رقم التسلسل :. ....
رقم الترتيب :...........

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين:

باي سمية

ذويب إسراء

تحت عنوان:

دراسة مقارنة للتركيب الكيميائي والخواص البيولوجية لنباتات الزعتر البري التي تنمو في السهول العليا الجزائرية

نوقشت يوم:20/ 06/ 2021

أمام لجنة المناقشة المكونة من الأساتذة:

تامة نور الدين	أستاذ محاضر قسم "ب"	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	مؤطرا
بن شيخة نعيمة	أستاذة تعليم عالي	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	رئيسا
زمالي جعفر	أستاذ محاضر قسم " أ "	جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي	ممتحنا

السنةالجامعية: 2021/2020

بسم الله الرحمان

الرحيم

الإهداء

ها نحن اليوم نقطف ثمار مسيرة أعوام و بيدنا شعلة علم، و بهذه المناسبة أهدي ثمرة جهدي إلى من نطق بكلمة لسانه و صدقها قلبه، و إلى كل من صلى على خير البرية محمد صلى الله عليه و سلم.

إلى من تعجز الكلمات عن إيفاء حقها، و تنحني هامتي لعظيم عطائها، إلى من أنار لي دعائها حياتي و كانت السند في طريقي، إلى قرة عيني و فؤادي أمي الغالية.

إلى من سخر كل قواه من أجل أن أعتلي سلالم النجاح، إلى النور الذي أنار دربي، و إلى قدوة حياتي أبي الغالي.

إلى رفقاء دربي و من أسعد الله بهم أيامي إخوتي و أخواتي.

إلى كل من علمني كلمات من درر وأسمى عبارات العلم، و جعل منها أحلى آيات المنال أستاذي الفاضل.

إلى كل من أضاء بعلمه عقل غيره أو هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه، فأظهر بسماحته تواضع العلماء و برحابته سماحة العارفين.

شكر و عرفان

كن عالما ... فإن لم تستطع فكن متعلما ... فإن لم تستطع فأحب العلماء ... فإن لم تستطع فلا تبغضهم.

بعد رحلة بحث و جهد و إجتهاد تكللت بإنجاز هذه المذكرة، نحمد الله عز و جل على نعمته التي من بها علينا فهو العلي القدير.

نتقدم بالشكر الجزيل إلى والدينا، إلى من أمدهم الله بالهيبة و الوقار، و كانا حافزا لنا على مواصلة دراستنا.

كما لا يسعنا إلا أن نخص بأسمى عبارات الشكر و التقدير لمن كان عونا لنا، أستاذنا الفاضل الدكتور تامة نور الدين.

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة، لقبولهم مناقشة هذه لمذكرة و إفادتنا بتصحيحاتهم و توجيهاتهم القيمة .

و أخيرا نتقدم بجزيل الشكر و العرفان إلى كل من ساهم في إنجاز هذا العمل .

و قبل و بعد فالشكر لله و لله الحمد في الأول و الأخير.

المحتويات	
الإهداء	
شكر وعرفان	
فهرس المحتويات	
قائمة الجداول	
قائمة الأشكال	
قائمة الرموز و الاختصارات	
مقدمة عامة	1
المراجع	
الملخص	
الجزء النظري	
الفصل الأول :دراسة عامة حول نبات الزعتر البري	
تمهيد	6
I .دراسة عامة حول نبات الزعتر البري *Thymus capitatus*	6
I.1. التعريف بالعائلة	6
I.2. التصنيف النباتي للزعتر البري	6
I.3. مورفولوجيا الزعتر البري	8
I.4. أهم أنواع الزعتر البري	8
I.5. الأسماء الشائعة لنبات الزعتر البري	8
I.6. مناطق التواجد	9
I.7. التركيب الكيميائي و المواد الفعالة	9
I.8. استعمالات الزعتر البري	9
I.9. دراسات سابقة	9
المراجع	

الفصل الثاني : دراسة منتجات الأيض الثانوي	
تمهيد	15
II. المنتجات الطبيعية	15
II.1. تعريف المنتجات الطبيعية	15
II.1.1. الأيض الأولي (Metabolites premieres)	15
II.1.2.الأيض الثانوي (Metabolites secondaires)	15
II.2. القلويدات	16
II.2.1. تعريف القلويدات	16
II.2.2. تسمية القلويدات	16
II.2.3. تصنيف القلويدات	17
II.2.4. تواجد و توزيع القلويدات	18
II.2.5. خصائص القلويدات	18
II.2.6. فوائدها	18
II.3. الفينولات	19
II.3.1. تعريف المركبات الفينولية	19
II.3.2.مصدر المركبات الفينولية	20
II.3.3. تصنيف المركبات الفينولية	20
II.3.3.1. الفينولات البسيطة Phénols simple (C_6)	21
II.3.3.2. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides phenols carboxyliques	22
II.3.3.2.1 الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C_6–C_1)	22
II.3.3.2.2. أحماض هيدروكسي سيناميك (C_6–C_3)	23
II.3.3.3. الكومارينات Coumarines (C_6–C_3)	23
II.3.3.4 الستلبينات Stilbènes (C_6 –C_2 –C_6)	24
II..3.3.5 الفلافونويدات Flavonoïdes	24
II.3.3.5.1. تعريف الفلافونويدات	24
II.3.3.5.2. تصنيف الفلافونويدات	25

II.3.5.3.3. خواص الفلافونويدات	28
II.4.5.3.3. أهمية الفلافونويدات	28
II..6.3.3 الليغنان Lignanes $(C_6-C_3)_2$	29
II..7.3.3 الليغنين Lignines $(C_6-C_3)_n$	30
II.8.3.3. التانينات Tanninas	31
II.4.3. أهمية الفينولات	32
II..4 الزيوت الطيارة Les huiles essentielle	33
II.1.4. تعريف الزيوت الطيارة	33
II.2.4. الصفات العامة للزيوت الطيارة	33
II.3.4. تواجد الزيوت الطيارة	33
II.4.4. أهمية الزيوت الطيارة	34
المراجع	
الفصل الثالث : الفعالية البيولوجية	
III. الفعالية المضادة للبكتيريا	43
تمهيد	43
III.1. البكتيريا	43
III.1.1. تسمية البكتيريا	43
III.2.1 . بنية البكتيريا	44
III.1.2.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية	44
III.2.2.1. المكونات الثانوية للخلية البكتيرية	45
III.3.1. تصنيف البكتيريا	46
III.1.3.1. من حيث توزيع أسواطها	46
III.2.3.1. من حيث الشكل	46
III.3.3.1. من حيث الوسط الذي تعيش فيه	46
III.4.3.1. من حيث التغذية	47
III.5.3.1. من حيث طريقة التلوين (Gram)	47
III.6.3.1. من حيث الأثر على الإنسان	47
III.2.المضادات الحيوية	50
III.1.2. تعريف المضادات الحيوية	50

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية	50
III.2.2.1. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية	51
III.2.2.2. مضادات حيوية قاتلة لنشاط الخلية البكتيرية	51
III.2.3. تأثير المضادات الحيوية	51
III.2.3.1. العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا	51
III.2.3.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا	51
III.2.3.3. العمل على تثبيط نمو ADN	51
III.2.3.4. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء السيتوبلازمي	52
III.2.4. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي	52
III.2.4.1. تعريف المقاومة	52
III.2.4.2. أسباب المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي	52
III.2.4.3. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي	52
III.2.4.3.1. خواص الجذمة البكتيرية	52
III.2.4.3.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي	52
III.3. الجذور الحرة و مضادات الأكسدة	53
III.3.1. الجذور الحرة	54
III.3.1.1. تعريف الجذور الحرة	54
III.3.1.2. أنواع الجذور الحرة	54
III.3.1.2.1. الجذور النشطة أو غير المستقرة	54
III.3.1.2.2. الجذور الحرة المستقرة	55
III.3.1.3. فعالية الجذور الحرة	55
III.3.1.4. أضرار الجذور الحرة	56
III.3.2. مضادات الاكسدة	56
III.3.2.1. تعريف مضادات الأكسدة	56
III.3.2.2. أقسام مضادات الأكسدة	57
III.3.2.2.1. مضادات الأكسدة الطبيعية	57
III.3.2.2.2. مضادات الأكسدة الإصطناعية	58
III.3.2.3. آلية عمل مضادات الأكسدة	58
المراجع	

الجزء العملي	
الفصل الرابع : الطرق و الوسائل	
مدخل	67
IV.1. جمع عينات النبته المدروسة (الزعتر البري)	67
IV.1.1. مرحلة الجمع	67
IV.1.2. مرحلة التجفيف	67
IV.1.3. الحفظ	68
IV. 2. الأجهزة و المواد المستعملة	68
IV.2.1. الأجهزة	68
IV.2.2. المواد	69
IV.3. الكشف الكيميائي عن بعض المواد و المركبات الكيميائية في الزعتر البري	70
IV.3.1. الكشف عن القلويدات	70
IV.3.1.1. تحضير الكاشف	70
IV.3.1.2. طريقة الكشف	70
IV.3.2. الكشف عن الفينولات	71
IV.3.3. الكشف عن الفلافونويدات	72
IV.3.3.1. طريقة الكشف الأولى	72
IV.3.3.2. طريقة الكشف الثانية	72
IV.4. استخلاص المنتجات الفعالة	73
IV.4.1. تعريف الاستخلاص	73
IV.4.1.1. استخلاص (صلب–سائل)	73
IV.4.1.2. استخلاص (سائل–سائل)	73
IV.4.2. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من نبات الزعتر البري بالتنقيع	74
IV.4.3. طريقة استخلاص المركبات القلويدية من نبات الزعتر البري بالتنقيع	77
IV.4.3.1. تحرير القلويدات بشكلها القاعدي و استخلاصها	77
IV.4.3.2. التنقية	77
IV.4.4. استخلاص الزيوت الطيارة	80
IV.5. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات	80
IV.6. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية	80

IV.1.6. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية– المرئية	80
IV.2.6. مبدأ العمل	81
IV.3.6. مكونات الجهاز	81
IV.4.6 التقدير الكمي للمركبات الفينولية UV-Vissible	81
IV.1.4.6. المنحنى القياسي لحمض الغاليك	82
IV.2.4.6. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات	83
IV.5.6. التقدير الكمي للفلافونويدات UV–Vissible	83
IV.1.5.6. المنحنى القياسي للكرسيتين	84
IV.2.5.6. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات	85
IV.7. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية	85
IV.1.7. إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	85
IV.1.1.7. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	86
IV.2.1.7. إختبار DPPH للمستخلصات الفينولية	87
IV.2.7. حساب نسبة التثبيط IC% للجذر الحر DPPH	88
IV.8. التحليل الكيفي و الكمي بواسطة الكروماتوغرافيا	88
IV.1.8. الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية HPLC	88
IV.1.1.8. HPLC (Shimadzu)	89
IV.9. الطرق الكهروكيميائية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة	90
IV.1.9. التقنية الفولطا مترية الحلقية	91
IV.2.9. الخصائص الكهروكيميائية للفينولات	92
IV.3.9. طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	92
IV.1.3.9. المبدأ	92
IV.2.3.9. خطوات العمل	93
IV.10. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا	95
IV.1.10. طريقة الانتشار	96
IV.1.1.10. تحضير محاليل المستخلصات النباتية	96
IV.2.1.10. تحضير المعلق البكتيري	96
IV.3.1.10. تشبيع الأقراص بتراكيز المستخلصات	96
الفصل الخامس : النتائج و المناقشة	

V.1. الكشف عن المواد الأيض الثانوي في نبات الزعتر البري *Thymes capitatus*	106
V.2. مردود الاستخلاص	106
V.3. التقدير الكمي بواسطة UV-Vissible	109
V.3.1. التقدير الكمي بواسطة الفينولات بواسطة جهاز UV−Vissible	109
V.3.2. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV−Vissible	111
V. 4. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	112
V.4.1. نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH	112
V.5. التقدير الكمي للفينولات بواسطة ال HPLC	115
V.6. إختبار الفولطا متري	118
V.7. الفعالية المضادة للبكتيريا	120
الخاتمة	122
الملاحق	
الملخص	

قائمة الجداول

الجزء النظري	
الفصل الأول: دراسة عامة حول نبات الزعتر البري	
الجدول (1.I) : التصنيف النباتي للزعتر البري	7
الفصل الثاني : دراسة منتجات الأيض الثانوي	
الجدول (1.II) : تصنيفات القلويدات	17
الجدول (2.II) : تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها	21
الجدول (3.II) : بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك	22
الجدول (4.II) : بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك	23
الجدول (5.II) : بعض أنواع الكومارينات	24
الجدول (6.II) : بعض الأمثلة عن الستلبينات	24
الجدول (7.II) : بعض أنواع الفلافونات	26
الجدول (8.II) : بعض أنواع الفلافونولات	26
الجدول (9.II) : بعض أنواع إيزوفلافونولات	27
الجدول (10.II) : بعض أنواع الفلافانونات	27
الجدول (11.II) : بعض أنواع أنثوسيانات	28
الفصل الثالث : الفعالية البيولوجية	
الجدول (1.III) : التصنيف العلمي ل *E.coli*	48
الجدول (2.III) : التصنيف العلمي ل *St.a*	48
الجزء العملي	
الفصل الرابع : الطرق و الوسائل	
الجدول (1.IV) : نتائج الإمتصاصية لحمض الغاليك دلالة التركيز	82
الجدول (2.IV) : نتائج الإمتصاصية لكرسيتين بدلالة التركيز	84
الجدول (3.IV) : نتائج الإمتصاصية لحمض الأسكوربيك بدلالة التركيز	87
الجدول (4.IV) : الشروط التجريبية لجهاز HPLC	89
الجدول (5.IV) : زمن المكوث للمركبات الفينولية المرجعية	90

الفصل الخامس : النتائج و المناقشة	
الجدول(1.V):نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في مختلف المستخلصات النباتية	106
الجدول(2.V): مردود الاستخلاص للمنتجات الفعالة المدروسة	107
الجدول(3.V): قيم الامتصاص للتراكيز المحضرة للمستخلصات الفينولية	109
الجدول(4.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	110
الجدول(5.V): قيم الامتصاص للتراكيز المحضرة للمستخلصات الفلافونويدية	111
الجدول(6.V): كمية الفلافونويدات في المستخلصات	111
الجدول(7.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة (A)	112
الجدول(8.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة (B)	113
الجدول(9.V): نتائج إختبار DPPH للمستخلصات الفينولية و المركب المرجعي	114
الجدول(10.V): المركبات الفينولية المتواجدة في العينة (A)	116
الجدول(11.V): المركبات الفينولية المتواجدة في العينة (B)	117
الجدول(12.V):كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية باستعمال الفولطامتري	119
الجدول(13.V): تراكيز المستخلصات المحضرة	120

قائمة الأشكال	
الجزء النظري	
الفصل الأول :دراسة عامة حول نبات الزعتر البري	
الشكل (1.I): صورة لنبات الزعتر البري	7
الشكل (2.I): الشكل المورفولوجي لنبات الزعتر البري	8
الفصل الثاني : دراسة منتجات الأيض الثانوي	
الشكل (1.II): نموذج لمركب فينولي	20
الشكل (2.II): نموذج لمركب غير فينولي	20
الشكل (3.II): بعض بنى الفينولات البسيطة	22
الشكل (4.II): الهيكل الأساسي للفلافونويدات	25
الشكل (5.II) : بنية Catechin	27
الشكل (6.II): أمثلة عن الليغان	30
الشكل (7.II): بنية الليغنين	30
الشكل (8.II): بنية تانين قابل للتحلل	31
الشكل (9.II): بنية تانين مكثف	32
الفصل الثالث : الفعالية البيولوجية	
الشكل (1.III): تركيب الخلية البكتيرية	44
الشكل (2.III): صورة بالفحص المجهري ل *E.coli*	49
الشكل (3.III): صورة بالفحص المجهري ل *St.a*	50
الشكل (4.III): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا	53
الشكل (5.III): صورة بالفحص المجهري للجذور الحرة	54
الشكل (6.III): البنيات الرنينية في جزيء DPPH	55
الجزء العملي	
الفصل الرابع : الطرق و الوسائل	
الشكل (1.IV) : عملية التجفيف و الطحن	68
الشكل (2.IV) : الكشف عن القلويدات	71

الشكل (3.IV) : الكشف عن الفينولات	71
الشكل (4.IV) : الكشف عن الفلافونولات	72
الشكل (5.IV) : مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع	75
الشكل (6.IV) : مخطط استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع	76
الشكل (7.IV) : أهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع	78
الشكل (8.IV) : مخطط مراحل استخلاص القلويدات الخامة	79
الشكل (9.IV) : المنحنى القياسي لحمض الغاليك	82
الشكل (10.IV) : المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين	83
الشكل (11.IV) : المنحنى القياسي للكرسيتين	84
الشكل (12.IV) : المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الألمنيوم	85
الشكل (13.IV) : آلية تثبيط العامل المضاد لأكسدة الجذر $DPPH^{\cdot}$	86
الشكل (14.IV) : المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	87
الشكل (15.IV) : صورة بعض المستخلصات بعد إضافة DPPH	88
الشكل (16.IV) : المقادير الأساسية لمنحنى الفولطا متري الحلقي	91
الشكل (17.IV) : المنحنيات الفولطا مترية الحلقية لحمض الغاليك	94
الشكل (18.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطا مترية الحلقية	95
الشكل (19.IV) : المستخلصات النباتية المحضرة في علب بيتري	97
الفصل الخامس : النتائج و المناقشة	
الشكل (1.V) : مخطط نسب مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	108
الشكل (2.V) : مخطط نسب مردود الاستخلاص للمركبات القلويدية	108
الشكل (3.V) : مخطط نسب مردود الاستخلاص للزيوت الطيارة	109
الشكل (4.V) : مخطط كمية المركبات الفينولية الكلية المستخلصات	110
الشكل (5.V) : مخطط كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات	112
الشكل (6.V) : منحنى إختبار DPPH للمستخلص (A)	113
الشكل (7.V) : منحنى إختبار DPPH للمستخلص (B)	113
الشكل (8.V) : المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك	114
الشكل (9.V) : كروماتوغرافيا العينة (A) باستعمال جهاز HPLC	115
الشكل (10.V) : كروماتوغرافيا العينة (B) باستعمال جهاز HPLC	115

الشكل (11.V) :مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين (A) و(B)	118
الشكل (12.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينولي (E1)	118
الشكل (13.V) : المنحنى الفولطا متري الحلقي للمستخلص الفينولي (E2)	119

بالأجنبية	بالعربية	الرمز
Pourcentage	النسبة المئوية	%
Degré celsius	درجة المئوية	C°
Absorbance	الامتصاصية	A
Acide Gallique	حمض الغاليك	AG
Quercitine	الكرسيتين	Q
Acide Ascorbique	حمض الأسكوربيك	AA
Spectrophotomètre ultra-violet et visible	طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية	UV-vis
-Diphenyl-1-picrylhydrazyl2,2	جذر فينيل بكريل هيدرازيل	DPPH
Acide Désoxyribonucléique	حمض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين	ADN
Escherichia coli	اشيريشيا كولي	E- coli
Staphylococus aureus	ستافيلوكوكيز أروز	St. a

مقدمة عامة

مقدمةعامة:

لطالما كان الانسان في صراع دائم مع المرض حتى عرف النباتات الطبية التي غيرت مسار حياته إذ تحتوي على عدد كبير جدا من المكونات الفعالة طبيا التي تعكس الامكانية العلاجية لها [1]، كما تعد أحد المصادر الرئيسية للعقاقير الطبية ذات الأصل النباتي[2].

و قد عرف العالم Dragendroof النبات الطبي على انه كل شيء من أصل نباتي و تستعمل طبيا فهو نبات طبي[3].

و نظرا لما تزخر به بلادنا من النباتات الطبية لما لها من مساحات واسعة و مناخات عديدة انعكس هذا على وجود العديد من الفصائل و الأجناس النباتية خاصة البرية منها [4]، و لذلك فقد إرتأينا في هذا البحث دراسة إحدى النباتات الطبية التي تنمو في السهول العليا الجزائرية، و التي تعرف علميا باسم *Thymus capitatus*، و المعروفة باسم الزعتر البري.

و الهدف من هذه الدراسة استخلاص المنتجات الفعالة و دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا، حيث تم إختيار هذا الموضوع تزامنا مع وباء كورونا و استعمال هذا النبات بكثرة في الطب الشعبي ، ولإنجاز هذا العمل لابد من طرح عدة تساؤلات منها :

- ما مدى احتواء الزعتر البري للمواد الفعالة؟
- ما تأثير المنتجات الطبيعية المستخلصة من النبات على نمو السلالات البكتيرية؟
- هل لهذه المركبات تأثير على كبح الجذور الحرة؟

وقصد الإجابة عن الإشكاليات المطروحة قسمنا بحثنا الى:

•الجزء النظري : يتضمن ثلاثة فصول الفصل الأول عبارة عن دراسة عامة حول نبات الزعتر البري، الفصل الثاني يدرس منتجات الأيض الثانوي ، الفصل الثالث يشمل الفعالية البيولوجية.

•الجزء العملي: يتضمن فصلين الفصل الرابع الطرق و الوسائل و أخيرا الفصل الخامس الذي يضم النتائج و المناقشة.

و في الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليه.

المراجع

المراجع باللغة العربية :

[2] د.يوسف عبد العزيز الحسانين. (2004). النبات الإقتصادي. دار النشر المكتبة الأكادمية .ط1.مصر .ص285.

[3] د.عبد الله صبار عبود ود، حسام كنعان وحيد. (2017). أهمية النباتات الطبية و استعمالاتها في الحضارات القديمة. مجلة الآداب. العدد123. ص378.

[4] حليمي عبد القادر. (1997). النباتات الطبية في الجزائر، وزارة الفلاحة و الصيد البحري. ص1-2

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] R. Majed Jamous,M.S.Shtayeb. (2008)."Traditional Arabic palestinia herbal medicine, Biodiversity and Envionmental center(BERC), Nablus.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة عامة حول نبات الزعتر البري

تمهيد:

عرف الإنسان الأعشاب الطبية و استعملها في غذائه و دوائه، و لا زال يتوارث ذلك عبر الأجيال و من بين هذه الأعشاب الطبية و أقدمها الزعتر البري *Thymus capitatus*، الذي استخدم في العصور القديمة، يتواجد في منطقة البحر الأبيض المتوسط، كما يعتبر أفضل أنواع الأعشاب و أكثرها إنتشارا لما له من خصائص طبية[1]-[2].

I. دراسة عامة حول نبات الزعتر البري *Thymus capitatus*:

I.1.التعريف بالعائلة:

هي فصيلة شفوية Lamiaceae تتبع رتبة الشفويات من طائفة ثنائيات الفلقة و نطاق حقيقيات النواة تضم حوالي 210 جنس، من اشهر نباتاتها الزعتر البري النعناع والخزامى و الريحان[3].

I.2. التصنيف النباتي لنبات الزعتر البري:

الزعتر البري *Thymus capitatus* نبات عشبي من الفصيلة الشفوية Lamiaceae، و هو نبات عطري ينتشر في منطقة البحر الأبيض المتوسط، يطلق عليه بمفرح الجبال لرائحته الزكية، أشتهر به الشعوب القديمة لمذاقه القوي و خصائصه الطبية و الوقائية.[4]-[5]-[6].

ويمكن توضيح التصنيف النباتي للزعتر البري في **الجدول(I.1)**

الجدول(1.I): التصنيف النباتي لنبات الزعتر البري

التصنيف العلمي	
النطاق	حقيقيات النوى Eukaryote
المملكة	نباتات Plantae
الشعبة	حقيقيات الأوراق Euphyllophytina
الشعيبة	البذريات Spermatophyta
العمارة	كاسيات البذور Angiosperms
الطائفة	ثنائيات الفلقة Magnoliophy
الرتبة	الشفويات Lamiales
الفصيلة	الشفوية Lamiaceae
الأسرة	القطرماوات Nepetoideae
القبيلة	النعناعاوية Mentheae
الجنس	الزعتر *Thymus*
النوع	الزعتر البري *Thymus capitatus*

و الشكل **(1.I)**:الموالي يمثل صورة توضيحية لنبات الزعتر البري

الشكل (1.I): صورة لنبات الزعتر البري

I .3. مورفولوجيا الزعتر البري:

يعرف الزعتر البري بأنه شجيرة يتراوح إرتفاعها بين 30و80 سم، تكون جذورها متفرعة و أوراقها صغيرة، له أوراق خضراء بيضاوية و مسننة جزئيا غزيرة و متفرعة، تكون متقابلة تغطيها أوبار. الأزهار وردية أو أورجوانية أو بيضاء في بعض الأحيان. تكون الجذور كثيفة مما يسمح لها بالتماسك الجيد بالتربة[7]-[8].

الشكل (2.I): الشكل المورفولوجي لنبات الزعتر البري

I .4. أهم أنواع الزعتر البري

يشمل الزعتر البري العديد من الأنواع و أهمها:

- **الزعتر الهجين:** هو عبارة عن نبات عشبي يحتوي على مجموعة مختلطة من أنواع الزعتر.
- **زعتر الكراويا:** يستخدم في عدة أغراض منها الطهي، وذالك لرائحته القوية.
- **الزعتر الصوفي:** هذا النوع لا يستخدم لأغراض غذائية بل يتم وضعه كغطاء على الأرضيات[9].

I .5. الأسماء الشائعة لنبات الزعتر البري:

- الاسم العربي: الزعتر البري.
- الاسم العلمي: *Thymus capitatus* [5]-[6].

I.6. مناطق التواجد:

ينمو في المناطق معتدلة المناخ ومناطق البحر الابيض المتوسط، كما ينمو في السهول العليا والجبال[9]، مثل منطقة: قالمة، سوق أهراس و الجلفة.

I .7. التركيب الكيميائي والمواد الفعالة:

المكون الرئيسي الفعال حيويا في الزعتر البري هو زيته العطري، حيث يحتوي على الثيمول Thymol و الكارفكرول Carvacrol، كما تحتوي الاوراق والقمم المزهرة على العديد من المركبات بما فيها يوكاليبتول eucalyptol و والبورنيول Borneol ، كما يحتوي على العديد من المركبات الفينولية والفلافونويدية.

يحتوي الزعتر البري على مجموعة من الفيتامينات مثل: حمض الفوليك، الثيامين و البيروكسيدين، كما يعتبر الزعتر البري مشبع بالمعادن منها: البوتاسيوم، الحديد، الكالسيوم و المغنزيوم[10]-[11].

I.8. إستعمالات الزعتر البري:

- يخفف إلتهابات الحنجرة و البلعوم نظرا لخاصيته المطهرة.
- يعالج آلام الأسنان و إلتهاب المفاصل.
- يستعمل كمشروب طارد للغازات و يعمل على تسهيل الهضم.
- يقلل من نسبة السكر في الدم
- شد الجسم و الترهات.
- يقوي الجهاز المناعي[8]-[9]-[10].

I.9. دراسات سابقة:

- قامت مريم عماري وجوهر بريك بدراسة القدرة المضادة للبكتيريا لكبسولات الزيت الأساسي لنبات الزعتر، حيث أظهرت الدراسة تأثير عملية الكبسلة على فعالية الزيت الأساسي لمضاد البكتيريا[8].
- في دراسة لسمية بوطيبة قامت خلالها بدراسة النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات النباتات العطرية Thymus fontanesi, Thymus inodorus، وأظهرت النتائج المتحصل عليها أن

الزيوت الطيارة المستخلصة من كلتا النبتتين المدروستين أبدت فعالية معتبرة على السلالات البكتيرية المدروسة [12].

- و في دراسة لعاطف شويخ بدراسة نشاط مضاد للجراثيم للزيوت الأساسية من نوعين للغدة الصعترية الذي ينمو في مواقع مختلفة في شمال شرق الجزائر، و أظهرت النتائج المتحصل عليها نسبة مقاومة البكتيريا باتجاه الزيوت الأساسية [13].

