الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم المادة

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين:

بابة منال

قاسمي نيهاد

تحت عنوان:

دراسة المواد الفعالة والنشاط المضاد للتأكسد والبيولوجي لنبات *Azadirachta Indica* المتواجد في الجنوب الجزائري

نوقشت يوم: 11-06-2024

أمام لجنة المناقشة:

نغموش نصر صالح	أستاذ محاضر "ب"	رئيسا	جامعة الوادي
كراسع عائشة	أستاذ محاضر "أ"	مناقشا	جامعة الوادي
عبادي عبد الرزاق	أستاذ محاضر "ب"	مؤطرا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2023-2024

بسم الله الرحمن الرحيم

اهداء

قال تعإلى:" **وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ**"

الحمد لله حبا وشكرا وامتنانا على البدء والختام الحمد لله بعد التعب والمشقة في سبيل الحلم والعلم هاأنا اليوم أقف على عتبة تخرجي أقطف ثمرة جهدي وأرفع قبعتي بكل فخر وبكل حب أهدي نجاحي.

إلى النور الذي غادرني باكرا، من أحمل اسمه بكل عز وافتخار، إلى من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل، والذي روضى الصعاب من أجلي ولطالما حلم ان يرى ثمرة جهده وطيب غرسه في اعلى المراتب، إلى الذي اسمه يرافقني في كل دعوة، "**والدي**" رحمه الله.

إلى من جعل الله الجنة تحت أقدامها التي حضنتني بقلبها قبل يديها، إلى التي سهلت لي الشدائد بدعائها، والتي تسبق دمعتها دمعتي وفرحتها فرحتي، "**والدتي**" أدامك الله ووفقني لبركي.

إلى من شد الله بهم عضدي فكانوا خير معين إلى كتفي وحمايتي وسياج ظهري سندي بعد والدي إخواني، "**مصطفى، حسين**" أسأل الله أن يوفقكم.

إلى النجوم اللامعة في سماء حياتي إلى رمز الحب والتضحية إلى الظل الذي أحتمي به إلى من شاركنني المر والحلو أخواتي، "**سماح، حسناء، دنيا، بثينة، بسمة**" أسأل الله السعادة الدائمة لكم.

إلى أحفاد العائلة سعادة البيت وبهجته، "**روان، رائد، ريتاج، رأفت، جاسمين، رياض، رتيل، محمد آدم**" جعلكم الله هداة مهتدين، لا ضالين ولا مضلين.

إلى الصديقة الثابتة رغم تزعزع العالم رفيقة الخطوة الأولى والأخيرة إلى من كانت خلال سنين العجاف سحابة ممطرة، رفيقة الدرب، "**نيهاد**"

إلى أصدقاء السنين وأصحاب الشدائد وملهمين نجاحي إلى من مدو لي يد العون عند حاجتي وأخص بالذكر، "**صبرين**" على دعمها المستمر ولكونها الشخص الذي يمكنني الاعتماد عليه.

وأخيرا إلى نفسي الطموحة القوية التي تحملت كل العثرات وأكملت رغم الصعاب.

منـال

اهداء

قال صلَّ الله عليه وسلم: **"مَن سَلَكَ طَرِيقًا يَلْتَمِسُ فيه عِلْمًا، سَهَّلَ اللَّهُ له به طَرِيقًا إلى الجَنَّةِ"**

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله وكرمه نبلغ المقاصد والغايات.

بعد مسيرة دراسية دامت سنوات حَملتُ في طياتها الكثير من الصعوبات والمشقة والتعب ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجي أقطف ثمار تعبي وأرفع قبعتي بكل فخر، أكتب هذه الكلمات في لحظة مميزة من حياتي، لحظة تخرجي من الجامعة.

إلى **"أمي وأبي"** لا تسعفني الكلمات للتعبير عن مدى شكري وامتناني لكم، كنتم دائماً السند والداعم الأكبر، وقدمتم لي كل الحب والتشجيع الذي احتجته لتحقيق أحلامي، صبركم وتضحياتكم كان لها الأثر الأكبر في نجاحي.

إلى المرأة التي صنعت مني فتاة طموحة وتعشق التحديات، قدوتي الأولى التي منها تعرفت على القوة والثقة بالنفس لمن رضاها يخلق لي التوفيق أمي الثانية **"عمتي"** أطال الله في عمرها بالصحة والعافية.

إلى الزهرة العطرة في بستان حياتي، وإلى الصوت الحنون يشعرني بالراحة **"جدتي"**، أدامكِ وأطال الله في عمركِ.

إلى الذين كانوا ولا زالوا السند والرفيق والقلب الذي يفهمني دون أن أتكلم والروح التي تهون لي أصعب لحظاتي، **"أسماء، إنصاف، أشواق، إسراء، سبأ، نورهان، آية، ملاك"**.

إلى النور الذي يضيء حياتي، والسند الذي أعتمد عليه، شكراً لكل موقف كنتم فيه بجانبي، أدامكم الله لي إخوة وأصدقاء، وأدام بيننا المحبة والوفاء، **"صهيب، بلقاسم، داود، الهاشمي، نصر الدين، محمد العيد، محمود، خير الدين، أحمد نافع، سليمان، خالد، عبد السلام"**.

إلى مصابيح العائلة أنتم قلوبنا التي تنبض بالسعادة وأنغام حياتنا التي تملؤها البهجة والسرور بفضل براءتكم وابتساماتكم الساحرة **"العربي، أمين، أنس، سيف الإسلام، صلاح الدين، عبد الحميد، زيد، ديمة، ريتال، سلمى، جنى، آمنة، شفاء، نور، أبرار، حفيظة، إيمان"**.

بين كل الكتب والدروس وجدتُكِ شمعة تضيء لي طريق العلم بين صفحات الكتب وأروقة الجامعة، كنتِ دائماً إلهامي ودافعي للتفوق، شكراً لكِ على كل لحظة تشاركناها وعلى كل جهد قدمتِه لي صديقتي ورفيقة دربي **"منال"**.

إلى جند الخفاء صديقتي **"صبرين"** أهديك هذه الكلمات تعبيراً عن شكري وامتناني لك، فقد كنتِ دائماً السند والدعم لي في رحلة دراستي، لم تكن الأيام السهلة دائماً، لكن وجودك بجانبي جعل التحديات تبدو أخف.

وأخيرا إلى نفسي الطموحة القوية التي تحملت كل العثرات وأكملت رغم الصعاب.

نيهـاد

شكر وتقدير

قال الله تعالى: "**إِنَّ الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ إِنَّا لا نُضِيعُ أَجْرَ مَنْ أَحْسَنَ عَمَلا**"

"الكهف: 30" صدق الله العظيم.

الشكر والحمد والمن لله عز وجل أن وفقنا لإتمام هذا العمل وما تم جهد لنختم سعي إلا بفضله وما تخطى العبد من عقبات وصعوبات إلا بتوفيقه، وبعد ذلك نتقدم بالشكر الجزيل للأستاذ "**عبادي عبد الرزاق**" لقبوله الإشراف على هذه المذكرة ولما قدمه لنا من نصائح قيمة وتوجيهات صائبة فبارك الله في جهده وعمله وماله وأهله.

كما نتقدم بالشكر والإمتنان لأعضاء اللجنة الأستاذ "**نغموش نصر صالح**" رئيسًا والأستاذة "**كراسع عائشة**" مناقشًا، على قبولهم مناقشة هذه المذكرة.

ونتوجه بالشكر لكل الأساتذة الذين قدموا لنا يد العون خلال مشوارنا الدراسي، ونخص بالذكر الأستاذ "**نغموش نصر صالح**" الذي وجّه ونصَح وصوّبَ، فجزاه الله عنا خير الجزاء.

كما نشكر كل طاقم كلية العلوم الدقيقة على جهودهم المبذولة وعملهم المستمر.

وفي الأخير نسأل الله العظيم أن يوفقنا لما يحبه ويرضاه فإنه ولي ذلك والقادر عليه والحمد لله رب العالمين.

الملخص

تم إجراء دراسة التركيب الكيميائي النباتي والخصائص البيولوجية لمستخلص أوراق أزاديراشتا إنديكا (النيم) من البيئات القاحلة من خلال تحليل LC-MS، تم تحديد المركبات السائدة في هذا المستخلص كالآتي الكيرسيتين وحمض الأوليانوليك والساليسين والكاتشين كأمثلة على العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا في العينة.

وكذلك تم تحديد التقدير المحتوى الكلي للفينولات (TPC) والذي تراوحت قيمته (49.63 ± 0.159 $\mu gGAE/mg$)، ومحتوى الكلي للفلافونويدات (TFC) تراوحت قيمته (12.481±0.242 $\mu gQE/mg$).

أظهر المستخلص القدرة على تثبيط أكسدة β− كاروتين بشكل كبير، بقيمة IC_{50} تبلغ 0.66 ± 22.29 $\mu g/ml$، بالإضافة إلى ذلك أظهر المستخلص نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة في اختبار DPPH، بقيمة IC_{50} تبلغ 0.71 ± 25.01 $\mu g/ml$، وكان معتدلاً في اختبار ABTS، حيث IC_{50} بلغت قيمته 45,09 ± 1,23 $\mu g/ml$.

كما أظهرت E. coli و P. aeruginosa و S. aureus و B. subtilis حساسية للمستخلص مع تراكيز تتراوح بين VHC و 15 mg/ml، مما يدل على أن المستخلص مضاد جيد للميكروبات.

بينما تمثل (TP)، (Fs)، (ALT) سلالات الفطريات التي تم اختبار حساسيتها لهذا المستخلص، حيث لوحظت نسب التثبيط من (76.47% إلى 89.88%)، (70.58% إلى 89.88%)، (87.71% إلى 90.57%) على التوالي، دلت هذه النسب على النشاط القوي المضاد للفطريات لهذا المستخلص.

يمكن استنتاج أن مستخلص أوراق *Azadirachta Indica* من البيئات القاحلة يمتلك أنشطة بيولوجية مهمة يمكن أن تبرر استخدامه التقليدي في الطب والزراعة.

الكلمات المفتاحية: التركيب الكيميائي النباتي، أزاديراشتا إنديكا، النيم، مضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد للفطريات.

Abstract

A study was conducted on the chemical compound and biological properties of *Azadirachta indica* (neem) leaf extract from arid environments through LC-MS analysis. Predominant compounds of this extract, such as Quercetin, Linoleic Acid, Salicin, and Catechin, have been identified to serve as examples of many biologically active compounds in this sample.

The extract showed a significant ability to inhibit β-carotene oxidation, with an IC_{50} value of $0.66 \pm 22.29\ \mu g/ml$. Additionally, it revealed strong antioxidant activity in the DPPH test, with an IC_{50} value of $0.71 \pm 25.01\ \mu g/ml$, and moderate activity in the ABTS test, where the IC_{50} value was $1.23 \pm 45.09\ \mu g/ml$.

Correspondingly, the total content estimation of phenols (TPC) has been identified to be between $(0.159 \pm 49.63\ (\mu gGAE/mg))$, and the total flavonoids content (TFC) is between $(0.242 \pm 12.481\ (\mu gQE/mg))$.

Moreover, it showed sensitivity against E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, and B. subtilis with concentrations ranging from VHC to $15\ mg/ml$, indicating its antimicrobial properties.

(TP), (Fs), and (ALT) represent the fungal strains that were tested for extract sensitivity, and inhibition percentages were observed respectively ranging from (76.47% to 89.88%), (70.58% to 89.88%), and (87.71% to 90.57%). The percentages indicate the extract's potent antifungal activity.

In conclusion, Azadirachta indica leaf extract from arid environments possesses crucial biological activity that potentially may justify its traditional usage in medicine and agriculture.

Key words : Azadirachta Indica, Neem, phytochemical compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, antifungal activity.

فهرس المحتويات

اهداء .....

شكر وتقدير.....

الملخص.....**i**

Abstract.....**ii**

فهرس المحتويات .....**iii**

قائمة الأشكال.....**vii**

قائمة الجداول.....**ix**

قائمة الاختصارات.....**x**

المقدمة العامة **1**

الجزء النظري

الفصل الأول: عموميات حول نبات *Azadirachta Indica*

1- تعريف النباتات الطبية:..... 6

2- تصنيف النباتات الطبية:..... 6

3- التعريف بنبات *Azadirachta Indica* : 6

4- التصنيف العلمي لنبات *Azadirachta Indica* :..... 7

5- أهمية نبات *Azadirachta Indica* :..... 8

6- وصف نبات *Azadirachta Indica* :..... 9

6-1- الجذور:..... 9

6-2- الجذع:..... 9

6-3- الأوراق:..... 10

6-4- الأزهار:..... 10

6-5- الثمار:..... 11

6-6- البذور:..... 11

7- متطلبات زراعة نبات *Azadirachta Indica* : 12

8- التركيب الكيميائي لنبات *Azadirachta Indica* :..... 12

قائمة المراجع..... 14

الفصل الثاني: مضادات الأكسدة

1- تعريف المركبات الفينولية:..... 18

2- تصنيف المركبات الفينولات:..... 18

3- تعريف مركبات الفلافونويدات: 19
4- تصنيف مركبات الفلافونويدات: 19
5- الجذور الحرة: 21
5-1- تعريف الجذور الحرة: 21
5-2- أنواع الجذور الحرة: 21
5-2-1- المشتق الأكسجين التفاعلي (ROS): 21
5-2-2- المشتق النتروجيني التفاعلي (RNS): 22
5-3- مصادر الجذور الحرة: 22
6- مضادات الأكسدة: 22
6-1- تعريف مضادات الأكسدة: 22
6-2- أنواع مضادات الأكسدة: 23
6-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية: 23
6-2-2- مضادات الأكسدة المصنعة: 23
7- الإختبارات المستعملة في تقويم نشاط المضاد للتأكسد: 24
8- إختبار (DPPH) diphenyl picryl hydrazyl 24
قائمة المراجع: 26

الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية

تمهيد: 29
1- البكتيريا : 29
1-1- تعريف البكتيريا: 29
1-2- تسمية البكتيريا: 30
1-3- تصنيف البكتيريا: 30
1-3-1- من حيث الشكل: 30
1-3-2- من حيث الوسط الذي تعيش فيه: 30
1-3-3- من حيث أثرها على الإنسان: 31
1-3-4- من حيث التغذية: 31
1-3-5- من حيث توزيع أسواطها: 31
1-3-6- من حيث طريقة التلوين: 31
1-4- التركيب الخلوي للبكتيريا: 32
1-4-1- التركيبة الثابتة للخلية البكتيرية: 32

1-4-2- التركيبة الاختيارية للخلية البكتيرية: 33
1-5- أنواع البكتيريا المدروسة: 34
1-5-1- Pseudomonas aeruginosa: 34
1-5-2- Bacillus subtilis: 35
1-5-3- Staphylococcus aureus: 35
1-5-4- Escherichia coli: 36
2- الفطريات: 36
2-1- تعريف الفطريات: 36
2-2- أضرار الفطريات: 37
2-3- فوائد الفطريات: 37
قائمة المراجع: 38

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع: الطرق والوسائل

تمهيد: 43
1- منطقة الدراسة: 43
2- جمع العينة النباتية: 44
3- التجفيف: 44
4- استخلاص النبات: 44
4-1- الأجهزة والمواد المستعملة: 44
4-2- طريقة الإستخلاص: 44
4-3- حساب مردود المستخلص: 46
5- الدراسة الفيتو كيميائية للعينة المستخلصة: 46
5-1- الأجهزة والمواد المستعملة: 46
5-2- تحليل LC-MS: 46
5-3- تحديد المحتوى الفينولي الكلي (TPC) طريقة (Singleton-Ross) 47
5-4- تحديد المحتوى الكلي للفلافونويدات TFC (طريقة Woisky et salation): 48
6-الدراسة البيولوجية: 49
6-1- تقييم الفعالية المضاد للأكسدة: 49
6-1-1- اختبار DPPH للمستخلص طريقة (Zielinski): 50
6-1-2- اختبار مسح الجذور الحرة ABTS طريقة (Sirichaiwetchakoon): 50

6-1-3- اختبار β- كاروتين طريقة (Lichtenthaler):..... 50
6-2- الفعالية المضادة للبكتيريا:..... 51
6-2-1-الأجهزة والمواد المستعملة:..... 51
6-2-2- السلالات البكتيرية:..... 51
6-2-3- تحضير تراكيز المستخلص :..... 52
6-2-4- تحضير الصفيحة الميكروتيترية :..... 52
6-3- الفاعلية المضادة للفطريات:..... 53
6-3-1- الأجهزة والمواد المستعملة:..... 53
6-3-2- طريقة العمل:..... 53
6-3-2-1- تحضير تركيز المستخلص:.....53
6-3-2-2- تحضير الأقراص:.....54
قائمة المراجع:..... 56

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

1- حساب مردود الاستخلاص:..... 59
2- نتائج الدراسة الفيتو كيميائية:..... 59
2-1- تحديد المركبات بواسطة LC-MS:..... 59
2-2- التقدير الكمي لنسبة الفينولات والفلافونويدات:..... 62
3- نتائج الدراسة البيولوجية:..... 64
3-1- الفعالية المضادة للأكسدة:..... 64
3-2- الفعالية المضادة للبكتيريا:..... 67
3-3- الفعالية المضادة للفطريات: 69
قائمة المراجع:..... 72
الخلاصة العامة والآفاق 74
الملاحق..... I

قائمة الأشكال

الشكل (I-1): مناطق توزيع *Azadirachta Indica* في العالم 7
الشكل (I-2): أهمية نبات *Azadirachta Indica* 8
الشكل (I-3): صورة لجذع *Azadirachta Indica* 9
الشكل (I-4): صورة لأوراق *Azadirachta Indica* 10
الشكل (I-5): صورة لأزهار *Azadirachta Indica* 10
الشكل (I-6): صورة لثمار *Azadirachta Indica* 11
الشكل (I-7): صورة لبذور *Azadirachta Indica* 11
الشكل (I-8): بنية مركبات النيم النشطة بيولوجيًا 13
الشكل (II-1): الصيغة الكيميائية لمركب الفينول..... 18
الشكل (II-2): البنية الأساسية للفلافونويدات 19
الشكل (II-3): صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة..... 21
الشكل (II-4): الشكل الحر المرجع لـ DPPH..... 25
الشكل (III-1): تركيب الخلية البكتيرية..... 32
الشكل (III-2): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني P. aeruginosa..... 34
الشكل (III-3): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني B. subtilis..... 35
الشكل (III-4): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني S. aureus 35
الشكل (III-5): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني E. coli..... 36
الشكل (IV-1): خريطة موقع ولاية المغير – أم الطيور..... 43
الشكل (IV-2): مخطط يوضح مراحل الاستخلاص 45
الشكل (IV-3): أهم مراحل الاستخلاص 45
الشكل (IV-4): مخطط التقدير الفينولات الكلية في المستخلص 48
الشكل (IV-5): مخطط التقدير الفلافونويدات الكلية في المستخلص..... 49
الشكل (IV-6): صور فوتوغرافية أثناء العمل..... 52
الشكل (IV-7): صور فوتوغرافية للتراكيز المختلفة للمستخلص بإستعمال DMSO..... 54
الشكل (IV-8): صور فوتوغرافية أثناء العمل..... 55
الشكل (V-1): أعمدة بيانية تمثل مردود المادة المستخلصة..... 59
الشكل (V-2): منحنى LC-MS للمستخلص الميثانولي لنبات *Azadirachta Indica* 60
الشكل (V-3): دائرة نسبية تمثل نسب المركبات الموجودة في المستخلص 61
الشكل (V-4): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة ABTS 65

الشكل (V-5): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة β-carotene 65
الشكل (V-6): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة DPPH 66
الشكل (V-7): صور فوتوغرافية توضح النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص *Azadirachta Indica* 67
الشكل (V-8): أعمدة بيانية تمثل النشاط المضاد الفطريات للمستخلص على الفطريات المدروسة ... 69
الشكل (V-9): صور فوتوغرافية توضح النشاط المضاد الفطريات للمستخلص على الفطريات المدروسة 70

