عنها بـ IC_{50} وهي معرفة بتركيز المحلول بوحدة (µg/ml) بالنسبة للمستخلصات الخام أو بـ (mM) للمركبات النقية معلومة الكتلة المولية لتثبيط 50% من جذور (DPPH) ، وتحسب انطلاقا من منحنيات التغير في نسب التثبيط المئوي %بدلالة تركيز المحلول ، كلما كانت قيمة IC_{50} صغيرة كانت فعالية المضادات الجذرية كبيرة.

هذا الاختبار مستعمل بكثرة نظرا للخصائص التي يتميز بها : سريعة ، سهلة ، غير مكلفة ، كما استخدم هذا الجذر بصورة شائعة كمادة كاسحة للجذور ، يتحد جذر (DPPH) على الفور مع جميع أنواع الجذور الحرة أو مضادات الجذور الحرة مكونا نواتج أخف لونا بكثير من لون الجذر لمتابعة حركية هذا التفاعل نستعمل جهاز(UV–Vis) [48] .

أ- تحضير المواد وطريقة العمل:

قمنا بتحضر تركيز محلول DPPH حيث (نمزج 0.1 mM من DPPH (M=394g/mol) في حجم 100 ml من الميثانول)، ثم نحضر تراكيز مختلفة من مستخلصات نبات ؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral المخففة في الميثانول (0.15625mg/ml ، 0.1325 ، 0.625 ، 1.25) ، نأخذ من كل تركيز 0.5 ml نضيف لها 0.5 ml من $DPPH^{\cdot}$ في انابيب زجاجية مختلفة ، نجانس المحلول ، ونتركه لمدة 30 دقيقة في الظلام ، بعدها تتم القراءة امتصاصية العينات في جهاز UV-Vis عند طول الموجة الأعظمي λmax =517nm .

نجري نفس العملية على المركب النقي بوتيل هيدروكسي تولوين BHT كشاهد مرجعي وذلك من أجل مقارنة فعالية المستخلصات بالمركب المحضر صناعيا المضاد للجذور الحرة وللأكسدة المستعمل في الصناعات الغذائية [49-50].

ب-نتائج الاختبار : تم تعيين القدرة التثبيطية للمستخلصات بحساب النسبة المئوية **(IC%)** لـ DPPH· بالعلاقة التالية:

$$IC\% = \frac{At_0 - At_{30}}{At_0} \times 100 \quad \text{.....(1)}$$

حيث أن :

At_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

At_{30}: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر+المستخلصات) بعدمرور 30 دقيقة .

نعبر على القدرة التثبيطية للمستخلصات بقيمة IC_{50} (µg/ml) وهي أقل تركيز يثبط 50% من نشاط الجذر DPPH· ، وتحسب انطلاقا من المعادلة التي تحدد نسبة التثبيط بدلالة تركيز المثبط .

نأخذ القيمة المتوسطة لحصيلة نتائج الإختبار، المكررة ثلاث مرات و بإحتساب نسبة الخطأ ($\pm$SEM) من خلال النتائج نرسم خط مستقيم يمر بالمبدأ يعبر عن النسبة المئوية للقدرة التثبيطية بدلالة التركيز.

2.1.5.IV اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) :

يعتبر اختبار القدرة أو الكفاءة الإرجاعية اختبارا مباشرا وسريعا وهو يستعمل أساسا لقياس مدى قدرة مضادات الأكسدة ، ويستعمل هذا الاختبار لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة في وسط متعادل يعتمد على إرجاع $[Fe(CN)_6]^{3-}$ إلى $[Fe(CN)_6]^{4-}$ والذي يعطي في وجود الحديد الثلاثي لون أزرق باهت [51].

تحضير السلسلة العيارية :

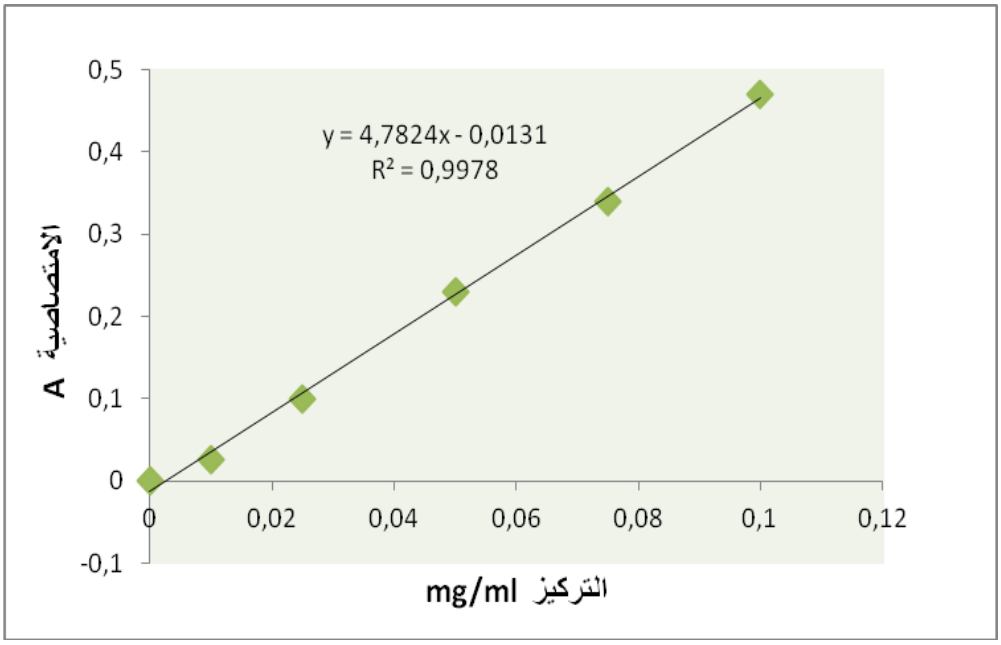
نحضر محلول عياري من حمض الأسكوربيك بتركيز (0.1mg/ml)، ثم نحضر منه سلسلة عيارية بتراكيز (0.01-0.1mg/ml). أخذ 1ml من كل محلول عياري ونضيف لها 2.5ml من محلول منظم من فوسفات الصوديوم (0.2 M, pH 6.6) ، ثم نضيف 2.5ml من المحلول $K_3Fe(CN)_6$ ذو تركيز (1%) ، يحضن الخليط عند درجة حرارة 50°C لمدة 20mn ويضاف إليه 2.5ml من محلول (10%) TCA(acide trichloracétique) المحضر في وسط مائي (10 % m/v) ثم نعرضه للطرد المركزي لمدة 10 د في درجة حرارة الغرفة ، ونأخذ 2.5 ml من المحلول ونضيف لها

2.5 ml من الماء المقطر و 0.5ml من محلول $FeCl_3$ (0.1%) ، ونقيس الإمتصاصية عند طول الموجة 700nm بإستعمال جهاز UV-Vis والنتائج مدونة في **الجدول9.IV** [52-54].

الجدول 9.IV : السلسلة العيارية لحمض الأسكوربيك.

	التركيز (mg/ml)	الامتصاصية
1	0,01	0,025
2	0,025	0,1
3	0,05	0,23
4	0,075	0,34
5	0,1	0,47

نقوم برسم منحنى بياني لقيم تراكيز حمض الأسكوربيك بدلالة الامتصاصية كما هي موضحة في الشكل IV .6.



الشكل 6.IV: المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك بطريقة القدرة الإرجاعية للحديد.

إختبار العينـات:

نعامل مستخلصات العينات ذات التركيز (0.5mg/ml) بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الاسكروبيك ، ثم نستعمل المنحنى القياسي لتقدير فعالية مستخلصات العينات ، هذا القياس يمثل الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة وفق مقدار يدعى EAA ؛

وهو يمثل الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك من طرف المستخلصات المدروسة بطريقة **إرجاع للحديد** ، ويتضح هذا من خلال الإسقاط على المنحنى القياسي لـحمض الأسكوربيك .

كل تجربة تكررت ثلاث مرات و تعرض النتائج على النحو (SEM ±).

3.1.5.IV اختبـــــار فعالية مضادات الاكسدة الكلية بإستعمال موليبـدات الفوسفات(TAC):

المبدأ الأساسي لتقييم القدرة المضادة للأكسدة من خلال اختبار molybden يتضمن إرجاع Mo (VI) إلى Mo (V) بواسطة المستخلصات النباتية التي تحتوي على مركبات المضادة للأكسدة ، هذا الارجاع يتجسد بتكوين مركب مخضر من (phosphate / Mo (V)) في وسط ذو pH حمضي.

نقيس التناقص في درجة لون المعقد Mo(VI) في وجود مضادات الاكسدة .

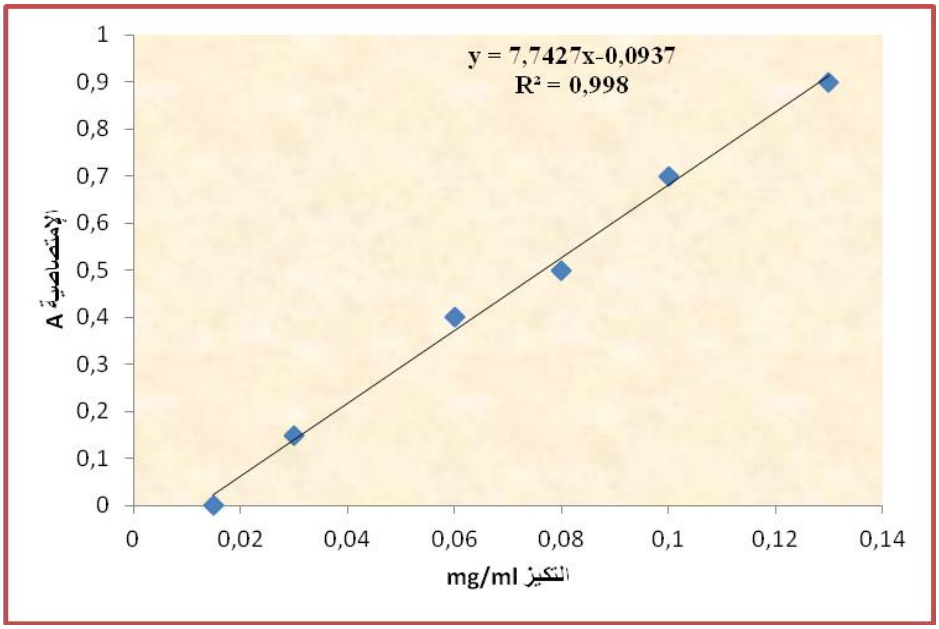
على خلاف بقية الاختبارات هذا الاختبار لا يمكننا فقط من معرفة الفعالية المضادة للأكسدة للفينولات ولاكن يمكننا ايضا من معرفة الفعالية المضادة للأكسدة لمركبات اخرى كالفيتامينات .

تحضير السلسلـة العيـــارية

نحضر تـواكيز مختلفة من حمض الغاليك تكون محصورة بين (0.02-0.2mg/ml) ، نأخـذ 0.2ml من كل محلول عيـاري في أنبوب إيبندورف ونضيـف إليـه 2ml مـن المحلـول المحضر يحتوي على موليبدات الأمونيوم (4mM) و فوسفات الصوديوم (28mM) وحمض الكبريتيك (0.6 M).

يحضن الخليط في حمام مائي عند درجة حرارة 95°C لمدة 90mn، نترك العينات تبرد في درجة حرارة الغرفة ثم نقيس الامتصاصية عند طول موجة 695nm.

استعمل حمض الغاليك كمركب مرجعي عياري، وحسبت القدرة المضادة للأكسدة اعتمادا على العلاقة البيانية بين تركيز حمض الغاليك والامتصاصية، قيست الامتصاصيـة عند طـول الموجـــة 695nm كما في **الشكل 7.IV** [55-57].



الشكل 7.IV: المنحنى القياسي لحمض الغاليك بطريقة موليبدات الفوسفات (MP).

إختبار الموليبدات للعينات:

نأخذ 0.2ml من كل عينة مدة ذات التركيز (0.5mg/ml) ونضيف إليها نفس إضافات حمض الغاليك ، نستعمل المنحنى القياسي لتعيين القدرة المضادة للأكسدة لمستخلصات العينات . كل تجربة تكررت ثلاث مرات و تعرض النتائج على النحو (± SEM).

4.1.5.IV الطرق الكهروكيميائية لتقدير الفعالية ال مضاد ة للأكسدة (اختبار الفولطامتري الحلقي VMC) :

فكرة التحليل الكهروكيميائي لمضادات الأكسدة أقترحت بعد إعادة النظر جذريا في الطرق الطيفية المعتمدة في تقدير مضادات الأكسدة على المستويات الكمية أو الفاعلية للمواضيع المدروسة. هذا الطرح الجديد وضعت له أسس نظرية جديدة فيها برهان لطرائق و آليات تأثير مضادات الأكسدة، وتم ذلك من خلال وضع علاقات رياضية جديدة لحساب العوامل الحركية للعمليات التي تجري على الأقطاب، ووضعت أيضا مقاربات جديدة لمعالجة الإشارة التحليلية الناتجة [58].

الطرق الكهروكيميائية في معظمها تعتمد على خصائص المادة المدروسة و سلوكها على الاقطاب الصلبة ، يعتبر قطب الكربون الزجاجي من أكثر الاقطاب شيوعا في تطبيقات دراسة النشاط المضاد للأكسدة و ذلك نظرا لخصائصه الفيزيائية و حساسيته للمركبات المضادة للأكسدة [59].
الطرق الكهروكيميائية التي اقترحت و تم تجريبها و أعطت نتائج مذهلة من أهمها الطريقة الفولتامترية من طرف الباحث (Korotkova) [60] .

هذه الأخيرة التي تطرق لها لأول مرة (S.Chevion) و (R.kohen) في بكورة ابحاثهما حول مضادات الأكسدة في جسم الإنسان ، و هذا لحل إشكالية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في بلازما الدم و الأنسجة الحية، حيث كانت العكارة تعيق عملية التقدير في الطرق الطيفية بالإضافة إلى الزمن الكبير الذي تستغرقه هذه الطرق [61-62].

لقد كان هدف الباحثان هو إيجاد طريقة بسيطة و سريعة و دقيقة تمكنهم من تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في الأنظمة الحية، و ذلك لمتابعة المرضى و تشخيص حالاتهم الصحية، كما يمكنهم من اختبار الأدوية و آثارها ، و قد تمكنا من تطوير هذه الطريقة أكثر من مرة و تم تعميمها لتشمل أصناف أخرى من المواد المدروسة عدا الأنسجة الحية و بلازما الدم ، فقد تم دراسة المركبات النقية و الخلائط المعقدة والمواد الغذائية و مستخلصات النباتات مثل الشاي و القهوة ، وعدد كبير من النباتات العطرية [63-66].

1.4.1.5.IV التقنية الفولتامترية الحلقية:

التعريف :

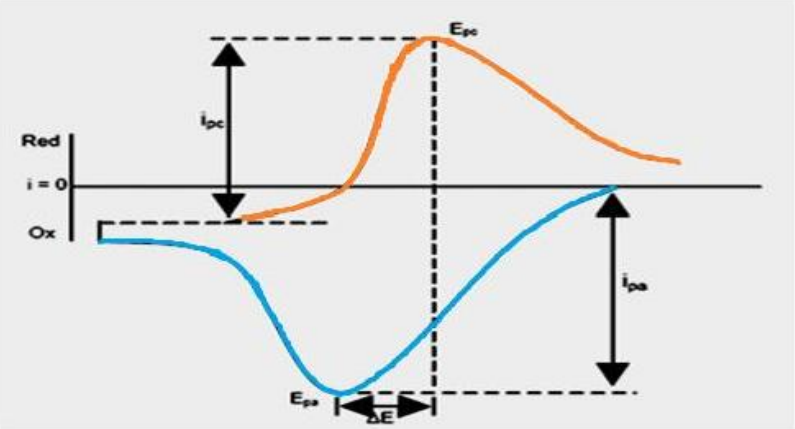
إن تقنية الفولطامترية الحلقية هي واحدة من طرق التحليل الكهروكيميائي، وفيها يطبق فرق الكمون المتغير على مسرى العمل بالنسبة للمسرى المرجعي.

تسمح هذه الطريقة على الخصوص بتحديد الشروط التي ينجز فيها تفاعل الأكسدة والإرجاع، وكذا تقدير درجة عكوسيّة جملة (أكسدة –إرجاع)، كما تسمح أحيانا بتحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات، وكذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة.

حيث أن ظاهرة الانتشار هي المسؤولة الوحيدة عن نقل المواد الفعالة، أما الهجرة الأيونية يتم عزلها باستعمال الكهروليت المساعد. يتم مسح فرق الكمونات في هذه الطريقة بصورة حلقية، فبعد إجراء المسح مثلا باتجاه فرق الكمونات المصعدية وإنجاز تفاعل أكسدة، يعكس اتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح في اتجاه فرق الكمونات المهبطة.

والشكل العام للمنحنيات الفولطامترية الحلقية ممثل بالشكل **8.IV** للحالة الأكثر بساطة التي تحدث فيها عملية أكسدة واحدة متبوعة بعملية إرجاع في المجال المدروس [67-68].

إن المنحنى **I=f(E)** (التجريبي مميّز بنتوء للتيّار المهبطي يليه نتوء مصعدي، هذه النتوءات تتميز بالمقادير التجريبية).



الشكل 8.IV : المقادير الأساسية لمنحنى الفولطامتري الحلقي

Ip_a ، Ip_c : تيارات النتوءات المصعدية و المهبطية على الترتيب.

Ep_a ، Ep_c : كمونات النتوءات المصعدية و المهبطية على الترتيب.

ΔEp : التغير في الكمونات بين Ep_c و Ep_a .

2.4.1.5.IV الخصائص الكهروكيميائية للفينولات:

إن النشاط المضاد للأكسدة عند الفينولات يعتمد على الخاصية الارجاعية لهذه المركبات والمرتبطة بصفة خاصة بعدد مجموعات الهيدروكسيل التي يمتلكها الجزيء ووجود مجموعة الكربوكسيل ، حيث تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل لتعطي إكترون و ذرة هيدروجين [69].

$$\mathbf{Red} \longleftrightarrow \mathbf{Ox + H^{+} + é}$$

حيث:

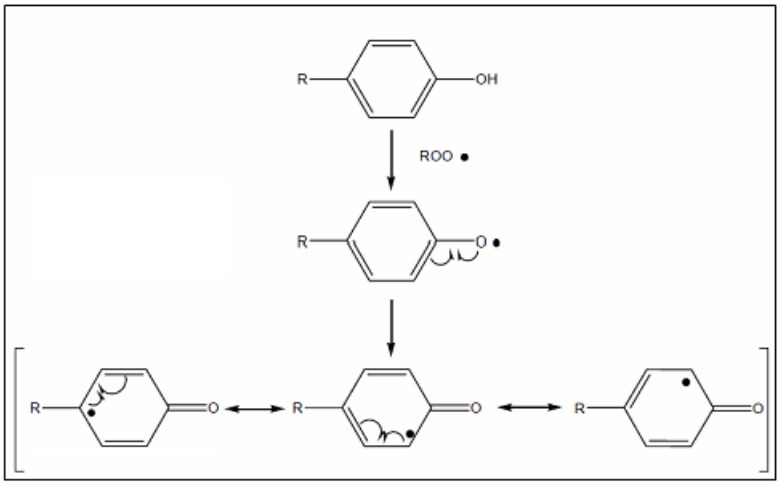
Red : المركب الفينولي المضاد للأكسدة(عامل مرجع) .

Ox : الناتج (مؤكسد) .

إذ هناك علاقة تداخل بين الإلكترونات المتحركة للحلقة وإلكترونات الأزواج الحرة لذرة الأكسجين حيث يلعب الأكسجين دورا ميزوميريا مانح (+M) للإلكترونات، وعليه فنقصان الكثافة الالكترونية تعمل على اجتذاب إلكترونات الربط الهيدروكسيلية نحو الأكسجين، وكنتيجة لذلك فإن الحلقة البنزينية تعمل على تسهيل انفصام الرابطة بين O و H بخلاف انفصام الرابطة بين O و C التي تكون أكثر صعوبة . فسهولة الرابطة بين H–O تجعل هيدروجين الوظيفة الفينولية متحرك مما يمنحه الخاصية الحمضية شأنه شأن الحمض الضعيف.

حامضية الوظائف الفينولية يمكن أن تتغير كثيرا تبعا للبنية العامة للجزئية فعلى سبيل المثال : 2,4,6 trinitrophénol يعتبر حمضا قويا(pH=0.71) وهكذا نجد أن مجموعة الكربونيل(C=O) في المركبات (flavonol و Flovone) ذات تأثير ميزوميري ساحب (–M) لإلكترونات الحلقة البنزينية تزيد من استقطاب الرابطة O–H وبالتالي حركية H أي خاصية الحمضية [70-72] ، كما أن وجود مستبدلات مختلفة في الحلقة سوف يؤثر على استقطاب الرابطة O–H ويغير من قيمة القدرة الإرجاعية.

بصفة عامة إن أول خطوة في أكسدة المركب الفينولي هي تشكل جذر الفينوكسيل (phenoxyl) الغير مستقر، والذي يلعب دور مركب وسيط يمكنه أن يشارك في تفاعلات اقتران إعطاء البروتونات أو هجوم نيكلوفيلي . انظر **الشكل 9.IV** [73-75].



الشكل 9.IV: تفاعل أكسدة المركبات الفينولية و تشكل جذر الفينوكسيل

3.4.1.5.IV طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

أ/ **مبدأ الطريقة** : إن فعالية مضادات الأكسدة تكمن في أنها عوامل مرجعة تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة، هذا ما جعلها تكون محل دراسات كهروكيميائية مكنت من استنتاج علاقة مهمة بين السلوك الكهروكيميائي و القدرة الإرجاعية [76].

كل المعلومات يمكن استخلاصها من المنحنى الفولطامتري الحلقي الناتج و الذي ينقسم إلى قسمين:

- ❖ مصعدي في جهة الكون الموجب .
- ❖ مهبطي في جهة الكمون السالبة .

القسم المصعدي من المنحنى الفولطامتري الحلقي ، يمكننا من استخراج معطيات متعلقة بقابلية الجزيئات لمنح الكترونات للمصعد، أي أن هذه الجزيئات تلعب دور عوامل مرجعة (تحصل لها أكسدة) . القدرة الارجاعية للعينة يمكن أن يعبر عنها بالعوامل التالية:

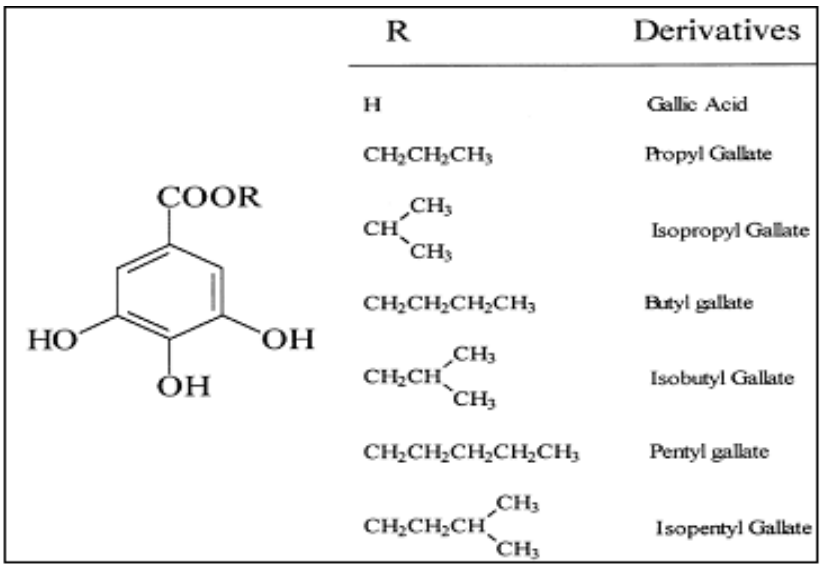
- كمون الأكسدة (E) يتعلق بطبيعة الجزيئات.
- التيار الحدي المصعدي (I_a) : يتعلق بتركيز الجزيئات ، فمن شدة التيار يمكننا تحديد تركيز المركبات الموجودة في العينة المدروسة [76].