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] فاتح، زيدي، محمد. (2012). المساهمة في الدراسة الفيتو كيميائية لنبات Deverra scoparia (البسباس البري). مذكرة ماستر أكاديمي في جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص72.

[2] الحديثي، سلفانا طارق شعبان. (2006). الصفات النوعية للزعتر المحلي و المزروع و استعمالها مانعا لنمو البكتيريا و مضادا للأكسدة الزيوت. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. جمهورية العراق.

[8] جوهر بريك، مريم عماري. (2020). دراسة القدرة المضادة للبكتيريا لكبسولات الزيت الأساسي للزعتر. مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ تعليم ثانوي في الكيمياء. تخصص كيمياء عضوية. المدرسة العليا للأساتذة. الجزائر(القبة). ص7-9.

[11] نصر الدين عمیار. (2018). نظرة عامة في نبات الزعتر البري Thymus Serpyllum L.

المراجع باللغة الأجنبية:

[3] Atti-Santos, A.C., M.R. Pansera; N. Paroul; L. Atti Serafini and Moyna, P.(2004). Seasonal variation of essential oil yield and composition of Thymus vulgaris L . (Lamiaceae) from South Brazil. J. Essen Oil Res. 16. 294-295.

[4] Biljana et al. (2011)antioxidant capacity of Ocimum basilicum L. and Origanumvulgare L. Extracts.

[5] Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Chaouch, A.(2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis et Thymus ciliatus du Maroc. Biotechnology, Agronomy Society and Environment. 14(1): 141-148.

[7] S. Aziz, H. Rehman.(2008).Studies on the chemical constituents of Thymus serpyllum. Turk. J. Chem. 32.605-614.

[10] Bekhechiv. Abdelmouahed D. (2010). Huiles Essentielles .Office de publicationuniversitaires.

مواقع الانترنت:

[6] https://en.wikipedia.org/wiki/Thymus_capitatus 9/06/2021

[9] https://mawdoo3.com/ 2/02/2021

الفصل الثاني

دراسة منتجات الأيض الثانوي

تمهيد:

كثر الإهتمام بدراسة النباتات الطبية إذ تحتوي على عدد كبير من المركبات الفعالة طبيا، و الاستفادة منها في معالجة الأمراض المختلفة، فمن المعلوم ان لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية اكبر من الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض [1]-[2].

II. المنتجات الطبيعية :

1.II تعريف المنتجات الطبيعية :

المنتجات الطبيعية الفعالة هي مركبات عضوية من اصل طبيعي، كما يطلق دارسو الكيمياء العضوية لفظ "المنتجات الطبيعية" على المركبات التي تنتج بواسطة الكائن الحي [2]، و أكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية و التي يتم فصلها من النباتات و الكائنات الحية الدقيقة وهي جزيئات تنتج إنطلاقا من عمليات الأيض [3]، و نميز منها قسمين: أيض اولي و أيض ثانوي.

1.1.II. الأيض الأولي (Metabolites premieres):

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، و تشير في الغالب إلى العمليات الأيضية (Metabolites premieres) التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة و الأحماض الأمينية، السكرات، الدهون و البروتين[4].

2.1.II.الأيض الثانوي (Metabolites secondaires) :

هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي و تشمل كل من الفينولات، الفلافونويدات، القلويدات و التربينات و غيرها[5].

إذ تعتبر مركبات الأيض الثانوي جزيئات كبيرة العدد و ذات شكل بنيوي، تسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، و تعد مركبات الأيض الأولي المواد البادئة لها، و هناك ثلاثة مواد رئيسية وهي حمض الشيكيميك و الأسيتات و الأحماض الأمينية و التي تعتبر وحدات البناء للأيض الثانوي [4].

II.2. القلويدات:

II.2.1. تعريف القلويدات:

أقترح مصطلح قلويد لأول مرة من طرف الباحث Meisser سنة 1818[6]، إذ تعتبر القلويدات احد أهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي [7].

القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي، تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلويدية لها، و يحتوي التركيب البنائي لها على مجموعات فعالة بها ذرة أكسجين مثل: الهيدروكسيل أو الكيتون أو الكاربوكسيل، و تتصف الكثير من أشباه القلويدات بالفعالية القوية و ذلك لوجود ذرة كربون أو أكثر غير متماثلة في تركيبها البنائي، كما تبرز أهميتها في تأثيرها الفيزيولوجي و الطبي [7].

II.2.2. تسمية القلويدات:

نظرا لإختلاف الخواص و التراكيب الكيميائية للقلويدات فإنه يتعذر توفر نظام تسمية موحد لهذه المركبات الطبيعية.

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

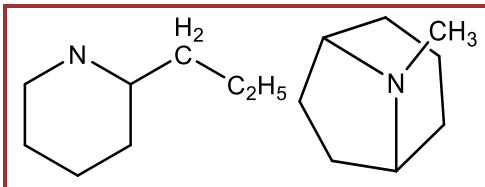
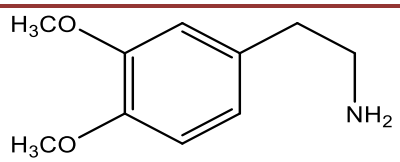
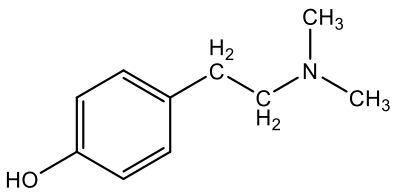
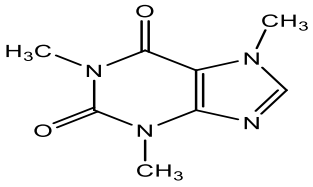
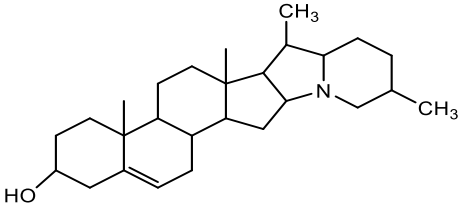
- تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الأول للنبات المستخلص منه و مثال ذلك: قلويد Atropine المستخلص من أوراق نبات Atropia belladona.
- تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الثاني للنبات المستخلص منه و مثال ذلك: قلويد Belladonine المستخلص من أوراق نبات Atropia belladona.
- تسمى بعض القلويدات حسب تأثيرها الفسيولوجي (العلاجي) و مثال ذلك: قلويد (مخدر Narcotine=Narcotic) و (مقيء Emetine=Emetic).
- تسمى بعض القلويدات حسب خواصها الفيزيائية و مثال ذلك: قلويد ماص للرطوبة (Hygroscopic=Hygrine).
- تسمى بعض القلويدات حسب اسم مكتشفها مثل قلويد Pelletierine باسم العالم Pelleter.

- تسمى بعض القلويدات حسب اسم النبات الشائع و مثال ذلك: قلويد Ergometrine المستخلص من جذور فطر Claviceps Purpura المعروف بالاسم الشائع له فطر Ergot.[8].

3.2.II. تصنيف القلويدات:

يمكن تقسيمها إلى ثلاثة اقسام [9]:

الجدول (1.II) : تصنيفات القلويدات

القلويدات الحقيقية (Les alcaloidesvrais)	يحتوي على ذرة آزوت داخل الحلقة الكربونية(hètèrocylique) وهي مركبات قاعدية تتواجد في الحالة الطبيعية كأملاح و تتشكل إنطلاقا من أحماض أمينية	 Cicutine ou Conine Tropane
القلويدات الأولية (Les protoalcalaoide)	هي أمينات بسيطة لها ذرة آزوت خارج الحلقة و هي مركبات قاعدية تنتج من أيض الأحماض الأمينية.	 Mescaline  Hordenine
القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) (Les pseud-alcalaoide)	لها كل خصائص القلويدات، لكنها ليست مشتقة من أحماض أمينية. هذا القسم يحوي القلويدات الستيرودية و القلويدات البيرينية.	 Caféine  Solanidine

II.4.2. تواجد و توزيع القلويدات:

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية [10]، إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل: الحشرات، الكائنات البحرية الدقيقة، والنباتات الدنيا، هذا ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى، و توجد القلويدات بكثرة عند مغلفات البذور وخاصة عند ثنائيات الفلقة مقارنة بأحاديات الفلقة، وتتوزع القلويدات في ثنائيات الفلقة. [7].

II.5.2. الخصائص القلويدية:

معظم القلويدات صلبة متبلورة، ماعدا القلويدات التي لا تحتوي على عنصرالاكسجين فإنها سائلة مثل: النيكوتين Nicotine [6]-[11]، معظمها عديمة اللون مثل: Sanguinarine والقليل منها ملون مثل: Berberine، منها ما يلون بالأصفر مثل: Magnophlorine، و منها ما يلون بالبرتقالي و مر الطعم مثل: Ephedrine [10]

القلويدات مركبات قاعدية تعطي أملاح مع أحماض و ذوبانيتها في مختلف المذيبات تتغير بدلالة pH وحسب الحالة القاعدية و الملحية.

- **<u>الحالة القاعدية:</u>** تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية (الأيثروالكلورفورم) وفي المذيبات العضوية القطبية (الكحولات) ولا تذوب في الماء .
- **<u>الحالة الملحية</u>**: لا تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية وتذوب في المذيبات العضوية القطبية و تذوب في الماء [8].

كما تتميز القلويدات بالسمية Toxicity العالية لشدة أنشطتها البيولوجية وقوة فعاليتها الفيسيولوجية[10].

II.6.2. فوائدها:

فوائد القلويدات للنبات:

- تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها يحميه من الحشرات الضارة.
- تأثر بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات للنمو(Plantgrouth regulators) [12] .

فوائد القلويدات للإنسان:

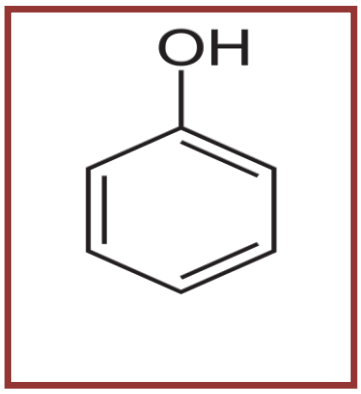
- مسكنة للآلام مثل: Hyoscin ، Morphime.
- موسعة للقصبات الهوائية مثل: Theophylline.
- مرخية للعضلات مثل: Tubocuraine.
- رافعة للضغط مثل: Ephedine، أو خافضة للضغط مثل: Reserpine.
- موسعة لحدقة العين مثل: Atropine، أومضيقة لحدقة العين مثل: Pilocapic.
- طاردة للديدان مثل: Pelletierine.
- مضادة لسرطان قلويدات Virca.
- مخدرة موضعية Cocaie.
- منبهة Caffeine.
- مدرة للبول Xanthines.

II.3.الفينولات:

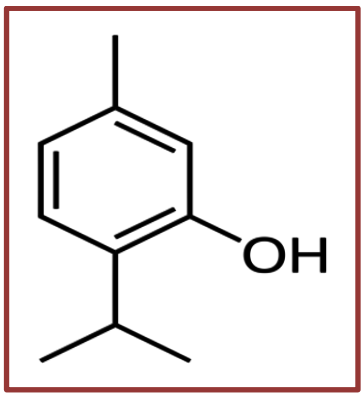
II.3.1. تعريف المركبات الفينولية:

تعتبر المركبات الفينولية من أهم المركبات النباتية لنواتج الأيض الثانوي، حيث تشكل حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها و لتباين الهياكل النباتية لها[13]، حيث تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة أو أكثر من الهيدروكسيل (OH) أو المرتبطة بأستر، إيثر أو جزيئة سكرية [14]، غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية، إذ أن هناك منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا و لكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphin) وبعض التربينات كالتيمول (Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية و مجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الإصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة[15]، وليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا يستوجب أن يكون على النحو التالي:

مشتق غير آزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى اصطنعت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأسيتات [16].



الشكل (1.II): *نموذج لمركب فينولي*



الشكل (2.II): نموذج لمركب غير فينولي

2.3.II. مصدر المركبات الفينولية :

تعد المركبات الفينولية نواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي، و تعتبر الفواكه و الخضروات من أهم المصادر لهذه المركبات فضلا عن كون هذه المركبات مصدرا غذائيا فإن لها تأثير فيزيولوجي[17]، كما تتواجد بصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار و الأوراق و ذلك بشكل إيتروزيدات تذوب في الماء، تتمركز في حوصلة الخلية، و تتواجد بصورة أقل في الخضر و الحبوب [18].

3.3.II. تصنيف المركبات الفينولية:

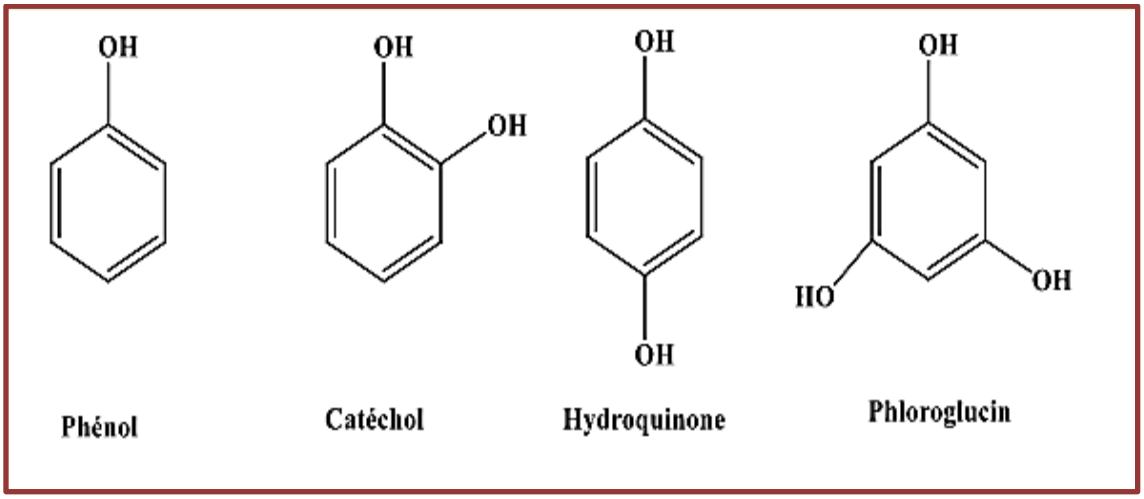
يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة و المتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء، و حسب البنية و عدد الحلقات الأروماتية و العناصر المرتبطة بها نلخص عملية التصنيف[19]-[20] في ما يلي :

الجدول (2.II) : تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها

الهيكل الكربوني الأساسي	الصنف
C_6	**الفينولات البسيطة Phénols simple**
C_6-C_1 C_6-C_3	**الأحماض الفينولية الكربوكسيلية Acidesphénols** • أحماض هيدروكسي بنزويك Acideshydroxybenzoïque • أحماض هيدروكسي سيناميك Acideshydroxycinnamiques
C_6-C_3	**الكومارينات Coumarines**
$C_6-C_3-C_6$	**الستلبينات Stilbènes**
$C_6-C_3-C_6$	**الفلافونويدات *Flavonoides*** • الفلافونات Flavones • الفلافونولات Flavonols • الفلافانولات Flavanolas • الفلافانونات Flavanones • إيزوفلافونات Isoflavones • أنثوسيانات Anthocyanes
$(C_6-C_3)_2$	**الليغنان Lignanes**
$(C_6-C_3)_n$	**اللغنين Lignines**
$(C_6-C_3-C_6)_n$	**التانينات Tannins** • تانينات قابلة للتحلل Tannins hydrolysables • تانينات مكثفة Tannins condenses

1.3.3.II. الفينولات البسيطة Phénols simple (C_6) :

هي مركبات ذات الهيكل (C_6) و التي تحوي حلقة بنزن مرتبطة بواحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل ومن ضمنها الفينول نفسه[21]. فهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات و**الشكل (3.II)**: بعض بنى الفينولات البسيطة[22].



الشكل (3.II): بعض بنى الفينولات البسيطة

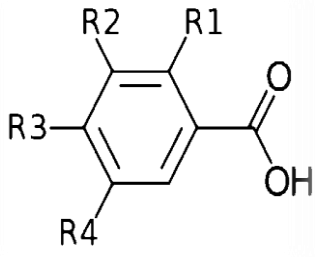
2.3.3.II. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acides phenols carboxyliques:

تطلق الأحماض الكربوكسيلية الفينولية على المركبات العضوية التي تحتوي على الأقل وظيفة كربوكسيلية COOH، و مجموعة هيدروكسيل فينولية OH[23]، و تنقسم إلى مجموعتين :

1.2.3.3.II. الأحماض الفينولية المشتقة من حمض النزويك (C_6– C_1)

الأحماض الفينولية (C_6–C_1) هي مشتقات هيدروكسلية لحمض البنزويك و تكون مجاميع الهيدروكسيل في حالة حرة أو مرتبطة بأستر أو سكر[16]-[24] .

الجدول (3.II): بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك

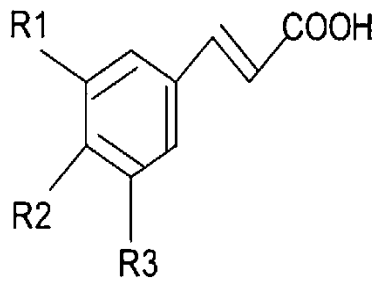
الاسم	R4	R3	R2	R1	الهيكلة الاساسية
Acide gallique	H	H	H	H	
Acide syringique	OCH_3	OH	OCH_3	H	
Acide protocatechine	H	OH	OH	H	
Acide vanillique	H	OH	OCH_3	H	

II.3.3.2.2. أحماض هيدروكسي سيناميك ($C_6 - C_3$) :

تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة ويعتبر حمض (Ferulic) وحمض (Caffeic) من الأنواع الرئيسية و الأكثر إنتشار [25] .

يتكون الهيكل الكربوني لهذه المجموعة من حلقة بنزينية إضافة إلى سلسلة جانبية من ثلاث ذرات كربون[24] .

الجدول (II .4) : بعض الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك



الاسم	R4	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Acide cinnamique	H	H	H	H	
Acide p-coumarine	H	H	OH	H	
Acideférulique	H	H	OH	OCH_3	
Acide sinapique	H	OCH_3	OH	OCH_3	

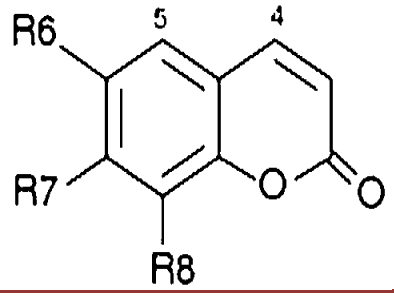
عندما يتأكسد حمض السيناميك في الوضع أورثو السلسلة الجانبية له وتكوين حلقة الاكتون مع نزع جزيئ من الماء سوف يؤدي ذالك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فيزيولوجيا أنشط الفينولات، فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات [25].

II.3.3.3. الكومارينات Coumarines ($C_6 - C_3$)

أشتق اسمها من Coumaro من قبل الباحث Vogal سنة 1820، وتعني فول التونكا [26]-[15]،

تعتبر الكومارينات مركبات طبيعية يتكون هيكلها الأساسي من حلقتين سداسيتين إحداهما عطرية والأخرى مغايرة [27] .

الجدول (5.II): بعض أنواع الكومارينات

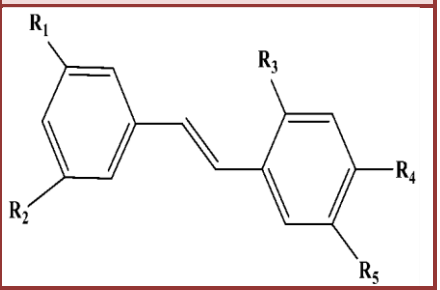


الهيكلة الأساسية	R6	R7	R8	الاسم
	H	H	H	Coumarine
	H	OCH_3	H	Herniarine
	OH	OH	H	Scopolétol
	H	OH	H	Umbelliferone

II.3.3.4.الستلبينات Stilbènes ($C_6-C_2-C_6$):

هي مركبات فينولية تحمي من الأشعة فوق البنفسجية، تحتوي على حلقتين عطريتين مرتبطتين ببعضهما بواسطة جسر إثيلينين و هيكلها هو ($C_6-C_2-C_6$)، تشكل نظام مترافق و هذه الميزة تعطي لها فعالية عالية نظرا للرنين الإلكتروني في الجزيء[28]-[29].

الجدول(6.II): بعض الأمثلة عن الستلبينات



الهيكلة الأساسية	R1	R2	R3	R4	R5	الاسم
	OH	H	H	OH	H	Resvératrol
	OH	OH	H	OCH_3	OH	Rhapontigenin
	OCH_3	OCH_3	H	OH	H	Pterostilbene

II.3.3.5. الفلافونويدات:

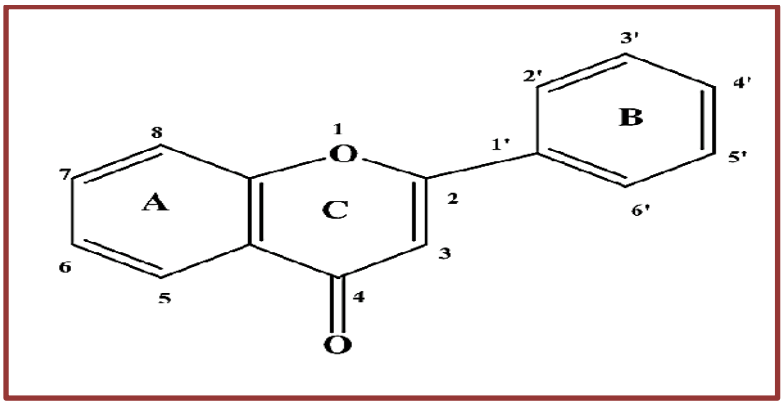
II.3.3.5.1. تعريف الفلافونويدات :

الفلافونويدات هي مركبات طبيعية من نواتج الأيض الثانوي، و هي عبارة عن صبغات نباتية تتواجد في الجزء الهوائي للنبات خاصة في الأوراق الأزهار، إذ تعطيها خاصية التلوين[30].

تشتق كلمة فلافونويدات من Flavus التي تعني أصفر في الاتينية، وهو المصطلح العام لمجموعة كبيرة من المركبات الفينولية التي عرفت لأول مرة من قبل العالم "Albert szent-gyorgyi" والذي صنفها على أنها فيتامين P[31].

تمتاز الفلافونويدات بصفة التعدد و التنوع، بالإضافة إلى اختلاف فعاليتها البيولوجية و أثر استهلاكها لدى الإنسان، هذا ما جلب إليها اهتمام الباحثين و المخبريين في مجالات عدة خاصة في الطب و التغذية[32].

الفلافونويدات عموما ذات كتلة جزيئية منخفضة تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة، تحتوي على ذرة أكسجين من الصيغة ($C_6- C_3- C_6$) كما هو موضح في **الشكل(4.II)**[33].



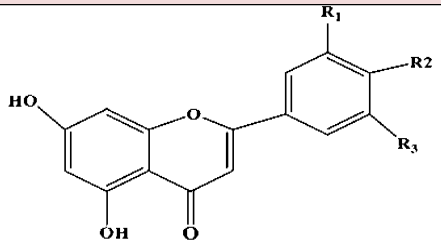
الشكل(4.II): الهيكل الأساسي للفلافونويدات

2.5.3.3.II. تصنيف الفلافونويدات:

تصنف الفلافونويدات حسب درجة تأكسد الحلقة C و نوع التحلق إلى عدة مجموعات، و يحدد نوع الفلافانويد داخل المجموعة الواحدة من خلال مستبدلات الحلقتين A و B[34].

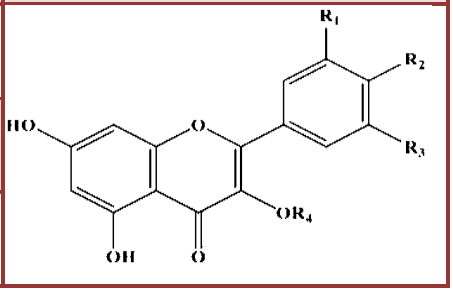
- **الفلافونات FLAVONES:** تحتوي الحلقة الغير متجانسة Pyrane على مجموعة كربونيل و رابطة غير مشبعةC_2-C_3، و ارتباط الحلقتين B و C انطلاقا من الكربون2[35] .

الجدول (7.II): بعض أنواع الفلافونات

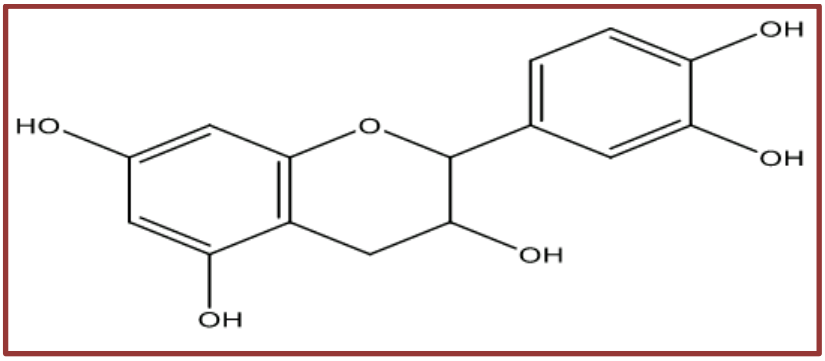
الاسم	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Acacètin	H	H	OCH_3	
Apigènine	H	OH	H	
Diosmètine	H	OH	OCH_3	

- **الفلافونولات Flavonols:** هيكلها الأساسي مثل الفلافونات بالإضافة إلى مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) في الموضع 3[35]-[36].

الجدول (8.II): بعض أنواع الفلافونولات

الاسم	R4	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Kaempfèroi	H	H	OH	H	
Quercètine	H	H	OH	OH	
Kyrecètine	H	OH	OH	OH	

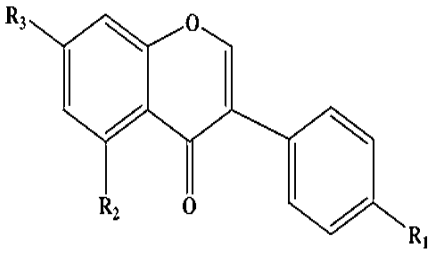
- **الفلافانولات Flavan 3-ols:** ارتباط الحلقة B يكون في الموضع 2 بالاضافة إلى مجموعة هيدروكسيل في الموضع 3 و تكون الرابطة C_2-C_3 مشعبة [37]، يتواجد بشكل أحادي مثل Catechi أو متعدد الوحدات مثل Proathocyanidine[38].



الشكل (5.II): بنية Catechin

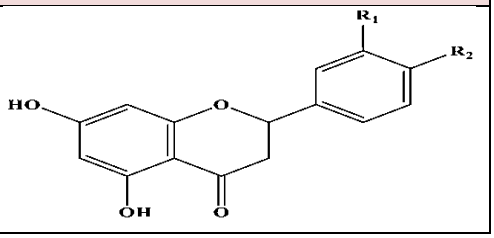
- **ايزوفلافونات Isoflavone :** لا تختلف في بنائها عن الفلافونات إلا بإختلاف إرتباط الحلقة B حيث ترتبط بالموضع (3)[39]-[40].

الجدول (9.II) : بعض أنواع ايزوفلافونات

الاسم	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Daidzein	OH	OH	H	
Formono	OH	H	OCH_3	
Genistein	OH	OH	OH	

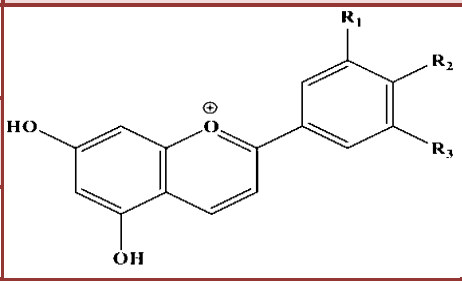
- **الفلافانونات Flavanoes:** تتميز الفلافانونات بغياب الرابطة الثنائية بين C_3 وC_2 إلى جانب وجود مركز كيرالي في الفلافونيدات الطبيعية[41].