قائمة الجداول

الجدول (I-1): تصنيف نبات *Azadirachta Indica* 7
الجدول (II-1): الهيكل الكربوني لبعض أصناف المركبات الفينولية 18
الجدول (II-2): توضيح تصنيف الفلافونويدات 20
الجدول (IV-1): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة..... 44
الجدول (IV-2): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة..... 46
الجدول (IV-3): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة..... 49
الجدول (IV-4): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة..... 51
الجدول (IV-5): السلالات البكتيرية المختبرة..... 51
الجدول (IV-6): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة..... 53
الجدول (V-1): نتائج مردود المادة المستخلصة..... 59
الجدول (V-2): مجموعة البيانات المتعلقة بالمستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية لنبتة *Azadirachta Indica* التي تم تحليلها بواسطة LC-MS..... 60
الجدول (V-3): يمثل إجمالي كميات الفينولات والفلافونويدات في مستخلص أوراق نبات *Azadirachta Indica* 62
الجدول (V-4): نشاط الكسح الجذري لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica* 64
الجدول (V-5): نسبة MIC وMBC و**MBC/MIC** للمستخلص ضد أربع سلالات بكتيرية..... 67
الجدول (V-6): النشاط المضاد للفطريات لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica* 69

قائمة الاختصارات

الرمز	اللغة الإنجليزية	اللغة العربية
Azadirachta Indica	Azadirachta Indica	النيم
TPC	Total Phenolic content	المحتوى الفينولي الكلي
TFC	Total flavonoid content	المحتوى الفلافونويد الكلي
λ	The wavelength	الطول الموجي
UV-Vis	Spectrophotométrie UV-Visible	الطيف الضوئي المرئي بالأشعة فوق البنفسجية
IC_{50}	The concentration (mg/l) of the extract that inhibited the formation of radical by 50%	تركيز مضادات الأكسدة لتثبيط 50% من الجذر الحر
%	Percentage	النسبة المئوية
MIC	Minimum inhibitory concentration	التركيز المثبط الأدنى
MBC	Minimum.bactericidal concentration	التركيز القاتل الأدنى
RNS	Reactive nitrogen species	المشتق النتروجيني التفاعلي
ROS	Reactive oxygen species	المشتق الأكسجين التفاعلي
LC(-MS)	Liquid-chromatography(-mass spectrometry)	كروماتوغرافية السائلة لطيف الكتلة
DPPH	Diphenyl picryl hydrazyl	–
ABTS	2,2′Azino-Bis(3 ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid	–
BHA	Butylated hydroxyanisole	بوتيل هيدروكسي الأنيسول
BHT	Butylated hydroxytoluene	بوتيل هيدروكسي تولوين
G+	Gram positive	البكتيريا الموجبة الغرام
G-	Gram negative	البكتيريا السالبة الغرام
m_f	Final mass	الكتلة النهائية
m_i	Initial mass	الكتلة الإبتدائية
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ثنائي ميثيل السلفوكسيد

VHC	Very high concentration	تركيز عال جدا
Fs	Fusarium solani	–
ALT	Alternaria sp	–
TP	Thielaviopsis paradox	–
GAE	Gallic acid equivalents	مكافئات حمض الغاليك
QE	Quercetin equivalents	مكافئات الكيرسيتين
C°	Degree Celsius	درجة مئوية
E. coli	Escherichia coli	الإشريكية القولونية
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa	الزائفة الزنجارية
S. aureus	Staphylococcus aureus	المكورات العنقودية الذهبية
B. subtilis	Bacillus subtilis	العصيات الرقيقة
ATCC	American Type Culture Collection	مجموعة الثقافة النوعية الأمريكية
±	Standard deviation	الانحراف المعياري

المقدمة العامة

يعتمد نجاح العلوم الطبية الحديثة إلى حد كبير على الأدوية التي تم الحصول عليها في الأصل من مصادرها الطبيعية [1]، ومن المعروف أن النباتات الطبية تحتوي على مجموعة واسعة من المركبات النشطة بيولوجيًا التي لها أنشطة مضادة للميكروبات والفطريات والسرطانات وللالتهابات ومضادة للأكسدة [2].

أزاديراشتا إنديكا المعروفة بإسم النيم، هي شجرة دائمة الخضرة تنتمي إلى فصيلة الميلياسيات، تتوزع على نطاق واسع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية [3].

يشتهر النيم بتطبيقاته المتنوعة في الطب التقليدي والزراعة ومستحضرات التجميل، نظرًا لخصائصه الدوائية ومركباته النشطة بيولوجيًا، ومن بين هذه المركبات القلويدات والفلافونويدات والمركبات الفينولية التي أظهرت أنشطة بيولوجية مختلفة مثل مضادات الأكسدة ومضادات البكتيريا والفطريات والفيروسات والخصائص المضادة للالتهابات [4] [5].

تعد منطقة المغير في الجزائر، التي تتميز بمناخها الجاف، موطنًا لمجموعة متنوعة من النباتات، بما في ذلك نبات النيم. قد تُظهر أوراق النيم من هذه المنطقة خصائص كيميائية نباتية فريدة من نوعها بسبب الظروف البيئية المحددة، مما يجعلها مثيرة للاهتمام بشكل خاص للدراسات المتعمقة حول مركباتها النشطة وأنشطتها البيولوجية [6] [7].

تهدف هذه الدراسة إلى توصيف التركيب الكيميائي النباتي والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلصات أوراق النيم (*Azadirachta Indica*) التي تم جمعها في منطقة المغير، من خلال تقييم الخصائص البيولوجية لهذه المستخلصات، نسعى إلى فهم إمكاناتها الدوائية واستكشاف مصادر جديدة للمركبات الطبيعية للتطبيقات العلاجية والزراعية، حيث يشمل عملنا هذا ما يلي:

الجزء النظري الذي يتضمن ثلاث فصول:

- ✓ **الفصل الأول:** دراسة عامة حول نبتة *Azadirachta Indica*
- ✓ **الفصل الثاني:** مضادات الأكسدة.
- ✓ **الفصل الثالث:** الفعالية البيولوجية.

أما الجزء التطبيقي يتضمن فصلين:

- ✓ **الفصل الرابع:** الطرق والوسائل.
- ✓ **الفصل الخامس:** النتائج والمناقشة.

وفي الأخير الخلاصة العامة تلخص النتائج المتحصل عليها.

قائمة المراجع

[1] T. Kebede, E. Gadisa, and A. Tufa, "Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected medicinal plants: A possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes," PLoS One, vol. 16, no. 3, p. e0249253, 2021.

[2] H. N. Altayb, N. F. Yassin, S. Hosawi, and I. Kazmi, "In-vitro and in-silico antibacterial activity of Azadirachta indica (Neem), methanolic extract, and identification of Beta. d-Mannofuranoside as a promising antibacterial agent," BMC Plant Biol, vol. 22, no. 1, p. 262, 2022.

[3] O. Bolaji et al., "Potential health and environmental benefits of the identified phytochemicals screening of (Azadirachta indica) neem leaves in Bauchi Metropolis, Bauchi State, Nigeria," GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, vol. 26, no. 3, pp. 68–83, 2024.

[4] V. Singh, M. Roy, N. Garg, A. Kumar, S. Arora, and D. S. Malik, "An insight into the dermatological applications of neem: a review on traditional and modern aspect," Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery Formerly Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery, vol. 16, no. 2, pp. 94–121, 2021.

[5] S. Kumar, A. Yadav, M. Yadav, and J. P. Yadav, "Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm. f.," BMC Res Notes, vol. 10, pp. 1–12, 2017.

[6] T. O. Ariom, E. Dimon, E. Nambeye, N. S. Diouf, O. O. Adelusi, and S. Boudalia, "Climate-smart agriculture in African countries: A Review of strategies and impacts on smallholder farmers," Sustainability, vol. 14, no. 18, p. 11370, 2022.

[7] I. Abid, M. Laghfiri, R. Bouamri, L. Aleya, and M. Bourioug, "Integrated pest management (IPM) for Ectomyelois ceratoniae on date palm," Curr Opin Environ Sci Health, vol. 19, p. 100219, 2021.

الجزء النظري

الفصل الأول:

عموميات حول نبات

Azadirachta Indica

1- تعريف النباتات الطبية:

النباتات الطبية هي نباتات تحتوي بعض أو كل أجزائها على مواد فعالة ذات قيمة علاجية، وهي تستخدم في صورة مباشرة (جذور، سيقان، أوراق، أزهار، ثمار، بذور، عصارة، أعشاب كاملة)، كما هو متبع في الطب الشعبي أو تستخدم في صورة مركزة، وذلك بفصل موادها الفعالة التي تدخل في تركيب الكثير من المستحضرات الصيدلانية، ويعزى إليها الفعالية العلاجية [1].

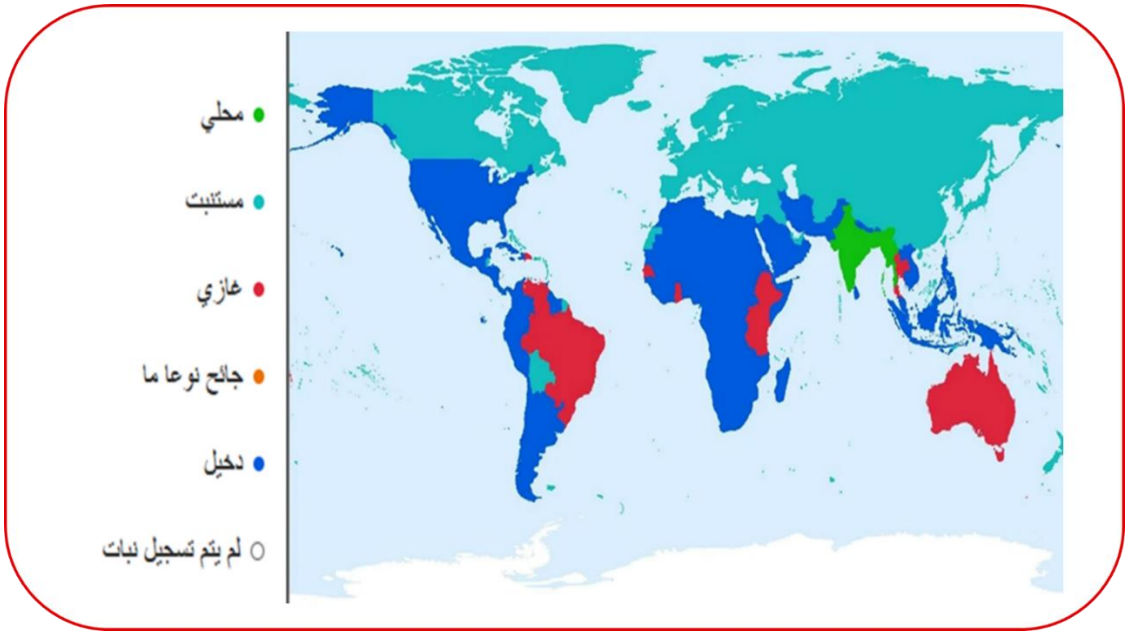
2- تصنيف النباتات الطبية:

تصنف النبات الطبية إلى عدة مجموعات مختلفة لكل منها خصائص مشتركة، كالتصنيف التجاري أو التصنيف العلاجي، لكن يبقى تصنيفها المورفولوجي يحتل الصدارة في دراسة علم النبات، والذي يعتمد على الجزء المستخدم وتمركز المادة الفعالة فيه [2]، [3].

3- التعريف بنبات *Azadirachta Indica*:

نبات النيم المعروف باللاتينية بإسم *Azadirachta indica*، هو نبات من الفصيلة الميلياسية (الماهوجني) (Meliaceae) [4]، وله عدة أسماء عامية حسب المنطقة الجغرافية حيث تسمى في إيران (Neeb) و (Nib) و في اليمن (Meraimarah) وفي باكستان (Nimmi) و (Nimuri) و (Limbo) و في سريلانكا وسنغافورة تسمى (Kohumba) و في اسبانيا (Margosa) و في ماليزيا (Baypay) ولها في الهند أكثر من عشرين اسماً منها (Limba, Limbo, Neem, Nim, Nimb, Nimba) في أمريكيا اللاتينية وأمريكيا الوسطى وفي ألمانيا ومدغشقر وأستراليا وبريطانيا وبنغلاديش (Neem) كما تسمى (Lilac Indian) [5]، لكن معنى كلمة "أزاديراشتا إنديكا" العامة أكثر إثارة للجدل، فبحسب بوري (1999)، تأتي كلمة Azadirachta من الكلمتين الفارسيتين "أزاد" (حرة) و"دراخات" (شجرة)، وهذا يعني الشجرة الحرة [6]، موطنها الأصلي شبه القارة الهندية وبشكل أكثر تحديدا في بورما، حيث عُرفت خصائصها الطبية منذ آلاف السنين، وفي بداية القرن العشرين أُدخلت هذه الشجرة إلى العديد من البلدان النامية، لا سيما في أفريقيا الاستوائية [7].

وتوجد أشجار النيم اليوم في حوالي 80 بلداً في جميع أنحاء العالم، ويقدّر عدد أشجار النيم في العالم بحوالي 91 مليون شجرة، وتشكل مناطق جنوب آسيا وجنوب الصحراء الكبرى مناطق توزيعها الرئيسية [8].



الشكل (I-1): مناطق توزيع *Azadirachta Indica* في العالم [9]

4- التصنيف العلمي لنبات *Azadirachta Indica*:

تم تصنيف شجرة النيم في وقت مبكر من عام 1830 من قبل (Jussieu)، كالتالي [10]:

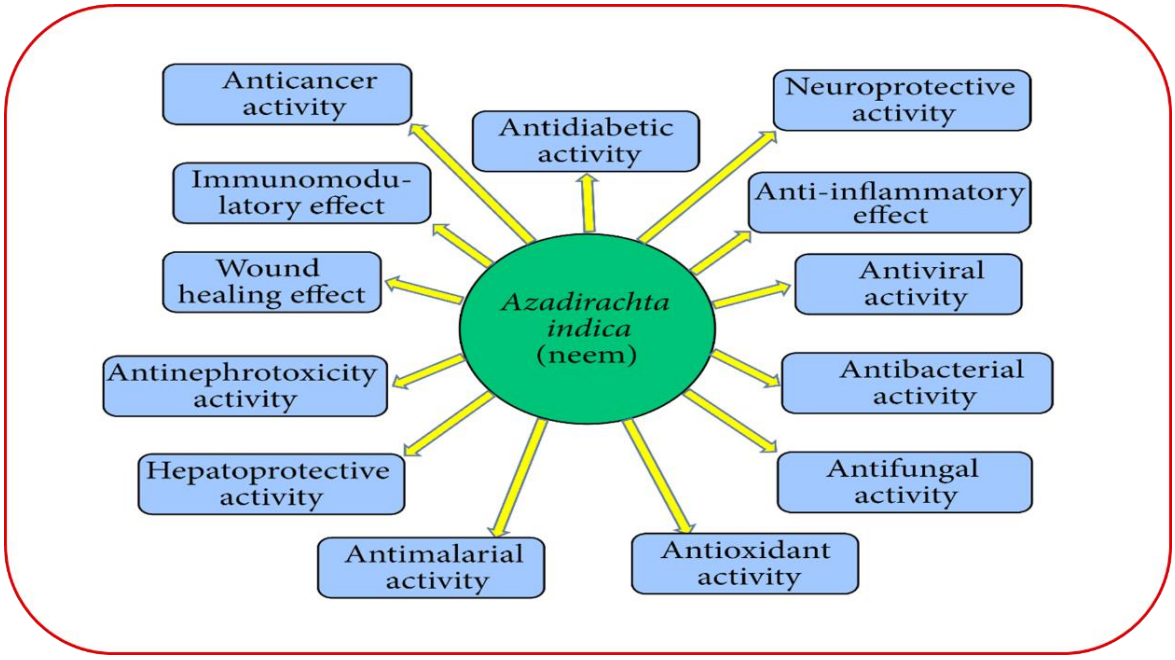
الجدول (I-1): تصنيف نبات *Azadirachta Indica*

اللغة العربية	اللغة الإنجليزية
المملكة: نباتية	Kingdom : plantae
الرتبة: الصابونيات	Order : Rutales
تحت الرتبة: الروتينية	Suborder : Rutinae
العائلة: الماهوجنية	Family : Meliaceae (mahogany family)
الفصيلة: الميلوية	Subfamily : Melioideae
القبيلة: الميلية	Tribe : melieae
الجنس: الأزاديراشتا	Genus : *Azadirachta*
النوع: النيم	Species : *Indica*

5- أهمية نبات *Azadirachta Indica*:

نبات النيم هو نبات معروف منذ أكثر من ألفين عام في القارتين الهندية والأفريقية لفضائله العلاجية العديدة، كان النيم محل بحث على مدى السنوات الماضية بهدف استكشاف جميع خصائصه المفيدة، وتحديدًا تلك التي تفيد صحة الإنسان بشكل مباشر [11]، فقد تم استخدام أجزاء مختلفة من النبات بما في ذلك الأوراق والبذور والأزهار واللحاء [12]، لعلاج الحمى والصداع والقرحة واضطرابات الجهاز التنفسي والسكري والجذام والملاريا والجدري [13]، كما أن لنبات النيم أيضاً خصائص مبيدة للفطريات، ومضادة للطفيليات، ومضادة للالتهابات، ومحفزة ومعدلة للمناعة، ومانعة للحمل [14]، ويستخدم لعلاج مجموعة واسعة من أمراض الحساسية (كمضاد للهيستامين)، والالتهابات الميكروبية والفيروسية، وكذلك أمراض القلب والأوعية الدموية (ارتفاع ضغط الدم، وتصلب الشرايين) ومضاد للأعصاب [15]، يُعتقد أيضًا أن مستخلصات النيم لها تأثيرات مثبطة على العديد من سُلالات الخلايا السرطانية وقد وُصفت المركبات المستخلصة من الأوراق بأنها فعالة في علاج فقدان الشهية والمشاكل الجلدية، تُستخدم الفاكهة على نطاق واسع كمسهل ومطري للبلغم، وتكتسب أهمية كبيرة في علاج المشاكل المَعوية والبَولية [16].

بالإضافة إلى ذلك، تُستخدم هذه الشجرة في التشجير وتعتبر مصدر للخشب والظل، وتنتج الثمرة الزيت الذي يستخدم في الصابون والمنظفات بينما تستخدم المنتجات الثانوية الأخرى في الأسمدة وتعديل التربة، واستخدمت مستخلصاته لمكافحة الحشرات [17].



الشكل (I-2): أهمية نبات *Azadirachta Indica* [18]

6- وصف نبات *Azadirachta Indica*:

النيم هو شجرة استوائية سريعة النمو دائمة الخضرة ذات ساق متفرعة وشديدة الصلابة [19]، ومتوسطة الحجم يصل ارتفاعها من 15 إلى 30 m، ولها تاج كبير مستدير يصل قطره إلى $10 m - 20$ [20]، تبدأ بالإثمار بعد 3 إلى 5 سنوات وبعد حوالي 10 سنوات، تصبح الشجرة منتجة بالكامل وقادرة على إنتاج كميات كبيرة من الثمار سنوياً تصل حتى 50 kg، وقد تعيش لأكثر من قرنين من الزمن [7].

6-1- الجذور:

يتكون نظام جذور النيم من جذر رئيسي قوي ومجموعة من الجذور الجانبية المتطورة، يمكن أن تصل مساحة السطح الجانبية للجذور إلى أكثر من 18 m [21].

6-2- الجذع:

مستقيم وقصير نسبياً، يصل قطره من 1.5 إلى 3.5 m، لون لحائه رمادي إلى أسود متغير من نبات لآخر حسب العمر والموقع، وغالباً ما يكون متشعباً عند القاعدة ومقاوم لهجوم الحشرات [22].

الشكل (I-3): صورة لجذع *Azadirachta Indica*

6-3- الأوراق:

الأوراق مرتبة بالتناوب على سويقات طويلة ونحيلة وناعمة، والسطح الظهري أخضر داكن بينما السطح البطني أفتح، ويتراوح طول السويقة بين 20 و 40 cm، وهي أكثر كثافة عند الأطراف، وفي السويقة الواحدة نجد ما يصل إلى 30 ورقة ويتراوح طولها بين 3 و 8 cm وتكون الأوراق الصغيرة حمراء اللون، وعندما تنضج تكون غير متماثلة الشكل إلى حد ما، ولها هوامش مسننة [23].