إن النتائج المتحصل عليها من المنحنى الفولطامتري الحلقي للعينة المدروسة يتم مقارنتها بعامل أخر إضافي هو حمض الغاليك ، حيث يلعب دور المركب القياسي الذي يفضله اغلب الباحثين و الذي منه يمكن استخلاص الكمية المكافئة [77].

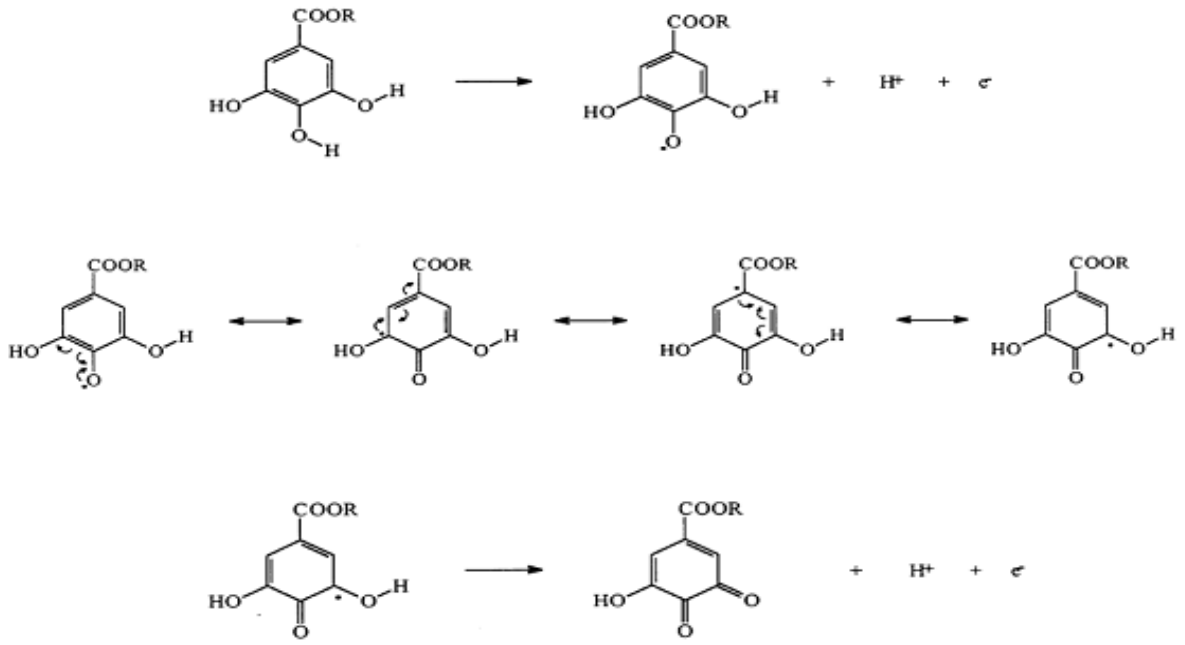
بعد معرفة أسس الطرق الفولطامترية الحلقية و الخصائص الكهروكيميائية للمواد المدروسة نباشر عملية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ، وهذا بأخذ حمض الغاليك كمركب قياسي .

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بأخذ حمض الغاليك كمركب قياسي:

حمض الغاليك يمكن أن يكون نموذج لأكثر الفينولات ، لما يتميز به من حيث البنية الجزيئية كما هو موضح في **الشكل 10.IV** و السلوك الكهروكيميائي كما هو موضح في آلية أكسدته في **الشكل 11.IV** [78-79] .



الشكل 10.IV: بنية حمض الغاليك ومشتقاته



الشكل 11.IV: آلية أكسدة حمض الغاليك و مشتقاته

ب/.الخطوات المتبعة [77،80]:

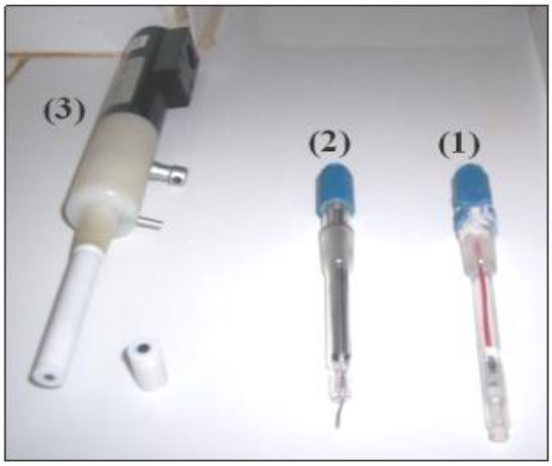
قبل الشروع في العمل لابد من تحضير مسرى العمل حيث تعتبر هذه الأخيرة الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية حيث تتم على سطحه عملية الأكسدة و الارجاع ، لذا وجب التأكد من خلو السطح من أي مادة تعمل على إعاقة عمليتا الاكسدة و الارجاع ، كوجود أكاسيد أو مادة مرجعة أو دهون من هنا كانت أهمية معالجة السطح و تنظيفه قبل أي عملية قياس.

معالجة السطح و تنظيفه تتم فيزيائيا بإستعمال اوراق كربيد السيلكون (4000) و كيميائيا باستعمال الاسيتون لإزالة الدهون و الماء المقطر لإزالة الأملاح كما يجفف السطح من الماء لأنه يؤثر في القياسات، و يتم التأكد من نظافة السطح كهروكيميائيا.

و أنواع المسرى كالتالي:

- **المسرى المرجعي :** هو إلكترورد الكالومال المشبع بكلوريد البوتاسيوم .
- **المسرى المساعد :** له وظيفة وحيدة وهي إغلاق الدارة ، وهو عبارة عون سلك من البلاتوين قطره1 مم .

- **مسرى العمل** :هو الإلكترود الذي تتم عليه تفاعلات الأكسدة والإرجاع ، وهو عبارة عن اسطوانة من الكربون الزجاجي قطرها 3ملم، و **الشكل 12.IV** يبين صور المسارى السابقة الذكر .



الشكل 12.IV:المسارى على الترتيب؛ (1)المسرى المرجعي، (2)المسرى المساعد،(3) مسرى العمل .

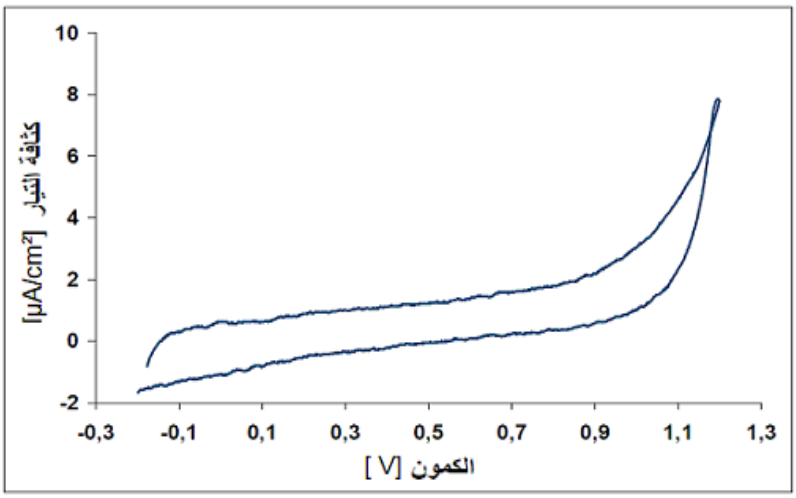
الخطوة الأولى (تحضير المواد وطريقة العمل) :

يتم تحضير تركيز معلوم من حمض الغاليك (1mg/ml) ، ومن خلال هذا التركيز حضررنا تراكيز مختلفة أخرى من ؛ (400 – 900 µg/ml)، وكذلك تحضير الخلية الكهروكيميائية التي تحوي على وسط موقي ذو pH=7 و **كهروليت مساعد** هو KCl .

الكهروليت المساعد : من أجل الحصول على وسط ناقل للكهرباء ، نضيف أملاح خاصة يصعب أكسدة شواردها السالبة وإرجاع شواردها الموجبة ، حيث إستعملنا (KCl) ذا تركيز 0.1M كمادة كهروليتية ، وتم الإختبار على أساس الخصائص التالية :

- ✓ ذوبانيته الكبيرة في المذيبات المدروسة لضمان ناقلية جيدة .
- ✓ يجب أن يكون التركيز أكبر بـ50 إلى 100 مرة من تركيز المواد الكهروفعالة المدروسة .
- ✓ يجب أن يكون محايدا كيميائيا عند درجة حرارة ثابتة.
- ✓ مجال الكهروفعالية للكهروليت المساعد يجب أن يكون واسعا قدر الإمكان .

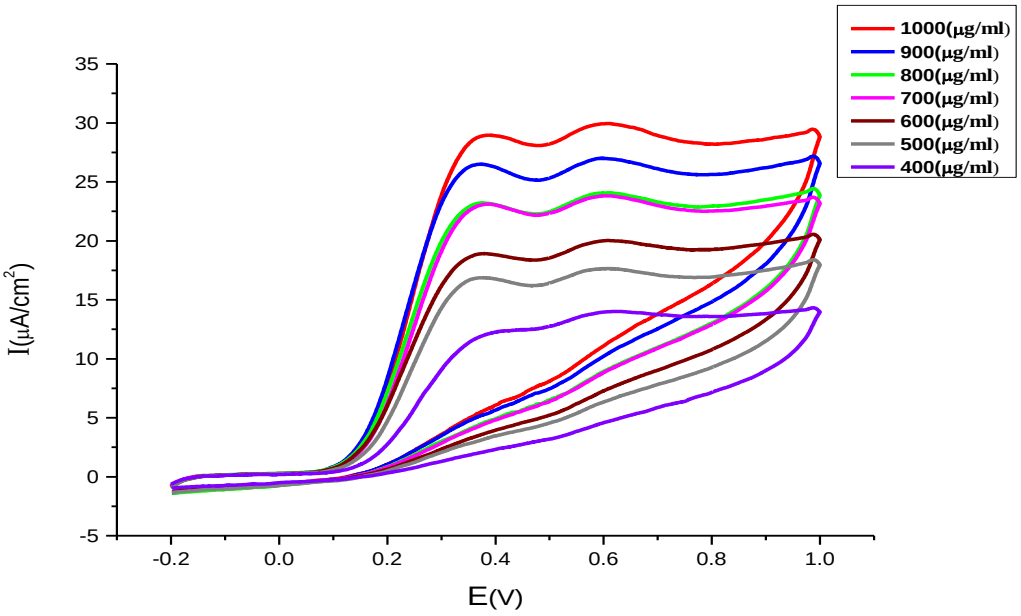
وقبل مباشرة الدراسة ، قمنا بتحديد مجال الكهروفعالية للكهروليت المساعد مع المذيب على مسر ى الكربون الزجاجي، حيث حدد المجال من(200- إلى 1200mV/ECS) في الجهة المصعدية ، سرعة مسح تساوي 100mV/s ، كما هو موضح في **الشكل 13.IV** .



الشكل 13.IV : المنحنى الفولطامتري الحلقي للكهروليت

الخطوة الثانية : رسم المنحنيات الفولط امترية الحلقية وفق تراكيز متزايدة لحمض ال غاليك في الخلية الكهروكيميائية، حيث تتم هذه الخطوة بعد ضبط الشروط المتمثلة في مجال الفاعلية و سرعة المسح حيث أن : – الكمون (E) من (200 -الى 800 mV) – سرعة المسح 100 mV/s.

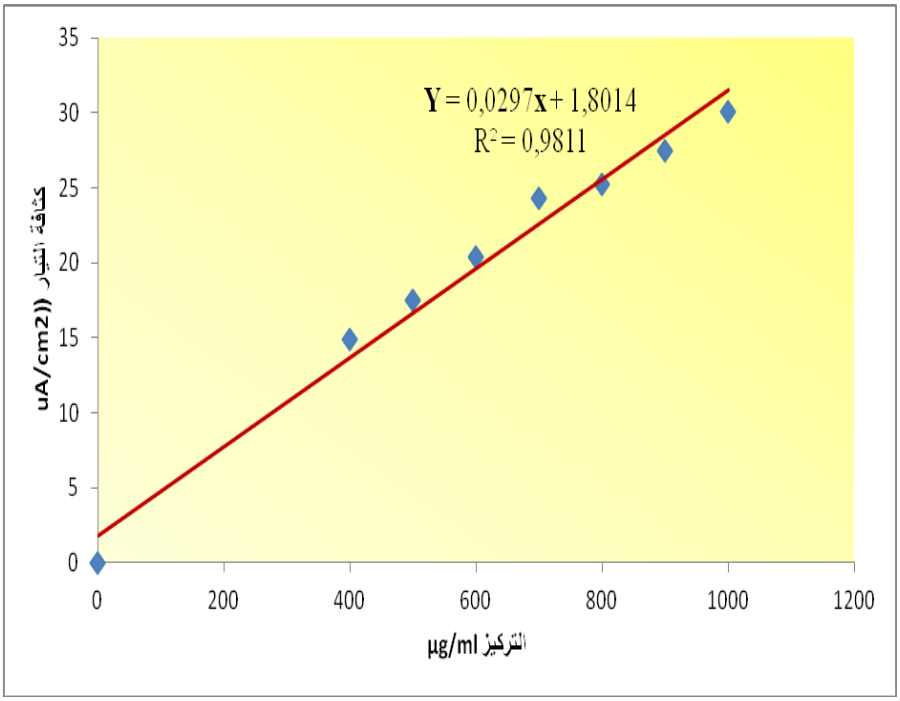
وتم الحصول على المنحنيات التالية كما هي موضحة في **الشكل 14.IV .**



الشكل 14.IV : المنحنيات الفولطامترية الحلقية لحمض الغاليك

نلاحظ في الشكل أن الزيادة المنتظمة لتركيز حمض الغاليك في الخلية يعطي منحنيات فولطامترية ذات كثافة تيار كهربائي متزايدة بانتظام و هذا ما يدل على صحة الخطوات العملية المنجزة ، إذا أن أي عدم انتظام في هذ المنحنيات يدل على خلل في الخطوات المنجزة سواء على مستوى التجهيزات أو على مستوى المستخدم، وأهم خلل قد يقع فيه المستخدم لهذ التقنية هو نظافة سطح قطب العمل .

الخطوة الثالثة : بعد رسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية للتراكيز، نقوم بإيجاد كثافة التيار عند قمم (نتوء) الموجة المصعدية (تفاعل غيرعكوس) لكل منحنى ، حتى نحصل على منحنى قياسي لحمض الغاليك يمثل كثافة التيار بدلالة التركيز **I = F(C)** ، كما في **الشكل 15.IV .**



الشكل 15.IV : المنحنى القياسي لـ (AG) حسب الطريقة الفولطامترية الحلقية

الخطوة الرابعة : نرسم المنحنى الفولطامتري الحلقي للعين ات المدروسة ذات التركيز المعلوم 1mg/ml ، ثم نستنتج شدة التيار المصعدية التي يتم إسقاطها على المنحنى القياسي، فنحصل على التركيز المكافئ من حمض الغاليك .

5.1.5.IV المقارنة بين نتائج التحليل :

يقوم المحللون الكيميائيون عادة بتطوير طرق جديدة للتحليل الكيميائي ، وحتى يتم إعتماد هذه الطرق ، فإنه لابد من مقارنة نتائجها بنتائج أحد المحللين بالنتائج التي يحصل عليها محلل آخر .

- **إختبار F-test :**

إختبار F-test يستخدم لمعرفة مدى الفرق في الدقة بين نتائج التي تتم مقارنتها حسب العلاقة التالية :

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

قد نحصل على مجموعتين من النتائج ونريد أن نقارن بين مدى تقارب دقة كل مجموعة ، ولكي نحكم على دقة كل مجموعة نقوم بإيجاد إختبار F ، حيث نعين الانحراف المعياري لنتائج كل منها ، ولنفرض أن S_1 كان للمجموعة الاولى و S_2 كان للمجموعة الثانية ، ثم نضع القيمة الأكبر في البسط ونعين قيمة F_C، ومن جدول التوزيع نعين قيمة F_t .

فإذا كانت F_c أقل من F_t فهذا يعني أن دقة مجموعة الأولى والثانية متشابهة [81].

- **ملاحظات:**

يسمى S بالإنحراف المعياري القياسي للعينة ، الذي نحصل عليه من إعادة التحليل من 3 إلى 6 مرات حيث تأخذ العلاقة التالية :

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

حيث أن: x_i هي النتيجة لكل تجربة وN عدد التجارب المكررة أما $\bar{x}$ فتمثل المعدل وعلاقته كالتالي :

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$$

2.5.IV دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية الاستخلاص الفينولات و القلويدات والتربينات الثلاثية للنباتات المدروسة ، قمنا باختبار هذه المستخلصات على 9 أنواع من البكتيريا فكانت الدراسة على ؛

*** أربع سلالات ذات + Gram :**

- Staphyloccocus aureus ATCC 6816- Staphyloccocus aureus méthicilline résistante- Bacillus cereus ATCC 14579 - Listeria monocytogenes ATCC 19115.

*** خمس سلالات ذات - Gram :**

Klebsiella pneumoniae CIP 104727 - Klebsiella pneumoniae CIP 105705 - E. coli ATCC 25922 - Pseudomonas aeruginosa HM 627579 - Salmonella typhimurium ATCC 13311.

وتهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات على البكتيريا من خلال طرق معالجة البكتيريا لطريقة الإنتشار.

1.2.5.IV جمع السلالات البكتيرية المستهدفة :

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخبر المواد النشطة بيولوجيا (LSBA) بالقطب التكنولوجي ببرج السدرية – تونس .

2.2.5.IV تحضير محاليل المستخلصات النباتية :

تم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة لكل مستخلص ولكل نبات (0.001 , 0.1 , 1) mg/ml , حيث اذيبت المستخلصات الخام الفينولية في كحول ال مثانول 80% , اما القلويد ات فقد اذيبت في اسيتات الإيثيل والتربينات الثلاثية في الكلوروفورم .

3.2.5.IV تحضير الأقراص :

تم قص ورق الترشيح Whatman الى اقراص بقطر 6 ملم ، ثم وضعت هذه الاقراص في انبوب اختبار زجاجي يحتوي على 10 مل ماء مقطر ومن ثم وضعت في جهاز ال تعقيم (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120 م° بعدها تم التخلص من الماء ثم نقلت الاقراص الى الحاضنة حتى تجف [82].

4.2.5.IV تحضير وسط الزرع :

نقوم باذابة الوسط المغذي Muller Hinton في حمام مائي من ثم نسكب كميات محددة في كل علبة بيتري بمقدار 20 مل بحيث يراعى التجانس في سمك الوسط على أن يكون في حدود 1 ملم ، ثم يترك حتى يتصلب ويوضع في الفرن مدة كافية لازالة الرطوبة المتبقية [83].

5.2.5.IV تحضير المعلق البكتيري :

نأخذ في كل مرة جذمة (عينة) من احدى الانواع البكتيرية بواسطة ماصة باستور ونضعها في زجاجية تحوي ماء فيزيولوجي ، ثم نقوم برج بسيط ونسكب قطرات منه في علبة بيتري التي تحتوي وسط الزرع المحضرة مسبقا ونقوم بالتحريك حتى تتوزع كليا على الوسط ، ثم نقوم بسكب الكمية الزائدة منه ،ثم نترك في الحاضنة مدة 15 دقيقة في درجة حرارة 37 م° [84-85].

6.2.5.IV تشبيع الاقراص المحضرة بتراكيز المستخلصات :

- **بالنسبة للمستخلصات الفينولية :**

تشبعا الأقراص بواسطة ملقط (Pince) معقم ، بحيث بطرف القرص نلمس المستخلص النباتي ليتبلل تلقائيا ، العملية تتم لستة اقراص تشبع بست تراكيز محضرة سابقا لمستخلصين فينولين (**Ha.Ph** و **Ad.Ph**) ، لكل نبات له مستخلص فينولي يحوي ثلاث تراكيز مختلفة داخل علب بيتري مع قرص شاهد مشبع بالميثانول 80% .

نترك بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة.

❖ **بالنسبة للمستخلصات القلويدية والتربينات الثلاثية :**

بنفس الطريقة نكرر العملية لمستخلص قلويدي **(Ha.Al)** ولمستخلصين تريبينين (**Ha.Tr** و**Ad.Tr**) لكل نبات له مستخلص يحوي ثلاث تراكيز مختلفة داخل علب بيتري ، مع قرص شاهد لكل مستخلص احدهما مشبع بلأسيتات الإيثيل والآخر مشبع بالكلوروفورم على التوالي .

نترك بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة.

7.2.5.IV قراءة النتائج :

من خلال قطر التثبيط يمكننا معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي ويمكن القول أن :

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي (−) إذاكان القطر أقل من 8 ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي (+) إذا كان القطر ما بين 9 و14ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي (++) إذا كان القطر مابين 15 و 20 ملم .
- البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي (+++) إذا كان القطر أكبر من 20 ملم [86-87].

الفصـــــــل الخـامس

النتائج و المناقشة

1.V الدراسة الفيتوكيميائية الأولية لنباتي *Haloxylon articulatum* Bioss و *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral :

تم الكشف وإستخلاص مختلف مواد الايض الثانوي لكل من نباتي ؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral. .

1.1.V الكشف عن مواد الايض الثانوي في نبات (*Haloxylon articulatum* Bioss):

1 - الكشف عن القلويدات : عند معاملة المزيج بكاشف Mayer : نلاحظ ظهور راسب وهذا دليل على وجود القلويدات .

2 -الكشف عن الفينولات : ظهور اللون البنفسجي وهذا دليل على وجود الفينولات .

3 -الكشف عن الفلافونويدات : ظهور اللون الاصفر وهذا دليل على وجود الفلافونويدات .

4 -الكشف عن التربينات الثلاثية : ظهور حلقة خضراء تتحول للون الأحمر في نقطة تلاقي الطورين دليل على وجود التربينات الثلاثية والستيرويولات .