الجدول (10.II) : أنواع الفلافانونات

الاسم	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Eriodictyol	OH	OH	
Naringènine	OH	H	
Hèsperitine	OCH_3	H	

- **أنثوسيانات Anthocyanes:** هي مركبات فلافونويدية تعطي بعد تأينها ألوان مختلفة من أجل قيم pH متنوعة، حيث تتواجد بكثرة في الأزهار و الفواكه، تختلف عن باقي الأقسام في الحلقة المركزية التي تكون على هيئة أيون البيريليوم (Ion pyrylium)، إذ يكون الأكسجين عبارة عن الأكسونيوم (Oxoium ionique) [13]-[41].

الجدول (II.11) : بعض أنواع أنثوسيانات

الاسم	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Cyanidine	H	OH	H	
Delphinidine	H	OH	H	
Pèlargonidine	OH	OH	OH	

II.3.5.3.3. خواص الفلافونويدات:

الفلافونويدات مركبات هيدروكسيلية تتصف بصفات و خواص الفينولات بحيث:

- مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة، تذوب في القواعد القوية مثل: هيدروكسيد الصوديوم.
- مركبات تحمل عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة تتميز بصفة القطبية، و عليه فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل الميثانول، الإيثانول و الماء.
- الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات و كذلك الفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفرم أو الإيثر[15].

II .4.5.3.3. أهمية الفلافونويدات:

فائدة الفلافونويدات بالنسبة للنبات:

- الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية حيث تتراكم الفلافونويدات في الطبقات السطحية للنبات، لتلتقط ما يقارب 90٪ من الأشعة فوق البنفسجية التي تصل إلى النبات لمنع الآثار الضارة لهذه

الإشعاعات على الأنسجة.

- طرد آكلات الأعشاب و ذلك من خلال الطعم المر التي تتميز به بعض الفلافونويدات[42].
- الفلافونويدات هي المركبات الملونة للأزهار و الأنسجة المتراكمة في النبات، و بذلك فأن لها دورا مهم في جذب الحشرات التي تساعد على عملية التلقيح، كما تدخل الفلافونويدات في عملية التمثيل الضوئي و نقل الطاقة[43].

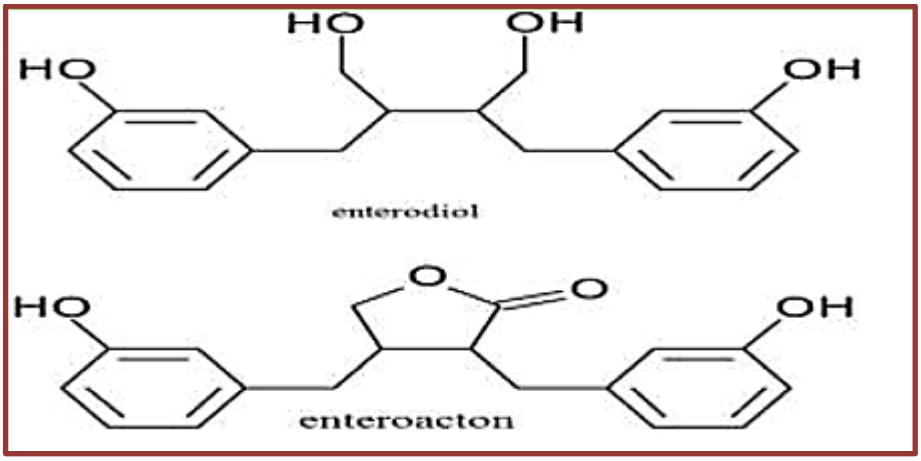
فائدة الفلافونويدات بالنسبة للإنسان:

- تملك الفلافونويدات فعاليات مفيدة واقية من الأمراض، حيث تتعلق الفعاليات البيولوجية للفلافونويدات بصيغتها الكيميائية و مواقع المستبدلات على هيكلها[43].
- تحمي الفلافونويدات من أضرار الأكسدة الناتجة عن الأشعة فوق البنفسجية و التلوث البيئي عن طريق الحد من تفاعلات الجذور الحرة التي تسبب أضرار الأكسدة.
- تقلل من خطر الإصابة بالسرطان، و تمنع نمو الخلايا السرطانية، كما تخفف أعراض الحساسية و إلتهاب المفاصل[44].
- تحمي من الجلطات الدموية، و تخفض نسبة الكليسترول في الدم.
- مضاد للجراثيم و الفيروسات خاصة الإيزوفلافونات.
- تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي.
- تقلل من حدوث مرض السكري[45].

II.3.3.6. الليغنان Lignane $(C_6-C_3)_2$:

هي مركبات تتكون من ثنائي وحداث الفينيل بروبانC_6-C_3، تنتج عن طريق تفاعل ديمرة Dimèrisation للفينولات المستبدلة و المشتقة من حمض السينناميك.

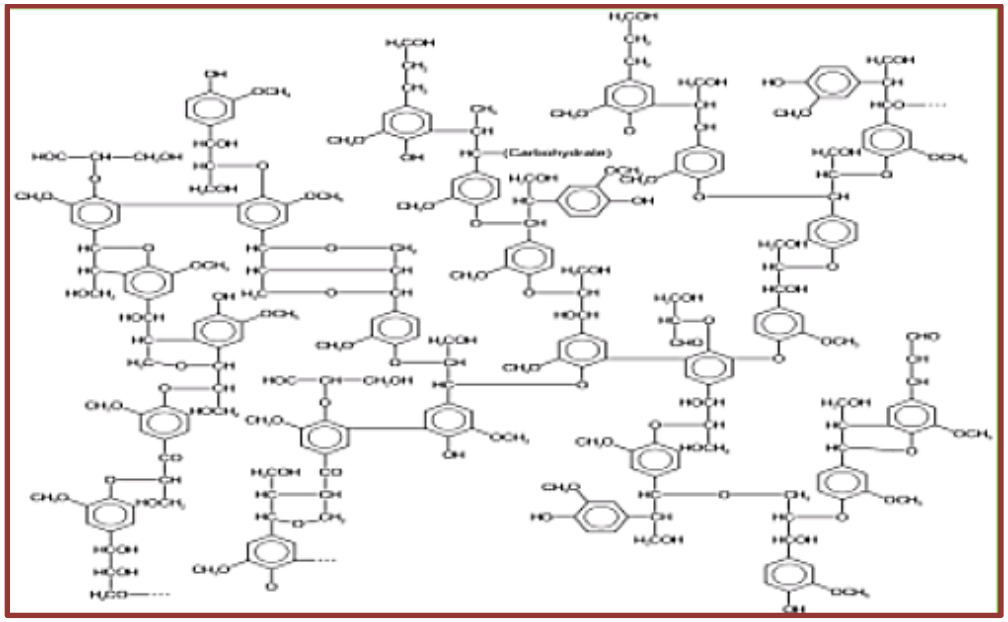
يوضح **الشكل (II.6)** : بعض أمثلة عن الليغنان[46].



الشكل(II .6): أمثلة عن الليغنان

II.3.3.7. اللغنين: Lignines (C_6-C_3)

اللغنين عبارة عن بوليمر معقد ثلاثي الأبعاد مكون من وحداث الفينيل بروبان Phenyl-prorane غير متبلور، حيث يساعد على صلابة النبات فهو يوفر الصلابة للجدار الخلوي، كما يمد الخلايا بالحماية ضد التلف الكيميائي، و قد وضع Nrish Freudenberg سنة 1968 تصور لتركيب اللغنين[28]-[47] كما في **الشكل** (7.II) :



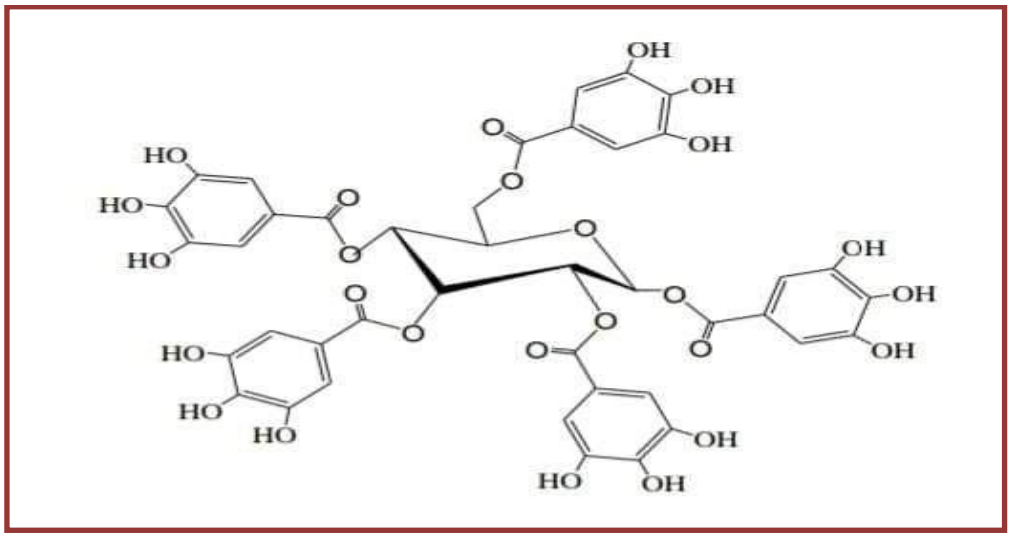
الشكل(7.II): بنية اللغنين.

II.8.3.3. التانينات Tannins :

التانينات أو ما تسمى بالعفص هي محتويات فجوية ذات خواص فينولية، تكون ذائبة أو مترسبة في خلايا النسيج الضام أو الحشوي للعديد من الأنواع النباتية، و من مميزاتها ترسيب البروتين ودباغة الجلود، تنقسم إلى نوعين[15]-[29] :

- **تانينات قابلة للتحلل Tannins hydrolysables :**

هي جزيئات معقدة لأسترات السكر (عديدة الهيدروكسيل) و عدد متغير من جزيئات حمض الفينول، ينتج شقا سكريا عند تحللها وفي أغلب الحالات يكون جلوكوز، و شقا فينوليا من حمض الغاليك[16]. و **الشكل(II.8)** : بنية تانين قابل للتحلل.

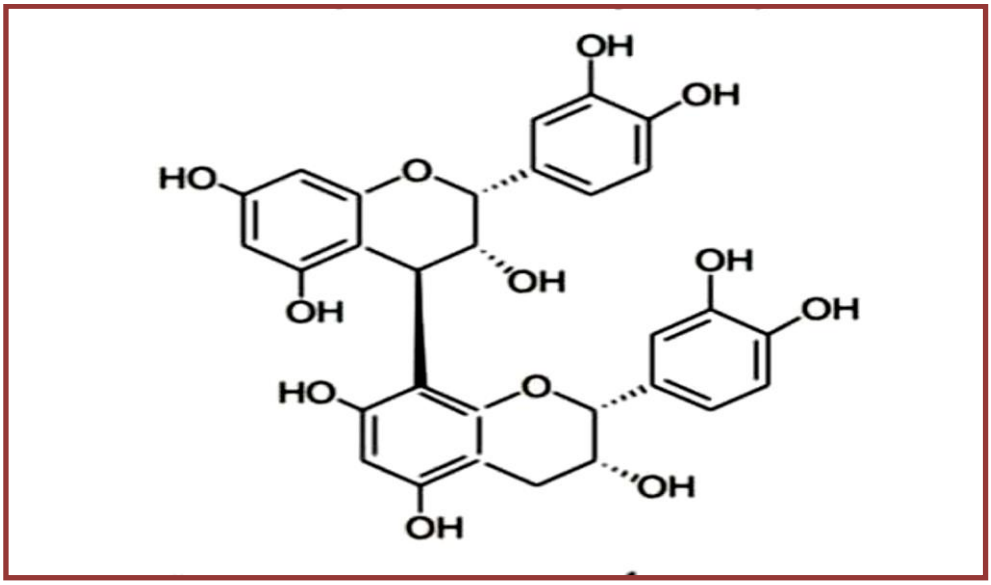


الشكل (II.8) : بنية تانين قابل للتحلل

- **تانينات مكثفة Tannins condensés :**

هي التانينات الاكثر أهمية، وهي مركبات فلافونويدية مكثفة في شكل بوليمار، و تتكون من وحدات الفلافانول (Catéchine)، ترتبط بروابط C–C وفي أغلب الأحيان تكون (C_4–C_8) أو (C_4–C_6) [22].

و **الشكل (II.9)** : بنية تانين مكثف



الشكل (9.II) : بنية تانين مكثف

4.3.II. أهمية الفينولات:

- تلعب دور في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا و الفطريات، فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية[15].
- تملك المركبات الفينولية خصائص مضادة الأكسدة، و تثبط عملية انتشار الجذور الحرة الناجمة عن التلوث[48].
- تملك الفينولات خصائص علاجية متنوعة، إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب و الصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة و على الإنسان خاصة، فهي تحمي الأوعية الدموية و مضادة للإلتهابات[49].
- تعمل على التقليل من نفاذية و هشاشة الشعيرات الدموية، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية و الوظيفية للشعيرات الدموية، و كذلك فإن لها دور مضاد للإلتهابات.

II.4. الزيوت الطيارة Les huiles essentielle :

II.4.1. تعريف الزيوت الطيارة:

الزيوت الطيارة هي مركبات تربينية أحادية و سيسكوتربينية نصف ثلاثية غير مشبعة ذات رائحة مميزة، تتطاير في درجة الحرارة العادية، تتكون من جزء هيدروكربوني Hydrocarbons و جزء أكسجيني مشتق منها، و هي مخلفات ينتجها النبات في عملية الأيض الضوئي، تتجمع الزيوت الطيارة داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية كما في العائلة الشفوية و تتفاوت نسبتها من نبات لآخر [50]-[51]-[52]

II.4.2. الصفات العامة للزيوت الطيارة:

تختلف الزيوت الطيارة للنباتات في تراكيبها الكيميائية، إلا أنها تشترك في بعض الصفات العامة[53]:

- سائلة عند درجة الحرارة العادية.
- عديمة اللون قبل تحللها أو تأكسدها.
- لها رائحة عطرية مميزة.
- لا تذوب في الماء، لكنها تذوب في مركبات عضوية أخرى كالإيثر و الكحول.
- لها معامل إنكسار ضوئي عالي و خاصية الدوران الضوئي الذي يعد أهم إختبار لمعرفة نوعية الزيت و نقاوته.
- أخف من الماء، و البعض منها يترسب بالتبريد تاركا جزء منها سائلا مثل: زيت الزعتر و النعناع.

II.4.3. تواجد الزيوت الطيارة:

تتواجد الزيوت الطيارة على هيئة مادة سائلة عند درجة الحرارة العادية، كما توجد بعض الزيوت التي تتواجد على هيئة مادة صلبة مثل: زيت اليانسون و زيت الورد.

تتجمع الزيوت في تراكيب وعائية مثل: الشعيرات الغدية في العائلة الشفوية Labiateae أو قنوات زيتية في العائلة السذابية Rutaceae [54]، كما أن التراكيب التي تحويها تكون مجهزة بجدران مناسبة تمنع تطايرها في درجة الحرارة العادية، حيث تتوزع الزيوت الطيارة توزيعا غير متجانس تبعا للنباتات، تمثل حوالي 60 فصيلة نباتية [55].

II.4.4. أهمية الزيوت الطيارة:

يتمثل دور الزيوت الطيارة في ما يلي[51]-[56]-[57]:

- إزالة نواتج العمليات الحيوية و طرحها خارج أنسجة النبات.
- جذب الحشرات مما يساعد على تلقيح الأزهار و زيادة الإنتاج.
- تعمل كعامل دفاعي للنبات ضد بعض الحشرات .
- لها دور في تنظيم نمو النباتات.

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[2] د.سمير عبد العظيم محمد عبد الجليل. (2014). المنتجات الطبيعية النباتي، الكيمياء و الاستخلاص و التنقية. الإسكندرية. ص25.

[3] حسن دندوقي. (1989). دراسة الميتابوليزمالفلافونيدي لنباتInulaviscosa. مذكرة ماجيستير في الكيمياء العضوية. جامعة قسنطيمة. ص 13.

[6] الحازمي ح. (1995). المنتجات الطبيعية. مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية. ص120-125.

[7] العابد إبراهيم. (2009). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران Traganeumnidatum. مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص106.

[9] أبو زيد ش. (2005). فسيولوجيا و كيمياء القلويدات في النباتات الطبية و أهميتها الدوائية و العلاجية. دار الكتب العلمية للنشر و التوزيع. القاهرة. ص496.

[10] الحسيني م، المهدي ت. (1990). النباتات الطبية زراعتها مكوناتها و استخداماتها العلاجية. مكتبة بن سينا للنشر و التوزيع و التصدير. القاهرة. ص176.

[12] زيدان حليمة. (2018). الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام المائي و الكحولي لأزهار شجر الرمان الحامض و الحلوPunicagranatum. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر في الكيمياء. تخصص كيمياء عضوية. جامعة الشهيد حمة لخضر. الوادي. ص19.

[15] بلفار آسيا. (2018). دراسة القدرة المضادة الأكسدة و للبكتيريا و للتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات(Limoniastrum). رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية و فعالية العينات الجزيئية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص14-15.

[17] زمالي جعفر. (2007). دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة الصحراويةSolanumNigrum. رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص تحضير عضوي و فيتوكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[21] خضرة عزوري. (2013). دراسة الليبيدات و الفينولات في بعض أنواع التمر المحلي. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص الكيمياء العضوية و فيزيوكيميائية الجزيئات. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص46.

[23] عثمان منال، واري بسمة. (2019). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الخام لثمار و بذور القناوية(Abelmoschusesculentus L). مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكادمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمة لخضر الوادي. ص19.

[25] ربيعي عبد الكريم. (2016). تقدير المحتوى الفينولي و الفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية. رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص84-85.

[29] تامة نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة(القلويدات، الفينولات، الفلافونويدات و التربينات الثلاثية) و النشاط المضاد للأكسدة و المضاد للميكروبات لنبات الباقل و الحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل تخرج شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي. ص 41-46.

[31] آيت كاكي فريد. (2011). فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي و دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلص خلات الإثيل لنبتة Origanumvulgare L. Sbsp. Glandulosum (Dest) letswaart، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء النبات. جامعة منتوري قسنطينة. ص11.

[34] عباس بن مرعاش. (2012). دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Convolvulus supinus .Coss. Kral (convolvalaceae). مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية فرع كيمياء النبات. جامعة منتوري قسنطينة. ص17.

[38] حوه إبراهيم. (2013). دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص21.

[41] عاشوري آمال. فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي(Forsk) Pulicara crispa. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم، تخصص كيمياء عضوية. جامعة منتوري قسنطينة. ص31.

[45] زيدان محمد. (2018). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان L.Punicagranatum مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح مرقلة.

[50] محمد المغازى أ. (2003). التداوي بالمنتجات العطرية، مجلة أسيوط للدراسات البيئية. العدد 38. ص 92.

[53] ميثاق ج. (2010). بحث و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Cathaedulis من العائلة asteraceae و نبات البوليكاريا Pulicaria من العائلة celastraceae و تقييم الفعالية البيولوجية. شهادة دكتوراه. جامعة منتوري قسنطينة. ص 59.

[54] حجاوي غ، حسين المسيمي ح ز، محمد جميل قاسم ر. (2004). علم العقاقير و النباتات الطبية، مكتبة دار الثقافة للنشر و التوزيع، عمان. ص 85–183 –285–293.

[55] حليس ح، بوقاعة و. (2012). استخلاص و تحليل الزيت لنبات السرو، مذكرة تخرج لنيل شهادة التعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبة الجزائر، ص 86.

[56] قطب حسين ف. (1981). النباتات الطبية زراعتها و مكوناتها، دار المريخ للنشر، الرياض، ص 63–76–83– 112.

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M. (2008). Traditional arabic Palestinian herbal medicine, TAPHM. TIL, Nablus, Palestine, Biodiversity and Environmental Research Center, BERC.

[4] Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K. A., &Haqqi, T. M. (2008). Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punicagranatum L) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE 2 production in human chondrocytes in vitro. Journal of inflammation, 5(1), 1-10

[5] Hurabielle, M. (1980). Abrégé de Matièremédicale, Pharmacognosie. Tome 1Généralité-monographie, 1ère partie. Ed.Masson,P:10-18,261-266.

[8] A. Hoggui . (2008). " Etude de l'activité antibactérienne de quelque plante sahariennes", Mémoire de Magister, Université de Ouargla, p4,5,8,16,19,23,24,34,36,37,39

[11] SaidRahal . (2009)."Chimie des produits naturels et des etres vivants", Alger ,p 63-78.

[13] Richter, G. (1993). Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. P: 328- 339.

[14] ELHAZIMI, H. (1995). les produits Naturelles. Université du Roi Saoud, Djada, P: 149190.

[16] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e éd.). Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris. p. 201.

[18] BENHAMMOU, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien (Doctoral dissertation). P: 174.

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

[20] Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 279-281. p.1120, 1288.

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

[24] Harborne, J. B. (1964). Biochemistry of phenolic compounds. Biochemistry of phenolic compounds.

[26] Lacy, A., &O'Kennedy, R. (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. Current pharmaceutical design, 10(30), 3797-3811.

[27] Hroboňová, K., Lehotay, J., Čižmárik, J., &Sádecká, J. (2013). comparison hplc and fluorescence spectrometry methods for determination of coumarin derivatives in propolis. Journal of LiquidChromatography&Related Technologies, 36(4), 486-503.

[28] Gabaston, J. (2018). Stilbènes de la vigne et d'essences forestières (pin, épicéa): Etude phytochimique et recherche d'activités anti-oomycète et insecticide (Doctoral dissertation). p46.

[30] Harborne, J. B. (1988). The flavonoids, advances in research since 1980. Chapman & Hall. London.

[32] Williams, C. A., & Grayer, R. J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. Natural product reports, 21(4), 539-573-678.

[33] Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). RecentAdvances in the Chemical Composition of Propolis. Molecules, 19(12), 19610-19632.

[35] Eyton, W. B., Ollis, W. D., Sutherland, I. O., Gottlieb, O. R., Magalhaes, M. T., &Jackman, L. M. (1965). The neoflavanoid group of natural products—I: Dalbegiones—A new class of quinones. Tetrahedron, 21(9), 2683-2696.

[36] Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. Plant foods for human nutrition, 59(3), 113-122.

[37] Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology&therapeutics, 96(2-3), 67-202.

[39] Ribéreau-Gayon, P.(1968). Les composés phénoliques des végétaux, dundo, Paris.

[40] McNaught, A. D. (1997). Compendium of chemical terminology (Vol. 1669). Oxford: Blackwell Science.

[42] MARFAK, A.G.(2003). Thèse de doctorat ,Université de Limoges.

[43] Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products, 63(7), 1035-1042.

[44] Zhou, J., Wang, L., Wang, J., & Tang, N. (2001). Antioxidative and anti-tumour activities of solid quercetin metal (II) complexes. Transition Metal Chemistry, 26(1-2), 57-63.

[46] Umezawa, T. (2003). Diversity in lignan biosynthesis. Phytochemistry Reviews, 2(3), 371-390.

[47] Bishopp, A., & Bennett, M. J. (2015). Plant biology: Seeing the wood and the trees. Nature, 517(7536), 558-559.

[48] Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutrition reviews, 52(8), 253-265.

[49] Mabry, T., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, Berlin . p. 13.

[51] Dubai, A.S.and Kholaidi,A.A. (2005). Medicinal and Aromatic Plants in Yemen, "deployment -components of effective - uses" Ebadi Center for Studies and Publishing. Sana'a - Yemen. p53-57.

[52] Hostettman, K. Potteray, O. and Wolfender, J.L.(1998). The potent of higher plants as a Source of new drugs. *Chimie*, 52, p 10- 17.

[57] Kupchan, S.M. and Hemingway, R.J. (1968). Chem. Ind.22.p.36.

الفصل الثالث

الفعالية البيولوجية

III. الفعالية المضادة للبكتيريا :

تمهيد:

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى التي لا يمكن ملاحظتها إلا بالمجهر، و لقد كان لاكتشاف المجهر الأثر الكبير في التعرف عليها، أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي "باستير" حيث عرف البكتيريا بمختلف أنواعها الهوائية و اللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر.

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

و لقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض المسببة لها، لكن العلوم الحديثة و التقدم السريع أظهر أن البكتيريا تلعب دورا مهم في الصناعات الغذائية و الدوائية و التخلص من المواد العضوية و غير العضوية و كذلك المعالجة الحيوية لمخلفات المزارع و استخدامها في إنتاج الطاقة[1].

III.1. البكتيريا:

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى إلا بالمجهر واسعة الإنتشار أحادية الخلية وهي بدائية النواة، تكون إما كروية أو عصوية أو حلزونية[2].

تستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة في جميع الأحوال غير الملائمة و الظروف البيئية القاسية من إرتفاع درجة الحرارة أو انخفاضها أو تغير درجة الملوحة، و عند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك و ترجع إلى نشاطها و حيويتها[3].

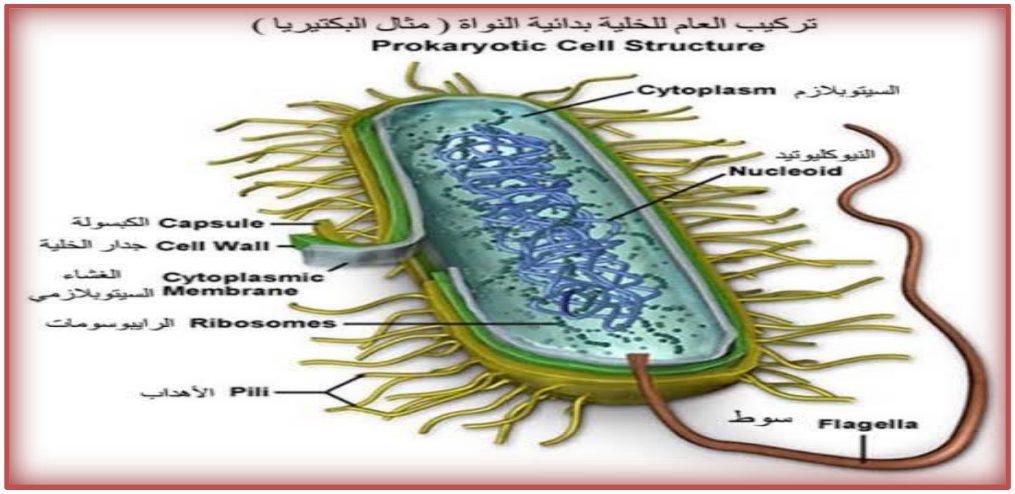
III.1.1. تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية binominal بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس genre والمقطع الثاني إلى نوع espace وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في Streptocoque Staphylocoque أو اسم المكتشف مثل *Escheriche.coli*. أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض

مثل (Cholerae) و (Vibrio Cholerae) أو مكان عزلها كما في *E.coli* تعزل في Une-cole أو قد يحمل صفات اللون مثل *Streptocoque aureus*[4].

III.1.2. بنية البكتيريا:

تتكون الخلية البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر على وجود أنواع معينة.



الشكل(III.1): تركيب الخلية البكتيرية

III.1.2.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية:

- **الجدار الخلوي Paroi cellulaire** :

جدار خلوي سميك و صلب[5] و هو الذي يعطي للخلية شكلها الثابت و المميز، كما انه يقوم بحماية محتويات الخلية الداخلية، يتركب الجدار من مادتين هما الكربوهيدرات و البيبتيدات[6].

- **الغشاء البلازمي Plasma membrane** :

غشاء رقيق له نفاذية اختيارية يحيط بسيتوبلازم الخلية، يقع تحت الجدار الخلوي و يبلغ سمكه 7.5 نانومتر. يتكون الغشاء من الدهون المفسفرة و البروتينات[5] .