الشكل (I-4): صورة لأوراق *Azadirachta Indica*

6-4- الأزهار:

الأزهار بيضاء صغيرة ثنائية الجنس، محمولة في عناقيد متدلية [3]، ويبلغ طول الزهرة الواحدة من 5 − 6 mm وعرضها من 8 − 11 mm [24]، ولها رائحة تشبه رائحة العسل وتجذب الكثير من النحل [25].

الشكل (I-5): صورة لأزهار *Azadirachta Indica*

6-5- الثمار:

وهي عبارة عن ثمرة ناعمة بيضاوية الشكل يصل طولها إلى $2\ cm$ تقريباً، عندما تنضج تكون صفراء أو صفراء مخضرة وتتكون من لُبْ حلو يحتوي على بذرة.

الشكل (I-6): صورة لثمار *Azadirachta Indica*

6-6- البذور:

تتألف البذرة من قشرة ونواة كل منها بنفس الوزن تقريباً والنواة هي الأكثر استخداماً في مكافحة الآفات [26].

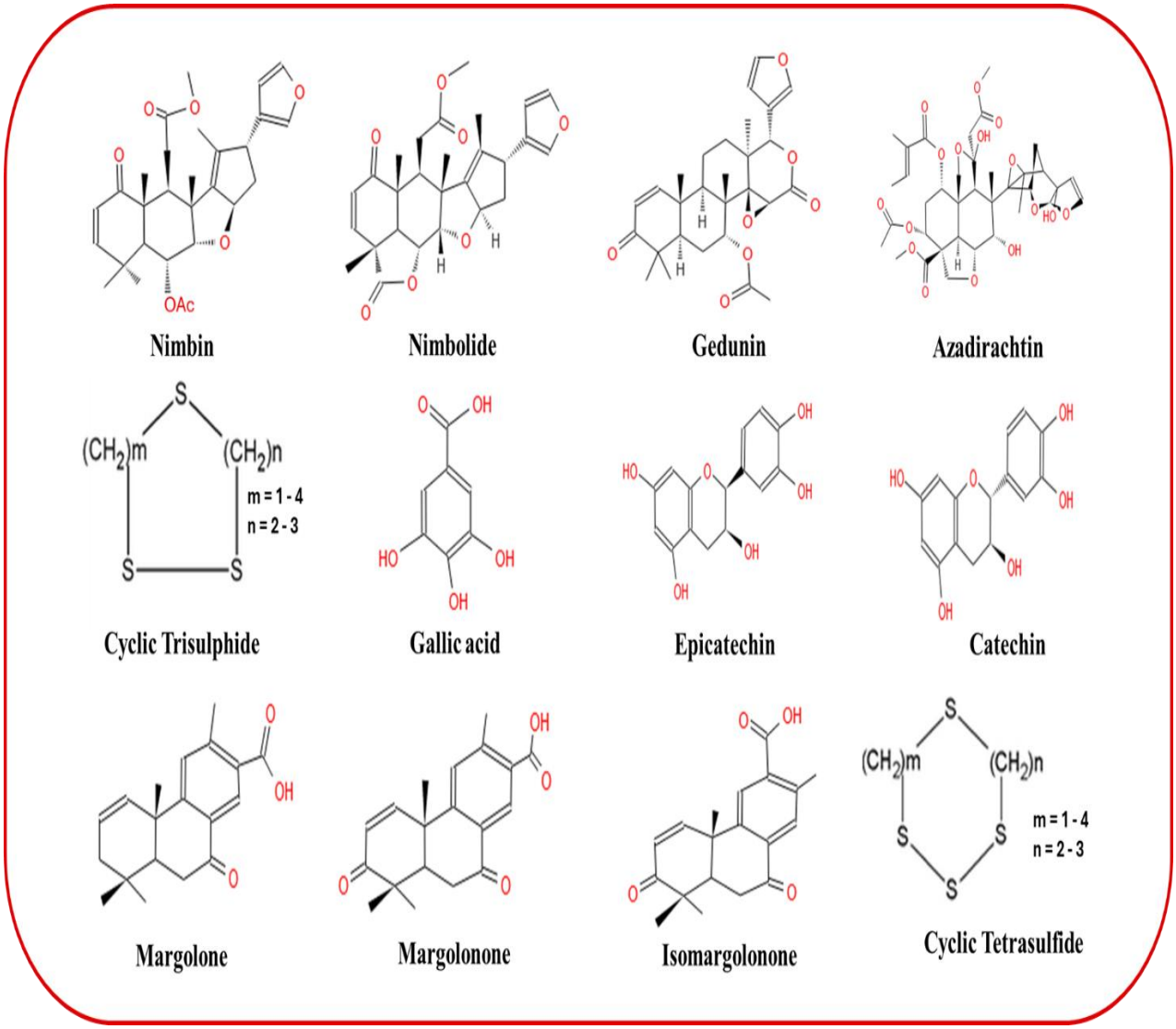
الشكل (I-7): صورة لبذور *Azadirachta Indica*

7- متطلبات زراعة نبات *Azadirachta Indica*:

تتكيف الشجرة بشكلها المورفولوجي مع العوامل المناخية والتضاريس [3]، وهي تنمو بشكل جيد في التربة الجافة والضحلة الصخرية وحتى في التربة ذات الطبقة الطينية الصلبة على عمق ضحل، تتطلب شجرة النيم القليل من الماء والكثير من ضوء الشمس [7]، تنمو بشكل طبيعي في المناطق التي يتراوح معدل هطول الأمطار فيها ما بين 400 إلى 1200 mm ، ومع ذلك فقد تم زراعتها بنجاح حتى في المناطق التي ينخفض فيها هطول الأمطار إلى 130 mm. تنمو شجرة النيم على ارتفاعات تصل إلى 1500 m [26]، وبشكل جيد في درجات حرارة تتراوح بين $0 - 49\ C°$ ، لا يمكنها تحمل المناطق المغمورة بالمياه والتربة سيئة التصريف، يتراوح مجال الـ ph لنموها من 4 إلى 10، كما يجب عند غرسها ترك مسافات بين كل شجرة وشجرة لا تقل عن 3 m على الأقل [27].

8- التركيب الكيميائي لنبات *Azadirachta Indica*:

النيم هي شجرة فريدة من نوعها تحوي حوالي 135 مركبًا نشطًا بيولوجيًا، منتشرة بتراكيز متفاوتة في أجزاء مختلفة من النبات، ويحتوي أيضًا على أكثر من 20 مركبًا كبريتيًا مسؤولاً عن الرائحة المميزة للبذور المسحوقة وزيت النيم وهي تشبه رائحة الثوم [28]، يمكن تصنيف مكونات النيم كمركبات إيزوبرينويدية (تربينات) ومركبات أخرى غير إيزوبرينويدية، تشتمل مركبات الأيزوبرينويد على مركبات ثنائية البرينويدات ومركبات ثلاثية البرينويدات، بينما تشتمل المركبات غير الأيزوبرينويدية على مركبات الفينول والكربوهيدرات والبروتينات ومركبات الكبريت [29]، ومن أهم المركبات النشطة بيولوجيا في نبات النيم هي: الأزرداختين (Azadirachtin)، السالانين، ونيمبيدين وهذه المركبات محبة للماء إلى حد ما وقابلة للذوبان بدرجة عالية في المذيبات العضوية كالكينونات والأسترات والكحولات وبالتالي تساهم بشكل فعال في السيطرة على أمراض النبات [2].



الشكل (I-8): بنية مركبات النيم النشطة بيولوجيًا [30]

قائمة المراجع

[1] باذيب علي سالم، النباتات الطبية في اليمن. صنعاء: مكتبة الإرشاد، 2018.

[2] عبده عمران، محمد. فكرى كمال، كامل، النباتات الطبية والعطرية واستخدمتها الطبية .أعشاب وزيوت ونباتات، 2019.

[3] E. J. Allan, T. Stuchbury, and A. J. Mordue, Eds., Biotechnology in Agriculture and Forestry. Medicinal and Aromatic Plants XI, Y. P. S. Bajaj., vol. Azadirachta indica n. India, 1999.

[4] هالة أحمد أمين، النيم .السودان :دراسات وتقارير نقطة التجارة السودانية، 2011.

[5] H. S. Puri, Neem: the divine tree Azadirachta indica. CRC Press, 1999.

[6] J. S. Gamble, A manual of Indian timbers. Рипол Классик, 1881.

[7] دعاء عبد الحميد جواد آل مسافر، دراسة تصنيفية مقارنة بين النوعين Azadirachta Andica A, Melia Azedaracha L و من العائلة الازردختية (Meliaceae) وتقيم كفاءتهما في تثبيط بعض الفطريات الممرضة ،جامعة كربلاء، رسالة الماجستير. العراق :دعاء، عبد الحميد جواد آل مسافر، 2022.

[8] S. W. Opender Koul, Neem: Today and in the New Millennium, vol. Neem: A Global Persp. India: Insect Biopesticide Research Centre 30 Parkash Nagar, Jalandha, 2004.

[9] "موسوعة النبات – النيم الشائع".

[10] K. Biswas, I. Chattopadhyay, R. K. Banerjee, and U. Bandyopadhyay, “Biological activities and medicinal properties of neem (Azadirachta indica),” Curr Sci, pp. 1336–1345, 2002.

[11] S. R. Fernandes et al., “Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art,” Fitoterapia, vol. 134, pp. 141–150, 2019.

[12] S. C. Gupta, S. Prasad, A. K. Tyagi, A. B. Kunnumakkara, and B. B. Aggarwal, “Neem (Azadirachta indica): An indian traditional panacea with modern molecular basis,” Phytomedicine, vol. 34, pp. 14–20, 2017.

[13] S. Saleem, G. Muhammad, M. A. Hussain, and S. N. A. Bukhari, “A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals,

and pharmacological attributes of Azadirachta indica," Phytotherapy research, vol. 32, no. 7, pp. 1241–1272, 2018.

[14] E. C. Chutulo and R. K. Chalannavar, "Endophytic mycoflora and their bioactive compounds from Azadirachta indica: A comprehensive review," Journal of Fungi, vol. 4, no. 2, p. 42, 2018.

[15] N. Aribi, B. Denis, S. Kilani-Morakchi, and D. Joly, "L'azadirachtine, un pesticide naturel aux effets multiples," médecine/sciences, vol. 36, no. 1, pp. 44–49, 2020.

[16] S. M. Patel, K. C. N. Venkata, P. Bhattacharyya, G. Sethi, and A. Bishayee, "Potential of neem (Azadirachta indica L.) for prevention and treatment of oncologic diseases," in Seminars in cancer biology, Elsevier, 2016, pp. 100–115.

[17] S. Saleem, G. Muhammad, M. A. Hussain, and S. N. A. Bukhari, "A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of Azadirachta indica," Phytotherapy research, vol. 32, no. 7, pp. 1241–1272, 2018.

[18] Mohammad A. Alzohairy, "Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine," Therapeutics Role of Azadirachta indica (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment, 2016.

[19] R. Paul, M. Prasad, and N. K. Sah, "Anticancer biology of Azadirachta indica L (neem): A mini review," Cancer Biology and Therapy, vol. 12, no. 6. pp. 467–476, Sep. 15, 2011. doi: 10.4161/cbt.12.6.16850.

[20] H. S. Puri, Neem: the divine tree Azadirachta indica. CRC Press, 1999.

[21] M. Z. LALMI Messaouda, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de MASTER ACADEMIQUE, Université EL-Oued., vol. Diplôme de MASTER. Algérie, 2021.

[22] M. DJIBRIL DIEDHIOU, Fractionnement analytique de la graine de neem (Azadirachta indica A. Juss.) et de la graine de dattier du désert (Balanites aegyptiaca L.) - Valorisation des constituants de la graine de neem par bioraffinage, UNIVERSITÉ TOULOUSE., vol. DOCTORAT. France : Sciences de la Matière (SDM), 2017.

[23] N. S. MAHROUCHE Khaoula, Evaluation de l'activité de l'huile essentielle d'Azadirachta indica vis-à-vis d'Aspergillus flavus des noix du Juglans regia, Université B.B.A., vol. Diplôme de Master. Algerie : Département des Sciences Biologiques, 2020.

[24] B. Lisan, "Fiche présentation : arbre azadirachta indica, A," A, Juss, 2000.

[25] N. R. Council, Neem: a tree for solving global problems. The Minerva Group, Inc., 2002.

[26] A. Tomar, K. K. Singh, S. Phogat, and R. S. Dhillon, "Neem: An Introduction," Neem: A Treatise, p. 546, 2008.

[27] M. K. Sateesh, "Microbiologaical investigations on die_back disease of neem _Azadirachta indica A juss_," 2001.

[28] S. K. S. B. Sushma Drabu, "Les bienfaits et usages du neem (ou margousier), la 'feuille miracle,'" Res J Pharm Biol Chem Sci, vol. 3, no. 1, p. 2, Jan. 2012.

[29] T. E. Wahjono, A. Suhatman, W. Wihermanto, and H. Hadiyanto, "Neem (Azadirachta indica A. Juss; Meliaceae) as the source for plant-based pesticides as an effective and sustainable biocontrol alternative," Journal of Bioresources and Environmental Sciences, vol. 3, no. 3, pp. 128–141, 2024.

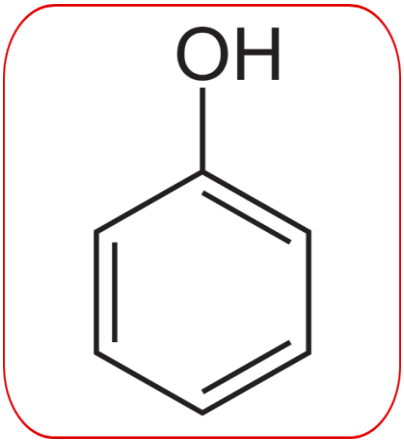
[30] K. Balaji, K. P. Shivaji, R. R. Krishna, and K. Balasaheb, "Medicinal uses of neem (Azadirachta indica) in human life: A Review," 2018.

الفصل الثاني:

مضادات الأكسدة

1- تعريف المركبات الفينولية:

هي واحدة من أكبر المجموعات والمواد الموزعة على نطاق واسع في النبات، من أجل هذا فإن نسبة 80 % من هذه المركبات توجد على مستوى أنسجة قشرة الفواكه، وعموما يرجع لون النبات والثمار إلى الأصباغ في المركبات الفينولية وهي المسؤولة عن ظهور الألوان في النبات، تتألف بنيوياً من ارتباط مجموعة هيدروكسيل وظيفية بشكل مباشر مع هيدروكربون عطري [1].



الشكل (II-1): الصيغة الكيميائية لمركب الفينول

2- تصنيف المركبات الفينولية:

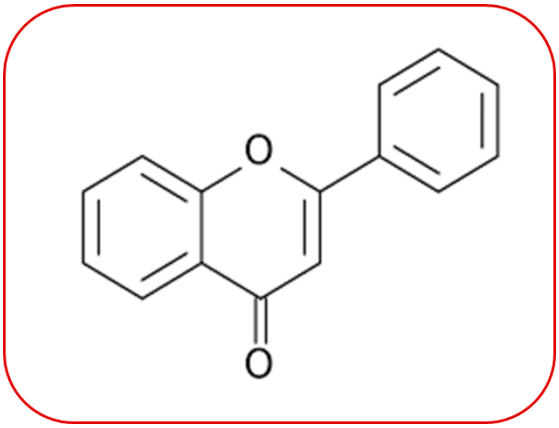
يضم قسم المركبات الفينولية حوالي 800 مركب، مقسمة إلى عدة أصناف، نلخص عملية التصنيف في الجدول (II-1):

الجدول (II-1): الهيكل الكربوني لبعض أصناف المركبات الفينولية [2]

الصنف	عدد الكربونات	الهيكل الأساسي
الفينولات البسيطة	6	C_6
أحماض فينولية مشتقة من حمض البنزويك	7	$C_6 - C_1$
الفينيلاسيتيك	8	$C_6 - C_2$
أحماض فينولية المشتقة من السينامك	9	$C_6 - C_3$
النافتوكينون	10	$C_6 - C_4$
الفلافونويدات	15	$C_6 - C_3 - C_6$

3- تعريف مركبات الفلافونويدات:

مشتقة من الكلمة اللاتينية (flavus) وتعني الأصفر، أي الأصبغة الصفراء، هي فئة من نواتج الأيض الثانوي للنباتات والفطريات، وتكون على شكل صبغات متواجدة في جميع أجزاء النبات إلا أنها تتمركز في القسم الهوائي للنبات، هيكلها العام مكون من 15 كربون، والذي يتكون من حلقتين فينيل وحلقة غير متجانسة، يمكن اختصار هذه البنية الكربونية إلى $C_6 - C_3 - C_6$ [3].

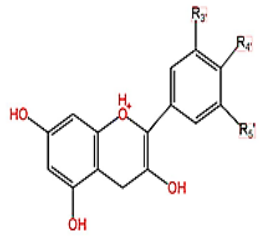
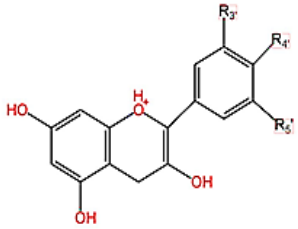
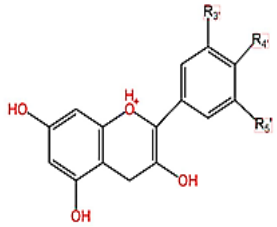
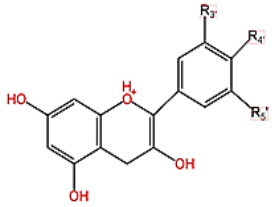
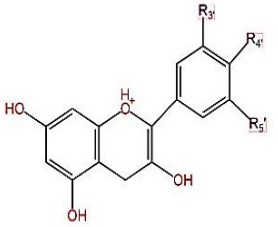
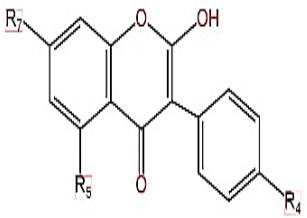


الشكل (II-2): البنية الأساسية للفلافونويدات

4- تصنيف مركبات الفلافونويدات:

تنقسم إلى عدة أنواع وذلك لتميزها بعدد من المستبدلات المختلفة حسب طبيعتها وموضعها وتتوضح في الجدول (II-2):

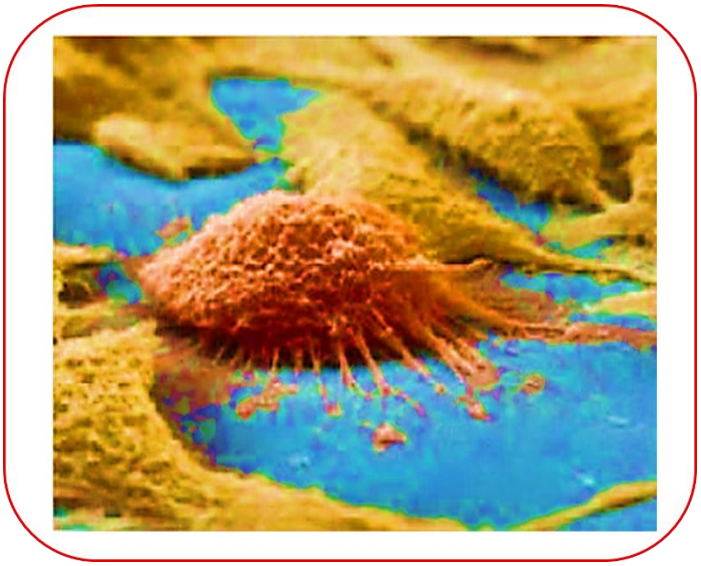
الجدول (II-2): توضيح تصنيف الفلافونويدات [4]

التصنيف	الصيغ الكيميائية	3'	4'	5'	الأمثلة
Flavones		OH	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthhocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
Isoflqvones		R5	R7	R4	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-GLU	OH	Daidzeine

5- الجذور الحرة:

5-1- تعريف الجذور الحرة:

هي ذرات أو جزيئات تمتلك إلكترونات غير مرتبطة في غلافها الخارجي، وبسبب افتقادها لرقم ثابت في غلافها الأخير، فهي في حركة دائمة لتبحث عن ذرة أخرى أو جزيء آخر لترتبط به وتحقق الثبات، أهم الجذور الحرة الموجودة في الخلايا الطبيعية الحية مصدرها الأوكسجين، ومعروفة باسم المركبات الأوكسجينية النشطة ROS [5].



