رقم الترتيب:

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر

الوادي

كلية العلوم الدقيقة

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

في الكيمياء

تخصص: **كيمياء عضوية تحليلية**

من إعداد: **صحراوي سميرة**

بعنوان

دراسة التأثير التثبيطي لمزيج من مستخلص نبات الحناء *(Lawsonia inermis)* ونبات الشيح *(Artemisia herba alba-Asso)* على نشاط بعض أنواع البكتيريا

أمام اللجنة المكونة من:

بن شيخة نعيمة	**أستاذة محاضرة أ**	**جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي**	**رئيسة**
نجيمي محمد السّعيد	**أستاذ مساعد أ**	**جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي**	**مؤطرا**
تامة نور الدين	**أستاذ مساعد أ**	**جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي**	**ممتحنا**
نغموش نصر صالح	**أستاذ مساعد أ**	**جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي**	**ممتحنا**

السنة الجامعية:2016/2015

الإهــداء

الشكر لله واهب الروح والأجساد, ومؤيّد رسله بالهدي والكتاب وباسط ملائكة العلم تقفو طريق كل الطلاّب.

*أهدي هذا العمل المتواضع لمن منّ بهما الرحمان عليا فكانأ أنسا لي حين اشتد الظلام ودفئا حين غاب عني الحنان ودليلا حين تاهت خُطايا على مرّ الزمان ..... **أمي و أبي** أطال اللّه في عمرهما .*

وإلى إخوتي وأخواتي كل واحد باسمه.

*وإلى كل الطلاب و الزملاء, صديقات الدرب والعمر, وأخص بالذكر **أم الخير, ثرية** اللاتي كانتا سند لي وعونا في هذا العمل.*

إلى كل من ساعدني من قريب أو بعيد.

التشكـرات

أشكر الله العلـي القدير فعليه توكلت وبفضله وفقت.

يسرنـي أن أتقدم بالشكر الوافر والإمتنان غير المنقطع للأستاذ الفاضل نـجيمـي محمد السعيد أستاذ التعليم العالـي بجامعة حمة لخضر الذي تشرفت بإنجاز هذا العمل تحت اشرافه فكان النبراس الذي أضاء لـي طريقـي بفضل توجيهاته القيمة.

وأتقدم بجزيل الشكر و عظيم الإمتنان ولكل أعضاء لجنة التقييم على تشريفنا بقبولهم تثمين وتقييم هذا العمل.

كما أتوجه بالشكر والعرفان إلى أساتذة جامعة الوادي وخاصة السيد مدير الدراسات و رئيس قسم الكيمياء لكلية العلوم الدقيقة الأستاذ خلف عبد الحميد و الأستاذ حمادي رضا.

و أشكر كل من ساهم في هذا العمل من عمال مخبر الكيمياء وعمال مخبر البيولوجيا بالجامعة على ما قدموه لي من مساعدة وتسهيلات.

مقـــــدمة عامـة

مقدمة عامة:

تعامل الإنسان مع النباتات بصور شتى وبطرق اختلفت تبعا للفائدة المرجوة من هذه النباتات وبناء على العادات والتقاليد والاعتقادات الدينية التي آمن بها. وقد كانت النباتات ومازالت الجزء الرئيسي من غذاء الإنسان اليومي وذلك باختلافها وتعددها, ثم ما لبث الإنسان أن استخدم أنواع من هذه النباتات بشكل نوعي ومتخصص فتارة كان استخدامه لها كمضافات غذائية تضاف إلى غذائه اليومي فأصبحت تباع بأوزان تعادل الأوزان التي يبيع بها الذهب وبأسعار مرتفعة جدا [1], وتارة أخرى نجده قد استخدمها كأدوية وعقارات لعلاج العديد من الأمراض التي صادفته. ومع التقدم العلمي والتقني وتراكم المعلومات والمشاهدات اليومية لديه استطاع الإنسان أن يكون فكرة جديدة حول العديد من النباتات التي استخدمها منذ القدم, فقد وجد أن هناك العديد من الأعشاب والحشائش التي تملك قدرة محسوسة على قتل أو على الأقل إيقاف نشاط العديد من الأحياء المجهرية بأجناسها وأنواعها المختلفة علاوة على دور العديد من هذه النباتات في علاج أنواع من السرطانات والأورام الخبيثة [2]. وسمى هذه النباتات بالنباتات الطبية وعرفها على أنها النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتراكيز منخفضة أو مرتفعة، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض.

فقد ثبت وبالدليل القاطع أن النباتات الغنية بمنتجاتها الثانوية ذات الطعم المر والرائحة العطرية المميزة تملك أثر علاجي ضدّ معظم الأمراض المستعصية التي تصيب الإنسان والحيوان, كما أظهرت بعض الدراسات الحديثة أن مستخلصات بعض النباتات مثل الثوم والبصل والقرنفل وغيرها تمتلك فاعلية في قتل أو تثبيط نمو الكثير من الأحياء المجهرية المرضية التي تصيب الإنسان والغذاء, وإن استعمالها يكون بشكل آمن دون حدوث آثار جانبية ضارة كالتي تنتج عن الأدوية المصنعة من مواد كيميائية.

و كامساهمتا منا في هذا المجال الحيوي من ناحية وإثراء وتثمين ما يحيط بنا في بيئتنا (جنوب شرق الجزائر) وما في متناولنا كمصادر لنبتات طبية من ناحية أخرى قمنا بدراسة تأثير مزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح على نشاط بعض المسببات المرضية البكتيرية.

تضمنت دراستنا ثلاثة فصول كالتالي:

- الفصل الأول: ينقسم إلى جزئيين:
- الجزء الأول: تناولنا فيه دراسة نظرية حول النباتات الطبية من خلال التعرف على المركبات الكيميائية الثانوية الفعالة المكوّنة لها.

- الجزء الثاني: تناولنا فيه دراسة نظرية لكل من نباتي الحناء والشيح من خلال التعرف على مكوناتهما الكيميائية وأهميتها الطبية.
- الفصل الثاني: وفيه تناولنا دراسة نظرية حول البكتيريا المرضية من حيث التصنيف والأشكال والأنواع والأمراض المتسببة فيها.
- الفصل الثالث (عملي): وينقسم إلى قسمين :
- القسم الأول: تناولنا فيه كيفية تحضير المستخلصات النباتية.
- القسم الثاني: قمنا بدراسة التأثير التثبيطي لمزيج من مستخلص نباتي الحناء Lawsonia inermis والشيح Artemisia herba-alba بالمذيبات العضوية على نشاط البكتيريا: Pseudomonads , Staphylocoque blanc , Esherichia coli.
- وأخيرا قمنا بمناقشة النتائج المستخرجة وتحديد التأثير التثبيطي للمستخلصات على البكتيريا المختبرة.

الجـــــانب النّظـــري: دراسة النباتات الطبية والبكتيريا

الفصـــل الأول: النّباتات الطّبيـة

الجـــزء الأول:

دراسة المركبات الفعالة في النّباتات الطّبية.

الفصل الأول: النباتات الطبية

1.I الجزء الأول: دراسة المركبات الفعالة في النباتات الطبية.

1.1.I مقدمــة:

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة مهمة في الإنتاج الزراعي والصناعي, ولقد أصبح الإهتمام بها واستعمالاتها العلاجية توجهاً عالمياً كبيراً [3]. حيث عرف العالم Dragendroff النبات الطبي "على أنه كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي". و يسمى النبات نباتا طبيا إذا إمتلك عضو على الأقل من أعضائه خصائص علاجية بإحتوئه على مادة كيميائية فعالة واحدة أو أكثر بتراكيز منخفضة أو مرتفعة، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية أو في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا [5,4]. ومن هنا يستطيع الباحث أن يستخلص جميع المكونات الفعالة المعروفة من أعضاء النبات المختلفة ويقوم بتنقيتها ثم التتبع بدراسة خواص المادة وصفاتها الكيميائية وتعين التركيب البنائي، مع إجراء بحوث معمقة لدراسة التأثيرات السمية والعلاجية والجرعات المسوح بها ودواعي استعمالاتها من عدمه. حيث يجب أن تكون هذه الدرسات دقيقة وفق منهجية محددة و واضحة للوصول إلى الهدف.

2.1.I المنتجات الطبيعية:

تنتج الكائنات الحية الدقيقة والنباتات بشكل خاص المنتجات الطبيعية وهي عبارة عن مركبات عضوية طبيعية, أهمها تلك التي تؤدي دورًا فعال في العديد من الأنشطة الفيزيولوجية والطبية. وتقسم إلى أقسام:

1.2.1.I تصنيف المنتجات الطبيعية:

تصنف المنتجات الطبيعية حسب عملية الأيض إلى قسمين:

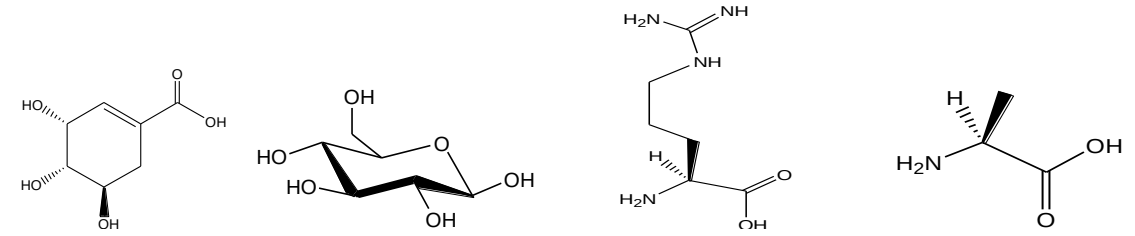
القسم الأول مركبات داخلة في التفاعلات الأولية لعملية الأيض وتسمى بعملية الأيض الأولي Les Métabolites Primaire, بما في ذلك الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، البروتينات و الأحماض النووية. (الشكل رقم1) وهذه المركبات هي المواد البادئة لعملية تشكل مركبات القسم الثاني وتسمى بعملية الأيض الثانوي Métabolite Secondaire, إذ أن هناك ثلاث مواد رئيسية وهي حمض الشيكميك، الأسيتات والأحماض الأمينية، (الشكل رقم1) تعتبر وحدات البناء للأيوض الثانوية وتقسم منتجات الأيض الثانوي في حد ذاتها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر لآخر.

فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، أو لتأثيراتها الفيزيولوجية, إذ يستخدم بعضها كمضادات حيوية، وبعضها مضادات جرثومية و البعض الآخر مسكن للآلام، كما قد تصنف وهي أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات [4],حيث تصنف إلى:

- التربينات و مشتقاتها.
- المركبات الفينولية.
- القلويدات وأشباهها.
- المضادات الحيوية والفيتامينات [5].

تمتلك منتجات الأيض الثانوي خصائص علاجية متنوعة فهي تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة، لما لها من تأثيرات فيزيولوجية على الكائن الحي لاسيما الإنسان وتواجدها في النباتات يكسبها تصنيفا خاصا على أنها نباتات طبية. لكن معرفة أصل هذه التراكيب ووظيفتها يعتمد على:

- كيفية الحصول على هذه المنتجات وطرق تحضير الخلايا و الأنسجة المستخلصة من مصادرها الطبيعية وفحصها بالمجهر الإلكتروني.
- كيفية عزل مختلف مكونات الخلية عن بعضها البعض و الحصول على مركبات نقية.
- كيفية التعرف على التركيب البنائي للمركبات النقية باستخدام الطرق الفيزيائية والكيميائية (درجة الغليان، قياس الفعالية الضوئية و إجراء بعض التفاعلات في تحديد هوية المجموعات الفعالة التي يحتويها المركب الطبيعي) [4].



الشكل رقم I.1 : بعض الأمثلة عن المركبات الداخلة في عملية الأيض الأولي والثانوي.

I.3.1 المواد الفعالة:

تسمى المنتجات الطبيعية بالمواد الفعالة Active Ingredients تبعا لفاعليتها العلاجية لكثير من الأمراض وسرعة شفائها و إزالة أعراضها, فمنها التي تنتج من عمليات ما بعد عملية التمثيل الضوئي المباشرة كالغلوسيدات أو غير المباشرة كالقلويدات والزيوت الطيارة وغيرها [5]. وأهمها:

1.3.1.I الغليكوزيدات Glycosides:

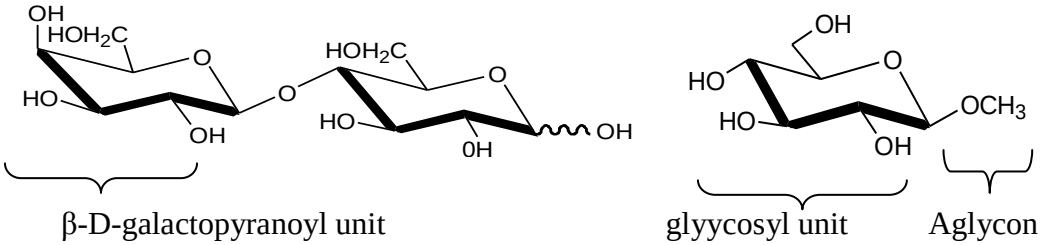
الغليكوزيدات مركبات عضوية تتكون من جزئين أحدهما سكري Glycon والآخر لاسكري Aglycon تتحلل بواسطة الأحماض أو إنزيمات خاصة لتشكل نوعا أو أكثر من سكر مختزل إضافة إلى المواد غير السكرية. وهي مواد صلبة متبلورة أو غير متبلورة وعديمة اللون، تذوب في الماء أو الكحول و بشكل عام شحيحة الذوبان في المذيبات العضوية، غير قابلة للتطاير.

كما تشكل الغليكوزيدات جزءا مهما من المواد الفعالة في النباتات الطبية ولا تقل كثيرًا عن المركبات القلوانية في فوائدها الطبية وتأثيراتها الفسيولوجية لدى الإنسان.

ومن بين استعمالاتها العلاجية:

- منشطة ومنبهة للقلب Cardiac stimulant.
- ملين Laxativ .
- مسكن للألم ومانع لتشقق الشعيرات الدموية [5].

أما صيغتها الكيميائية:

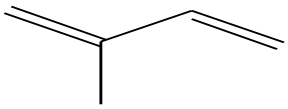


الشكل رقم 2.I: الصيغة البنوية لنوعين من الغلايكوزيدات.

2.3.1.I التربينات Terpenoids:

اقترح مصطلح التربين في عام 1880م، عندما عثر على المركب $C_{10}H_{16}$ في زيت التربنين [6], والتربينات هي مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الهيدروكربونية [8,7]. المتنوعة بدءاً من السلاسل الخطية البسيطة و انتهاءً إلى بنى متعددة الحلقات الهيدروكربونية، إذ أحصى العلماء أكثر من 30000 مركب [11-9,6]. حيث تتميّز التربينات بطعمها الحار وغير المستساغ أحيانا، وهي حافظة للأغذية، مضادّة للجراثيم، تحفّز الشهية، تسهّل الهضم، مسكّنة للآلام ومقوّية [8].

وتعتمد التربينات في تركيبها الكيميائي على تكرار لوحدة أساسية تسمى الإيزوبرين Isoprene (C_5H_8) [4].



2 -methyl-1,3- butadiene

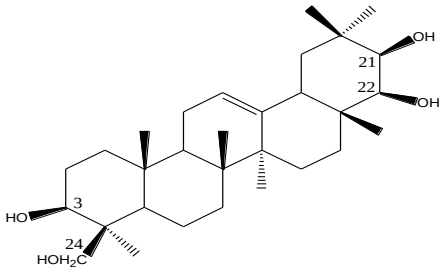
الشكل رقم I.3: الصيغة البنيوية للإيزوبرين [4].

وتقسم التربينات إلى:

I.1.2.3.1 الصابونين saponin:

هي عبارة عن مركبات كيميائية من نوع التربينات الثلاثية أو الستيرولات, مرة المذاق لاذعة وتكون بشكل مركبات معقدة حيث تشكل إرتباطا لأكثر من جزيئة سكر تشبه الغلايكوزيدات في طبيعتها الكيميائية, وقد تم الكشف عن الصابونين في أكثر من 17 عائلة نباتية, وهي ذات وضيفة وقائية في النبات ضد الحشرات والكائنات الدقيقة, ويمكن الكشف الأولي عنه بتكوين رغوة foam عند اضافة الماء. كما تعد مركبات الصابونين مواد مقشعة ومزيلة للبلغم, وتستخدم هذه الاخيرة في تصنيع الكورتزون ذي الاستخدمات العلاجية المختلفة.

وصيغته الكيمائية:



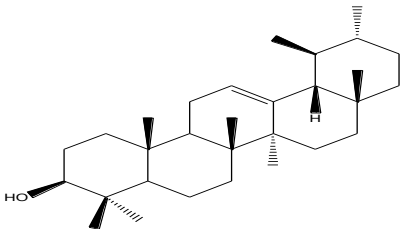
الشكل رقم I.4: الصيغة الكيميائية للصابونين[5,4].

وتصنف التربينات بشكل عام حسب عدد وحدات الإيزوبرين Isoprène المكونة لها كما في الجدول التالي:

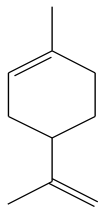
الجدول رقم I.1: تصنيف التربينات بشكل عام[5].

عدد ذرات الكربون	إسم التربين	وحدات الايزوبرين	أمثلــة
10	أحادي التربين Monoterpen	2	Limonene
15	سيسكوتربينات Sesquiterpene	3	Farnesol
20	ثنائي التربين Diterpene	4	Rosmanol
30	ثلاثي التربين Triterpene	6	α- Amyrin
40	رباعي التربين Tetraterpene	8	β- Carotene
أكبر من 40	متعدد التربين Polymeric terpenoid	أكبر من 8	Rubber

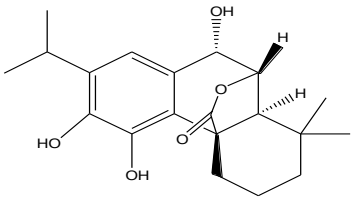
و في مايلي نوضح بعض الأمثلة لكل نوع:



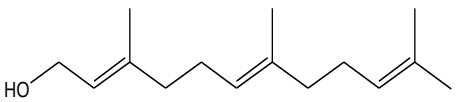
α- Amyrin a pentacyclic tritrepene



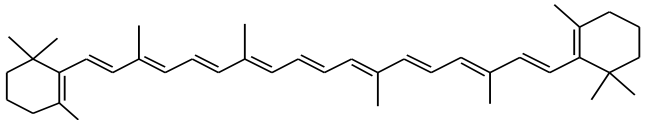
(+)-Limonene a monoterpene



Rosmanol a diterpene



Farnesol a sesquiterpene



β- Carotene a tetraterpene

الشكل رقم I.5: بعض الصيغ الكيميائية لبعض التربينات [5].

2.2.3.1.I الزيوت الطيارة Essential oils:

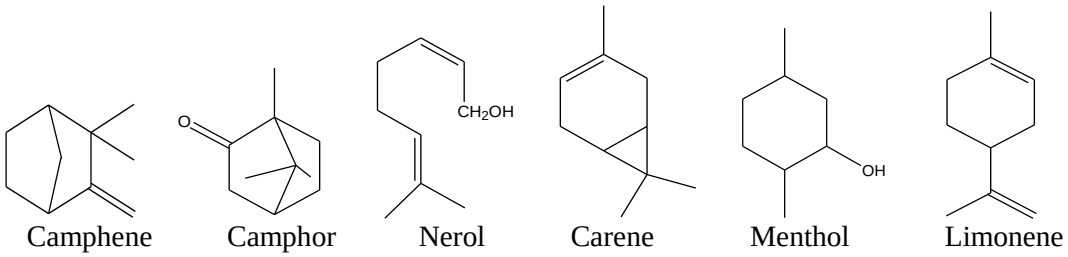
الزيوت الطيارة مواد زيتية ذات روائح عطرية مميزة، تتجزأ وتتطاير عند درجات الحرارة العادية دون أن تتحلل، على عكس الزيوت الثابتة والتي لا تتطاير ولكنها تتحلل إذا عرضت للتبخير أو التسخين. تسمى الزيوت الطيارة بعدة أسماء منها:

- الزيوت العطرية (Aromatic oils).
- الزيوت الأثيرية (Ethereal oils).
- الزيوت الأساسية (Essential oils).