- **السيتوبلازم Cytoplasm :**

يتكون من خليط معقد ومن مواد بروتينية و كربوهيدراتية و دهون و أحماض أمينية و أملاح وفيتامينات، توجد هذه المواد مذابة في الماء أو معلقة فيه. وظيفة السيتوبلازم أنها مركز العمليات الحيوية بالخلية، و يتكون حوالي 85٪ من وزنه ماء و 15٪ مواد صلبة، كما يحتوي على مواد غذائية مدخرة، و يوجد بالسيتوبلازم الريبوزومات و التي تمثل حبيبات من مادة ARN ، وظيفتها تكوين البروتينات التركيبية أو الوظيفية مثل الإنزيمات أو الهرمونات. كذلك يوجد بها حبيبات مكونة من ADN تحمل صفات جينية معينة و تعرف بالبلازميدات.

- **نواة بدائية Nucleoide:**

هي مادة تتواجد في المنطقة النووية من السيتوبلازم في بدائيات النواة غير محاطة بغشاء نووي، وهي عبارة عن جزيء طويل مفرد من ADN في صورة حلقية يرتبط ارتباط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسمى بالكروسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية على كرموسوم واحد[5].

III .2.2.1. المكونات الثانوية للخلية البكتيرية :

- **الهدبيات Ciliés :**

زوائد دقيقة جدا تسمى Pilli، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا العائلة وبعضها يعرف بالهديبات الجنسية التي تلصق ببعضها لاندماجها بأنوية من خلية أخرى، وهي مسؤولة عن ضروريات البكتيريا.

- **الأسواط Flagella :**

زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين أو من جميع سطح البكتيريا.

- **الحافظة Capsule :**

طبقة هلامية سميكة تحيط بالبكتيريا و تمنع إلتصاقها بالخلايا البلعمية (Phagocyte) لذلك فهي من العوامل الضرورية لبعض الأنواع، وتوجد في الثنيات الرئوية والجمر الخبيثة.

- **البذور Spores**:

تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميكا يحيط بالنواة وقليل من الستيوبلازم عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة المياه و الpH)، ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف فيتشقق جدار البذرة وتخرج منها النواة و تستعيد البكتيريا شكلها، مثل الجمر الخبيثة وكلوستريديا الغرغرينا الغازية، وهذه البذور البكتيرية تقاوم حتى درجة121°م على عكس البكتيريا الخضرية التي لا تقاوم حتى درجة100°م[6].

III .3.1. تصنيف البكتيريا:

تختلف البكتيريا من حيث البنية و شكل الخلايا و القدرة الإمراضية و تختلف أيضا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة و إنتاج الغازات وفي إفراز السموم و الإنزيمات، وكذلك حساسيتها للمضادات الحيوية، هذه الاختلافات أظهرت طرقا حيوية متعددة لتمييز البكتيريا، حيث تم تصنيفها كالتالي:

III .1.3.1. من حيث توزيع أسواطها:

- بكتيريا وحيدة السوط.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل الخلية.

III .2.3.1. من حيث الشكل:

- البكتيريا العصوية (Bacilli): التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.
- البكتيريا الكروية (Cocci): التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.
- البكتيريا الحلزونية (Spiral): التي تأخذ الشكل الحلزوني.
- البكتيريا الواوية (Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية[7].

III .3.3.1. من حيث الوسط التي تعيش فيه:

- بكتيريا هوائية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي حيث يعتبر المصدر الرئيسي لتسمم المواد و الأغذية.

- بكتيريا لاهوائية إجبارية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش في غياب الهواء الجوي.
- بكتيريا لاهوائية إختيارية (Anaerobic Facultative): وهي البكتيريا التي تستطيع العيش في وجود الهواء الجوي أو عدمه[8].

III .4.3.1. من حيث التغذية:

- بكتيريا ذاتية التغذية: هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- بكتيريا عضوية التغذية: هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر[7].

III .5.3.1. من حيث طريقة التلوين(GRAM):

يفسر الاختلاف بين البكتيريا في تركيب جدار الخلية بالتلوين، حسب تقنية غرام(GAM) نسبة للعالم البلجيكي J.Gram المكتشفة سنة 1884 م، حيث قسمة إلى نوعين:

- بكتيريا (Gram positive): و يرمز لها بالرمز +Gram عند تلوينها تمتص اللون و تظهر أرجوانية.
- بكتيريا (Gram nègative): و يرمز لها بالرمز –Gram لا تمتص أو قليلة الامتصاص و تحرر صبغا و تظهر حمراء.

يظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (Gram positive) أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (Gram nègative)[9]-[10].

III.6.3.1. من حيث الأثر على الإنسان:

- **البكتيريا النافعة (Beneficialbacteria)**

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان و الحيوان و البيئة، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام و يفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة، وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، و يلعب دورا هاما في غذاء النبات، إذ يقوم 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، وكذا

المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات و الحيوان. لا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا إنتاج عمل البكتيريا النافعة.و حديثا تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي و حماية التلوث.

- **البكتيريا الإنتهازية (Opportunisticbacteria):**

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب تهاجم الجسم متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديدا من الأمراض، و ذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو إلتهاب اللوزتين.

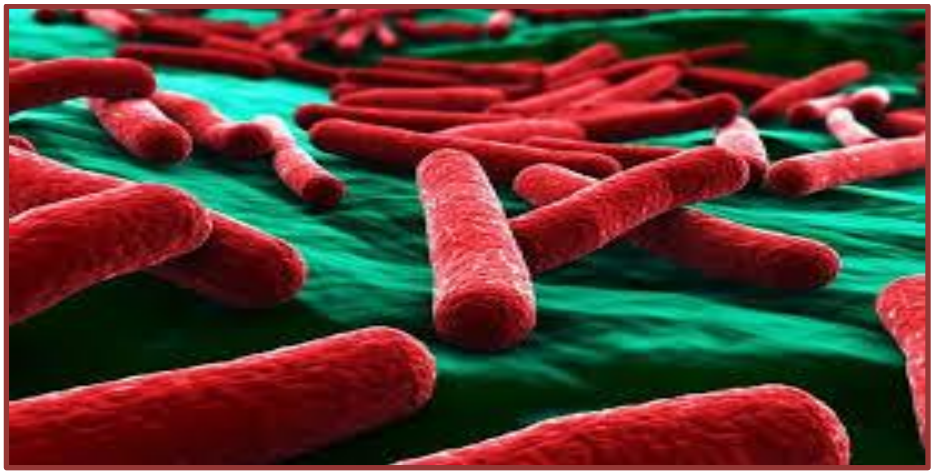
- **البكتيريا الضارة (Pathogenicbacteria):**

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراض و مشاكل صحية عديدة، و ذلك على نحو ما يحدث في أمراض السل و الكوليرا و التيفود و السعال الديكي و السيلان [11]، و من بين البكتيريا الضارة و المسببة الأمراض:

✓ **إشيريشياكولي (*Escherichiacoli*)** : هي بكتيريا ذات –Gram، و التي تنتمي إلى:

الجدول(1.III): التصنيف العلمي *E.Coli*

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



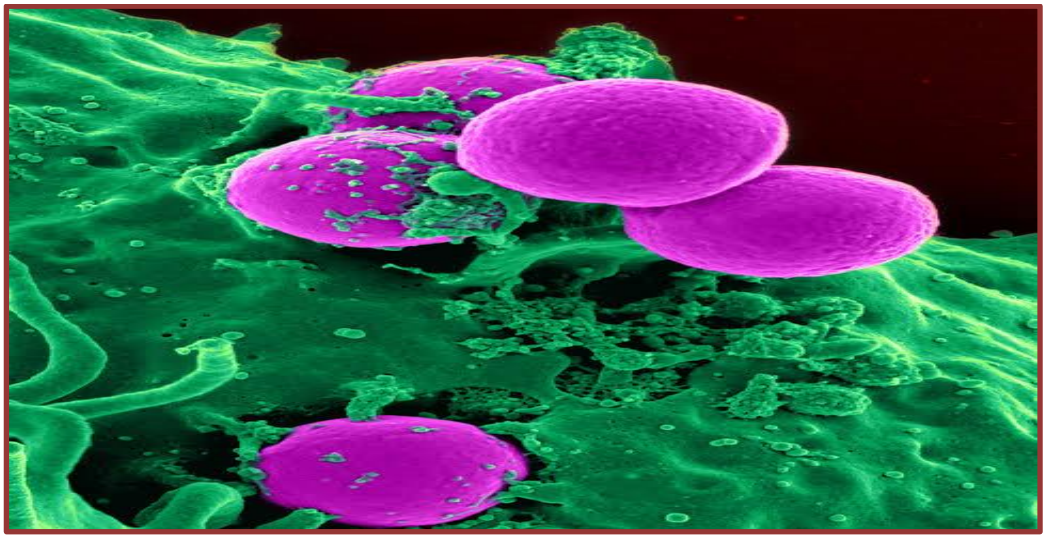
الشكل(III..2): صورة بالفحص المجهري ل *E.Colil*

هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، و أبعادها من 1 إلى 3 ميكرومتر، هوائية و لاهوائية وتنمو بسرعة في وسط عادي، تكون متحركة على شكل عصيات مسببة للمرض، ومن بين هذه الأمراض: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، إلتهاب السحايا و تسمم [12]-[13].

✓ **ستافيلوكوكيز أروز (*Staphylococcus aureus*)**: هي بكتيريا ذات Gram+ تنتمي إلى:

الجدول(2.III): التصنيف العلمي ل *St. a*

التصنيف النباتي	
Bacteria	المملكة
Firmicutes	التصنيف
Bacilli	القسم
Bacillales	الرتبة
Staphylococcaceae	العائلة
Staphylococcus	النوع
Staphylococcusaureus	الصنف



الشكل(III.3.): صورة بالفحص المجهري ل *St. a*

هي بكتيريا كروية الشكل عديمة الحركة، تكون على شكل عناقيد مكومة قطرها حوالي 1ميكرومتر. تتواجد عند الجلد و الأمعاء و الجهاز التناسلي و على الوجه، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر و هي المسؤولة عن تشكل الصديد، مسببة للعديد من الأمراض من بينها إلتهابات جلدية خطيرة و التهابات الرئتين وتسمم الدم و غيرها[14]-[15].

III.2. المضادات الحيوية:

III.2.1. تعريف المضادات الحيوية:

استعملت كلمة المضادات الحيوية لأول مرة من طرف العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يقتل تحتها كائن حي من طرف كائن حي آخر ليحتفظ هذا الأخير بحياته و وجوده، و في سنة 1945 عرفها Waksman بأن الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية تؤثر سلبا عن الميكروبات[16].

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية إلى قسمين:

III .1.2.2. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها وهذا ما يساعد على القضاء عليها مثل: سلفوناميد، كلوارمفينكول.

III .2.2.2. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها و انفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل: أمبسلين، جنتاميسين، بنسلين.

III .3.2. تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب، أو كبح الميكروبات، و قد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب(Cell Wall)، أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين (ProteinSynthesis)[18].

III .1.3.2. العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط Transpeptiase هذا ما يمنع من تركيب Peptidoglycane، و هذا يوقف نموها و عملها.

III.2.3.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، و يسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا، و هذا ما يسمح بتدميرها[19].

III .3.3.2. العمل على تثبيط نموADN:

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN، و يعمل على التثبيط الأيضي لنمو ADN البكتيريا مما يمنع الخلية من الانقسام و تكوين الإنزيمات الخاصة بذلك [18]-[19].

III.2.3.4. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمى:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على الغشاء الستيوبلازمي مما يؤدي إلى فقد الستيوبلازم الكروموزومي[20].

III.2.4. المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

III.2.4.1. تعريف المقاومة:

هي قدرة الميكروبات (البكتيريا ، الفطريات ، الفيروسات و الطفيليات) الممرضة على البقاء والتأقلم بشتى الطرق لملائمة البيئة المحيطة على الرغم من إعطاء أكثر من نوع من المضادات الحيوية [11].

III.2.4.2. أسباب مقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

تكون المقاومة على شكل طفرة جينية تلقائية أو مكتسبة أو اكتساب جين مقاوم من بكتيريا أخرى حتى وإن كانت من سلالة أخرى وذلك عن طريق عملية نقل الجين الأفقي (Horizontal genetransfer) ويعود سبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات بسبب التعرض الكثير للمضادات الحيوية و صرفها بدون وصفة طبية، وبالتالي ظهور أجيال جديد من البكتيريا المقاومة والذي يدعو إلى استخدام خطط علاجية بديلة [11].

III.2.4.3. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

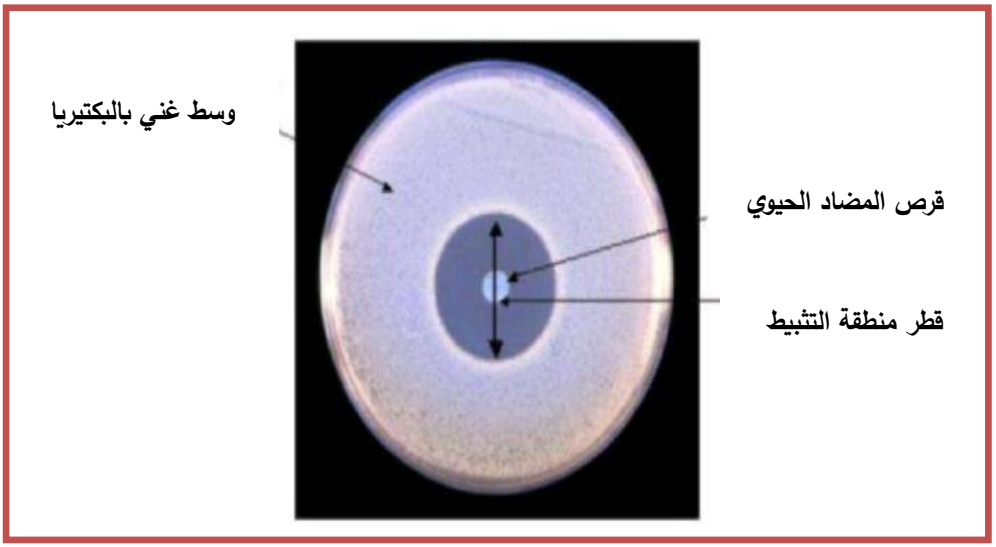
III .2.4.3.1. خواص الجذمة البكتيرية:

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

III .2.4.3.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير تركيز(جرعة) المضاد الحيوي القادر على إحداث هذا التأثير، نلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار

على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بور واتمان الذي يشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا) و توضع في أحواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح، و تعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا و هذا راجع لسهولة تحقيقها، و تعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الأخرى، و بالمقابل تعطي نتائج جيد حيث مكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي [21] .



الشكل(4.III): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

- ✓ **طريقة التمديد:**

تعتمد على إجراء تخفيف متدرج للمضادات الحيوية في أنابيب إختبار او تخفيف الآجار في الاطباق ثم زرع الميكروب، ويتم تحديد أقل جرعة مثبطة لنمو الميكروب CMI و بالطبع المضاد الحيوي ذو أقل CMI هو الذي يتم إختياره بعد النظر في ظروف المريض [20].

3.III. الجذور الحرة ومضادات الأكسدة:

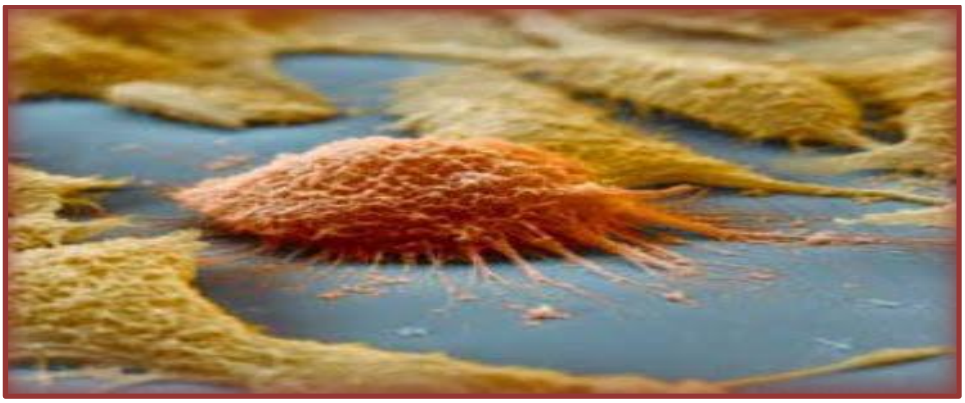
للجذور الحرة دورا كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية. وعلى ذلك يتركز الاهتمام على دارسة

مضادات الأكسدة (Les antioxydant) داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضرار الجذور الحرة [23].

III .1.3الجذور الحرة:

III .1.1.3.تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية تملك إلكترونا حرا أو أكثر في مدار التكافؤ [24]، وتكون معظمها شديدة الفعالية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة إقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي تتولد هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسيطية شديدة الفعالية، تتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات التسلسلية و التفاعلات المتعاقبة و بعض التفاعلات الأخرى مثل: البلمرة، التفاعلات الضوئية و التفاعلات المحدثة بتسليط الأشعة الكهرومغناطيسية والدقائق الإشعاعية الأخرى [25].



الشكل(III.5): صورة بالفحص المجهري للجذور الحرة

III .2.1.3. أنواع الجذور الحر:

تنقسم الجذور الحرة بصورة عامة من حيث استقرارها إلى نوعين:

III .1. 2.1.3. الجذور النشطة أو غير المستقرة:

و هي الجذور التي تقدر أعمارها بالميكرو ثانية و أقل تصل حتى بالبيكو ثانية، ويشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل: ذرات الهيدروجين، النيتروجين، الفلور، الكلور، البور، اليود و الجذور التي لها وزن

جزئي صغير بصور عامة مثلا المثيل (CH_3)، الإيثيل ($C2H_5$)، الفينيل (C_6H_5)، الهيدروكسيل (OH) وطاقة تنشيطها تقترب من الصفر [26].

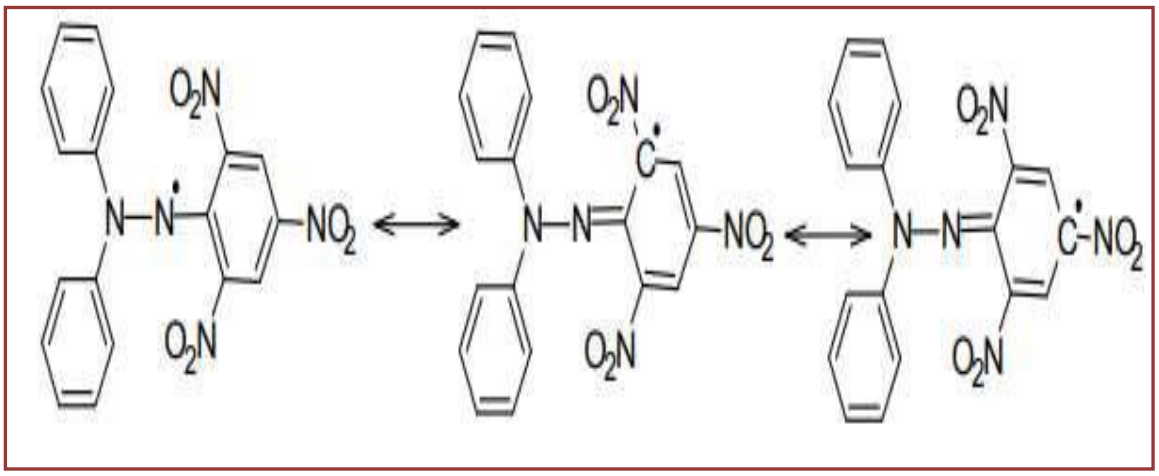
III.3.1.2.2.الجذور الحرة المستقرة:

حيث يقدر أعمار حياتها بالثواني أو الدقائق أو الساعات وحتى بالأيام مثل جذر

2−diphényl-1-picrylehydrazyle (DPPH) [27].

✓ الجذر DPPH:

هو عبارة عن مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يعطي لون برتقالي مصفر عند استقراره، يبقى مستقر لعدة أيام و ذلك لوجود الحلقات الأروماتية تشمل تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزيئي ، وهذا يعني عدم تمركز الإلكترون المنفرد بموقع معين في تركيب الجذر [27]-[28].



الشكل(III.6): البنيات الرنينية في جزيء DPPH

III.3.1.3. فعالية الجذور الحرة:

معظم الجذور الحرة على درجة عالية من الفعالية وعادة لا يمكن فصلها، وفي بعض الأحيان لابد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور، و طاقات التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية تقرب من الصفر غالبا، و مع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوحدتين مع

بعضهما البعض. و مثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار، و ينطبق هذا التفاعل على خطوة الإيقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على الاتحاد بين الجذور السريعة [25]-[29].

III.4.1.3. أضرار الجذور الحرة:

الجذور الحرة تتكون بشكل دائم داخل الجسم، و يمكن الضرر عندما يكون تركيزها في الجسم يفوق قدرتها على التعامل معها و حذفها، فكلما زادت الجذور الحرة كانت قدرتها على اختراق غشاء الخلية ونفاذها إلى الداخل أكبر و ذلك بتفاعلها مع الدهون الفسفورية و الأغشية الخلوية و تصل إلى الميتوكندريا و الكروموزومات وينتهي الأمر بتدمير الخلايا، رغم أن الخلية لديها حماية ذاتية و خط دفاعي بإفرازها مضادات الأكسدة الذاتية و الإنزيمات التي تفرزها الخلايا، مما ينجر على ذلك أضرار أهمها:

- ظهور الشيخوخة نتيجة ضعف وضائف الخلايا والأنسجة بسبب التعرض للجذور الحر.
- أمراض جلدية، أمراض الكلى و إضطرابات عصبية.
- أمراض الجهاز الهضمي والتمثيل الغذائي.
- أمراض العيون و اضطرابات في الرؤية.
- أمراض القلب والأوعية الدموية [30].

III .2.3. مضادات الأكسدة:

III .1.2.3. تعريف مضادات الأكسدة:

هي مركبات ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تقويضها لتستقر، وتمنع بذل التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم، إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط التي تسببه ذرت الأكسجين الشاردية لحماية خلايا الجسم ، وإما لأنها تمنع تكوين الجذور الحر أو أن تصلح الضرر الناتج عنها وهي عبارة عن موردات لذرات الهيدروجين إذ أنها تتحد مع الجذر الحر و تحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$ROO^{\cdot} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\cdot}$$

$$AH^{\cdot} + AH \longrightarrow A^{\cdot} + AH_2^{\cdot}$$

و الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة، كما تستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة [31]-[32].

III.2.2.3. أقسام مضادات الأكسدة :

تقسم مضادات الأكسدة من حيث مصدرها كالتالي:

III.1.2.2.3. مضادات الأكسدة الطبيعية:

هي مضادات تنتجها المادة الحية كالإنزيمات و الفيتامينات و تنقسم إلى قسمين [28]:

- **مضادات الأكسدة الإنزيمية :**

تعتبر مضادات الأكسدة الإنزيمية خط دفاع أول للجسم ضد الجذور الحرة وتعد أحد الأنظمة الخلوية المضادة للأكسدة، تعمل على التخلص من بقايا الأكسجين الأحادي وتوجد بصورة مؤكسدة أو مختزلة، حيث تلعب هذه الانزيمات دورا فعالا في وقاية الجسم من التأثير المدمر للجذور الحرة وينتج الجسم بعض الانزيمات المضادة للأكسدة أهمها:

- ✓ إنزيم Superoxidedismutase (SOD)
- ✓ إنزيم Catalase(CAT)
- ✓ إنزيم Glutathion peroxidase (GPx)
- ✓ إنزيم Glutathion reductase(GR) [33]

- **مضادات الأكسدة غير الانزيمية:**

على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية، معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف الجهاز العضوي للجسم و قد يأتي من الأغذية [34]، تشمل هذه المركبات كل من المواد الكبريتية، عديدات الفينول، الفيتامين C و الفيتامين E و غيرها [35].

III.3.2.2.2. مضادات الأكسدة الإصطناعية:

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافتها للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد و ذلك لتأكسدها قبل غيرها منها :

Buthylhydroxyltoluéne(BHT) و Buthylhydroxylanisole(BHA) و حمض الغاليك [36].

III .3.2.3. آلية عمل مضادات الأكسدة:

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية، الدهون، البروتينات و الجزيئات الحيوية الأخرى.

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، كما يجب تجنب العوامل التي تزيد من تعرضها للجذور الحرة و تزيد من إنتاج أجسامنا لها، بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات و الفواكه [37].

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] العابد إبراهيم. (2009). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران. مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص36-106.

[3] د.محمد عبد المحسن معارج. (1995). وراثة الأحياء الدقيقة. شركة الشهاب للنشر و التوزيع. ص18-20.

[5] د. رافت حسن عبد الوهاب، د.فضاءأدعيج العون. (2018). تصنيف عالم نبات و الأحياء الدقيقة. شركة دار العلم للنشر و التوزيع. الكويت.

[6] مجلة العلوم. (1999). تحديات المقاومة البكتيرية. العدد15.

[9] أبو الذهب، الكشير ح. القزاز س. عاية ش. (1977). البكتيريا. دار المعارف. الجزء الأول. ص 20.

[11] تامة نور الدين. (2018). الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات، الفينولات والفلافونويدات والتربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير التي تنمو في جنوب شرق الجزائر. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي.

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

[20] زيدان محمد . (2018). دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان Punicagranatum L. مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. تخصص علوم الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[23] بن مرعاش عباس. (2012). دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة (convolvalaceae) Convolvulus supinus .Coss. Kral. مذكرة ماجستير. جامعة الإخوة منتوري قسنطينة.

[24] بلفار آسيا. (2018). دراسة القدرة المضادة للأكسدة و للبكتيريا و للتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات (Limoniastrum). رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه. ل.م.د، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية و فعالية العينات الجزئية. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص17.

[25] م.بوقوادة. (2008). دراسة فيتوكيميائية للبيدات و الفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي. مذكرة ماجستير. جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[26] الخطيبر. (2014). علم العقاقير(التانينات و الكومارينات). كلية الصيدلة للسنة الثالثة. ص20.

[27] علي عبد الحسين سعيد. (2001). كيمياء الجذور الحرة. دار المسيرة للنشر و التوزيع و الطباعة. عمان(الأردن). ط1. ص15-18.

[28] حوة إبراهيم. (2013). دراسة الفعالية لبعض العائلة الشفوية الفعالية ضد الأكسدة. مذكرة ماجسترفي الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[29] موريسون وبويد، ترجمة فاروق قنديل و صلاح القادري. (2000). الكيمياء العضوية، منشورات المركز العربي للتعريب والترجمة و التأليف و النشر، دمشق.

[30] بلقاسم عبد الوهاب. (2017). دراسة الزيوت الأساسية، المركبات الفينولية و فعاليتها البيولوجية في بعض الأنواع التابعة للفصيلتين: السذبية Rutaceae و المركبة Compositae. مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم، تخصص كيمياء نباتية. جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي. ص86.

[31] أل دبليو. أوراند، أي أيوودز، ترجمة د.عادل جورج ساجدي ود. علاء يحيى محمد علي. (1983). كيمياء الأغذية، جامعة البصرة. ط1.

[32] د.باسل كامل دلالي، د. كامل الركابي. (1981). كيمياء الأغذية. دار الكتب للطباعة و النشر جامعة الموصل.

[37] بديار خلود. (2018). دراسة تأثير المذيبات على التركيب الكيميائي لمستخلصات نبتتي الكرفس LApimumgraveolens و البقدونس petroselinumcrispiu. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكادمي في الكيمياء. تخصص كيمياء عضوية. جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي. ص39.

المراجع باللغة الفرنسية:

[2] Parreno, K. (2013). Development and assessment of pomegranate (Punicagranatum.L) derived food produts. Rich in bioactive phytochemicals. Thésedoctora.

[4] J.P.Euzeby:Abrégé de Bacteriologie Générale Médicale, à l'usage desétudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas.

[7] Courvalin, P. (1992). Interpretive reading of antimicrobial susceptibility tests. Molecular analysis and therapeutic interpretation of in vitro tests to improve antibiotic therapy. ASM American Society for Microbiology News, 58(7), 368-375.

[8] bactériologie. DCEM1 2002-2003. Université Paris-VI. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie.

[10] Leclere, H. Izard D., Husson M.O., Watter P,. Jakbezak E. (1983). Microbiologie généraleNouvelle édition. Doin édition-paris.