الشكل (II-3): صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة

5-2- أنواع الجذور الحرة:

تنتج هذه الجذور من عمليات الأيض الطبيعية للخلايا، وهي تشتق من نوعين من الجزيئات وهي الأكسجين والنيتروجين، وبالتالي تخلق أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) وأنواع النيتروجين التفاعلية (RNS) [6].

5-2-1- المشتق الأكسجين التفاعلي (ROS):

من أهم هذه الجذور هي: الأكسجين الأحادي (O_2)، فوق الأكسيد ($O_2^{-\bullet}$)، الجذر ($OH^{\bullet}$)، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2).

5-2-2- المشتق النتروجيني التفاعلي (RNS):

من أهم هذه الجذور هي: جذر (NO•)، أحادي أكسيد النتروجين (NO) [7].

5-3- مصادر الجذور الحرة:

يمكن أن تنشأ الجذور الحرة من مصادر داخلية وخارجية متعددة.

- ❖ **المصادر الداخلية:** تنشأ نتيجة لعدة عمليات فيزيولوجية وبيوكيميائية، من هذه العمليات تنشيط الخلايا المناعية والالتهابات.
- ❖ **المصادر الخارجية:** تتمثل في التدخين، الأشعة فوق البنفسجية، الأدوية، والمبيدات الحشرية[8].

6- مضادات الأكسدة:

6-1- تعريف مضادات الأكسدة:

وعرّف (2007,Halliwell) مضادات الأكسدة بأنها "أي مادة تؤخر أو تمنع أو تزيل الضرر التأكسدي الذي يلحق بجزيء مستهدف"، وفي نفس العام عرّف (2007,Khlebnikov) مضادات الأكسدة بأنها "أي مادة تعمل بشكل مباشر على التخلص من الأكسدة أو تعمل بشكل غير مباشر على زيادة تنظيم الدفاعات المضادة للأكسدة أو تثبيط إنتاج الأكسدة".

من الخصائص الأخرى التي يجب أن يتمتع بها المركب لاعتباره مضادًا للأكسدة هي القدرة بعد مسح الجذور على تكوين جذر جديد مستقر من خلال الرابطة الهيدروجينية داخل الجزيئات عند حدوث مزيد من الأكسدة [9].

6-2- أنواع مضادات الأكسدة:

تنقسم المضادات الحيوية من حيث مصدرها إلى:

6-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية:

6-2-1-1- مضادات الأكسدة الداخلية (الأنزيمية):

يمتلك الجسم العديد من الأنزيمات المضادة للأكسدة، والتي تعتبر كخط دفاع أول ضد الجذور الحرة، ومن أهمها:

- فوق أكسيد الديسموتاز Superoxide Dismutase (SOD)
- الكاتالاز Catalase (CAT)
- جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione Peroxydase (GPx) [10]

6-2-1-2- مضادات الأكسدة الخارجية (الغذائية):

وهي عوامل مضادة للأكسدة تستخرج من الغذاء أهمها:

- Vitamin-C
- Vitamin-E
- البيتا كاروتين
- الزنك Zinc

6-2-2- مضادات الأكسدة المصنعة:

تستعمل هذه المواد في الصناعة الغذائية (الأطعمة المعلبة) وهذا يعود إلى فعاليتها وتكلفتها القليلة مقارنة بالمضادات الأكسدة الطبيعية، وهي كذلك غير سامة، لكن على المدى البعيد من استعمالها تسبب أضرارا جانبية وهذا ما أدى دول الإتحاد الأوروبي مؤخرا التخلي عنها ونذكر منها:

- (Buthyl hydroxyl anizole) BHA
- (Buthyl hydroxy toluéne) BHT

- حمض الغاليك Ac. gallique [11]

7- الإختبارات المستعملة في تقويم نشاط المضاد للتأكسد:

هناك ثلاث أنواع رئيسية لأساليب قياس النشاط المضاد للأكسدة وهي قياس:

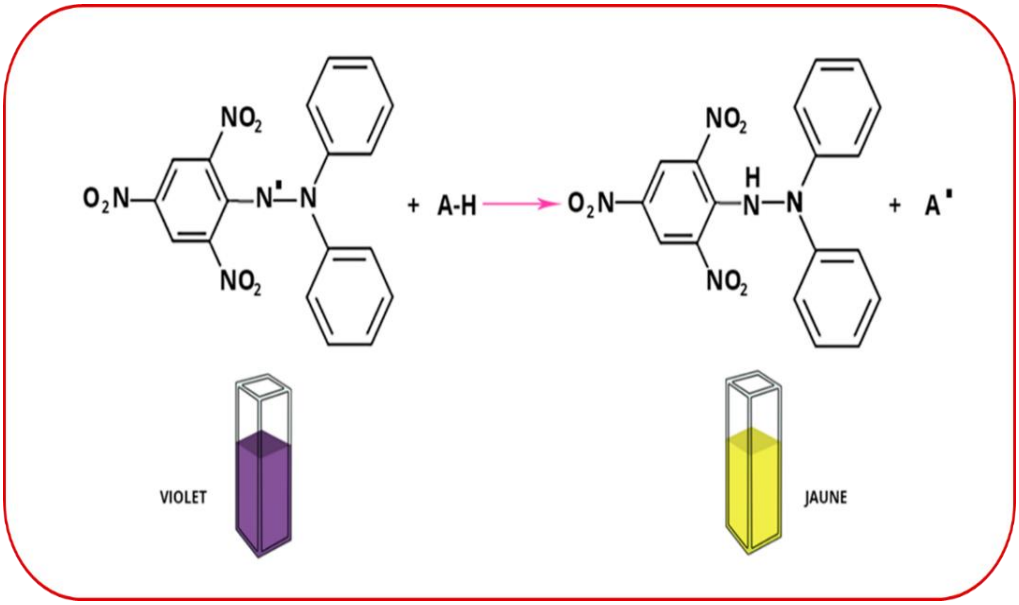
- الأوكسجين المستهلك.
- المادة المتأكسد الناتجة.
- امتصاصية الجذور الحرة أو ارتباطها.

من بين هذه الطرق أو الاختبارات الخاصة ببعض المستخلصات النباتية والمركبات الطبيعية والاصطناعية نذكر منها:

- اختبار TBARS[12]
- اختبار (DPPH) diphenyl picryl hydrazyl [13]
- اختبار β-carotene [14]

8- إختبار (DPPH) diphenyl picryl hydrazyl

وهي من أكثر الطرق استعمالا لإختبار النشاط المضادة للأكسدة في العينات النباتية، تعتمد هذه الطريقة على مراقبة قدرة المواد المضافة (المستخلصات) على التقاط أو تثبيط تكوين الجذور الحرة، حيث يلتقط جذر DPPH الجذور الحرة عند $\lambda = 517\ nm$ ، ومن خلالها يمكن تحديد النشاط المضاد للأكسدة من خلال انخفاض هذا الامتصاص. حيث يتم الإبلاغ عن النتائج على أنها IC_{50}، أي كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتقليل تركيز DPPH الأولي بنسبة 50% [15].



الشكل (II-4): الشكل الحر المرجع لـ DPPH

قائمة المراجع:

[1] B. Z. E. Chala Mohamed Elamine، تقدير المحتوى الكربوهيدرتي والبروتيني والدهني والفينولي لنوى بعض أصناف النخيل التمر (Phoenix Dactylifera.l). Algerie : MÉMOIRE DE MASTER, Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes, Université Mohamed Khider de Biskra, 2021.

[2] بالفار محمد الأخضر، المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية. الجزائر: مذكرة دكتوراه، تخصص كيمياء، جامعة قاصدي مرباح بورقلة، 2016.

[3] H. M. H. Muhaisen and E. M. M. Ali, "Medicinal Properties of Flavonoids مجلة العلوم الطبية و الصيدلانية، "الفلافونويدات وخواصها الدوائية، : pp. 21–29، 2019.

[4] شريط هاجر، بوترعة الشيماء، دراسة القدرة المضادة للأكسدة والنشاط البيولوجي لمستخلص نبات العلقة الذي ينمو في صحراء الوادي .(Oudney africana R) الجزائر: مذكرة ماستر، تخصص كيمياء عضوية، جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي، 2023.

[5] رشيد محمد رشيد علي القيسي، "انواع الجذور الحرة"، مقالات التدريس.Apr. 2023 ,

[6] I. C. F. R. F. P. M. and M. S. Márcio Carocho, "Antioxidants and Prooxidants: Effects on Health and Aging," Oxid Med Cell Longev, 2018.

[7] ذويب آية، سواكر مروة، دراسة المواد الفعالة والنشاط المضاد للتأكسد لنبات Salvia Officinalis المتواجد في الجنوب الجزائري .الجزائر: مذكرة ماستر، تخصص كيمياء عضوية، جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي، 2023.

[8] بلفار آسيا، دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianum (Dur.).الجزائر: مذكرة دكتوراه، تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية وفعالية العينات الجزيئية، 2018.

[9] M. Carocho and I. C. F. R. Ferreira, "A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives," Food and Chemical Toxicology, vol. 51, pp. 15–25, 2013, doi : https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021.

[10] S. E. Lee and Y. S. Park, “The emerging roles of antioxidant enzymes by dietary phytochemicals in vascular diseases,” Life, vol. 11, no. 3, p. 199, 2021.

[11] عزري خضرة، دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي .الجزائر: مذكرة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية وفيزيوكيميائية الجزيئية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 2013.

[12] M. A. Ghani, C. Barril, D. R. Bedgood Jr, and P. D. Prenzler, “Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay,” Food Chem, vol. 230, pp. 195–207, 2017.

[13] Z. Chen, R. Bertin, and G. Froldi, “EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs,” Food Chem, vol. 138, no. 1, pp. 414–420, 2013.

[14] A. L. Dawidowicz and M. Olszowy, “Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β-carotene bleaching assay: Experiments with BHT used as standard antioxidant,” European Food Research and Technology, vol. 231, pp. 835–840, 2010.

[15] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, and K. Robards, “Methods for testing antioxidant activity,” Analyst, vol. 127, no. 1, pp. 183–198, 2002.

الفصل الثالث:

الفعالية البيولوجية

تمهيد:

ان كلمة ميكروب (microorganism) وصف للكائنات المجهرية الدقيقة التي لا يمكن ملاحظتها أو رؤيتها إلا بالمجهر فهي تشمل الفيروسات والبكتيريا والفطريات والطحالب، كان من المستحيل تقريبًا إثبات وجود البكتيريا على أرض الواقع، حتى تحسنت التكنولوجيا وسمحت للبشر بمراقبة الأشياء الصغيرة من خلال العدسات التي يمكن تكبير عيناتها عدة مرات، وهذا ما حدث عندما استخدم أنتوني فان ليوينهوك (1632–1723) الهولندي عدسات محلية الصنع لمراقبة قطرات الماء فأكتشف عالمًا صغيرًا يعج بالحياة وسمى هذه المخلوقات التي رآها "الحيوانات".

وفي سنة 1859 كان أول اكتشاف للبكتيريا من طرف العالم الكيميائي الفرنسي لويس باستور (Louis Pasteur) وفي مزيد من الأبحاث قدم باستور أول دليل رئيسي على أن الجراثيم تسبب المرض، وكذلك طور عملية تسمى الآن البسترة لتدمير الكائنات الحية الدقيقة في الأطعمة والمشروبات، مما يجعلها آمنة للاستهلاك، كما قام بتجربة تحصين الحيوانات وتطعيمها ضد الأمراض.

أما العالم الألماني روبيرت كوخ (Koch Robert) فقد كان له إسهام في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض حيث ارتبط إسم البكتيريا بالمرض الذي تسببه ويعتبر أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا.

ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاما في الكثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية واللاعضوية ومعالجة المياه وكذلك عدة استخدامات أخرى.

1- البكتيريا :

1-1- تعريف البكتيريا:

البكتيريا هي إحدى الكائنات الحية الدقيقة أحادية الخلية، وهي من أوائل المخلوقات التي نشأت على سطح الأرض، وتتميز بشكلها الكروي أو الحلزوني أو العصوي، وتختلف أحجامها بشكل كبير فمنها ما لا يتجاوز أبعادها النصف ميكرومتر ومنها ما يصل إلى خمسة ميكرومتر، وتستطيع الخلية البكتيرية أن تنقسم كل عشرين دقيقة لتصبح خليتان، وهي تعيش تحت أسوأ الظروف المناخية التي لا تستطيع معظم الكائنات الحية الأخرى تحملها [1] [2].

1-2- تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية بحيث يشير المقطع الأول من الإسم إلى الجنس والمقطع الثاني إلى النوع.

يحمل إسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في (Streptocoque, Staphylococcus) أو اسم المكتشف مثل (Escherichia coli)، أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض أو مكان عزلها كما هو الحال في (E. coli) أو قد يحمل صفات اللون مثل (Staphylococcus aureus) أي الذهبية [3].

1-3- تصنيف البكتيريا:

يمكن تصنيف البكتيريا وفقا لعدة طرق:

1-3-1- من حيث الشكل:

يمكن تصنيف جميع أنواع البكتيريا تحت أحد الأشكال الثلاث الرئيسية التالية: الدائري (وتُسمى مكورات cocci)، والخطّي (وتُسمى عُصيات bacille)، والحلزوني أو اللولبي (وتُسمى ملتويات spirochetes)

1-3-2- من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

تصنف البكتيريا أيضًا حسب ما إذا كانت تحتاج إلى الأكسجين للعيش والنمو أم لا

1-3-2-1- البكتيريا الهوائية (aerobes): وهي البكتيريا التي تحتاج الأكسجين لعيشها، وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.

1-3-2-2- البكتيريا اللاهوائية (Anaerobic) وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الأكسجين.

1-3-2-3- البكتيريا الاختيارية (facultative): وهي من الممكن أن تعيش وتنمو مع وجود الأكسجين أو عدمه [4].

1-3-3- من حيث أثرها على الإنسان:

1-3-3-1- البكتيريا النافعة: هي كائنات حية دقيقة تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة، فهي تلعب دوراً مهماً في الحفاظ على صحة الإنسان، خاصة في الجهاز الهضمي.

1-3-3-2- البكتيريا الضارة: هناك بكتيريا يمكن أن تسبب العديد من الأمراض، ومن هذه الأمراض المعدية (الالتهاب الرئوي والسل والدفتيريا والزهري وتسوس الأسنان)، ويمكن تصحيح آثارها عن طريق تناول المضادات الحيوية والأدوية الموصوفة.

1-3-3-3- البكتيريا الانتهازية: هي نوع من البكتيريا التي توجد عادة في جسم الإنسان والبيئة دون أن تسبب أي ضرر، وعند حدوث ضعف في جهاز المناعة أو تغييرات في بيئة الجسم الطبيعية، يمكن أن تصبح هذه البكتيريا ضارة وتسبب الأمراض [5].

1-3-4- من حيث التغذية:

1-3-4-1- بكتيريا ذاتية التغذية: بعضها تقوم بتحليل المركبات العضوية لتحصل على الطاقة وأخرى بعملية البناء الضوئي.

1-3-4-2- بكتيريا غير ذاتية التغذية: تحصل على الطاقة من خلال تحليلها لجزيئات العضوية للأجسام الميتة أو من مخلفات العضوية [6].

1-3-5- من حيث توزيع أسواطها:

- **بكتيريا وحيدة السوط.**
- **بكتيريا ذات أسواط عديدة:** متجمعة عند طرف واحد.
- **بكتيريا ذات أسواط عديدة:** موزعة على كل الخلية [7].

1-3-6- من حيث طريقة التلوين:

تصنف البكتيريا حسب تقنية غرام (Stain Gram) نسبة للعالم البلجيكي (Gram.J) المكتشفة سنة 1884 وعن طريقها يمكن أن نقسم البكتيريا إلى:

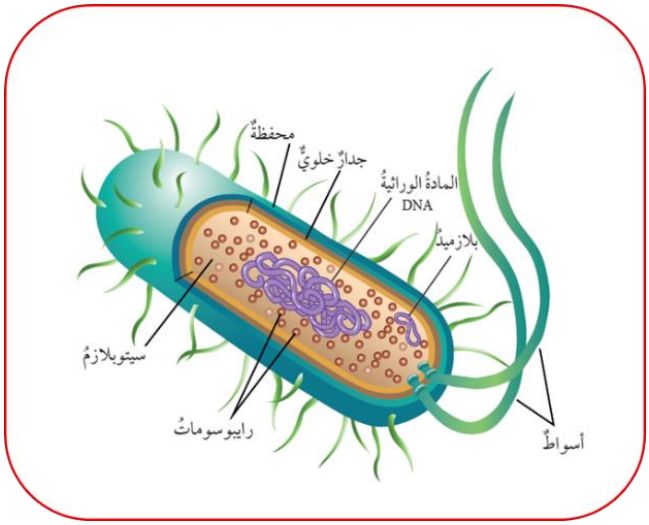
- موجبة الغرام (Gram +) عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.

- سالبة الغرام (- Gram) لا تمتص أو قليلة الامتصاص للون وتحرر صبغا وتظهر حمراء.

يكمن الاختلاف في الصبغة من حيث مبنى جدار الخلايا البكتيرية، وأحد الفروق البارزة هو سُمك الجدران، حيث يظهر جدار الخلية (-G) أسمك من جدار الخلية (+G) التي بدورها تحتوي على غشاء خارجي إضافي [6].

1-4- التركيب الخلوي للبكتيريا:

تتكون الخلية البكتيرية من مكونات خلوية بعضها ثابت موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر اختياري يقتصر وجوده على أنواع معينة، تضم المكونات الثابتة كل من الجدار الخلوي والغشاء البلازمي والسيتوبلازم والنواة البدائية، وما يحتويه من مادة وراثية وريبوزومات، أما المكونات الاختيارية فتشمل الأسواط والعلبة (الكبسولة) والأهداب.



الشكل (III-1): تركيب الخلية البكتيرية

1-4-1- التركيبة الثابتة للخلية البكتيرية:

1-4-1-1- الجدار الخلوي (Paroi cellulaire):

عبارة عن تركيب صلب يعطي الخلية شكلها المميز، ويمثل الجدار الخلوي في البكتيريا عموماً ما يقارب 20% من الوزن الجاف للخلية بأكملها، يتركب من مادتين هما الكربوهيدرات والببتيدات [8].

1-4-1-2- الغشاء البلازمي (Plasma membrane):

هو غشاء رقيق جدا ويكون اختياري النفاذية يسمح لبعض المواد أن تمر خلاله ويعيق مرور مواد اخرى، يتركب بصورة رئيسية من بروتينات ودهون، تتمثل الدهون بطبقتين تشكلان الهيكل الرابط للغشاء، أما البروتينات فتنغمر بين طبقتي الدهون ويتم حفظ تماسك الغشاء البلازمي نتيجة تفاعلات بين بروتين وبروتين ولبيد ولبيد [9].

1-4-1-3- سيتوبلازم (Cytoplasm):

هو سائل لزج يحتوي داخله على أنظمة ذات أهمية قصوى، فمنها البلازميدات التي قد تسمى كروموزومات صغيرة، وهي مورثات تحمل كمية محدودة من المعلومات الوراثية، وتوجد بها حبيبات من الريبوزومات التي هي موقع تخليق البروتين [10].

1-4-1-4- المادة النووية (Nucleoid):

عبارة عن خيوط دقيقة ملتفة بعضها فوق بعض، وغير محددة بغلاف نووي، كما أن المورثات تتصل معا لتشكل خيطا صبغيا واحدا حلقي الشكل يدعى كروموزوم [7].