بنفس الطريقة تم الكشف عن منتجات الايض الثانوي مع نبات ؛ *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral ، وكانت النتائج العامة مدونة في **الجدول1.V** الموالي :

الجدول 1.V: نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في مختلف المستخلصات النباتية

النبات / المنتجات الفعالة	*Haloxylon articulatum* Bioss.	*Arnebia decumbens Vent* Coss. *et* Kral.
القلويدات	+	-
الفينولات	+	+
الفلافونويدات	+	+
التربينات الثلاثية	+	+

ملاحظة :

(+) وجود المادة الفعالة

(−)عدم وجود المادة الفعالة

2.1.V إستخلاص مواد الايض الثانوي في كل نبات :

نرمز لمردود المستخلصات بالرموز التالية :

- ✓ المستخلص الفينولي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. (Ha.Ph)
- ✓ المستخلص الفينولي لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral. (Ad.Ph)
- ✓ المستخلص التربيني لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. (Ha.Tr)
- ✓ المستخلص التربيني لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. (Ad.Tr)
- ✓ المستخلص القلويدي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. (Ha.Al)

بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في **الجدول V.2.**

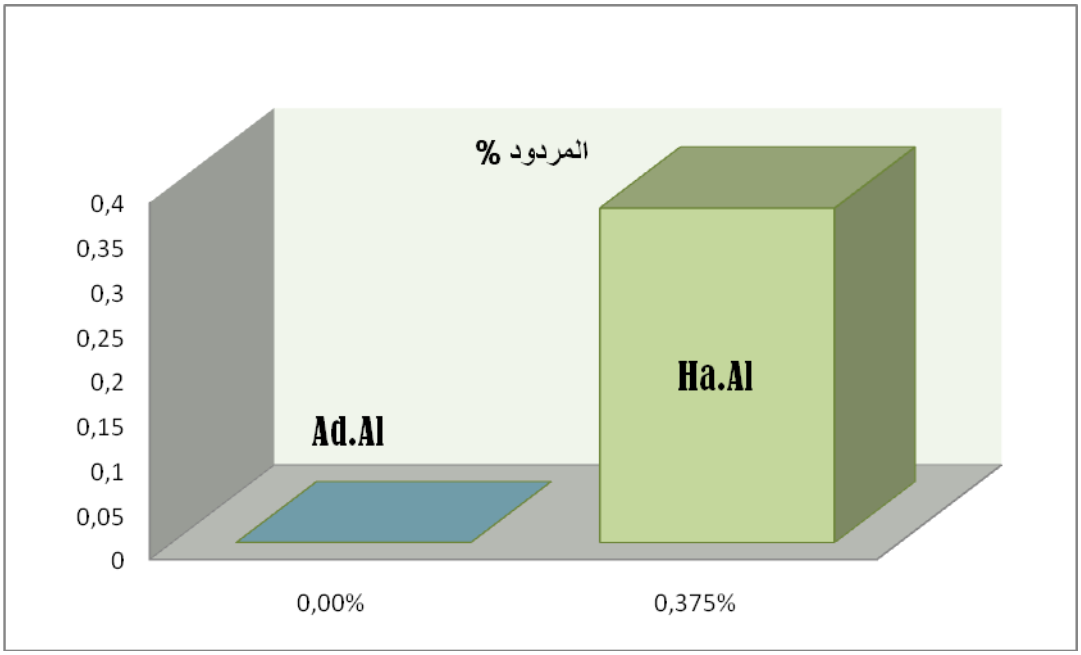
الجدول2.V : مردود الإستخلاص للمنتجات الفعالة للنباتات المدروسة

نتائج الإستخلاص المنتجات الفعالة في كل نبات	نوع النبتة	المردود%
قلويدات	*Haloxylon articulatum* Bioss.	**%0.357±0.025**
	Arnebia decumbens Vent Coss *et* Kral	**%0 ≈**
الفينولات و الفلافونيدات	*Haloxylon articulatum* Bioss.	**%3.9±0.07**
	Arnebia decumbens Vent Coss et Kral	**%10.25±0.17**
التربينات الثلاثية	*Haloxylon articulatum* Bioss.	**%0.29±0.06**
	Arnebia decumbens Vent Coss et Kral	**%0.362±0.04**

✪ المناقشة:

من خلال النتائج المبينة في الجدول نجد أن مردود الاستخلاص للمنتج الفعال القلويدي Ha.Al يحوي مردود ضعيف ، بينما لاحظنا غياب للمنتج الفعال لدى العينة Ad.Al.

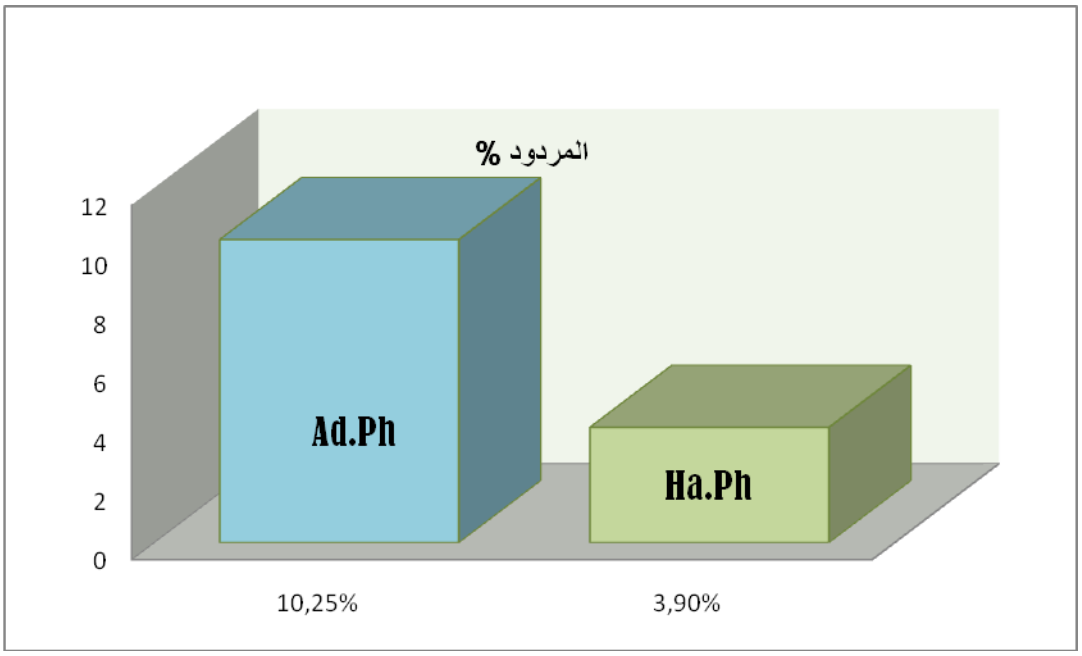
مردود الاستخلاص للعينات موضح في **الشكل 1.V** الموالي :



الشكل 1.V : مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات القلويدية .

ومنه أيضا نجد أن مردود الاستخلاص للمنتج الفعال الفينولي والفلافونويدي بالنسبة للعينة Ad.Ph أكبر من مردود العينة Ha.Ph ، فمردود المركبات الفينولية والفلافونويدية في العينة Ad.Ph كثيرة ، بينما مردود الاستخلاص للعينة Ha.Ph متوسط .

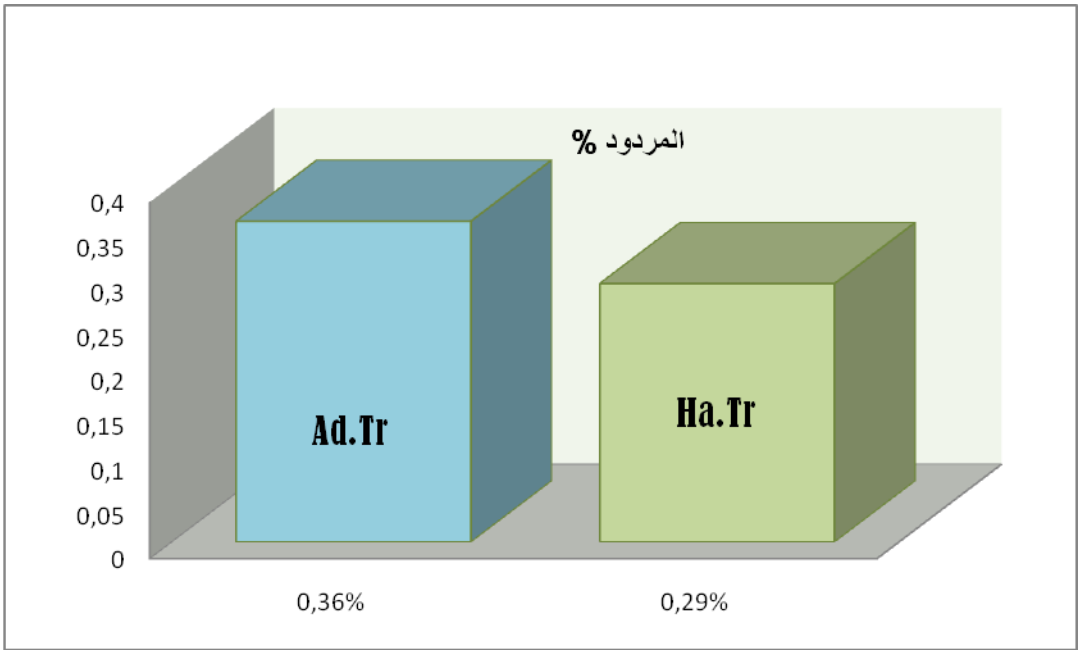
مردود الاستخلاص للعينات موضح في **الشكل 2.V** الموالي:



الشكل 2.V: مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية والفلافونويدية .

- ونجد أيضا أن مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية بالنسبة للعينة Ad.Tr الكبر من مردود العينة Ha.Tr ، وعلى العموم فان مردود الاستخلاص ضعيف للعينتين .

مردود الاستخلاص للعينات موضح في **الشكل 3.V** الموالي:



الشكل 3.V : مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للتربينات الثلاثية

ومنه يمكن القول أن نبات؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et *Kral* تحوي المنتجات الفعالة ؛ فهي تحتوي على كمية معتبرة من الفينولات والفلافونويدات خاصة في نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. وتحتوي على كمية أقل من التربينات الثلاثية بينما سجلنا تواجد القلويدات بكميات قليلة في نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. وغيابها في نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral .

2.V الدراسة الكمية للمستخلصات الفينولية :

1.2.V التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة (UV-Visible):

قدرت كمية الفينولات الكلية للمستخلصات الفينولية باستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن المحتوى الفينولي لكل مستخلص بعدد الملغرامات المكافئة من حمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص(مغ/غ)، نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في **الجدول 3.V**

الجدول 3.V : قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة في التقدير الكمي للفينولات .

العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الامتصاصية	0.194 ± 0.00043	0.38956 ± 0.00058

قدرت الفينولات الكلية باعتماد طريقة متفاعل Folin–Ciocalteu و استعمل حمض الغالييك كمركب مرجعي، تم قياس الكثافة الضوئية في طول موجة 765nm.

النتائج المتحصل عليها من المنحنى عياري لحمض الغاليك **(الشكل 9.V)** ذو المعادلة :

$$Y = 3.3956\ X \quad \text{.....(3)}$$

من خلالها و بحساب رياضي يمكننا أن نحدد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات , حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1غ من المستخلص .

النتائج مدونة في **الجدول 4.V** ؛

الجدول 4.V : كمية الفينولات الكلية في المستخلصين

العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.0572±0.000127	0.2147±0.0001715
الكمية (mg EAG/g)	114.3± 0.254	229.45 ± 0.343

من الجدول نلاحظ تواجد المركبات الفينولية بكميات معتبرة على مستوى نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. حيث تصل الى 114.3 mg EAG/g ، وبكميـــة أكبر على مســتوى مستخلص ع ـنة؛ *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral حيث يصل إلى ؛ 229.45 mg EAG/g، وعلى العموم تعتبر المستخلصات Ha.Ph و Ad.Ph تحوي كميات معتبرة من الفينولات .

2.2.V التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible :

قدرت كمية الفلافونيدات الكلية باستعمال المنحنى القياسي للكاتشين **(Catechin)** ، إذ حسبت كمية الفلافونيدات الكلية بالمليغرام المكافئ للكاتشين **(Catechin)** لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص (مغ/غ) ، ونتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في **الجدول 5.V** .

الجدول 5.V : قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة في التقدير الكمي للفلافونويدات

العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الامتصاصية	0.087145 ± 0.00178	0.06655 ± 0.00167

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي للكاتشين **(Catechin)** ، نجد تركيز الفلافونيدات في المستخلصات , حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1غ من المستخلص .

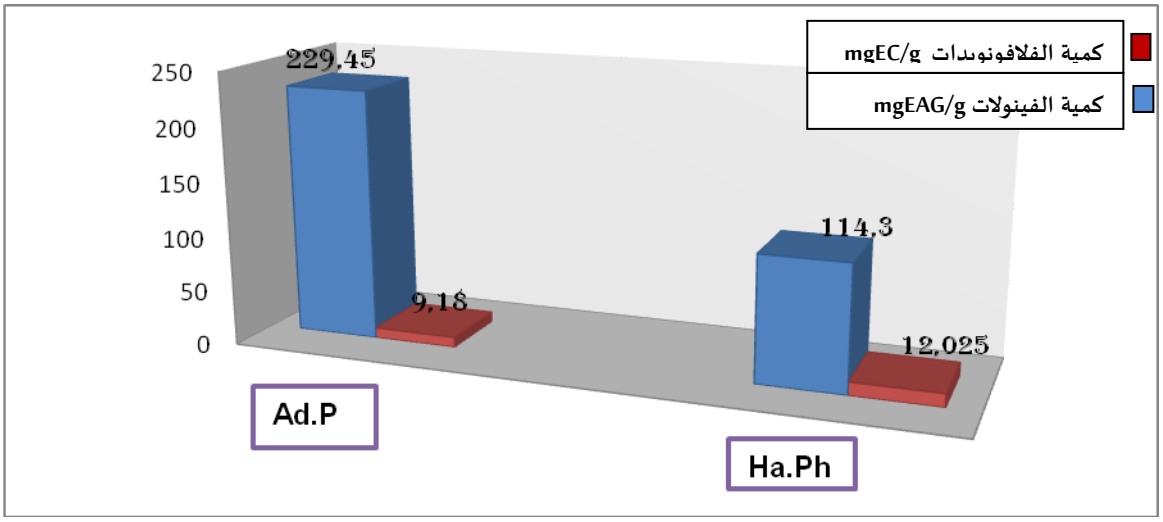
Y=14.5 X .....(4)

النتائج مدونة في **الجدول 6.V** .

الجدول 6.V : كمية الفلافونيدات في المستخلصين

العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.00601±0.0001225	0.00459±0.000115
الكمية (mg EC/g)	12.025± 0.245	9.18± 0.23

- الفلافونيدات أكثر الفينولات انتشارا لذلك فأنها تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من النبات ، من الجدول نلاحظ تواجد المركبات الفلافويدية في العينة Ha.Ph بكمية تصل إلى ؛ 12.025 mg EC/g وهي أكبر من مستوى العينة Ad.Ph ، حيث يصل هذا الأخير إلى ؛ 9.18 mg EC/g ، وفي العموم تعتبر هذه كميات الفلافونويدات للعينات كميات معتبرة .
- وفي ما يلي مخطط مقارنة بين كمية الفينولات الكلية والفلافونيدات في المستخلصات موضحة في **الشكل 4.V** التالي :



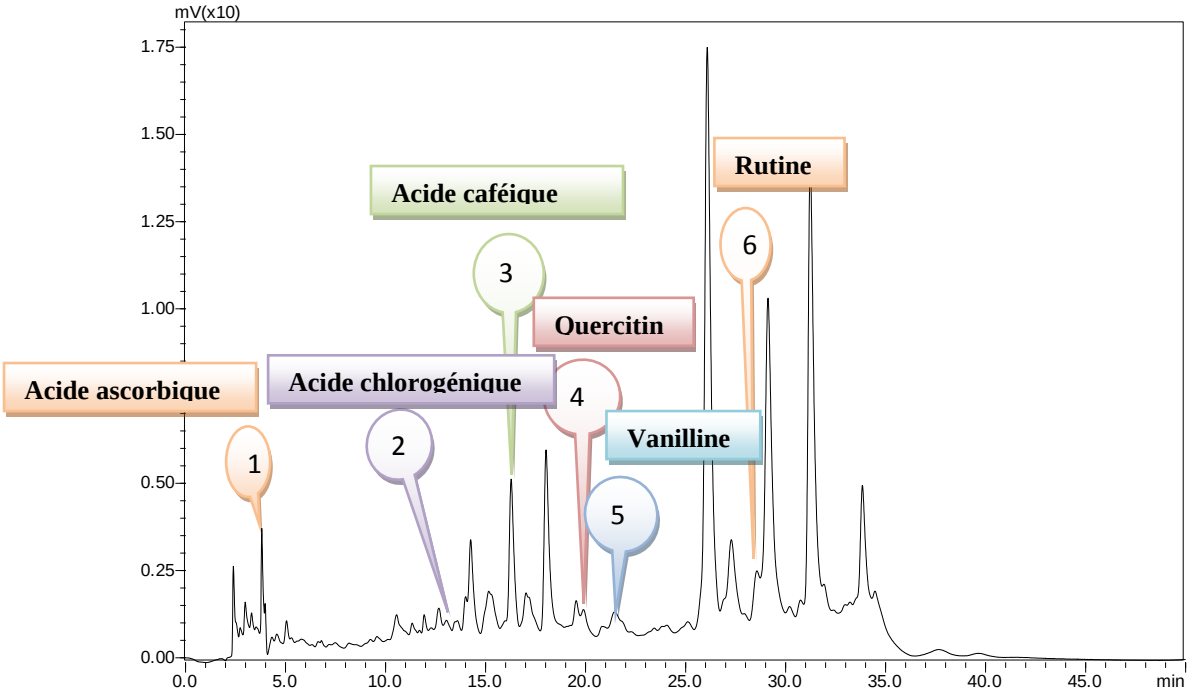
الشكل 4.V : مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافوزيدات .

3.2.V التقدير الكمي للفينولات و الفلافونويدات بواسطة الـ HPLC :

نتائج كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلصات حسب الجهاز كالتالي :

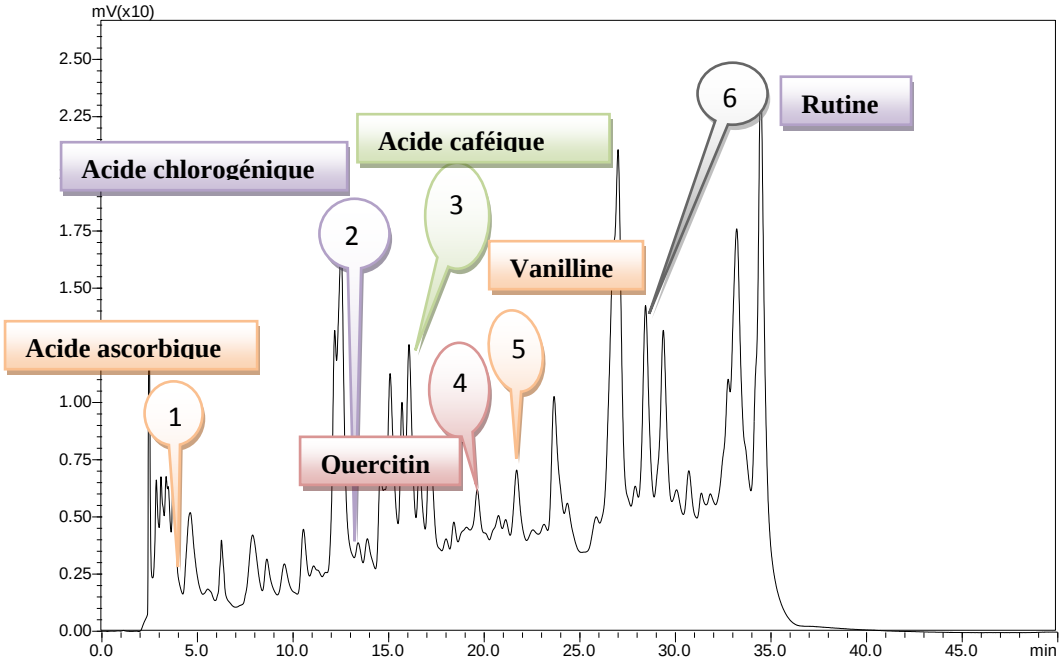
1- HPLC (Shimadzu) :

ناتج الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص عينة نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. ؛ ذات الرمز **Ha.Ph** موضح في **الشكل 5.V** التالي :



الشكل 5.V : كروماتوغرام العينة **Ha.Ph** بإستعمال الجهاز HPLC(1).

ناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص لعينة نبات *Arnebia decumbens Vent. Coss et Kral.* ؛ ذات الرمز **Ad.Ph** موضح في **الشكل 6.V** التالي :



الشكل 6.V: كروماتوغرام العينة Ad.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(1)

من خلال نتائج الكروماتوغرام السائلة لجهاز **HPLC Shimadzu** تبين لنا أن المستخلصات **Ha.Ph** و **Ad.Ph** تحوي على العديد من المركبات الكيميائية ، حيث تم تحديد ستة (6) مركبات وذلك من خلال مقارنة زمن مكوثها مع مركبات فينولية مرجعية وكل ذلك مدون في **الجدول 7.V .**

ملاحظة : هناك طريقة حساب كميات المركبات المرجعية في العينات ، وذلك من خلال إسقاط قيمة المساحة للمركب الفينولي المتحصل عليها من المنحنى الكروموتوغرافي للعينة ، على معادلة المساحة بدلالة التركيز لكل منحنى كروماتوغرافي للمركبات المرجعية .

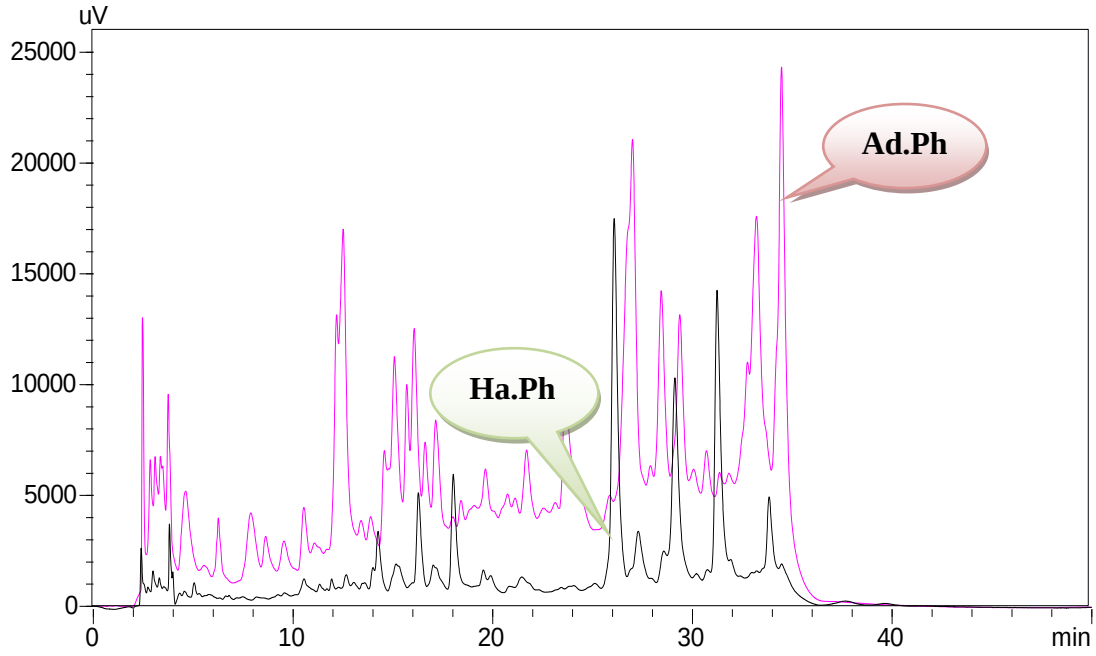
مثال : من المنحنى الكروماتوغرافي للعينة Ha.Ph نجد مساحة القمة عند زمن المكوث 21.448 د ، التي تمثل زمن مكوث المركب المرجعي **vanilline** وهي (22410) ، ومن خلال معادلة المنحنى الكروماتوغرافي للمركب المرجعي **(vanilline)** ؛ $y=58930x$ ، نجد التركيز x الذي يمثل ؛ تركيز المركب الفينولي **(vanilline)** في العينة ⇦ $x=22410/58930=0.38\mu g/ml$ ، ومنه أيضا نجد كمية المركب المكافئة لـ 1غ من العينة ؛ $0.076mg/g = 0.38.\ 10^{-3}mg/5.10^{-3}\ g$ **mgX Eqg**

وبنفس الطريقة نجد كميات المركبات الفينولية الأخرى في كل عينة.