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

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

Staphylococcus, Un article de Wikipédia, l'encylopédielibre. (Juillet 2007).

[15] Ayodeji, A., &Omoniyi, A. (2009). Multi-drug resistant Staphylococcus aureus in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria. International Journal of Medicine and Medical Sciences, 1(3), 068-072.

[16] Ericsson, H. M., &Sherris, J. C. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta pathologica et microbiologicascandinavica, (Suppl. 217). pp. 90,217.

[18] Guérin-Faublée, V., &Carret, G. (1999). L'antibiogramme: principe, méthodologie intérêt et limites. Journéesnationales GTV-INRA, 5-12.

[19] Sharan, R., Chhibber, S., & Reed, R. H. (2011). Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholerae in copper water storage vessels. BMC infectious diseases, 11(1), 204.

[21] Baurer, A. W., Kirby, W. M., Sherries, J .C., &Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J clinpathol, 45, 493- 496.

[22] Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., &Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT-Food Science and Technology, 36(7), 679-684.

[33] Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico- biological interactions, 160(1), 1-40.

[34] Karthikeyan, J., & Rani, P. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in selected Piper species.

[35] Tessier, F., &Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & sports, 10(1), 1-13.

[36] Ionita, P. (2005). Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species. Chem Pap, 59(1), 11-16.

الجزء العملي

الفصل الرابع

الطرق و الوسائل

مدخل:

أظهرت الكثير من الدراسات أن نبات الزعتر البري غني بالمواد الفعالة، كما يحتوي على مركبات فينولية و قلويدية و تربينية[1] ، و لهذا قمنا في هذه الدراسة بالكشف عن المنتجات الفعالة و استخلاصها ثم حددنا كمية المركبات الفينولية والقلويدية و التربينية الكلية، وتم التطرق للتحليل الكمي و النوعي لمنتجات الأيض الثانوي و تحديد مجموع المركبات الفينولية في المستخلص بجهاز الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية، و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية، هذا العمل تم على مستوى مخابر الكيمياء كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي.

كما تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات النباتية على سلالتين من البكتيريا، هذا العمل تم على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية.

1.IV. جمع عينات النبتة المدروسة (الزعتر البري):

تعتبر عملية القطف أهم خطوة في استخلاص المادة الكيميائية الفعالة، و هذا يعود لكونها تتأثر بمجموعة من العوامل، و من أبرزها:

1.1.IV .مرحلة الجمع:

تعتبر مرحلة قطف و جمع النبات من أهم خطوات الاستخلاص، حيث تم قطف نبات الزعتر البري لمنطقتي قالمة (بوشقوف) و سوق أهراس(عين السلطان) في فصل الربيع(شهر مارس) وهو وقت إزهاره، الذي ينمو في منطقة البحر الأبيض المتوسط و السهول العليا [2].

2.1.IV. مرحلة التجفيف:

يغسل النبات بالماء المقطر و ينقى من الطفيليات، و يتم تقسيمه إلى أجزاء صغيرة لكي تسهل عملية التجفيف، ويوضع على قطعة من القماش مع تقليبها و تركها لمدة أسبوعين حتى الجفاف، ثم يتم جمعها و طحنها[3]-[4].

قبل بـعـد

الشكل(1.IV): عملية التجفيف و الطحن.

3.1.IV.الحفظ:

بعد سحق المكونات في الهاون يتم حفظها في أوعية زجاجية محكمة بالغلق، و يجب التأكد من عدم تعفن النبات.

2.IV. الأجهزة و المواد المستعملة:

1.2.IV. الأجهزة:

- جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية (Spectrophotomètre UV-Visible)
- جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)
- جهاز كليفنجر (Clevenger)
- مخلاط مغناطيسي
- ميزان إلكتروني حساس
- مضخة
- جهاز HPLC
- جهاز Voltalab

IV.2.2.المواد:

- حمض الغاليك (A.G)
- محلول الكرسيتين
- محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم(2% $AlCl_3$)
- محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2CO_3)
- كاشف فولين (Folin)
- هكسان (Hexane)
- حمض الأسكوربيك
- ميثانول (MeOH)
- إيثانول (C_4H_9OH)
- إيثر بترولي (R-O-R')
- محلول الأمونياك (NH_3)
- حمض كلور الماء (HCl)
- كلوريد الزئبق ($HgCl_2$)
- المغنزيوم (Mg)
- كلوروفورم($CHCl_3$)
- كاشف ماير(Mayer)
- DPPH
- DMSO

✓ المستخلصات المدروسة:

- مستخلص الفينولات لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة (A).
- مستخلص الفينولات لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس(B).
- مستخلص القلويدات لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة (C).
- مستخلص القلويدات لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس(D).
- مستخلص الزيوت الطيارة لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة(E).
- مستخلص الزيوت الطيارة لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس(F).

IV.3. الكشف الكيميائي عن بعض المواد و المركبات الكيميائية في الزعتر البري:

- **المستخلص الكحولي:**

نأخذ وزن قدره 5g من مسحوق الزعتر البري و نقوم بنقعه في حجم قدرة 20 ml من الإيثانول (80%) لمدة 24 سا في درجة حرارة المخبر مرفوق بعملية الرج، يرشح المزيج بواسطة ورق الترشيح و نستخدم هذه الرشاحة في الكشف الكيميائي[5].

- **المستخلص المائي:**

نأخذ وزن قدرة 2g من مسحوق الزعتر البري و نقوم بنقعه في حجم قدرة 20ml من الماء المقطر المغلي، مصحوبا بالرج لمدة 24 سا، يرشح المزيج بواسطة ورق الترشيح و نستخدم هذه الرشاحة في الكشف الكيميائي[5].

IV.3.1.الكشف عن القلويدات:

IV.3.1.1. تحضير الكاشف:

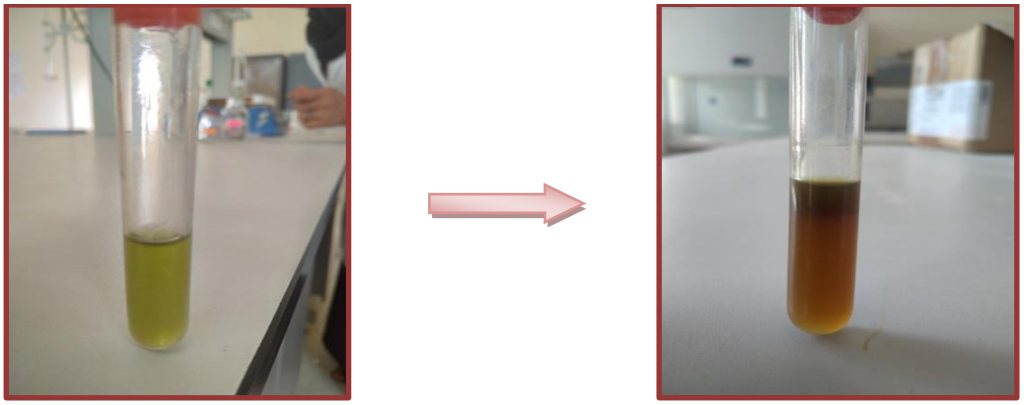
كاشف ماير (Mayers reagent): يحضر بإذابة 13.5 g من كلوريد الزئبق $HgCl_2$ و 5g من يوديد البوتاسيوم KI في لتر من الماء المقطر[6].

IV.3.1.2. طريقة الكشف:

وفقا للطريقة المستعملة من طرف Al-Daihan , Al–Faham[7]، نأخذ كمية من المستخلص الكحولي و نضيف له 5ml من حمض كلور الماء(HCl %1)، ثم نضع 1ml من المزيج في أنبوبة ونضيف لها قطرات من كاشف ماير.

- **الملاحظة:**

ظهور راسب بلون برتقالي دليل على وجود القلويدات.



قبل الكشف بعد الكشف

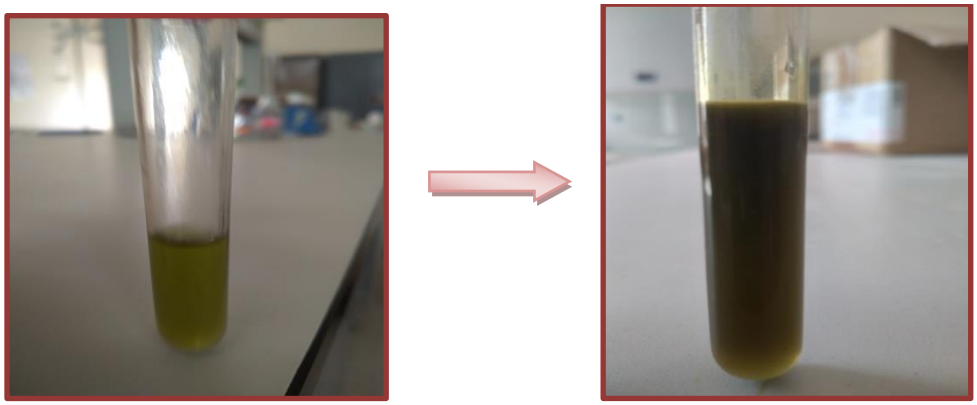
الشكل (2.IV): الكشف عن القلـويـدات

2.3.IV. الكشف عن الفينولات:

وفقا للطريقة المستعملة من طرف Pandith[8]، نعالج المستخلص الكحولي بواسطة قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي($FeCl_3$) بتركيز 5% المحضر حديثا.

- **<u>الملاحظة:</u>**

تدرج اللون من فاتح إلى داكن يميل إلى السواد دليل على وجود الفينولات.



قبل الكشف **بعد الكشف**

الشكل(3.IV): الكشف عن الفينولات

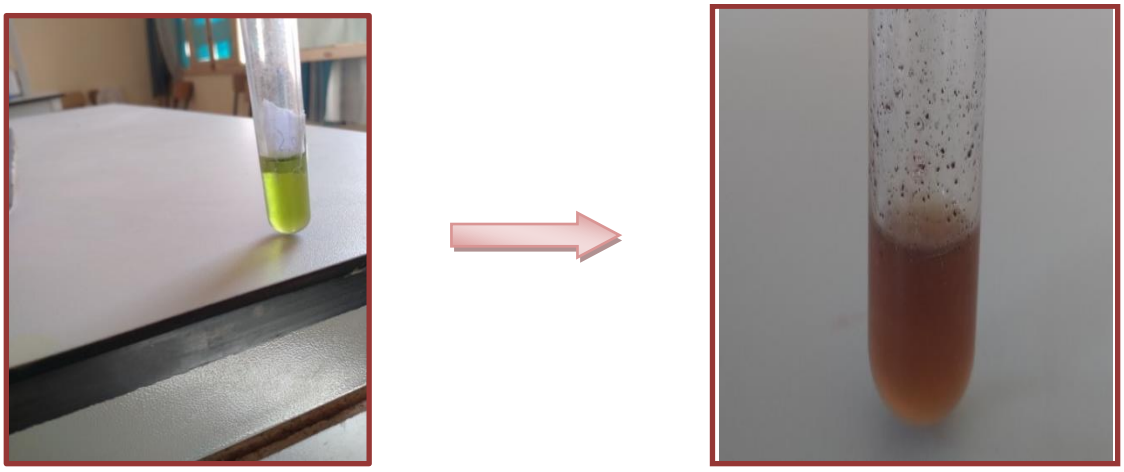
IV.3.3. الكشف عن الفلافونويدات:

IV.3.3.1. طريقة الكشف الأولى:

وفقا للطريقة المستعملة من طرف Samejo, Sumbul, al[9]، نأخذ 0.5g من مسحوق الزعتر البري و ينقع في 10ml من الإيثانول ثم نقوم بعملية الترشيح، نضيف للرشاحة قطع المغنزيوم و بعض قطرات من حمض كلور الماء (HCl).

- **الملاحظة:**

ظهور لون أحمر دليل على وجود الفلافونويدات.



قبل الكشف — بعد الكشف

الشكل(IV.4): الكشف عن الفلافونويدات

IV.3.3.2. طريقة الكشف الثانية:

نأخذ 20ml من المستخلص الكحولي أو المائي و نمزجه مع 1ml كربونات الصوديوم (Na_2CO_4) 0.5M[10].

- **الملاحظة:**

ظهور لون أصفر دليل على وجود الفلافونويدات.

IV.4.استخلاص المنتجات الفعالة:

IV.4.1. تعريف الاستخلاص:

هو فصل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخامة باستعمال مذيبات عضوية، لمجموعة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة، حيث نطبق استخلاص(سائل–سائل) على المادة السائلة و استخلاص (صلب–سائل) على المادة الصلبة[11].

IV.4.1.1.استخلاص(صلب–سائل):

- **<u>الاستخلاص على البارد (التنقيع):</u>**

وتعتمد هذه الطريقة على وضع النبات داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (حجم المذاب 1/حجم المذيب 3) في الشروط العادية (ضغط و درجة حرارة المخبر) مع التحريك من حين لآخر و يترك لمدة زمنية معينة خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح.

و نستعمل طريقة التنقيع للمواد التي تتأثر و تتفكك بالحرارة و تتأثر بقطبية المذيب (التشابه في القطبية بين المذيب و المستخلص المراد الحصول عليه من المادة الجافة، أي مبدأ الشبيه يذيب الشبيه)[12].

- **<u>الاستخلاص على الساخن:</u>**

هي تقنية سريعة نسبيا حيث يتم، غمس النبات في المذيب مع التسخين، و تطبق على المواد الصلبة التي تطلق موادها الفعالة الا تحت تأثير درجة حرارة عالية، و تطبق لفصل المواد المتبخرة (الطيارة) و غير قابلة للتبخر[13].

IV.4.1.2. استخلاص سائل–سائل:

هي إحدى طرق الفصل شائعة الاستعمال تتم بقمع الفصل، حيث في هذه التقنية يتم انتقال المادة المراد فصلها بين مذيبين مختلفين في القطبية[14].

2.4.IV. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من نبات الزعتر البري بالتنقيع:

نأخذ وزن قدره 50g من مسحوق الزعتر البري و نقوم بنقعها في حجم قدره 300ml من الإيثر البترولي، مع التحريك لمدة ساعة واحدة ثم نتركه مدة 24 سا في درجة حرارة المخبر، نضيف إلى المسحوق بعد الترشيح و التجفيف 150ml من الإيثانول 80% بعد التحريك يترك 24 سا، ثم نقوم بعملية الترشيح، نكرر عملية الاستخلاص بالإيثانول على الأقل مرتين من أجل الحصول على فصل أكبر، ثم نجمع الأطوار المفصولة و يعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).

ونقوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول و نعيد تركيزه لنتحصل في الأخير على المستخلص الخام[15].

ثم يتم وزن هذه المستخلصات لنتحصل على مردود الاستخلاص.

نقوم بنفس بروتوكول الاستخلاص مع الزعتر البري لمنطقة قالمة و منطقة سوق أهراس .

ويلخص **الشكل (5.IV)**: أهم مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع.

1-عملية النقع

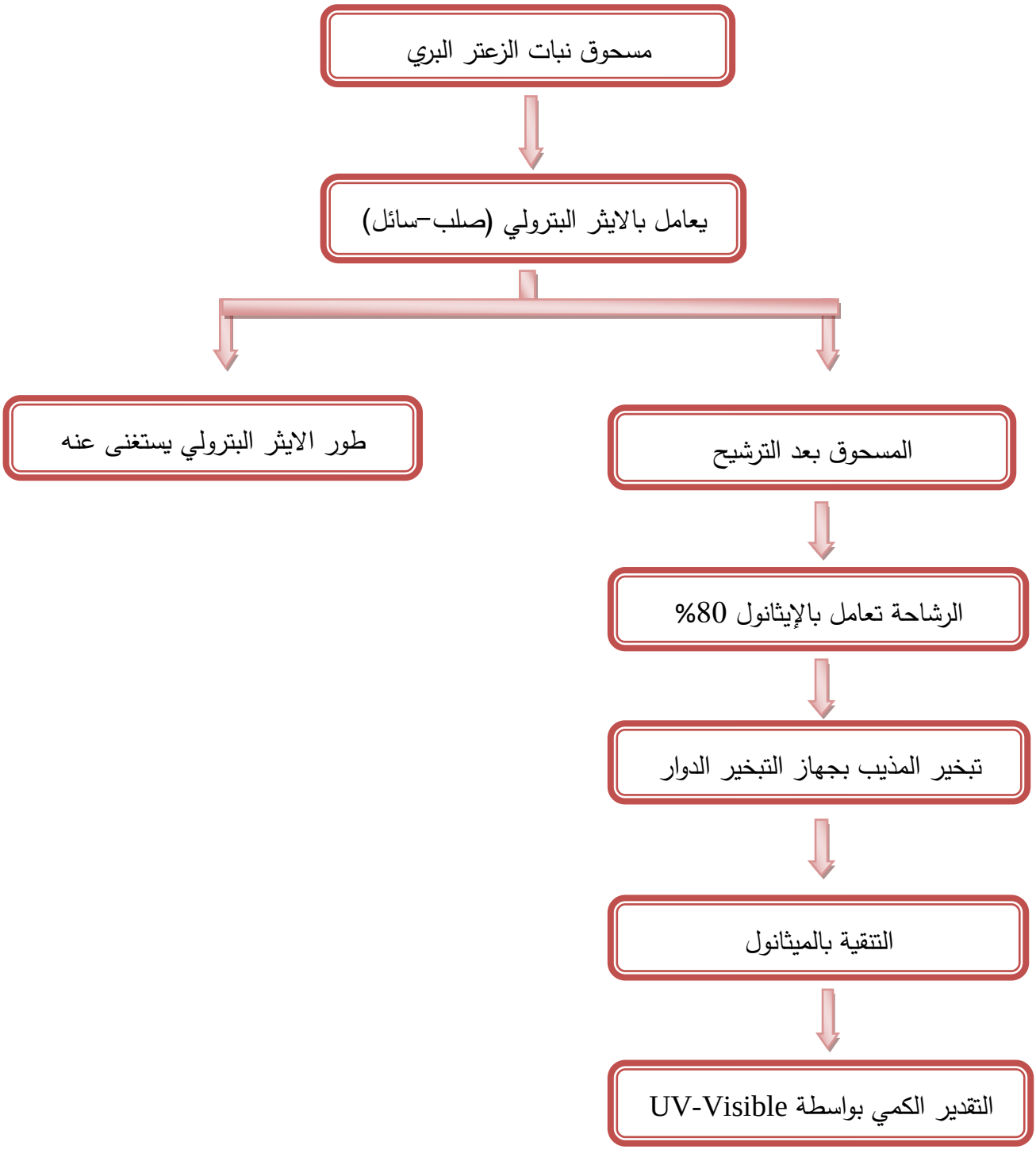
2-عملية الترشيح

3-عملية التبخير

4-عملية التجفيف

الشكل(5.IV): مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع

و **الشكل (6.IV)**: مراحل استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع.



الشكل (6.IV): مخطط استخلاص الفينولات بطريقة التنقيع

IV.3.4. طريقة استخلاص المركبات القلويدية من نبات الزعتر البري بالتنقيع:

IV.1.3.4. تحرير القلويدات بشكلها القاعدي و إستخلاصها:

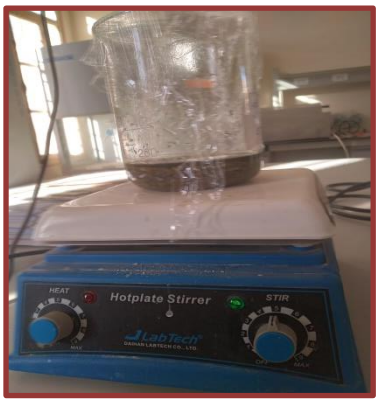
نأخذ وزن قدره 50g من مسحوق الزعتر البري و نقوم بنقعها في حجم قدره 300ml من الهكسان، مع التحريك لمدة ساعة واحدة و نتركه مدة 24سا في درجة حرارة المخبر، ثم يتم ترشيحه بغية التخلص من الكلوروفيل و الدهون، يعالج المسحوق بعد الترشيح 300ml من الأمونياك بتركيز 1% و بهذه الطريقة تتحرر القلويدات ثم نستخلصها بمذيب عضوي لاقطبي مثل الكلوروفورم ($CHCl_3$) ليتم استخلاصه على البارد بالنقع، نحصل على حثالة (مسحوق نبات مستنفذ) و محلول عضوي للقلويدات في صورته القاعدية[16].

IV .2.3.4. التنقية:

المحلول العضوي السابق ذكره يحتوي على شوائب عديدة بالإضافة إلى القلويدات، و لتنقيتها نمرر القلويدات من الطور العضوي إلى الطور المائي و ذلك بمعاملتها بحمض الكبريت المخفف (H_2SO_4) حتى الحامضية (pH=4) للتخلص من الشوائب الذائبة في المذيب العضوي (كلوروفيل، دهون و صمغ).

يركز المستخلص (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur) لنحصل على القلويدات الكلية في صورة أملاح .

يلخص **الشكل (IV. 7)**: أهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع:



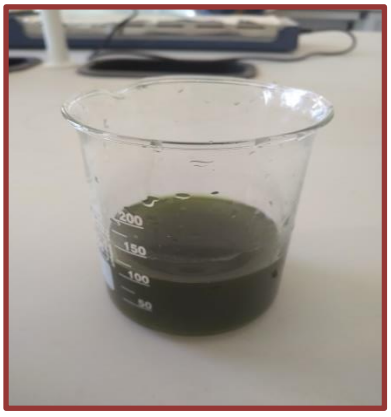
1-عملية النقع

2-عملية الترشيح

3-عملية تحرير القلويدات

4-عملية الاستخلاص

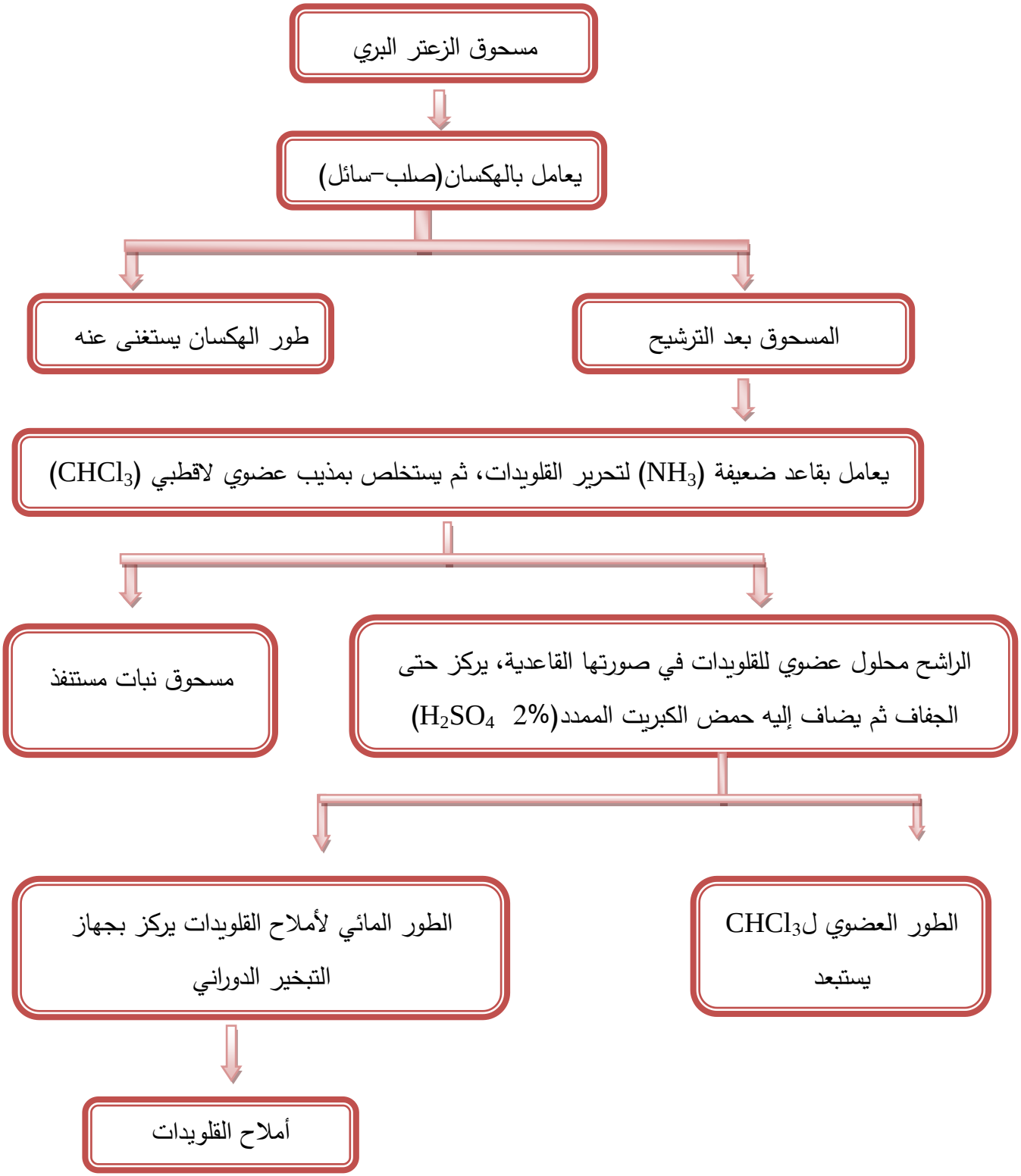
5-عملية التبخير



6-عملية التجفيف

الشكل (7.IV): أهم مراحل استخلاص القلويدات بطريقة التنقيع

الشكل (8.IV): مراحل استخلاص القلويدات بطريقة النقع.



الشكل (8.IV): مخطط مراحل استخلاص أملاح القلويدات

IV.4.4. استخلاص الزيوت الطيارة:

تم استخلاص الزيوت الطيارة باستعمال جهاز (Clevenger)، حيث تم وضع 50g من نبات الزعتر البري في دورق زجاجي (Ballon) مع اضافة 600ml من الماء المقطر تحت درجة حرارة 100°م، بعد الغليان يتسبب بخار الماء في فتح تجاويف النبات وبالتالي إطلاق جزيئات الزيوت المتطايرة، حيث يتشبع بخار الماء بالزيت العطري لينقله معه عبر أنبوبة عمودية تمر عبر جهاز تبريد حتى لا يحرق النبات أو تفسد طبيعته، و بسبب الفرق الموجود بين كثافة الماء و الزيت المستخلص يبقى الزيت طافي فوق سطح الماء، تستمر عملية التقطير حوالي 3ساعات بعد الغليان، تكرر العملية لنوعي الزعتر[17]-[18]-[19].

IV.5. حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات:

مردود الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين وزن المادة المستخلصة و التي نرمز لها m_f على وزن المادة الابتدائية للنبتة و نرمز لها mi حسب العلاقة التالية:

$$R\% = m_f / m_i .100$$

- m_f: الكتلة النهائية.
- m_i: الكتلة الإبتدائية.
- R%: مردودية الانتاجية للمستخلصات [20].

IV.6. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية:

IV.1.6. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية:

هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالا في التحليل الكمي و الكيفي، و من أهم الوسائل التي تساعد على تحديد البنى الكيميائية للمركبات، تشمل على منطقة الضوئي المرئي و منطقة الأشعة فوق البنفسجية، و من أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية (الكثافة الضوئية للمحاليل) حيث مجالها الكهرومغناطيسي(الطول الموجي) ما بين 400-700nm [21].

2.6.IV. مبدأ العمل:

يتكون جهاز الطيف الذري من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لكل طول موجي محدد ومقياس كثافة الضوء، حيث يوضع السائل المراد قياس تركيز العناصر الموجودة بداخله في حامل العينة (Cuvette)، ثم وضع العينة بين المصدر الضوئي و الكاشف، و عند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل، حيث يعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغيير تركيز المادة في المحلول و بالتالي يمكن حساب التركيز اعتمادا على امتصاص الضوء عند طول موجة محدد[11].

قانون لامبرت بير:

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

حيث:

- I_0: شدة الضوء الوارد.
- I: شدة الضوء الصادر.