1-4-2- التركيبة الاختيارية للخلية البكتيرية:

1-4-2-1- الأسواط (Flagella):

عبارة زوائد طويلة تتكون أساسا من بروتين galageline، وهي وسيلة الحركة لدى العديد من البكتيريا، توزيعها مميز لكل نوع من البكتيريا، فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين أو من جميع أطراف سطح الخلية [11].

1-4-2-2- الحافظة (Capsule):

طبقة كثيفة لزجة تحيط بالجدار الخلوي وتنتجها بعض الأنواع البكتيرية، يمكن إظهار الحافظة تحت المجهر الضوئي باستعمال الحبر الصيني، تحتوي على كمية كبيرة من الماء ومواد عضوية تكون عادة سكريات وأحيانا بيبتيدات [12].

1-4-2-3- الهدبيات (Ciliés):

زوائد دقيقة جدا تدعى (Pilli) تنتشر أكثر عند البكتيريا (G-) مقارنة (G+) وظيفتها تُثَبَّتْ على سطح الخلايا العائلة وبعضها يعرف بالهدبيات الجنسية التي تلتصق ببعضها لاندماج الأنوية من خلية لأخرى وهي مسؤولة عن ضراوة البكتيريا [13].

1-4-2-4- البوغ (La spore):

هي هياكل مقاومة تكونها بعض البكتيريا عندما تصبح الظروف غير مواتية وهي تحيط بالمادة النووية والقليل من السيتوبلازم، تضل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف، فيتشقق جدار البوغ وتخرج منه النواة وتستعيد البكتيريا شكلها الطبيعي [3].

1-5- أنواع البكتيريا المدروسة:

1-5-1- Pseudomonas aeruginosa:

هي بكتيريا عصية الشكل، (G-) طولها من 1 إلى 5 μm وعرضها 0.5 إلى 1 μm غير مكونة للبوغ، تُعد كواحدة من أصعب البكتيريا التي يصعب علاجها سريرياً، فهي تسبب إلتهابات رئوية قاتلة، وقد تغزو أنسجة الجلد للمريض، مما قد تسبب تجرثم الدم، وقد تسبب إلتهابات المفاصل أو المسالك البولية أو إلتهاب السحايا [14].

الشكل (III-2): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني P. aeruginosa

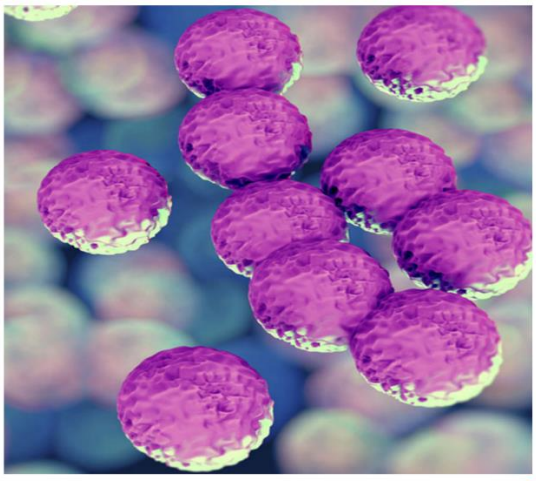
1-5-2- Bacillus subtilis:

هي بكتيريا عصية الشكل (+G) ويبلغ طولها حوالي $4 - 10\ \mu m$ وقطرها $0.25 - 1\ \mu m$ ، تتواجد عادةً في الطبقات العليا من التربة هي من الكائنات الحية الطبيعية التي تعيش في الأمعاء لدى الإنسان، تسبب مرض الجمرة الخبيثة، وكذلك التجلط [15] [16].

الشكل (III-3): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني B. subtilis

1-5-3- Staphylococcus aureus:

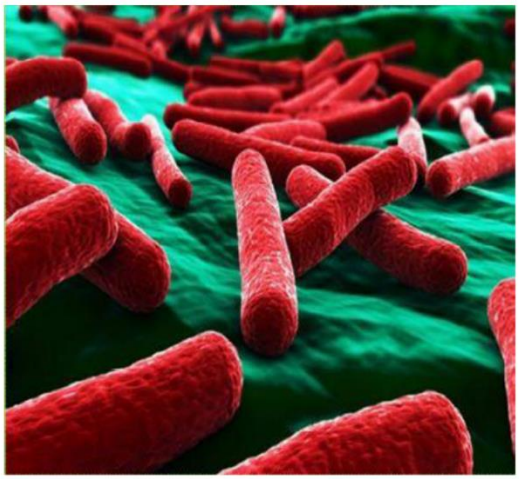
هي بكتيريا كروية الشكل (+G)، يتراوح قطرها بين $0.5 - 1.5\ \mu m$ تقريباً، وهي غير حركية وغير مكونة للبوغ، تتواجد لدى الانسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه [17] [18].



الشكل (III-4): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني S. aureus

Escherichia coli -4-5-1:

هي بكتيريا عصية الشكل (G-)، يتراوح طولها بين 2 إلى 4 μm وقطرها 0.6 μm تقريبًا، توجد عادةً في الأمعاء للكائنات الحية ذات الدم الحار معظمها ليس مسببا للأمراض، ومن الأمراض المسببة لها هي الإسهال الطفيلي والتهاب السحايا وتسمم الدم وأمراض الجهاز البولي [19] [20].



الشكل (III-5): صورة موضحة بالمجهر الإلكتروني E. coli

2- الفطريات:

2-1- تعريف الفطريات:

هي كائنات حية غير ذاتية التغذية حقيقية النواة، حيث تضم وفقا لإحدى الإحصائيات الحديثة أكثر من 10 آلاف نوع وهي في ازدياد باستمرار.

وهي كائنات هوائية تحتاج إلى الأكسجين وكمية عالية من الرطوبة ومصدر كربون عضوي، تستعمل أغلبية الفطريات السكريات البسيطة مثل الغلوكوز والفراكتوز في تغذيتها، لها جسم بسيط التركيب عديم الأعضاء الحقيقية كالجذر والساق والأوراق يعرف بالثالوس ويختلف من حيث درجة التطور حسب نوع الفطر.

تتواجد الفطريات في كل مكان تتوفر فيه المواد العضوية فهي منتشرة في التربة والهواء، وتعيش قلة منها في مياه البحار والأنهار والبرك، وهي منتشرة في كل مكان تقريبا.

تتطفل بعض الفطريات على النباتات والحيوانات، أغلبيتها مترممة على الفضلات أو تعيش في تكافل مع جذور النباتات [21].

2-2- أضرار الفطريات:

- مسؤولة على معظم الأمراض التي تصيب النباتات والمحاصيل المختلفة والتي تسبب عرقلة في نمو النباتات ومن ثم تؤثر على جودة المحصول.
- تسبب أمراض جلدية للإنسان والحيوان.
- بعضها يسبب أمراض باطنية وإلتهابات في المسالك التنفسية.
- كما أنها تسبب تلف الأخشاب وتحللها، فيتسبب عن ذلك موت الأشجار وهدم المنازل.
- تستطيع مهاجمة العديد من المنتجات كالمواد الغذائية [22].

2-3- فوائد الفطريات:

- تستخدم في غذاء الإنسان مثل الخميرة.
- تدخل بعض أنواعها صناعيا في إنتاج الأحماض العضوية الهامة مثل: أحماض الأوكساليك والستريك.
- تفيد في تحضير بعض أنواع الجبن كما في أنواع الجنس Penicillium.
- تعتبر مصدرا لبعض الفيتامينات مثل فتامين (B) المركب.
- تقوم بعضها الموجودة في التربة بتحليل المخلفات النباتية والحيوانية فتحول هذه المخلفات الملوثة إلى مواد يستفيد منها النبات في غذائه [23].

قائمة المراجع:

[1] أسامة محمد عبد الرؤوف، نورا شرقاوي أبازيد ،البكتيريا وصحتنا .بيروت: دار الكتب العلمية، 1971.

[2] عماد عبد الله، البكتيريا المذهلة .مصر ، 2020.

[3] حمودي فاطمة، شنوف خولة، محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي .Artemisia absinthium الجزائر : مذكرة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية، جامعة حمه لخضر بالوادي، 2021.

[4] M. F. Larry M. Bush, “Présentation des bactéries, Schmidt College of Medicine,” LE MANUELMSD Version pour le grand public, vol. Florida Atlantic Uni, Aug. 2022.

[5] kemari fatima kouidri samiha, Analyse Physicochimique et Activités biologiques de l’huile essentielle de (haplophyllum tuberculaum. Algérie : Diplôme de MASTER ACADEMIQUE, Faculté des sciences appliquées, Université KASDI-MERBAH Ouargla, 2020.

[6] الأحمادي بشيرة، التقدير الكمي، الكيفي للمركبات الفينولية ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة والضد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية .Abelmoschus esculentus الجزائر ، 2017.

[7] كرطي يسرى، نصير إيمان، دراسة بعض المستخلصات الخام لنواتج الايض الثانوي لنبات Origamun majorana Lالمزروعة بمنطقة وادي سوف ودراسة فاعليتها البيولوجية .الجزائر: مذكرة ماستر أكاديمي، تخصص كيماء عضوية، جامعة حمه لخضر بالوادي، 2023.

[8] منال بنت محمد ابراهيم الخليفي، مقرر علم البكتيريا العام. كلية العلوم، المحاضرة 1.

[9] حياتية الخلية / الجزء العملي .بغداد: كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)، المحاضرة 1، دار المعلمين العالية، 2020.

[10] A. D. R. W.B. HUGO, Pharmaceutical Microbiology. 1998.

[11] "البكتيريا،".Slideshare

[12] لحوم عبد الهادي، وحدة علم الأحياء الدقيقة .الجزائر: المدرسة العليا للأساتذة بالقبة، 2019.

[13] Rahmani Soray, Polycopié de cours de Microbiologie Générale. Algérie : Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Université Hassiba Ben Bouali Chle, 2019.

[14] أبوبكر الرطب، نورية المحجوب، فوزية أبودينة، "تقييم فاعلية بعض المطهرات والمعقمات على البكتيريا الزائفة (Pseudomonas) المعزولة من وحدة العناية المركّزة للمواليد في مستشفى مصراتة المركزي، "المجلة العربية للبحث العلمي 2021.

[15] "Bacillus subtilis A Collaboration," iGEM, p. 2, 2016.

[16] A. H. MOUBASHER, Sources and meanings of the scientific name if fungi, bacteria, algae and plants, vol. 2. Qatar, 1987.

[17] J. Koirala. Abdul H. Siddiqui, "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus," StatPearls, Apr. 2023.

[18] K. Becker et al., "Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species," J Clin Microbiol, vol. 42, no. 11, pp. 4988–4995, 2004.

[19] GHALLACHE Loubna, Caractérisation bactériologique et moléculaire des souches d'Escherichia colis isolées de lait mammiteux. Algerie : Diplôme de doctorat, Spécialité : Epidémiologie des maladies animales et santé publique, Université Batna 1- Hadj-Lakhdar, 2022.

[20] بيسي هند، جابر سهام ,دراسة مقارنة لإستخلاص المواد الفعالة في نبتة الشريكFagonia cretica بثلاث مذيبات (ايثانول، ميثانول، ماء مقطر) .الجزائر: مذكرة ماستر، تخصص التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات، جامعة حمه لخضر بالوادي، 2020.

[21] عبد العزيز محمد نخيلان، الفطريات .الأردن: دار الدجلة، 2007.

[22] زينل علي بتول، حوار نعيمة سمية، وآخرون، علم الفطريات .بغداد: كلية التربية للعلوم الصرفة، قسم علوم الحياة.

[23] ميهوبي مريم، العايب حورية، دراسة الأمراض الفطرية التي تصيب المحاصيل الزراعية بمنطقتي زيغود يوسف– بني حميدان، قسنطينة .مذكرة شهادة الماستر، قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية، تخصص التنوع الحيوي وبيولوجيا النبات، جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 01، 2021.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع:

الطرق والوسائل

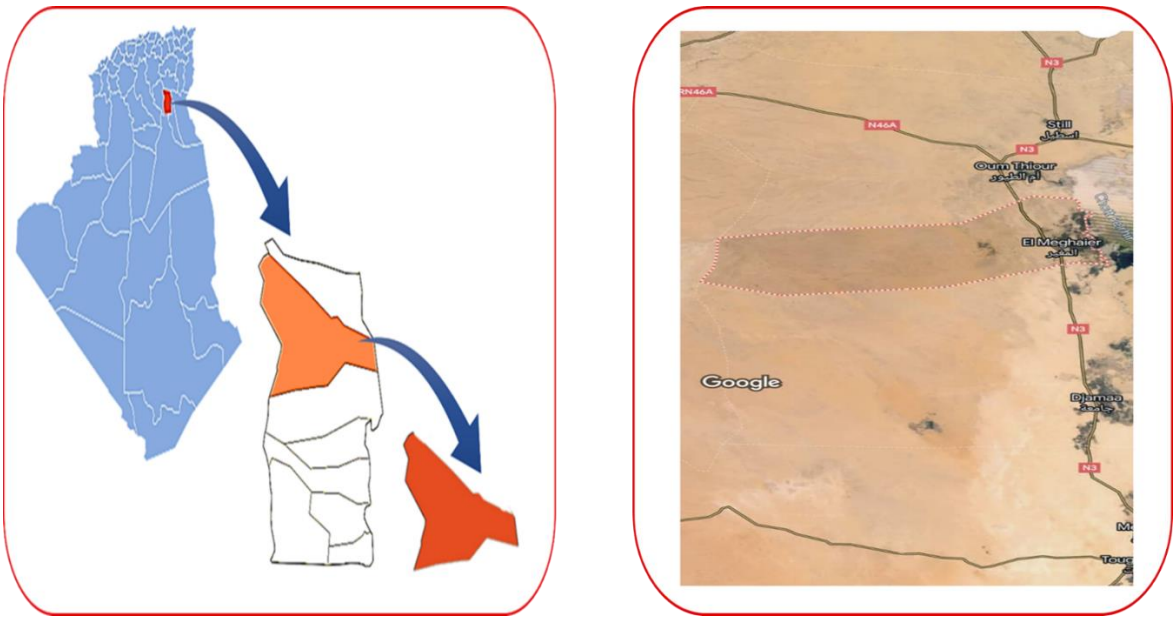
تمهيد:

أجريت تجارب هذه الدراسة في مخبر كلية العلوم الدقيقة ومخبر كلية التكنولوجيا بجامعة الشهيد حمه لخضر، وكذلك مخبر المجد للتحاليل الطبية بالوادي، والمعهد الوطني الجزائري للبحث الزراعي INRAA بسيدي مهدي بتقرت، ومركز البحث في البيوتكنولوجيا CRBT بقسنطينة، ومركز البحوث العلمية والتقنية في التحليل الفيزيوكيميائي CRAPC بورقلة.

1- منطقة الدراسة:

تقع بلدية أم الطيور في جنوب شرق الجزائر ممثلة بذلك أقصى شمال وادي ريغ تابعة إلى ولاية المغير والتي تبعد عليها بحوالي $29\ km$، وإحداثيات المنطقة على خط العرض: 34° 9' 8" شمالا، وخط الطول: 5° 49' 48" شرقا، حيث يحدها إداريا ما يلي:

- من الشمال بلدية أسطيل.
- من الجنوب بلدية المغير.
- من الشرق بلدية الحمراية.
- من الغرب بلدية أولاد جلال.



الشكل (IV-1): خريطة موقع ولاية المغير – أم الطيور

2- جمع العينة النباتية:

تم شراء أوراق *Azadirachta Indica* المستخدمة في هذه الدراسة من مزرعة خاصة في بلدية أم الطيور – المغير في ديسمبر 2023.

3- التجفيف:

قمنا بتجفيف أوراق شجرة *Azadirachta Indica* في الهواء الطبيعي في الظل وبعيدا عن أشعة الشمس المباشرة وبعيدا عن الرطوبة تحت درجة حرارة الغرفة (25 ± 2 C°)، مع تقليبها من حين لآخر، بعد التجفيف الجيد والتام للأوراق لمدة 15 يوما نقوم بعملية الطحن بواسطة آلة كهربائية نظيفة.

4- استخلاص النبات:

الاستخلاص هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية.

4-1- الأجهزة والمواد المستعملة:

الجدول (IV-1): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة

الأجهزة	المواد	الأدوات
ميزان إلكتروني حساس	أوراق *Azadirachta Indica*	دورق
الترشيح تحت الفراغ	هكسان (Hexane)	ورق ألمنيوم
مضخة	ميثانول (Methanol)	قمع وورق الترشيح
جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur)	ماء مقطر	مخبار مدرج

4-2- طريقة الإستخلاص:

الطريقة المستخدمة في الاستخلاص هي تلك التي طورها Chiang et al (1994)، حيث تم نقع 22 g من الأوراق المطحونة مع 160 ml من الهكسان لإزالة الليبيدات، حُرِّك الخليط عند درجة حرارة المخبر وترك لمدة 24 h، بعدها قمنا بعملية الترشيح، ثم تم نقع الرشاحة المتحصل عليها في 160 ml من الميثانول 96% وترك لمدة 24 h ثم نقوم بالترشيح تحت الفراغ، ويبخر المذيب باستخدام مبخر دوار، أُخذت البقايا الجافة مع بضع ملليلترات من الميثانول وتم حفظها في درجة حرارة المخبر.

الشكل (IV-2): مخطط يوضح مراحل الاستخلاص

الشكل (IV-3): أهم مراحل الاستخلاص

4-3- حساب مردود المستخلص:

مردود المستخلص هو النسبة بين وزن المادة المستخلصة على وزن المادة الابتدائية للنبتة حسب العلاقة التالية:

$$R\% = \frac{m_f}{m_i} \times 100$$

- m_f : وزن المادة المستخلصة.
- m_i : وزن المادة الابتدائية للنبتة.
- $R\%$: مردود المستخلص.

5- الدراسة الفيتو كيميائية للعينة المستخلصة:

5-1- الأجهزة والمواد المستعملة:

الجدول (IV-2): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة

الأجهزة	المواد			الأدوات
جهاز LC-MS	مستخلص *Azadirachta Indica*	ماء مقطر	كاشف folin	ورق ألمنيوم
مضخة ثنائية Nexera XR LC-20AD	حمض الفورميك	حمض الغاليك	كربستين	قارورة زجاجية معقمة
جهاز UV-Vis	$Alcl_3$	ميثانول (Methanol)	Na_2CO_3 7.5%	ماصة أوتوماتيكية + أنابيب زجاجية

5-2- تحليل LC-MS:

تمت هذه الدراسة في مركز البحوث العلمية والتقنية في التحليل الفيزيوكيميائي CRAPC بورقلة.

وهو تقنية متعددة الاستخدامات تُمكّن من الفصل الدقيق والتحديد النوعي والكمي للمركبات الكيميائية المعقدة في العينة، تجمع هذه التقنية بين الكفاءة العالية في فصل المركبات بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة والدقة العالية في تحديد الكتلة بواسطة مطياف الكتلة، مما يجعلها أداة أساسية في العديد من مجالات البحث والتطبيقات الصناعية.

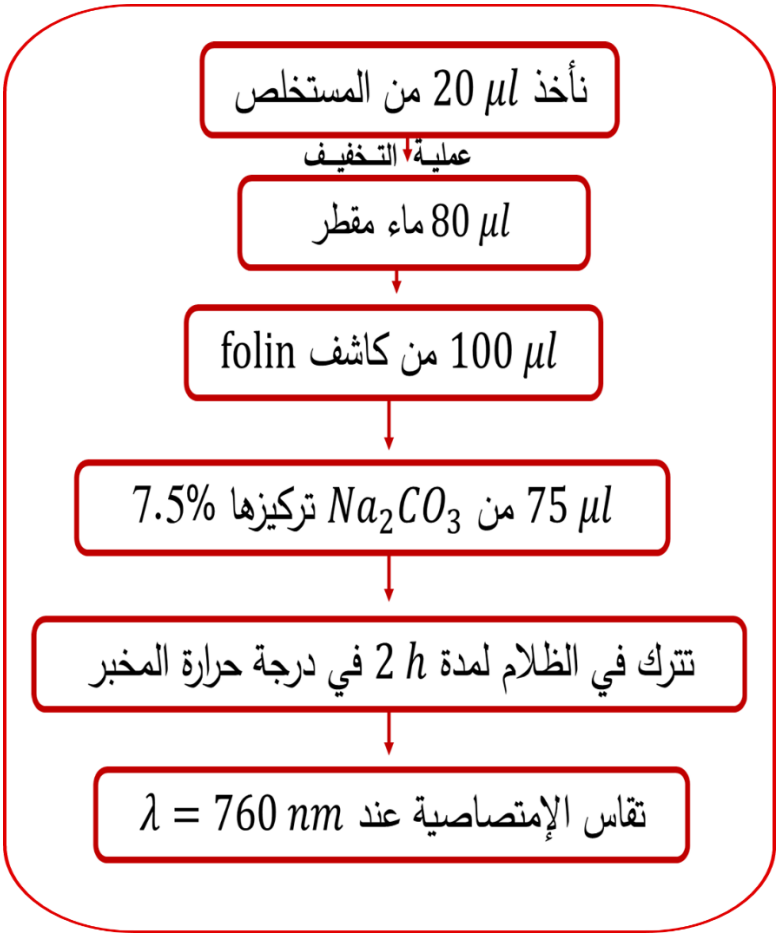
تم إجراء تحليل على المحتوى الكيميائي النباتي لمستخلص *Azadirachta Indica* باستخدام جهاز Shimadzu 8040 Ultra-High Sensitivity LC-MS الذي تم تزويده بمضخة ثنائية Nexera XR LC-20AD. باستخدام عمود الفصل Restek Ultra C18 ($150 \times 2.1\ mm$، $3\mu m$).

شكّل الميثانول (المذيب B) و 0.1% من حمض الفورميك المذاب في الماء (المذيب A) الطور المتحرك، تم استخدام تقنية الشطف المتدرج، تم بدأ التجربة بنسبة 95% ماء و 5% حمض الفورميك بعد $10\ min$ تصل إلى 95% حمض الفورميك، تم الإحتفاظ بهذا التركيب لمدة $8\ min$ (المدة بين $18 - 10\ min$)، ثم تَم رفعها إلى 95% من حمض الفورميك في المدة الممتدة بين $23 - 18\ min$ [1].

5-3- تحديد المحتوى الفينولي الكلي TPC طريقة (Singleton-Ross):

يمكننا هذا التحليل من معرفة كمية الفينولات الكلية للعينة، بإستعمال كاشف فولين (Aanachi et al., 2020) [2]، حيث أن هذا الكاشف عبارة عن حمض أصفر يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض الفوسفوموليبيدات ($H_3PMo_{12}O_{40}$)، ويرجع هذا الأخير بواسطة المركبات الفينولية إلى أكسيد التنغرتين (W_8O_{23}) وأكسيد الموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

المركبات الفينولية تقدر كميتها بواسطة جهاز UV-Vis باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي $\lambda = 765\ nm$.



الشكل (IV-4): مخطط التقدير الفينولات الكلية في المستخلص [3]

5-4- تحديد المحتوى الكلي للفلافونويدات TFC طريقة (Woisky et salation):

يمكننا هذا التحليل من معرفة كمية الفلافونويدات الكلية للعينة، وتعتمد على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجود على الحلقات البنزينية للفلافونويدات [3] [4].

مركبات الفلافونويدات تقدر كميتها بواسطة جهاز UV-Vis باستعمال الكيرسيتين كفلافونويد مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي $\lambda = 420\ nm$.

الشكل (IV-5): مخطط التقدير الفلافونويدات الكلية في المستخلص

6-الدراسة البيولوجية:

6-1- تقييم الفعالية المضاد للأكسدة:

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في مخبر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الوادي، ومركز البحث في البيوتكنولوجيا CRBT بقسنطينة، وذلك عن طريق الإختبارات DPPH وABTS و β-كاروتين.

❖ **الأجهزة والأدوات المستعملة:**

الجدول (IV-3): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة

الأجهزة	المواد			الأدوات
ميزان إلكتروني حساس	مستخلص *Azadirachta Indica*	ماء مقطر	$K_2S_2O_8$	قارورة زجاجية معقمة + ورق ألمنيوم
جهاز UV- Vis	هكسان (Hexane)	ميثانول (Methanol)	أسيتون (Acétone)	ماصة أوتوماتيكية + أنابيب زجاجية
جهاز الترشيح تحت الفراغ	DPPH	ABTS	β- كاروتين	قمع وورق الترشيح
قارئ الصفيحة المجهرية	BHA		BHT	صفيحة مجهرية 96 خلية

6-1-1- اختبار DPPH للمستخلص طريقة (Zielinski):

يتم تحضير محلول DPPH في الميثانول، وذلك بأخذ كتلة قدرها $2\ mg$ من DPPH، مذابة في $50\ ml$ من الميثانول فنتحصل على محلول بنفسجي داكن، ثم نقوم بتحضير محاليل مخففة بتراكيز مختلفة من المستخلص، نأخذ من كل تركيز $1\ ml$ ثم نضيف له $1\ ml$ من DPPH، نجانس المحلول ونتركه لمدة $30\ min$ في الظلام، بعدها تم قياس الطول $\lambda = 517\ nm$ باستخدام مقياس UV-Vis، كما تم تقييم مضادات الأكسدة القياسية BHA وBHT.

تم حساب النسبة المئوية لتثبيط DPPH بواسطة المستخلص باستخدام المعادلة 1:

$$DPPH\ scavenging\ Effect\ (\%) = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0}\right] \times 100 \qquad (1)$$

يتم تحديد قدرة المستخلص المضاد للأكسدة عن طريق تحديد عامل IC_{50}، وهو يُعرف بأنه تركيز المستخلص (مضاد الأكسدة) المطلوب لتثبيط 50% من جذر DPPH• [5].

6-1-2- اختبار مسح الجذور الحرة ABTS طريقة (Sirichaiwetchakoon):

قامت الدراسة بقياس نشاط الكسح الجذري الحر لـ ABTS، تم إنشاء جذر ABTS•+ عن طريق خلط $7mM$ من ABTS مع $2.45\ mM$ من $K_2S_2O_8$ تركت لمدة $16\ h$ في الظلام في درجة حرارة المخبر. تم تخفيف المحلول الناتج بالماء المقطر حتى تحقيق امتصاص 0.7 عند $\lambda = 734\ nm$ بعد ذلك قمنا بخلط $160\ \mu l$ من محلول ABTS•+ المخفف مع $40\ \mu l$ من محلول العينة في الميثانول بتركيزات مختلفة، ثم قيست الإمتصاصية عند $\lambda = 734\ nm$ باستخدام قارئ صفيحة مجهرية ذات 96 خلية بعد $10\ min$، تم حساب النسبة المئوية للتثبيط لكل تركيز باستخدام صيغة محددة، مع استخدام BHA وBHT كعوامل قياسية.

تم تحديد النسبة المئوية لتثبيط ABTS•+ باستخدام نفس المعادلة 1 كما في اختبار DPPH [6].

6-1-3- اختبار β- كاروتين طريقة (Lichtenthaler):

ينص البروتوكول على خلط $100\ mg$ من مستخلص الميثانولي *Azadirachta Indica* مع $10\ ml$ من خليط الأسيتون والهكسان مع تحريك الخليط لمدة $1\ min$، ثم تم ترشيح الخليط وتقاس

امتصاصية الفلترة عند أطوال موجية مختلفة: $\lambda = 453\ nm$، و $\lambda = 505\ nm$، و $\lambda = 645\ nm$، و $\lambda = 663\ nm$ ، تم التعبير عن النتائج التي تم الحصول عليها بوحدة μg من $\frac{\beta\text{كاروتين}}{mg}$ من المستخلص الجاف [3] تم حساب المحتوى الصبغي باستخدام المعادلة 2:

$$\beta - carotene\left(\frac{mg}{100ml}\right) = (0.216 \times A_{663}) - (0.304 \times A_{505}) + (0.452 \times A_{453}) \quad (2)$$

6-2- الفعالية المضادة للبكتيريا:

تمت هذه الدراسة على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية لمعرفة تأثير المستخلص على أربع أنواع من البكتيريا الممرضة، وذلك بتطبيق طريقة التخفيف الدقيق للمرق.

6-2-1-الأجهزة والمواد المستعملة:

الجدول (IV-4): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة

الأجهزة	المواد	الأدوات
ميزان إلكتروني حساس	مستخلص *Azadirachta Indica*	ماصة أوتوماتيكية + ماصة باستور
موقد بنزن	DMSO	أنابيب زجاجية + علب معقمة
حاضنة	وسط زراعي + معلق البكتيريا	ألواح آجار

6-2-2- السلالات البكتيرية:

الجدول (IV-5): السلالات البكتيرية المختبرة

البكتيريا المدروسة	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	ATCC 25922	Gram negative
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	Gram negative
Staphylococcus aureus	ATCC 25932	Gram positive
Bacillus subtilis	ATCC 25973	Gram positive

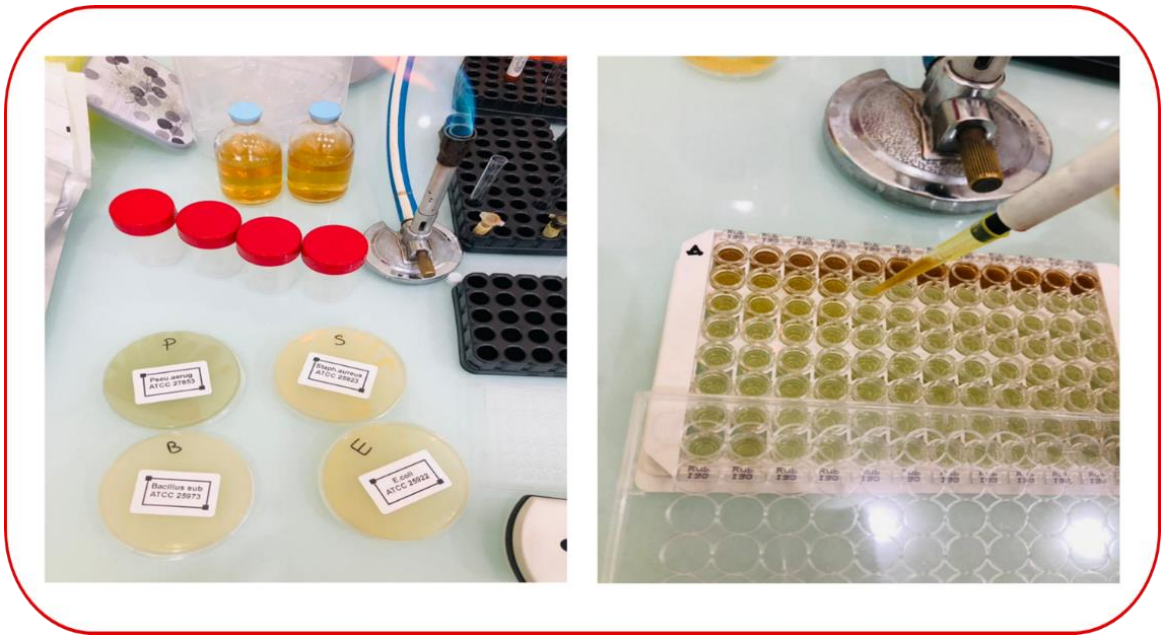
6-2-3- تحضير تراكيز المستخلص :

قبل البدأ في هذا العمل يجب تعقيم الأدوات اللازمة في جهاز التعقيم والتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزن.

تم تحضير محلول المستخلص النباتي عن طريق إذابته في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) بست تراكيز مختلفة: $1.8\ mg/ml$ و $3.75\ mg/ml$ و $7.5\ mg/ml$ و $15\ mg/ml$ و $15\ mg/ml$ و $30\ mg/ml$ و $60\ mg/ml$.

6-2-4- تحضير الصفيحة الميكروتيترية :

تم إعداد صفيحة ميكروتيترية بإضافة $100\ \mu l$ من تراكيز المحلول المستخلص النباتي إلى كل بئر، إلى جانب $50\ \mu l$ من المعلق البكتيري، كما تم تضمين آبار مراقبة النمو والعقم، تم وضع الصفيحة الميكروتيترية في حاضنة عند درجة حرارة $37\ C°$ لمدة 18 إلى $24\ h$، تم العثور على الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) ليكون أقل كمية من المستخلص اللازمة لإيقاف النمو الملحوظ، بينما تم تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط للجراثيم (MBC) عن طريق نقل عينة بئر لا تظهر أي نمو على ألواح آجار مناسبة.



الشكل (IV-6): صور فوتوغرافية أثناء العمل

6-3- الفاعلية المضادة للفطريات:

تم العمل والحصول على السلالات الفطرية من المعهد الوطني الجزائري للبحث الزراعي INRAA بسيدي مهدي بتقرت، والفطريات المستعملة في هذه الدراسة هي:

- Thielaviopsis paradox
- Alternaria sp.
- Fusarium solani

6-3-1- الأجهزة والمواد المستعملة:

الجدول (IV-6): الأجهزة والمواد المستعملة في هذه الدراسة

الأجهزة	المواد	الأدوات
ميزان إلكتروني حساس	مستخلص *Azadirachta Indica*	ماصة أوتوماتيكية+ ماصة باستور
موقد بنزن	DMSO	أنابيب زجاجية + علب بتري
حاضنة	مستعمرات فطرية	قطعة شاش + إناء معدني
جهاز تعقيم	بطاطا + غلوكوز + آجار	أرلن ماير

6-3-2- طريقة العمل:

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة والتنظيف الجيد لمكان العمل بالقرب من موقد بنزن سنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار كما في الخطوات التالية:

6-3-2-1- تحضير تركيز المستخلص:

تم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة للمستخلص ($1mg/ml$، $2mg/ml$، $4mg/ml$)، حيث أستعمل DMSO كمذيب.

الشكل (IV-7): صور فوتوغرافية للتراكيز المختلفة للمستخلص بإستعمال DMSO

6-3-2-2- تحضير الأقراص:

- **الآجار (Agar):**

وهو مادة كربوهيدراتية معقدة مستخلصة من بعض الطحالب الحمراء البحرية، ليس لها قيمة غذائية (أي ليس للأحياء المجهرية القابلية على تحليل الآجار) يستخدم لتصليب الأوساط السائلة [7].

- **تحضير وسط آجار مستخلص البطاطا والدكستروز Potato dextrose agar:**

حضر حسب طريقة Collee وجماعته (1996) وذلك بأخذ $250\ g$ من البطاطا بعد غسلها وتقطيعها إلى قطع صغيرة، وضعت في إناء معدني وغُليت لمدة $20\ min$ وبعدها رشحت بوساطة قطعة شاش نظيفة، ثم أضيف إليها $1\ l$ ماء مقطر و $20\ g$ من سكر الدكستروز $20\ g$ أجار ويُعقم الخليط باستخدام جهاز التعقيم بالبخار لمدة $20\ min$ بحرارة $121\ C°$ تحت ضغط $2\ atm$ ، بعد التعقيم يُترك الخليط ليبرد قليلاً مع الحفاظ عليه سائلاً، ثم نشر الوسط في أطباق بتري، حيث يبلغ قطرها $9\ cm$ بمعدل $15\ ml$ لكل علبة [8].

أضيف مستعمرة مسببات الأمراض الفطرية قطرها $5\ ml$، وتم حضن الأطباق في درجة حرارة المخبر ($25 \pm 2\ C°$)، تركت لمدة 7 أيام ثم لوحظت مناطق التثبيط. (كل تركيز تم إعادته ثلاث مرات، مع أخذ أحد العلب كشاهد).

حساب النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات، عن طريق قياس أقطار [9]، تتم باستخدام المعادلة (3):

$$inhibition\% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \times 100 \qquad (3)$$

حيث D_1 وD_2 يمثلان قطر المستعمرة الفطرية في علبة الشاهد (بدون معالجة بالمستخلص) والعلبة المعالجة (مع معالجة بالمستخلص)، على التوالي.

الشكل (IV-8): صور فوتوغرافية أثناء العمل

قائمة المراجع:

[1] L. Khattabi, A. Chettoum, H. Hemida, W. Boussebaa, M. Atanassova, and M. Messaoudi, "Pirimicarb induction of behavioral disorders and of neurological and reproductive toxicities in male rats: Euphoric and preventive effects of Ephedra alata Monjauzeana," Pharmaceuticals, vol. 16, no. 3, p. 402, 2023.

[2] S. El Aanachi, L. Gali, S. N. Nacer, C. Bensouici, K. Dari, and H. Aassila, "Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of Pelargonium graveolens growing in Morocco," Biocatal Agric Biotechnol, vol. 29, p. 101819, 2020.

[3] S. N. Nacer et al., "In vitro antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts from the leaves and stems of Oudneya Africana R. growing in the El Oued (Algeria)," Biomass Convers Biorefin, pp. 1–12, 2023.

[4] D. J. N. Ngoumen et al., "Flavonoid-enrich extract of Autranella congolensis (Sapotaceae) protects against aluminium chloride-mediated Alzheimer's disease-like oxidative stress in rat through the antioxidant properties," Metab Brain Dis, vol. 38, no. 3, pp. 1025–1034, 2023.

[5] H. Zieliński and H. Kozłowska, "Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions," J Agric Food Chem, vol. 48, no. 6, pp. 2008–2016, 2000.

[6] K. Sirichaiwetchakoon, G. M. Lowe, and G. Eumkeb, "The free radical scavenging and anti-isolated human LDL oxidation activities of Pluchea indica (L.) Less. Tea compared to green tea (Camellia sinensis)," Biomed Res Int, vol. 2020, 2020.

[7] جورج بيار، معجم المصطلحات الجعرافية .بيروت: المؤسسة الجامعية للدراسات والنشر، 2002.

[8] sami abdul ruda Maadh Alfahad, "تقييم كفاءة البكتيريا Bacillus subtilis في حماية حبوب الذرة الصفراء من الاصابة بالفطرين A. flavus و A. niger في المخزن," MERC Scincee, Aug. 2020.

[9] S. D. A. AZIZ, N. U. R. F. JAFARAH, S. SABRI, M. A. A. WAHAB, and Z. N. B. YUSOF, "Antifungal activity of dichloromethane and hexane extracts of

four Malaysian seaweed species against Ganoderma boninense," Malaysian Applied Biology, vol. 48, no. 3, pp. 189–196, 2019.

الفصل الخامس:

النتائج والمناقشة

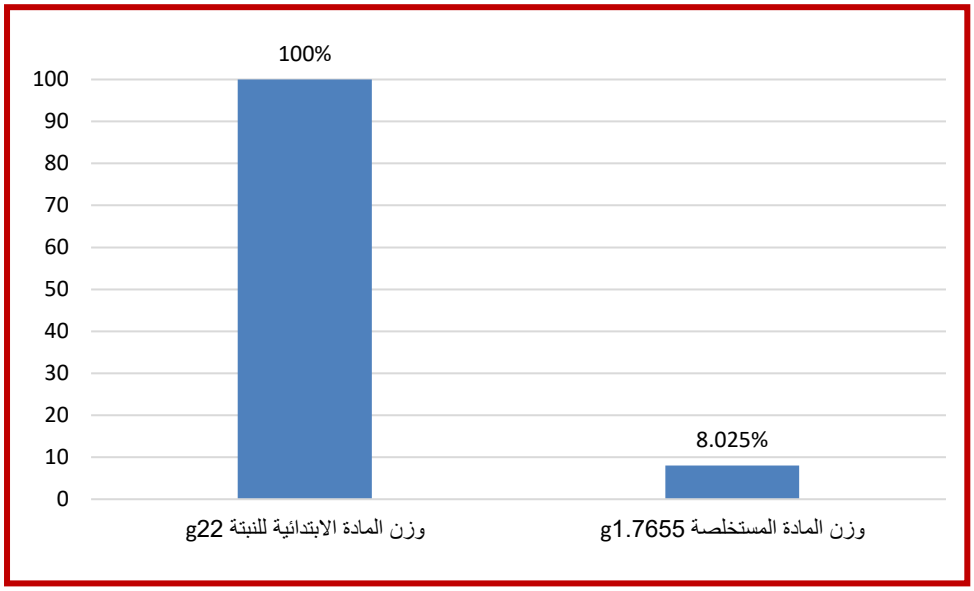
1- حساب مردود الاستخلاص:

تم تحديد المردود، وتم ضبط النتيجة مسبقًا كنسبة مئوية، حيث أنتج نبات النيم مستخلص ميثانولي من أوراقه بنسبة 8.025%

النتائج المتحصل عليها مدونة في الجدول (V -1) والشكل (V -1):

الجدول (V-1): نتائج مردود المادة المستخلصة

وزن المادة الابتدائية للنبتة	وزن المادة المستخلصة	مردود المستخلص%
22 g	1.7655 g	8.025%



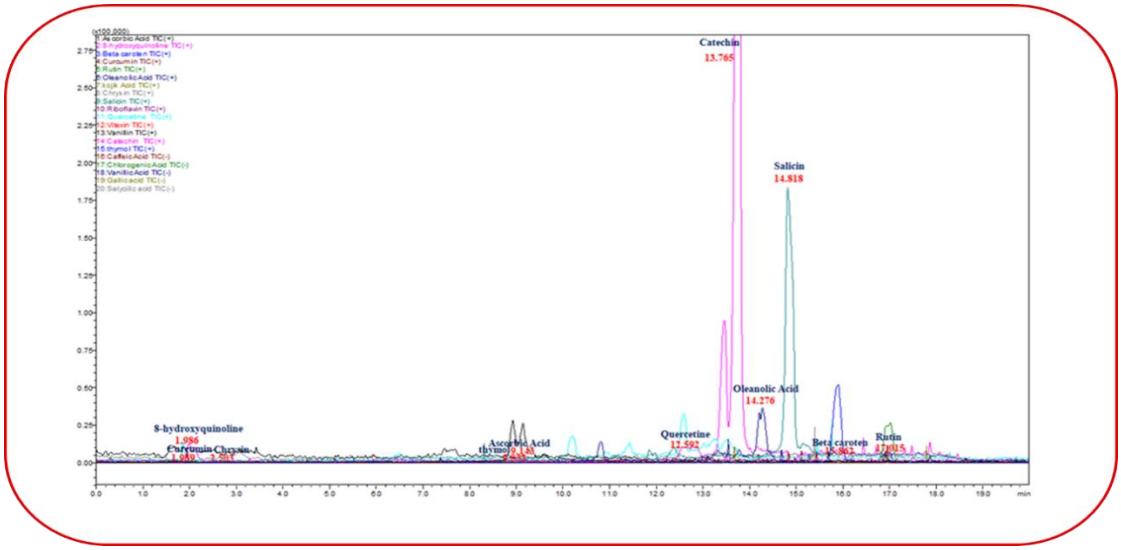
الشكل (V-1): أعمدة بيانية تمثل مردود المادة المستخلصة

2- نتائج الدراسة الفيتو كيميائية:

2-1- تحديد المركبات بواسطة LC-MS:

تعتبر مثل هذه الدراسات ضرورية لفهم الفوائد الصحية لمستخلص نبتة *Azadirachta Indica* بشكل كامل وتحسين استخدامها في مختلف الصناعات، بما في ذلك الأدوية ومستحضرات التجميل والزراعة[1].

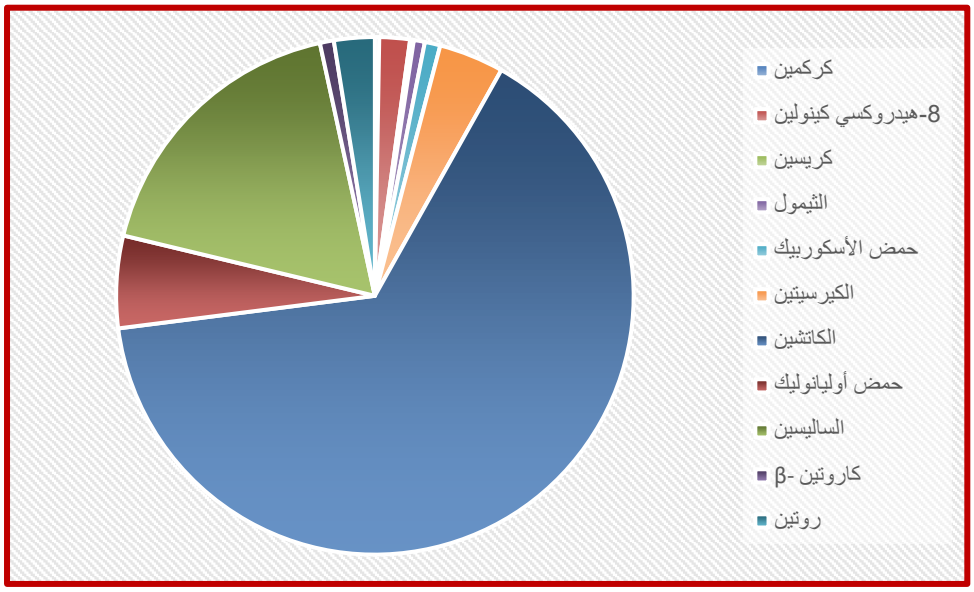
والنتائج المتحصل عليها مدونة في الشكل (V-2)، الجدول (V-2) والشكل (V-3):



الشكل (V-2): منحنى LC-MS للمستخلص الميثانولي لنبات *Azadirachta Indica*

الجدول (V-2): مجموعة البيانات المتعلقة بالمستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية لنبتة *Azadirachta Indica* التي تم تحليلها بواسطة LC-MS

المركب	الإسم	الصيغة الكيميائية	الكتلة المولية	وقت الاحتجاز	الارتفاع	المساحة	النسبة
1	كركمين	$C_{21}H_{20}O_6$	368.40	1.939	9586	19694	0.27
2	8-هيدروكسي كينولين	C_9H_7NO	145.16	1.986	11343	140854	1.91
3	كريسين	$C_{15}H_{10}O_4$	254.24	2.503	2020	16727	0.23
4	الثيمول	$C_{10}H_{14}O$	150.22	9.033	3446	50707	0.69
5	حمض الأسكوربيك	$C_6H_8O_6$	176.12	9.143	7362	71183	0.97
6	الكيرسيتين	$C_{15}H_{10}O_7$	302.23	12.592	30814	298933	4.06
7	الكاتشين	$C_{15}H_{14}O_6$	290.27	13.765	515562	4770142	64.85
8	حمض أوليانوليك	$C_{30}H_{48}O_3$	456.70	14.276	35378	423860	5.76
9	الساليسين	$C_{13}H_{18}O_7$	286.28	14.818	120983	1312108	17.84
10	β- كاروتين	$C_{40}H_{56}$	536.87	15.862	5401	64234	0.87
11	روتين	$C_{27}H_{30}O_{16}$	610.50	17.015	13765	187038	2.54



الشكل (V-3): دائرة نسبية تمثل نسب المركبات الموجودة في المستخلص

كشف تحليل LC-MS لمستخلص الميثانولي من نبات *Azadirachta Indica* عن وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجياً، مما يشير إلى التركيب الكيميائي النباتي المتنوع لهذا النوع من النباتات.

ويوضح الشكل (V-2) والجدول (V-2) المركبات التي تم تحديدها، حيث سجل وجود كل من حمض الأسكوربيك، و8-هيدروكسي كينولين، وبيتا كاروتين، والكركمين، والروتين، وحمض الأوليانوليك، والكريسين، والساليسين، والكيرسيتين، والكاتشين، والثيمول، والمعروفة بأنشطتها البيولوجية المختلفة وفوائدها الصحية المحتملة [2].

من بين المركبات التي تم تحديدها، وجد أن الكاتشين هو الأكثر وفرة حيث يمثل 64.85% من إجمالي المركبات المكتشفة، والكاتشين هو مركب فلافونويد ذو خصائص قوية مضادة للأكسدة، والذي قد يساهم في النشاط العام المضاد للأكسدة لمستخلص نبتة *Azadirachta Indica* [3].

الساليسين، وهو جليكوسيد فينولي طبيعي، وفيرًا أيضًا في المستخلص حيث بلغت نسبته 17.84%، وهو مركب مضاد للالتهابات والمسكنات.

حمض الأوليانوليك، وهو مركب بارز آخر مثّل نسبة 5.76%، وقد تم الإبلاغ على أنه يُظهر تأثيرات مضادة للأكسدة والالتهابات [4].

يظهر الكيرسيتين إمكانية المستخلص المضادة للأكسدة [5]، الذي تم اكتشافه بنسبة 4.06% من إجمالي المركبات.

بينما تظهر دراستنا نتائج حول التركيب الكيميائي النباتي لنبات *Azadirachta Indica* من منطقة أم الطيور بالمغير، فإن التحليلات المقارنة مع مستخلصات من مناطق أخرى كانت متباينة ويرجع هذا التباين إلى الاختلافات في العوامل البيئية والتنوع الجيني للمستخلص.

يمكن للأبحاث المستقبلية أن تستكشف التأثيرات المحتملة بين المركبات التي تم تحديدها والتحقيق من التباين في التركيب الكيميائي النباتي عبر المواقع الجغرافية المختلفة.

2-2- التقدير الكمي لنسبة الفينولات والفلافونويدات:

تم تطبيق طريقة (Single ton, Ross 1965) [6] لتقدير الفينولات الكلية في المستخلص والتي تتميز بسهولتها وفعاليتها وذلك باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي.

تم حساب تركيز المركبات الفينولية باستخدام المعادلة التي تم الحصول عليها من المنحنى القياسي لحمض الغاليك ($y = 0.0047x + 0.0971$؛ $R^2 = 0.989$) حيث y هي درجة الامتصاص وx هي تركيز حمض الغاليك.

تم حساب تركيز المركبات الفلافونويدات باستخدام المعادلة التي تم الحصول عليها من المنحنى القياسي للكيرسيتين ($y = 0.0047x + 0.0165$؛ $R^2 = 0.987$) وتم التعبير عنها بالميكروغرام المكافئ من الكيرسيتين لكل ملغ من المستخلص.

الجدول (V-3): يمثل إجمالي كميات الفينولات والفلافونويدات في مستخلص أوراق نبات *Azadirachta Indica*

المستخلص	$TPC\ (\mu gGAE/mg)$	$TFC\ (\mu gQE/mg)$
أوراق *Azadirachta Indica*	49.63 ± 0.159	12.481 ± 0.242

±: الانحراف المعياري (SD)

وُجد أن مستخلص أوراق *Azadirachta Indica* من منطقة أم الطيور بالمغير، يحتوي على مستويات كبيرة من مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة. أظهرت القياسات أن هناك 0.159 ± 49.63 ميكروغرام من مكافئات حمض الغاليك (GAE) و0.242 ± 12.481 ميكروغرام من مكافئات الكيرسيتين (QE) لكل mg من المستخلص، تتماشى قيم (TPC) مع ما تم الإبلاغ عنه بالنسبة لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica* من مناطق أخرى، إلا أن قيم (TFC) تتباين مع ذلك.

أبلغت الدراسات التي أجريت في مواقع مختلفة عن مجموعة واسعة من قيم المحتوى الكلي للفلافونويد (TFC) والمحتوى الفينولي الكلي (TPC) للمستخلصات.

على سبيل المثال، أظهر المستخلص الهندي قيم (TFC) تتراوح بين 40 إلى 90 ميكروغرام من مكافئات الكيرسيتين (QE)، وقيم (TPC) تتراوح بين 50 إلى 120 ميكروغرام من مكافئات حمض الغاليك (GAE).

من ناحية أخرى، أظهر المستخلص الأفريقي قيم (TFC) تتراوح بين 30 و80 ميكروغرام من مكافئات الكيرسيتين (QE)، وقيم (TPC) تتراوح بين 40 و100 ميكروغرام من مكافئات حمض الغاليك (GAE)

يمكن أن تعزى هذه التباينات في قيم TFC إلى عوامل مثل المناخ وتكوين التربة والارتفاع، والتي يمكن أن تؤثر على التركيب الكيميائي لأوراق *Azadirachta Indica* [7] .

يحتوي مستخلص أوراق *Azadirachta Indica* على مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية التي تمنحه خصائص مضادة للأكسدة، والتي تظهر من خلال قدرته على تحييد الجذور الحرة في اختبارات مضادات الأكسدة.

3- نتائج الدراسة البيولوجية:

3-1- الفعالية المضادة للأكسدة:

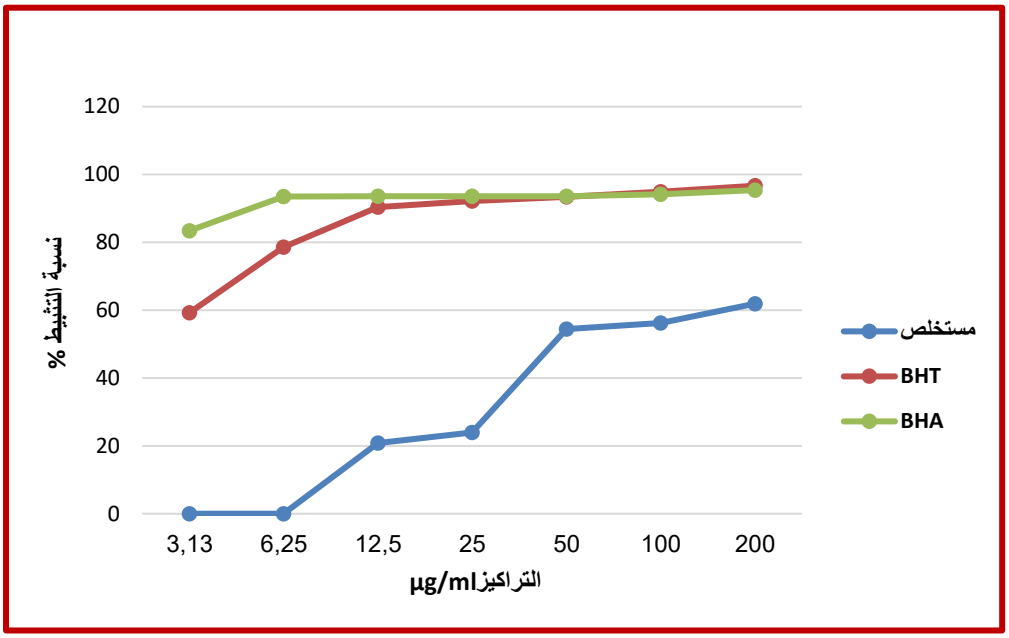
بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص *Azadirachta Indica*، تم الاعتماد على تطبيق العديد من التقنيات، استخدمت اختبارات (ABTS)، (DPPH)، و (β- كاروتين)، وتم إستعمال BHTوBHA كمركبات قياسية.

تم استخدام المؤشر IC_{50} (تركيز التثبيط بنسبة 50%) كأداة قياس، حيث يوجد ارتباط عكسي بين كفاءة النشاط وقيمة IC_{50}.

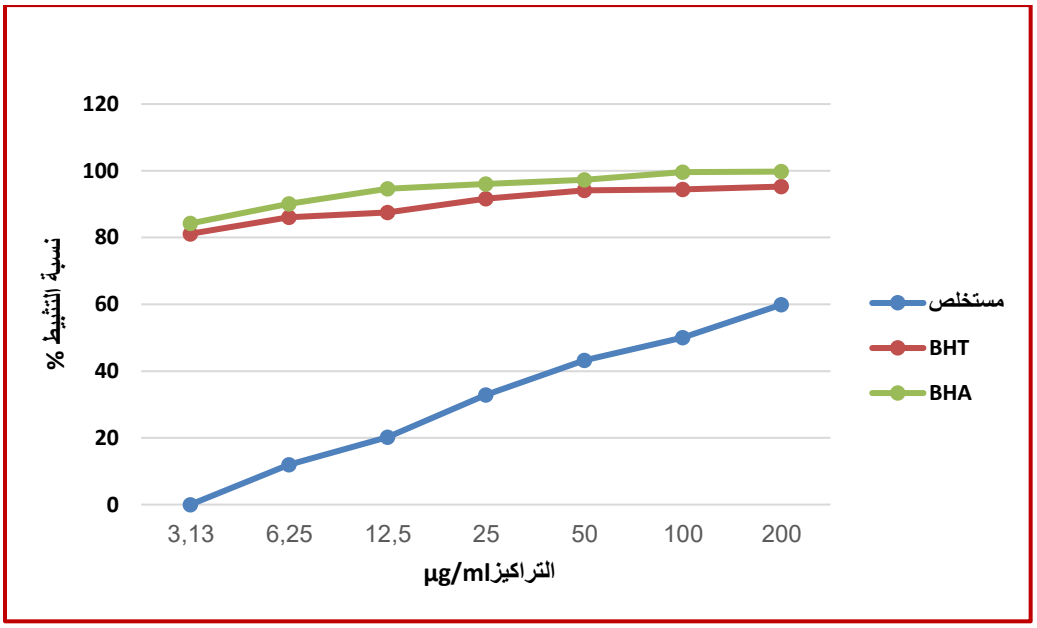
النتائج المتحصل عليها مدونة في الجدول (V-4)، الشكل (V-4)، الشكل (V-5)، والشكل (V-6):

الجدول (V-4): نشاط الكسح الجذري لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica*

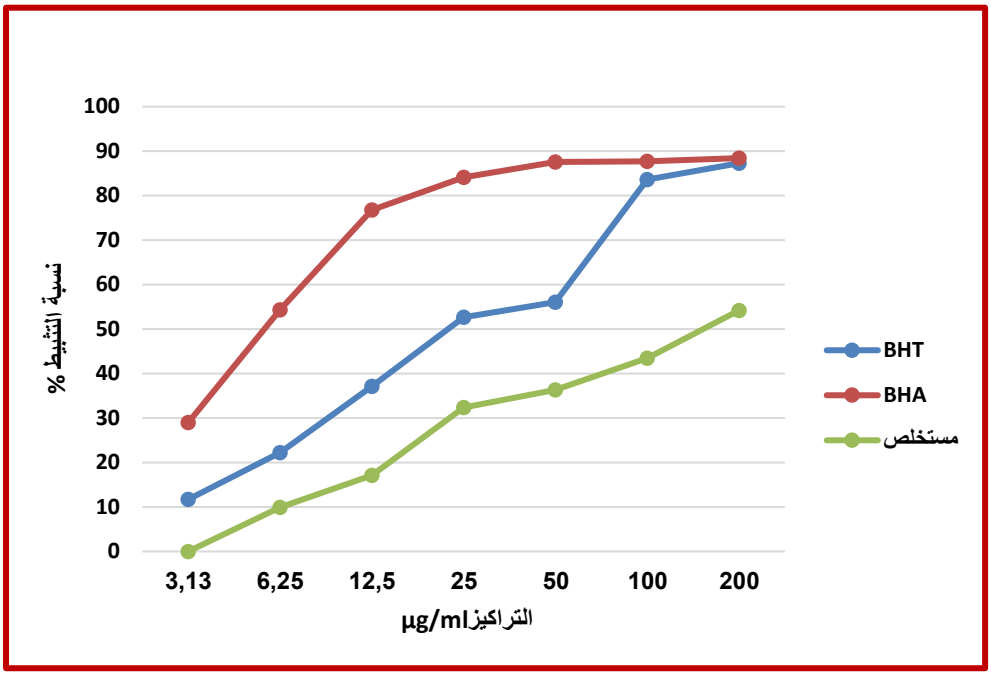
التراكيز $\mu g/ml$	نسبة التثبيط %					
	ABTS assay	IC_{50} $\mu g/ml$	β-carotene assay	IC_{50} $\mu g/ml$	DPPH assay	IC_{50} $\mu g/ml$
3.125	ND	45,09±1,23	ND	22,29±0.66	ND	25,01±0,71
6.25	ND		11,91±0,43		19,89±1,09	
12.5	20,80±0,66		20,17±0,61		27,09±0,31	
25	23,98±0,31		22,88±0,19		50,09±0,94	
50	54,39±0,82		63,22±0,71		66,33±0,17	
100	56,23±0,91		70,01±1,55		73,45±0,45	
200	61,90±0,72		89,89±0,65		84,19±0,77	
BHT		1.29±0.30		1.05±0.01		22.32±1.19
BHA		1.81±0.10		0.90±0.02		5.73±0.41



الشكل (V-4): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة ABTS



الشكل (V-5): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة β-carotene



الشكل (V-6): تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة DPPH

وُجد أن النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص *Azadirachta Indica* كان معتدلاً في اختبار ABTS، حيث IC_{50} بلغت قيمة $45,09 \pm 1,23\ \mu g/ml$، مما يشير إلى قدرته على مسح جذور ABTS. تتفق هذه النتيجة مع الدراسة [8]، والتي أبلغت أيضًا عن نشاط معتدل مضاد للأكسدة لمستخلص *Azadirachta Indica* باستخدام اختبار ABTS علاوة على ذلك، أظهر المستخلص نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة في اختبار DPPH، بقيمة IC_{50} تبلغ $25.01 \pm 0.71\ \mu g/ml$، مما يشير إلى قدرته على تقليل الالتهاب والإجهاد التأكسدي عن طريق مسح جذور DPPH، هذه النتائج مدعومة بالدراسة [8]، والتي بحثت في الخصائص المضادة للأكسدة المستخلص.

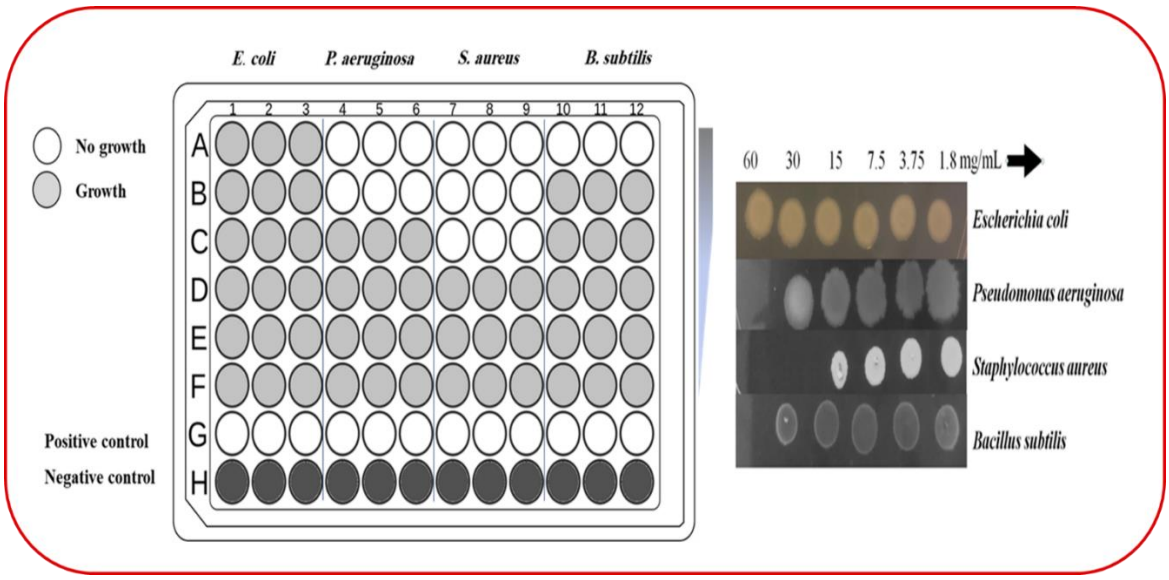
بالإضافة إلى ذلك، أظهر المستخلص القدرة على تثبيط أكسدة β- كاروتين بشكل كبير، بقيمة IC_{50} تبلغ $22.29 \pm 0.66\ \mu g/ml$، تتفق هذه النتيجة مع الدراسة [9].

3-2- الفعالية المضادة للبكتيريا:

❖ اختبار التخفيف الدقيق في المرق:

يتم عرض نتائج الاختبار لتحديد الحساسية الميكروبية للمستخلص في الشكل (V-7)، الجدول (V-5):

تم تحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC)، والتركيز الأدنى المبيد للجراثيم (MBC)، ونسبة $\frac{MBC}{MIC}$ لمستخلص الميثانولي من نبات *Azadirachta Indica*.



الشكل (V-7): صور فوتوغرافية توضح النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص *Azadirachta Indica*

الجدول (V-5): نسبة MIC وMBC و$\frac{MBC}{MIC}$ للمستخلص ضد أربع سلالات بكتيرية

النسبة / سلالات البكتيريا	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	$\frac{MBC}{MIC}$
E. coli	VHC	VHC	/
P. aeruginosa	30	60	2
S. aureus	15	30	2
B. subtilis	60	60	1

VHC = تركيز عال جداً

النسبة $\frac{MBC}{MIC}$ هي مؤشر على فعالية المستخلص المضاد للبكتيريا.

عندما تكون النسبة $\frac{MBC}{MIC}$ صغيرة (عادةً ≥ 4)، يُعتبر المضاد الحيوي "قاتلاً للبكتيريا" إذا كانت النسبة أكبر (عادةً >4)، يُعتبر المضاد الحيوي "مثبطاً لنمو البكتيريا".

أظهر المستخلص فعالية محدودة ضد E. coli، مع تركيز عالٍ جدًا (VHC) مطلوب لكل من (MIC) و (MBC)، ومع ذلك بالنسبة لسلالة P. aeruginosa، S. aureus، أظهر المستخلص نشاط واعد مضاد للميكروبات، حيث بلغت قيم التراكيز لـ (MIC) $30\ mg/ml$، $15\ mg/ml$، على التوالي وكانت قيم (MBC) لهذه السلالات ضعف قيم (MIC).

أما بالنسبة لـ B. subtilis، أظهر المستخلص نشاط واعد مضاد للميكروبات، بلغت قيمة التركيز $60\ mg/ml$ وكانت قيمة (MBC) لهذه السلالة مساوية لقيم (MIC).

نسبة $\frac{MBC}{MIC}$ البالغة 2 تعني أن المستخلص يمكنه قتل البكتيريا بتركيز ضعف التركيز اللازم لتثبيط نموها، مما يدل على فعاليته في القضاء على البكتيريا بتركيز قليل نسبيًا.

وتكشف مقارنة هذه النتائج بالدراسات التي أجريت على مستخلص *Azadirachta Indica* من البيئات الرطبة عن اختلافات مثيرة للاهتمام على سبيل المثال بحث أجراه [10] في النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص من منطقة رطبة ووجدت قيمًا مماثلة للتركيز ضد E. coli و P. aeruginosa ولكن قيمًا أقل للتركيز ضد S. aureus و B. subtilis يشير هذا إلى أن مستخلصات النيم من البيئات الجافة قد يكون لها نشاط مضاد للميكروبات مماثل أو حتى أعلى ضد سلالات بكتيرية معينة مقارنة بمستخلصات النيم من البيئات الرطبة [2].

قد تفسر الاختلافات في التركيب الكيميائي النباتي لمستخلص النبتة من المناطق الرطبة والجافة التباين في العمل المضاد للبكتيريا بينهما.

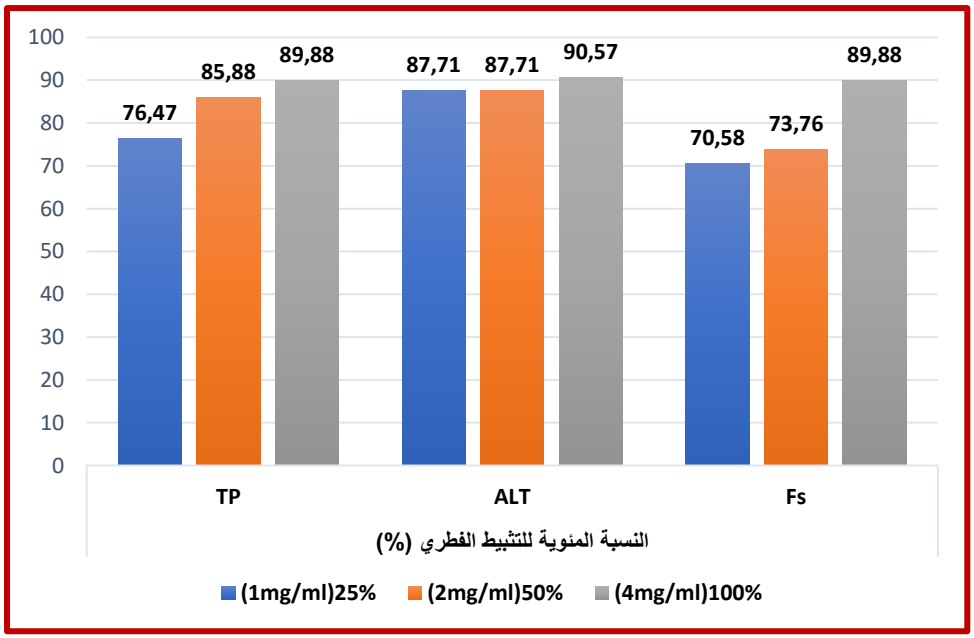
تنتج نبتة *Azadirachta Indica* وغيرها من النباتات الأخرى مواد كيميائية نشطة بيولوجيًا استجابة لمجموعة متنوعة من الظروف البيئية، بما في ذلك درجة الحرارة والرطوبة وتكوين التربة. يعد فهم هذه الاختلافات أمرًا بالغ الأهمية لتوضيح الإمكانات المضادة للميكروبات لمستخلص نبات *Azadirachta Indica* ومدى ملاءمتها لمكافحة العدوى البكتيرية في البيئات المختلفة [11] [12].

3-3- الفعالية المضادة للفطريات:

يقدم الجدول (V-6)، الشكل (V-8) والشكل (V-9) عرضاً شاملاً للفعالية المضادة للفطريات لمستخلص أوراق نبات *Azadirachta Indica* ضد فطريات (TP)، (ALT)، (Fs) حيث يعرض معدلات التثبيط (%) بتراكيز 1 و2 و4 (mg/ml).

الجدول (V-6): النشاط المضاد للفطريات لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica*

نسبة التثبيط الفطري (%)	التركيز (mg/ml)	النسبة المئوية للتثبيط الفطري (%)		
		TP	ALT	Fs
25	1	76.47±1.17	87.71±4.74	70.58±7.10
50	2	85.88±2.94	87.71±4.45	73.76±5.80
100	4	89.88±0.67	90.57±2.96	89.88±8.34



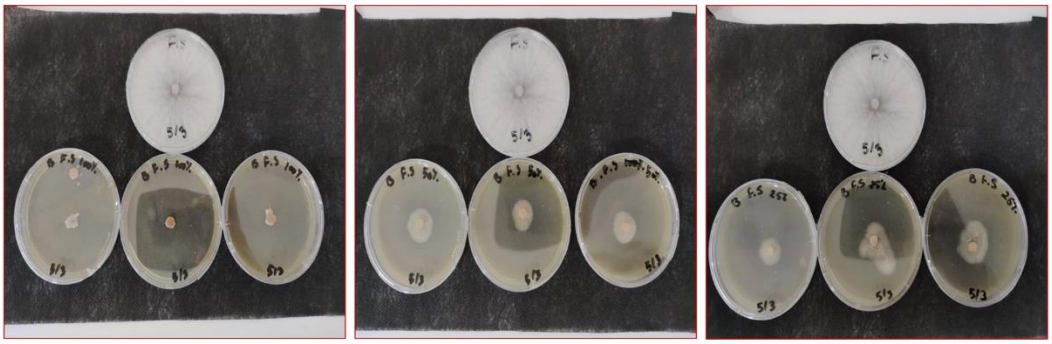
الشكل (V-8): أعمدة بيانية تمثل النشاط المضاد الفطريات للمستخلص على الفطريات المدروسة

100 % 50 % 25 %

Alternaria sp

100 % 50 % 25 %

Thielaviopsis paradox



100 % 50 % 25 %

Fusarium solani

الشكل (V-9): صور فوتوغرافية توضح النشاط المضاد الفطريات للمستخلص على الفطريات المدروسة

بالنسبة إلىTP، تراوحت النسبة المئوية للتثبيط الفطري من 76.47% إلى 89.88% تقريباً، وبالنسبة إلى Fs، تراوحت النسبة المئوية للتثبيط الفطري من 70.58% إلى 89.88% تقريبًا، مما يشير إلى وجود تأثير مضاد قوي للفطريات.

وبالنسبة إلى ALT، تراوحت النسبة المئوية للتثبيط الفطري من 87.71% إلى 90.57% تقريباً، مما يشير إلى وجود تأثير مضاد قوي جداً للفطريات.

يمكن أن يُعزى التباين في نسب التثبيط إلى عدة عوامل، بما في ذلك قابلية الأنواع الفطرية للتأثر بالمركبات النشطة بيولوجيًا الموجودة في المستخلص والتأثير المعتمد على تركيز المستخلص، بالإضافة إلى ذلك يمكن أن تساهم الاختلافات في تكوين جدار الخلية الفطرية وعمليات الأيض للفطريات المختبرة.

قائمة المراجع:

[1] A. Telli, A. Chedad, and S. E. Sadine, “Ethnobotanical study of medicinal plants used for scorpion sting envenoming treatments in Algerian Septentrional Sahara,” International Journal of Environmental Studies, pp. 1–23, 2022.

[2] S. C. Gupta, S. Prasad, A. K. Tyagi, A. B. Kunnumakkara, and B. B. Aggarwal, “Neem (Azadirachta indica): An indian traditional panacea with modern molecular basis,” Phytomedicine, vol. 34, pp. 14–20, 2017.

[3] C. Manach, A. Scalbert, C. Morand, C. Rémésy, and L. Jiménez, “Polyphenols: food sources and bioavailability,” Am J Clin Nutr, vol. 79, no. 5, pp. 727–747, 2004.

[4] M. A. Jiménez-Arellanes, “Hepatoprotective Effect of the Ursolic Acid-Oleanolic Acid Mixture Administered Intragastrically in Mice with Liver Damage Induced by Anti-TB Drugs,” Qeios, 2023.

[5] S. Ahmad et al., “Phytochemicals as alternative anthelmintics against poultry parasites: a review.,” 2023.

[6] S. Vl, “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent,” Methods Enzymol, vol. 299, pp. 152–178, 1999.

[7] J. F. Islas et al., “An overview of Neem (Azadirachta indica) and its potential impact on health,” J Funct Foods, vol. 74, p. 104171, 2020.

[8] M. Ahmed et al., “Studying the antioxidant and the antimicrobial activities of leaf successive extracts compared to the green-chemically synthesized silver nanoparticles and the crude aqueous extract from Azadirachta indica,” Processes, vol. 11, no. 6, p. 1644, 2023.

[9] E. E. Biney, M. Nkoom, W. K. Darkwah, and J. B. Puplampu, “High-Performance Liquid Chromatography Analysis and Antioxidant Activities of Extract of Azadirachta indica (Neem) Leaves,” Pharmacognosy Res, vol. 12, no. 1, 2021.

[10] S. Prabuseenivasan, M. Jayakumar, and S. Ignacimuthu, “In vitro antibacterial activity of some plant essential oils,” BMC Complement Altern Med, vol. 6, pp. 1–8, 2006.

[11] J. M. Álvarez-Caballero and E. Coy-Barrera, “Chemical and antifungal variability of several accessions of Azadirachta indica A. Juss. from six locations across the Colombian Caribbean coast: identification of antifungal azadirone limonoids,” Plants, vol. 8, no. 12, p. 555, 2019.

[12] S. Kumar, A. Yadav, M. Yadav, and J. P. Yadav, “Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm. f.,” BMC Res Notes, vol. 10, pp. 1–12, 2017.

الخلاصة العامة والآفاق

تم تسليط هذه الدراسة على التركيب الكيميائي النباتي والقدرة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا والخصائص المضادة للفطريات لمستخلص أوراق *Azadirachta Indica* من منطقة المغير.

تُظهر نتائج دراستنا أن المستخلص له محتوى إجمالي من الفينول (TPC) يضاهي تلك التي تم الإبلاغ عنها من مواقع أخرى، ومع تباين في المحتوى الإجمالي من مركبات الفلافونويد (TFC).

إن وجود مركبات نشطة بيولوجيًا مثل الكاتشين والساليسين والكيرسيتين وحمض الأوليانوليك في المستخلص يؤكد على فوائدها الصحية المحتملة، بما في ذلك التأثيرات المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات، وتشير النتائج إلى أن *Azadirachta Indica* يعمل كعامل مضاد للجراثيم ضد البكتيريا التي تسبب أمراض لدى الإنسان، علاوة على ذلك تكشف دراستنا عن نشاط ملحوظ لمضاد الفطريات ضد الفطريات المسببة للأمراض يمكن الإستفادة منه كمبيد حشري طبيعي.

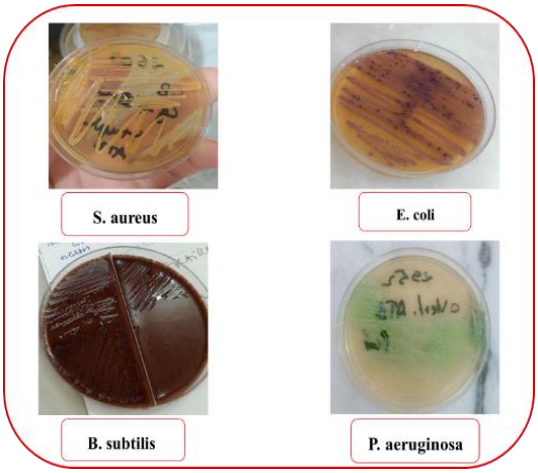
وللاستفادة الكاملة من الإمكانات الطبية لمستخلص *Azadirachta Indica* وتعميم استخدامها في مستحضرات التجميل والزراعة والمستحضرات الصيدلانية، هناك ما يبرر إجراء المزيد من الأبحاث. يجب أن تركز الدراسات المستقبلية على توضيح آليات عمل مركبات *Azadirachta Indica* النشطة بيولوجيًا، وإجراء تحليلات مقارنة لتحديد الاختلافات في التركيب الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي بين مستخلصات النيم والزيت الأساسي له من مواقع جغرافية مختلفة، ومن شأن هذه الجهود أن تمهد الطريق لتطوير منتجات مبتكرة قائمة على *Azadirachta Indica*.

الملاحق

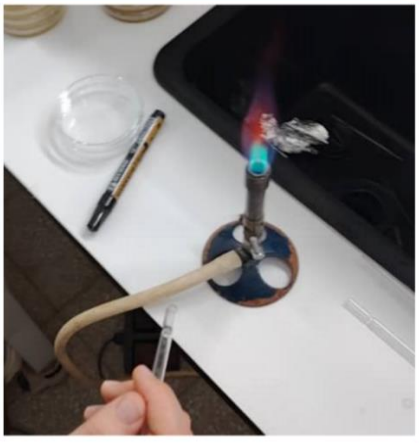
الملحلق 1: ميزان حساس

الملحق 2: جهاز ترشيح تحت الفراغ

الملحق 3: جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur)



الملحق 4: السلالات البكتيرية



الملحق 5: موقد بنزن

الملحق 6: La hotte chimique

الملحلق 7: حاضنة

الملحق 8: جهاز UV-Visible

الملحق 9: نسبة تثبيط الجذر الحر ABTS الخاص بـ BHT, BHA

التراكيز $\mu g/ml$	نسبة التثبيط % ABTS						
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62

الملحق 10: نسبة تثبيط الجذر الحر β-carotene الخاص بـ BHT, BHA

التراكيز $\mu g/ml$	نسبة التثبيط % β-carotene						
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200
BHT	81.14±0.84	86.0.9±1.04	87.52±4.24	91.67±0.52	94.11±0.42	94.41±0.32	95.28±3.25
BHA	84.23±1.14	90.11±0.68	94.59±0.77	96.09±0.02	97.35±1.08	99.59±0.14	99.76±0.56

الملحق 11: نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH الخاص بـ BHT, BHA

التراكيز $\mu g/ml$	نسبة التثبيط % DPPH						
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23