الجدول 7.V: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتها لجهاز؛ **(Shimadzu) HPLC**

المركبات الفينولية	العينة Ha.Ph				العينة Ad.Ph			
	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز الوكبلت في العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ1غ من العينة (mg/g)	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز الوكبلت في العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ1غ من العينة (mg/g)
acide ascorbique	4.318	7449	3,0075	0.601	4.617	173759	81,764	1.635
acide chlorogénique	13.467	5815	0,2684	0.0537	13.883	61928	2,858	0.572
acide caféique	16.275	81140	0,965	0.193	16.609	107300	1,2764	0.255
Quercitine	20.833	5815	0,128	0.0256	20.739	72731	1,603	0.32
vanilline	21.448	22410	0,38	0.076	21.691	118274	2,007	0.40
rutine	28.561	50462	1,793	0.359	28.434	332625	11,819	2.364

من خلال المقارنة بين كروماتوغرام العينة Ha.Ph و كروماتوغرام العينة Ad.Ph ، نستنتج أن المستخلصين يحويان على المركبات الفينولية المرجعية الستة التي تم تحديدها سابقا ، وكانت كميات المركبات الفينولية ؛ (acide ascorbique ، acide chlorogénique ، Quercitine ، vanilline ، rutine ، acide caféique) للمستخلص العينة Ad.Ph أكبر من Ha.Ph ويظهر ذلك جليا سواء من خلال مساحة القمم أو من خلال كمياتها المدونة ، و **الشكل 7.V** التالي يعطينا مقارنة واضحة لمساحة القمم بين الكروماتوغرامين :

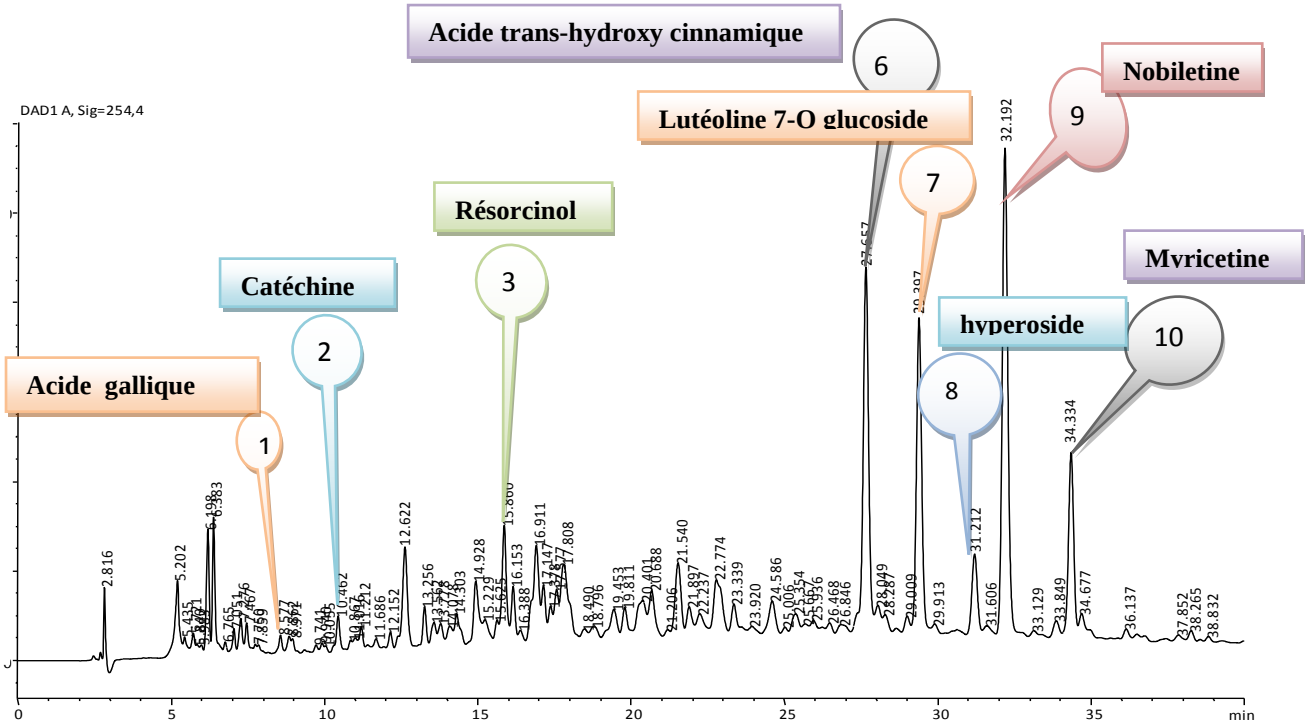


الشكل 7.V: مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين

2- HPLC (Agilent Technologies 1260) :

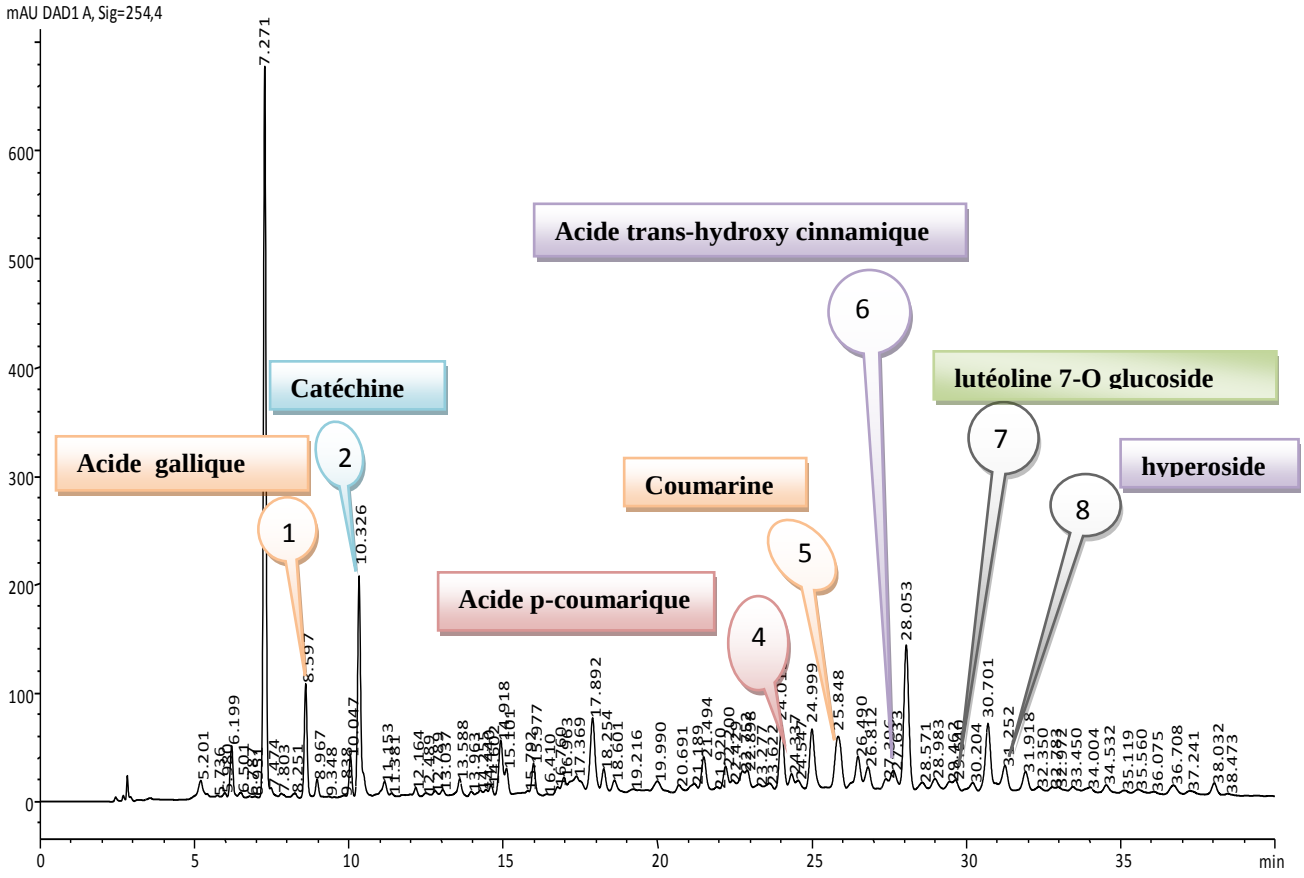
- ناتج الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص لعينة نبات *Haloxylon articulatum* Bioss.؛

ذات الرمز **Ha.Ph** موضح في **الشكل 8.V** التالي :



الشكل 8.IV: كروماتوغرام العينة Ha.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(2)

ناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص لعينة نبات *Arnebia decumbens* Vent. Coss et Kral. ؛ ذات الرمز **Ad.Ph** موضح في **الشكل 9.V** التالي :



الشكل 9.V: كروماتوغرام العينة Ad.Ph بإستعمال الجهاز HPLC(2)

من خلال نتائج الكروماتوغرام السائلة لجهاز **(Agilent Technologies 1260) HPLC:** تبين لنا أن المستخلصات Ha.Ph و Ad.Ph تحوي على العديد من المركبات الكيميائية ، حيث تم تحديد عشرة (10) مركبات وذلك من خلال مقـارنة زمن مكـوثها مع مركبات فيـنولية مرجعـية وكل ذلك مدون في **الجدول 8.V** .

ملاحظة : بنفس الطريقة يتم حساب كميات المركبات الفينولية في العينات ، مع الأخذ بعين الإعتبار أن التركيز الإبتدائي في الحالة الثانية كان (50 mg/ml) .

مثال: من المنحنى الكروماتوغرافي للعينة Ha.Ph نجد مساحة القمة عند زمن المكوث 10,462 د ، التي تمثل زمن مكوث المركب المرجعي **Catechine** وهي (16,25) ، ومن خلال معادلة المنحنى الكروماتوغرافي للمركب المرجعي **(Catechine)** ؛ y= 10,8478 x ، نجد التركيز x الذي يمثل ؛ تركيز

المركب الفينولي (Catechine) في العينة ⇦ x=16.25/10.8478=1.498µg/ ml ، ومنه أيضا نجد كمية المركب المكافئة لـ 1غ من العينة ؛

$mgX\ Eqg = 1.498.\ 10^{-3} mg/50.10^{-3}\ g = 0.0299 mg/g$

الجدول 8.V : المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتها لجهاز ؛

(Agilent Technologies 1260) HPLC

المركبات الفينولية	العينة Ha.Ph				العينة Ad.Ph			
	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز في الوكبلت العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ 1غ من العينة (mg/g)	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز الوكبلت في العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ 1غ من العينة (mg/g)
Acide gallique	8.577	32.5	2.997	0.06	8.597	690.4	63.676	1.2738
Catechine	10,462	16,25	1,498	0.0299	10,326	1493,3	122,584	2.452
Resorcinol	15,86	241,3	22,25	0.45	15.76	-	-	-
Acide p-coumarique	23.92	-	-	-	24.015	625.6	101.451	2.029
Coumarine	25.9	-	-	-	25.848	715.8	82.478	1.6496
Acide trans-hydroxy cinnamique	27.657	1024.1	94,44	1.889	27.6	100	9.22	0.1844
luteolin 7-O glucoside	29.397	852	76,077	1.5214	29.46	82	7.32	0.1464
hyperoside	31.212	221.8	20,45	0.409	31.25	157	14.475	0.2895
Nobiletine	32,192	1363,4	125,7	2.5155	32.35	-	-	-
Myricetine	34.334	470.2	43,356	0.8671	34.25	-	-	-

من خلال المقارنة بين كروماتوغرام العينة Ha.Ph و كروماتوغرام العينة Ad.Ph بإستخدام جهاز الكروماتوغرافيا HPLC المغاير ، نستنتج أن المستخلصين يحويان على أغلب المركبات الفينولية المرجعية التي تم تحديدها ، غير أن كمياتها تختلف من مستخلص لآخر ويظهر ذلك جليا سواء من خلال مساحة القمم أو من خلال كمياتها المدونة حيث أن؛ **Acide gallique** و **Catechine** كانت كمياتهم في العينة Ad.Ph أكبر من كميات هم في العينة Ha.Ph ، والعكس بالنسبة لـ : **Acide trans-hydroxy cinnamique** و **hyperoside** و **luteolin 7-O glucoside** كانت كمياتهم في العينة Ha.Ph أكبر من كمياتهم في العينة Ad.Ph كما لاحضنا وجود كميات معتبرة من **Resorcinol** و **Nobiletine** و **Myricetine** في العينة Ha.Ph وإختفائها في العينة Ad.Ph ، والعكس بالنسبة للمركبات ؛ **Acide p-coumarique** و **coumarine** كانت متواجد في العينة Ad.Ph ومختفية في العينة Ha.Ph .

- ونستسنتج من خلال الكروماتوغرافيا HPLC لمختلف الاجهزة ، أن العينتين تحتويان عدد كبير من المركبات الفينولية والفلافونويدية ؛ ففي العينة Ad.Ph نجدها تحوي على أعلى قيمة للمركبات الفينولية في المركبات على الترتيب (**Acide gallique** ، **Acide p-coumarique** ، **Coumarine**) التي قدرت بـ **1.2738 mg/g** ، **2.029 mg/g** ، **1.6496mg/g** .

وفي العينة Ha.Ph نجد أعلى قيمة للمركب الفينولي ؛ (**Acide trans- hydroxy cinnamique**) الذي قدر بـ **1.889 mg/g** .

- وتحوي قيمة معتبرة من الفلافونويدات ؛ ففي العينة Ad.Ph نجدها تحوي على أعلى قيمة للمركبات الفلافونويدية في المركب (**Catechine**) التي قدرت بـ **2.452 mg/g** وفي العينة Ha.Ph في المركبات التالية ؛(**luteolin 7-O glucoside**, **Nobiletine**) التي قدرت بـ **2.5155 mg/g** و **1.5214 mg/g** على الترتيب .

وهذه القيم موضحة في **الجدول 9.V** الموالي:

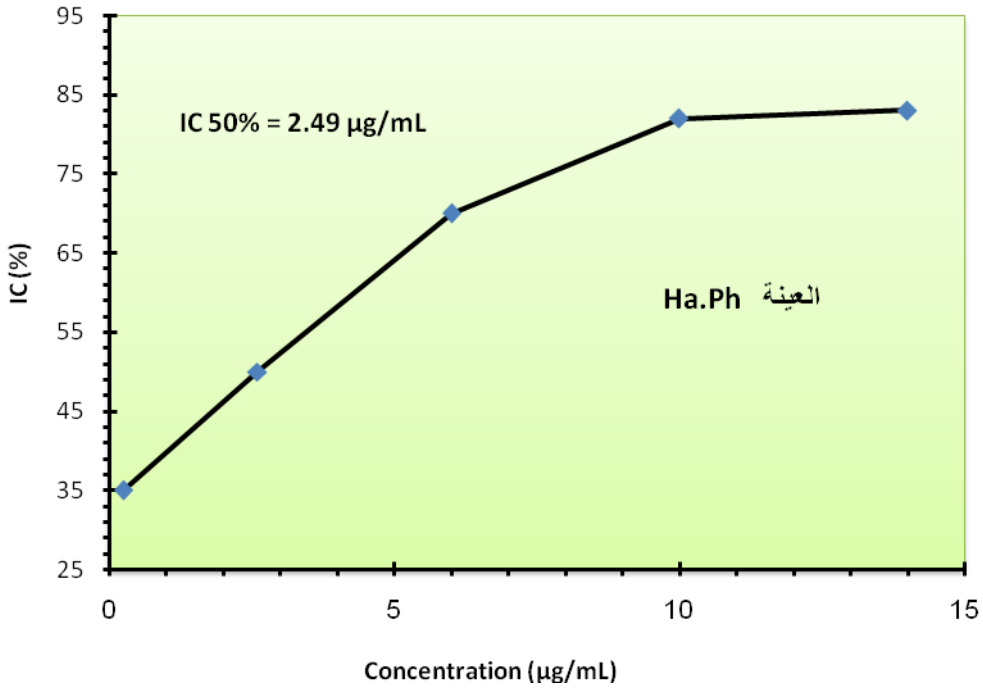
الجدول 9.V: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكمياتها لجهازي **HPLC** المستعملين ؛

رقم المركب	المركبات الفينولية	الكمية المكافئة للمركب في العينة Ha.Ph (mg/g)	الكمية المكافئة للمركب في العينة Ad.Ph (mg/g)
1	**acide ascorbique**	**0.601**	**1.635**
2	**acide chlorogénique**	**0.0537**	**0.572**
3	**acide caféique**	**0.193**	**0.255**
4	**Quercitine**	**0.0256**	**0.32**
5	**Vanilline**	**0.076**	**0.40**
6	**Rutine**	**0.359**	**2.364**
7	**Acide gallique**	**0.06**	**1.2738**
8	**Catechine**	**0.0299**	**2.452**
9	**Resorcinol**	**0.45**	**-**
10	**Acide p-coumarique**	**-**	**2.029**
11	**Coumarine**	**-**	**1.6496**
12	**Acide trans-hydroxy cinnamique**	**1.889**	**0.1844**
13	**luteolin 7-O glucoside**	**1.5214**	**0.1464**
14	**Hyperoside**	**0.409**	**0.2895**
15	**Nobiletine**	**2.5155**	**-**
16	**Myricetine**	**0.8671**	**-**

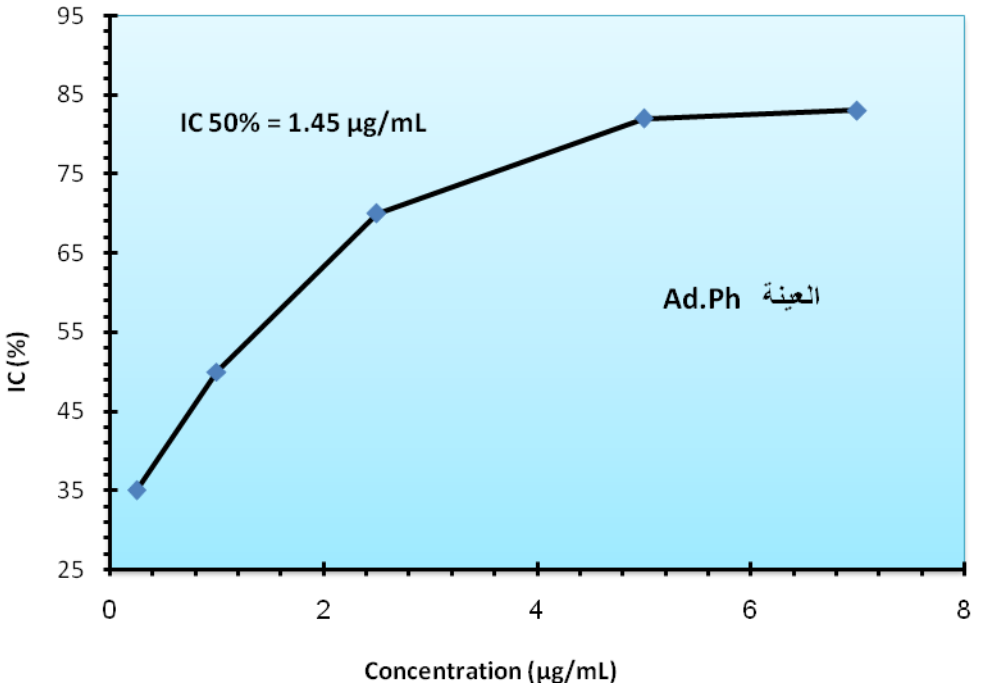
3.V تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

1.3.V إختبار الـ DPPH :

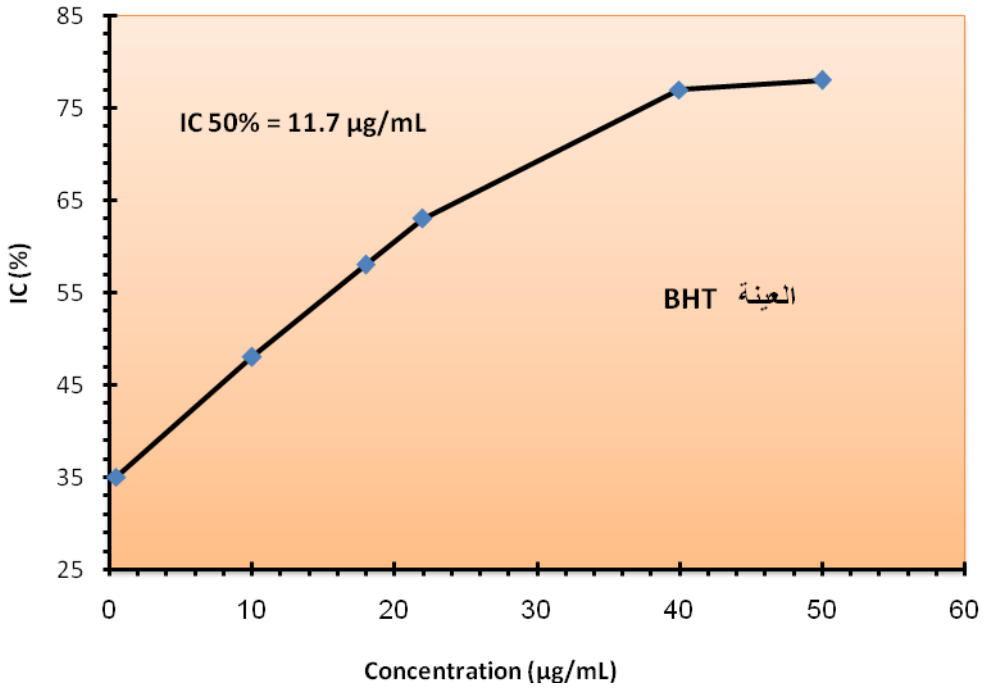
بعد حساب النسبة المئوية للتثبيط (I%) بدلالة كل تركيز وذلك من العلاقة رقم01 ، نرسم المنحنيات البيانية ، بما فيها منحنى التثبيط للجذور الحرة لمركب بوتيل هيدروكسي تولوين BHT كشـاهد مرجعي ، **وهي عبارة عن معادلة مستقيم من الدرجة الأولى** كما هي مـوضحة في الأشكال **10.V، 11.V، 12.V** الآتية :



الشكل V.10: منحنى بياني لتثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تراكيز مختلفة للمستخلص Ha.Ph



الشكل V.11: منحنى بياني لتثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تراكيز مختلفة لمستخلص العينة Ad.Ph



الشكل 12.V: منحنى بياني قياسي لتثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تراكيز مختلفة للمركب BHT

ومن خلال المنحنيات نستنتج التركيز المناسب للإختزال 50 %من الجذر الحر DPPH من كل مستخلص وذلك عند 517nm ، و **الجدول 10.V** الموالي يبين نتائج إختبار DPPH

الجدول 10.V : نتائج إختبار **DPPH** للمستخلصات **Ha.Ph** و **Ad.Ph** للنباتات المدروسة والمركب المرجعي القياسي **BHT** .

	مستخلص العينة Ha.Ph	مستخلص العينة Ad.Ph	بوتيل هيدروكسي تولوين BHT
قيم التراكيز بـ(µg/ml) عند IC_{50}%	2.49±0.067	1.45±0.061	11.7±0.7

تفسير النتائج:

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل المستخلصات Ha.Ph و Ad.Ph للنباتات *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral . والمنحنى المرجعي لمركب البيوتيل هيدروكسي تولوين BHT , نسجل قيم التراكيز بدلالة IC_{50}% والتي بلغت ؛

2.49 µg/ml عند المستخلص Ha.Ph وهي تمثل قيمة جد هامة ، لأنها تمثل التركيز الأدني لتثبيط 50 % من الجذر الحر DPPH• أقل بكثير من قيمة التركيز الأدنى للتثبط بالنسبة للمركب المرجعي BHT المقدر بـــ **11.7 µg/ml** ، بينما سجلنا فعالية اكبر عند مستخلص العينة Ad.Ph حيث سجلنا قيمة التركيز الأدنى بـ **1.45 µg/ml** وهي أقل من التركـــيز الأدنـــى لتثبيط **50 %** من الجذر الحر DPPH• للمركب المرجعـــي BHT **ومن مستخلص العينة** Ha.Ph ، ويتضح من خلال هذه القيم أن الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص العينة Ha.Ph لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. اقوى فعالية لتثبيط 50 % من الجذر الحر DPPH• من فعالية مركب البيوتيل هيدروكسي تولوين BHT ، حيث أن هذا الأخير يستعمل كمادة صناعية حافظة في الصناعة الغذائية ، لكننا لاحظنا أن المستخلص **Ad.Ph** لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral له أكثر فعالية تثبيط 50 % للجذر الحر DPPH• من فعالية مركب البيوتيل هيدروكسي تولوين BHT ومستخلص **العينة** Ad.Ph ، مما دل ذلك على أهمية المستخلصين Ad.Ph و Ha.Ph في الدراسات المستقبلية للصناعات الغذائية .

2.3.V اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP):

يقاس اختبار القوة الاختزالية أو قدرة المضاد للأكسدة على إعطاء إلكترون، باستخدام طريقة اختزال مركب فيروسيانيد البوتاسيوم وذلك بإرجاع الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) إلى الحديد الثنائي (Fe^{+2}) وذلك بمنحه إلكترون ، تم تقدير الفعالية الإجمالية المضادة للأكسدة لإختبار القدرة الإرجاعية للحديد وذلك بالإستعانة بالمنحنى القيـــاسي لحمض الأسكروبيك ، إذ نحسب الفعالية الإجماليـــة بالمليغرام المكافئ لحمض الأسكروبيك لكل غرام من الوزن الجاف لمستخلص النبتة (مغ/غ) ، وال نتائج مدونة في **الجدول 11.V** الموالي :

الجدول 11.V: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة والفعالية المضادة للأكسدة بإستعمال القدرة الإرجاعية للحديد.

العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الامتصاصية	0.2324± 0.00028	0.3911 ± 0.00012
الفعالية المضادة للأكسدة (mg EAA/g)	102.67± 2.43	169.04± 4.27

تفسير النتائج : تبين من النتائج أن مستخلص Ad.Ph يختزل بقوة أيون الحديديك لمركب فيروسيانيد البوتاسيوم إلى صورة أيون الحديدوز مقارنة مع مستخلص Ha.Ph، ومن **الجدول11.V** نجد الفعالية المضادة للأكسدة في العينة Ha.Ph تصل إلى ؛ 102.67 mg EAA/g وهي أقل من مستوى العينة Ad.Ph حيث يصل هذا الأخير إلى مستوى ؛ 160.87 mg EAA/g ، وفي العموم تعتبر الفعالية المضادة للأكسدة لإختبار القدرة الإرجاعية للحديد للعينة Ad.Ph جد فعالة ، وهي أقل فعالية بالنسبة للعينة Ha.Ph.

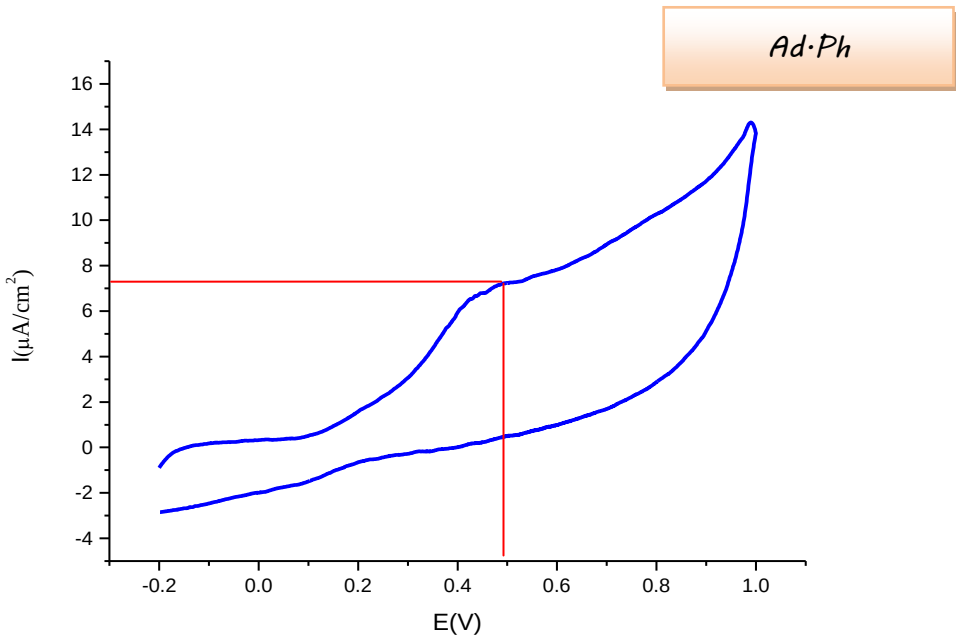
3.3.V اختبـــار موليبـدات الفوسفات (TAC) : المبدأ الأساسي لتقييم القدرة المضادة للأكسدة من خلال اختبار phosphomolybdenum يتضمن إرجاع Mo (VI) إلى Mo (V) بواسطة المستخلصات النباتية التي تحتوي على مركبات المضادة للأكسدة ، التقدير الاجمالي للفعالية المضادة للأكسدة لجميع المستخلصات نعبر عنها بالرمز TAC ، وبالإستعانة بالمنحنى القياسي لحمض الغاليك نحسب الفعالية الإجمالية بالمليغرام المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف لمستخلص النبتة (مغ/غ) ، والنتائج مدونة في **الجدول 12.V** الموالي :

الجدول 12.V: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة والفعالية الإجمالية المضادة للأكسدة بإستعمال موليبدات الأمونيوم.

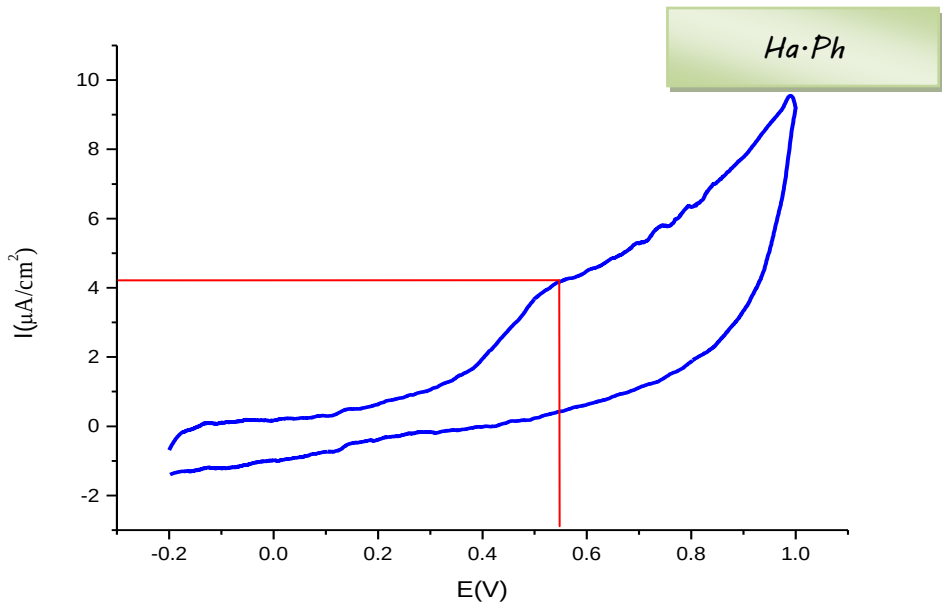
العينة	Ha.Ph	Ad.Ph
التركيز (mg/ml)	0.5	0.5
الإمتصاصية	0.4533± 0.0098	1.1612 ± 0.013
إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة (TAC) (mg EAG /g)	141.3± 2.5	324.15± 3.43

تفسير النتائج : يتضح من النتائج أن الفعالية المضادة للأكسدة (إختبار الموليبدات) في المستخلص Ha.Ph يقدر بـ 141.3± 2.5 mg EAG /g وهي تعتبر أقل فعالية من العينة Ad.Ph التي أظهرت فعالية أكبر ضد الأكسدة وقدرت بـ 324.15± 3.43 mg EAG /g.

4.3.V اختبار الفولطامتري الحلقي (VMC): بعد معاملة المستخلصات Ha.Ph و Ad.Ph بنفس الطريقة و تحت نفس الشروط التي عاملنا بها مع حمض الأسكروبيك ، نرسم المنحنيات الفولطامترية الحلقية للمستخلصين Ad.Ph و Ha.Ph والموضح في **الشكل 13.V و الشكل 14.V** على التوالي .



الشكل 13.V : المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (Ad.Ph)



الشكل 14.V المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (Ha.Ph)

من خلال المنحنيات نقوم بإسقاط قمم نتوءات المنحنيات لكل مستخلص عى المحور Y نجد قيمة شدة التيار ، ومن خلال علاقة كثافة التيار بدلالة التركيز للمركب القياسي لحمض الغاليك acide gallique : **I = 0.0297C+1.8014** ، نجد تركيز حمض الغاليك في العينات ، والنتائج مدونة في **الجدول 13.V** التالي :

الجدول 13.V: كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية بإستعمال الفولطامتري الحلقي .

	كثافة التيار (µA/cm2)	التركيز (µg/ml)	الفعالية المضادة للأكسدة (mg EAG /g)
المستخلص Ad.Ph	7.10	178.4	178.4
المستخلص Ha.Ph	4.15	79.077	79.077

تفسير النتائج :

تم تقدير كمية المركبات المضادة للاكسدة بطريقة الفولطـامتري الحلقي وذلك باستعمال المنحنى القياسي لحامض الغاليك Gallic acid ، حيث بلغت كميتها (178.4 mg EAG /g) من المستخلص Ad.Ph وهي تعتبر كمية جد معتبرة ، وبلغت كميتها (79.077 mg EAG /g) من المستخلص Ha.Ph وهي كمية مقبولة من مضادات الاكسدة .

5.3.V مقارنة بين نتائج التحليل :

أ. نتائج التحليل المتعلقة بكمية المركبات الفينولية و كمية الفلافونويدات و مختلف الطرق المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ، ملخصة في **الجدول 14.V** التالي:

الجدول 14.V: نتائج التحليل لكميات الفينولات والفلافونويدات والطرق المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

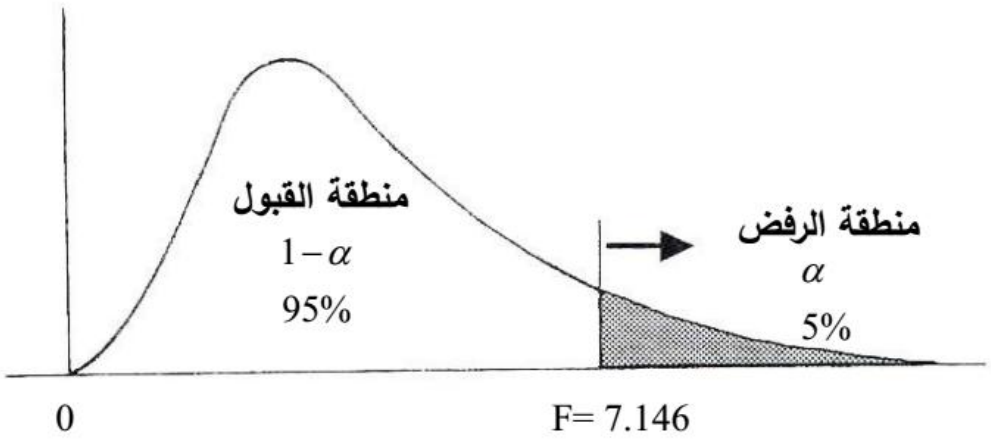
	العينة (Ha.Ph)	العينة (Ad.Ph)
TPC(mgEAG/g)	**114,3**	**229,45**
FVT (mg EC /g)	**12,025**	**9,18**
DPPH (ug/ml)	**2,49**	**1,45**
PR (mg EAA /g)	**102,67**	**169,04**
TAC (mg EAG /g)	**141,3**	**324,15**
EC (mg EAG/g)	**79.077**	**178,4**

ب. علاقة المقارنة بين كمية المركبات الفينولية و كمية الفلافونويدات و مختلف الطرق المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ، تم إيجادها بإستخدام برنامج **XLSTAT** وذلك بإدخال المعطيات اللازمة لكل عينة ، والنتائج المتحصل عليها كانت مدونة في **الجدول 15.V** التالي:

الجدول 15.V : تحليل التباين " AVOVA TABLE.

S_1	**126.24**
S_2	**56,44**
N	**6**
FC	**5**
Ft	**7,146**

- حدود منطقتي القبول والرفض : من جدول التباين نجد أن F الجدولية تساوي 7.146 ، حيث أن القيمة الفا (النسبة 5 %) تمثل منطقة الرفض ، والنسبة 95% تمثل منطقة القبول ، ويمكن توضيح ذلك بالرسم كما في **الشكل 15.V** التالي :



الشكل 15.V : حدود منطقتي القبول والرفض

- المقارنة والقرار : وحيث أن القيمة الإحصائية المسحوبة F والتي تساوي 5 أقل من القيمة الجدولية Ft وهي 7.146 ، إذن فهي تقع في منطقة القبول وبالتالي فإن القرار قبول بتشابه نتائج مختلف الطرق المستعملة للعينتين وذلك بمستوى معنوية 95% ، وهذا يعني صحة ودقة التجارب المنجزة .

6.3.V نتيجة عامة :

من خـــلال القيم المتحصـــل عليها من الإختبارات السابقة للقدرة المضادة للأكسدة الكيميائية منها والكهروكيميائية ، وعلاقتها بالتحليل الكروماتوغرافي HPLC ومقارنة نتائج التحليل للعينات نستنتج مايلي:

- أنه يظهر جليا تطابق النتائج بين إختبار DPPH وإجمالي الفعالية المضادة للاكسدة لاختبار الارجاع للحديد والموليبدات والفولطامتري الحلقي وعلاقته بكمية الفينولات المتحصل عليها ، ومنه نقول أن الفعالية المضادة للأكسدة مرتبطة بكمية الفينولات الموجودة في المستخلصين ، وكلما كانت الكميات أكبر تكون الفعالية المضادة للأكسدة أقوى .

- كـانت نـتـــائج الإختبارات المضادة للأكسدة أكثر فعالية لدى المستخلص Ad.Ph لنبـــات؛ *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral ، حيث سجلنا القدرة الإجمالية للفعالية المضادة للأكسدة TAC حسب إختبار الموليبدات قدرت بـ 324.15 mg EAG/g ، وحسب اختبـــار القدرة

الإرجاعيـــة للحديد (FRAP) 169.04 mg EAA /g وحسب إختبار الفولطامتري الحلقي كانت 178.4 mg EAG /g.

- يتضح من خلال قيم الفعالية المضادة للأكسدة إختبار DPPH ، أن المستخلصين للعينتين Ha.Ph و Ad.Ph لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral، أقوى فعالية لتثبيط % 50 من الجذر الحر DPPH• من فعالية مركب البيوتيل هيدروكسي تولوين BHT حيث سجلنا أدنى قيمة للتركيز لدى مستخلص العينة Ad.Ph التي قدر بـ 1.45 µg/ml عند IC_{50}%، بينما كان المقدار التركيز الأدنى لدى Ha.Ph و BHT على التوالي ؛ 2.49 µg/ml و 11.7 µg/ml ، وهذا يظهر مدى أهمية المستخلصات النباتية في الدراسات المستقبلية التي أعطت فعالية أقوى من مضادات الاكسدة الصناعية .

- من خلال المقارنة بين المواد المضادة للاكسدة المقدرة بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية وكميات بعض المركبات المقدرة بالكروماتوغرافيا السائلة (HPLC) ، نجد في أغلب الأحيان أن الكميات المقدرة بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية أكبر من الكميات المقدرة بالطرق الكروماتوغرافيا ، ويعود ذلك أن الكميات الزائدة في تقدير الطرق الكيميائية و الكهروكيميائية ، هي كميات المواد المضادة للاكسدة التي تتشابه في خصائصها المركب القياسي الذي أتخذ كمرجع ، لذا كانت نتائج التقدير الكيميائي والكهروكيميائي أكبر .

- تشابه العينتين لمختلف الطرق المستعملة وذلك بمستوى معنوية 95% ، لأن القيمة الإحصائية المسحوبة (FC =5) أقل من القيمة الجدولية (Ft =7.146) ، وهذا يعني صحة ودقة التجارب المنجزة لتوافقها مع النتائج المرجوة.

4.V الفعالية المضادة للبكتيريا لجميع المستخلصات المدروسة :

بعد الزرع والحضن لمدة 24 ساعة , نقوم بقياس قطر التثبيط حول الاقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات , نكرر العملية أكثر من مرة للتأكد من النتائج المتحصل عليها , مع الاخذ بعين الاعتبار قطر تثبيط االشاهد ، و **الجدول 16.V** يبين التراكيز المحضرة :

الجدول 16.V: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا

العينات / التراكيز		1 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml
المستخلص الفينولي والفلافونويدي	*Haloxylon articulatum* Bioss.	$Ha.Ph_1$	$Ha.Ph_2$	$Ha.Ph_3$
	Arnebia decumbens Vent Coss et Kral	$Ad.Ph_1$	$Ad.Ph_2$	$Ad.Ph_3$
المستخلص القلويدي	*Haloxylon articulatum* Bioss.	$Ha.Al_1$	$Ha.Al_2$	$Ha.Al_3$
المستخلص التربينات الثلاثية	*Haloxylon articulatum* Bioss.	$Ha.Tr_1$	$Ha.Tr_2$	$Ha.Tr_3$
	Arnebia decumbens Vent Coss et Kral	$Ad.Tr_1$	$Ad.Tr_2$	$Ad.Tr_3$

1.4.V دراسة تأثير المستخلصات القلويدية للنباتات على انواع البكتيريا :

من خلال الكشف والإستخلاص تم إستخلاص القلويدات لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. فقط ، وأثبتنا من خلال الكشف عدم توفرها في النبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral ،

وقد تم تعيين اقطار التثبيط من خلال دراسة تأثير التثبيط للمستخلص القلويدي لنبات ؛ *Haloxylon articulatum* Bioss. على نمو البكتيريات الضارة والنتائج مدونة في **الجدول 17.V** .

الجدول V.17 : أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص القلويدي (Ha.Al) .

البكتيريات		التراكيز	قطر التثبيط (mm)
G +	*Staphylococcus aureus ATCC 6816*	$Ha.Al_1$	7 ± 0.2
		$Ha.Al_2$	9 ± 0.4
		$Ha.Al_3$	13 ± 1.2
	Staphyloccocus aureus méthicilline résistante	$Ha.Al_1$	7 ± 0.3
		$Ha.Al_2$	12 ± 0.5
		$Ha.Al_3$	16 ± 0.9
	Listeria monocytogenes ATCC 19115	-	-
	Bacillus cereus ATCC 14579	-	-
G -	*E. coli ATCC 25922*	$Ha.Al_1$	9 ± 0.3
		$Ha.Al_2$	15 ± 0.5
		$Ha.Al_3$	22 ± 0.9
	Klebsiella pneumoniae CIP 104727	-	-
	Klebsiella pneumoniae CIP 105705	-	-
	Pseudomonas aerigunosa HM 627579	-	-
	Salmonella typhimurium ATCC 13311	-	-

مناقشة النتائج :

دراسة تأثير المستخلص القلويدي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. على انواع البكتيريا :

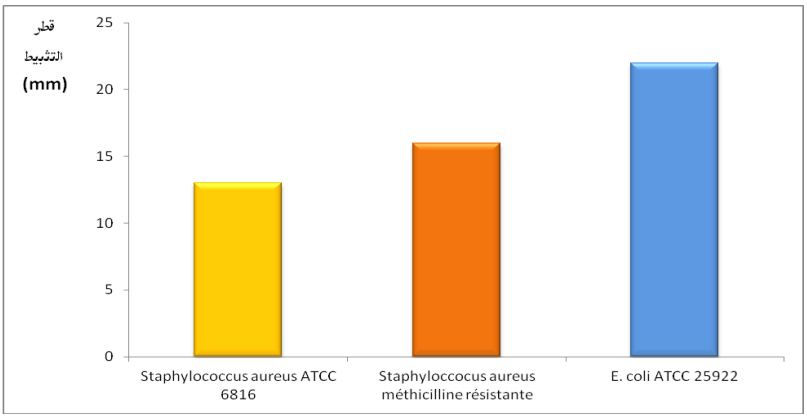
بلغ أكبر قطر التثبيط بالنسبة للعينة **Ha.Al** عند التركيز $Ha.Al_3$ ، حيث ؛

1 أعطت بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قطر ثبيط قدره **13 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز.

2 أعطت بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قطر تثبيط قدره **16 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** حساسة للمستخلص عند هذا التركيز.

3 أعطت بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** قطر التثبيط قدره **22 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** حساسة جدا للمستخلص عند هذا التركيز .

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كما في **الشكل 16.V** التالي :



الشكل 16.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Al_3$.

2.4.V دراسة تأثير المستخلصات الفينولية للنباتات على انواع البكتيريا :

تم تعيين اقطار التثبيط من خلال دراسة تأثير تثبيط المستخلصات لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و*Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. على نمو البكتيريات الضارة ، والنتائج مدونة في **الجدول 18.V** .

الجدول V.18 : أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الفينولي على نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. : (Ad.Ph, Ha.Ph)

البكتيريات		التراكيز	قطر التثبيط (mm)
G +	***Staphylococcus aureus ATCC 6816***	$Ha.Ph_1$	-
		$Ha.Ph_2$	7 ± 0.4
		$Ha.Ph_3$	10 ± 0.3
		$Ad.Ph_1$	-
		$Ad.Ph_2$	9 ± 0.4
		$Ad.Ph_3$	13 ± 0.6
	Staphyloccocus aureus méthicilline résistante	$Ha.Ph_1$	-
		$Ha.Ph_2$	7 ± 0.2
		$Ha.Ph_3$	13 ± 0.5
		$Ad.Ph_1$	-
		$Ad.Ph_2$	10 ± 0.2
		$Ad.Ph_3$	14 ± 0.5
	Bacillus cereus ATCC 14579	$Ha.Ph_1$	7 ± 0.2
		$Ha.Ph_2$	12 ± 0.1
		$Ha.Ph_3$	17 ± 0.6
		$Ad.Ph_1$	-
		$Ad.Ph_2$	7 ± 0.4
		$Ad.Ph_3$	8 ± 0,2
	Listeria monocytogenes ATCC 19115	-	-
G -	***E. coli ATCC 25922***	$Ha.Ph_1$	7 ± 0.2
		$Ha.Ph_2$	10 ± 0.1
		$Ha.Ph_3$	20 ± 0.6
		$Ad.Ph_1$	7 ± 0.2
		$Ad.Ph_2$	8 ± 0.2
		$Ad.Ph_3$	18 ± 0.4
	Klebsiella pneumoniae CIP 104727	-	-
	Klebsiella pneumoniae CIP 105705	-	-
	Pseudomonas aerigunosa HM 627579	-	-
	Salmonella typhimurium ATCC 13311	-	-
	Klebsiella pneumoniae CIP 104727	-	-
	Klebsiella pneumoniae CIP 105705	-	-

مناقشة النتائج :

أ -دراسة تأثير المستخلص الفينولي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. على انواع البكتيريا:

بلغ أكبر قطر التثبيط بالنسبة للعينة Ha.Ph عند التركيز $Ha.Ph_3$ ، حيث ؛

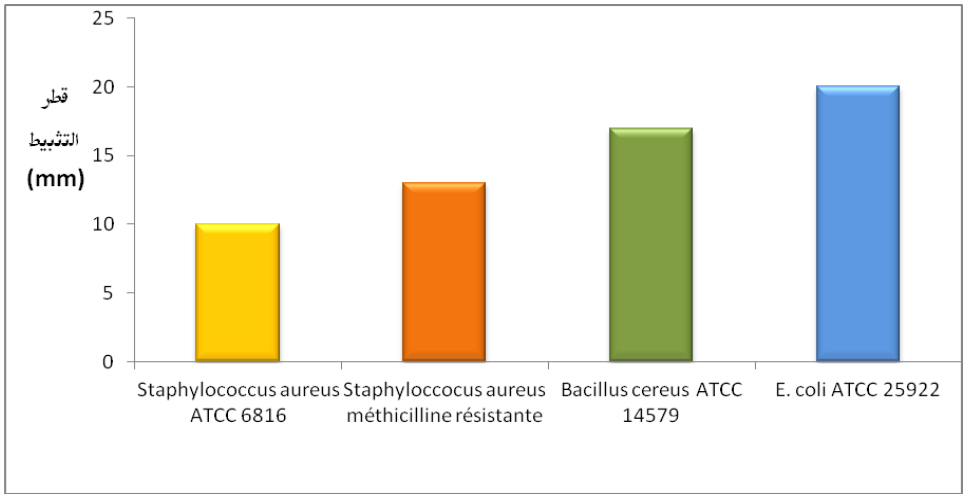
1 -أعطت بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قطر التثبيط قدره **10 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

2 -أعطت بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قطر التثبيط قدره **13 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

3 -أعطت بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** قطر التثبيط قدره **17 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** حساسة للمستخلص عند هذا التركيز.

4 -أعطت بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** قطر التثبيط قدره **20 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** حساسة للمستخلص عند هذا التركيز .

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كما في **الشكل 17.V** التالي :



الشكل 17.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Ph_3$.

ب – دراسة تأثير المستخلص الفينولي لنبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral على انواع البكتيريا : بلغ أكبر قطر التثبيط بالنسبة للعينة Ad.Ph عند التركيز $Ad.Ph_3$ ، حيث ؛

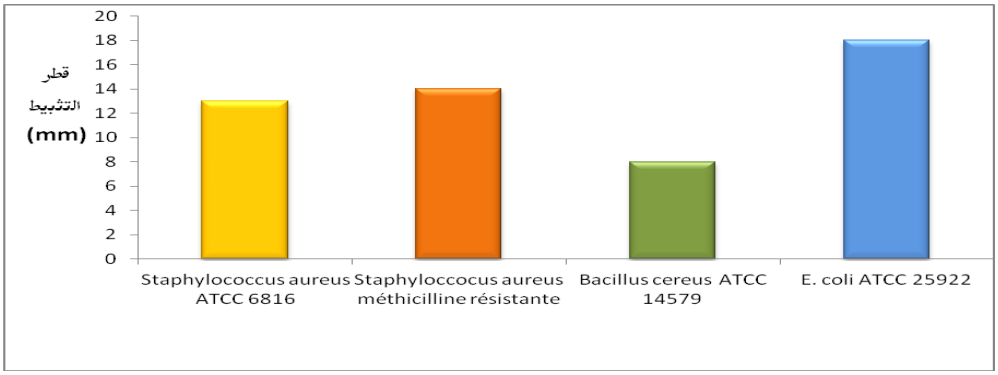
1 أعطت بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قطر التثبيط قدره **13 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

2 أعطت بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قطر التثبيط قدره **14 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

3 أعطت بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** قطر التثبيط قدره **8 mm** , ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** ضعيفة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز.

4 أعطت بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** قطر التثبيط قدره **18 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** حساسة للمستخلص عند هذا التركيز.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لئما في **الشكل 18.V** التالي :



الشكل 18.V: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $H.F_3$

3.4.V دراسة تأثير المستخلصات التربينات الثلاثية للنباتات على انواع البكتيريا :

تم تعيين اقطار التثبيط من خلال دراسة تأثير تثبيط المستخلصات لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و*Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. على نمو البكتيريات الضارة ، والنتائج مدونة في **الجدول 19.V** .

الجدول V.19: أقطار التثبيط للبكتيريات الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص التربينات الثلاثية على نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. .

البكتيريات		التراكيز	قطر التثبيط (mm)
G +	***Staphylococcus aureus ATCC 6816***	$Ha.Tr_1$	-
		$Ha.Tr_2$	7 ± 0.4
		$Ha.Tr_3$	9 ± 0.3
		$Ad.Tr_1$	-
		$Ad.Tr_2$	7 ± 0.4
		$Ad.Tr_3$	10 ± 0.6
	Staphyloccocus aureus méthicilline résistante	$Ha.Tr_1$	-
		$Ha.Tr_2$	7 ± 0.2
		$Ha.Tr_3$	11 ± 0.5
		$Ad.Tr_1$	7 ± 0.3
		$Ad.Tr_2$	9 ± 0.2
		$Ad.Tr_3$	15 ± 0.5
	Bacillus cereus ATCC 14579	$Ha.Tr_1$	-
		$Ha.Tr_2$	7 ± 0.1
		$Ha.Tr_3$	10 ± 0.6
		$Ad.Tr_1$	7 ± 0.2
		$Ad.Tr_2$	8 ± 0.4
		$Ad.Tr_3$	13 ± 0,2
	Listeria monocytogenes ATCC 19115	-	-
G -	***Klebsiella pneumoniae CIP 104727***	-	-
	Klebsiella pneumoniae CIP 105705	-	-
	Pseudomonas aerigunosa HM 627579	-	-
	Salmonella typhimurium ATCC 13311	-	-
	E. coli ATCC 25922	-	-

مناقشة النتائج :

أ –دراسة تأثير مستخلص التربينات الثلاثية لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. على انواع البكتيريا :

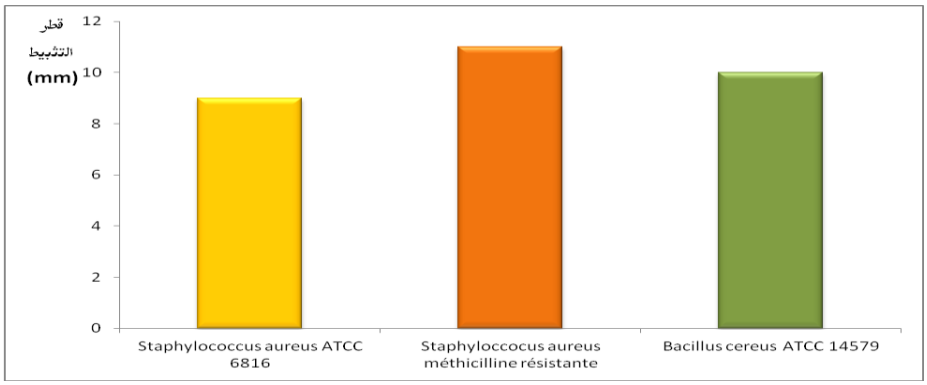
بلغ أكبر قطر التثبيط بالنسبة للعينة Ha.Tr عند التركيز $Ha.Tr_3$ ، حيث ؛

1 –أعطت بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قطر التثبيط قدره **9 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

2 –أعطت بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قطر التثبيط قدره **11 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

3 –أعطت بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** قطر التثبيط قدره **10 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كما في **الشكل V.19** التالي :



الشكل V.19: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ha.Tr_3$.

ب دراسة تأثير مستخلص التربينات الثلاثية لنبات *Arnebia decumbens Vent Coss et Kral* على انواع البكتيريا:

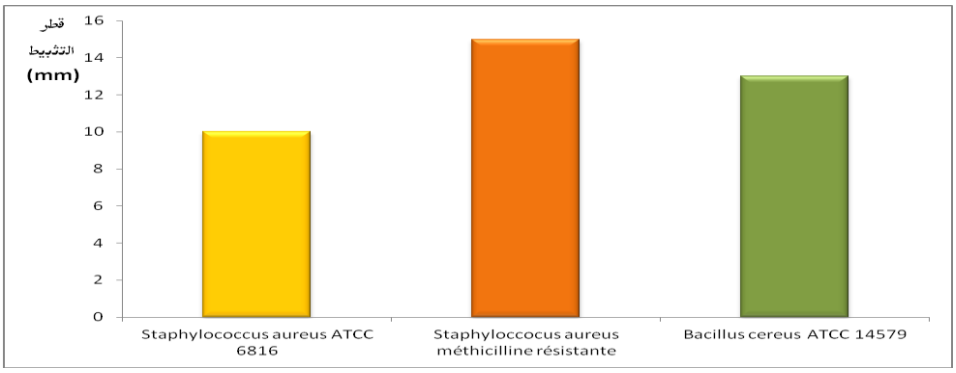
بلغ أكبر قطر التثبيط بالنسبة للعينة Ad.Tr عند التركيز $Ad.Tr_3$ ، حيث ؛

1 -أعطت بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قطر التثبيط قدره **10 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز .

2 -أعطت بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قطر التثبيط قدره **15 mm**, ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** حساسة للمستخلص عند هذا التركيز .

3 -أعطت بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** قطر التثبيط قدره **13 mm** , ومنه يمكن القول أن بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** متوسطة الحساسية للمستخلص عند هذا التركيز.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لئما في **الشكل V.20** التالي :



الشكل V.20: مخطط يوضح أقطار تثبيط البكتيريات الناتجة عن تركيز المستخلص $Ad.Tr_3$

4.4.V مقارنة نتائج إختبار الحساسية للمضادات الحيوية بالمستخلصات النباتية :

أما عن مقارنة تأثير المستخلصات بالمضادات الحيوية على نمو السلالات البكتيرية المدروسة فهي مدونة في **الجدول V.20** التالي :

الجدول V.20 : مقارنة أقطار التثبيط لتأثير المستخلصات النباتية والمضادات الحيوية على نمو بعض البكتيريات الضارة .

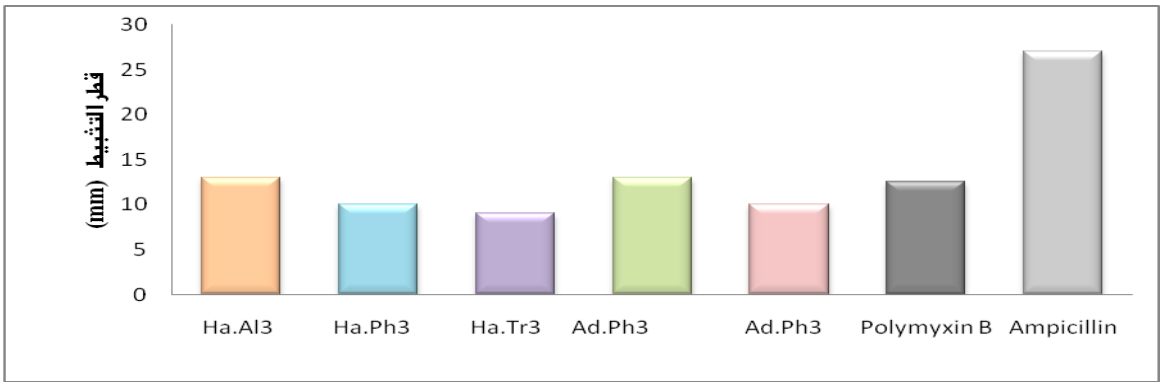
البكتيريا	قطر منطقة التثبيط (mm)		
	المستخلصات الفعالة للنباتات المدروسة	المضاد الحيوي	
		Polymyxin B	Ampicillin
Staphylococcus aureus ATCC 6816	$Ha.Al_3$ (13±1.2)	12.5±0.5	27±1.2
	$Ha.Ph_3$ (10±0.3)		
	$Ha.Tr_3$ (9±0.3)		
	$Ad.Ph_3$ (13±0.6)		
	$Ad.Tr_3$ (10±0.3)		
Staphyloccocus aureus méthicilline résistante	$Ha.Al_3$ (16±0.9)	11±0.4	18±0.9
	$Ha.Ph_3$ (13±0.5)		
	$Ha.Tr_3$ (11±0.5)		
	$Ad.Ph_3$ (14±0.6)		
	$Ad.Tr_3$ (15±0.5)		
Bacillus cereus ATCC 14579	$Ha.Al_3$(-)	8.5±0.1	16±0.8
	$Ha.Ph_3$ (17±0.6)		
	$Ha.Tr_3$ (10±0.6)		
	$Ad.Ph_3$ (8±0.6)		
	$Ad.Tr_3$ (13±0.2)		
E. coli ATCC 25922	$Ha.Al_3$ (22±0.9)	19±0.6	12±0.2
	$Ha.Ph_3$ (20±0.6)		
	$Ha.Tr_3$(-)		
	$Ad.Ph_3$ (18±0.4)		
	$Ad.Tr_3$ (-)		

من خـــلال القيم المتحصـــل عليها المدونة في الجـــدول **V.20** نسجل الملاحظات التالية :

1 – تأثير المستخلصات النباتية على نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC 6816*:

من خلال النتائج تبين لنا أن العينة **$Ha.Al_3$** و **$Ad.Ph_3$** أعطت أقطار تثبيط على نمو البكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** قدرها **13±1.2** و **13±0.6** على التوالي ، وهي تمثل أقطار أعلى من قطر التثبيط الذي أعطاه المضاد الحيوي **Polymyxin B** و أقل من **Ampicillin** ، بينما أعطت بقية العينات أقطار تثبيط ادنى من أقطار التثبيط المضادات الحيوية.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لئما في **الشكل 21.V** التالي :

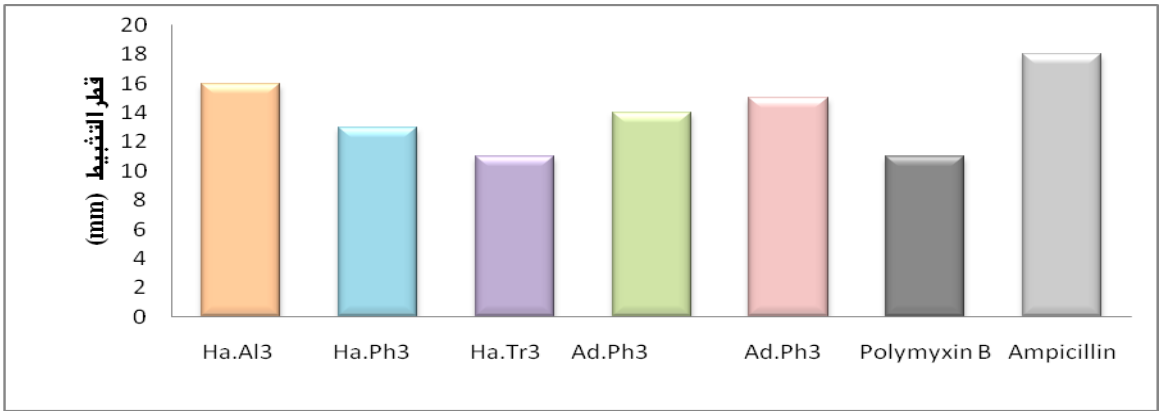


الشكل 21.V: مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية .

2 – تأثير المستخلصات النباتية على نمو بكتيريا *Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*:

من خلال النتائج أيضا تبين لنا أن العينات ؛ **$Ad.Tr_3$ - $Ad.Ph_3$ - $Ha.Ph_3$ - $Ha.Al_3$** أعطت أقطار تثبيط على نمو البكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** قدرها 16±0.9 - 13±0.5 - 14±0.6 - 15±0.5 على الترتيب ، وهي تمثل أقطار أعلى من قطر التثبيط الذي أعطاه المضاد الحيوي **Polymyxin B** وأقل من **Ampicillin** ، ، بينما أعطت العينة **$Ha.Tr_3$** قطار تثبيط أدنى أو تساوي أقطار التثبيط المضادات الحيوية.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لئما في **الشكل 22.V** التالي :

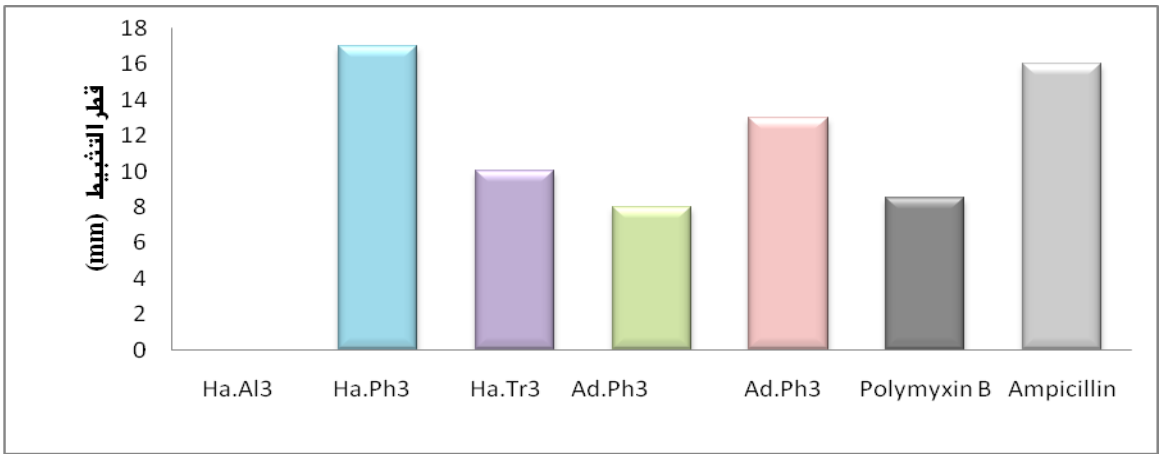


الشكل 22.V: مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Staphyloccocus aureus méthicilline résistante*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية .

3 – تأثير المستخلصات النباتية على نمو بكتيريا *Bacillus cereus ATCC 14579* :

أعطت العيزة **$Ha.Tr_3$** و **$Ad.Tr_3$** أقطار تثبيط على نمو البكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** قدرها **10±0.6** و **13±0.2** على التوالي ، و هي تمثل أقطار أعلى من قطر التثبيط الذي أعطاه المضاد الحيوي **Polymyxin B** و أقل من **Ampicillin** ، بينما سجلنا قطر تثبيطي للعينة **$Ha.Ph_3$** قدرها **17±0.6** , وهي قيمة جد هامة لأنها أكبر من قطري التثبيط لنوعي المضاد الحيوي **Polymyxin B** و **Ampicillin** ، ، بينما أعطت بقية العينات أقطار تثبيط ادنى من أقطار التثبيط المضادات الحيوية.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لكما في **الشكل 23.V** التالي :

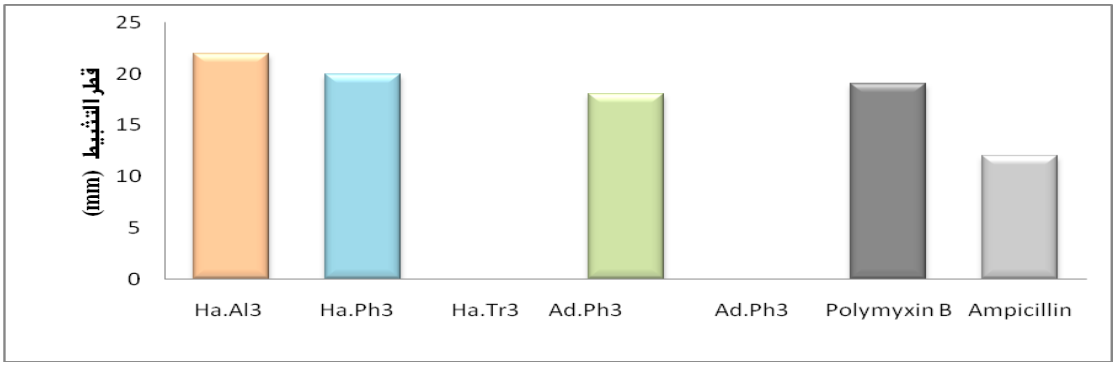


الشكل 23.V: مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية .

4 – تأثير المستخلصات النباتية على نمو بكتيريا *E. coli ATCC 25922* :

سجلنا قطري تثبيط على نمو البكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** للعينات **$Ha.Al_3$** و **$Ha.Ph_3$** قدرها **22±0.9** و **20±0.6** على التوالي ، وهي قيمة جد هامة لأنها أكبر من قطري التثبيط لنوعي المضاد الحيوي ؛ **Polymyxin B** و **Ampicillin** ، **بينما** أعطت العيزة **$Ad.Tr_3$** قطر تثبيطي قدره **18±0.4** ، وهو يمثل قطر أعلى من قطر التثبيط الذي أعطاه المضاد الحيوي **Ampicillin** و أقل من **Polymyxin B** ، ، بينما أعطت بقية العينات أقطار تثبيط ادنى من أقطار التثبيط المضادات الحيوية.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة لكما في **الشكل 24.V** التالي :



الشكل V.24: مخطط يوضح مقارنة أقطار التثبيط على البكتيريا ***E. coli ATCC 25922*** الناتجة عن تأثير العينات للمستخلصات النباتية و المضادات الحيوية .

من خلال النتائج نستنتج أن:

- المركبات الفينولية للنباتات المدروسة تمتلك فعالية مضادة للبكتيريا تجاه البكتيريات التالية: ***(Staphylococcus aureus ATCC 6816 - Staphyloccocus aureus méthicilline résistante - Bacillus cereus ATCC 14579 - E. coli ATCC 25922)***
- المستخلص الفينولي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. يملك عند التركيز $Ha.Ph_3$ قدرة تثبيطية كبيرة أعلى من القدرة التثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد نوعين من البكتيريا وهما ؛ ***E. coli ATCC 25922 , Bacillus cereus ATCC 14579.***
- يملك المستخلص القلويدي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. أيضا عند التركيز $Ha.Al_3$ قدرة تثبيطية كبيرة أعلى من القدرة التثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد نوع واحد من البكتيريا وهي ؛ ***E. coli ATCC 25922 .***
- نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. يحوي أكبر كمية فلافونويدات و قلويدات من نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral ، الذي يحوي كمية أقل من الفلافونويدات و كمية شبه منعدمة من القلويدات ، لذا كان له أثر تثبيطي أكبر على نمو البكتيريا من مستخلص نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral .
- وأخيرا يمكن القول أن مستخلصات نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. تملك قدرة تثبيطية معتبرة ضد أنواع من البكتيريا وخاصة ضد بكتيريا ؛ ***Bacillus cereus ATCC 14579*** و ***E. coli ATCC 25922***

قائمة المراجع العربية

[1] الدكتور الشحات نصر أبو زيد (2007). الطب التكميلي بالعلاج الشعبي للنباتات الطبية و العطرية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع–القاهرة، ص7،8.

[2] م.س.هيكل (1993), عبد الرزاق عمر ," النباتات الطبية والعطرية , كيمياؤها , انتاجها , فوائدها ", منشأة المعارف للنشر , الطبعة الثانية , الاسكندرية , ص 130–134.

[3] ش.أبو زيد (2005)," فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية , دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع , القاهرة , ص496 .

[5] حسين دندوقي (2002). دراسة الأيض الثانوي الفلافونيدي والتربيني لبعض أنواع الضايات الصحراء الجزائرية . مذكرة دكتوراه دولة في الكيمياء العضوية، جامعة قسنطينة، ص88 ، 128 ،129، 247 ، 249 .

[81] د.عبدالله محمود أبو الكباش (2013).الكيمياء التحليلية (المفاهيم الأساسية في التحليل التقليدي والآلي) . جامعة الملك فهد للبترول والمعادن –السعودية ، ص33–37 .

قائمة المراجع الأجنبية

[4]. Said Rahal (2009) ,"Chimie des produits naturels et des etres vivants",Alger,p 63-78.

[6]. A.Mahmoud (1994),M.Nawwar,A.Sahar M.Hussein,I.Merfort,Spectral analysis of polyphenols from punicq granatum, phytochemistry, p793-798.

[7]. K.Benzahi (2001) ," Contributon à l'ètude des flavonoides dans la Plante cynodon Dacÿlon-L chiendent", thèse de de Magister, Universitè de Ouargla ,P15-17.

[8]. Geissman TA(2015). In modern methods of plant analysis,Vol III, k. Paech et V. Tracey, Editeur Springer Verlag; p. 58 -63.

[9]. Sanné C, Sauvin H(1952).colored flowers and fruits anthocyannes and flavones ,Edition of museum ; Paris p.58.

[10]. Bte-Smith FC(1964). In methods in polyphenol chemistry,J.B. Pridham, Editeur Pergamon Press; p.59-62.

[11]. S.Asadi , A.Ahmadiam,A.Ali Esmaeili ,A.Sonboli,N.Khodagholi,(2010),In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six salvia species from iran: Acomprative study ,Food Chemical Toxicology.

[12]. Bte-Smith FC(1964) . In methods in polyphenol chemistry,J.B. Pridham, Editeur Pergamon Press; p.59-62.

[13]. Kumaran A, Karunakaran R(2006) . Anti oxidant and freeradical scavenging activity of an aqueous extracts of Coleus aromaticus. Food chemistry; 97: 109-14.

[14]. Singleton, V. L., Rossi, J.A., (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic,16: 144-158.

[15]. Djeridane, A., (2008): Effet des Polyphenols Naturels sur l'Inhibition de la Carboxylestérase et l'Acylase et Évaluation de leur Pouvoir Antioxydant, Thèse de doctorat l'école normale supérieure de kouba-alger.
[16]. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH(2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal of Agriculture and Food Chemistry;50, 3010–14.
[17]. Selma D, Imed H, Saloua F, Yassine M, Herve´ C(2002). Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (Allium roseum var.odoratissimum). J Fonc Foods;4, 423-32.
[18]. Liu, HY, Qiu NX. Ding H., Yao RQ(2008). Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. Food Res Int; 41, 363–70.
[19]. Carlos Silva JS, Rodrigues X, Feás L(2012), Estevinho M.Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. Food and Chemical Toxicology. Food and Chemical Toxicology,50,1790-95.
[20]. Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen JO' Brien C, Lischner N, Ehlenfeldt M, Kalt W,Krewer G, Mainland CM(1998). J Agric. Food Chem;46:2686-93.
[21]. A.S. Abd Elchakour (1987),"chemie organique moderne et pratique ",Université du Roi Abd Elaziz,Djeddah,p132.
[22]. T.Sirard (2012), Fundamentals of HPLC .water corporation ,the science of what spossible ,p103.
[23]. A.francico,F.Tomas Barberan, et coll.(1990). High performance liquid chromatography thin layer chromatography and ultra violet behaviour of flavone aglycone with unsubstituted rings.Phytochemistry .I.Anal.p.44.
[24]. Hossain H, Rahman SE, Akbar PN, Khan TA, Rahman MM, Jahan IA(2016), HPLC profiling, antioxidant and in vivo anti-inflammatory activity of the ethanol extract of Syzygium jambos available in Bangladesh, National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA.
[25]. Ali, S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U., (2008): Indian Medicinal Herbs as sources of antioxidants. Food Research International, 41: 1-15.
[26]. Jacob, V., Michael, A., (1999): Nutritional antioxidants :Mechanism of action, analyses of activities and medicinal applications. Nutrition.49: 1-7
[27]. Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. J. Agri.Food Chem(1998);46: 3630-3634.
[28]. Jadhav SG, Nimbalkar SS, Kulkarni AD, Madhavi DL(1996). In Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives, ed. D. L.Madhavi, S. S. Deshpande and K. Salunkhe,Marcel Dekker, New York, , pp. 5–64.
[29]. Jayaprakash, G. K., Singh, R. P., Sakariah,K. K., (2001): Antioxidant activity of grape seed extracts on peroxidation models in vitro. J.Agric.food Chem,55: 1018-1022.
[30]. Kanner, J., Frankel, E.N., Grant, R., German, J.B., Kinsella, J.E., (1994): Natural antioxidants in grapes and wines. J.Agric.Food.Chem, 42: 64-69.
[31]. Choi, H. R., , Choi, J. S. Han, Y. N, Bae, S. J., and Chung, H. Y., (2002): Peroxynitrile scavenging activity of herb extracts, Phytother Res., 16: 364-367.
[32]. Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B., Kanner, J., (1993): Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. Food Technol, 47, 85-89.

[33]. Pieroni, A., Janiak, V., Durr, C. M., Ludeke, S., Trachsel, E., Heincrich, M., (2002): In vitro antioxidant activity of ethnic Albanions in Southern Italy. Phytother Res, 16: 467-473.
[34]. Ho, K. Y., Huang, J. S., Tsai, C. C., Lin, T. C., Lin, C. C., (1999): Antioxidant activity of tannin component from Vaccinium vitisidaea. Pharm Pharmcol, 51: 1075-1078.
[35]. Chiaki, S., Naomi, O., (1998): antioxidative polyphenols isolated from Theobroma coca. J.Agric food Chem, 46: 454-457.
[36]. Kimura, Y., Okudu, T., (1984): Studies on activities on tannins and related compounds. Planta Med, 50: 473-476.
[37]. Mermelstein, N. H., (2010): Dealing with antioxidant assay, Food Safety And Quality. FoodTechnology, 64: 72-76.
[38]. Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., Chetty, C. M.,(2010): Antioxidant Properties of Ficus Species. Int.J. PharmTech Res. 2: 2174-2182
[39]. Campanella, L., Bonanni, A., Bellantoni, D., Favero, G., & Tomassetti, M., (2004): Comparison of fluorimetric, voltammetric and biosensor methods for the determination of total antioxidant capacity of drug products containing acetylsalicylic acid. J Pharma Biom Anal, 36: 91-99.
[40]. Cheng, Z., Ren, J., Li, Y., Chang, W., & Chen, Z. (2002): Phenolic antioxidants: Electrochemical behavior and the mechanistic elements underlying their anodic oxidation reaction. Redox Report, 7: 395-402.
[41]. Korotkova, E. I., Avramchik, O. A., Kagiya, T. V., Karbainov, Y. A., Tcherdyntseva ,N. V., (2004): Study of antioxidant properties of a water-soluble Vitamin E derivative-tocopherol monoglucoside (TMG) by differential pulse voltammetry. Talanta, 63: 729-734.
[42]. Pournaghi-Azar, M. H., Hydarpour, M., & Dastangoo, H., (2003): Voltammetric and amperometric determination of sulfite using an aluminum electrode modified by nickel pentacyanonitrosyferrate film application to the analysis of some real samples. Analytica Chimica Acta, 497: 133-141.
[43]. Hatano T, Kagaw H, Yasuhara T, Okuda T(1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. Chem Pharma Bul.;36: 2090-97.
[44]. Falleh H, Ksouri R, Oueslati S, Guyot S, Magné C, Abdelly C..(2009). Interspecific variability of antioxidant activities and phenolic composition in Mesembryanthemum genus. Food and Chemical Toxicology;47: 2308-13.
[45]. Brand-williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to eval- uate antioxidant activity. LWT 28:25-30
[46]. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Maamrim S, Djireb F, Stocker P (2006) Phenolic extracts from various Algerian plantsas strong inhibitors of porcine liver carboxylest- erase. J Enzym Inhib Med Chem 21:719-726
[47]. P.Molyneux, song klana Karin J(2004). sci technol., 211-219.
[48]. W. Brand Williams. (1995), C.Berset., M.E.Cuvelier. Wissen.U.Tech, 25-30.
[49]. BLOIS(1958), Détermination antioxydants de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature, 1199-2000.
[50]. M.Uchiyama, Y.Suzuki., K.fukuzawa(1968), Etude biochimiques de la fonction physiologique du tcopherolactome. Yakgaku Zasshi , 680, 683.

[51]. Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L.(2007): Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. Food Chemistry, 100: 1511-1516.Khan, R.

[52]. Oyaizu, M., (1986): Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn J Nutr, 44:307-315.

[53]. S .Yuanxia; H.Shigeru; O.Masahiro; I.Ken(2007) , Food Control,(18)220–227.

[54]. J.F.LESGERDS (Septembre 2000). Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme aspects chimiques et biochimiques (thèse de doctorat) Université d'Aix Marseille.

[55]. Mazza G, Fukumoto, L, Delaquis P, Girard B, Ewert B. Anthocyanins, phenolics and color of Cabernet Franc, merlot and Pinot Noir wines from Brithish Columbia. J Agricu Food Chem 1999;47: 4009-17.

[56]. A., Khan, M. R., Sahreen, S., Ahmed, M., (2012): Assessment of flavonoids contents and in vitro antioxidant activity of Launaea procumbens. J.Ethanoph -armacol, 6:43-461.

[57]. Tevfik Özen(2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey.; 61 (1): 86-94

[58]. Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., & Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetric electroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. Journal of Electroanalytical Chemistry, 571(2), 183-188.

[59]. Blasco, A. J., González, M. C., & Escarpa, A. (2004). Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. Analytica Chimica Acta, 511(1), 71-81.

[60]. Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., & Avramchik, O. A. (2003). Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry. Analytical and bioanalytical chemistry, 375(3), 465-468.

[61]. Chevion, S., Roberts, M. A., & Chevion, M. (2000). The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. Free Radical Biology and Medicine, 28(6), 860-870.

[62]. Kohen, R. (1999). Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress—new approaches for their evaluation. Biomedicine & pharmacotherapy, 53(4), 181-192.

[63]. Shohami E., Gati, Beit-Yannai, Trembovler,Kohen, R. (1999). Closed head injury in the rat induces whole body oxidative stress: overall reducing antioxidant profile. Journal of neurotrauma, 16(5), 365-376.

[64]. Chevion, S., Cevion, M., Chock, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. Journal of medicinal food, 2(1), 1-10.

[65]. Santos Raymundo, M., da Silva Paula, Franco, C., & Fett, R. (2007). Quantitative determination of the phenolic antioxidants using voltammetric techniques. LWT-Food Science and Technology, 40(7), 1133-1139.

[66]. Kilmartin, P. A., & Hsu, C. F. (2003). Characterisation of polyphenols in green, oolong, and black teas, and in coffee, using cyclic voltammetry. Food Chemistry, 82(4), 501-512.

[67]. Joseph Wang(2001), Analytical electrochemistry,2nd ED, A johen Wiley & Sons, INC, Publication, NEW YORK, 1-100

[68]. Y.I. Tur'yan ,P.Gorenbein, R.Kohen(2004). Journal of Electroanalytical Chemistry 571 183–188.
[69]. W. R.Sousa; C.da Rocha; C. L.Cardoso; S. D. H.Silva, J.Food Comp(2004). Anal. 17 619.
[70]. S. Jovanovic, S. Steenken, Y. Hara, M. Simic(1996), J. Chem. Soc. Perkin 2 2497.107.
[71]. S. V.Jovanovic; S.Steenken; M.Tosic; B.Marjanovic; M.Simic(1994), J. Am.Chem. Soc., 1164846.
[72]. A. J.Blasco; M. C.González,; A.Escarpa(2004), Anal. Chim. Acta, 51171.
[73]. H. Hotta; M.Ueda; S.Nagano; Y.Tsvjino; J. Koyama(2002),. Anal. Biochem., 30.366.
[74]. S.K.Trabelsi; N.B.Tahar; R.Abdlhedi(2004), Electrochim. Acta, 491647.
[75]. A.Simić; D.Manojlović; D.Šegan; M. Todorović(2007), Molecules, 12.2327.
[76]. S. Chevion, E.M. Berry, N. Kitrossky, R. Kohen(1997), Free Radic.Biol. Med. 22 .411.106
[77]. S. Chevion, M. Chevion, P.B. Chock, G.R. Beecher(1999), Journal of Medicinal Food, 2. 1-11.
[78]. S. P:Gunckel. G.Santander, J.Cordano, S.Ferreira, L.J. Munoz, N.Vergara, J.A.Squella(1998),Chemico-Biological Interactions 114. 45–59.
[79]. O. Hammerich, B. Svensmark (1990). Anodic oxidation of oxygen-containing compounds, in: H. Lund, M. Baizer (Eds.), Organic Electrochemistry, Marcel Dekker, New York, p. 615
[80]. S: Chevion,., M. A: Roberts,M.Chevion(2000),. Free Radical Biology and Medicine, 28(6) 860–870.
[82]. D.G.Hollis,RE.Weaver,CN.Baker,C(1976)..Thornsberry,Halophilic Vibrio species isolated from blood cultures , journal of clinical microbiol ,p. 425
[83]. Efstratios E, Abdullah IH, Poonam SN, John EM,Mohammad AA, Juluri RR(.2012). ntimicrobial activity of Calendula officinalis petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Comp Therapies Clin Pra ;1-4.
[84]. C.L.Greenblat,J.Baum,BY.Klein,S.Nachshon,V.Koltunov,RJ.Cano(2004),Micrococcus luteus-Survival in Amber , Journal of Microbial Ecology,p120-127.
[85]. Paula CC, Sonia S-Feio, Tatiana SW, Sandra CG.(2012) .Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. Food Control; 23 : 552-558.
[86]. A.W.Bauter,W.M.Mkirry,J.C.A.Sherris,M.Truch. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single ,Journal of clinical pathology,p493-496
[87]. G.Poncea,Fritzer,I.Del vallc et Rouras (2003). ," Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard", Lebensmittel-Wissenxchuftund technologie .

الخاتمة

النباتات الطبية نباتات ذات أهمية بالغة في المجتمع الجزائري ، ومن الممكن الإعتماد على المصادر الطبيعية وهذا نظرا للأثار الحسنة التي تتركها في جسم الإنسان ، عكس الأدوية المصنعة التي لها أضرار جانبية تظهر مع مرور الوقت ، ومن بين النباتات الطبية ذات الفعالة الطبية النباتات الصحراوية بمنطقة وادي سوف .

في هذا البحث تركز اهتمامنا على دراسة نوعين من النباتات الصحراوية لولاية الوادي ؛ (*Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral.) وذلك باستخلاص المركبات القلويدية والتربينات الثلاثية وكذلك إستخلاص المركبات الفينولية وتقدير محتوى هذا الأخير الكلي من الفينولات والمحتوى الكلي للفلافونويدات، وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الفينولية ، ومن ثم تم دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لكل مستخلصات.

تم تقديـر المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستعمال الكاشف Folin ciocalteu، حيث تحصـلنا على مقدار أكبر عند مستخـلص نبـات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral المقدر بـ 229,45 (mg EAG/g) و مقدار أقل عند مستخلص نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. المقدر بـ 114,3 (mg EAG/g) ، و محتوى الفلافونويدي باستعمال ($AlCl_3$)، حيث وجدنا مقدارا أكبر عند مستخلص نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. المقدر بـ 12,025 (mg EC/g) ومقدار أقل بالنسبة لمستخلص نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral المقدر بـ 9,18 (mg EC/g) ، حيث أثبتت النتائج المتحصل عليها أن النباتات الصحراوية المدروسة تحتوي على كمية معتبرة من المركبات الفينولية و المركبات الفلافونويدية مقارنة بدراسات سابقة.

تمت الدراسة الفعالية المضادة للأكسدة على المستخلصات الفينولية للنباتات الصحراوية المدروسة ، باستخدام الطرق الكيميائية والكهروكيميائية ، وهذا إعتمادا على مطيافية الأشعة UV:

- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة على تثبيط الجـذر الحر الـ DPPH·،
- تقدير القدرة الاختزالية للحديد FRAP ،
- تقدير الفعالية بطريقة موليبدات الفوسفات TAC،
- تقدير الفعالية باستعمال الطريقة الفولطامترية VMC.

حيث وجدنا علاقة موجبة بين الطريقة الكهروكيميائية و الطرق اللونية الكلاسيكية المستعملة في تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات *Haloxylon articulatum* Bioss. و *Arnebia decumbens Vent*.

Coss *et* Kral المدروستين، وبين المحتوى الكلي للمركبات الفينولية أيضا علاقة طردية مع الطرق المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات ، أي كل مازادت المركبات الفينولية زادت الفعالية المضادة للأكسدة ، وهذا ما وجدناه عند نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et *Kral* فهو يحوي اكبر كمية مركبات فينولية من نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. لذا كانت الفعالية المضادة للأكسدة أكبر .

حيث أكدت الدراسة المضادة للأكسدة على وجود مواد طبيعية لها فعل مضاد للتأكسد، و أن جميع المستخلصات المدروسة تملك قوة مضادة للأكسدة جيدة ، التي يمكن اعتبارها كمصدر طبيعي للمضادات الأكسدة و امكانية تطبيقها في خفض من الجهد التأكسدي و توفير الفوائد الصحية.

حيث بينت إختبـــارت مضادات الأكسـدة (DPPH ,FRAP ,TAC,VMC) أن مستخلص نبـــات *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral له فعـــالية عاليـــة بمقارنتـــه مع مستـــخلص نبات *Haloxylon articulatum* Bioss .

وكانت نتـــائج الإختـبـــارات المضادة للأكسدة أكثر فعـــالية لدى المستخلص Ad.Ph لنبـــات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral، حيث سجلنا القدرة الإجمالية للفعالية المضادة للأكسدة TAC حسب إختبار المولبيدات قدرت بـــ 324.15 mg EAG /g ، وحسب اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) 169.04 mg AAE /g، وحسب إختـــبار الفولطـــامتري الحـلقي كـــانت mg AGE /g 178.4 .

و من خلال قيم الفعالية المضادة للأكسدة إختبار DPPH ، أن المستخلصين للعينتين Ha.Ph و Ad.Ph لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. و*Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral. ، أقوى فعالية لتثبيط % 50 من الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ من فعالية مركب البيوتيل هيدروكسي تولوين BHT ، حيث سجلنا أدنى قيمة للتركيز لدى مستخلص العينة Ad.Ph التي قدر بـ 1.45 µg/ml عند **IC_{50}%**، بينما كان المقدار التركيز الأدنى لدى Ha.Ph و BHT على التوالي ؛ 2.49 µg/ml و 11.7 µg/ml ، وهذا يظهر مدى أهمية المستخلصات النباتية في الدراسات المستقبلية التي أعطت فعالية أقوى من مضادات الاكسدة الصناعية .

ومن خلال المقارنة بين المواد المضادة للاكسدة المقدرة بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية وكميات بعض المركبات المقدرة بالكروماتوغرافيا السائلة (HPLC) ، نجد في أغلب الأحيان أن الكميات المقدرة بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية أكبر من الكميات المقدرة بالطرق الكروماتوغرافيا ، ويعود ذلك أن الكميات الزائدة في تقدير الطرق الكيميائية و الكهروكيميائية ، هي كميات المواد المضادة للاكسدة التي تتشابه في خصائصها المركب القياسي الذي أتخذ كمرجع ، لذا كانت نتائج التقدير الكيميائي والكهروكيميائي أكبر .

وسجلنا تشابه في نتائج مختلف الطرق المستعملة للعينتين؛ Ad.Ph و Ha.Ph وذلك بمستوى معنوية 95% ، دل ذلك على صحة ودقة التجارب المنجزة.

ومن خلال نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا وجدنا أن :

المركبات الفينولية للنباتات المدروسة تمتلك فعالية مضادة للبكتيريا تجاه البكتيريات التالية:

(Staphylococcus aureus ATCC 6816 - Staphyloccocus aureus méthicilline résistante - Bacillus cereus ATCC 14579 - E. coli ATCC 25922)

وأن لمستخلص الفينولي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. يملك قدرة تثبيطية كبيرة أعلى من القدرة لتثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد نوعين من البكتيريا وهما ؛ *Bacillus cereus ATCC 14579* , *E. coli ATCC 25922*.

وأن المستخلص القلويدي لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. أيضا يملك قدرة تثبيطية كبيرة أعلى من القدرة التثبيطية لدى المضادات الحيوية المدروسة ضد نوع واحد من البكتيريا وهي؛ *E. coli ATCC 25922* ، و تعود الفعالية الكبيرة المضادة للبكتيريا لنبات *Haloxylon articulatum* Bioss. لإحتوائه على أكبر كمية من الفلافونويدات والقلويدات من نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et *Kral* ، الذي يحوي كمية أقل من الفلافونويدات و كمية شبه منعدمة من القلويدات ، لذا كان له أثر تثبيطي أكبر على نمو البكتيريا من مستخلص نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss *et* Kral .

وأخيرا يمكن القول أن مستخلصات نبات *Haloxylon articulatum* Bioss. تملك قدرة تثبيطية معتبرة ضد أنواع من البكتيريا وخاصة ضد بكتيريا ؛ *Bacillus cereus ATCC 14579* و *E.coli ATCC 25922* .

وكخلاصة لما قدمناه في هذا البحث يمكن القول أن الباقل له قدرة تثبيطية لنمو بعض البكتيريات كبيرة وهذا يعود لغناه بالفلافونويدات ، اما نبات *Arnebia decumbens Vent* Coss et Kral فكان له نشاط مضـــاد للأكسدة أكبر ويعزى ذلك لغنـــاه بالفينـــولات مقارنة بالكمية التي يحويـــها نبـــات *Haloxylon articulatum* Bioss. .

الملاحق

الملحق 01 : المواد الكيميائية المستعمله

المواد	الإسم	الصيغة
المذيبات العضوية	كلوروفورم استات الإيثيل اثير البترولي ثنائي إثيل أثير	$CHCl_3$ $(CH_3)_2CO$ R-O-R $(C_2H_5)_2O$
الأحماض	حمض كلور الماء حمض الأيثانويك حمض الكبريت حمض ثلاثي كلورو أسيتيك حمض ارثوفوسفوريك	HCl CH_3COOH H_2SO_4 $C_2HCl_3O_2$ أو (TCA) (H_3PO_4)
القواعد	هيدروكسيد الأمونيوم ثنائي إيثيل أمين	NH_4OH $NH(C_2H_5)_2$
الكحولات	الميثانول الإيثانول البيتانول	CH_3OH C_2H_5OH C_4H_9OH
الأملاح	ثلاثي كلور الحديد	$FeCl_3$

الكـواشـف

كاشف ماير (يتكون من محلولين أ و ب)	كاشف واجن (Wagner)
محلول (أ): 13.55 غ من كلوريد الزئبق ($HgCl_2$) + 20مل من الماء المقطر. **محلول (ب):** 49.8 غ من يوديد البوتاسيوم (Kl) + 20 مل من الماء المقطر. يتم خلط المحلولين أ و ب ونخفف بالماء المقطر حتى 1 لتر.	نضع 2 غ من يوديد البوتاسيوم (Kl) و1.27 غ من اليود (I_2) في 75 مل من الماء المقطر، يخفف الخليط حتى 100 مل من الماء المقطر.

الملحق 02: الأجهزة المستعمله

جهاز المطيافيةالضوئية (Spectrophotomètre)

SHIMADZU CORPORATION
MODEL UVmini-1240
CAT.No. 206-24000-38
SERIAL NO. A10934603363 CD
220-240v 50/60HZ 160VA
MADE IN JAPAN

جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)

CH-9230 FLAWIL/SWTTZERLAND
Type:R-210
SN:1000048012
Volt: 100-240VAC
Frequ:50/60HZ
Power:60W
Built2010
T 1.6 AL 250V(2x)

جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC02)

Agilent Technologies 1260
MODEL 1260 Infinity
CAT.N°. G13108
SERIAL N° DEAB903128
100-240v 50/60HZ
MADE IN Germany

جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC01)

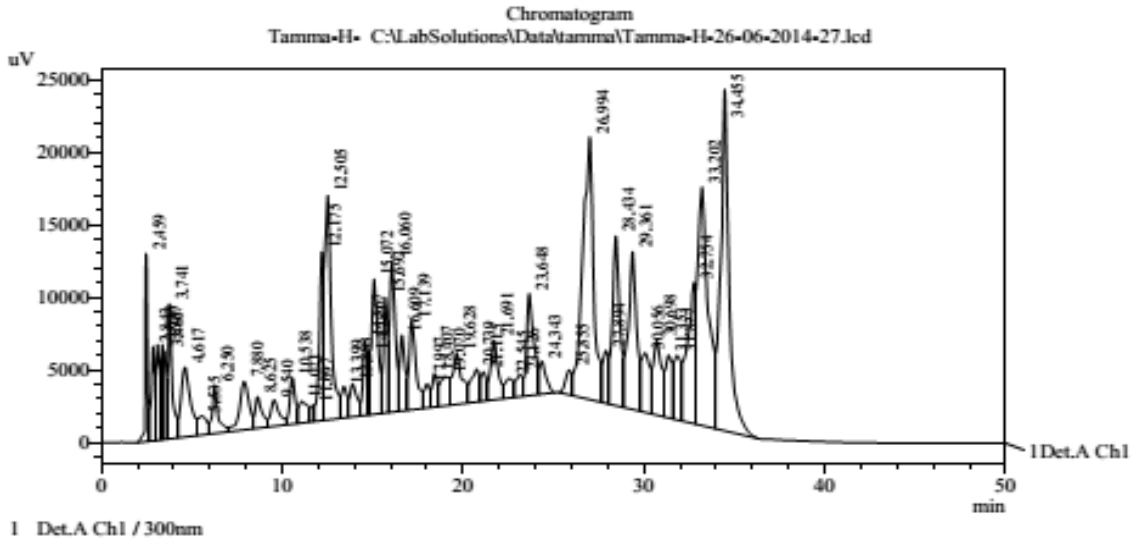
CHIMADZU CORPORATION
MODEL CTO-20AC
CAT.N°. 228-45010-38
SERIAL N°. L20214806938
220-240v 50/60HZ
MADE IN JAPAN

جهاز المعقمة (Autoclave)	الحاضنة (Etuve)
PBINTERNATIONAL **VIA NONARA.89 20153** **SERIAL N. 030004** **Volts 220V 50/60HZ** **Watts 1300W** **MOD TIMO** **ANNO 2010**	**LAB TECHASIA .LTD.** **ISO 9001 CERTTFIED** **MODEL LIB-060M** **Volts 220V 50HZ** **Watts 200W/1A** **SERIAL NO. 08061323**

الملحق 03: نتائج التحليل الكروماتوغرافي HPLC للعينتين ؛ H.F و B.F على التوالي :

❖ عينة مستخلص نبات *Arnebia decumbens Vent Coss et Kral* Ad.Ph

LABORATOIRE VTRS



PeakTable

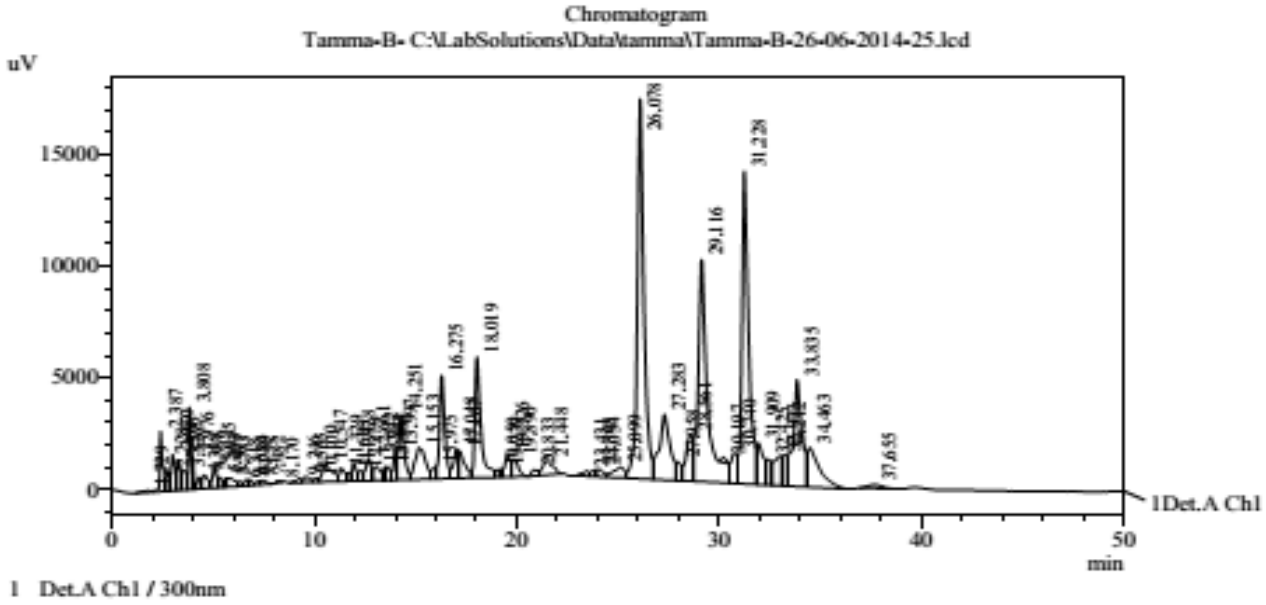
Detector A Ch1 300nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.459	105540	12958	1.399	4.404
2	2.843	91836	6488	1.217	2.205
3	3.088	85313	6592	1.131	2.240
4	3.357	62622	6564	0.830	2.231
5	3.466	57668	6109	0.764	2.076
6	3.741	146653	9302	1.944	3.161
7	4.617	173759	4799	2.303	1.631
8	5.535	43204	1316	0.573	0.447
9	6.250	74240	3345	0.984	1.137
10	7.880	120994	3329	1.604	1.131
11	8.625	57703	2166	0.765	0.736
12	9.540	60066	1816	0.796	0.617
13	10.538	68073	3184	0.902	1.082
14	11.071	50250	1501	0.666	0.510
15	11.697	16023	1126	0.212	0.382
16	12.175	175639	11628	2.328	3.952
17	12.505	393946	15447	5.221	5.250
18	13.399	48778	2164	0.646	0.735
19	13.883	61928	2269	0.821	0.771
20	14.567	83957	5142	1.113	1.748
21	14.783	27806	4291	0.369	1.458
22	15.072	232058	9309	3.076	3.164
23	15.692	124809	7961	1.654	2.705
24	16.060	227445	10429	3.015	3.544
25	16.609	107300	5219	1.422	1.774
26	17.139	163590	6137	2.168	2.086
27	17.997	35761	1643	0.474	0.558
28	18.407	45584	2318	0.604	0.788
29	19.070	70251	1996	0.931	0.678
30	19.628	129433	3560	1.715	1.210
31	20.739	72731	2257	0.964	0.767

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
32	21.115	43258	2022	0.573	0.687
33	21.691	118274	4104	1.568	1.395
34	22.545	44138	1360	0.585	0.462
35	23.126	39079	1514	0.518	0.514
36	23.648	198886	7028	2.636	2.388
37	24.343	56193	2257	0.745	0.767
38	25.855	41462	1706	0.550	0.580
39	26.994	760010	18089	10.073	6.147
40	27.894	75237	3634	0.997	1.235
41	28.434	332625	11685	4.409	3.971
42	29.361	350684	10871	4.648	3.694
43	30.056	130258	4098	1.726	1.393
44	30.698	167858	5117	2.225	1.739
45	31.353	112503	4328	1.491	1.471
46	31.822	125345	4432	1.661	1.506
47	32.754	298214	9712	3.952	3.301
48	33.202	668549	16420	8.861	5.580
49	34.455	767431	23514	10.171	7.991
Total		7544965	294253	100.000	100.000

❖ عينة مستخلص نبات *Haloxylon articulatum Bioss.* Ha.Ph

LABORATOIRE VTRS



PeakTable

Detector A Ch1 300nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.729	2099	74	0.089	0.069
2	2.387	27922	2686	1.184	2.490
3	2.728	9866	906	0.418	0.839
4	2.980	22635	1619	0.960	1.501
5	3.296	15456	1292	0.656	1.197
6	3.526	12142	877	0.515	0.812
7	3.808	27930	3682	1.185	3.412
8	3.976	7491	1518	0.318	1.407
9	4.318	7449	534	0.316	0.495
10	4.556	12044	607	0.511	0.563
11	5.045	12824	960	0.544	0.889
12	5.293	5646	456	0.239	0.422
13	5.567	4003	344	0.170	0.319
14	5.783	10607	388	0.450	0.360
15	6.318	2586	198	0.110	0.183
16	6.634	3258	263	0.138	0.244
17	6.789	3283	287	0.139	0.266
18	7.175	2270	149	0.096	0.138
19	7.482	3582	181	0.152	0.168
20	8.170	1438	97	0.061	0.090
21	9.246	3644	186	0.155	0.172
22	9.565	5546	262	0.235	0.242
23	10.100	2880	164	0.122	0.152
24	10.547	26850	861	1.139	0.798
25	11.329	11292	603	0.479	0.558
26	11.693	4215	389	0.179	0.360
27	11.928	11405	832	0.484	0.771
28	12.279	6856	444	0.291	0.412
29	12.661	19329	999	0.820	0.926
30	13.042	13732	642	0.582	0.595
31	13.467	5815	590	0.247	0.547

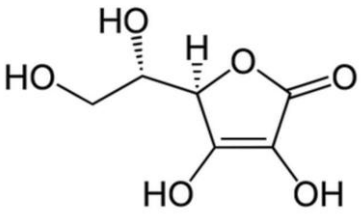
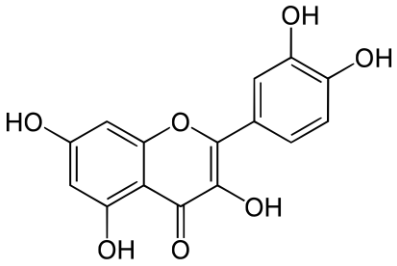
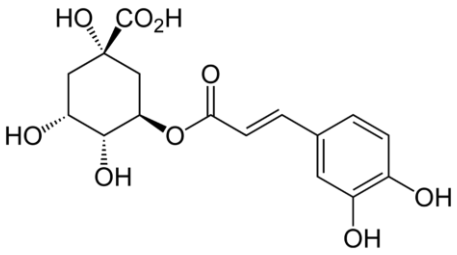
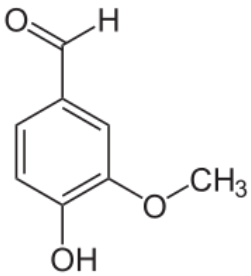
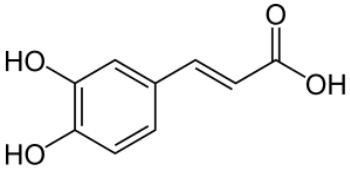
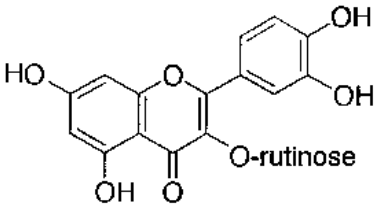
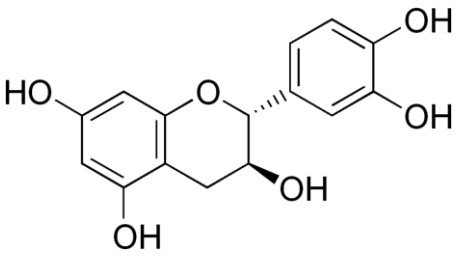
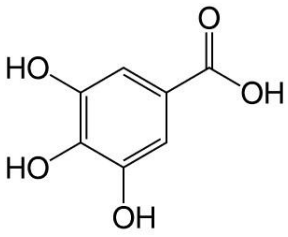
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
32	13.586	8374	618	0.355	0.572
33	13.997	15898	1296	0.674	1.201
34	14.251	52123	2923	2.211	2.709
35	15.153	51030	1424	2.164	1.320
36	15.975	8633	556	0.366	0.515
37	16.275	81140	4609	3.442	4.271
38	17.018	23912	1331	1.014	1.234
39	17.167	22995	1204	0.975	1.116
40	18.019	109188	5403	4.631	5.007
41	19.050	4389	319	0.186	0.296
42	19.233	2720	343	0.115	0.318
43	19.526	19190	1048	0.814	0.971
44	19.890	16822	784	0.714	0.726
45	20.833	5815	266	0.247	0.247
46	21.448	22410	638	0.951	0.591
47	23.431	5087	224	0.216	0.208
48	23.808	5034	287	0.214	0.266
49	24.054	7446	332	0.316	0.307
50	25.099	18223	478	0.773	0.443
51	26.078	389065	16981	16.503	15.736
52	27.283	109789	2927	4.657	2.712
53	27.958	15374	834	0.652	0.773
54	28.561	50462	2091	2.140	1.937
55	29.116	310765	9931	13.181	9.203
56	30.197	3346	229	0.142	0.212
57	30.740	29570	1350	1.254	1.251
58	31.228	319884	13980	13.568	12.955
59	31.909	43220	1856	1.833	1.720
60	32.425	20435	1136	0.867	1.053
61	32.977	32858	1320	1.394	1.223
62	33.212	22482	1403	0.954	1.300
63	33.835	140108	4773	5.943	4.424
64	34.463	75881	1774	3.219	1.644
65	37.655	7837	154	0.332	0.142
Total		2357600	107909	100.000	100.000

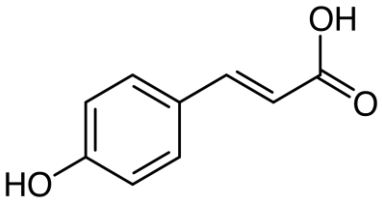
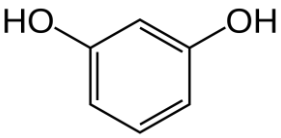
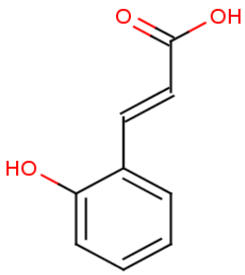
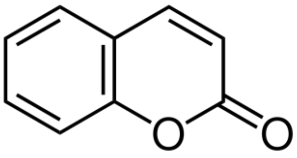
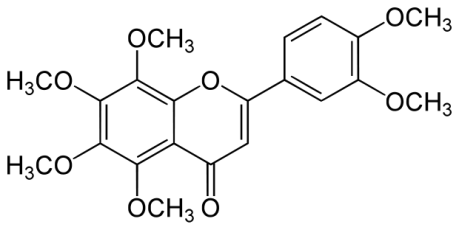
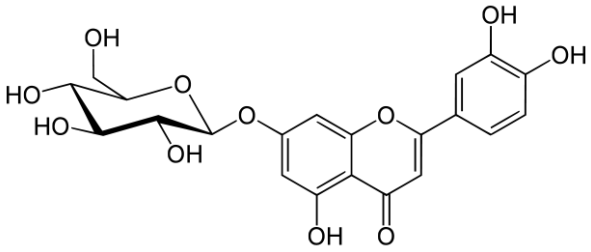
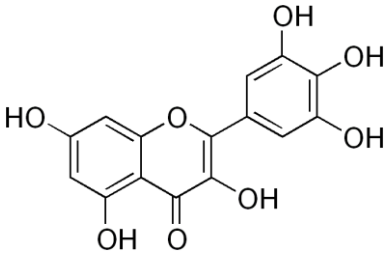
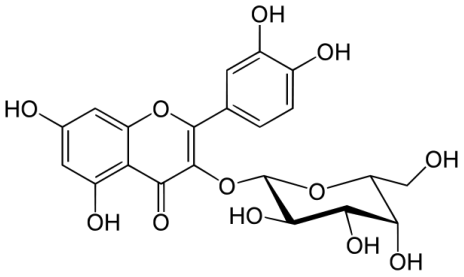
❖ معادلات المنحنيات المحاليل القياسية للمركبات الينولية القياسية لجهاز HPLC

R^2	المعادلة	المحاليل القياسية لجهاز: **HPLC (Shimadzu)**
0.99144	**y=2111.7x+1098**	**acide ascorbique**
0.9853	**y=21665x**	**acide chlorogénique**
0.9974	**y=84066x**	**acide caféique**
0.9962	**y=45378x**	**Quercitine**
0.9966	**y=58930x**	**Vanilline**
0.9869	**y=28144x**	**Rutine**

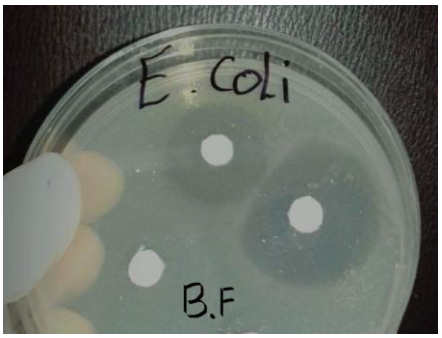
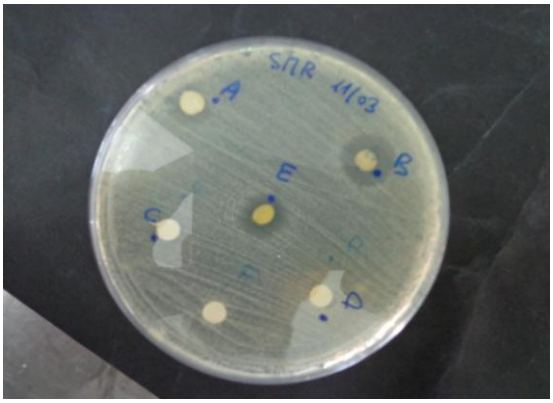
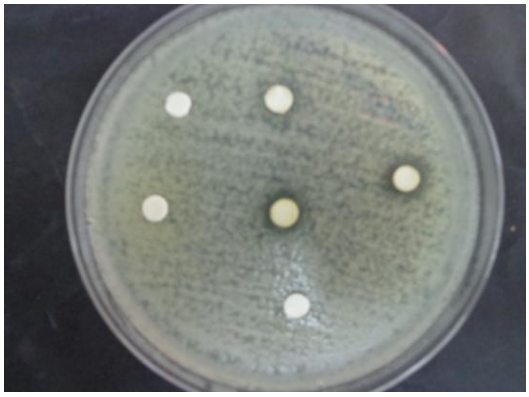
R^2	المعادلة	المحاليل القياسية لجهاز HPLC: (Agilent Technologies 1260)
0.9956	**y=10.84x**	**Acide gallique**
0.9982	**y=10.8478**	**Catechine**
0.9943	**y=10.725x**	**Resorcinol**
0.9982	**y=6.1665x**	**Acide p-coumarique**
0.9956	**y=8.6787x**	**Coumarine**
0.9969	**y=10.844x**	**Acide trans-hydroxy cinnamique**
0.9968	**y=11.2x**	**luteolin 7-O glucoside**
0.9977	**y=10.846x**	**Hyperoside**
0.9955	**y=10.84**	**Nobiletine**
0.9946	**y=10.845x**	**Myricetine**

الملحق 04: الصيغ الكيميائية للمركبات الفينولية المرجعية

الصيغ الكيميائية للمركبات الفينولية المرجعية	
 **Acide ascorbique**	 **Quercétine**
 **Acide chlorogénique**	 **Vanilline**
 **Acide caféique**	 **Rutine**
 **Catéchine**	 **Acide gallique**

 **Acide p-coumarique**	 **Résorcinol**
 **Acide trans- 2-hydroxycinnamique**	 **Coumarine**
 **Nobiletin**	 **Luteolin 7-O glucoside**
 **Myricetin**	 **Hyperoside**

الملحق 05: نتائج بعض صور الفعالية المضادة للبكتيريا

	
قطر التثبيط لمستخلص Ha.Ph الفعال ضد نمو بكتيريا ***E. coli ATCC 25922***	قطر التثبيط لمستخلص Ha.Al الفعال ضد نمو بكتيريا ***E. coli ATCC 25922***
	
قطر التثبيط لمستخلص Ad.Ph ضد نمو بكتيريا ***Bacillus cereus ATCC 14579***	قطر التثبيط لمستخلص Ad.Ph ضد نمو بكتيريا ***Staphylococcus aureus ATCC 6816***