3.6.IV. مكونات الجهاز:

توجد مجموعة مختلفة من الأجهزة والتي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتومتر Photométre و السبكتروفوتومتر Spectrophotométre، و هذه الأجهزة تتكون أساسا من أربعة أجزاء رئيسية و هي:

- المصدر (Source)
- وحدة التحكم في الأطوال الموجية (Monochromator)
- وحدة العينات(Cells)
- الكاشف أو المقدر(Detector)

4.6.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية UV-Visible:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية بطريقة العالم Singleton Rossi باستعمال كاشف الفولين (Folin ciocalteu)، حيث يتكون هذا الكاشف من حمض فوسفومولوبيديك ($H_3PMo_{12}O_4$)

الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكسيد التنغستين (W_8O_{23}) و الموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق، يتم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز المطيافية و باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي، تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي765nm[22].

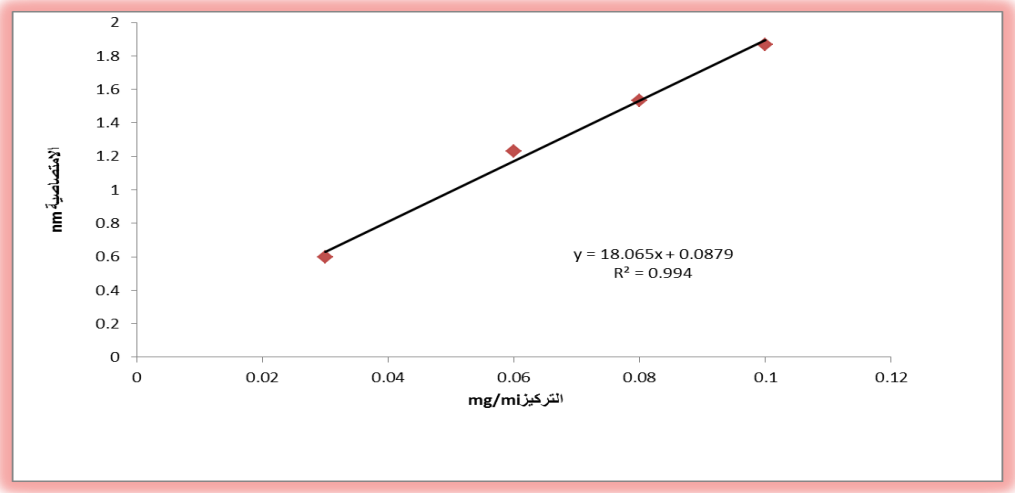
1.4.6.IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزه تتراوح ما بين (0.02−0.1)mg/ml في أنابيب إختبار، ثم نأخذ 0.2 ml من المحاليل الممددة و نضيف لها 0.5ml من كاشف (Folin ciocalteu) الممدد عشر مرات، ثم نضيف0.8 ml من محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2Co_3)، و نضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة المخبر، ثم تقاس الامتصاصية عند طول موجي 765nm.

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك، **الجدول(1.IV)** منحنى قياسي للكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز A=f(c) [23].

الجدول(1.IV): نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

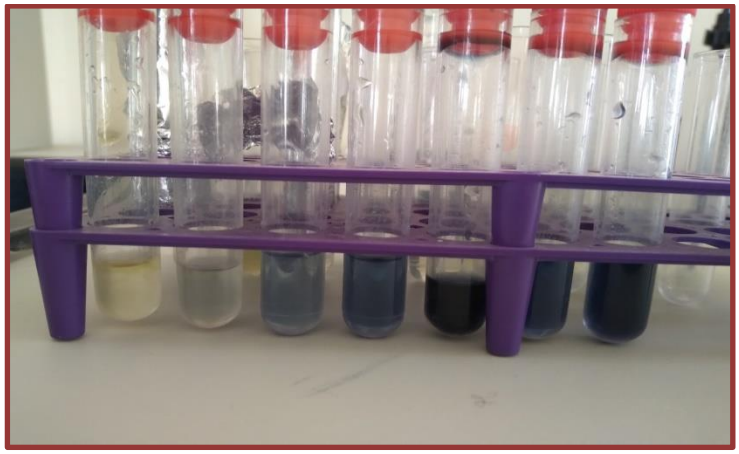
التركيز mg/ml	0.03	0.06	0.1	0.2
الامتصاصيةA	0.596	1.231	1.869	2.21



الشكل (9.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك

2.4.6.IV. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:

نحضر من مستخلص عضوي تراكيز تتراوح ما بين (1.5−5)mg/ml، نأخذ من كل تركيز 0.2ml نضيف لها 0.5ml من كاشف الفولين (FCR) (Folin- Ciocâlteu reagent) و نتركه مدة 5 دقائق في الظلام ثم نضيف له 0.8ml من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%)، و نتركه في الظلام لمدة 30 دقيقة فنتحصل على لون أزرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي 765nm.



الشكل (10.IV): المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين

5.6.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات UV-Visible :

يتم تحديد كمية الفلافونويدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها (Change et al) و اعتمدنا على طريقة(Woisky and salation) مع بعض التعديلات الطفيفة، و يمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونويدات، و تكوين لون أصفر مع الفلافونويدات دليل على وجودها.

و نستعمل في هذه التجربة فلافونويد الكرسيتين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي، و يتم تقدير كمية الفلافونويدات بواسطة جهاز المطيافية الضوئية باستعمال الكرسيتين كمحلول قياسي عند طول موج420nm [24].

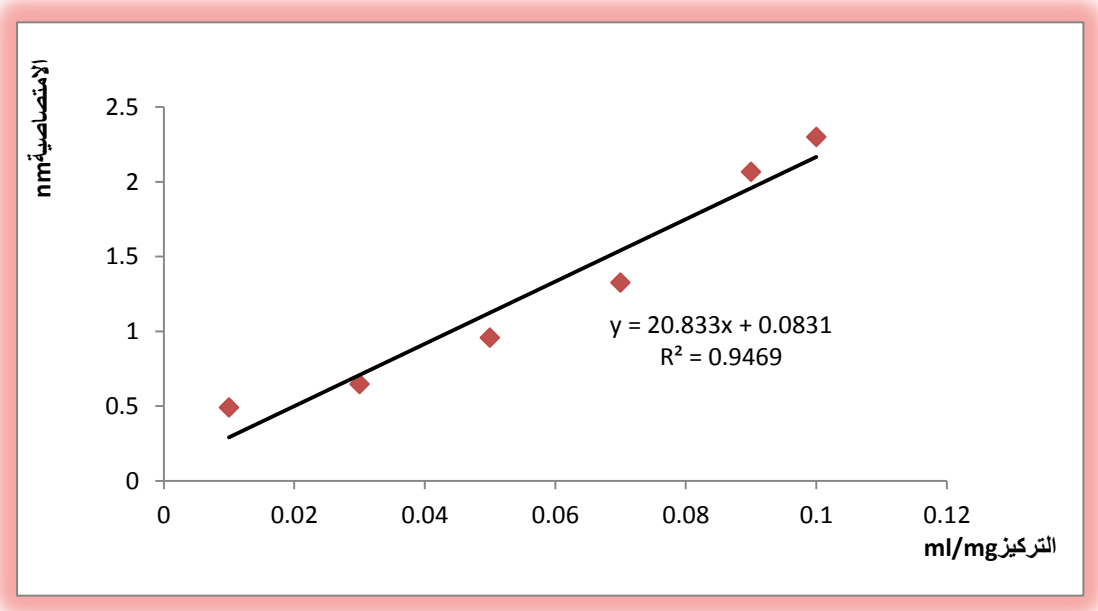
1.5.6.IV. المنحنى القياسي الكرسيتين: (Quercétine)

نقوم بتحضير عدة تراكيز من الكرسيتين تتراوح ما بين (0.01−0.1)mg/ml نأخذ من كل تركيز 1ml و نضيف له 1ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$ 2%) ثم نتركها مدة 30 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة المخبر، ثم تحسب الامتصاصية بواسطة جهاز UV عند طول موجي 420nm.

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل الكرسيتين، **جدول(2.IV)** :منحنى قياسي للكثافة الضوئية(الامتصاصية) بدلالة التركيز A=f(c) [25].

الجدول (2.IV): نتائج الامتصاصية للكرسيتين بدلالة التركيز

التركيز mg/ml	0.01	0.3	0.05	0.07	0.09	0.1
الامتصاصية A	0.491	0.648	0.957	1.326	2.067	2.301



الشكل (11.IV): المنحنى القياسي للكرسيتين

2.5.6.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص عضوي تراكيز تتراوح (0.09–3.5)mg/ml، نأخذ 1ml من كل تركيز في أنبوب اختبار و نضيف له 1ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$ 2%)، ثم نتركها مدة 30دقيقة في الظلام نتحصل على اللون الأصفر، تقرأ الامتصاصية عند طول موجي 420nm.

الشكل (12.IV): المحاليل بعد إضافة ثلاثي كلوريد الألمنيوم

7.IV. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية:

هي قياس قدرة المركب أو المستخلص في تثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة، حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار(DPPH)، اختبار (ABTS)، اختبار(FRAP) و إختبار القدرة الارجاعية [26].

وفي هذه الدراسة تم إختبار DPPH لقياس قدرة التثبيط.

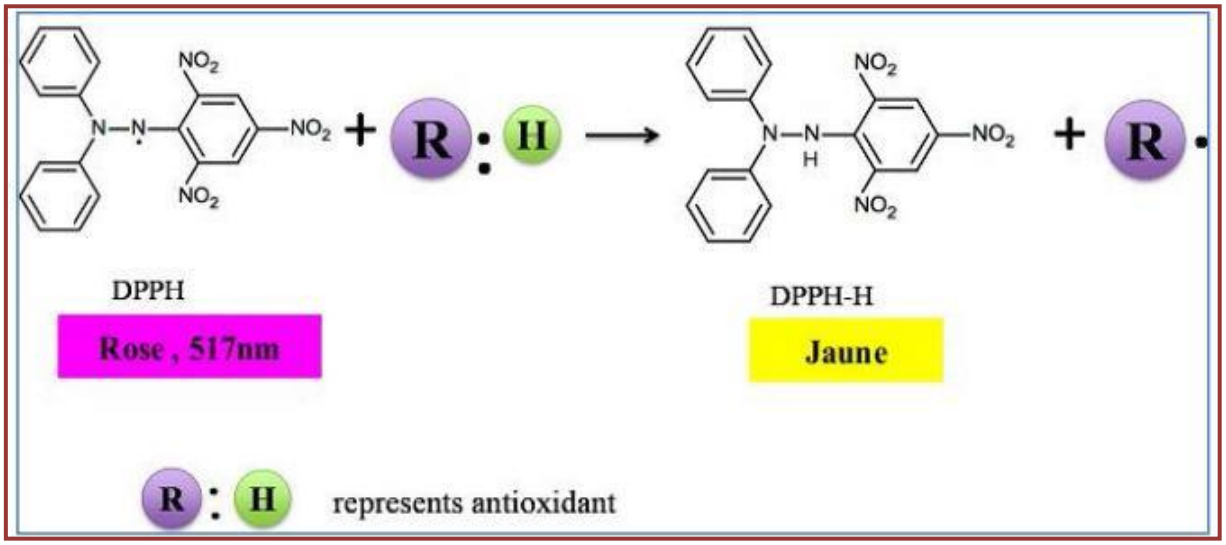
1.7.IV.إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

إختبارDPPH هو إختبار مضاد للجذور الحرة سبق تعريفه قبل 50 سنة من طرف BLOIS سنة 1958. جذر $DPPH^{\cdot}$ مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود، حيث يملك هذا الجذر خاصية الاستقرار لعدة أيام، يمتص عند طول موجة 517nm ، هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ اعتمادا على قابلية المستخلصات (قابلية الأكسدة) لذرة الهيدروجين، حيث يمكن تتبع إرجاع $DPPH^{\cdot}$ لونيا باستعمال جهاز الطيفي اللوني و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية، حيث يمكننا هذا

الإنخفاض من معرفة قدرة و كفاءة المستخلصات في تثبيط الجذر خلال 30 دقيقة في وجود المستخلص المضاد للأكسدة، و تحدد القدرة المضادة للأكسدة بتحديد معامل جديد هو IC_{50} [11].

- **تعريف المقدار IC_{50} :** يعرف على أنه تركيز المستخلص (مضاد الأكسدة) اللازم لتثبيط 50% من جذر $DPPH^{\cdot}$ [26].

في ما يلي **الشكل (IV. 13):** آلية تثبيط العامل المضاد لأكسدة الجذر $DPPH^{\cdot}$.



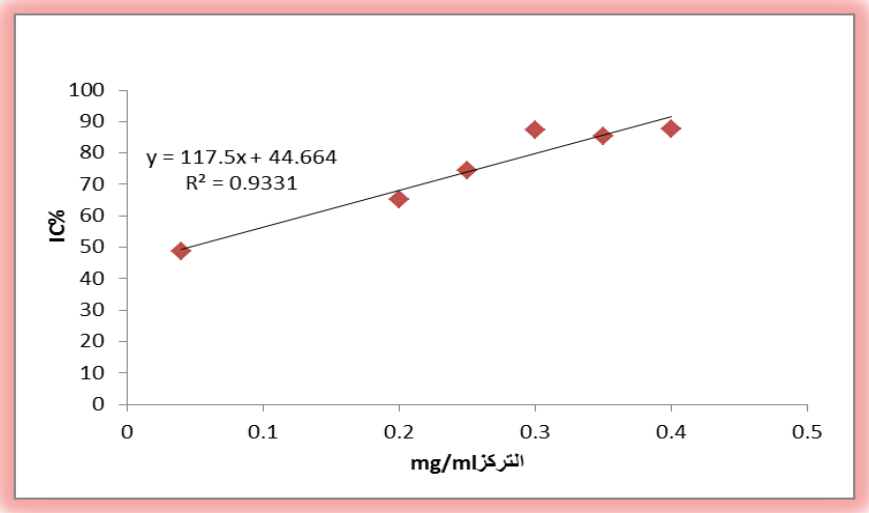
الشكل(IV. 13): آلية تثبيط العامل المضادلأكسدة الجذر $DPPH^{\cdot}$.

1.1.7.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:

يتم تحضير محلول DPPH في الميثانول، حيث نأخذ كتلة قدرها 2 mg من DPPH مذابة في 50ml ميثانول فنحصل على محلول بنفسجي داكن ، ثم نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من حمض الأسكوربيك تتراوح ما بين (0.4–0.04 mg/ml)، نأخذ من كل تركيز 1ml نضيف له 1ml من محلول DPPH في أنابيب زجاجية، نتركه في الظلام مدة 30 دقيقة عند درجة حرارة المخبر، تقرأ الامتصاصية عند طول موجة 517nm[27].

الجدول (3.IV): نتائج الامتصاصية لحمض الاسكوربيك بدلالة التركيز

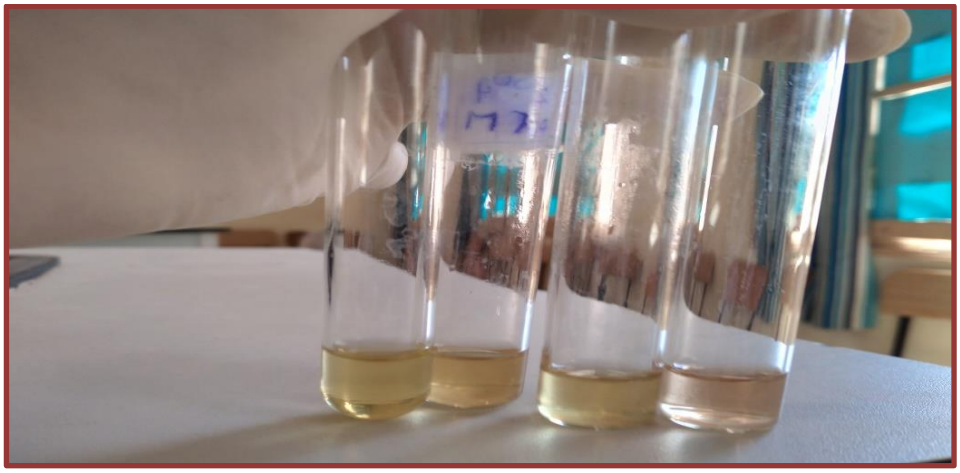
التركيز (mg/ml)	0.04	0.2	0.25	0.3	0.35	0.4
الامتصاصيةA	0.623	0.421	0.309	0.153	0.180	0.149



الشكل(14.IV): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك

2.1.7.IV. إختبار DPPH للمستخلصات الفينولية:

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات تتراوح ما بين mg/ml (0.35-1)، نأخذ من كل تركيز 1ml ثم نضيف له 1ml من DPPH في أنابيب زجاجية ونتركه مدة 30 دقيقة في الظلام، تقرأ الامتصاصية عند طول موجة 517nm.



الشكل (15.IV): صورة لبعض المستخلصات بعد اضافة DPPH

2.7.IV. حساب نسبة التثبيط IC% للجذر الحر DPPH:

$$I\% = \frac{At_0 - At_{30}}{At_0} . 100$$

- At_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص.
- At_{30}: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر +المستخلص) بعد مرور 30دقيقة.
- IC%: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر DPPH.

8.IV.التحليل الكيفي و الكمي بواسطة الكروماتوغرافيا :

1.8.IV.الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية

(Chromatographie liquide de haute performance):

هي تطور لكروماتوغرافيا العمود لكلاسيكي، الطور المتحرك فيها سائل غالبا ما يكون مذيب عضوي أو ماء، أما الطور الثابت صلب (عمود مملوء بمادة صلبة)، حيث يكون الطور الصلب غير قطبي (عادي) غالبا ما يكون (gel de selice) أو طور معكوس (La phase inverse) قطبي باستعمال

الماء أو الكحول، تستعمل هذه التقنية لفصل المركبات الثقيلة. في معظم التحاليل طور متحرك واحد يكفي لفصل كل مكونات الخليط [28]-[29].

:(Shimadzu) HPLC 1.1.8.IV

نحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز له، ثم نحقن بعد ذلك العينة (المستخلص) المراد تحليلها في نفس شروط حقن المركب المرجعي و بنفس الحجم (20 µl) و تركيز 5mg/ml من الميثانول100% ، ثم نقرا على الكروماتوغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة و نقارنها مع القيم المرجعية و بذلك نحدد المركبات الفينولية الموجودة في العينة [30]-[31].

الجدول (4.IV) : الشروط التجريبية لجهاز ال HPLC.

العامل	الشروط
النظام	الطور العكوس RP-HPLC
العمود	(25cm . 46mm)C18
حجم الحقن	µl20
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	300nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25°C
الطور المتحرك	(A):Acetonitrile (B):(acide acetique %0.2)

الجدول (5.IV): زمن المكوث للمركبات الفينولية المرجعية.

الفينول المرجعي	زمن المكوث(tr(min
Acide Gallique	5.29
Acide chlorogénique	13.392
Acide Vanilique	15.531
Acide Caffieque	16.277
Vanilin	21.46
Acide p-Comarique	23.817
Rutine	28.37
Naringine	34.788
Quercetine	45.48

9.IV. الطرق الكهروكيميائية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة (إختبار الفولطا متري الحلقي VMC):

فكرة التحليل الكهروكيميائي لمضادات الأكسدة اقترحت بعد إعادة النظر في الطرق الطيفية المعتمدة في تقدير مضادات الأكسدة، حيث وضعت له أسس نظرية جديدة و مقاربات لمعالجة الإشارة التحليلية الناتجة[32]. تعتمد الطرق الكهروكيمائية على خصائص المادة المدروسة و سلوكها على الأقطاب الصلبة، حيث يعتبر قطب الكربون الزجاجي من أكثر الأقطاب شيوعا[32].

الطرق الكهروكيميائية التي اقترحت و تم تجريبها و أعطت نتائج مذهلة من أهمها الطريقة الفولتا مترية من طرف الباحث[34].

1.9.IV. التقنية الفولطا مترية الحلقية:

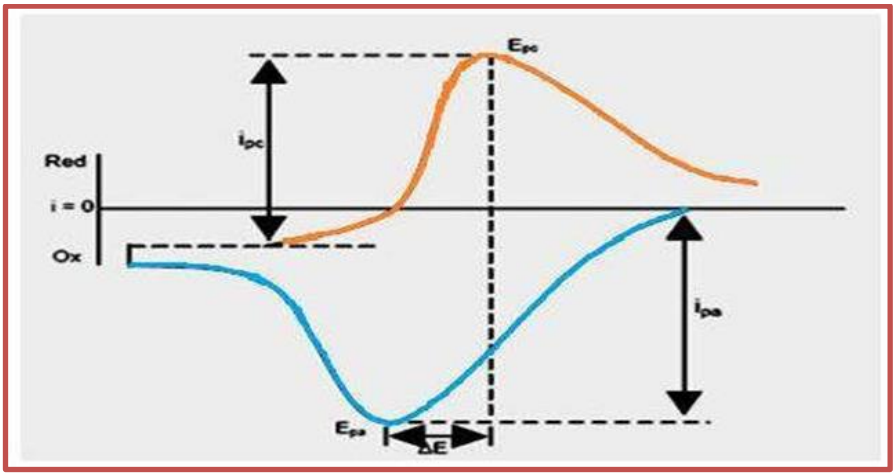
تقنية الفولطا مترية الحلقية هي واحدة من طرق التحليل الكهروكيميائي يطبق فيها فرق الكمون المتغير على مسرى العمل بالنسبة للمسرى المرجعي. تسمح هذه الطريقة بتحديد الشروط التي يتم فيها تفاعل الأكسدة و الإرجاع و تقدير درجة عكوسية جملة (أكسدة–إرجاع)، كما تسمح أحيانا بتحديد آلية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الإلكترونات، و كذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة.

ظاهرة الانتشار هي المسؤولة الوحيدة عن نقل المواد الفعالة، أما الهجرة الأيونية يتم عزلها باستعمال الإلكتروليت المساعد.

تم مسح فرق الكمونات في هذه الطريقة بصورة حلقية، عند إجراء المسح باتجاه فرق الكمونات المصعدية و إنجاز تفاعل الأكسدة يعكس إتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء مسح في إتجاه فرق الكمونات المهبطية.

الشكل العام للمنحنيات الفولطا مترية الحلقية ممثل في **الشكل (16.IV)**: الحالة البسيطة التي تحدث فيها عملية أكسدة واحدة متبوعة بعملية إرجاع في المجال المدروس[35]-[36].

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



الشكل (16.IV): المقادير الأساسية لمنحنى الفولطا متري الحلقي

- Ip_a، Ip_c : تيارات النتوءات المصعدية و المهبطية على الترتيب.
- Ep_a ،Ep_c : كمونات النتوءات المصعدية و المهبطية.
- ΔEp : التغير في الكمونات بين Epa ،Epc.

IV.9.2.الخصائص الكهروكيميائية للفينولات:

إن النشاط المضاد للأكسدة عند الفينولات يعتمد على الخاصية الإرجاعية لهذه المركبات المرتبطة بصفة خاصة بعدد مجموعات الهيدروكسيل التي يمتلكها الجزيء ووجود مجموعة الكربوكسيل، حيث تتأكسد مجموعة الكربوكسيل لتعطي إلكترون و ذرة هيدروجين[37].

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

حيث:

- Red : المركب الفينولي المضاد للأكسدة(عامل مرجع).
- Ox : الناتج المؤكسد.

IV.9.3. طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

IV.9.3.1. المبدأ:

فعالية مضادات الأكسدة تكمن في أنها عوامل مرجعية تميل إلى التأكسد بسهولة على الأقطاب الخاملة، هذا ما جعلها تكون محل دراسات كهروكيميائية.

المنحنى الفولطا متري الحلقي مقسم إلى قسمين مصعدي في جهة الكمون الموجب و مهبطي في جهة الكمون السالب، حيث القسم المصعدي يمكننا من استخراج معطيات متعلقة بقابلية الجزيئات لمنح إلكترونات للمصعد[38].

النتائج المتحصل عليها من المنحنى الفولطا متري الحلقي للعينة المدروسة يتم مقارنتها بحمض الغاليك الذي يعتبر مركب قياسي من خلاله يمكن استخلاص الكمية المكافئة[39].

IV.9.3.2. خطوات العمل:

تحضير مسرى العمل الذي يعتبر الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية، تتم على سطحه عملية الأكسدة و الارجاع، حيث نستعمل المسرى المرجعي و المسرى المساعد و مسرى العمل، تتم التجربة عبر مراحل:

- المرحلة الأولى:

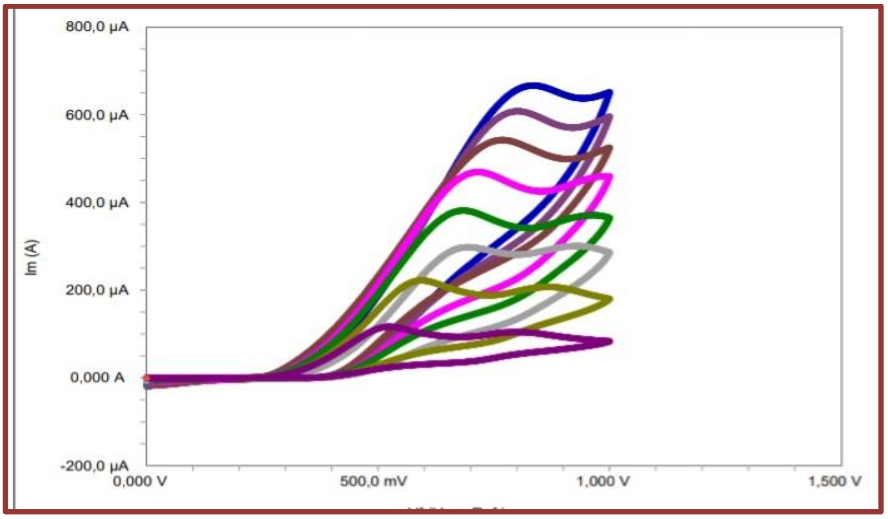
يتم تحضير تركيز معلوم من حمض الغاليك (10mg/ml)، من خلال هذا التركيز حضرنا تراكيز مختلفة، و كذلك تحضير الخلية الكهروكيميائية التي تحوي على وسط موقي (pH=7) وكهروليت مساعد(KCl).

- المرحلة الثانية:

يتم رسم المنحنيات الفولطا مترية الحلقية وفق تراكيز متزايدة لحمض الغاليك في الخلية الكهروكيميائية بعد ضبط مجال الفاعلية و سرعة المسح حيث أن :

الكمون E (200−800mV) و سرعة المسح (10mV/s).

تم الحصول على المنحنيات كما هو موضح في **الشكل(IV.17)**:



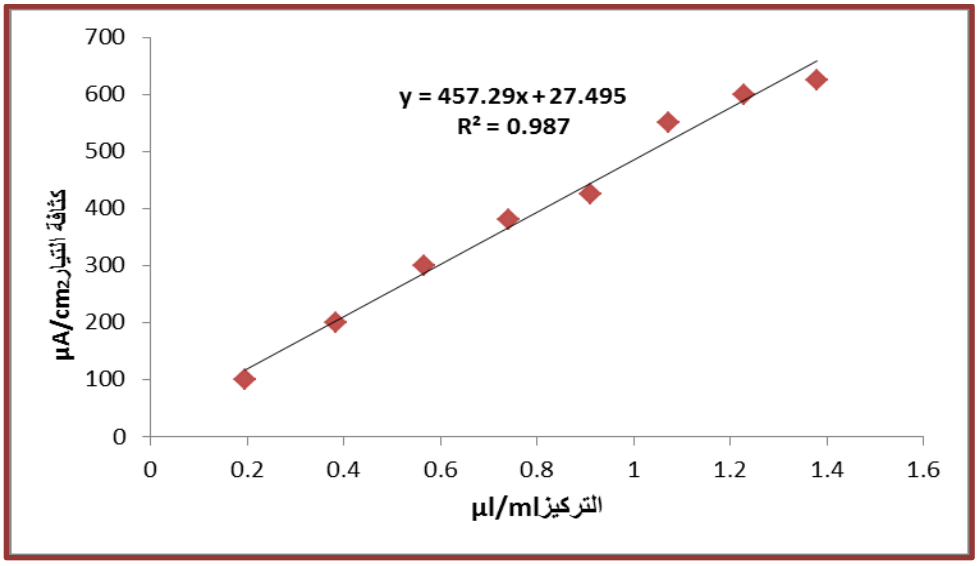
الشكل(17.IV): المنحنيات الفولطا مترية الحلقية لحمض الغاليك

نلاحظ في الشكل أن الزيادة المنتظمة لتركيز حمض الغاليك في الخلية يعطي منحنيات فولطامترية ذات كثافة تيار كهربائي متزايدة بانتظام، و هذا ما يدل على صحة الخطوات العملية المنجزة.