الزيوت الطيارة عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي والتي تنجم عن عملية التحول الأيضي في النبات .وتتجمع داخل تراكيب خاصة, إذ تتواجد في أكثر من 3000 نبات وفي حوالي ستين عائلة نباتية, تختلف نسبتها مابين 18- 0.02 % من نبات إلى آخر [13].

كما أن الزيوت الطيارة عبارة عن تربينات أحادية وسيسكويتربينات نصف ثلاثية، إذ تعتبر الأولى وهي ذات أهمية تجارية كبيرة حيث تستخدم في صناعة العطور، ولها استخدامات طبية متنوعة خاصة التطبيب الأروماتي منها معالجة الأمراض الصدرية وتخفيف التشنجات والتعب العصبي [14].

الشكل يوضح البنية الكيميائية لبعض منها:



الشكل رقم I.7: الصيغ الكيميائية لبعض الزيوت الأساسية [5,4].

3.3.1.I القلويدات Alkaloids:

تعد القلويدات من نواتج الأيض الثانوي للبروتينات وتتواجد في المملكتين الحيوانية والنباتية, كما أنها عبارة عن مركبات عضوية معقدة التركيب قاعدية تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي بالإضافة إلى عناصر الكربون والهيدروجين وأحيانا الأوكسجين, وينتهي غالبا اسمها بمقطع(ine) [4]. وتصنف بأن لها فعالية علاجية حيث تدخل في عالم الدواء والعلاج كون معضمها ذات تأثير فسيولوجي على الكائنات الحية حتى وإن وجدت في النباتات بكميات ضئيلة. تتوجد القلويدات إما حرة أو على شكل أملاح لبعض الأحماض النباتية مثل حمض الستريك (citric acid) أو حمض الترتريك tartaric

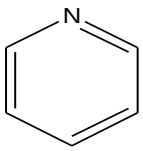
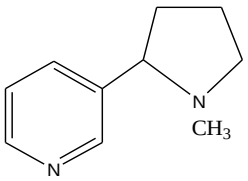
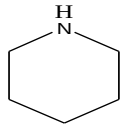
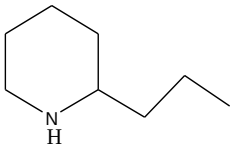
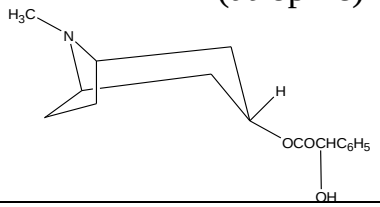
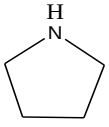
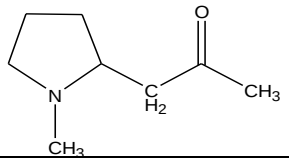
(acid), إذ أن هناك حوالي 1600 قلويد ويتم تقسيمها عادتا على أساس التركيب الكيميائي للحلقة الأساسية في جزيء القلويد إلى:

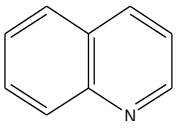
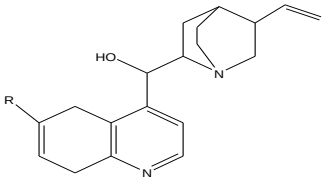
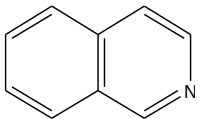
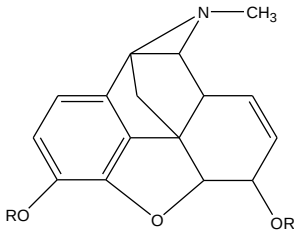
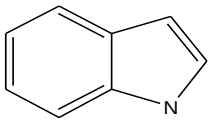
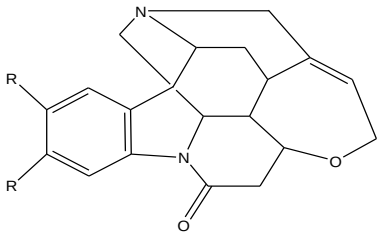
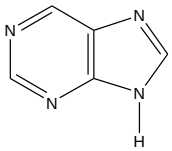
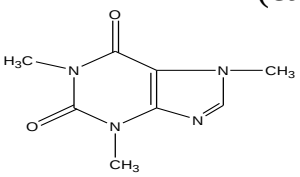
- مجموعة القلويدات متجانسة الحلقة.
- مجموعة القلويدات غير متجانسة الحلقة (heterocyclic).

تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك يستعملها النبات كوسيلة دفاع وطارد للحشرات الضارة, وهي مركبات شحيحة الذوبان في الكلوروفورم, تتبلور في درجة حرارة الغرفة عدا القليل مثل النيكوتين, وهي صلبة الملمس معضمها عديم الرائحة, لونها أبيض, مرة المذاق, وهناك من يخرج عن هذه الصفات كالكارادين (caradine) برتقالي اللون [5].

ومن أهمها:

الجدول رقم 2.I: أمثلة عن بعض الصيغ الكيميائية لأهم القلويدات [4].

النوع	أمثلة
- بيريدين pyridine 	* نيكوتين (nicotine) 
- بيبريدين pipéridine 	* كونين (coniine)  * أتروبين (atropine) 
- بيروليدين pyrrolidine 	* الهيجرين (hygrine) 

- كينولين Quinoline 	* كينين (quinine)  Quinine , quinine : R = OMe Cinchonine , cinchonine : R = H
- إيزوكينولين isoquinoline 	* مورفين (morphine) 
- إندول indole 	* ستريكنين (strychnine) 
- بيورين purine 	* كافين (caffeine) 

4.3.1.I المركبات الفينولية Phenolic compound:

الفينولات هي عبارة عن مركبات عطرية آروماتية تتكوّن من حلقة بنزين يمكن أن ترتبط بمجاميع عديدة مثل الهيدروكسيلات (OH-) والكربوكسيلات (COOH-) وكذلك مجاميع (Méthyl-). تنتجها النباتات الراقية وغير الراقية عن طريق التفاعلات الحيوية وتقسم الفينولات تبعا لعدد ذرات الكربون في تركيبها الكيميائي حسب الجدول التالي:

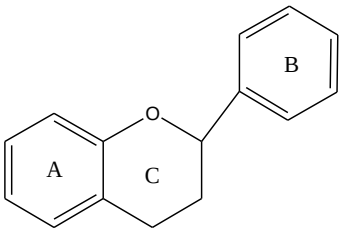
الجدول رقم 3.I: التصنيف العام للفينولات [15].

Structure	Classe
C6	phénols simples
C6 - C1	des acides phénoliques et des composés apparentés
C6 - C2	acétophénones et des acides phénylacétiques
C6 - C3	les acides cinnamiques, les aldéhydes, les alcools de cinnamyle cinnamyle
C6 - C3	coumarines, coumarines iso, et chromones
C15	chalcones, aurones, dihydrochalcones
C15	flavanes
C15	flavones
C15	flavonoïdes
C15	flavonols
C15	anthocyanidins
C15	anthocyanines
C30	biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	les benzophénones, les xanthones, les stilbènes
C6, C10, C14	quinones
C18	bétacyanines
Lignans, neolignans	dimères et oligomères
Lignin	polymères
Tannins	oligomères et polymères
Phlobaphenes	polymères

تعدّ الفينولات مواد منظّمة للنّمو ولعمل الإنزيمات في النبات وهي عوامل مقاومة طبيعيّة تكسب النبات مقاومة نسبية ضدّ الآفات مثل الحشرات، فضلا عن كونها عوامل مضادّة للبكتيريا Antibacterial، Antibacterialagents [15].

1.4.3.1.I الفلافونيدات les flavonoïdes:

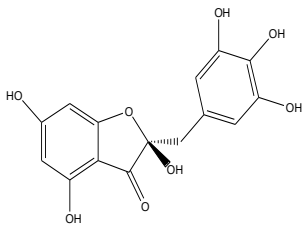
هي صبغات بيولوجية نباتية متواجدة في أجزاء كثيرة من النبات، وتحتوي في هيكلها الأساسي على 15 ذرة كربون موزعة على ثلاث حلقات A ,B وC.



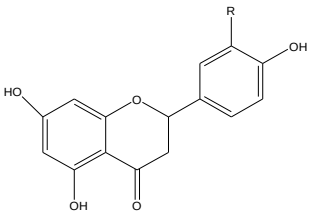
الشكل رقم I.8: الصيغة الكيميائية العامة لفلافونويدات [4].

اشتقت كلمة الفلانويد من الكلمة اللاتينية (flavus) والتي تعني اللون الأصفر وهي تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار والثمار وأحيانا الأوراق ومنها التي تمثل عدة ألوان أخرى. إلى جانب التلوين في النباتات فالفلافونيدات لها أدوار مهمة من نمو و تلقيح وتطور النباتات بجلب الطيور والحشرات, كما تشكل مضادات للفطريات، ولها فعالية مضادة للميكروبات، كما أنها من المركبات التي لها فعالية قوية ضد الأكسدة في جسم الإنسان، إذ تعمل على منع الإلكترونات للجذور الحرة لتشكل معها المجاميع الهيدروكسيلية [4].وتقسم الفلافونيدات حسب عدد ومواضع وطبيعة المستبدلات إلى أقسام عديدة.

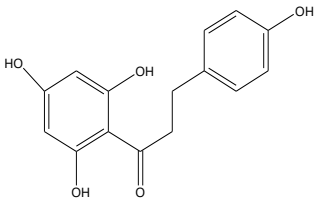
ومن أمثلتها:



Amaronol A



Naringenin R=H
Eriodictyol R=OH

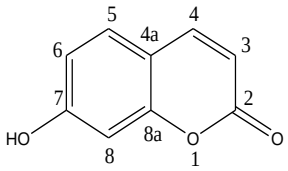


Dihydronaringenin chalcone

***الشكل رقم I.9: الصيغ الكيميائية لبعض* الفلافونويدات [4,16].**

2.4.3.1.I الكومارينات les coumarines:

اشتق اسم الكومارين من كلمة «coumarou» وهو اسم لنبـات Dipteryx odorata Willd (من عائلة Fabaceae) الذي فصل منه الكومارين (1) سنة 1820. الكومارينات مركبات طبيعية مهمة جدا حيث تستعمل كمواد حافظة للأغذية وكذا في مواد التجميل [17], وهي تنتمي إلى مجموعة من المركبات تسمى α-benzopyrone وتتكون هذه المركبات من حلقة عطرية مرتبطة مع حلقة بيران [18]. تتواجد الكومارينات في الطبيعة بشكل أجليكونات أو تكون مرتبطة بجزيئات سكرية مشكلة جليكوزيدات (glycosides) [16].



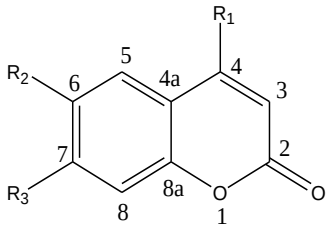
(1) Coumarine

الشكل رقم I.10: البنية العامة للكومارين [4].

وتقسم الكومارينات حسب الجذور $\mathbf{R_3, R_2 , R_1}$ ومنها:

الجدول رقم I. 4: توضيح لجذور بعض الكومارينات البسيطة [4].

الجذور	R 1	R 2	R 3
Coumarine	H	H	**H**
Ombelliferone	H	H	**OH**
Hemiairine	H	H	**OCH3**
Méthylombelliférone	CH_3	H	**CH_3**
Scopelétol	H	OCH3	**OH**



الشكل رقم I.11: يوضح بعض الكومارينات البسيطة [4].

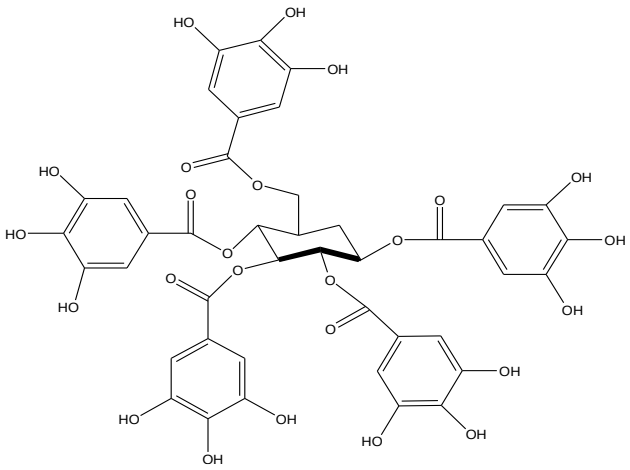
I.3.4.3.1 التانينات (العفصيات) Tannins:

العفص مركب يتكون من مجموعات الفينول متعدد الهيدروكسيلي ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة [19], له مذاق مر غير مستساغ و تأثير قابض، يتواجد عادتا في قشور وسيقان وأوراق وثمار النباتات, يستعمل لعلاج الإلتهابات في الفم أو اللثة والحلق، و يدخل في تركيب الأدوية المعالجة للإسهال، و له استخدامات في الصناعة إذ يعتبر مادة دابغة للجلود بتحوليه الجلود الطرية إلى جلود قاسية غير قابلة للتعفن [20]. ويعزى ذلك في قدرتها على الإتحاد بالبروتينات [15].

يعتبر العفص مضاد للأكسدة إذ يعمل ككابح للجذور الحرة التي تخرب الحمض النووي وتحدث طفرات مسببة للسرطان. وهي نوعان:

- أعفاص حقيقية وهي ذات وزن جزيئي عالي مثل acide gallique.
- أعفاص غير حقيقية وهي ذات وزن جزيئي منخفض لكنها تشترك مع الأعفاص في بعض تفاعلاتها الملونة.

أما صيغتها الكيميائية:



الشكل رقم I.12: الصيغة الكيميائية للعفصيات (Tanin gallique) [4].

الجـــزء الثانـي:

العينـات النباتية المدروسة.

2.I الجزء الثاني: العينات النباتية المدروسة.

1.2.I النباتات المختارة:

قبل البدء يجدر الإشارة أنه تم اختيار النباتين الحناء و الشيح كنموذج من نباتات العائلة الحنائية Lythraceae و العائلة المركبة Asteraceae على التوالي, لدراسة فعالية مزيج من مستخلص هذين النباتين ضد بعض أنواع البكتيريا, لكونها نباتات طبية مستعملة بكثرة و خاصتا في مجال الطب الشعبي.

تعتبر العائلة المركبة Asteraceae أكبر عائلة من حيث عدد النباتات و تضم حوالي 1620 جنسا وأكثر من 23000 نوع, منتشرة في جميع أنحاء العالم, وهي نباتات عشبية جذورها لحمية أو خشبية, منتصبة بشكل عام, لها أوراق بديلة مفصصة ومسسنه تتميز أزهارها بألوان زاهية. أغلب نباتاتها تستخدم في طب الأعشاب, مهمة اقتصاديا وتكمن أهميتها في احتوائها على زيوت عطرية، كحول تربيني، قلويدات و أحماض الكوروجينيك المضادة للأكسدة و المساهمة في حرق الدهون [21].

كما تضم العائلة الحنائية Lythraceae 22 جنسا و 450 نوعا, وهي نباتات شجيرية مستديمة الخضرة شديدة التفرع القائم, عشبية و منها شجيرية تنمو في المناطق الإستوائية. أوراقها بسيطة ومتعاكسة غالبا, أزهارها مختلفة الألوان فمنها البنفسجي والأحمر و الأبيض, ولا تقل هذه العائلة أهمية عن غيرها لكونها تضم نباتات مهمة في مجال الطب الشعبي والحديث.

1.1.2.I نبات الحنـــاء *Lawsonia inermis*:

1.1.1.2.I التسمية:

الاسم بالعربية: *تسمى عندنا الحنة أو الحناء و بلامازيغية حنلة.*

الاسم بالانجليزية: *Henna.*

الاسم بالفرنسية: *Alcana d'orient.*

الاسم العلمي: *Lawsonia inermis* [22].

2.1.1.2.I التصنيف:

يصنف نبات الحناء كما يلي:

المملكة: Plantae – Plantes.

الشعبة: Angiospermes.

الدرجة: Dicotyledonae.

الرتبة: Myrtales.

العائلة: Lythraceae.

الجنس: الحناء Lawsonia.

النوع: inermis [23].

3.1.1.2.I الوصف النباتي:

نبات الحناء شجيرة زراعية وتزيينية وحيدة الجنس. مسكنها البلدان الصحراوية خاصة الجزيرة العربية والصحراء الكبرى. و تزرع عندنا بالواحات, جذورها حمر، ساقها وأغصانها زغبية اللحاء الأبيض يتميز باللون الحمر البني ويصل طولها إلى ثلاثة أمتار [24].

1.3.1.1.2.I الأوراق:

بسيطة رمحيه أو بيضاوية الشكل يصل طولها إلى 2-4 سم. جلدية الملمس وهي متقابلة الوضع على فروع الساق حافتها ملساء [25].

2.3.1.1.2.I الأزهار:

صغيرة بيضاء لها رائحة عطرية قوية ومميزة وهي في نورات عنقودية [25]. كما لشجيرة الحناء صنفان مختلفان في لون الأزهار الصنف Alba ذو الأزهار البيضاء والصنف Minite ذو الأزهار البنفسجية [26].

3.3.1.1.2.I البذور:

بذورها سمراء اللون أو مائلة إلى السواد هرمية الشكل يقارب حجمها حجم بذور نبات الحرمل، سهلة الإنفصال إذ تتحرر و تسقط بمجرد تحريكها إن كانت ناضجة.

كما أن نبات الحناء يحتوي على زيوتا أساسية.

الشكل رقم 13.I: صور لبعض أجزاء نبات الحناء.

4.1.1.2.I الأجزاء المستعملة:

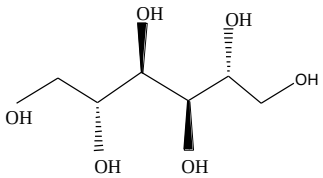
يستعمل من نبات الحناء الأوراق و الأزهار وأحيانا الأغصان والبراعم حديثة النمو [22].

5.1.1.2.I دراسات سابقة على نبات الحناء:

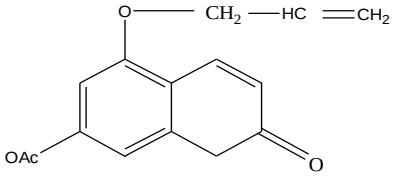
قام العلماء بالعديد من التجارب المخبرية لنبات الحناء بغية التعرف عليها وعلى عناصرها الفعالة واكتشفو بأن نبات الحناء يحوي عدة عناصر منها التي تتواجد في كامل النبات و منها التي تتواجد في بعض الأجزاء فقط كالأوراق الأزهار والبذور وغيرها:

*** جميع أجزاء النبات:**

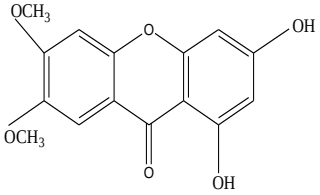
مثل glucose , Coumarins ومشتقات Xanthones وغيرها:



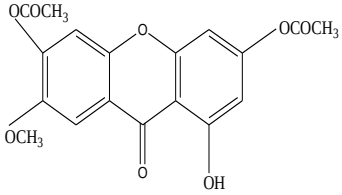
D-mannitol



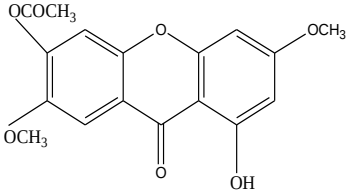
La coumarin (5-Allyloxy-7-acetoxy coumarin)



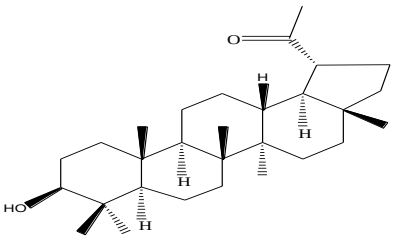
Laxanthone I



Laxanthone II



Laxanthone III



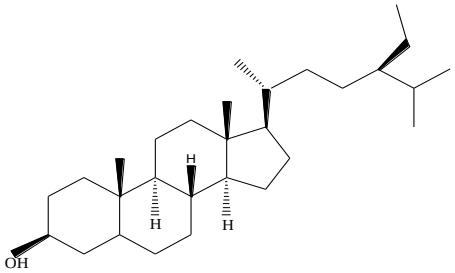
30-Norlupan-3β-ol-20-one

CH3(CH2)28OCOCH3

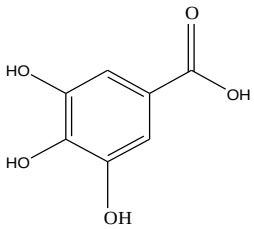
n-Triacontanol

CH3(CH2)28CH2OH

n-Triacontyl-n-tridecanoate

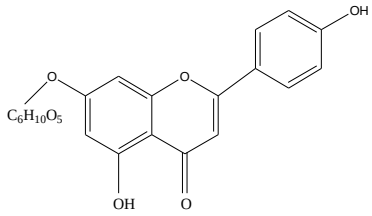


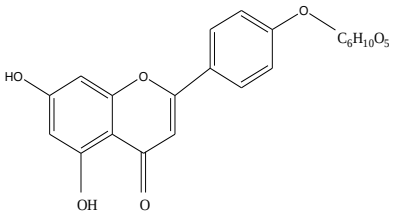
β-Sitosterol

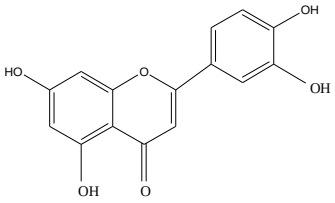


Gallic acid

الشكل رقم I.14: الصيغ الكيميائية لمكونات نبات الحناء [27,23].


Apigenin-7-*o*-glycosidev
[13]

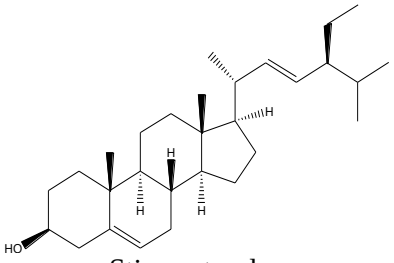

Apigenin-4'-*o*-glycoside
[13]

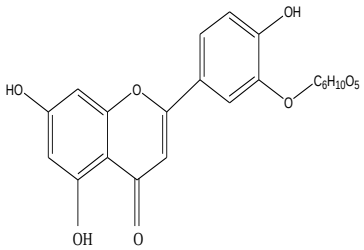

Luteolin
[22]

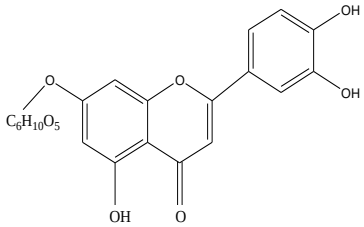
تابع للشكل رقم I.14: الصيغ الكيميائية لمكونات نبات الحناء [27,23].

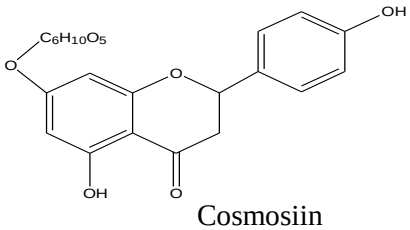
*** الأوراق:**

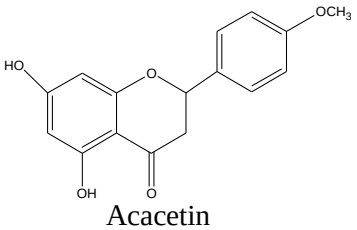
تحتوي الأوراق على مشتقات نفتوكينون وهذه المشتقات هي عبارة عن مواد ملونة وهي المسؤولة عن صبغة اللون البني المسود, أهمها مادة اللاوسون 2-hydroxy-1,4- (Lawsone) naphthoquinone [22]. وكذلك 1,4-naphthoquinone, 1,3-dihydroxy naphthalene , 1,2-dihydroxy-4-glucosyloxynaphthalene بنسبة تتراوح مابين 1.0- 1.4% [23]. كما أنها تحتوي على مواد أخرى دهنية وتانينات تعرف باسم Hennatannin [26]. Coumarines, les flavonoïdes [22]. كمية قليلة من Stéroïdes مثل β-Sitostérol.

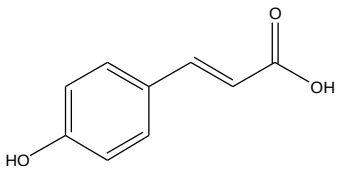

Stigmasterol

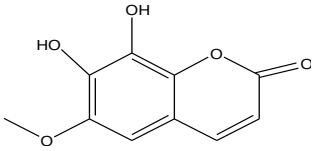

Luteolin-3'-*o*-glycoside

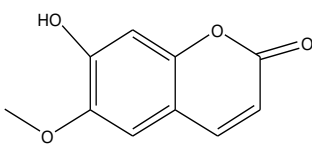

Luteolin-7-*o*-glycoside

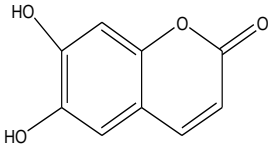

Cosmosiin
(Acacetin-7-*o*-glucoside)


Acacetin

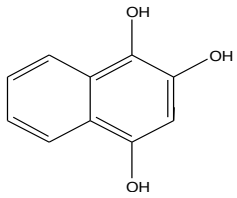

p-coumaric acid


Fraxetin

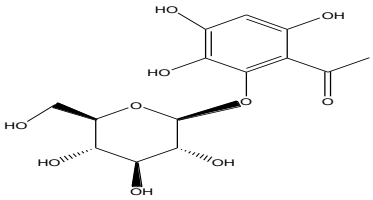

Scopoletin


Esculetin

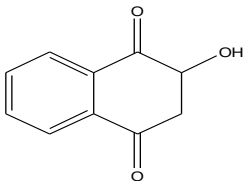
الشكل رقم I.15: التركيب الكيميائي لأوراق نبات الحناء [27,23].



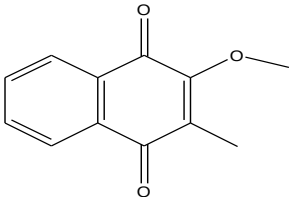
Lawsoniaside



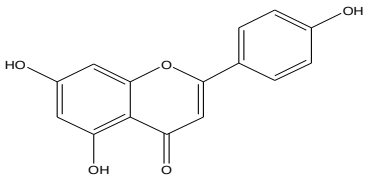
Lalioside



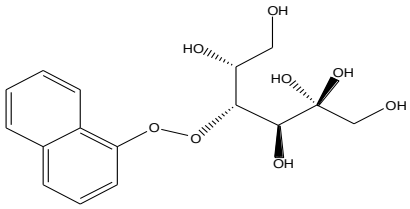
Lawsone
(2-Hydroxy-1,4-Napthoquinone)



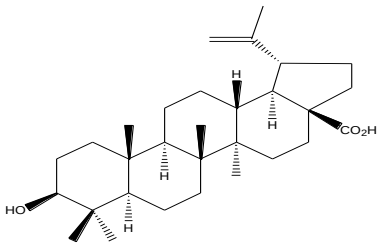
2-methoxy-3-methyl-1,4-
Napthoquinone



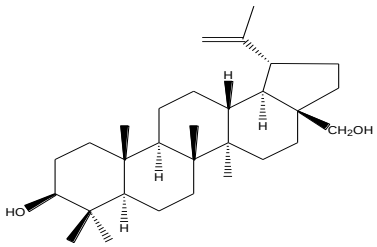
Apigenin



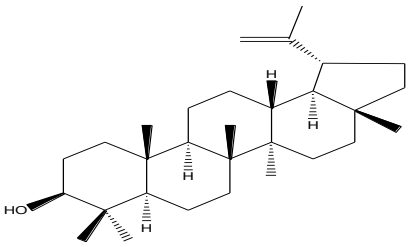
1,2-dihydroxy- 4-*o*-glucosyloxy
Naphthalene



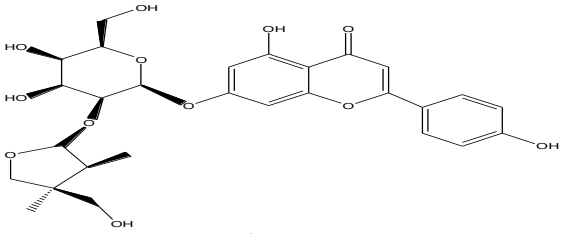
Betulinic acid



Betulin



Lupeol

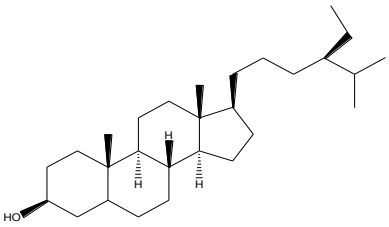


Apin

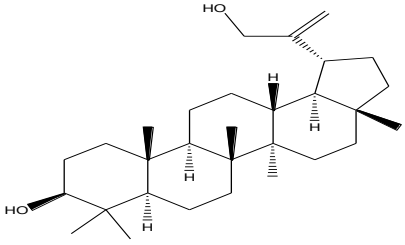
تابع للشكل رقم I.15: التركيب الكيميائي لأوراق نبات الحناء [28,27,23].

*** اللحـــاء:**

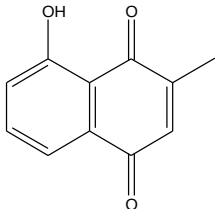
يحتوي لحاء نبات الحناء على المركبات التالية:



β-Sitosterol

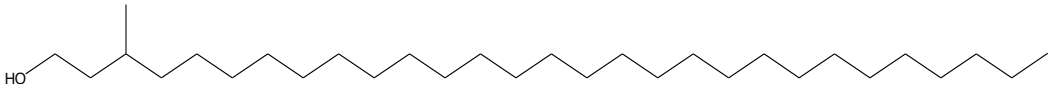


3β,30-dihydroxylupine -20(29)ene
(Hennadiol)



Isoplumbagin

الشكل رقم I.16: التركيب الكيمائي للحاء نبات الحناء [28,23].

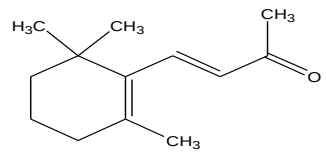


3-Methylnonacosan-1-ol

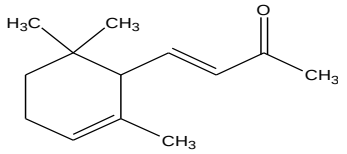
تابع للشكل رقم I.16: التركيب الكيميائي للحاء نبات الحناء [28,23].

*** الزهرة والبذور:**

أثبتت العديد من التجارب المخبرية أن أزهار نبات الحناء تحتوي على زيت طيار له رائحة زكية وقوية و أهم مكوناته β-ionones و α-ionones [22]. كما تحتوي البذور على أحماض دهنية منها acid béhénique, acide arachidonique , acid palmitique [23].



β-Ionone



α-Ionone

CH3(CH2)14COOH	CH3(CH2)16COOH	CH3(CH2)18COOH	CH3(CH2)20COOH
Palmitic acid	Stearic acid	Arachidic acid	Behenic acid

الشكل رقم I.17: التركيب الكيميائي لبذور وأزهار نبات الحناء [23].

6.1.1.2.I الخصائص العلاجية:

الحناء هي منتج تقليدي وقد استخدمت في نطاق واسع على مر القرون لأغراض طبية عديدة في أفريقيا, آسيا, الشرق الأوسط ومناطق أخرى كثيرة [22]. ومن أهم استخداماتها:

- استخدمت لعلاج الحروق والجروح, كما ساعدت في تخفيف آلام الظهر والقصبات الهوائية [29].
- استخدمت لتخفيف درجات الحرارة و ضغط الدم المرتفع, فهي تعتبر من المسكنات التقليدية [22].
- كما أثبتت العديد من الدراسات الحديثة أن نبات الحناء يحتوي على مواد مضادة للفطريات antifungal, الفيروسات antiviral والالتهابات anti-inflammatory ومضادة للأكسدة antioxidant, مما تكسبها خصائص وقائية علاجية ضد الالتهابات و الإصابات الفطرية بما في ذلك مرض الجذام الميكروبي الذي يصيب الجلد [26], ومن أهم هذه المواد مادة اللاوسون lawsone التي تعتبر المادة المسؤولة عن التأثيرات البيولوجية و الطبية [30-31].

حيث قام الفريق المكون من"Ragaa M.Ahmed, L.Abulyzid Elsayed M.E. Mahdyb" بفحص عينات من أوراق الحناء على بكتيريا "Escherichia coli" وتبين أن لها القدرة على

القضاء على الميكروبات وذلك بوضع كمية من البيكتيريا مع تراكيز مختلفة من مستخلص أوراق الحناء فلوحظ إختفاء البيكتيريا تماما [33,32].

- أكد أيضا خبراء التجميل بأن نبات الحناء مفيد لفروة الرأس, لقدرته على امتصاص المواد الدهنية المسببة لإلتهابات الفروة, فضلا عن أنه لا يسبب أي أضرار بالمقارنة مع الصبغات الكيماوية [1].

2.1.2.I نبات الشيـــــح Artemisia herba-alba:

1.2.1.2.I الاسماء الشائعة:

العربية: *يسمى عندنا الشيح أو الشيحة, و بالأمازيغية: آزر أفرى.*

الانجليزية: *santonica ; wormwood.*

الفرنسية: *Armoise Blanche.*

الاسم العلمي: *Artemisia herba-alba* [34].

2.2.4.2.I التصنيف النباتي:

المملكة: Plantae.

تحت مملكة: Tracheobionata.

فوق شعبة: Spermatophyta.

الشعبة: Magnoliophyta.

صف: Magnoliopsida.

تحت صف: Asteridae.

الرتبة: Asterales.

العائلة: Asteraceae.

تحت عائلة: Asteroideae.

فصيلة: Anthemideae.

تحت فصيلة: Artemisiinae.

الجنس: .ArtemisiaL.

النوع: Artemisia herba alba Asso [35].

3.2.1.2.I الوصف النباتي:

1.3.2.1.2.I جنس Artemisia:

ينتمي نبات الشيح إلى جنس Artemisia, التي تعتبر من أهم أجناس العائلة المركبة وهي عبارة عن شجيرات مستديمة الخضرة, عطرية, قائمة النمو يصل ارتفاعها من 30 إلى 150 سم. فروعها متعددة كثيفة الأوبار كذلك جذورها كثيرة العدد لونها رمادي, متطاولة ذات شق طولي ضيق.

1.1.3.2.1.2.I الأوراق:

صغيرة الحجم, متبادلة الوضع, ريشية مركبة غالبا و لونها رمادي مشوب بالبياض أو أخضر رمادي أو فضي مخضر.

2.1.3.2.1.2.I الأزهار:

ينتهي هذا الجنس من النباتات برؤوس زهرية خضراء مصفرة اللون أو بيضاء مخضرة, تحتوي من 2 إلى 4 أزهار في كل رويس. النوارات راسميه, طرفية, صغيرة, جالسة, بيضاوية الشكل, صفراء, كثيرة الزوايا لامعة.

2.3.2.1.2.I نبات الشيح Artemisia Herba -alba:

وهو عبارة عن شجيرات متوسطة, تنمو بإرتفاع 30-60 سمد, الجذور قاسية ومنتصبة, جد متفرعة من الأسفل. تنتشر بكثرة في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط [36]. خاصتا في المناطق القاحلة منها [37].

1.2.3.2.1.2.I الأوراق:

تكون الأوراق صغيرة الحجم بيضاوية الشكل ثنائية الرويشات, ذات فصه متطاولة ثنائية النسيبلات بتفرعات بسيطة, لونها أخضر رمادي مشوب بالبياض.

2.2.3.2.1.2.I الأزهار:

تنتهي أورق نبات الشيح برؤوس زهرية خضراء مصفرة اللون [36].

الشكل رقم I.18: صور لبعض أجزاء نبات الشيح.

I.4.2.1.2 أنواع الشيح:

للشيح أنواع عديدة منتشرة في أنحاء العالم, يزيد عددها عن العشرين نوعا منه الخرساني A.Judaica, الجبلي A.Glaciala, البحري A.Maritima, الكافوري A.Camphora والعبيثيران A.Argenta, الأبيض A.Lactiflora ...الخ. بالرغم من أن هذه الأنواع تتبع جنس واحد Artemisia إلا أنها مختلفة الفعالية. لذا كان من الأفضل إطلاق كلمة الشيح الأبيض أو شيح الجزائر على شيح سهوب الجزائر بما له من مميزات وخواص معينة.

I.4.2.1.2.1 الشيح البلدي Artemisia Herba alba:

يسمى أيضا أرطماسيا أبيض و يكثر انتشار هذا النوع من الشيح في شمال إفريقيا, سوريا, إيران. يحتوي على زيت طيار بنسبة تتراوح بين 0.3- 1.6%.

I.4.2.1.2.2 الشيح الخرساني Artemisia judaica:

يسمى أيضا شيح العطارين و بعثيران, هو نباتات عشبية صغيرة الحجم و النمو, ارتفاعها حوالي 30 سم أو أكثر وهي غزيرة التفرع الجانبي من جهة القاعدة رفيعة السمك لونها أخضر رمادي, الأوراق صغيرة, ريشية و شكلها شريطي قصير, الأزهار صغيرة كروية الشكل, توجد في نوارة راسمية لونها أخضر مصفر, تحتوي بكثرة على مادة السانتونين والزيوت الطيارة التي تستعمل طبيا. ينتشر في مصر على الساحل الشمالي.

I.4.2.1.2.3 الشيح الكافوري Artemisia Camphora:

نباتات شبه شجيرية, وطولها قد يصل إلى 100 سم, فروعها كثيفة متوسطة السمك, قائمة الوضع. والأوراق متوسطة الحجم ريشية, وطول الرويشة حوالي 3-6 سم, لونها أخضر داكن. الأزهار كبيرة توجد في نورة راسمية طرفية بيضاء.

I.4.4.2.1.2 الشيح العربي Artemisia Abrotanum:

يسمى كذلك القيصوم, نباتاته عشبية شبه شجيرية, طولها حوالي 50 سم, غزيرة التفرع ذو سمك متوسط والأوراق العلوية منها بسيطة ذات فصوص مختلفة الأحجام, بينما السفلية منها ريشية الشكل طول الرويشة 3سم, لونها أخضر داكن عند السطح العلوي و أبيض عند السطح السفلي وذلك لوجود الشعيرات الكثيفة والرؤوس الزهرية صغيرة الحجم, توجد في مجموعات نورية تشبه المشط, لونها أبيض مصفر تحتوي على زيوت طيارة ومادة السنتونين. تتواجد بكثرة في شمال آسيا وافغانستان ويمتد وجوده حتى المحيط الأطلسي, و في جنوب مصر وعلى حدود السودان.

I.5.4.2.1.2 الشيح الأوروبي Artemisia Vulgaris:

يسمى أيضا الشويلاء وهو نبات عشبي طوله حوالي 60 سم, فروعه كثيرة رفيعة السمك, لونها أحمر, والأوراق معنقة لونها أخضر من السطح العلوي, وأبيض من السطح السفلي لوجود الأوبار الكثيفة, الأزهار صغيرة جدا, توجد في نورات طرفية أو جانبية, وشكلها بيضاوي, لونها أبيض مصفر.

I.6.4.2.1.2 شيح ماريتما Artemisia Maritima:

في مراجع أخرى يسمى الشيح البحري, وينتشر هذا النوع في غرب أوروبا و أواسط آسيا, ويحتوي هذا النبات بالإضافة إلى السانتونين على مادة تسمى آرتمزين "artimisin" وهذه المادة ليست لها مفعول طبي مسجل بحثيا .

I.7.4.2.1.1 شيح الترجون Artemisia dracunculus:

يسمى أيضا حجر الحية ويعتبر هذا النبات من ضمن مجموعة نباتات التوابل أكثر منه نباتا طبيا, يزرع في فرنسا للحصول على زيته, يحتوي على مادة السانتونين ويستعمل طبيا.

I.8.4.2.1.2 شيح الزينة Artemisia chamissiparaissus:

يزرع هذا النبات في الحدائق للتزين, فأوراقه خضراء اللون لها رائحة عطرية جميلة ولا يحتوي على مادة السانتونين [38,34].

I.5.2.1.2 الأجزاء المستعملة:

عادتا ما يستعمل هذا النبات كاملا ماعدا الجذور [24].

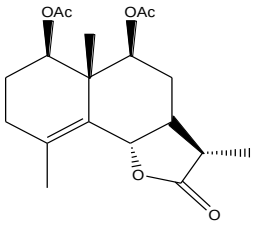
I.6.2.1.2 دراسات سابقة على نبات الشيح:

تمكن العلماء بعد إجراء العديد من الدراسات والتجارب على مختلف أجزاء نبات الشيح من الكشف عن وجود الفلافونويدات بمختلف أنواعها وكذلك المركبات الفينولية و الزيوت الأساسية وتحديدا في الأجزاء الهوائية من هذا النبات كالأوراق والسيقان والأزهار.

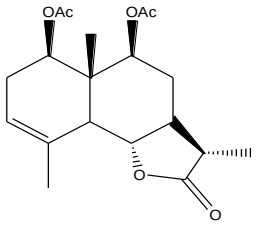
*** السيسكوتربينات متعدد الحلقات Sesquiterpene lactones:**

يحتوي نبات الشيح على هذا النوع من التربينات وتختلف نسبة وطبيعة هذه المركبات حسب المنطقة وفي مايلي بعض الأمثلة:

- الجزائر Algerian:

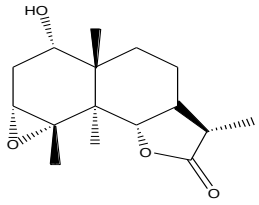


1β,9β-Diacetoxyeudesm-4-en-6β,11βH-12,6-olide

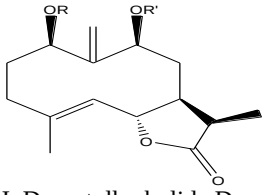


1β,9β-Diacetoxyeudesm-3-en-6β,11βH-12,6-olide

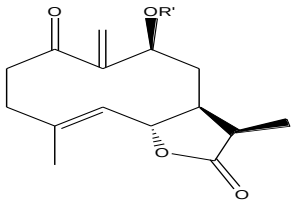
- المغرب Marocain:



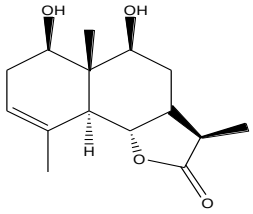
Herbalbin



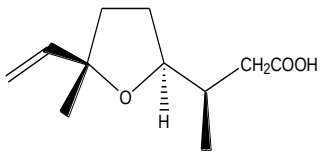
R =R` = H, Deacetylherbolide D
R = H, R` = Ac, 1b-Hydroxy-9b-acetoxygermacra -4,10(14)-dien-6b,11bH-12,6-olide



R = H, 1-Oxo-9β-Hydroxgermacra-4,10(14)-dien-6β,11βH-12,6-olide
R = Ac, 1-Oxo-9β-Acetoxygermacra-4,10(14)-dien-6β,11βH-12,6-olide



1β,9β-Dihydroxyeudesm-3-en-5α,6β,11βH-12,6-olide

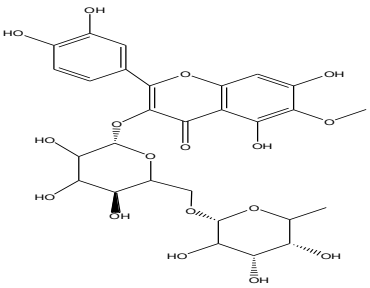


(3 R,4S,7R)-3,7-Dimethyl-4,7-epoxynon-8-enoic acid

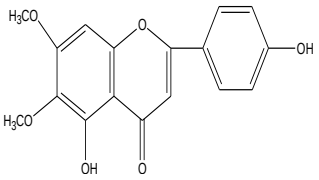
الشكل رقم I. 19: الصيغ الكيميائية للسيسكوتربينات المتواجدة في نبات الشيح [39,35].

*** الفلافونويدات Flavonoids:**

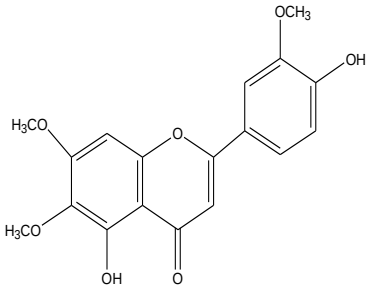
تم الكشف عن وجود العديد من الفلافونويدات في نبات الشيح ومنها:



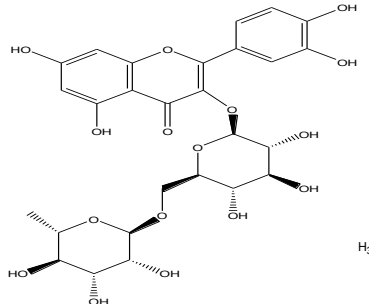
Patuletin 3-rutinoside



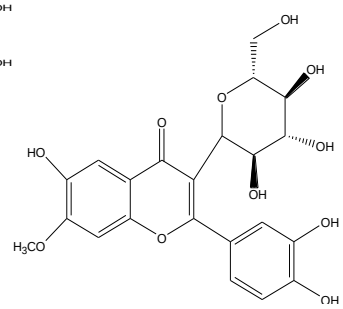
cinimaritin



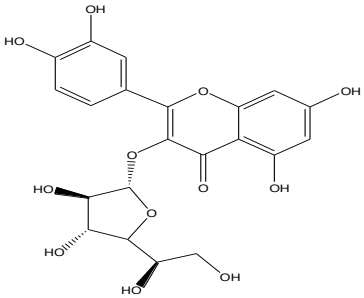
(5,4'- Dihydroxy-6,7,3'-trimethoxyflavone)



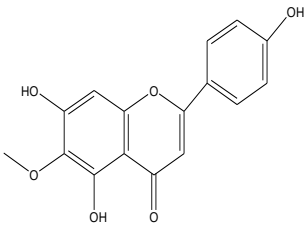
Patuletin 3-glucoside



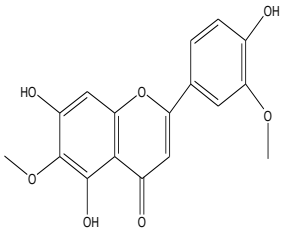
Quarcetin 3-rutinoside



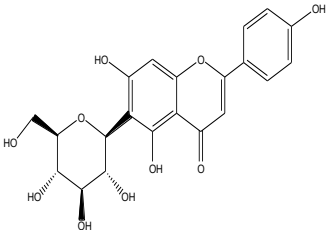
Quercetin 3-glucoside



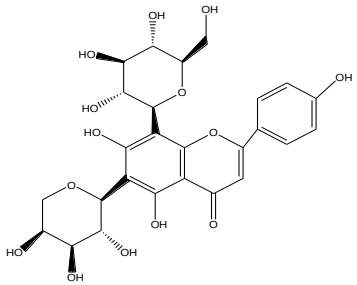
hispidulin



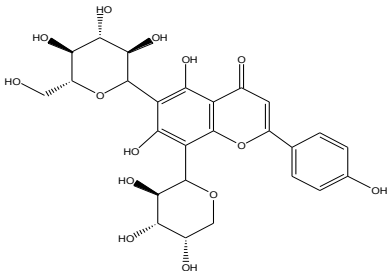
jaceosidin



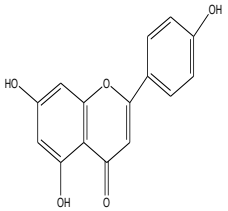
Isovitexin



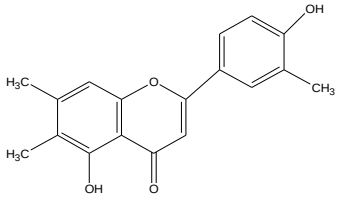
Isoschaftoside



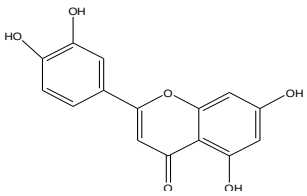
Schaftoside



Apigenin (5,7,4′-Trihydroxyflavone)



Cirsilineol



luteolin (5,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone)

الشكل رقم I. 20: الصيغ الكيميائية لفلافونويدات نبات الشيح [40,35].

*** المركبات الفينولية والشموع Phenolic compounds and waxes:**

اعتمادا على المعالجة الكيميائية لنبات الشيح تم الكشف عن المركبات الفينولية الموجودة في هذه النبتة وخاصتا حمض الكلوروجينيك الذي تشتهر به نباتات العائلة المركبة, حيث بينت الدراسات أنه يحتوي على ثمانية مركبات من نوع متعدد الفينولات polyphenolics والتي اشتملت على:

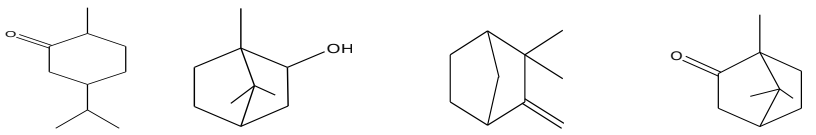
- chlorogenic acid حمض الكلوروجينيك
- 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acid
- isofraxidin 7-*O*-β-D-glucopyranoside
- 4-*O*-β-D-glucopyranosylcaffeic acid
- rutin, schaftoside, isoschaftoside, vicenin-2 [35, 41].

كما يحتوي نبات الشيح على حموض مشبعة عدد ذرات الكربون فيها ما بين C16-32 وكذلك كربوهيدرات مشبعة عدد ذرات الكربون فيها ما بين C16-26 [42].

*** الزيوت الأساسية Essential oils:**

يحتوي نبات الشيح على زيوت طيارة لها تركيب كيميائي مختلف من منطقة إلى أخرى حيث يحتوي شيح الجزائر على (19.4%) thujones, camphor -α/β , 1,8-cineole. [43-44] ويحتوي أيضا على نسبة (3%) camphene, (3.6%) borneol, davana ether (8.8%). [39,45] بالإضافة إلى davanone (36.1%), (16.9%) trans-pinocarveol, (15.8%) chrysanthenone, كما يحتوي أيضا على كحول السانتونين Santolina alcohol [46].

المركبات أحادية التربين Monoterpenoids هي المكونات الأساسية لهذا الزيت وتتواجد بنسبة (86.1%) وهناك مركبات أخرى تتواجد فيه بنسبة (3.1%) [51]. مثل (*Z*)-jasmone وxanthoxylin دلت عليها عدة دراسات [50,48,47].



β-thujones borneol camphene Camphor

الشكل رقم I.21: صيغ بعض الزيوت الأساسية لنبات الشيح [46,51].

7.2.1.2.I الاستعمالات العلاجية:

يستعمل نبات الشيح منذ القدم في الطب التقليدي لمداواة عدة أمراض منها:

- تناوله عن طريق الفم لعلاج المغص المعوي و التقلصات الداخلية و كذلك لطرد الديدان الصغيرة في الأمعاء.
- يستعمل كعلاج لمرض الصفراء والبول السكري.
- يساعد في التام الجروح والحروق, خاصتا إذا استعمل العشب الجاف.
- كما يساهم في تنظيم ضربات القلب وتنشيط الدورة الدموية مما يخفض درجات الحرارة الناتجة عن أمراض الحمى [51,36].

استخدم الإنسان هذا النبات في صناعة أنواع من المشروبات التي تستهلك بشكل يومي في مناسبات عدة [2].

أثبتت دراسات حديثة إن لنبات الشيح عدة نشاطات أخرى ومن أهمها:

- **نشاطية المضادة للسموم Anti-venom activity:** تم دراسة تأثير المستخلص المائي لـ 12 نوع من النباتات الطبية على بعض أنواع السموم للثعابين والعقارب, لدراسة النشاط التثبيطي المحتمل ضد السموم, فكانت النتائج المتحصل عليها أن 6 أنواع نباتية قامت بتثبيط نشاط كل السموم بنسب متفاوتة, بينما كان لنبات الشيح أعلى نسبة تثبيط 100% [35].

- **نشاط مضاد للبكتيريا Antibacterial activity:** يملك نبات الشيح نشاطية تثبيطه ضد البكتيريا إيجابية الغرام Gram-positive bacteria بما في ذلك بكتيريا الأميبة الحالة للنسيج والمكورات العنقودية وكذلك البكتيريا سلبية الجرام Gram-negative bacteria بما في ذلك بكتيريا الإشيريشيا كولي والسالمونيلا ويعود ذلك لاحتواء نبات الشيح على كحول السانتونيس santolina alcohol وهي المادة المسؤولة عن التأثير البيولوجي طبيًا وذلك بتركيز 1-2 mg/ml [52-54].

- كما يمللك نبات الشيح فعالية تثبيطية ضد العديد من الفطريات Antifungal activity ويعتبر مضاداً للأكسدة Antioxidant activity [39].

- يفرز نبات الشيح مواد كيميائية سامة تعيق بدورها نمو بعض النباتات المحيطة به كالأعشاب الضارة و يسمى هذا النشاط بالتأثير الأليلوباتي andallelopathic activities [38].

3.I خلاصة الفصل الأول:

من خلال هذه الدراسة والتي هي عبارة عن دراسة نظرية للنباتات الطبية بصفة عامة, تعرفنا فيها على طبيعة المركبات الكيميائية الثانوية الفعالة المكونة لهذه النباتات, وبصفة خاصة قمنا بنفس الدراسة لنبات الحناء والشيح من خلال التعرف على مكوناتهما الكيميائية و الأهمية الطبية لهما.

وسنتطرق في الفصل الثاني كما سبق وأن ذكرنا إلى دراسة نظرية حول البكتيريا المرضية وذلك من حيث التصنيف والأنواع والشكل والأمراض المتسببة فيها.

الفصـــل الثانـي: عموميات حول البكتيريا .

الفصل الثاني: عموميات حول البكتيريا

1.II مقدمة:

الميكروبات أو الجراثيم هي كائنات دقيقة وحيدة الخلية تعيش في كل مكان من سطح الأرض, تتواجد في المياه والتراب, كما تتواجد في جسم الإنسان فمنها المفيدة ومنها الضارة. تشمل بعض الطحالب وكذا الفطريات, البكتيريا, الفيروسات [55].

قام الكيميائي الفرنسي لويس باستور بدراسة هذه الكائنات الدقيقة. وإختصى بدراسة علم البكتيريا وأرسى أساسا له (bactériologie), حيث تدرج هذا العلم من بداياته الأولى في العقدين السابع والثامن من القرن 17 بتعرف العالم الهولندي غير المحترف أنطوان فان ليفنهوك (1632-1723) على البكتيريا لأول مرة [56]. واعتقد العلماء لعدة سنوات أن البكتيريا نشأت من مادة غير حية ولكن أثبت الكيميائي الفرنسي لويس باستور في أواخر القرن التاسع عشر (1859) أن الكائنات الحية فقط هي التي يمكنها أن تُنتج كائنات حية أخرى، ليتم اكتشاف البكتيريا الهوائية واللاهوائية.

بعد ذلك أسهم العالم الألماني روبرت كوخ وهو طبيب معاصر لباستور في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا.

كما أن الإكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورًا هاماً في كثير من المجالات كالصناعات الدوائية و الغذائية والمعالجة الحيوية لمختلف المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وكذلك التخلص من المواد العضوية وغير العضوية و معالجة المياه [57].

2.II تعريف البكتيريا:

البكتيريا (Bacteria) كائنات حية دقيقة مجهريه بدائية النوى بسيطة تحتوي على خلية واحدة، وتُعتبر من أصغر الكائنات الحية, يتراوح قطر معظمها ما بين 0,3 و 2 ميكرون. [58]

3.II خصائص البكتيريا:

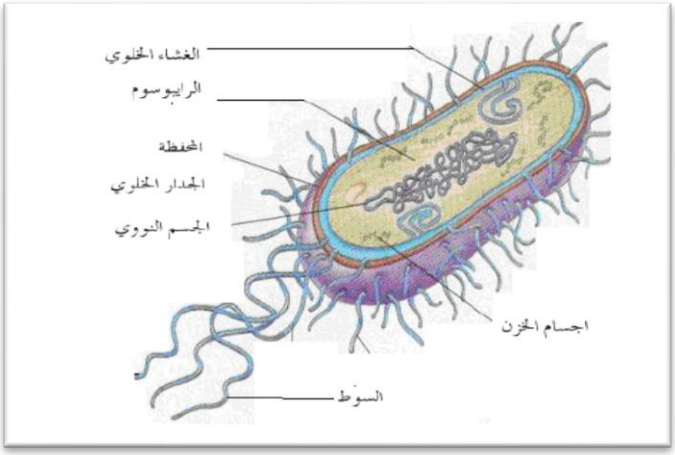
1.3.II تسمية البكتيريا:

يتشكل اسم البكتيريا من مقطعين بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس والمقطع الثاني إلى النوع. وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في (Staphylocoque), (Streptocoque) أو اسم المكتشف مثل (Escheriche) E.coli.

بينما النوع فقد يشير إلى المرض كما هو الحال (Cholerae), (Vibrio Cholerae) أو مكان عزلها كما هو الحال في (E.coli) تعزل في (un col) أو قد يحمل صفات اللون مثل (Staphylococcus aureus) Aureus أي ذهبية.

2.3.II بنية البكتيريا:

تحيط بجميع أنواع البكتيريا طبقة واقية تسمى جدار الخلية، يعطي جدار الخلية البكتيريا شكلها ويساعدها على العيش في بيئات متعددة، يحيط ببعض أنواع البكتيريا إضافة إلى ذلك حافظة وهي طبقة لزجة خارج جدار الخلية (يكون للخلية البكتيرية كحد أقصى ثلاث طبقات وتمتد أسواطا تشبه الشعر من خلال الطبقات وتساعد البكتيريا على الحركة) وتجعل هذه الحافظة الخلية مقاومة للمواد الكيميائية الفتاكة. كما يوجد داخل الغشاء السيتوبلازم وهي مادة رخوة تشبه الهلام، تحتوي على مواد كيميائية كثيرة تسمى الإنزيمات تساعد على تحلل الطعام وبناء أجزاء الخلية، كما تحتوي خلايا البكتيريا مثل جميع الكائنات الحية على ADN (الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين) الذي يتحكم في نمو الخلية وتكاثرها وجميع النشاطات الأخرى، يشكل ADN الخلية البكتيرية منطقة من السيتوبلازم تسمى الجسم النووي. وفي جميع الكائنات الحية الأخرى ما عدا الطحالب الخضراء المزرقه يوجد ADN داخل النواة.



الشكل رقم 22.II: رسم توضيحي لبنية البكتيريا.

4.II مبادئ تصنيف البكتيريا:

1.4.II من حيث الشكل:

يقسم العلماء البكتريا تبعاً لشكلها عادتا إلى أربع مجموعات وهي:

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.

هناك عدة مبادئ تمكننا من التعرف على مختلف أنواع البكتيريا و تصنيفها ومن أهمها:

2.4.II حسب الوسط الذي تعيش فيه:

1- **بكتيريا هوائية (Aerobie)**: وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية ومن أمثلتها Neisseria.

2- **بكتيريا لاهوائية (Anaerobie)**: يعيش و ينمو هذا النوع من البكتيريا فقط في غياب الهواء، ومن أمثلتها Clostridium.

3- **بكتيريا لاهوائية اختيارية (Facultative Anaero)**: وهي البكتيريا التي يمكنها العيش و النمو في وجود الهواء الجوي أو عدمه [57].

3.4.II من حيث التغذية:

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

2- بكتيريا عضوية التغذية: و هي البكتيريا التي تستخدم الكربون المحلل من السكر للنمو. [60,59]

4.4.II من حيث توزيع أسواطها:

1- بكتيريا أحادية السوط .

2- بكتيريا متعدد السوط: - متجمعة في جهة واحدة.

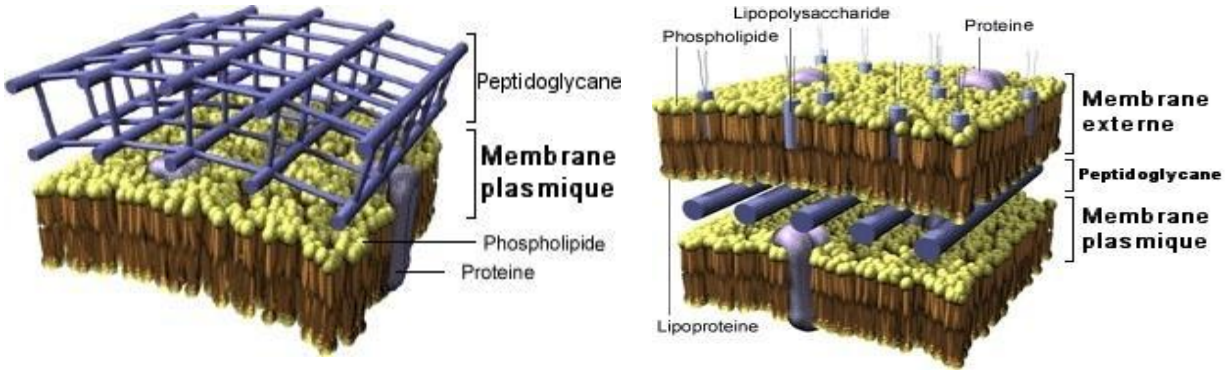
- موزعة على كل الخلية.

5.4.II تصنيف البكتيريا حسب صبغة الغرام Gram:

يوضح الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفسفولبيدات Phospholipids وهذا ما لا نجده في البكتيريا موجبة الغرام, ونتيجة لهذا الفرق تعطي البكتيريا ألوان مختلفة مع صبغة الغرام, وذلك حسب تقنية غرام (GRAM) التي اكتشفها العالم J.GRAM سنة 1884, حيث أن البكتيريا موجبة الغرام تحافظ على لون الكاشف بينما البكتيريا سالبة الغرام تتلون باللون الوردي [61 -63].

والشكل التالي يوضح الفرقبين البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام:

BACTERIE GRAM + **BACTERIE GRAM -**



الشكل رقم II.23: توضيح التركيب البنيوي للبكتيريا سالبة الغرام وموجبة الغرام [57].

II.4.6 حسب التأثير على الإنسان:

II.4.6.1 البكتيريا النافعة Bénéficial bactérie:

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة. فالبكتيريا التي تعيش في أمعاء الإنسان تساعده على هضم الطعام. والقضاء على الكائنات الحية الضارة كما تفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات الضرورية للجسم.

وتلعب البكتيريا التي تعيش في التربة دورًا هاما في غذاء النبات، إذ تقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أولي، يستطيع من خلاله النبات أن يكون البروتين، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، كذا المواد العضوية المعقدة بتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان.

كما تتسبب أنواع عديدة من البكتيريا في عملية كيميائيةٌ تسمى التخمّر، تُستخدم في صنع المشروبات الكحولية والجبن والعديد من الأطعمة الأخرى .وتَستخدِم محطات معالجة الصرف الصحي البكتيريا لتنقية المياه، كذلك تُستخدم البكتيريا في صنع بعض الأدوية [64].

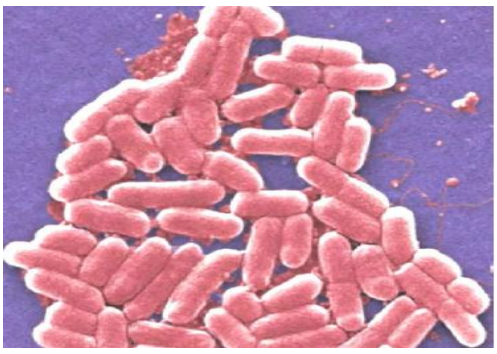
II.4.6.2 البكتيريا الضّارة Bactéries nocives:

تسبب هذه الأنواع من البكتيريا أمراض للبشر. وتشمل هذه الأمراض الكوليرا والسيلان والجذام والإلتهاب الرئوي و الدرن الرئوي وحُمى التيفوئيد والسعال الديكي. وتدخل للجسم عن طريق الفتحات الطبيعية، مثل فتحة الأنف أو الفم، أو عبر شقوق في الجلد, إضافة لذلك يحمل الهواء والطعام والماء،

البكتيريا من شخص إلى آخر. تمنع البكتيريا الضارة الجسم من أداء وظيفته كما ينبغي عن طريق تحطيم الخلايا السليمة. [64] ومن بين هذه البكتيريا الضارة نذكر مايلي:

1.2.6.4.II بكتيريا الإشيريشيا كولي *Esherichia coli*:

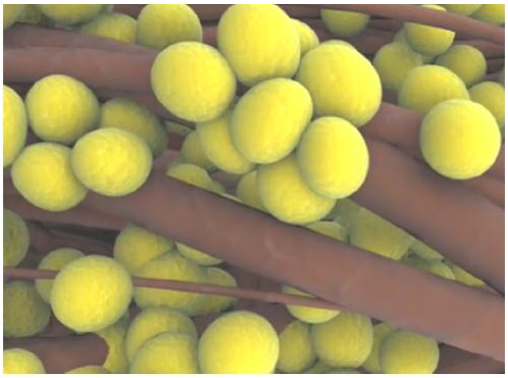
وهي ميكروب عصوي, سالب الغرام, اختياري للهواء يخمر سكر اللاكتوز مع إنتاج حامض وغاز ينتمي إلى مجموعة بكتيريا القولون وإلى عائلة *enterobactériacea* وتوجد هذه البكتيريا في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان كما أنها تتسبب في أمراض الجهاز البولي, إلتهاب السحايا وتسمم الدم وكذلك الإسهال الحاد القاتل, فهي تسكن الأمعاء وتهاجم الأغشية المبطنة [65].



الشكل رقم II.24: Esherichia coli ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني [5].

2.2.6.4.II البكتيريا العنقودية *Staphylococcus aureus*:

هي نوع من البكتيريا موجبة الغرام, كروية الشكل تنتمي إلى العائلة *staphylococcus* ذات لون أصفر براق، عديمة الحركة، تتجمع في شكل عناقيد يتراوح قطرها من 0.8-1 ميكرومتر، تتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه, وهي موجودة أيضا في الماء, الهواء, التراب [67,57].



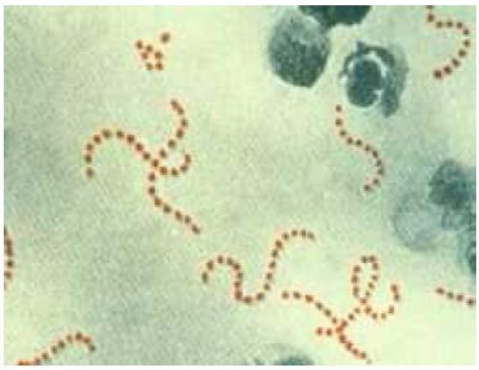
الشكل رقم II.25: Staphylococcus ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني [67].

البكتيريا العنقودية اختيارية الهواء وتملك القدرة على تحليل كريات الدم الحمراء, كما يمكنها إفراز سموم بالجسم الموجودة فيه أو في بيئة النمو, تتسبب في عدوى المستشفيات, مما يؤدي إلى التهابات الرئتين، خراريج المخ، أمراض السحايا، تسمم الدم، وغيرها من أمراض قاتلة.

II.4.6.2.3 البكتيريا السبحية *streptococcus*:

هي ميكروب ينتمي إلى بكتيريا كروية الشكل cocci موجبة لصبغة الغرام, اختيارية للهواء طولها يتراوح مابين 0.5-1 ميكرومتر, توجد منها عدة أنواع منها غير مسببة للأمراض مثل: *strep milleri, strep miltis , strep sanguis* حيث تتواجد هذه الأنواع على مستوى الفم والبلعوم وكذلك الأمعاء على شكل بكتيريا معوية entérocoque.

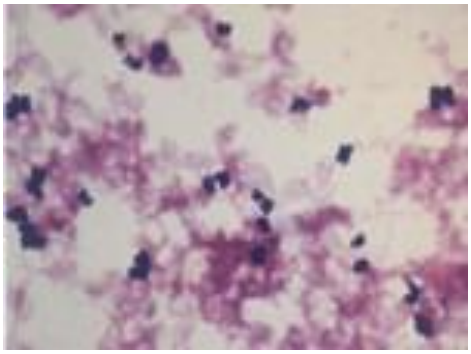
كما توجد بعض الفصائل الممرضة *pathogénes* مثل: *streptococcus Pyogenes, streptococoous agalactiae* التي تسبب أمراض اللوزتين وبعض الإلتهابات القصبات الرئوية وكذلك الروماتيزم و التهاب السحايا عند المواليد الجدد [68].



الشكل رقم II.26: streptococcus ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني [68].

II.4.6.2.4 بكتيريا *Staphylococcus epidermidis (Staphylocoque blanc)*:

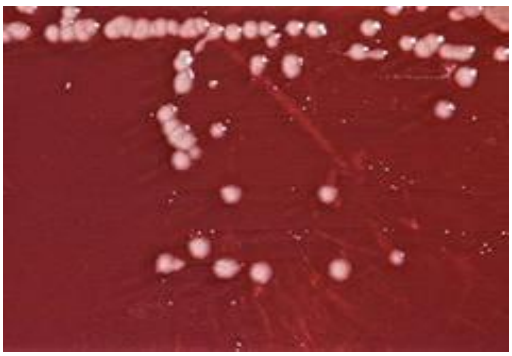
وهي بكتيريا مخاطية تنتمي إلى عائلة staphylococcus, موجبة الغرام, عنقودية تتواجد على مستوى الجلد وفروة الرأس, لها القدرة على هظم الدهون حيث تتغذى من مادة زيتية تنتج عن طريق الجلد, كما أنها بكتيريا انتهازية وممرضة في حالة نقص المناعة مما تتسبب في عدوى المستشفيات وتشمل إلتهاب العظام والتقي, إلتهاب السحايا, إلتهاب الكلى وتعفن الدم [69,62,57].



الشكل رقم II.27: Staphylococcus epidermidis ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني.

II.4.5.2.5 بكتيريا *Pseudomonads*:

بكتيريا سالبة الغرام, هوائية, تتواجد في المياه وهي على شكل قضيب وسهلة الإنتشار في الطبيعة وخاصتا في البيئات الرطبة. منها الزائفة الزنجارية *pseudomonads aeruginosa*, تتسبب في عدوى المستشفيات عند الأشخاص الذين يعانون من ضعف أنظمة الدفاع المناعي خصوصا الإلتهابات الرئوية في التليف الكيسي, إلتهاب الشفاف عند مدمني المخذرات, إلتهاب المسالك البولية و تعفن الدم [59,57].



الشكل رقم II.28: pseudomonads aeruginosa ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني [57].

II.5 مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

إن أكثر الأشياء التي تجلب الإنتباه إلى عمل البكتيريا هي المقاومة, نظرا لكونها المسؤولة عن نسبة الوفيات الناتجة عن الأمراض الوبائية إضافة إلى الخسائر المادية للنظام الصحي للبلدان, فهي تشكل أكبر مشكل صحي على وجه الأرض حتى الآن [59].

هناك نوعان من المقاومة:

1.5.II المقاومة الطبيعية:

وهي المقاومة التي تبديها الميكروبات بشكل طبيعي لأي مضاد حيوي ومن الأمثلة على ذلك احتواء الجدار الخلوي لـ Colibacille على غشاء غير نفوذ للبنسيلين G وV مما يعني إنها مقاومة لهذين المضادين الحيويين.

2.5.II المقاومة المكتسبة:

يكون الميكروب مقاوما عندما يمكنه أن ينمو في وجود تركيز من المضاد الحيوي أعلى من التركيز الذي من المعتاد إن يثبطه.

إن اكتساب الميكروب للمقاومة يتم بطريقتين:

* طفرة في الصبغيات: وهي نادرة وغير متعلقة بالمضاد الحيوي.

* اكتساب مورثة قادرة على تركيب إنزيمات موفقة لعمل المضاد الحيوي, المقاومة بهذه الطريقة تكون متعددة إلى عدة أنواع من المضادات كما أنها تنتقل إلى الأجيال التالية وهذا ما يفسر ظهور عدد كبير من البكتيريا المقاومة [60].

6.II دراسة حساسية الميكروب:

لدراسة حساسية الميكروب اتجاه المضاد الحيوي تستخدم طريقتين:

1.6.II دراسة فعالية المضاد الميكروبي:

وهي تدرس مدى حساسية الميكروب للمضاد الحيوي بدلالة الزمن وبدلالة التركيز, وهذا برسم المنحنيين الأول يسمى منحنى النمو حيث عدد البكتيريا بدلالة الزمن (ساعات) والثاني نسبة التثبيط بدلالة تركيز المضاد الحيوي ويحدد من المنحنيين التركيز الأدنى للتثبيط CMI وتحديد التركيز الأدنى القاتل للبكتيريا CMB.

وتوجد عدة طرق لقياس التزايد البكتيري كقياس الوزن الجاف, قياس نسبة استهلاك البكتيريا للمواد العضوية والأوكسجين.

2.6.II طريقة الانتبيوغرام القياسي L'antibiogramme:

وهي طريقة تحليلية لتحديد مدى فعالية المضاد الحيوي على الميكروب و تنقسم إلى طريقتين:

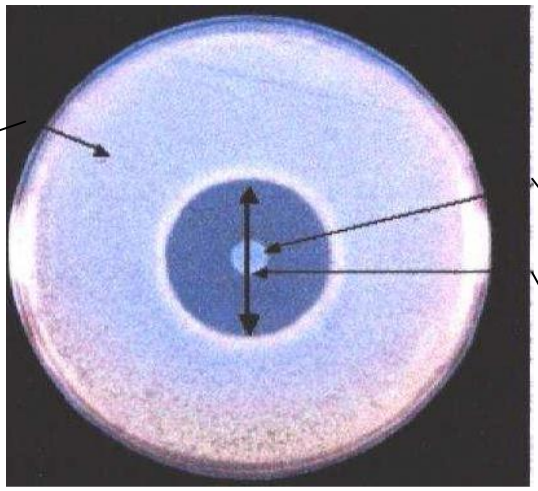
1.2.6.II طريقة التمديد Méthode de dilution: والتي تتم على وسط سائل أو صلب, وهي صعبة التطبيق في حالة التحليل الروتيني.

2.2.6.II طريقة الإنتشار Méthode de diffusion: وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز gélose وأهم وسط جيلوزي هو وسط Hilton Muller, نسبة للباحث الذي حضره Hilton Muller عام 1941, والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، وتحديد التركيز الأدنى للتثبيط CMI (وهو أقل تركيز يبدأ عنده تثبيط نمو البكتيريا) ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية:

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي, يسكب بكميات محددة في علب بتري، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمه منه في الماء الفيزيولوجي، ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي), تدخل العلب الحاضنة للتجفيف، بعدها توضع أقراص الاختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته، ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة 37ºم لمدة 18سا-24سا.

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي، نقيس قطر منطقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا وكنتيجة لهذا الاختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي ويمكن القول أن:

- عندما يكون قطر الكبت أقل من 8 ملم يمكن القول بأن البكتيريا غير حساسة للمستخلص (-).
- عندما يكون قطر الكبت مابين 9- 14 ملم يمكن القول بأن البكتيريا حساسة للمستخلص (+).
- عندما يكون قطر الكبت مابين 15- 19 ملم يمكن القول بأن البكتيريا حساسة جد للمستخلص (++).
- عندما يكون قطر الكبت أكبر من 20 ملم يمكن القول بأن البكتيريا حساسة للغاية للمستخلص (+++) [70].



الشكل رقم II.29: الأنتيبيوغرام بعد الحضن و طريقة قياس قطر منطقة التثبيط [5].

7.II خلاصة الفصل الثاني:

من خلال هذه الدراسة والتي هي عبارة عن دراسة نظرية للبكتيريا المرضية والتي تعرفنا من خلالها على أنواع وتصنيف وشكل هذه البكتيريا وبعض الأمراض التي تتسبب فيها.

وسنتطرق في الفصل الثالث إلى دراسة الفعالية الحيوية لمزيج من مستخلص نبات الحناء *Lawsonia inermis* والشيح *Artemisia herba alba* بالمذيبات العضوية ضد كل من البكتيريا: *Staphylococcus epidermidis ,Escherichia coli ,Pseudomonads.*

الفصـــل الثالث: تأثير المستخلصات النباتية على بكتيريا الاختبار.

الفصل الثالث: تأثير المستخلصات النباتية على بكتيريا الإختبار

1.III القسم الأول: تحضير المستخلصات النباتية:

1.1.III جمع العينات:

- جمع نبات الجناء خلال شهر ديسمبر من منطقة الدبيلة لولاية الوادي بينما تم جمع نبات الشيح من منطقة الجُبْ ناحية بلدية بوسعادة بشهر جانفي.
- تم تجفيف النبات في الظل وذلك ببسطه ليشكل طبقة رقيقة تضمن دخول الهواء، كما يتم تقليب النبات من حين لآخر لضمان التجفيف الجيد و منع التخمر في حالة الرطوبة العالية.
- بعد تجفيف العينات تم حفضها في أكياس نضيفة وجافة إلى حين استخدامها في الدراسات الكيميائية والميكروبية.

2.1.III الإستخلاص:

بما أن الهدف من العمل هو دراسة الفعالية البيولوجية (ضد البكتيريا) لمستخلاصات فإن المستخلصات النباتية تم الحصول عليها بمذيبان مختلفان على التوالي كحول الإيثانول éthanol 100% كمذيب قطبي والسيكلوهكسان cyclohexane 100% كمذيب لاقطبي.

والجدول التالي يوضح خصائص المذيبات المستعملة:

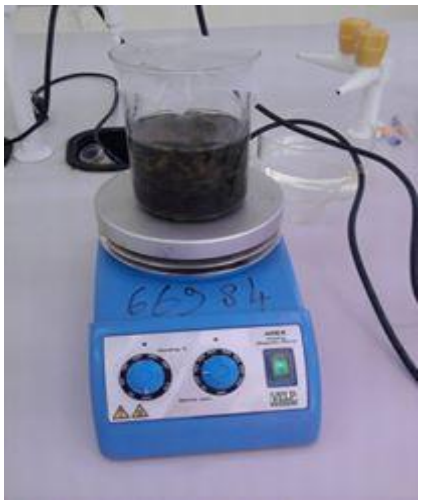
الجدول رقم 5.III: يوضح خصائص المذيبات المستعملة.

الخصائص / المذيبات المستعملة	الكتلة المولية (غ/مول)	درجة الغليان (C^o)	درجة النقاوى (%)	الكثافة ($غ/سم^3$)	القطبية
éthanol C_2H_6O	46.07	78.4	99.80	0.789	5.2
cyclohexane C_6H_{12}	84.16	81	99	0.78	0.2

حيث كانت عملية الاستخلاص عبر طريقتين:

1.1.2.III الاستخلاص على البارد:

أخذنا في هذه الطريقة 15غ من مسحوق المادة الجافة لكل من نباتي الحناء والشيح وقمنا بوضعها في بيشر سعتة 600 ملل مع اضافة 350 ملل من المذيب (الإيثانول, السيكلوهكسان) وتركت التجربة في النقع لمدة 24 ساعة فوق جهاز الخلاط المغناطيسي ليساعد في عمليه الاستخلاص.



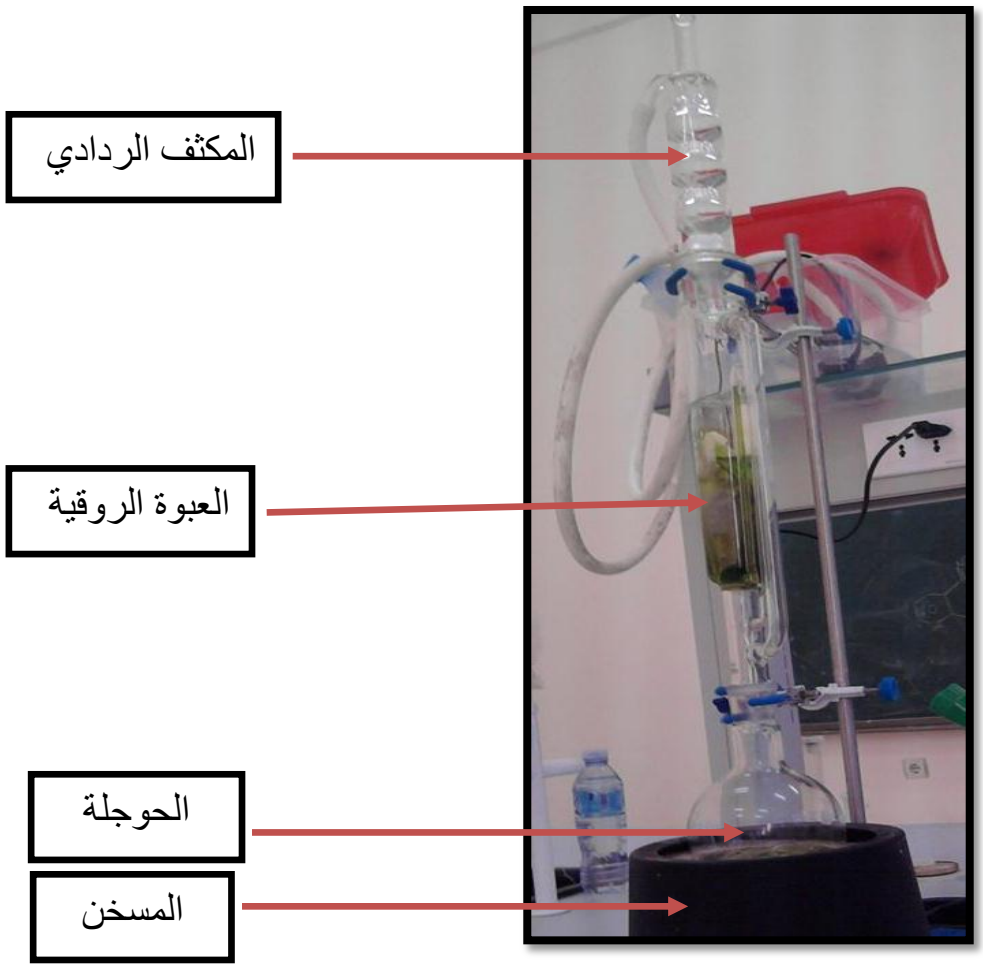
الشكل رقم III.30: توضيح عملية النقع لنبات الحناء في الإيثانول.

بعد ذلك قمنا بترشيح المزيج باستخدام ورق الترشيح و وضع المحلول الناتج في جهاز المبخر الدوار *Rotary Evaporator* لتبخير مذيب (الإيثانول أو السيكلوهكسان) والحصول على المستخلص المراد تحضيره.

***الشكل رقم III.31: جهاز المبخر الدوار* Rotary Evaporator.**

2.2.1.III الاستخلاص على الساخن:

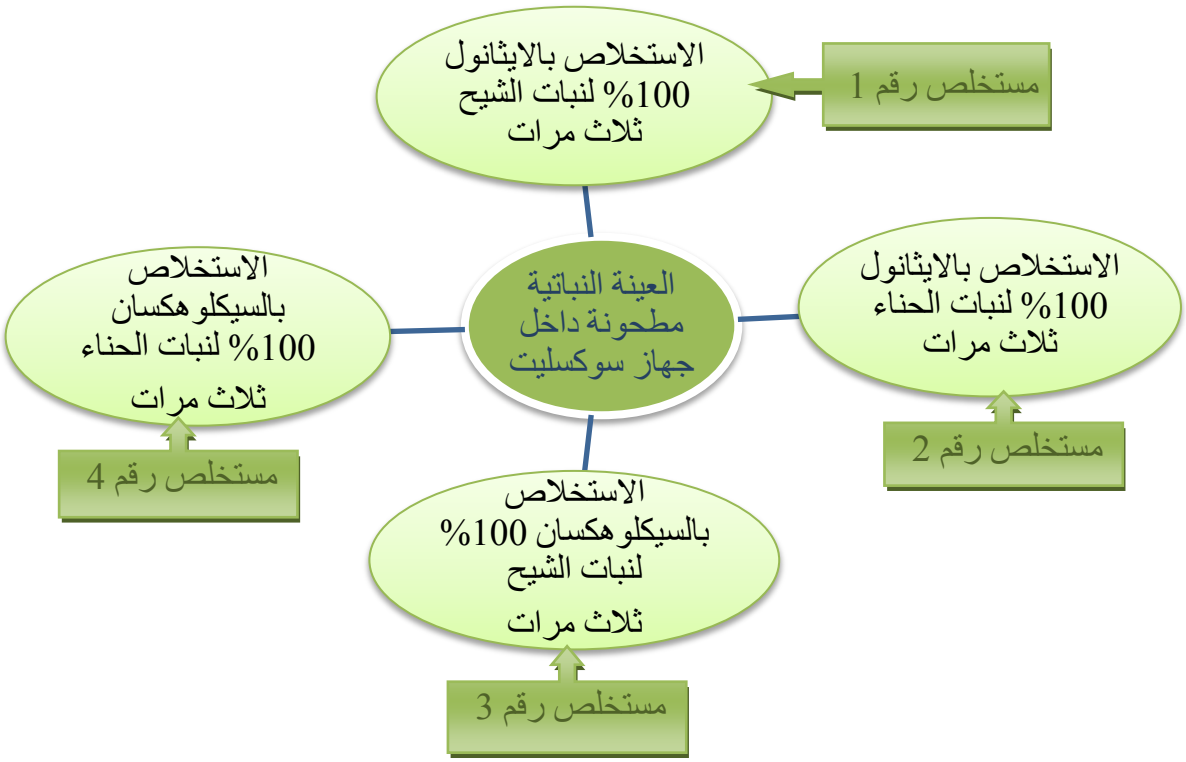
وكانت هذه الطريقة من خلال استخدام جهاز سوكسليت Soxhlet 250mL.



الشكل رقم 32.III:توضيح عملية الاستخلاص لنبات الشيح بجهاز سوكسليت Soxhlet في الإيثانول.

بعد طحن العينة, نزن كتلة من النبات مقدارها 15غ بواسطة الميزان الإلكتروني، ثم نفرغها داخل عبوة جهاز سوكسيلت (ورق ترشيح سميك) والتي تتميز بوجود مسامات تسمح بمرور المذيب للاستخلاص وحجز مسحوق النبات، ثم ندخل العبوة بالجهاز، نوصله بحوجلة كروية بها حجما من المذيب 350 ملل (الإيثانول أو السيكلوهكسان)، وفي الأخير نضع تجهيز سوكسيلت فوق المسخن الكهربائي, كما يجب الإنتباه إلى درجة حرارة المسخن و التي تضبط عند درجة غليان المذيب. حيث يتلخص مبدأ عمل جهاز سوكسيلت في تسخين المذيب الموجود في الحوجلة حتى الغليان ليصعد البخار عبر قناة خاصة يتم تكثيف البخار بمكثف ردادي لينزل إلى الغرفة الرئيسية أين يتم نقع النبات على الدافئ لمدة زمنية تحدد بمستوى، عند وصوله يعاود المذيب الرجوع إلى الحوجلة ساحبا معه المواد الكيميائية المذابة فيه، هكذا نقول عن المذيب أنه أنجز دورة كاملة، في الدورة الثانية يتبخر المذيب لعاود غسل النبات، نترك التجهيز يشتغل لثلاث دورات أو أكثر مع كل مذيب ولكل عينة.

كما توضحه الصورة:



الشكل رقم III.33: مخطط الاستخلاص على الساخن لنبات الحناء والشيح.

بعد اتمام عملية الاستخلاص قمنا بتبخير مذيب (الإيثانول أو السيكلوهكسان) بجهاز المبخر الدوار *Rotary Evaporator*.

وكانت كتل المسخلصات المتحصل عليها كما هي في الجدول التالي:

الجدول رقم III.6: يوضح نتائج وزن مسحوق المستخلصات الصلبة.

المذيب/ النبات	نبات الحنـــــاء		نبات الشيـــــح	
	البارد m(g)	الساخن m(g)	البارد m(g)	الساخن m(g)
الإيثانول	(a) 4.4078	(b) 2.4668	(c) 1.3415	(d) 4.9557
السيكلوهكسان	(e) 0.2638	(f) 0.193	(g) 0.1539	(h) 0.1739

بعد إتمام عملية الاستخلاص لكل العينات, حسب ما ذكرنا سابقا, نزن كتلة كل مستخلص ناتج ونذيب كل كتلة في حجما قدره 20 ملل من المذيب الخاص, حيث حفضت المحاليل في الثلاجة إلى حين استخدامها.

ملاحظة: قمنا بإذابة الكتل في المذيب الخاص لكي لا يتلف المستخلص أو يتعفن.

3.1.III تحضير تراكيز المستخلصات النباتية:

لغرض تحضير التراكيز المستعملة في التجربة, والهدف من ذلك اختبار الفعالية البيولوجية لمزيج من مستخلص نبات الحناء ونبات الشيح بالمذيبات العضوية في بكتيريا الاختبار, قمنا بتحضير المحاليل كالتالي:

* نحسب تركيز كل مستخلص حسب العلاقة التالية:

$$C_m = m/v$$

مثلا: حساب تركيز المحلول رقم 1.

$$C_{m1} = 4.4078/(20 * 10^{-3}) = 220.39 \text{ g/l}$$

وتحسب باقي التراكيز بنفس الطريقة, والنتائج مدونة في الجدول التالي:

الجدول رقم III.7: يوضح التراكيز المحسوبة للمحاليل المحضرة.

المذيب/ النبات	نبات الحنـــــاء		نبات الشيـــــح	
	البارد C(g/l)	الساخن C(g/l)	البارد C(g/l)	الساخن C(g/l)
الإيثانول	(a) 220.39	(b) 123.34	(c) 67.075	(d) 247.79
السيكلوهكسان	(e) 13.19	(f) 9.765	(g) 7.695	(h) 8.965

* تحضير مزيج من المستخلصات بحيث نمزج المستخلص (a) + (c)
(b) + (d)
(e) + (g)
(f) + (h)

1) **المزيج (a) + (c):**

$$C_{m\,a} = 220.39 \text{ g/l}$$

$$C_{m\,c} = 67.075 \text{ g/l}$$

بما أن تركيز المحلولين غير متساوي فإن:

$$C_{m\,a} / C_{m\,c} = 3.286$$

أي: $v_a * 3.286 = 20 * 3.286 = 65.72 \text{ ml}$

ومنه نمدد المحلول **(a)** من 20 ml حتى يصل حجمه 65.72 ml, وفي هذه الحالة يصبح تركيز المحلولين متساوي ومن هنا نستطيع المزج بينهما بنسب هي:

1- (80 %- 20%) حيث نأخذ 8ml من المحلول **(a)** الممدد ونأخذ 2ml المحلول **(c)**.
2- (60 %- 40%) حيث نأخذ 6ml من المحلول **(a)** الممدد ونأخذ 4ml من المحلول**(c)**.
3- (50 %- 50%) حيث نأخذ 5ml من المحلول **(a)** الممدد ونأخذ 5ml من المحلول**(c)**.
4- (40 %- 60%) حيث نأخذ 4ml من المحلول **(a)** الممدد ونأخذ 6ml من المحلول**(c)**.
5- (20 %- 80%) حيث نأخذ 2ml من المحلول **(a)** الممدد ونأخذ 8ml المحلول **(c)**.

2) **المزيج (b) + (d):**

$$C_{m\,b} = 123.34\ g/l$$

$$C_{m\,d} = 247.785\ g/l$$

بما أن تركيز المحلولين غير متساوي فإن:

$$C_{m\,d} / C_{m\,b} = 2.009$$

أي: $v_d * 2.009 = 20 * 2.009 = 40.18\ ml$

ومنه نمدد المحلول **(d)** من 20 ml حتى يصل حجمه 40.18 ml, وفي هذه الحالة يصبح تركيز المحلولين متساوي ومن هنا نستطيع المزج بينهما بفس النسب السابقة.

3) **المزيج (e) + (g):**

$$C_{m\,e} = 13.19\ g/l$$

$$C_{m\,g} = 7.695\ g/l$$

بما أن تركيز المحلولين غير متساوي فإن:

$$C_{m\,e} / C_{m\,g} = 1.714$$

أي: $v_e * 1.714 = 20 * 1.714 = 34.28\ ml$

ومنه نمدد المحلول **(e)** من 20 ml حتى يصل حجمه 34.28 ml, وفي هذه الحالة يصبح تركيز المحلولين متساوي ومن هنا نستطيع المزج بينهما بنفس النسب السابقة.

4) **المزيج (f) + (h):**

$C_{m\,f} = 9.765$ g/l

$C_{m\,h} = 8.965$ g/l

بما أن تركيز المحلولين غير متساوي فإن:

$$C_{m\,f} / C_{m\,h} = 1.089$$

أي: $v_f * 1.089 = 20 * 1.089 = 21.78$ ml

ومنه نمدد المحلول **(f)** من 20 ml حتى يصل حجمه 21.78 ml, وفي هذه الحالة يصبح تركيز المحلولين متساوي ومن هنا نستطيع المزج بينهما بنفس النسب السابقة.

كما كانت التراكيز المحضرة كما يلي:

الشكل رقم 34.III: صور التراكيز المحضرة.

2.III القسم الثاني: دراسة الفعالية الحيوية للمستخلصات.

1.2.III الأدوات والمواد المستعملة:

- المستخلصات المحضرة سابقا.
- الوسط المغذي Muller Hinton.
- علب بيتري وهي علب من البلاستيك شفافة.
- الحاضنة ويتم ضبط درجة الحرارة حوالي 37ºم.
- البكتيريا (وقد استخدمنا عدة أنواع).
- الأقراص: وهي أوراق بيفارد, قطرها حوالي 6 مم.
- مجموعة من الماسح القطني المعقم, بالإضافة إلى أنابيب الإختبار.

2.2.III طريقة العمل:

لمعرفة طريقة تحديد فاعلية المستخلصات النباتية ونوعية البكتيريا التي تبيدها اعتمدنا طريقة الإنتشار وهي من أكثر الطرق استخداما و إنتشارًا بحيث تعتمد على:

1.2.2.III تحضير الوسط الزراعي:

لتحضير الوسط الزراعي قمنا بإذابة محلول Muller Hinton,في حمام مائي تحت درجة حرارة 95ºC ليتحول من حالته المتجمدة إلى الحالة السائلة, ثم سكبنا منه حوالي 20ملل في كل علبة من علب البتري ويتم ذلك بوجود موقد بنزن لتجنب إتلاف الوسط من قبل البكتيريا. ثم تركت علب البيتري لمدة 10 دقائق حتى يجمد محتواها.

2.2.2.III تحضير المعلق البكتيري:

بعد تعقيم أنابيب الإختبار لمدة 15 دقيقة داخل الفرن أخذنا في كل مرة جذمة من البكتيريا بواسطة الماسح القطني المعقم ووضعناها في أنبوب إختبار يحتوي على 10ملل من الماء الفيزيولوجي ثم قمنا بالرج, بعدها أخذنا بنفس الماسح القطني المعقم القليل من المحلول المحضر وقمنا بالمسح على علب البيتري, التي تحتوي على وسط الزرع (بطريقة تتوزع فيها البكتيريا على كل العلبة) ثم تركناها لمدة وجيزة لتثبيت البكتيريا على الوسط.

3.2.2.III الزرع والحضن:

بعد أن ثبتت البكتيريا على علب البيتري قمنا بتوزيع الأقراص المشبعة بالمستخلص بواسطة ملقط (pince) على الوسط البكتيري مع ترك مسافات مناسبة بين القرص والآخر, بعدها وضعناها في الفرن للحضن تحت درجة حرارة 37ºم لمدة 24 ساعة, حيث توضعُ بشكل مقلوب لكي لا يتلف الوسط نتيجة الماء.

الشكل رقم 35.III: الحاضنة.

4.2.2.III طريقة القياس:

بعد مرور 24 ساعة من الزمن تكون قد ظهرت فعالية المستخلصات النباتية على البكتيريا, حيث تقدر حساسية البكتيريا عن طريق قياس قطر منطقة كبت التثبيط للتطور البكتيري بالمليمتر (mm).

النتائـــج والمناقشـــة.

3.III النتائج والمناقشة:

1.3.III النتائج:

بعد إجراء دراسة حساسية البكتيريا ضدّ المستخلصات النباتية المحضرة سابقا, تحصلنا على النتائج التالية:

الجدول رقم 8.III: حساسية البكتيريا لمزيج مستخلص الحناء والشيح بالسيكلوهكسان cyclohéxane على البارد.

نوع البكتيريا / التراكيز	%20g -%80e	%40g -%60e	%50g -%50e	%60g -%40e	%80g -%20e
Esherichia coli	---	---	---	---	---
Staphylocoque blanc	---	---	---	---	---
Pseudomonads	---	---	---	---	---

الجدول رقم 9.III: حساسية البكتيريا لمزيج مستخلص الحناء والشيح بالسيكلوهكسان cyclohéxane على الساخن.

نوع البكتيريا / التراكيز	$\%20_h$ -$\%80_f$	$\%40_h$ -$\%60_f$	$\%50_h$ -$\%50_f$	$\%60_h$ -$\%40_f$	$\%80_h$ -$\%20_f$
Esherichia coli	---	---	---	---	---
Staphylocoque blanc	---	---	---	---	---
Pseudomonads	---	---	---	---	---

الجدول رقم 10.III: حساسية البكتيريا لمزيج مستخلص الحناء والشيح بالإيثانول éthanol على البارد.

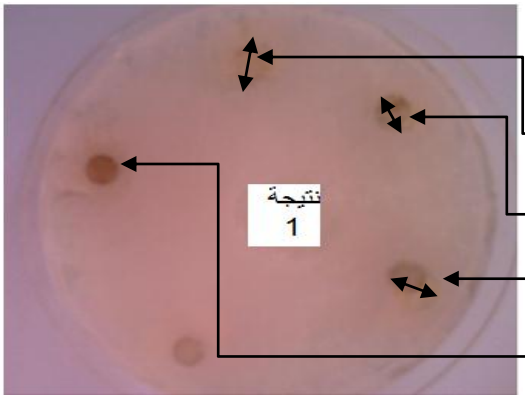
نوع البكتيريا / التراكيز	%20c -%80a	%40c -%60a	%50c -%50a	%60c -%40a	%80c -%20a
Esherichia coli	+	---	---	-	+
Staphylocoque blanc	+	+	-	+	+
Pseudomonads	---	---	---	---	---

الجدول رقم 11.III: حساسية البكتيريا لمزيج مستخلص لحناء والشيح بالإيثانول éthanol على الساخن.

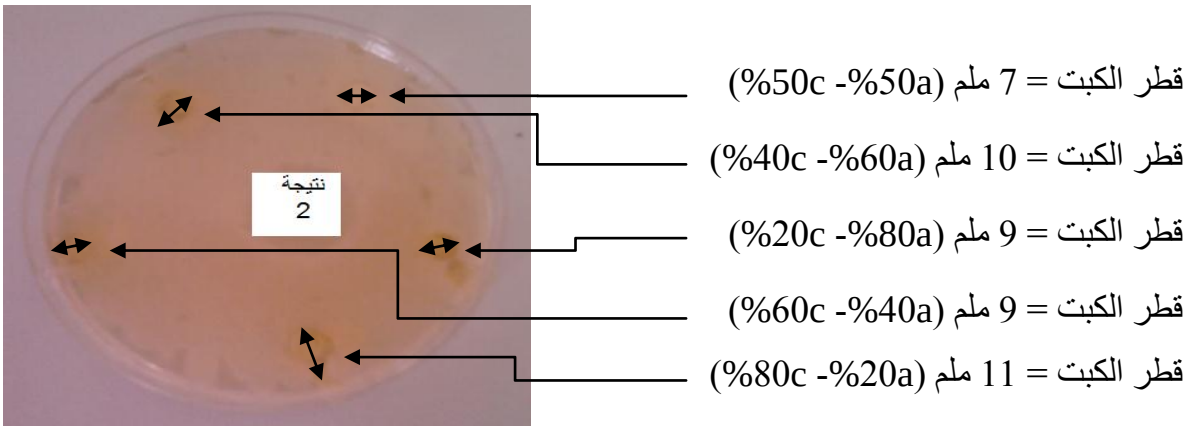
نوع البكتيريا / التراكيز	$\%20_d$ -$\%80_b$	$\%40_d$ -$\%60_b$	$\%50_d$ -$\%50_b$	$\%60_d$ -$\%40_b$	$\%80_d$ -$\%20_b$
Esherichia coli	+	+	---	+	+
Staphylocoque blanc	+	+	+	++	+
Pseudomonads	---	---	---	---	---

--- : عدم وجود أي نشاط تثبيطي للمستخلص.

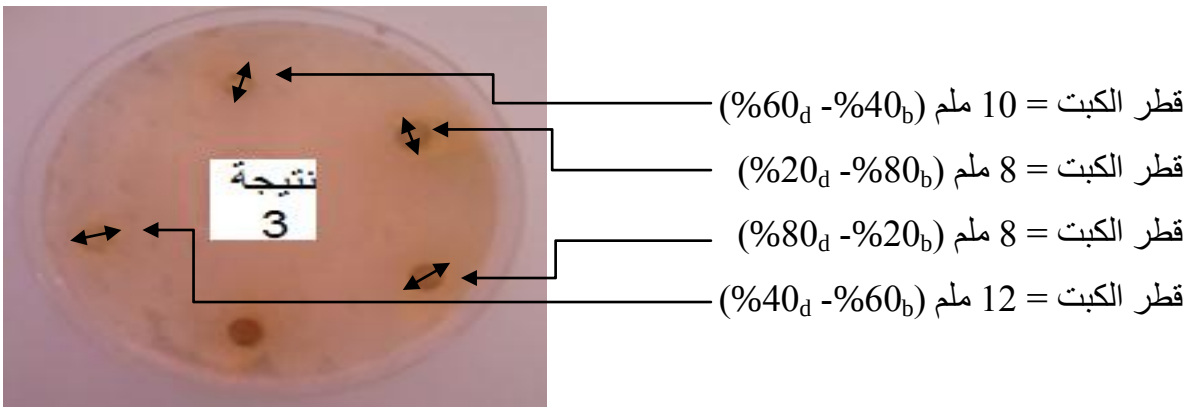
وأقطار الكبت حسب التجربة كانت كالتالي:



الشكل رقم III.36: تأثير مزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح بالإيثانول على البارد على نمو بكتيريا Esherichia coli مع تحديد قطر الكبت لكل تركيز.

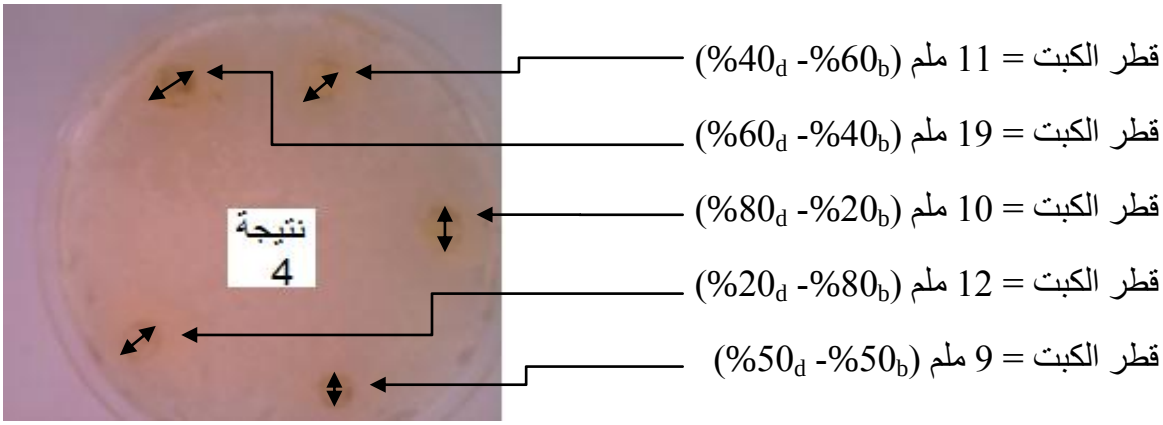


الشكل رقم III.37: تأثير مزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح بالإيثانول على البارد على نمو بكتيريا Staphylocoque blanc مع تحديد قطر الكبت لكل تركيز.



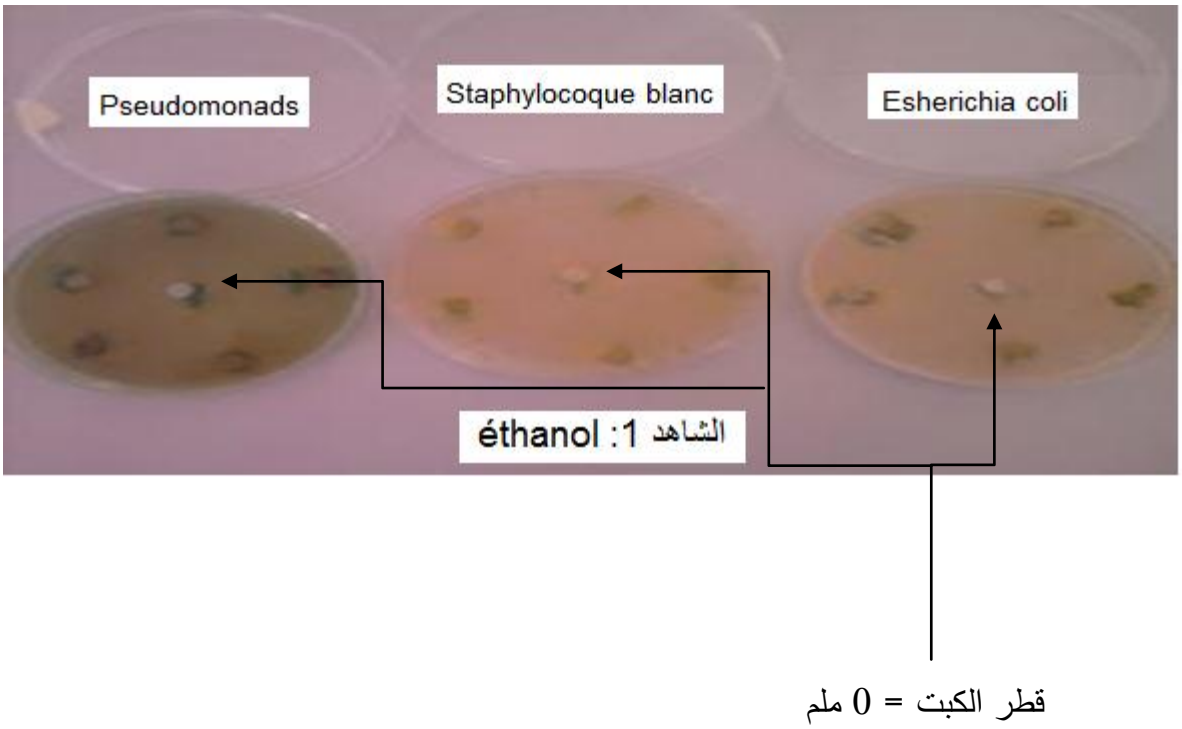
الشكل رقم III.38: تأثير مزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح بالإيثانول على الساخن على نمو بكتيريا

Esherichia coli مع تحديد قطر الكبت لكل تركيز.

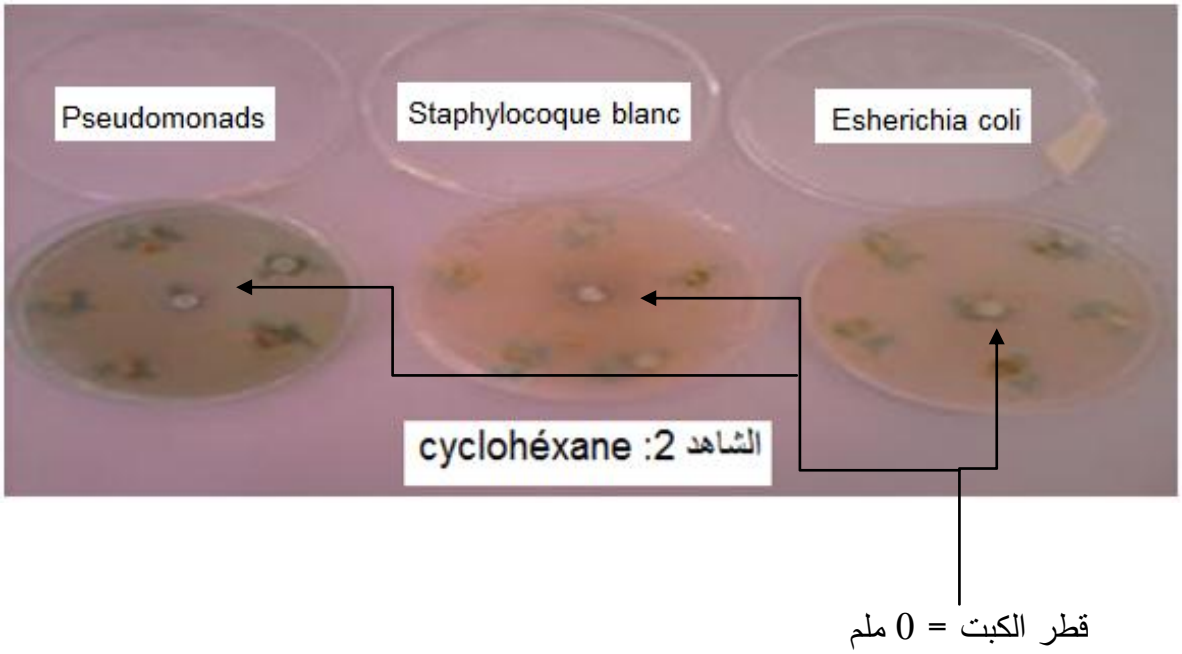


الشكل رقم III.39: تأثير مزيج من مستخلص نباتي
الحناء والشيح بالإيثانول على الساخن على نمو بكتيريا
Staphylocoque blanc مع تحديد قطر الكبت لكل تركيز.

أما بالنسبة للمذيبين المستعملين فلم يكن لهما أي تأثير تثبيطي ضد كل أنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة :



الشكل رقم III.40: توضيح لقطر الكبت الإيثانول للبكتيريا المستعملة في الدراسة.

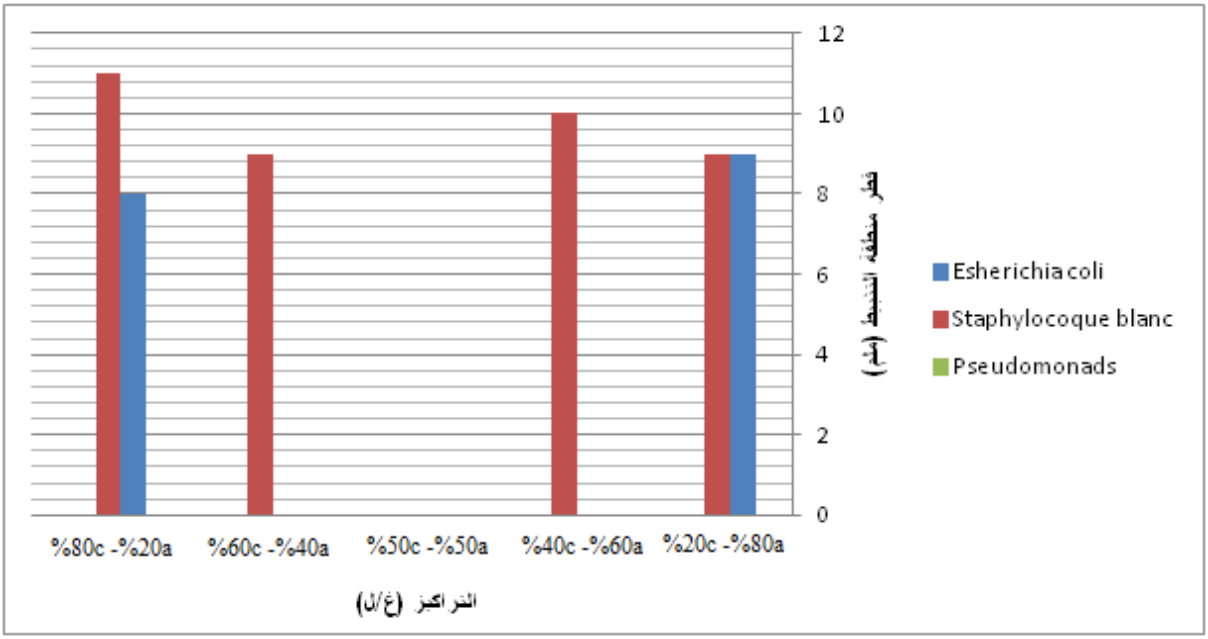


الشكل رقم III.41: توضيح لقطر كبت السيكلوهكسان للبكتيريا المستعملة في الدراسة.

2.3.III مناقشة النتائج:

ومن خلال هذه النتائج المحصل عليها نستطيع تلخيص التأثير التثبيطي لمزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح على البكتيريا المختبرة في المخططات التالية:

الشكل رقم 42.III: التمثيل البياني لقطر منطقة التثبيط (ملم) لمزيج مستخلص الحناء والشيح بالإيثانول éthanol على البارد لمختلف البكتيريا المختبرة.

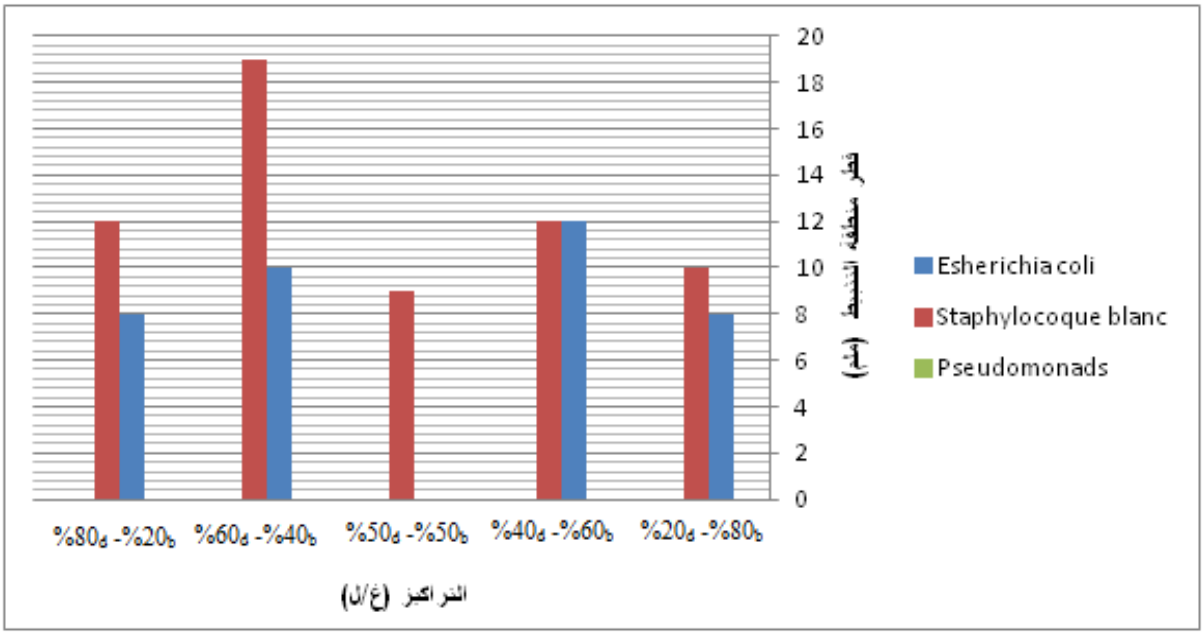


تفسير النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها سابقا واستنادًا إلى التمثيل البياني في الشكل رقم (42) نستنتج أن مستخلص الإيثانول على البارد لمزيج من مستخلص نباتي الحناء والشيح له فعالية مثبطة على بعض البكتيريا المدروسة بدرجات مختلفة الفعالية.

كما نلاحظ أن قطر منطقة التثبيط يختلف من تركيز إلى آخر, حيث أنه لم يظهر أي تأثير تثبيطي ضد بكتيريا *Pseudomonads*, وهذا ما يدل على مقاومة البكتيريا للمستخلص. في الحين الذي ظهرت فيه فاعلية تثبيطية ضد بكتيريا *Staphylocoque blanc* في معظم التراكيز, مما يمكننا أن نقول أن هذه البكتيريا حساسة للمستخلص في التراكيز %20c-%80a و %80c-%20a و %60c-%40a و %40c-%60a. كما كانت هناك حساسية للمستخلص عند بكتيريا *Esherichia coli* وذلك بالتركيز %20c-%80a و %80c-%20a فقط.

الشكل رقم 43.III: التمثيل البياني لقطر منطقة التثبيط (ملم) لمزيج مستخلص الحناء والشيح بالإيثانول éthanol على الساخن لمختلف البكتيريا المختبرة.



تفسير النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها سابقا واستنادًا إلى التمثيل البياني في الشكل رقم (43) نستنتج أن مستخلص الإيثانول على الساخن لمزيج من مستخلص نبات الحناء والشيح يملك أيضا فعالية مثبطة على بعض البكتيريا المدروسة بدرجات مختلفة.

حيث كان قطر منطقة التثبيط للمستخلص ضد بكتيريا *Staphylocoque blanc* هو الأكبر والأكثر وضوحا خاصتا في التركيز 40_b%- 60_d% إذ أنه بلغ 19 ملم, مما يعني بأنها حساسة جدًا للمستخلص, في حين أعطت باقي التراكيز 50_b%- 50_d% , 80_b%- 20_d% , 20_b%- 80_d% , 60_b%- 40_d% أقطار 9, 10, 11, 12ملم على التوالي وهذا ما يدل على أنها حساسة ضد المستخلص. كما أظهرت بكتيريا *Esherichia coli* أقطار جديدة بالإضافة إلى الأقطار التي ظهرت في مستخلص الإيثانول على البارد عند التراكيز 40_b%- 60_d%, 60_b%- 40_d%, التي تدل على أن هذه البكتيريا تمتلك حساسية أكبر لهذا المستخلص وبأكثر تراكيز. أما بالنسبة لبكتيريا *Pseudomonads* فقد ثبت بأنها بكتيريا مقاومة للمستخلص بكافة تراكيزه.

3.3.III النتيجة العامة:

من خلال النتائج المتحصل عليها نستنتج بأن المستخلص الكحولي لمزيج من مستخلص نبات الحناء والشيح بجهاز سوكسلي له فعالية تثبيطية ضد بكتيريا *Staphylocoque blanc* و *Esherichia coli* أكبر مما هي عليه في الاستخلاص بعملية النقع لمدة 24 ساعة. وذلك بظهور أكبر تركيز فعال $40\%_b$-$60\%_d$, $60\%_b$-$40\%_d$ وأقل تركيز فعال $50\%_b$-$50\%_d$ و $20\%_b$-$80\%_d$ للمستخلص ضد البكتيريا على التوالي.

وأن كل المستخلصات و التراكيز المحضرة ليس لها فعالية على بكتيريا *Pseudomonads*.

كما أن الاستخلاص بالمذيب القطبي يكون أفضل من المذيب اللاقطبي بالنسبة لهذين النبتتين ويعود ذلك إلى قطبية معظم المركبات الفعالة في النبات وكمثال عن ذلك المركبات الفينولية.

خاتمة عامة

خاتمة عامة:

في عملنا هذا قمنا بدراسة التأثير التثبيطي لمزيج من مستخلص نبات الحناء والشيح على نشاط بعض أنواع البكتيريا وهي: *Pseudomonads, Staphylocoque blanc ,Esherichia coli* . بمذيبين مختلفي القطبية بجهاز سوكسيلت وبطريقة النقع لمدة 24 ساعة.

وتكمن أهمية هذا البحث في كونه حلقة من أعمال أخرى تمت فيها دراسة النباتين من حيث الوصف المورفولوجي وكذا تحديد مكوناتها من العناصر الفعالة بدراسة فعاليتها, وهذا بدراسة تأثير بعض مستخلصات النباتين كمزيج من المستخلص الإيثانول ومزيج من مستخلص السيكلوهكسان لنبات الحناء والشيح على نشاط بعض أنواع البكتيريا.

حيث توج عملنا التطبيقي باستنتاج مدى فعالية مزيج من المستخلص الميثانولي للنّبتتين على معظم المجموعات البكتيرية الوبائية كالاشيريشا كولي و ستافيلوكوك بلان التي تعتبر المسؤول الرئيسي عن عدوى المستشفيات.

مما يعني إمكانية استعمال هذه المستخلصات النباتية لتثبيط أو كبح انتشار البكتيريا لضمان الوقاية الصحية من جهة، وللمحافظة على الأغذية من جهة أخرى كذلك.

وآخرا نرجو أن نكون قد وفقنا في الوصول إلى الهدف المنشود وهو دراسة الفعالية البيولوجية لمزيج من مستخلص نباتين مهمين في مجال الطب الشعبي أو على الأقل نكون قد أثرنا تساؤلات في جانب مهم مواضيع الطب والصناعة الغذائية في العصر الحالي كي يتسنى لنا ولغيرنا من الباحثين التمحيص أكثر لإثراء الرصيد العلمي و البحثي في الجزائر خاصتا.

المراجـــع.

المراجع الأجنبية:

[6] Dr Ralf Günter Berger .*« Flavours and Fragrances Chemistry,ioprocessing and Sustainability»*. Springer, (2007).

[7] Buckingham John. *« Dictionary of Natural Products*». England, (2006).

[8] Rakshit K Devappa ., Harinder P S Makkar., Klaus Becker., Jatropha. «Diterpenes: A review». J Am Oil Chem Soc, (2011), p.88:301-322.

[9] Harkati Brahim. *« Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteracceae: Scorzonera Undulata*». Thése de doctorat. Universite Mentouri- Constantine, (2011).

[10] Haba Hamada. *«Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes: Euphorbia guyoniana Boiss*». Thése de doctorat, et Reut. et Euphorbia retusa Forsk, (2008).

[11] Jörg Degenhardt., Tobias G Köllner., Jonathan Gershenzon. *«Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants»*. Phytochemistry, (2009), p.1621-1637.

[13] Dubai A S., and Kholaidi A A. «Medicinal and Aromatic Plants in Yemen», "deployment -components of effective - uses" Ebadi Center for Studies and Publishing. Sana'a-Yemen, (2005), p.53-54.

[14] Hostettman K., Potteray O., and Wolfender J L. *«The potent of higher plants as a source of new drugs»*. Chimie, (1998)b, p.10- 17.

[15] Wilfred Vermerris., Ralph Nicholson. *« Phenolic compound biochemistry»*. The Netherlands: Published by Springer, (2006), p. 2-23.

[17] Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie,*« Plants médicinales*», 3ème ed. Tec et Doc, Paris, (1999), p.263-265.

[18] Keating G J., O'kennedy R. *«Thechemistry and occurrence of coumarins»*. (1997), p.23-66.

[19] Séverine BRUNET.*« Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants*». Thése de doctorat, Université de Toulouse, (2008).

[20] Min B R., Pinchak W E.*« Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens*». Scientific Research and Essay, February (2008), p. 66-73.

[21] Maugini E., Malec Ibini L., Mariotti Lippi M. «Botnica Farmaceutica». IX ed, Piccin, Padova, Italy,(2014), p.570-571.

[22] Amit S Borade., Babasaheb N Kale and Rajkumar V Shete. *« A phytopharmacological review on Lawsonia inermis (Linn.)»*. International journal of pharmacy and life sciences, (2011), p. 536-541.

[23] Jiny Varghese et al. «Lawsonia Inermis (Henna): A natural dye of various therapeutic uses - a review». Inventi Journals of Spreading knowledge, (2010), p.1-5.

[25] Mohammed Hamza Abass . «*Study antifungal activity of Henna leaves (Lawsonia inermis) extracts on some plant pathogenic fungi*». مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية, (2007) , p.113-125.

[27] Gagandeep Chaudhary., Sandeep Goyal., Priyanka Poonia. *« Lawsonia inermis linnaeus: A phytopharmacological review»*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, (2010), p. 91-98.

[28] Ruchi Badoni Semwal., Deepak Kumar Semwal., Sandra Combrinck., Catherine Cartwright-Jones., Alvaro Viljoen.*«Lawsonia inermis L. (henna): Ethnobotanical*». phytochemical and pharmacological aspects, (2014), p.80-108.

[30] Abulyazid I., Elsayed M E Mahdy., Ragaa M Ahmed.*« Biochemical study for the effect of henna (Lawsonia inermis) on Escherichia coli*». Arabian Journal of Chemistry, (2013), p.265-273.

[31] Karima Dhaouadia., Walid Melitia., Sana Dallalib., et al. «*Commercial Lawsonia inermis L. dried leaves and processed powder:Phytochemical composition, antioxidant, antibacterial, andallelopathic activities*». Industrial Crops and Products, (2015), p.544-552.

[32] Adnane Labed., Noureddine Moummi., Kamel Aoues., Adel Benchabane. *«Solar drying of henna (Lawsonia inermis) using different models of solar flat plate collectors: an experimental investigation in the region of Biskra (Algeria)»*. Journal of Cleaner Production, (2016), p. 2545-2552

[33] P. Arun., K G Purushotham ., Johnsy jayarani J and Dr vasantha kumari. «*In vitro Antibacterial activity and Flavonoidcontents of Lawsonia inermis (Henna)»*. International Journal of PharmTech Resear, April-June (2010), p.1178-1181.

[35] Abou El-Hamd H Mohamed et al.*« Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herba-alba»*. Recrods of natural prouducts, (2010), p.1-25.

[39] Abderrahmane Moufid., Mohamed Eddouks. *«Artemsia herba alba : A popular plant with potential medicinal properties*». Journal of biological sciences,(2012), p.1152-1159.

[40] Nabiel A M Saleh., Sabry I El-Negoumy., Mamdchjh m abou-zaid. *«Flavonoids of artemisia judaica, a. monosperma and a. herba-alba»*. Phytochemistry, (1987) , p. 3059-3064.

[41] Nabiel A M Saleh., et al.*« Flavonoid glycosides of artemisia monosperma and A. herba alba*». Phytochemistry ,(1985), p. 201-203.

[42] P. Sanchez I ., G. Delgado J. «*Organic principles in east Spanish plants. III. Separation and identification of the components of an Artemisia Herba-alba Valentina wax by gas-liquid chromatography*». Grasas y Aceites (Sevilla, Spain), (1978), p.323-7.

[43] G. Vernin., Parkanyi C. *« GC/MS analysis of Artemisia herba-alba Asso. from Algeria, Nonpolar and polar extracts*». Riv. Ital. EPPOS, (2001), p.3-16.

[44] G. Vernin ., L. Merad O. *« Mass spectra and Kovats indexes of some new cis-chrysanthenyl esters found in the essential oil of Artemisia herba-alba from Algeria»*. J. Essen. Oil Res., (1994), p.437-338.

[45] Salido S., Altarejos J., Nogueras M and A. *«Chemical composition of essential oil of Artemisia herba-alba Asso»*. ssp. valentina (Lam.) Marc. J. Essen. Oil Res., Sanchez (2001), p. 221-224.

[46] Rachid Belhattab., Loubna Amor., José G. Barroso., Luis G. Pedro., A. Cristina Figueiredo.*« Essential oil from Artemisia herba-alba Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey*». Arabian Journal of Chemistry, (2014), p.243-251.

[47] T. Dob., T. Benabdelkader. *«Chemical composition of the essential oil of Artemisia herba-alba Asso grown in Algeria*». J. Essen. Oil Re, (2006), p.685-690.

[48] B. M. Lawrence (1993). Armoise oil, in: Essential oils (1988-1991). edit., *«Natural Flavor and Fragrance materials "perfumer & Flavorist"»*. Allures publ. corp., carol stream, IL, p. 52-54.

[49] B. M. Lawrence (1995). Armoise oil. In: Essential oils (1982-1994) Edit., *«natural Flavor and Fragrance materials "Perfumer & Flavorist"»*, , Allured Publ. Corp., carol stream, IL, p. 179-180

[50] Derwich E., Boulahna A. «*Extraction et caractérisation de la composition chimiques des huiles essentielles de nerium oleander & artemisia herba*

alba». Master Sciences et Techniques : CMBA Chimie des Molécules Bio Actives. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, (2010), p26-27.

[51] María José Abad., Luis Miguel Bedoya., Luis Apaza and Paulina Bermejo. *«Department of Pharmacology: The artemisia l. genus: a review of bioactive essential oils*». Molecules,(2012), p. 2542-2566.

[52] Yashphe J., Segal R., Breuer A and G Erdreich-Naftali. *«Antibacterial activity of Artemisia herbaalba»*. J. of Pharma. Sci, (1979), p.924-925.

[53] Khennouf Seddik ., et al. «*Antioxidant and antibacterial activities of extracts from Artemisia herba alba Asso. leaves and some phenolic compounds»*. Journal of medicinal plants research, (2010), p.1273-280.

[54] Didem Taştekin., Mustafa Atasever., Gülşah Adigüzel., et al. «*Hypoglycaemic effect of artemisia herba-alba in experimental hyperglycaemic rats*». Bull Vet Inst Pulawy, (2006), p. 235-238.

[56] Université Pierre et Marie Curie, *«Bactériologie*», DCEM1, (2002 – 2003).

[57] KAYSER F H ., BIENZ K A., ECKERT J ., ZINKERNAGEL R M. *Medical Microbiology*, Kayser: Thieme,(2005). 698 p.

[58] PR. EMILE DE LAVERGNE., JEAN-CLAUDE BURDIN. *Les bactéries*. Paris: 3émeéd, (1973), p. 11-14.

[59] K. Weiss.« *Le médecine de Québec*», (2002), p. 37:41.

[60] Ericsson H M., Sherris J C O .*« Antibiotic Sensitivity testing»*. Report of international Collaborative study . Actes . path. Microbiol . Scand. Bsuppl, (1971), p. 90:217.

[61] LECLERC H., IZARD D., HUSSON M O., WATTER P., JAKBCZAK E . *Microbiologie générale* . paris: Nouvelle edition. Dion edition, (1983), p.45-325.

[62] Figrella J., Leyral G., Terret M. *«Microbiologie générale et appliqué»*. LT édition J. Ianore, (2001), p. 8-130.

[63] P. Courvalin.«*Interpretative reading of antimicrobial susceptibility tests*». ASM News, (1992),p. 58:368-375.

[64] Guerin Faublée V., Carret C .*« L'antibiogramme: principe, méthodologie, intérêt et limité»*. Journées internationales GTV-INRA, (1999), p.5-12.

[65] Ana Carolina de Mello Santos., Ana Carolina Matos Zidko.*« A virulência de scherichia coli patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro»*. M u n d O d a S a ú d e, São Paulo, (2009), p. 392-400.

[66] Methicillin Resistan Staphylococcus aureus, Last Updated: January (2011), p.1-25.

[68] Valery F Traven., Vasiliy V Suslov., Evgeny N Gordeev. *«Novel pyrrolocoumarin derivatives»*. ARKIVOC. (2000), p.1-9.

[70] Poncea. G, Fritzr , Del Vallc. et Rouras I. *«Antimicrobial activity of essential oils the native microflora of organic swiss chard»*. Lebensmittel-Wissenxchuft und technologie ,(2003).

المراجع العربية:

[1] عبد الأمير عبد الله الموسوي, لؤي حسين الكنعان, باسم جاسم حميد. *«الفعالية ضد الميكروبية لمستخلصات نبات الحناء .Lawsonia inermis L»*. مجلة أبحاث البصرة, (2009), ص 16-23.

[2] علي أمين ياسين. *«تأثير طريقة الإستخلاص والقدرة التثبيطية لنبات الشيح تجاه طيف من العزلات البكتيرية»*. مجلة ديالى للعلوم الزراعية, (2010), ص 7-14.

[3] بوقافلة رحمة. *«دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء Lawsonia Inermis لمنطقة بسكر»*. مذكرت تخرج ماستر: تخصص كيمياء مطبقة. جامعة قاصدي مرباح ورقلة, (2013), ص 1-2.

[4] العابد إبراهيم. *«دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum»*. مذكرة تخرج ماستر: تخصص كيمياء عضوية تطبيقية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة, (2009),ص 9-17.

[5] حوة إبراهيم. *«دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة»*. مذكرة تخرج ماستر: كلية العلوم و التكنولوجيا. جامعة قاصدي مرباح – ورقلة, (2013), ص 52-53.

[12] غسان حجاوي, الصيدلانية حياة المسمي, الصيدلانية رولا قاسم. *علم العقاقير والنباتات الطبية*. عمان: مكتبة دار الثقافة. (2004). ص 199-121: 183-188: 227-228: 253-255.

[16] شروانة سهيلة. *«فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة Lyciumarabicum.L»*. مذكرة تخرج ماستر: تخصص كيمياء عضوية. جامعة منتوري قسنطينة, (2007), ص85.

[24] أ.د. حليمي عبد القادر. *النباتات الطبية*. الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة, الإتحاد العالمي لحفظ الطبيعة, (1997), ص 59-168.

[26] سميرة محمد صالح السامرائي, عبد الرزاق عثمان حسن, عبد الكاظم ناصر صالح الشويلي. *«تأثير رش معلق الخميرة النشطة وموعد الفرط في النمو ومحتوى نبات الحناء من التانينات وصبغة اللوسون .Lawsonia inermis L»*. مجلة أبحاث البصرة, (2011), ص 104-115.

[29] رواء محمود حموشي, عبد الرزاق خضر محمود. *«التأثير التثبيطي لأوراق نبات الحناء Lowsonia inermis على أفراد النوع Staphylococcus aureus المعزولة من اخماج جلدية مختلفة»*. مجلة علوم الرافدين، (2008), ص 1-19.

[34] د.سمير إسماعيل الحلو. *القاموس الجديد للنباتات الطبية*. جدة : دار المنارة, (1999), 102ص.

[36] عمر لبنى. *«دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح Artemisia herba albaAsso»*. مذكرة تخرج ماستر: تخصص بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات. جامعة فرحات عباس سطيف, (2010), ص 18-22.

[37] فوزية احمد الشنوي. *«تأثير مزيج من مستخلص بذور الحرمل Peganum harmala و أوراق نبات الشيح Artemisia herba-alba ضد الأميبا الحالة للنسيج Entamoeba histolytica في الزجاج»*. المجلة العراقية للعلوم, (2009), ص 290-295.

[38] محسن عقيل. *معجم الأعشاب المصور*. لبنان: مؤسسة الأعلمي للمطبوعات, (2003), 546ص.

[55] د.جون بوستجيت، ترجمة د.عزت شعلان. *الميكروبات و الإنسان*. الكويت: عالو المعرفة, (1985).

[67] م .نائرعبد الباري, م.م .ياسر عادل جبار. *«عزل وتشخيص جرثومة Staphylococcus من الاشخاص المصابين بأمراض معوية وتنفسية في محافظة المثنى وفحص المقاومة الميكروبية تجاه المضادات الحياتية»*. مجلة أوروك للأبحاث العلمية, كانون الثاني (2011).

[69] الدكتور عادل نوفل. *«الكيمياء الصيدلية القسم النظري»*. دمشق: الناشر المطبعة الجديدة, (1981), ص 253-272.

ملخص:

في بحثنا هذا حاولنا تثمين ما يحيط بنا في بيئتنا من موارد نباتية والمساهمة في إثراء هذا المجال حيث أجرينا دراسة على نبات الحناء (*Lawsonia inermis*) و نبات الشيح (*Artemisia herba-alba*), وذلك بتحضير مزيج من مستخلص هذين النباتين في الإيثانول والسيكلوهكسان بالتنقيع عند درجة الحرارة العادية من ناحية وبالاستخلاص باستخدام جهاز سوكسلي عند درجة حرارة عالية من ناحية أخرى, ثم درست الفعالية التثبيطية لمزيج هذه المستخلصات ضد ثلاثة أنواع من البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام: *Pseudomonads , Esherichia coli, Staphylocoque blanc*, بخمسة تراكيز مختلفة. حددت الأقطار التثبيطية وقورنت النتائج لتحديد التركيز الفعال ومقارنة الفعالية بين المستخلصات, فكان مزيج مستخلص النباتين بالإيثانول في درجة الحرارة العالية قد أظهر أفضل قطر تثبيطي يتراوح بين (8-19 ملم) بالنسبة للبكتيريا *Staphylocoque blanc* بكافة التراكيز, مقارنتا بباقي المستخلصات.

الكلمات الدّالة: التأثير التثبيطي, نبات الحناء (*Lawsonia Inermis*), نبات الشيح (*Artemisia herba-alba*), البكتيريا.

Abstract:

In our research, we have tried to discuss the value of our surrounding environment of plants resources and enrich this trend so we have done a study about Henna plant *(Lawsonia inermis)* and wormwood plant *(Artemisia Herba-alba).* We have prepared the combination of these 2 plants extract using 2 ways: so asking them in a temperature and using Soxhlet extractor in a high temperature. Then, we have studied the effectiveness inhibitory of these combination against 3 types of gram-positive bacteria and gram-negative bacteria: *Esherichia coli, Staphylocoque blanc, Pseudomonads,* using 5 different concentrations. the inhibitory areas has been determined and the results was compared to determined the effective concentration and compare the compare the exacts. The combination of the extract of the 2 plants in ethanol in a high temperature showed the best inhibitory results between (8–19mm) with *Staphylocoque blanc* compared to the other extracts.

Key words: inhibitory impact, Henna plant *(Lawsonia Inermis),* wormwood plant *(Artemisia herba-alba),* bacteria.

Résumé:

Dans notre recherche, nous avons essayé cette d'évaluer nous entoure dans notre environnement et de contribuer à l'enrichissement de cette zone où nous avons mené une étude sur la plante de henna *(Lawsonia inermis)* et la plante de armoise Blanche *(Artemisia herba- alba)* , par préparation le mélange de deux extraits plantes dans l'éthanol et cyclohexane, en Macération et utilisant appareil de Soxhlet . Ensuite, nous avons étudié l'inhibition de l'efficacité à cette mélange contre 3 types de bactéries gram-positives et gram-négatives*: Esherichia coli, Staphylocoque blanc, Pseudomonads,* en utilisant 5 concentrations différentes. a été déterminée et les résultats ont été comparés à déterminer la concentration efficace et a montré les meilleurs résultats en combinaison l'éthanol à une température élevée contre a bactéries *Staphylocoque blanc* les inhibiteurs entre a (8-19mm) par rapport aux autres extraits.

Mots clés: l'impact inhibitrice, plante de Henna *(Lawsonia inermis),* plante de Armoise Blanche *(herba-alba Artemisia),* les bactéries.