- المرحلة الثالثة:

بعد رسم المنحنيات الفولطا مترية الحلقية للتراكيز نقوم بإيجاد كثافة التيار عند قمم (نتوء) الموجة المصعدية (تفاعل غير عكوس) لكل منحنى، حتى نحصل على منحنى قياسي لحمض الغاليك .

الشكل (18.IV): يمثل كثافة التيار بدلالة التركيز I=f(C).



الشكل(18.IV): المنحنى القياسي لحمض الغاليك حسب الطريقة الفولطا مترية الحلقية

- المرحلة الرابعة:

نرسم المنحنى الفولطا متري الحلقي للعينات المدروسة ذات التركيز (50mg/ml)، ثم نستنتج شدة التيار المصعدية التي يتم إسقاطها على المنحنى القياسي، فنحصل على التركيز المكافئ من حمض الغاليك[39]-[40].

10.IV. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا:

بعد عملية استخلاص الفينولات و القلويدات و التربينات (الزيوت الطيارة) قمنا باختبار هذه المستخلصات على نوعين من البكتيريا، فكانت الدراسة على:

- سلالة ذات +Gram:

-*Staphyloccocus aureus* ATCC 113058.

- سلالة ذات -Gram:

-*E. coli* ATCC 19105.

تهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات النباتية للزعتر البري على البكتيريا:

1.10.IV طريقة الانتشار:

1.1.10.IV تحضير محاليل المستخلصات النباتية:

تم تحضير ثلاثة تراكيز مختلفة لكل مستخلص نباتيmg/ml (1-0.01-0.001) ،حيث أذيبت المستخلصات الخام الفينولية و التربينات في DMSO، أما القلويدات تم إذابتها في الماء المقطر.

2.1.10.IV. تحضير المعلق البكتيري:

نأخذ عينة من البكتيريا بواسطة ماصة باستور و نضعها في زجاجة تحوي على ماء فيزيولوجي، ثم نقوم برج بسيط و نسكب منه قطرات في علبة بيتري التي تحتوي على وسط الزرع و نقوم بالتحريك حتى تتوزع كليا في الوسط، ثم يترك في الحاضنة مدة 15دقيقة في درجة حرارة 37°[41]-[42].

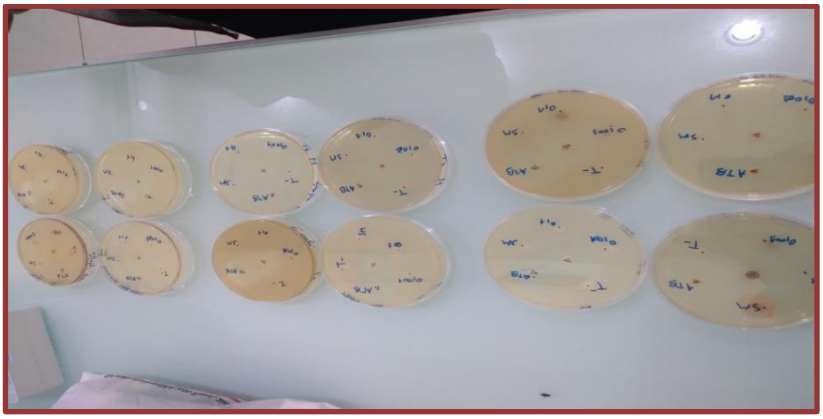
3.1.10.IV. تشبيع الأقراص بتراكيز المستخلصات:

- بالنسبة للمستخلصات الفينولية و التربينية:

نشبع الأقراص بالاستعانة بملقط معقم، حيث بطرف القرص نلمس المستخلص النباتي ليتبلل تلقائيا، العملية تتم لستة أقراص تشبع بثلاث تراكيز لمستخلصين فينوليين و ستة أقراص تشبع بثلاث تراكيز لكل مستخلصين تربينيين مع قرص شاهد مشبع، نتركه بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة37°م لمدة 24 ساعة.

- بالنسبة للمستخلصات القلويدية:

بنفس الطريقة نكرر العملية لمستخلصين قلويديين وذلك بإذابتهما في الماء المقطر لكونهما أملاح قلويدية، حيث تشبع ثلاث أقراص لكل مستخلص قلويدي، نتركه بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة.



الشكل(19.IV): المستخلصات النباتية المحضرة في علب بيتري.

- قراءة النتائج:

من خلال قطر التثبيط يمكننا معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، و يمكن القول:

- البكتيريا مقاومة(غير حساسة) للمضاد الحيوي(−) إذا كان القطر أقل من 8ملم.
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي(+)إذا كان القطرما بين 9و14ملم.
- البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي(++) إذا كان القطر ما بين 15و 20ملم[43]-[44].

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[3] سعودي بن عبد الكريم و رمزي عبد الرحيم أبو عيانة. (2016). المنتجات الثانوية للنخيل و أنواعها و أهميتها الاقتصادية. ط2. ص92.

[4] د. عبد الباسط عودة إبراهيم. (2008). نخلة التمر شجرة الحياة، المركز العربي لدراسة المناطق الجافة و الأراضي الحاقلة(أكساد). جامعة الدول العربية. ص117-118.

[6] أ.ح.م. العذاري، أ.ع.م. السلطانية. (2012). دراسة كمية و نوعية للمركبات القلوانية و الصابونينية لأوراق و ثمار بعض الأصناف من نبات السدر magazin of alkufauniversity for biolog. 4(2). ص1-17.

[11] ربيعي عبد الكريم. (2010). المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بريوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[13] زيدي محمد فاتح. (2012). المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات Deverra Scoparia(البسباس البري)- الزيوت الطيارة و الليبيدات. مذكرة ماستر أكادمي، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[14] د. حمادة جميلة. (2018). تقنيات الفصل الفيزيوكيميائي. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص20.

[15] سوسن علي حميد الحلفي، أم البشر حميد جابر الموسوي. (2011). الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية و الكحولية لبعض الفواكه. مجلة أبحاث البصرة (العلميات). العدد (37). ص82-91.

[17] سفيان،رهواني. عصام،ساري. استخلاص وتحليل الزيت الأساسي لنبات الجعدة. (2008). مذكرة تخرج لني لشهادة أستاذ التعليم الثانوي. وزارة التعليم العالي و البحث العلمي، القبة القديمة الجزائر.

[19] أحمد محمد عياط. (2020). استخلاص الزيوت الطيارة. جامعة بني سويف.

[23] عفاف سبوعي، دركي مروة. (2019). دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية و القلويدية لعشبة العلندة . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية. جامعة حمة لخضر الوادي.

[25] معامير حنان، علال يسرى. (2019). دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفولافونيدي و الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول و الماء بنسب مختلفة. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية . جامعة حمة لخضر الوادي.

[26] مصطفى بوقوادة. (2008). دراسة فيتوكيميائية للبيدات و الفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص التحضير العضوي و الفيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[27] حرزولي يمنة. (2018). دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات MoltikiaCiliata، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء، تخضض كيمياء عضوية و تحليلية، جامعة حمة لخضر الوادي.

المراجع باللغة الفرنسية:

[1] Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils. Food Chemistry, 116(3): 714-721.

[2] Amrouni, S., Touati, M., Hadef, Y., Djahoudi, A. (2014). Effet de l'huileessentielled'Origanum vulgare et de Thymus ciliatus sur Pseudomonas aeruginosa VIM-2carbapénèmase. Phytothérapie, 12(5): 309-313.

[5] T.Y. Soro, F. Traore, and J. Sakande.(2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae). Comptes Rendus Biologies. 332(4): p. 371-377.

[7] S. Al-Daihan, M. Al-Faham, N. Al-shawi, R. Almayman, A. Brnawi, and R. shafiBhat. (2013). Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. Journal of King Saud University-Science. 25(2): p. 115-120.

[8] J.I. Pandith. (2012). Phytochemical screening of certain plant species of Agra City. Journal of drug delivery and therapeutics2(4): p. 135-138.

[9] M.Q. Samejo, A. Sumbul, S. Shah, S.B. Memon, and S. Chundrigar.(2013). Phytochemical screening of TamarixdioicaRoxb. ex Roch. Journal of Pharmacy Research. 7(2): p. 181-183.

[10] Jaradat, N., F. Hussen, and A.J.J.M.E.S. Al Ali. (2015). Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of Ephedra alataDecne. 6(6): p. 1771-8.

[12] Chevion, S., Chevion, M., Chock, P. B., & BEECHER, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. Journal of Medicinal Food, 2(1), 1-10.

[16] Said Rahal. (2009) . "Chimie des produits naturels et des etres vivants",Alger,p 63-78.

[20] Boukri, N. H. (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université KasdiMerbah Ouargla, P99.

[21] Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., &Khodagholi, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: a comparative study. Food and chemical toxicology, 48(5), 1341-1349.

[22] Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., &Lazić, M. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the Artemisia sp. recovered by different extraction techniques. Chinese Journal of Chemical Engineering, 19(3), 504-511.

[24] Zhishen, J., Mengcheng, T., &Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4), 555-559.

[28] A.S. AbdElchakour. (1987). "chemie organique moderne et pratique ",Université du Roi Abd Elaziz,Djeddah,p132.

[29] T.Sirard. (2012). Fundamentals of HPLC .water corporation ,the science of what spossible ,p103.

[30] A. francico,F. Tomas Barberan, et coll. (1990). High performance liquid chromatography thin layer chromatography and ultra violet behaviour of flavone aglycone with unsubstituted rings. Phytochemistry .I.Anal.p.44.

[31] Hossain H, Rahman SE, Akbar PN, Khan TA, Rahman MM, Jahan IA. (2016). HPLC profiling, antioxidant and in vivo anti-inflammatory activity of the ethanol extract of Syzygiumjambos available in Bangladesh, National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA.

[32] Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., &Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetricelectroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. Journal of Electroanalytical Chemistry, 571(2), 183-188.

[33] Blasco, A. J., González, M. C., &Escarpa, A. (2004). Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. AnalyticaChimicaActa, 511(1), 71-81.

[34] Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., &Avramchik, O. A. (2003). Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry. Analytical and bioanalytical chemistry, 375(3), 465-468.

[35] Joseph Wang. (2001). Analytical electrochemistry,2nd ED, A johen Wiley & Sons, INC, Publication, NEW YORK, 1-100.

[36] Y.I. Tur'yan ,P.Gorenbein, R.Kohen. (2004). Journal of Electroanalytical Chemistry 571. 183–188.

[37] W. R.Sousa; C.da Rocha; C. L.Cardoso; S. D. H.Silva, J.Food Comp.(2004). Anal. 17 619.

[38] S. Chevion, E.M. Berry, N. Kitrossky, R. Kohen. (1997). Free Radic.Biol. Med. 22 .411.106.

[39] S. Chevion, M. Chevion, P.B. Chock, G.R. Beecher. (1999). Journal of Medicinal Food, 2. 1-11.

[40] S: Chevion, M. A: Roberts,M.Chevion.(2000). Free Radical Biology and Medicine, 28(6) 860–870.

[41] C.L. Greenblat,J. Baum, BY. Klein, S.Nachshon, V.Koltunov, RJ. Cano. (2004). Micrococcus luteus-Survival in Amber , Journal of Microbial Ecology,p120-127.

[42] Paula CC, Sonia S-Feio, Tatiana SW, Sandra CG. (2012). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. Food Control; 23 : 552-558.

[43] A.W.Bauter, W.M.Mkirry, J.C.A.Sherris,M.Truch. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single ,Journal of clinical pathology,p493-496.

[44] G. Poncea, Fritzer,I .Del vallc et Rouras. (2003). " Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard", Lebensmittel-Wissenxchuftund technologie .

مواقع الأنترنيت

[18]https://www.biolineaires.com/dossier__les_huiles_essentielles 10/06/2021

الفصل الخامس

النتائج و المناقشة

1.V. الكشف عن مواد الأيض الثانوي في نبات الزعتر البري *Thymus capitatus* :

- ✓ في الكشف عن القلويدات : نلاخظ ظهور راسب بلون برتقالي، و هذا دليل على وجود القلويدات.
- ✓ في الكشف عن الفينولات : نلاحظ تدرج اللون من فاتح إلى داكن يميل إلى السواد، و هذا دليل على وجود الفينولات.
- ✓ في الكشف عن الفلافونويدات: نلاحظ ظهور لون أحمر، و هذا دليل على وجود الفلافونويدات.

بنفس الطريقة تم الكشف عن منتجات الأيض الثانوي لنبات الزعتر البري (*Thymus capitatus*) لمنطقة قالمة و سوق أهراس، و كانت النتائج مدونة في **الجدول(1.V) :**

الجدول(1.V): نتائج الكشف عن المنتجات الفعالة في مختلف المستخلصات النباتية.

النبات المنتجات الفعالة	نبات الزعتر البري لمنطقة قالمة	نبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس
القلويدات	++	+++
الفينولات	++	+++
الفلافونويدات	++	++

- ملاحظة:
  - (+++) وجود المادة الفعالة بكمية كبيرة جدا.
  - (++) وجود المادة الفعالة بكمية كبيرة.
  - (+) وجود المادة الفعالة.
  - (−) عدم وجود المادة الفعالة.

2.V. مردود الاستخلاص:

- مستخلص الفينولات لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة (A).
- مستخلص الفينولات لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس(B).
- مستخلص القلويدات لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة (C).

- مستخلص القلويدات لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس (D).
- مستخلص الزيوت الطيارة لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة (E).
- مستخلص الزيوت الطيارة لنبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس (F).

حيث:

$$R\% = m_f/m_i \cdot 100$$

- R%:مردود الاستخلاص%.
- m_f: الكتلة النهائية.
- m_i: الكتلة الإبتدائية.

بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في **الجدول(2.V)**:

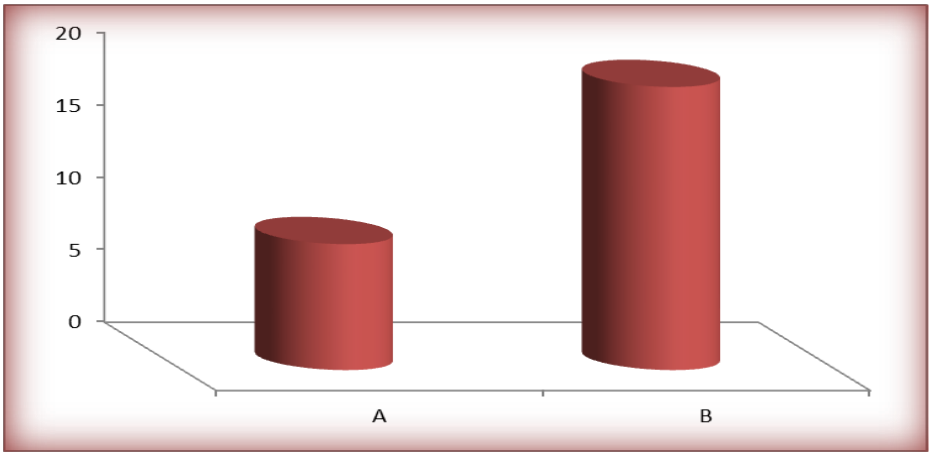
الجدول(2.V): مردود الاستخلاص للمنتجات الفعالة المدروسة.

العينة	A	B	C	D	E	F
الكتلة الأولية	25	25	50	25	50	47
الكتلة النهائية	2.1744	4.8869	4.8972	2.6039	1.5758	0.6292
المردود%	8.6976	19.5476	9.7944	10.4156	3.1516	1.3387

✓ المناقشة:

من خلال النتائج المبينة في الجدول نجد أن مردود الاستخلاص للمنتج (B) أكبر من مردود العينة (A)، و هذا ما يدل على أن محتوى المركبات الفينولية في المستخلص (B)أكبر من المستخلص(A)، و على العموم فإن مردود الاستخلاص كبير، و هذا يدل على غناء النبات بالمركبات الفينولية.

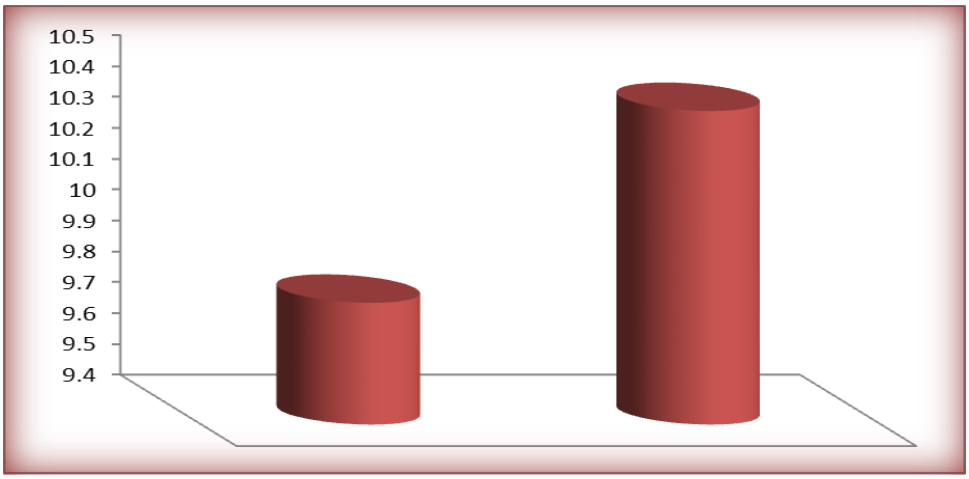
مردود الاستخلاص للعينات (A) و (B) موضحة في **الشكل(1.V)**



الشكل(1.V): مخطط نسب مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية

- و منه أيضا نجد أن مردود الاستخلاص للمنتج القلويدي بالنسبة للعينة (D) أكبر من مردود العينة(C)، و هذ ما يدل أن محتوى المركبات القلويدية في المستخلص(D) أكبر من المستخلص(C)، و على العمود فإن مردود الاستخلاص كبير، و هذا ما يدل على غناء النبات بالمركبات القلويدية.

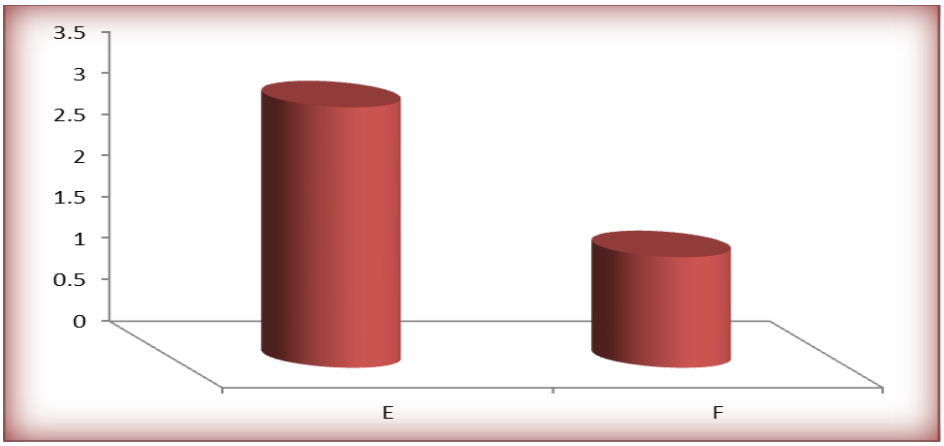
مردود العينات (C) و (D) موضحة في **الشكل(2.V)**:



الشكل(2.V): مخطط نسب مردود الاستخلاص للمركبات القلويدية

- و نجد أيضا أن مردود الاستخلاص للزيوت الطيارة للعينة (E) أكبر من مردود العينة (F)، و هذا ما يدل على أن الزعتر البري لمنطقة قالمة يحتوي على كمية معتبرة من الزيوت الطيارة.

مردود العينات (E) و (F) موضحة في **الشكل(3.V)**:



الشكل(3.V): مخطط نسب مردود الاستخلاص للزيوت الطيارة.

و منه يمكن القول أن نبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس يحتوي على كمية معتبرة من المنتجات الفعالة (قلويدات و فينولات) أكثر من نبات الزعتر البري لمنطقة قالمة، بينما سجلنا تواجد الزيوت الطيارة بنسب معاكسة مقارنة بالمنتجات الفعالة الأخرى.

3.V. التقدير الكمي بواسطة جهاز UV-Visible:

1.3.V. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-Visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في **الجدول (3.V)**:

الجدول(3.V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	A		B	
التركيز (mg/ml)	1.5	5	1.5	5
الامتصاصية	0.17	0.393	0.182	0.391

نستخدم علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك لنجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 1g من المستخلص لكل عينة:

$$Y= 18.065X+0.0879$$

النتائج مدونة في **الجدول(4.V)**:

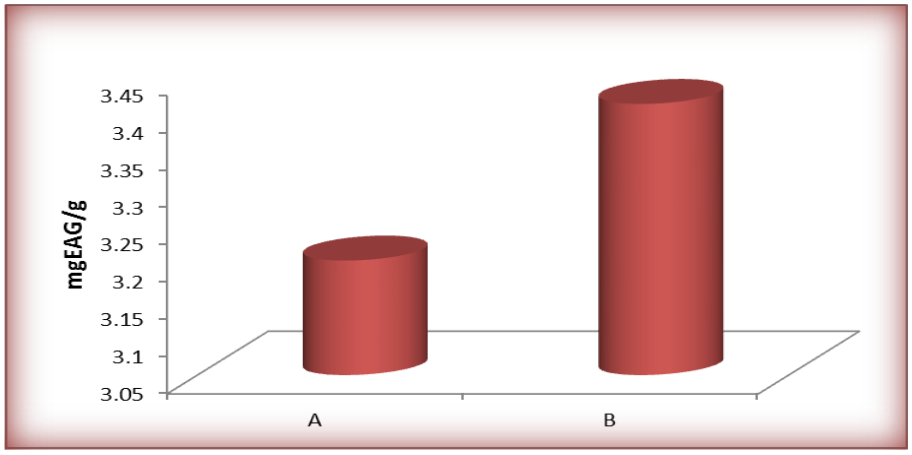
الجدول(4.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات

العينة	A	B
الكميةmgEAG/g	3.20381	3.41415

✓ النتائج و المناقشة:

من خلال النتائج المدرجة في الجدول تبين وجود تقارب في كمية المركبات الفينولية في كلا المستخلصين، حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 3.41415mgEAG/g في مستخلص العينة (B) و التي تمثل أعلى نسبة في المستخلصات الفينولية، بينما بلغت كمية المركبات الفينولية 3.20381mgEAG/g في مستخلص العينة(A)، هذه القيم تتناسب طرديا مع قيم مردود الاستخلاص (كلما زاد المردود زادت كمية المركبات الفينولية في العينة).

الشكل(4.V): يوضح الفرق في كمية المركبات الفينولية للمستخلصات:



الشكل (4.V): مخطط كمية المركبات الفينولية الكلية في المستخلصات

2.3.V. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-Visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في **الجدول (5.V)**:

الجدول (5.V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	A			B		
التركيز mg/ml	2.5	3.5	5	0.3	1.5	2.5
الامتصاصية	1.42	2.021	2.864	0.21	0.79	2.55

نستخدم علاقة المنحنى القياسي الكرسيتين نجد تركيز الفلافونويدات في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ1g من المستخلص لكل عينة .

$$Y=20.833X+0.0831$$

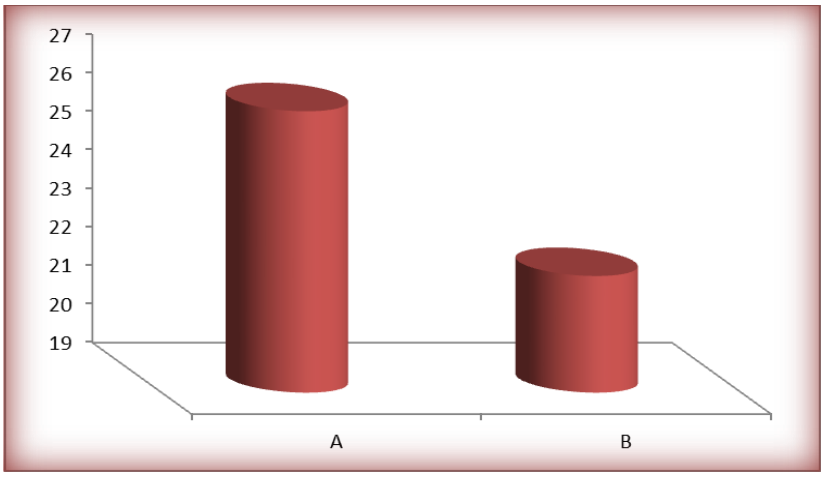
الجدول(6.V): كمية الفلافونويدات في المستخلصات

العينة	A	B
mgEQ/g	26.3140	22.0327

✓ النتائج و المناقشة:

من خلال نتائج الجدول السابق نجد أن كمية الفلافونويدات المتواجدة في العينة (A) أعلى نسبيا من العينة الاخرى حيث قدرت ب 26.3140mgEQ/g ، بينما في العينة (B) قدرت ب 22.0327mgEQ/g، و بما أن الفلافونويدات أكثر الفينولات إنتشارا فهي تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من هذه العينات.

الشكل(5.V) :يوضح الفرق في كميات الفلافونويدات في المستخلصات



الشكل(5.V): مخطط كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات

4.V.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

1.4.V. نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحرDPPH:

بعد حساب النسبة المئوية للتثبيط بدلالة تراكيز مختلفة للمستخلصين (A) و (B)، حيث ندون قيم في الجدولين: **الجدول(V. 7)** و **الجدول(V. 8)** التاليين :

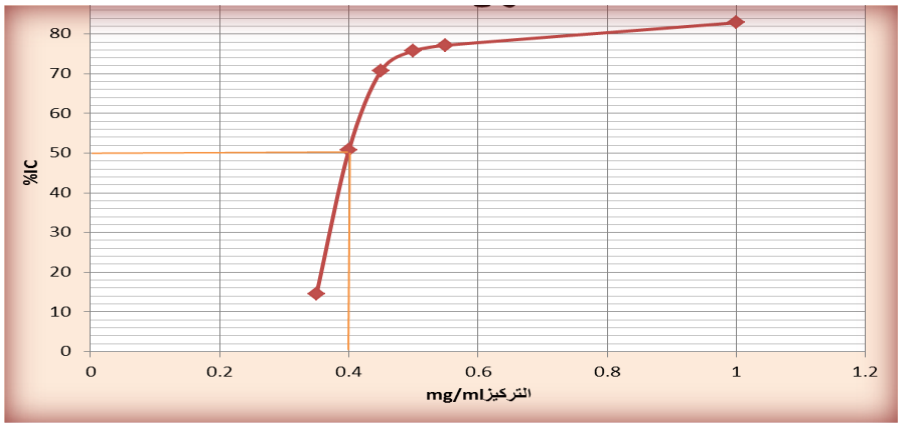
الجدول(7.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة (A)

التركيز mg/ml	0.35	0.4	0.45	0.5	0.55	1
الامتصاصية	1.407	0.812	0.481	0.402	0.376	0.229
IC%	14.57	50.69	70.79	75.79	77.17	82.87

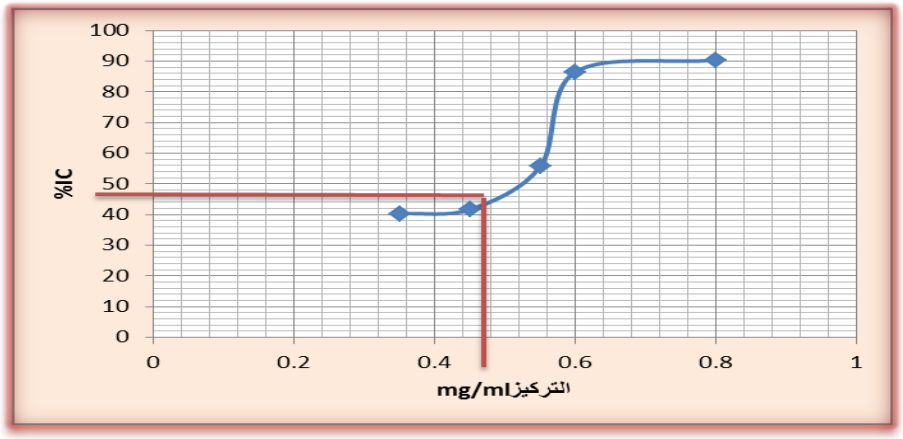
الجدول(8.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة (B)

التركيز mg/ml	0.35	0.45	0.55	0.6	0.8
الامتصاصية	0.983	0.960	0.730	0.222	0.159
IC%	40.31	41.71	55.67	86.34	90.34

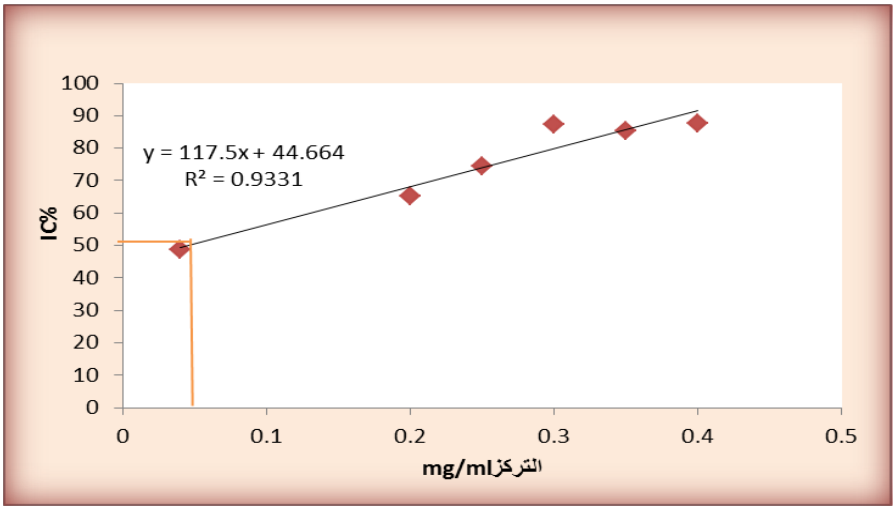
النتائج المتحصل عليها في الجداول السابقة نعبر عنها بمنحنيات تمثل نسبة التثبيط % بدلالة التركيز:



الشكل(6.V): منحنى إختبار DPPH للمستخلص (A)



الشكل(7.V): منحنى إختبار DPPH للمستخلص(B)



الشكل(8.V): المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك.

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل المستخلصات الفينولية و حمض الأسكوربيك نتحصل على التراكيز المناسبة للقضاء على 50% من الجذور الحرة IC_{50} ، دونت في **الجدول (9.V):** نتائج اختبار DPPH للمستخلصات الفينولية و المركب المرجعي.

العينة	AA	A	B
قيم التركيز IC_{50}عند(mg/ml)	0.0455	0.4	0.44

✓ النتائج و المناقشة:

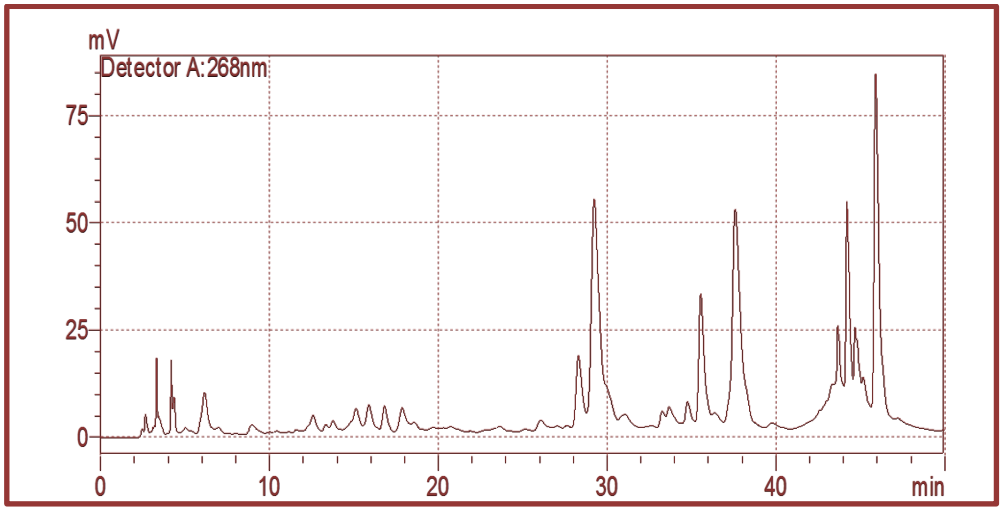
أظهرت المستخلصات الفينولية للنباتات القدرة على إعطاء الهيدروجين حيث أبدت قدرتها على كبح جذر DPPH من خلال قيمة IC_{50}، تدل القيمة الأقل على الفعالية المضادة للأكسدة الأكبر للعينة.

من خلال **الجدول(9.V)** يتبين أن المستخلص الفينولي للعينة (A) يملك أكبر فعالية مضادة للأكسدة بقيمة تقدر (0.4(mg/ml، بينما أقل فعالية مضادة للأكسدة بالنسبة لمستخلص العينة (B) قدرة بقيمة (0.44(mg/ml.

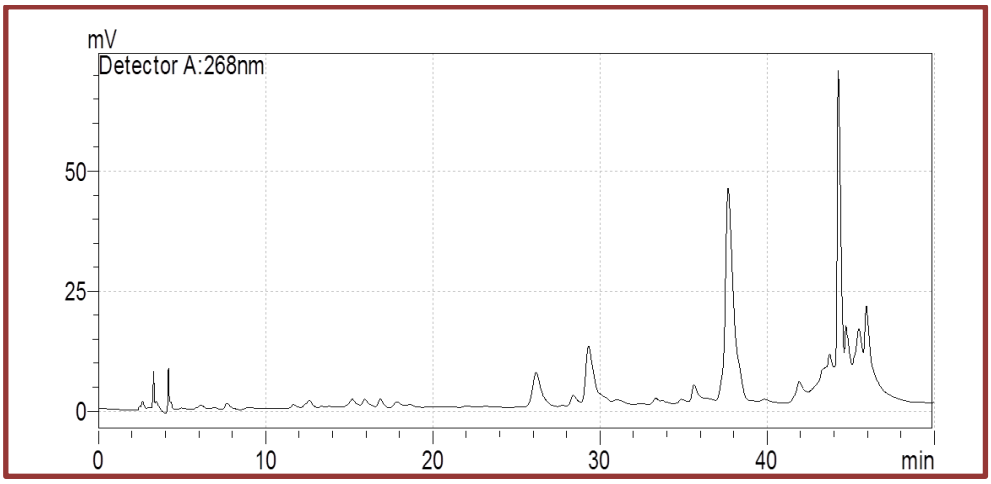
عند مقارنة النتائج المتحصل عليها مع حمض الأسكوربيك والذي يستعمل كمادة مضادة للأكسدة، تبين أن المركب المرجعي أعطى فعالية مضادة للأكسدة أكبر من المستخلصات الفينولية.

5.V. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز HPLC:

نتائج الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص العينة(A) و (B) كانت كالتالي:



الشكل(9.V): كروماتوغرام العينة (A) باستعمال جهاز HPLC



الشكل(10.V): كروماتوغرام العينة (B) باستعمال جهاز HPLC

✓ النتائج و المناقشة:

من خلال نتائج الكروماتوغرام لجهاز HPLC تبين لنا أن المستخلصات للعينات (A) و(B) تحوي على العديد من المركبات الفينولية، حيث تم تحديد تسعة مركبات فينولية و ذلك من

خلال مقارنة زمن مكوثها مع مركبات فينولية مرجعية و كل ذلك مدون في **الجدول (V.10) و الجدول(V.11)**

ملاحظة: هناك طريقة حساب كميات المركبات المرجعية في العينات، و ذلك من خلال إسقاط قيمة المساحة للمركب الفينولي المتحصل عليها من المنحنى الكروماتوغرافي للعينة، على معادلة المساحة بدلالة التركيز لكل منحنى كروماتوغرافي للمركبات المرجعية.(الملحق: 4)

الجدول(V.10): المركبات الفينولية المتواجدة في العينة (A)

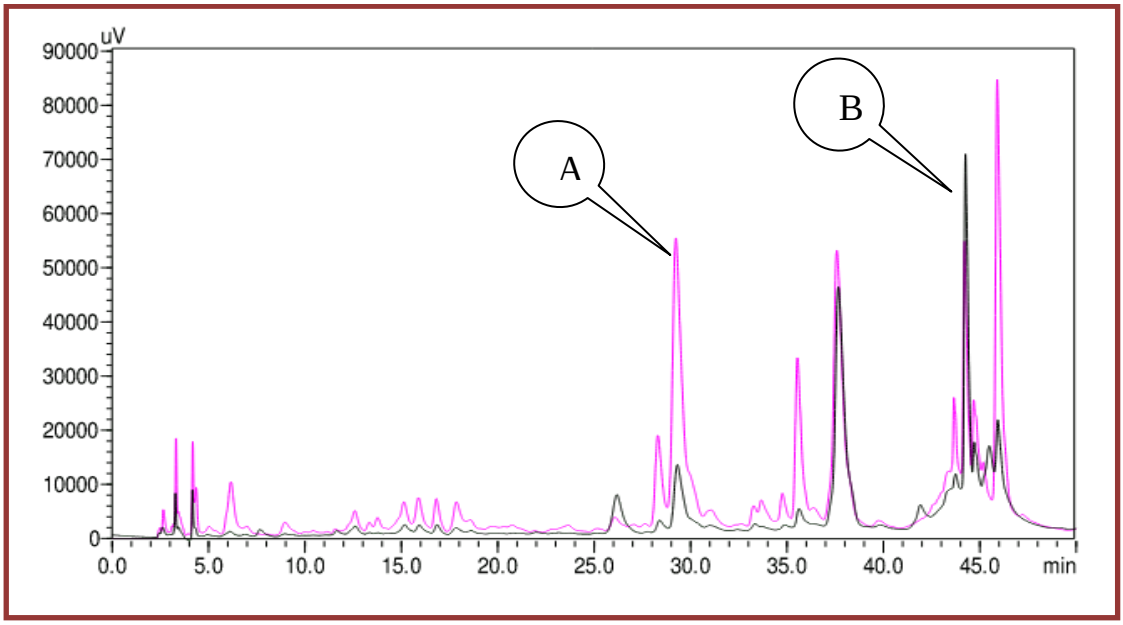
المركبات الفينولية	العينة(A)			
	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز المركبات في العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ1g من العينةµg/g
Acide Gallique	5.358	22035	0.4030	80.595
Acide chlorogénique	13.331	55027	2.540	507.981
Acide Vanilique	15.883	219425	3.372	674.355
Acide Caffieque	16.81	169403	2.015	403.024
Vanilline	21.905	26215	0.445	88.970
Acide p-Comarique	23.634	118605	2.396	479.261
Rutine	28.297	498949	17.728	3545.686
Naringine	34.756	210262	10.850	2169.998
Quercetine	45.166	295738	6.5172	1303.442

الجدول (11.V) : المركبات الفينولية المتواجدة في العينة (B)

المركبات الفينولية	العينة (B)			
	زمن المكوث (min)	المساحة Area	تركيز المركبات في العينة (µg/ml)	كمية المركب المكافئة لـ1gمن العينة µg/g
Acide Gallique	4.936	43971	0.804	160.827
Acide chlorogénique	13.331	9275	0.428	85.622
Acide Vanilique	15.923	51615	0.793	158.627
Acide Caffieque	16.845	38786	0.461	92.275
Vanilline	21.978	9746	0.165	33.077
Acide p-Comarique	23.752	5071	0.102	20.491
Rutine	28.396	59233	2.105	420.928
Naringine	34.855	32211	1.662	332.432
Quercetine	45.487	471163	10.383	2076.614

✓ النتائج و المناقشة:

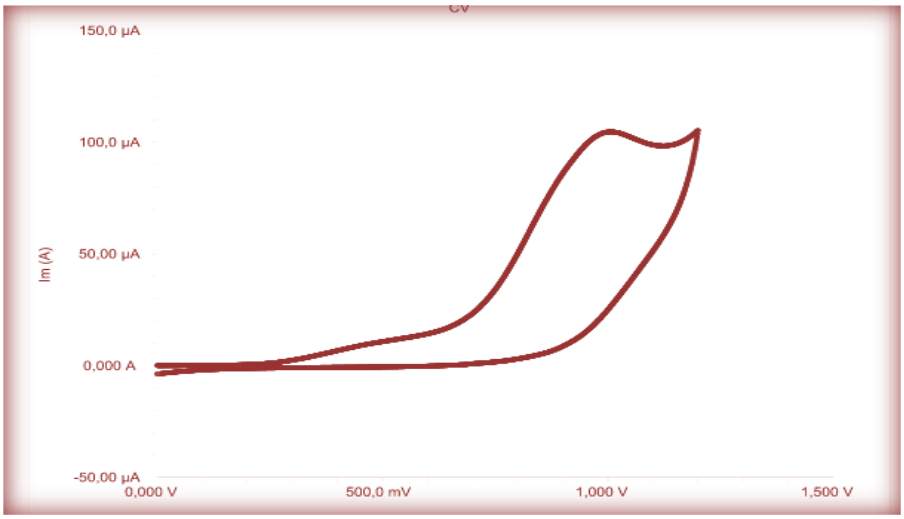
من خلال المقارنة بين الكروماتوغرام و النتائج المدونة في الجدول، تبين أن المستخلصين يحتويان على المركبات الفينولية المرجعية التسعة التي تم تحديها سابقا، حيث كانت المركبات الفينولية (Acide chlorogénique - Acide Vanilique - Acide Caffieque –Vanilline - - Acide p-Comarique - Rutine - Naringine) بكمية كبيرة في العينة (A)، و المركبات الفينولية (Acide Gallique- Quercetine) بكمية كبيرة في العينة (B).



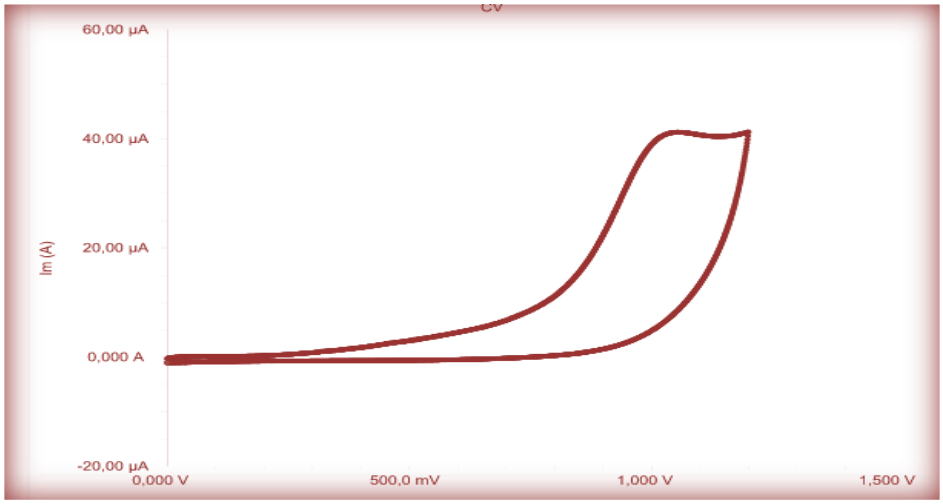
الشكل(11.V): مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين(A) و(B)

6.V. إختبار الفولطا متري الحلقي(EC):

بعد معاملة المستخلصات (A) و(B) بنفس الطريقة الشروط التي عاملنا بها حمض الغاليك، نرسم المنحنيات الفولطا مترية الحلقية للمستخلصين، الموضح في **الشكل (12.V)** و **الشكل (13.V)**



الشكل(12.V): المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (A)



الشكل (13.V): المنحنى الفولطامتري الحلقي للمستخلص الفينولي (B)

من خلال المنحنيات نقوم باسقاط قمم نتوءات المنحنيات لكل مستخلص على المحور Y نجد قيمة شدة التيار، و من خلال علاقة كثافة التيار بدلالة التركيز للمركب القياسي لحمض الغاليك ، نجد تركيز حمض الغاليك في العينات و النتائج مدونة في **الجدول (13.V)**:

$$I = 457.29C + 27.495$$

الجدول (12.V): كمية مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية باستعمال الفولطامتري

العينة	كثافة التيار ($\mu A/cm_2$)	التركيز ($\mu g/ml$)	الفعالية المضادة للأكسدة (mgAGE/g)
المستخلص(A)	100	0.1585	3.1710
المستخلص(B)	40	0.0273	0.5469

✓ النتائج و المناقشة:

تم تقديم كمية المركبات المضادة للأكسدة بطريقة الفولطا متري الحلقي، و ذلك باستعمال المنحنى القياسي لحامض الغاليك، حيث سجلنا كمية (3.1710mgAGE/g) بالنسبة للمستخلص(A) بينما سجلنا كمية أصغر بالنسبة للمستخلص(B) قدرت ب (0.5469 mg AGE/g).

7.V. الفعالية المضادة للبكتيريا:

بعد الزرع و الحضن لمدة 24ساعة، نقوم بقياس قطر التثبيط حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات، **الجدول (13.V)** يبين التراكيز المحضرة :

الجدول(13.V): تراكيز المستخلصات المحضرة

العينة	التركيز (mg/ml)		
	1	0.1	0.001
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3
E	E1	E2	E3
F	F1	F2	F3

بعد 24ساعة من زرع البكتيريا و تشبيع الأقراص بالتراكيز المحضرة ، عدم تسجيل أي قطر تثبيطي للبكتيريا في كلا نوعي البكتيريا بالنسبة لكل المستخلصات .

✓ النتائج و المناقشة:

يتبين من خلال النتائج المتحصل عليها عند جميع التراكيز المحضرة أن نبات الزعتر البري لمنطقتي قالمة و سوق أهراس ليس له فعالية مضادة للبكتيريا

.(*E. coli* ATCC 19105*)– (Staphyloccocus aureus* ATCC 113058*)*

الخاتمة

الخاتمة

كمواصلة للأبحاث السابقة في مجال التداوي بالنباتات الطبية ، و اكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها نباتات الزعتر البري لمنطقتي قالمة وسوق أهراس، كونها تلعب دورا مهما في مجال الطب التقليدي، حيث اعتمدنا في بحثنا على دراسة المستخلصات الفينولية و القلويدية إضافة إلى الزيوت الطيارة.

و كخطوة أولى قمنا بعملتي الكشف و الاستخلاص لنواتج الأيض الثانوي، حيث أظهرت النتائج احتواء نبات الزعتر البري على الفينولات و القلويدات و الفلافونويدات، حيث تمكنا من تقدير مردود المستخلصات الفينولية و القلويدية فكانت النتائج جد معتبرة، بينما كانت قليلة نسبيا بالنسبة للزيوت الطيارة .

و من ثم قمنا بالدراسة الكمية و البيولوجية ، و مقارنة فعالية المستخلصات للمنطقتين، حيث سجلنا ما يلي:

- التقدير الكمي لعديدات الفينول باستعمال كاشف Folin–ciocalteu، حيث كانت كميات الفينول كبيرة نسبيا بالنسبة للزعتر البري لمنطقة سوق أهراس حيث قدرت ب 3.4115mgEAG/g.
- التقدير الكمي للفلافونويدات باستخدام كاشف Chlorured'aluminium، و قد أعطت نتائج مختلفة، حيث كانت كمية الفلافونويدات أفضل بالنسبة لمنطقة قالمة و قدرت ب 26.3140mgEQ/g.
- أعطت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بالنسبة لإختبار DPPH عند IC_{50}%، حيث سجلنا فعالية مضادة للأكسدة للزعتر البري لمنطقة قالمة بكمية أكبر بعد مقارنة المستخلصات.
- قمنا باختبار الفولطا متري الحلقي، حيث سجلنا أكبر قيمة لمضادات الأكسدة لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة قدرت ب 3.1710 mgAGE/g.

- كما قمنا بتقدير و تحليل المركبات الفينولية بجهاز HPLC حيث بينت النتائج إحتواء الزعتر البري بنوعية على تسعة مركبات فينولية، وكانت الكميات المرجعية للفينولات أكبر في عينات الزعتر لمنطقة قالمة.

- تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا ضد سلالتين من البكتيريا الممرضة (*Staphyloccocus aureus* ATCC 113058)- (*E. coli* ATCC 19105) و باتباع طريقة الانتشار كانت النتائج سلبية.

و كخلاصة لما قدمناه في هذا البحث يمكن أن نقول أن نبات الزعتر البري لمنطقة سوق أهراس غني بالمواد الفعالة، وأن هناك علاقة طردية بين نتائج التقدير الكمي للفلافونويدات وقيم التحليل الكروماتوغرافي للعينات بطريقة HPLC من جهة، وقيم مضادات الأكسدة بطريقة DPPH وطريقة الفولتامتري الحلقي من جهة أخرى، فكلما كانت كميات الفلافونويدات أكبر كانت نتائج مضادات الأكسدة أفضل، وكنتيجة لذلك نجد نبات الزعتر البري لمنطقة قالمة أعطى مضادات الأكسدة أكبر لإحتوائه على فلافونويدات أكبر من نبات الزعتر لمنطقة سوق اهراس .

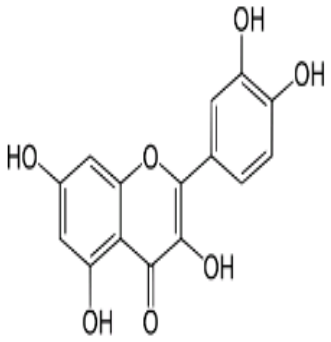
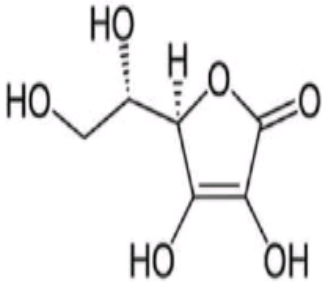
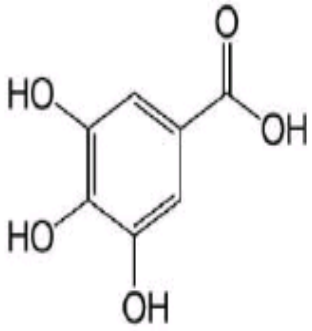
الملاحق

الملاحق

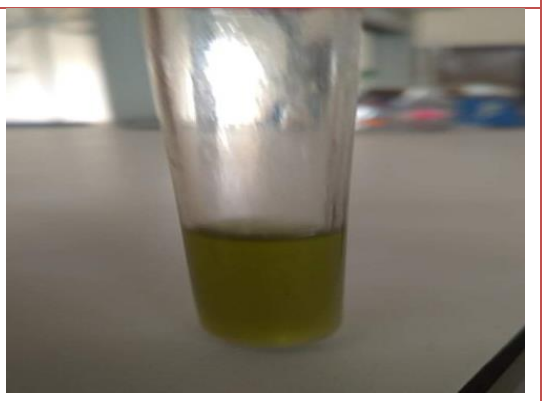
الملحق 1 : الأجهزة المستعملة

الحاضنة	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
جهاز كليفنجر	ميزان حساس
UV-Visible	جهاز التبخير

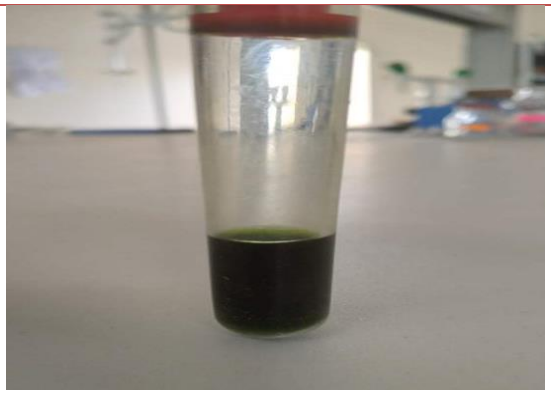
الملحق 2 : الصيغ الكيميائية للمركبات الفينولية المرجعية

		
الكرسيتين Quercétine	حمض الأسكوربيك Acide ascorpique	حمض الغاليك Acide Gallique

الملحق 3: صور بعض المستخلصات النباتية



المستخلص الفينولي لمنطقة قالمة (A)



المستخلص الفينولي لمنطقة سوق أهراس(B)

المستخلص القلويدي لمنطقة قالمة (C)

المستخلص القلويدي لمنطقة سوق أهراس(D)

الملحق 4 :معادلات المركبات المرجعية الفينولية	
المركب المرجعي	**المعادلة**
Acide Gallic (µg/ml)	**Y=54681X**
Acide Chlorogenic (µg/ml)	**y=21665X**
Acide Vanilique (µg/ml)	**y=65077X**
Acide Caffieque (µg/ml)	**y=84066X**
Vanilin (µg/ml)	**y=58930X**
Acide p-Comaric (µg/ml)	**y=49495X**
Rutin (µg/ml)	**y=28144X**
Naringin (µg/ml)	**y=19379X**
Quercetin (µg/ml)	**y=45378X**

Abstract :

This study aims to compare the chemical composition and biological properties of wild thyme plant in the regions of Guelma and Souk Ahras, and for this purpose we conducted a detection and extraction test for the most important active compounds (phenols, flavonoids, alkaloids and volatile oils), and then quantitatively estimated by UV, HPLC, and through this study we found The wild thyme plant contained active substances in varying proportions, as the extraction yield was great for phenols and alkaloids for wild thyme in the Souk Ahras region, while the volatile oils and flavonoids were in a significant amount for wild thyme for the region of Guelma، The antioxidant activity was determined by the chemical method using the DPPH test and the electrochemical method using the cyclic voltammetry test, where there was a direct relationship between the results of the quantification of flavonoids and the values of chromatographic analysis of samples using the HPLC method on the one hand, and the antioxidant values by the DPPH method and the cyclic voltammetry method on the other hand, and as a last step, the antioxidant activity was tested For bacteria on two pathogenic strains, the results were negative for all extracts.

key words :

Wild thyme، effective products (phenols, alcaloids and flavonoids), biological efficacy (Anti-oxidant and anti-bacterial activity)

الملخص

تهدف هذه الدراسة لمقارنة التركيب الكيميائي والخواص البيولوجية لنبات الزعتر البري لمنطقتي قالمة وسوق أهراس، ولهذا الغرض أجرينا إختبار الكشف والاستخلاص لأهم المركبات الفعالة (فينولات، فلافونويدات، قلويدات والزيوت الطيارة)، ومن ثم التقدير الكمي بواسطة جهاز،HPLC , UV، حيث توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى إحتواء نبات الزعتر البري على المواد الفعالة بنسب متفاوتة، حيث كان مردود الاستخلاص كبير للفينولات و القلويدات بالنسبة للزعتر البري لمنطقة سوق أهراس، بينما كانت الزيوت الطيارة و الفلافونويدات بكمية معتبرة لنبات الزعتر البري لمنطقة قالمة، وتم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية باستعمال إختبار DPPH والطريقة الكهروكيميائية باستعمال إختبار الفولطامتري الحلقي، حيث كانت هناك علاقة طردية بين نتائج التقدير الكمي للفلافونويدات وقيم التحليل الكروماتوغرافي للعينات بطريقة HPLC من جهة وقيم مضادات الأكسدة بطريقة DPPH وطريقة الفولتامتري الحلقي من جهة أخرى، وكخطوة أخيرة تم إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا على سلالتين ممرضتين و كانت النتائج سلبية لجميع المستخلصات.

الكلمات المفتاحية :

نبات الزعتر البري، المنتجات الفعالة (الفينولات، القلويدات و الفلافونويدات) ، الفعالية البيولوجية (الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا).