الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

# مذكرة تخرج

**لنيل شهادة ماستر أكاديمي**

**ميدان:** علوم طبيعة وحياة

**شعبة:** علوم البيولوجيا

**تخصص:** التنوع البيئي و فيزيولوجيا النبات

# الموضوع

## دراسة الفعالية البيولوجية للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية لنبات النتينة *Cleome arabica* النامية بمنطقة وادي سوف


**من إعداد:**

صبرينة قديري – نادية كيرد


نوقشت يوم ..../..../2018 من طرف لجنة المناقشة :

| | | | |
|---|---|---|---|
| منية بن قدور | أستاذ محاضر قسم بـ | رئيسا | جامعة الشهيد حمه لخضر |
| أحمد الخليفة شمسة | أستاذ محاضر قسم أ | مؤطرا | جامعة الشهيد حمه لخضر |
| منيرة قادري | أستاذ مساعد قسم أ | ممتحنا | جامعة الشهيد حمه لخضر |

**الموسم الجامعي: 2018/2017**

## الشكر والعرفان

الحمد لله رب العالمين، والصلاة و السلام على أشرف الأنبياء والمرسلين سيدنا محمد عليه وعلى آله وصحبه أفضل الصلاة و أتم التسليم، فالشكر الكبير و الأول و الأخير إلى من يسر لنا أمرنا ووفقنا حتى الآن، فلك الشكر والحمد ربي حتى ترضى ولك الحمد بعد الرضى .

يجدر بنا في هذا المقام أن نتقدم بالشكر الجزيل و الامتنان عظيم العرفان وفير إلى أستاذنا الفاضل شمسة أحمد الخليفة على تأطيره لهاته المذكرة وعلى رحابة صدره وصبره علينا و على ما بذله من جهد عظيم وإرشاد ومتابعة و تسهيل كل العقبات خلال مراحل إنجاز هذا البحث، و كان له الفضل في توفير جميع الامكانيات اللازمة لإتمام هذا العمل، فكان النبراس الذي أضاء طريقنا بفضل توجيهاته القيمة والتي نبع من خلالها هذا العمل .

كما نتقدم بالشكر الخالص لأستاذتنا القديرة منية بن قدور على قبولها رئاسة اللجنة، والأستاذة الفاضلة قادري منيرة على قبولها لعضوية اللجنة والتي ستثري مذكرتنا من خلال ما ستقدمه من نقد بناء .

ولا يفوتنا تقديم الشكر الجزيل و التقدير البالغ للزملاء بلقاسم برير و عبد الكريم بجير و سارة الأسود وياسين بوكي والعرابي الطويل و عبد الحميد بورقعة لمساعدتهما لنا و لمجهوداتهما المبذولة قصد اتمام هذا البحث على أكمل وجه.

كما تتسع دائرة شكرنا إلى كل أساتذتنا الأكارم الذين فتحوا لنا درب البحث و التعلم في مشوارنا الدراسي من أول الطريق لآخره، لتنوير وفتح سبل العلم والمعرفة لنا، و إلى جميع موظفين وعمال المخابر بكلية علوم الطبيعة والحياة، وإلى جميع زميلاتي وطلبة دفعة ماستر 2018.

وإلى كل من ساعدني من قريب و بعيد في إنجاح هذا العمل من البداية إلى غاية الانتهاء .

صبرينة، نادية

# الملخص

# *Résumée*

# *Abstract*

**الملخص**

يهدف هذا العمل الى دراسة الفعالية البيولوجية للزيت الأساسي و المستخلصات النباتية لنبات *C. arabica* الذي تم جمعه من بلدية الدبيلة - ولاية الوادي - والتي تبعد عن مقر الولاية حوالي 20 كلم. تم استخلاص الزيت عن طريق التقطير المائي باستعمال جهاز Clevenger حيث كان مردود الزيت حوالي (0.018%). تم تحليل الزيت باستعمال GC-MS. أين تم التعرف على 14 مركبا كيميائيا بمجموع 74.29%من إجمالي الزيت الأساسي. المركبات السائدة في الزيت كانت (Phytol , Ethyl9,12,15-octadecatrienoate، Hexadecanoic acid, ethyl ester ، Decane، Hedycaryol ) بنسب 18.09، 12.15، 10.96، 6.79 و6.42% على الترتيب.

- ✓ كما تم تحضير مستخلصات ( Hexane, Acetat d'ethyl , Methanol ) من العينة النباتية المدروسة المحضرة بواسطة جهاز سوكسلي حيث بينت النتائج أن:
- ✓ أعلى مردود لمستخلص Méthanol بنسبة 14.6%، يليه مستخلص Acetat d'ethyl بنسبة 5.3% و أخيرا مستخلص Hexane بنسبة 4% .
- ✓ التقدير الكمي لعديد الفينول لمستخلص Methanol بـ (82.95±8.69 mg AGE/mg EP ) و الذي اظهر اعلى نسبة مقارنة بالمستخلصين Acetat d'ethyl،Hexane والمقدرة بـ (57.77±0.86 mg AGE/mg EP ; 22.88±1.64) على التوالي . في حين أظهرت هذه المستخلصات احتوائها على كمية معتبرة من الفلافونويدات حيث قدرت أعلى كمية عند مستخلص Méthanol بـ (38.45±3.72 mg QE/mg EP) مقارنة بالمستخلصين Acetat d'ethyl،Hexane والمقدرة بـ (33.43±9.45 mg QE/mg EP 9.50±1.04 ) على التوالي.
- ✓ اختبار النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار جذر $DPPH^{\bullet}$ أن الزيت الاساسي لنبات النتينة *C arabica*. يملك نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة جدا ($IC_{50}$= 0.74±0.028mg/ml) مقارنه بالمركب المرجعي (vit .C). اما في المستخلصات النباتية فقد سجل مستخلص الـ Methanol أعلى نسبة تثبيط للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ المقدرة بـ ($IC_{50}$=0.110± 0.01mg/ml) مقارنة مع المستخلصات الأخرى.
- ✓ اختبار النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة أن مستخلص Méthanol من أكثر المستخلصات نشاطا ضد السلالات الموجبة و السالبة غرام مقارنة بالمستخلصين Acetat d'ethyl،Hexane حيث سجل أكبر قطر تثبيطي بـ 12mm عند السلالة *Enterococcus faecalis* .

**الكلمات المفتاحية:** *C .arabica*، الزيوت الأساسية، النشاطية المضادة للأكسدة، نشاطية مضادة للبكتيريا، اختبار $DPPH^{\bullet}$.

## Résumée

L'objectif de ce travail est d'étudier l'efficacité biologique de l'huile essentielle et des extraits de plantes de C. arabica collectés de la commune de -Dabila - de wilaya d-Eloued. L'huile a été extraite par la distillation en utilisant le dispositif Clévenger où le rendement en huile était d'environ 0,018%. L'huile a été analysée par GC-MS. Où 14 composés chimiques ont été identifiés avec un total de 74,29% de l'huile primaire totale( Phytol, éthyl9,12,15-octadécatriénoate, l'acide hexadécanoïque, ester éthylique, Decane, Hedycaryol) avec les valeurs: 18,09, 12,15, 10,96, 6,79 et 6,42%, respectivement.

Des extraits d'acétate d'éthyle (méthanol hexane) ont également été préparés à partir de l'échantillon de plantes étudié préparé par l'appareil de Soxlet où les résultats ont montré que:

- ✓ Le rendement le plus élevé en méthanol était de 14,6%, suivi de l'extrait d'acétate d'éthyle de 5,3% et finalement de 4% d'hexane.
- ✓ L' Estimation quantitative du phénol pour l'extrait de méthanol (82,95 ± 8,69 mg AGE / mg EP), qui a montré le plus haut pourcentage d'Acétat d'éthyle, Hexane, (57,77 ± 0,86 mg AGE / mg EP; 22,88 ± 1,64) respectivement. Alors que ces extraits contenaient une quantité significative de flavonoïdes où la plus grande quantité a été estimée dans l'extrait de méthanol (38,45 ± 3,72 mg QE/ mg EP) comparé à Acétat d'éthyle, Hexane, ( 9,50 ± 1,04 mg QE / mg EP; 33,43 ± 9,45), respectivement.
- ✓ Le tester d'activité antioxydant par l'utilisation de test de racine DPPH$^{\bullet}$ L'huile principale de la plante *C .arabica* a une très faible activité antioxydant ($IC_{50}$ 0.74± 0.028mg/ml) par rapport à la référence(vit .C) Dans les extraits de plantes, l'extrait de méthanol a enregistré le plus haut inhibiteur de radicaux libres DPPH$^{\bullet}$ de ($IC_{50}$ =0.110 ±0,01mg/ml ) par rapport à d'autres extraits.
- ✓ Le test d'activité antimicrobienne de l'extrait de méthanol était l'un des extraits les plus actifs contre les souches positives et négatives de gramme, comparé à l'Acetat d'éthyle et l'hexane, dont le grand diamètre inhibiteur était de 12mm contre *Enterococcus faecalis***.**


**Mots clés:** huiles essentielles, l'activité Antioxydant, antibactérien, Test DPPH$^{\bullet}$, *C. arabica*.

**Abstract**

The objective of this work is to study the biological effect of the essential oil and extracts of *C. arabica* plant collected in -Dabila - region which is about 20 km EL-OUED. The oil essential was obtained using the Clevenger apparatus the yield was about (0.018%). Essential oil was analyzed by using GC-MS 14 compounds were identified with a total of 74.29% of the oil.( Phytol, ethyl 9,12,15-octadecatrienoate, hexadecanoic acid, ethyl ester, Decane, Hedycaryol) major component with 18.09, 12.15, 10.96, 6.79 and 6.42%, respectively..

(Methanol, Ethyl acetate and Hexane) Extract of the plant were also prepared from the plant by the Soxlet apparatus:

- ✓ The highest yield of methanol extract was 14.6%, followed by the Ethyl acetate extract with 5.3% and finally 4% for hexane.
- ✓ Total phenolic content Determination showed that the highest amount with Methanol extract (82.95 ± 8.69 mg AGE / mg EP) followed by Ethyl acetate then Hexane (57.77 ±0.86 mg AGE /mg EP, 22.88 ± 1.64) , which showed that highest percentage of Ethyl acetate, Hexane

respectively. While these extracts contained a significant amount of flavonoids where the largest amount was estimated in the methanol extract (38.45 ± 3.72 mg QE / mg EP) compared to ethyl acetate, Hexane, (9.50 ± 1.04 mg QE / mg EP, 33.43 ± 9.45), respectively.

- ✓ Antioxidant activity was studied by using DPPH$^{\bullet}$ test The essential oil exhibited weak activity whereas ($IC_{50}$= 0.74 ± 0.028mg/ml). The highest showed with Methanol extract ($IC_{50}$ = 0.110 ± 0.01mg/ml)
- ✓ Antimicrobial Activity Test, Methanol extract was one of the most active extracts against positive and negative strains of gram, compared to the ethyl acetate and hexane, the largest inhibitory diameter was 12mm ageist *Enterococcus faecalis*.

**Keywords:** essential oils, Antioxidant activity, anti-bacterial necrosis, DPPH$^{\bullet}$ Test, *C. arabica*.

# الفهرس

**فهرس المحتويات**

**الشكر والعرفان**

**الملخص**

**فهرس المحتويات**

**فهرس الجداول**

**فهرس الأشكال**

**قائمة المختصرات**

**مقدمة** ..... ***i***

**الجزء النظري**

**الفصل الأول الزيوت الأساسية**

**I- الزيوت الأساسية** .....**5**

I- 1 - تعريف الزيوت الأساسية .....5

I- 2 - خواص الزيوت الأساسية .....6

I- 3 - وظيفة الزيوت الأساسية:.....6

I- 4 - طرق استخلاص الزيوت الأساسية .....6

I-4-1- التقطير Distillation.....7

I-4-2- التقطير المائي L'hydrodistillation .....7

I-4-3- التقطير ببخار الماء Entrainement à la vapeur d' eau .....7

I-4-4- الاستخلاص بالضغط البارد (العصر)Expression .....7

I-4-5- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة Solvants organiques volatils .7

I-4-6- الاستخلاص بالشحوم و الدهون Enfleurage .....7

I-4-7- الاستخلاص بواسطة الأمواج Micro-ondes .....8

I-4-8- الاستخلاص بالتحليل الأنزيمي .....8

I-4-9- الاستخلاص بغاز $CO_2$ السائل .....8

I-5- مجالات استخدام الزيوت الأساسية .....8

I-5-1- مجال الأغذية .....8

I-2-5- مجال العطور .....8
I-3-5- مجال الطب و الصيدلة .....9
I-6- سمية الزيوت الأساسية .....9
I -7- التركيب الكيميائي الزيوت الأساسية .....9
I-1-7- المركبات التربينية .....9
I -2-7- المركبات العطرية Les composés aromatiques.....12
I -3-7- مركبات أخرى .....14
I -8- الخواص الفيزيائية للزيوت الأساسية .....14
I -9- طرق تحليل الزيوت الأساسية .....14
I -1-9- كروماتوغرافيا الغاز CPG.....14
I -2-9- الدمج بين كروماتوغرافيا الغاز و المطيافية الكتلية Le couplage CPG/ SM
14.....
I -3-9- كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC .....15
I-4-9- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Chromatographie sur couche mince
15..... (CCM )

**الفصل الثاني الإجهاد التأكسدي**

**I- الاجهاد التاكسدي (Oxidative stress ) .....17**
I-1- تعريف الجذور الحرة (Free radicals).....17
I-2- أنواع الجذور الحرة .....18
I-2-1- التقسيم على أساس الاستقرار .....18
I-2-1-1- الجذور النشطة ( غير المستقرة ) .....18
I-2-1-2- الجذور المستقرة (الصامدة ) .....18
I-2-2- التقسيم على أساس النوع.....18
I-2-2-1- الجذور الحرة الأ وكسجينية .....18
I-2-2-2- الجذور الحرة النيتروجينية.....19
I-2-2-3- الجذور الحرة الدهنية .....19
I-2-2-4- جذور السموم الحرة.....19
I-3- مصادر الجذور الحرة .....19
I-3-1- مصادر داخلية .....19

I-3-2- المصادر الخارجية .....20
I-4- الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي .....20
I-4-1- فوق أكسدة اللبيدات.....20
I-4-2- أكسدة البروتينات .....21
I-4-3- أكسدة DNA .....21
I-5- الإجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض .....21

**II- مضادات الاكسدة .....21**

II-1- تعريف مضادات الأكسدة.....21
II-2- مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxidants .....22
II-2-1- فوق أكسيد الديسميوتاز (SOD Superoxide dismutase ).....22
II-2-2- الكاتالاز Catalase.....22
II-2-3- جلوتاثيون بيروكسيداز Peroxidase .....23
II-3- مضادات الأكسدة الغير الإنزيمية Non-enzymatic antioxidant .....23
II-3-1- مضادات الأكسدة الطبيعية .....23
II-3-2- مضادات الأكسدة الاصطناعية.....26
II-4- أهمية مضادات الأكسدة .....27

**الجزء التطبيقي**

**الفصل الاول الطرق والوسائل**

**I- النبات المدروس .....30**

I-1- نبات *Cleome arabica* .....30
I-1-1- مكان تواجده .....30
I-1-2- الوصف النباتي .....30
I-1-3- التصنيف النباتي لنبات النتينة *C. arabica*.....32
I-1-4- النمو والإزهار .....32
I-1-5- استعمالات نبات النتينة *C. arabica* في الطب التقليدي .....32
I-1-6- الدراسات السابقة للنوع النباتي .....32
I-2- الأنواع البكتيرية المستعملة أثناء الدراسة.....33
I-2-1- *Salmonella enterica*.....33

I-2-2- *Bacillus anthracis* ..... 33
I-2-3- *Escherichia coli* ..... 33
I-2-4- *Enterococcus faecalis* ..... 34
I-2-5- *Pseudomonas aerogenos* ..... 34
I-2-6- *Klebsiella pneumonia* ..... 34

**II - المواد والطرق ..... 35**
II -1- المواد الكيميائية و الأجهزة ..... 35
II -2 - طرق العمل ..... 37
II -2-1- المادة النباتية المدروسة ..... 37
II -2-2- طريقة استخلاص الزيت الأساسي ..... 37
II -2-3- التحليل الكيميائي للزيت الأساسي ..... 38
II -2-4- الاستخلاص بجهاز سوكسلي Soxhlet ..... 39
II -2-5-التقدير الكمي للمركبات الفينولية ..... 41
II-2-6- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ ..... 42
II-2-6-1- مبدأ عمل جذر $DPPH^{\bullet}$ ..... 42
II-2-6-2 - اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ ..... 42
II-2-6-3- تحضير محلول $DPPH^{\bullet}$ ..... 42
II-2-6-4- تحضير التراكيز ..... 43
II -2-7- النشاطية المضادة للبكتيريا ..... 44
II-2-7-1- تحضير اوساط الزرع ..... 45
II-2-7-2- تحضير المعلق البكتيري ..... 45
II-2-7-3- زراعة البكتيريا ..... 45
II-2-7-4- وضع الاقراص ..... 45

**الفصل الثاني: النتائج والمناقشة**

**I- النتائج ..... 47**
I-1- استخلاص الزيوت الأساسية ..... 47
I-2- التحليل الكيميائي للزيت الأساسي ..... 47
I-3- مردود المستخلصات النباتية ..... 50
I-4- التقدير الكمي لعديدات الفينول ..... 50

I-5- التقدير الكمي للفلافونويدات .....51
I-6- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للعينات النباتية .....52
I-7- دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا .....54
I-8- الدراسة الاحصائية .....55

**II- المناقشة.....56**

II-1- مناقشة نتائج استخلاص و تحليل زيت *C. arabica* .....56
II-2- مناقشة نتائج مردود المستخلصات النباتية .....57
II-3- مناقشة نتائج التقدير الكمي لعديدات الفينول .....58
II-4- نتائج النشاطـية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية.....59
II- 5- مناقشة نتائج النشاطية المضادة للبكتيريا.....60

**الخاتمة .....*62***

**قائمة المصادر والمراجع.....*64***

**الملاحق**

## فهرس الجداول

جدول 1 : أهم الجذور الاكسجنية الحرة ..... 18
جدول 2: التصنيف النباتي لنبات النتينة *C. arabica* . ..... 32
جدول 3 : المواد والأدوات والأجهزة المستعملة أثناء عملية الاستخلاص . ..... 35
جدول 4: الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة أثناء عملية الاستخلاص . ..... 35
جدول 5: الأدوات المستعملة عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية..... 36
جدول 6: المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي و المستخلصات النباتية. ..... 36
جدول 7: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا ..... 37
جدول 8: المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لـ *C. arabica* ..... 48
جدول9: جميع المركبات الناتجة من عملية تحليل زيت *C. arabica* مع البنية الكيميائية. ..... 48
جدول 10 :مردود المستخلصات النباتية ..... 50
جدول 11: كمية عديدات الفينول لمستخلصات نبات النتينة *C.arabica* ..... 51
جدول 12: كمية الفلافونويدات لمستخلصات نبات النتينة *C .arabica* ..... 52
جدول 13: النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية وVit.C ..... 52
جدول 14 :قيم $IC_{50}$ للمستخلصات النباتية المدروسة وVit.C..... 53
جدول 15: تصنيف المركبات الكيميائية المحتوية بزيت الاساسي لنبات *C. arabica*..... 56

## فهرس الأشكال

الشكل 1 : بنية السكوالين ..... 10
الشكل 2 : بنية وحدة إزوبرين ..... 10
الشكل 3 : بنية الجزيء R-(+)-Pulegone ..... 10
الشكل 4 : بعض مركبات التربينات الأحادية ..... 11
الشكل 5 : بعض الأمثلة عن المركبات السيسكوتربينية ..... 12
الشكل 6 : بنية الجذر الحرة جزيئة الـ ($DPPH^{\bullet}$) ..... 17
شكل 7 : أنواع مضادات الاكسدة ..... 22
شكل 8 : الصيغة الكيميائية لفيتامين C ..... 24
شكل 9 : البنية الكيميائية لفيتامين E ..... 24
شكل 10 : آليات التخلص من الجذور الليبيدية بواسطة Glutathione Vitamin-C Vitamin-E .... 25
شكل 11 : التركيب الكيميائي لـ BHT ..... 26
شكل 12 : التركيب الكيميائي لـ BHA ..... 27
شكل 13 : الانتشار الجغرافي لـ *C .arabica* على مستوى قارة افريقيا ..... 30
شكل 14 : صورة توضح نبات النتينة *C. arabica* ..... 31
شكل 15 : رسم توضيحي لنبات النتينة *C. arabica* ..... 31
شكل 16: صورة توضح جهاز Clevenger. ..... 38
شكل 17: صورة توضح جهازGC/MS. ..... 39
شكل 18: صورة توضح جهاز سوكسلي Soxhle ..... 40
شكل 19: صورة توضح جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur ..... 40
شكل 20: التركيب الكيميائي للجذر الحر• DPPH ..... 42
شكل 21 يوضح آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت الـ $DPPH^{\bullet}$..... 43
شكل22: كروماتوغرافيا الزيت الأساسي لـ *C .arabica* ..... 47
شكل 23: المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول عند المستخلصات المدروسة... 51
شكل 24 : المنحنى القياسي للكرستين لتقدير الفلافونويدات عند المستخلصات المدروسة ..... 52
شكل 25:متوسط الاقطار التثبيطية للسلالات البكتيرية المختبرة لمستخلصات نبات *C.arabica* .. 54
شكل 26: منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة ..... 55
شكل 27: منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط المضاد للأكسدة ..... 55

# قائمة المختصرات

**CPG:** Chromatographie en phase gazeuse

**CCM:** Cromatography Couche Mince

**GC/MS**: Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer

**GC:** Gaz chromatography

**HPLC:** High Performance Liquid Cromatography

**DNA:** Deoxyribonucleic acid

**ROS:** Reactive Oxygen Species

**ROO :** Radical pyroxyl

**NOS:** Nitric oxide synthase

**E-NOS:** Enzyme nitric oxide synthase

**I-NOS:** inducible nitric oxide synthase

**GPx:** lutathione peroxidase

**NADPH:** Nicotinamide adenine dinucliotide phosphate

**$O_2^{\bullet -}$:** Superoxide anion

**$OH^{\bullet}$:** Hydroxyl radical

**UV:**Ultraviolet

**LOX:** Lipoxygenase

**GSH:** Glutathion réduit

**GSSG:** Glutathion oxydé

**BHA:** Buthyl hydroxyl anisole

**BHT:** Buthyl hydroxyl toluéne

**SOD:** Super oxidedismutase

**GR :**Glutathione reductase

**DPPH$^{\bullet}$:** 2,2diphenyl 1- picrylhydrazyl

**Mth :** Methanol

**Act:** Acetat d'ethyl

**Hex:** Hexane

**Eoil:** Essential oils

**Abs:** Absorbtion

**AA:** Antiaxident activity

**$IC_{50}$:** Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

**Vit.C:** vitamine C(Acide ascorbique)

**RT:** Retention time

# مقدمة

## مقدمة

تشتمل الجزائر على بيئات مختلفة و مناخات متباينة لمساحتها الشاسعة وتضاريسها المتنوعة ومما لاشك فيه أن لهذا التنوع المناخي الكبير الأثر البالغ على شدة التنوع النباتي و أيضا على تركيب النباتات و إعطائها مميزات خاصة، إذ تنمو على ربوعها و صحاريها و هضابها مختلف النباتات البرية ذات الفائدة الحيوية طبيا و الاقتصادية ماديا و الغالبية العظمى لهذه النباتات لم تمتد إليها يد الإنسان للتعرف عليها و التحقق من الاستفادة منها لما هو مفيد في الغذاء و صالح للدواء ، و نظرا للضرورة الملحة لاستعمال الثروات الطبيعية الخضراء في صحارينا وسهولنا الواسعة لا بد من المسح الكامل و التعرف الشامل على جميع النباتات ، لمعرفتها و تحديدها مورفولوجيا و تحليلها كيميائيا للوقوف على الفصائل النباتية و التعرف على مكوناتها ومنتجاتها الطبيعية (العابد أ.،2009).

ورغم التطور الكبير وازدهار العلوم في وقتنا الحالي في علم الأدوية وظهور أعداد هائلة من المستحضرات الدوائية خاصة خلال القرن الماضي،الا ان الحقبة الأخيرة شهدت عودة استخدام الأعشاب الطبية كوحدة من أهم فروع الطب البديل،وتتنوع طرق استعمال الأعشاب الطبية من إستخدام النبات كاملا او بإستخلاص المواد الفعالة منها وإستخدامها في صور تراكيب صيدلية مختلفة .

تعد العودة لاستخدام هذه النبتات الطبية في العلاج عودة للطبيعة حيث تجلت أهمية النباتات الطبية وتعددت استخداماتها فبدأت تدخل في بعض الصناعات الغذائية كمواد حافظة وفاتحة للشهية وغيرها من الاستخدامات ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة. (حلمي و آخرون.، 1997).

يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض (هيكل و عمر.، 1993)، وبالتالي امكانية استخدامها في علاج بعض الأمراض الناتجة عن الإصابات الميكروبية المختلفة، وكذلك القضاء على الجذور الحرة المختلفة الناتجة عن تفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تحدث داخل الجسم وهذا لاحتوائها على مضادات أكسدة طبيعية.

ان الزيوت الأساسية عبارة عن خلائط عطرية وطيارة ذات مصدر نباتي تنجم من عملية تحول الأيض الثانوي وتحتوي هذه الزيوت على المواد المضادة للأكسدة التي هي عبارة على مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من الجذور الحرة.

تم استعمال في هذه الدراسة نبات *Cleome arabica*، الذي ينتمي الى جنس *Cleome* و العائلة Capparidacees،و ينتشر هذا النوع في المناطق الصحراوية، والمناطق المجاورة(Ozenda p.,1977) كما أنه نوع شائع في جميع أنحاء الصحراء الشمالية ومصر وأفريقيا الاستوائية. يتم استخدامه في علاج حالات الانفلونزا والبرد على وجه الخصوص مشكلة الرشح وأيضا علاج آلام الروماتيزم، كما أنه نبات مسهل

ومطهر. وقد اشارت بعض الدراسات الكيميائية الى ان هذا النبات غني بالمركبات الفينولية خاصة الفلافونويدات (حليس ي.، 2005).

تهدف هذه الدراسة الى استخلاص الزيوت الأساسية و المواد الفعالة لنبات *Cleome arabica* نظرا لأهميتها الطبية فقد تعددت طرق استخلاصها و اختلفت حسب نوعية النبات، نوعية الجزء المستعمل منه وفي إطار عملنا تطرقنا لـ:

- ❖ معرفة المركبات الكيميائية الموجودة في الزيت الأساسي لنبات *Cleome arabica*
- ❖ تقدير المحتوى الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات للمستخلصات النباتية.
- ❖ دراسة النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار جذر $DPPH^{\bullet}$ للعينات النباتية المدروسة .
- ❖ دراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة للمستخلصات النباتية.

و على هذا الأساس تم تقسيم العمل الى جزئين:

- جزء نظري يتضمن فصلين:

**الفصل الأول:** يدرس الزيوت الأساسية وأهميتها بالنسبة للنبات والإنسان وأيضا تنوع طرق استخلاص الزيوت الأساسية وتحليلها واستغلالها في مجالات الصيدلة والتجميل وغيرها.

**الفصل الثاني:** يشمل مضادات الأكسدة وأنواعها وعلاقتها بالجذور الحرة والأضرار الناتجة عنها.

- جزء تطبيقي يتضمن فصلين:

**الفصل الأول:** النبات المدروس من حيث التصنيف، الخصائص، الانتشار وغيرها.

و فيما يخص الجزء العملي فقد تم استخلاص الزيت الأساسي من الجزء الهوائي لنبات النتينة *C .arabica* وإجراء تحليل كيميائي له لمعرفة التركيب الكيميائي كما تطرقنا الى التقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات بغية دراسة النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال الجذر $DPPH^{\bullet}$ للزيت الاساسي و المستخلصات النباتية بالإضافة الى الدراسة البيولوجية للعينات النباتية المدروسة.

**الفصل الثاني:** النتائج و المناقشة.

# الجزء النظري

# الفصل الاول

# الزيوت الأساسية

## I- الزيوت الأساسية:

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

- ✓ الزيوت العطرية (Aromaticoils) وهذا يعود لرائحتها العطرية.
- ✓ الزيوت الأثيرية (Etherealoils) نتيجة ذوبانها في الأثير.
- ✓ الزيوت الأساسية (Essential oils) الزيوت الطيارة نظرا لتبخرها أو تطايرها عند درجات الحرارة العادية دون أن تتحلل.

### I- 1 - تعريف الزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية عبارة عن خلائط من المركبات العطرية والطيارة ذات مصدر نباتي والتي تنجم عن عملية التحول الأيض الثانوي في النبات وهي المستخلص الحيوي المركز في النباتات العطرية ومعظمها عبارة عن مواد سائلة بعد تقطيرها واستخلاصها بطرق الفصل المختلفة ونادرا ما تكون في صورة صلبة (عبد الجليل م.، 2008).

كما أنها توجد في كثير من الأوراق وأزهار وثمار النباتات المميزة بروائح متطايرة عادة يتم بناء الزيوت الأساسية في خلايا إفرازية أو تكون بواسطة الخلايا الغدية في النبات (دحية م.، 2009).

تتميز الزيوت الأساسية بسيلانها في درجات الحرارة العادية، كثافتها التي تكون عموما أصغر من كثافة الماء ولها معامل إنكسار عالي، تذوب في المذيبات العضوية والدهون، ومنعدمة الذوبان تقريبا في الماء (Bruneton J.,1999).

و تختلف الزيوت الطيارة عن الزيوت الثابتة مثل زيت الزيتون مثلا، من خلال كونها طيارة في الهواء و أيضا خواصها الفيزيائية وتركيبها الكيميائي وارتباطها مع مواد أخرى مثل الأصماغ و الراتنجات (Bekhechi C., et Abdelouahid D.,2010).

تعد النباتات المصدر الأساسي للزيوت الطيارة فهي توجد في أكثر من 3000 نبات و في حوالي 60 عائلة نباتية أهمها:

العائلة الخيمية (Apiaceae)، العائلة الشفوية (Lamiaceae)، العائلة المركبة (Asteraceae)، العائلة القرفية (Lauraceae)، العائلة السذبية (Rutaceae)، العائلة الأسية (Myrtaceae)، العائلة الصنوبرية (Pinaceae). (من الجبر م.،2010)؛(Dubai A., et Kholaidi A.,2005).

## I- 2 - خواص الزيوت الأساسية:

- ✓ عديمة اللون و هي طازجة أي قبل تحللها أو تأكسدها، و لو أن بعضها ذات لون أصفر فاتح أو أحمر خفيف.
- ✓ سائلة عند درجة الحرارة العادية عدا زيت الورد و اليانسون فهما يتجمدان عند درجة حرارة أقل.
- ✓ لها رائحة عطرية مميزة و لكل زيت رائحة خاصة به.
- ✓ لا تذوب في الماء، و لكنها تذوب في المركبات العضوية كالإيثر و الكحول و الأسيتون و الكلوروفورم.
- ✓ لها معامل انكسار ضوئي عالي، و لها خاصية الدوران الضوئي و الذي يعد أهم اختبار لمعرفة نوعية الزيت و نقاوته.
- ✓ أخف من الماء عدا زيت القرفة و القرنفل.
- ✓ البعض منها يترسب بالتبريد تاركا جزءا منه سائلا مثل زيت الزعتر و النعناع.

(Dubai A.,2005)؛(من الجبر م.،2010).

## I- 3 - وظيفة الزيوت الأساسية:

تعتبر الزيوت الأساسية من مركبات الأيض الثانوي، لكن الدور الوظيفي الحقيقي لها يبقى في غالب الأحيان غامض (Bekhechi C., et Abdelouahid D.,2010);(Belaiche P.,1979) إلا أنه يحتمل أن يكون لها دور في مجال التفاعلات النباتية (كبح الإنتاش، مقاومة المواد السامة بيولوجيا لبعض المركبات الناتجة عن عملية الهدم الكيميائي داخل أنسجة النبات و تعتبر كمصدر للطاقة لبعض التفاعلات الكيميائية.....الخ)، أو التفاعلات النباتية الحيوانية (الحماية من بعض مسببات الأمراض مثل الحشرات و الفطريات، جذب حشرات مساعدة على التلقيح وغيرها) (Mohammedi Z., 2006 et Bruneton J., 1999)؛(بوخبتي ح.،2010).

## I- 4 - طرق استخلاص الزيوت الأساسية:

توجد عدة طرق لاستخلاص الزيوت الأساسية ولكن قبل معرفة هذه الطرق يجب معرفة الشروط التالية:

- ✓ استعمال المواد النباتية الطرية أو الجافة حيث يفضل استعمال الطرية بسبب التغير في الكمية.
- ✓ (الطيارة) و النوعية (تكوين الشوائب) خلال فترة التخزين.
- ✓ يجب امتلاك المعرفة و المعلومات عن مواضع تواجد الزيوت الطيارة في النبات أو الأعضاء النباتية حيث تساعد في اختيار أفضل الدرجات لحفظ الزيوت الطيارة، فقسم منها تتكون في الخلايا الغدية على سطح الزهرة أو الورقة أو في الغدد الراتنجية ...الخ.

- ✓ أهمية امتلاك المعلومات عن الصفات الفيزيائية و الكيميائية للزيوت و التصنيف الكيمياوي لها عند اختيار الطريقة الأكثر كفاءة في الاستخلاص فدرجة غليان التربينات الأحادية هي ($140C^0$- $180C^0$) وللسيسكوتربين أكثر من ($200C^0$).
- ✓ طريقة الاستخلاص يجب أن تحافظ على التراكيب المعقدة للمركبات التي تكون الزيوت (Browning B.,1967)؛( سلمان م.، بدون تاريخ).

### I -1-4- التقطير Distillation:

مبدأ عمل هذه الطريقة هو تطاير الزيوت الأساسية بفعل الحرارة ثم يتم جذبها بواسطة بخار الماء و أثناء مرورها بأنبوب يحتوي على مبرد تتكاثف جزيئات الزيت الأساسي و لأن كثافة الماء و الزيت الأساسي مختلفة يتم انفصالهما. تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت التي لا تتأثر مكوناتها بالحرارة المرتفعة و استخلاص المواد النباتية الورقية أو الزهرية الطازجة أو المجففة مثل: الريحان، النعناع...إلخ.

### I-4-2- التقطير المائي L'hydrodistillation :

توضع المادة النباتية مع الماء المقطر ثم يتم إخضاعهما الى درجة حرارة حتى الغليان، البخار المنطلق يتم تكثيفه بواسطة سطح بارد و ينفصل الزيت عن الماء بواسطة اختلاف الكثافة (Bruneton J.,1999).

### I-4-3- التقطير ببخار الماء Entrainement à la vapeur d' eau :

يتم في هذه الحالة وضع النبات فوق سياج أو صفيحة مثقوبة حيث يكون بعيد عن الماء المقطر بمسافة مناسبة أي لا يحدث تلامس بين المادة النباتية و الماء المقطر.

### I-4-4- الاستخلاص بالضغط البارد (العصر)Expression:

تعتمد هذه الطريقة على الوخز أو العصر لغلاف ثمار الليمون أو بعض الحمضيات و هي غضة، تستخدم هذه الطريقة للزيوت التي تتأثر بالحرارة و التي تحتوي على الزيت في غدد خاصة على الطبقة السطحية لغلاف الثمرة. تُبشر الطبقة السطحية لقشرة ثمار الحمضيات و تجمع في أكياس من القماش ثم تضغط داخل مكابس خاصة.

### I-4-5- الاستخلاص بالمذيبات العضوية الطيارة Solvants organiques volatils:

تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الأساسية الحساسة للحرارة أو إذا كانت تتواجد في أجزاء النبات بكميات قليلة جدا مثل زيت الياسمين، البنفسج، الزنبق والنرجس.

### I-4-6- الاستخلاص بالشحوم و الدهون Enfleurage:

تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الأساسية الثمينة و الحساسة للحرارة. يستخدم عدة أنواع من الشحوم النباتية و الحيوانية و يعمد المستخلص الى وضع طبقات متناوبة من المادة النباتية و المادة الشحمية ليتم جمع الزيت الأساسي في المادة الشحمية لأن المركبات العطرية لها القابلية لذوبان في الشحوم و

باستعمال الكحول يستخلص الزيت الطيار. تستخدم في حالة النباتات التي تتواجد زيوتها الطيارة في الأزهار.

### I-4-7- الاستخلاص بواسطة الأمواج Micro-ondes:

تعتبر من أحدث الطرق المبتكرة، يتم تسخين النبات الطري داخل هذا الجهاز بواسطة الأمواج micro-ondes مؤديا الى تسخين الماء الموجود داخل النبات و بالتالي يتحرر الزيت الطيار الموجود في الغدد أو الأوعية النباتية الذي يمتزج مع مذيب شفاف بارد و يذوب فيه ثم يصفى المستخلص (Laouer H.,2004);(من بوخبتي ح.،2010).

### I-4-8- الاستخلاص بالتحليل الأنزيمي:

كل الطرق السابقة تستعمل لاستخلاص الزيوت الحرة غير المرتبطة، فهناك زيوت توجد بصورة مرتبطة مع بعض الجليكوسيدات الغير عطرية ومباشرة بعدة تحللها مائيا (سكريات تذوب في الماء) و تتحرر وتفوح الزيوت الطيارة في الصورة الجليكوزية، وتتلخص هذه الطريقة في الآتي :

نقوم بعصر النسيج النباتي للتخلص أولا من الزيوت الثابتة ثم ينقع النبات المعصور في الماء في إناء محكم القفل لمدة 2 الى 3 أيام و ذاك لتحويل الجليسدات إلى مواد عضوية ثم يستخلص الزيت الطيار بأحد طرق التقطير.

### I-4-9- الاستخلاص بغاز $CO_2$ السائل:

من أحدث طرق الاستخلاص من النباتات الحساسة للحرارة، حيث يمر غاز $CO_2$ السائل تحت ضغط مرتفع فيستخلص الزيوت الطيارة و يمكن التخلص من $CO_2$ بخفض الضغط (بن عشورة ص.،2007)؛ (من زيدي م.،2012).

## I-5- مجالات استخدام الزيوت الأساسية:

### I-5-1- مجال الأغذية:

تدخل الزيوت الطيارة في مختلف الصناعات الغذائية كمعطرات، ملونات أو منكهات. فهي تضاف إلى أنواع الخبز و الحلويات و الحليب و المشروبات الكحولية و غير الكحولية.

(Bruneton J.,1999);(دحية م.،2009). بالإضافة إلى خاصية الحفظ التي تمتلكها الزيوت الأساسية فهي تضاف أيضا إلى الطعام بغرض الحفظ من الفساد الميكروبي و يعود هذا إلى احتوائها على المركبات التربينية المانعة لنمو البكتريا والفطر(أبو زيد أ.،1995)؛(من زيدي م.،2012).

### I-5-2- مجال العطور:

و هو المجال الأكثر استخداما للزيوت الأساسية و يعزى هذا إلى الرائحة الزكية المنبعثة من الزيوت الطيارة المختلفة وهي نوعين العطور الخالية من الكحول و العطور المحتوية على الكحول (أبو زيد أ.،2000)؛(الزيدي م.،2012).

### I-3-5- مجال الطب و الصيدلة:

للزيوت الطيارة خاصية سهولة امتصاصها من قبل الجهاز الهضمي و الرئتين و في الجلد، و لذلك يكثر استعمالها في هذا المجال(Bruneton J.,1999)؛(دحية م.،2009). و قد أصبح مألوف تعطير الأدوية خاصة المستعملة في العناية بالجلد(Ghestem A., et al.,2001)؛(دحية م.،2009).

### I-6- سمية الزيوت الأساسية:

ذكر (Bruneton J.,1999) أن للزيوت الأساسية سمية معينة إذا ما استعملت عن طريق الفم بين 2 و 5 غ/كغ للنباتات الكاليتوس ، القرنفل...، أو أكبر من 5 غ/كغ لنباتات البابونج، الخزامة، الليمون...، من 1 الى 2 غ/كغ بالنسبة لنباتات الريحان، الطرخون، الزوفاء، 1.5 مغ/كغ للزعتر و 1.7 غ/كغ للزعتر البري.

أشار (Rubin M.,2004) أن استعمال الزيوت الأساسية له ضوابط قد تسبب الخطر الكبير لأنها غنية بالمواد الفعالة و قد حددت الكمية بـ 0.3 إلى 0.80 غ في اليوم كحد أعلى للاستعمال الداخلي و 1 غ للاستعمال الخارجي مع مراعات عمر الشخص.

كما أثبت (Veronique L., 2001) أن المركبات التربينية المحتوية في الزيت الأساسي هي المسؤولة عن حدوث التسمم عند الحيوانات ومن هذه المركبات pulégon، thuyon، limonene ويظهر (Thulasiram V., et al., 2001) في دراسته أن مركب pulégon يعتبر ساماً للخلايا الكبدية والخلايا في الدماغ.

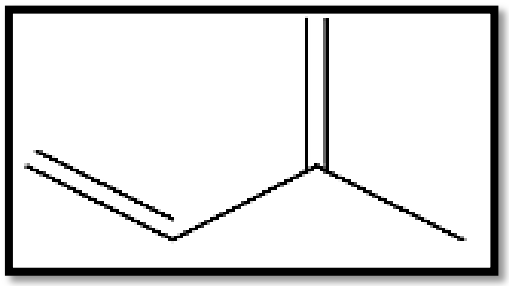
### I -7- التركيب الكيميائي الزيوت الأساسية :

إن الزيوت الأساسية عبارة عن خلائط معقدة حيث تنحصر في نوعين هما : المركبات التربينية من جهة والمركبات العطرية من جهة ثانية (زعتر ل.، 2010).

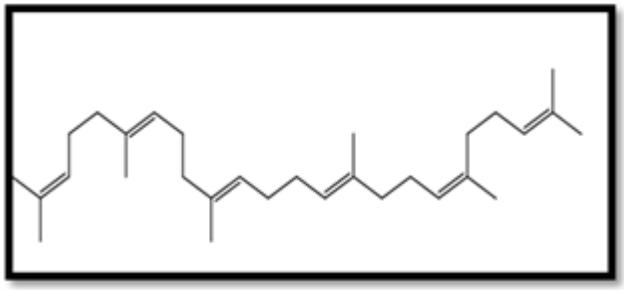
### I-7-1- المركبات التربينية:

وهي مركبات عديدة، توجد خاصة في النباتات، و لكن أيضا لدى الحيوان و البكتيريا، و تنتج عن بلمرة وحدات الإيزوبرين (أبسط تربين)، و قد تم التعرف على أكثر من 22000 مركبا تقسم حسب عدد هذه الوحدات (من دحية م.،2007) إلى تربينات أحادية (Monoterpénes) وعدد ذرات الكربون (10).

يجدر بالذكر، أن وجود التربينات ليست خاصة بالنبات فقط بل إن السكوالين (Squalène) الذي يبدو في الشكل (1) هو تربين يوجد بكثرة في سمك القرش(Raven M., et al.,2007). و أكبر تربين هو المطاط الذي تحتوي جزيئاته بين 400 و أكثر من 100.000 وحدة إزوبرين(من دحية م.،2009)؛(Raven M., et al.,2007).



الشكل 1 : بنية السكوالين

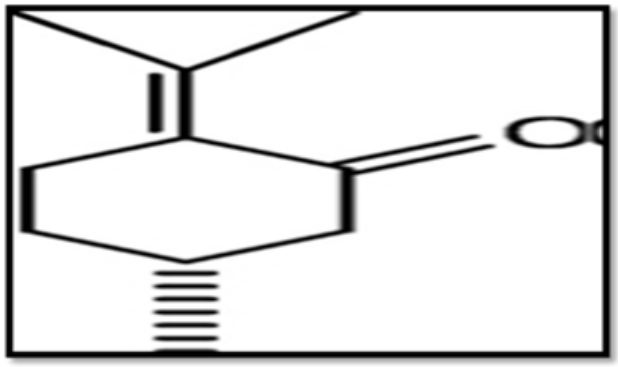


الشكل 2 : بنية وحدة إزوبرين

- **التربينات الأحادية ( Mono Terpènes):**

وصيغتها المجملة $C_{10}H_{16}$ ناتج من تزاوج وحدتين من الإيزوبرين، مسؤولة عن الرائحة الزكية للنباتات والأزهار(Raven M., et al.,2007)؛(من دحية م.،2007). و يمكن أن تكون غير حلقية (الميرسين Myrcene) أو وحيدة الحلقة (الليمونين Limonene)، أو ثنائية الحلقة (البينين Pinene) و (الكامفين Camphene)، أو ثلاثية الحلقة (تيريزانتالول Tresantalol) (Raven M.,et al.,2007).

أحيانا تدخل في تركيب الزيت الأساسي بنسبة 90%، تحمل وظائف أكسجينية ذات درجة أكسدة مختلفة كحول، ألدهيد، كيتون، إيثر...(Brunton J.,1999);(BelhattabR.,2005).

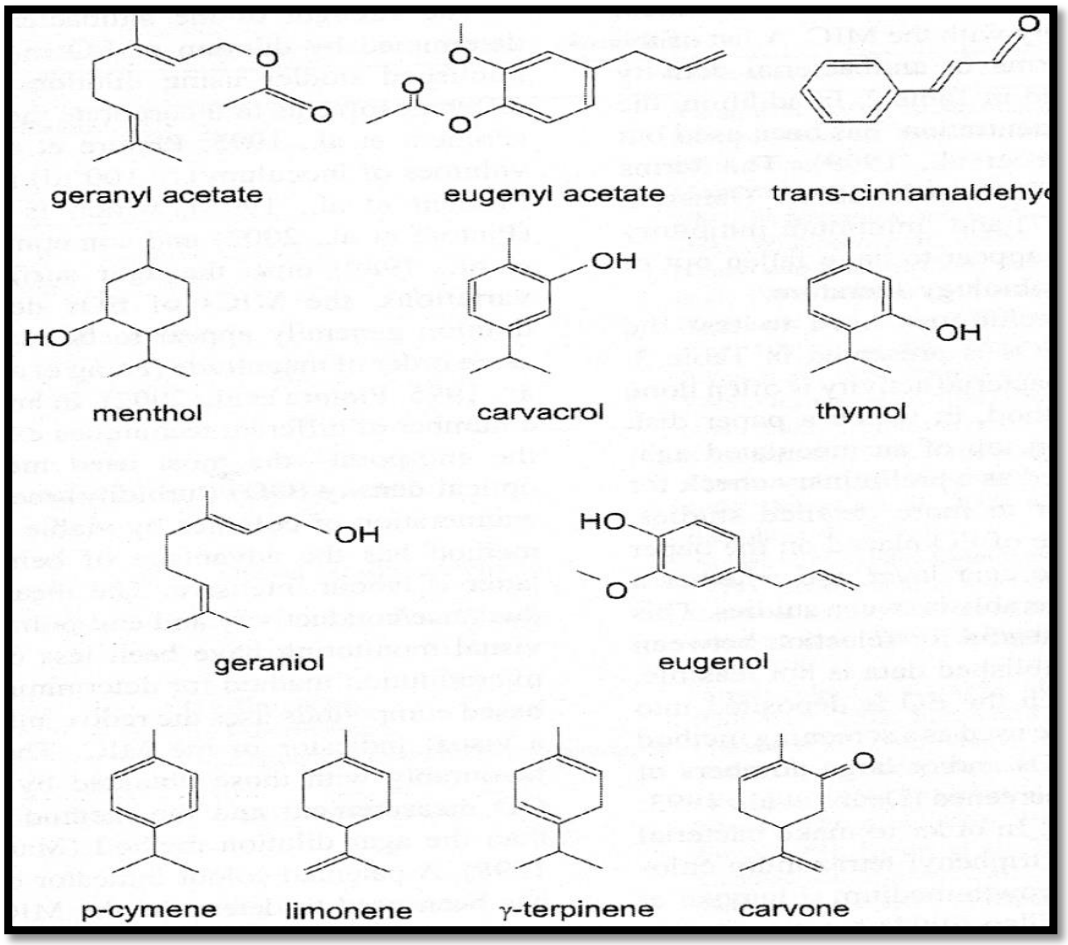


**الشكل 3 : بنية الجزيء R-(+)-Pulegone**

- ✓ **الكحول Alcool:** غير حلقية مثل géraniol، أحادية الحلقة مثل menthol، ثنائية الحلقة مثل dornéol،fenchol .
- ✓ **الكيتون cétone:** غير حلقية مثل tagétone، أحادية الحلقة مثل menthine، carvone، pulégone، pipertone و ثنائية الحلقة مثل (camphre، thuyones).
- ✓ **الفينول phénol:** مثل carvacrol و thymol.
- ✓ **البروكسيد peroxide:** مثل ascaridole.
- ✓ **الألديهيد aldéhydes:** مثل citral في ثمار الليمون و غالبا تكون غير حلقية (sitronellal، géranial،néral)

✓ **الأستير ester:** غير حلقية مثل : asétate ou propionate de linalyle , acétat de citronellyle أو أحادية الحلقة مثل (asétat de methyl)، أو ثنائية الحلقة مثل: asétat d' isobrnyle (هيكل م.،عمر س.،1993)؛(Bruneton J.,1999.)؛(بوخبتي ح.،2010).

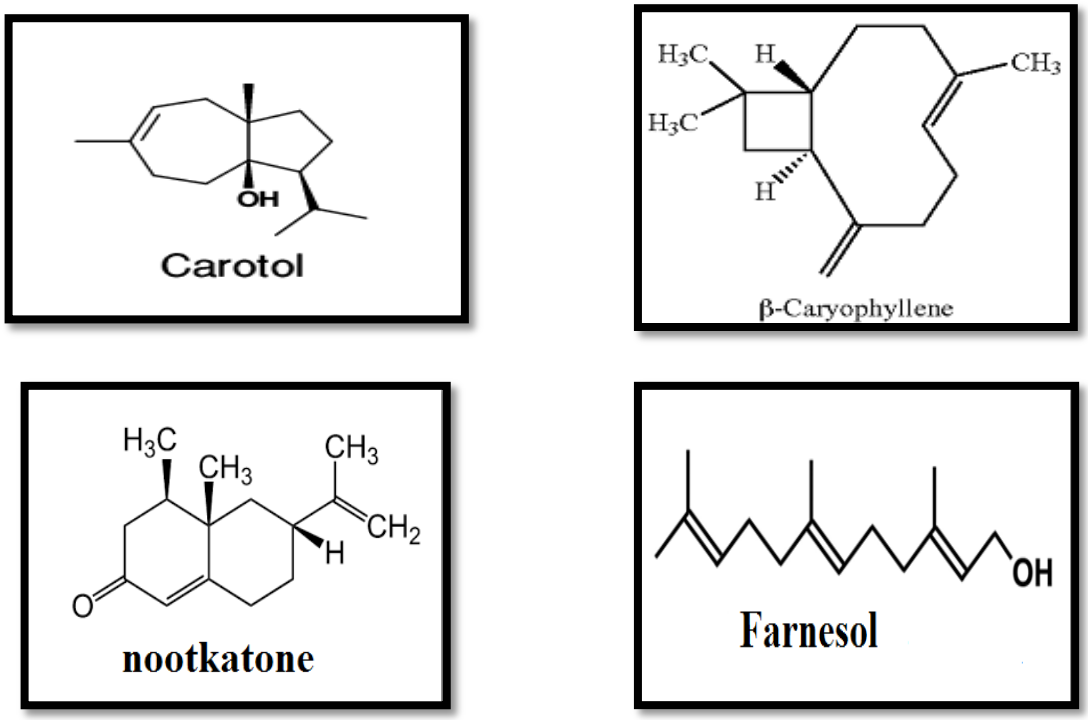
وحسب (Rubin M.,et al.,2004) فان الزيوت الأساسية يتم تصنيفها وفقا للوظيفة الأساسية التي تحملها وهذا يكون حسب نوع المركبات الأكسجينية و الرابطة التي تحملها : ألدهيد- كيتون- كحول.




**الشكل 4 : بعض مركبات التربينات الأحادية**

- **السيسكوتربينات Sesquiterpènes:**

صيغتها العامة ($C_{15}H_{24}$) و هي عبارة عن إتحاد ثلاث وحدات إزوبران، و هي مركبات قد تكون غير حلقية، أحادية أو ثنائية الحلقة (Belhattab R.,2005)،أو متعددة الحلقات مثل: longifoléne و β-bisaboléne و β- caryophyléne و قد تحتوي على المركبات الكحولية مثل (farnésol, carotol) أو كيتونية مثل (b- vétivone ,nootkatone) أو ألدهيد مثل (sinensals)، أو إستير مثل (acétate de cédryle) (Bruneton J.,1999).




**الشكل 5 : بعض الأمثلة عن المركبات السيسكوتربينية**

## I -2-7- المركبات العطرية Les composés aromatiques :

تتواجد هذه المركبات في الزيوت الطيارة بنسب أقل من التربينات و هي مشتقات الفينيل بروبان phénylpropane ($C_6C_3$). ومن أمثلة المركبات العطرية في الزيوت الطيارة، نذكر الأنيثول (anéthole) في نبات الباديان الياباني (Badiane) و الألدهيد الأنيزي (aldéhyde anisique) في نبات اليانسون (anis) و الأبيول (apiole) في نباتات الفصيلة الكرفسية و الأوجينول (eugénol) في نبات القرنفل Girofle و السافرول (safrol) في نبات الساسافراس الأمريكي Sassafras(زعتر ل.،2010)؛(دحية م.،2009).

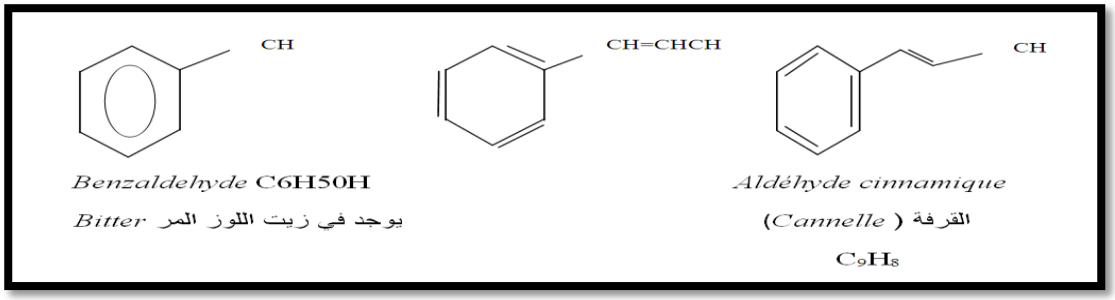
و تصنف حسب زعتر إلي ما يلي:

- **الكحولات العطرية الحلقية Alicyclic:**

وتتواجد هذه الكحولات عادة بشكل حر أو في صورة استرات Esters.

- ✓ المنثول Menthol، الموجودة في زيت النعناع الفلفلي ذو الحلقة الواحدة.
- ✓ البورونيول Boroneol ذو الحلقتين.

- **ألدهيدات Aldéhydes:**

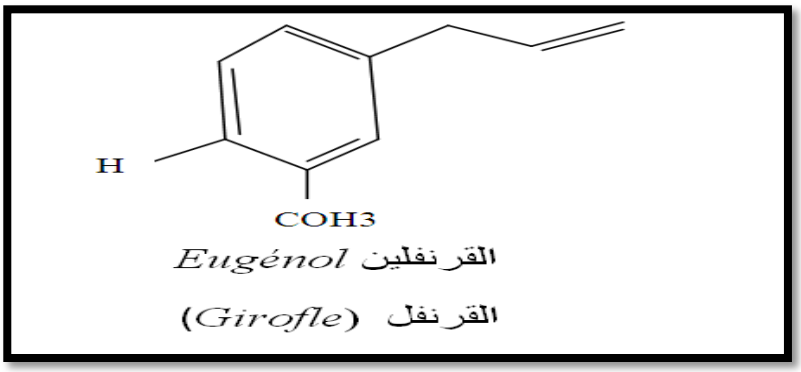



- **فينولات Phenols:**

هناك العديد من الفينولات التي تتواجد بالزيوت الأساسية مثل Tlymol، Carvacrol ومن أشهرها:

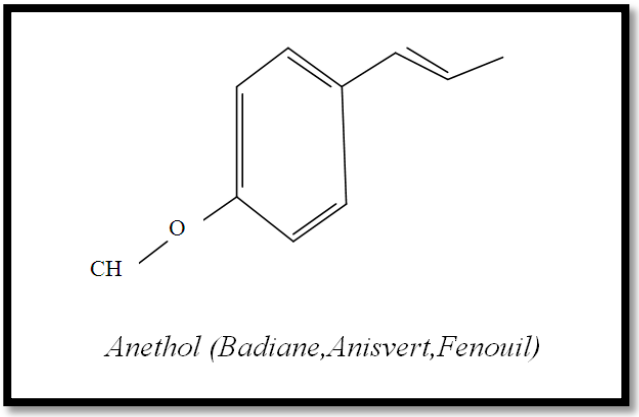
**القرنفلين:** هو سائل عطري لا لون له، يتميز برائحة التوابل يستخلص من زيت القرنفل يستعمل عادة في تحضير المنكهات والعطور والمواد الطبية.

يتواجد هذا المركب بصفة عالية في زيت القرنفل والقرفة وفي كثير من الزيوت الأخرى لكن بصفة ضئيلة، ويعد من المركبات ذات الحلقة الواحدة.




- **إيثرات- اكسيد Ethers-Oxydes:**

يتواجد هذا المركب مختلط ببعض التربينات في زيت اليانسون Aniseoil، وهو مركب ذو حلقة واحدة (كافور الينسون).



### I -7-3- مركبات أخرى:

و هي ناتجة عن تحول جزيئات غير طيارة، تتواجد في الزيوت الأساسية في أثناء حملها ببخار الماء و من أمثلتها، الأحماض العضوية ذات الألوان الجزيئية الضعيفة كحمض الخل و الكيتونات و الكومارينات. (دحية م.، 2009) .

### I -8- الخواص الفيزيائية للزيوت الأساسية:

تكون الزيوت الأساسية سائلة في درجة الحرارة الطبيعية المعتدلة و قد تكون صلبة مثل الكافور، وهي طيارة في درجة الحرارة العادية ، وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة، نادرا ما تكون ملونة، كثافتها عادة أقل من كثافة الماء ( باستثناء الزيوت الأساسية للنبات: ساسافراس Sassafra، القرنفل Girofle، او القرفة Cammelle، لها معامل انكسار عالي مرتفع). أغلبها في وجود الضوء تصبح مستقطبة، تذوب في الكحول والايثير والمذيبات العضوية المعروفة، كما انها قابلة للذوبان في الدسم (Bruneton J.,1999)؛ (حجاوي ح.،و آخرون.،2004).

### I -9- طرق تحليل الزيوت الأساسية:

هناك طرق عديدة لتحليل و كشف مكونات الزيوت الأساسية والتي منها:

### I -9-1- كروماتوغرافيا الغاز CPG:

وهي من الطرق المفضلة في تحليل الزيوت الأساسية، حيث يتميز هذا النمط من الكروماتوغرافيا بأن الطور المتحرك هو غاز قد يكون غاز الهليوم أو غاز الأزوت أو غاز الهيدروجين حيث يسمى بالغاز الناقل، مبدأ عمل الكروماتوغرافيا الغازية يعتمد على فصل مختلف المحاليل المذابة الغازية بواسطة الهجرة التفاضلية على طول الطور الثابت. يوجد نمطان من الكروماتوغرافيا الغازية: كروماتوغرافيا غاز- صلب وتدعى أيضا الكروماتوغرافيا الامتصاصية، الطور الثابت في هذه الحالة يكون صلب كالسيليس أو الألمنيوم، والنمط الثاني هو كروماتوغرافيا غاز-سائل تدعى الكروماتوغرافيا التوزيعية، الطور الثابت يكون سائل غير طيار(Bencheikh H.,2005).

### I -9-2- الدمج بين كروماتوغرافيا الغاز و المطيافية الكتلية Le CPG/ SM couplage:

مبدأ عمل هذه الطريقة هو نقل المكونات المفصولة باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية بواسطة الغاز الناقل جهاز المطيافية الكتلية، هناك يتم تجزئة وتفكيك مكونات العينة الى أيونات كتلية مختلفة، عملية الفصل تتم حسب الكتلة، التعرف على المكونات يتم بواسطة مقارنة الأطياف الكتلية المتحصل عليها بأخرى معروفة سابقا (بوخبتي ح.، 2010).

### I -9-3- كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC :

تطبق هذه التقنية على المواد الطبيعية الغير طيارة و التي تتأثر بالحرارة (Bencheikh H.,2005)، يكون الطور الثابت فيها مكون من جزيئات دقيقة جدا قد يصل قطر الواحدة منها 5 ميكرو متر، محشوة في عمود مغلف. نقوم بحقن كمية قليلة جدا من العينة المراد تحليلها في المحلول و تحت الضغط. بعد فصل المكونات يتم الكشف عنها في مخرج العمود بواسطة جهاز يقوم بمعالجة المعطيات (دحية م.، 2008).

### I-9-4- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Chromatographie sur couche mince( CCM):

تعد من أبسط أنواع الكروماتوغرافيا، تتكون من طورين الطور الثابت مكون من صفيحة زجاجية، بلاستيكية أو من الألمنيوم مغطاة بطبقة رقيقة من مادة ماصة قد تكون gel de cellulose أو gel de silice ، والطور المتحرك هو سائل مذيب للعينة المراد تحليل مكوناتها، يهاجر هذا السائل على طول الطور الثابت بحيث يجذب العينة معه. المواد المكونة للعينة تفصل وتنتشر بفضل صعود الطور المتحرك على طول الطور الثابت ونسبة ذوبان العينة في الطور المتحرك، يتم الكشف على الجزيئات المكونة للعينة إما تعريض الصفيحة للأشعة فوق البنفسجية أو برش مختلف الكواشف (Bencheikh H.,2005);(BelhattabR.,2005); (بوخبتي ح.،2010).

# الفصل الثاني

# الإجهاد التأكسدي

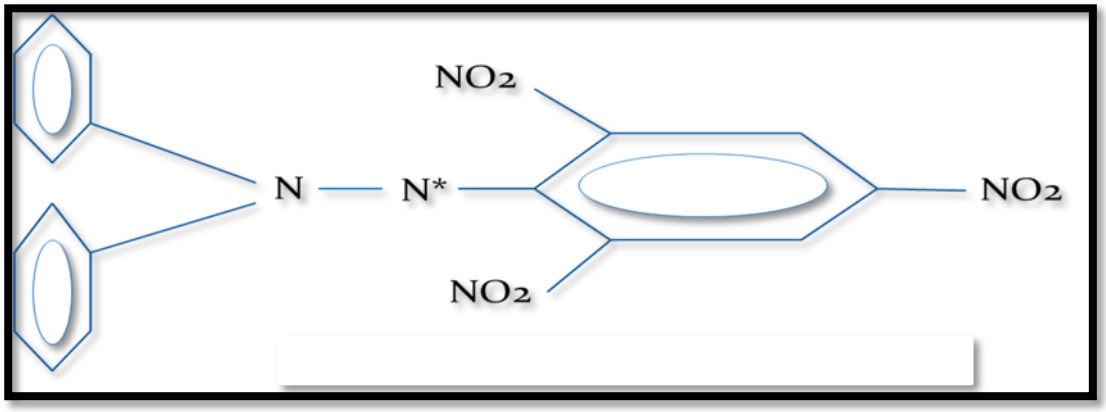
## I- الاجهاد التاكسدي (Oxidative stress ):

يعرف التوتر التأكسدي بإختلال التوازن ما بين الآليات التي تؤدي إلى إنتاج الجذور الحرة (مولدات الاكسدة prooxidant) والميكانيزمات التي تعمل على التخلص منها أو ما تسمى بمضادات الأكسدة (antioxidant). و قد يرجع ذلك الاختلال إما إلى تنشيط الآليات الأولى أو إلى تثبيط الميكانيزمات الثانية أو الاثنين معا. وتؤدي كل تلك الحالات إلى تراكم الجذور الحرة و التي تتميز بقدرة عالية على إتلاف الأنسجة (Halliwel B,.1997).

### I-1- تعريف الجذور الحرة (Free radicals):

الجذر الحر هو عبارة عن أنواع كيميائية جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي، وقد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر. تبقى الإلكترونات في الأحوال العادية في الجزيئات مزدوجة، وحين يفقد الجزيء أحدها فإنه يصبح غير مستقر ومؤذ للجزيئات الأخرى المجاورة، إذ أن بقاء الإلكترون وحيداً في مداره الخارجي يجعله في حالة بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون زوجاً من الإلكترونات المستقرة وهذا ما يجعله ينتزع إلكتروناً من الجزيئات المجاورة مما يسبب تلفا لجزيئات الخلية الطبيعية في الجسم (Delattre J.,et al.,2003) .

وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذرا حرا واحداً قد ينشر حالة من الفوضى أو عدم التوازن وبالتالي نشوء الأمراض (Bonnefont Rousselot D et al.,2003) .




**الشكل 6 : بنية الجذر الحرة جزيئة الـ ($DPPH^{\bullet}$)**

## I-2- أنواع الجذور الحرة :

### I-2-1- التقسيم على أساس الاستقرار:

#### I-2-1-1- الجذور النشطة ( غير المستقرة ) :

وهي جذور مدة عيشها قصيرة في الظروف الطبيعية، كما انها تمتلك اوزان جزيئية صغيرة (العابد أ.، 2009). يحتوي هذا النوع من الجذور الحرة على كل من ذرات العناصر F•، N•، Cl•، H• .

#### I-2-1-2- الجذور المستقرة (الصامدة ):

والتي تكون مدة عيشها معتبرة تقدر بالثواني او الدقائق او الساعات أو حتى الأيام (الصديق ق و آخرون.،2011) مثل : جذور ثلاثي فينيل ميثيل($TP_3$,M) وجذور DPPH• وجذور ثنائي فينيل وأكسيد النيتريك $PH_2NO$ و مشتقاته (العابد أ.، 2009).

### I-2-2- التقسيم على أساس النوع :

#### I-2-2-1- الجذور الحرة الأ وكسجينية :

أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية عمرها قصير. ويمكن تلخيص اهم الجذور الاكسجنية الحرة في الجدول التالي :

**جدول 1 : أهم الجذور الاكسجنية الحرة**

| الاسم | رمزه الكيميائي | |
|---|---|---|
| **جذر فوق الاكسيد** | $O_2^{\bullet -}$ | هو بداية العملية التأكسدية في الخلية وينتج عن الارجاع الاحادي لجزيئة الاكسجين عند استقبالها لإلكترون. |
| **فوق اكسيد الهيدروجين** | $H_2O_2$ | يسمى ايضا الماء الاكسيجيني و ينتج من عملية دسمتة لأيون $O_2^{\bullet -}$ بواسطة انزيم super oxidedismutase. |
| **جذر الهيدروكسيل** | $OH^{\bullet}$ | جزيئي نشط جدا و ينتج من الماء الاكسجيني في تفاعل غير انزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديد يسمى بتفاعل fenton. |

**I-2-2-2- الجذور الحرة النيتروجينية :**

تشتمل على أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النتروجين و بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني و بيروكسيد النتريك و هو الأكثر خطورة(ريدة أ.،1999).

**I-2-2-3- الجذور الحرة الدهنية :**

تتميز الدهون بكونها أعلي درجة اختزال من عناصر الجسم، و بالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأوكسجين و النتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا لذا تعتبر خطيرة (حوة أ.،2013).

**I-2-2-4- جذور السموم الحرة :**

وهي معظم المواد السامة، المطفرات و المسرطنات الكيميائية .

## I-3- مصادر الجذور الحرة :

تتواجد الجذور الحرة إما مرتبطة أو مستقلة وهذه الأخيرة تكون غير مستقرة لشراهتها للارتباط و للجذور الحرة مصدران: مصدر داخلي و مصدر خارجي(بولوطة ح.،2009)؛(بن سلامة ر.،2012).

## I-3-1- مصادر داخلية :

تنتج الأنواع الأكسجينية النشطة داخل العضوية كآلية للحماية ضد الجزيئات الغريبة أو كجزء من نواتج العملية الأيضية عبر العديد من الآليات الموجودة داخل الجسم (Valko M et al., 2007) .

❖ **الأغشية الميتكوندرية :**

تمثل الميتكوندريا المصدر الرئيسي للأنواع الأكسيجينية النشطة في الفيزيولوجيا، إذ تنتج حوالي90% من ROS عبر الميتابوليزم الخلوي و السلسلة التنفسية (Balaban R et al., 2005). يعتبر كل من المركبين NADH -ubiquinone oxidoreductase و ubiquinone-cyt c reductase من إنزيمات المتيكوندري التي تنتج $O_2^{\bullet-}$ و$H_2O_2$ (Gutierrez J et al., 2006).

يتحول حوالي 4% من الأكسجين الموجود داخل الميتوكوندري إلى $O_2^{\bullet-}$ ، و تعتبر الأكسدة الذاتية لمادة ubisemiquinone أهم مصدر لـ $O_2^{\bullet-}$ في سلسلة نقل الالكترونات في المتيكوندري وذلك عن طريق إرجاع ubiquinone حسب التفاعل التالي (Dranka B et al., 2010) :

$$\text{Ubiquinone} + e^- \longrightarrow \text{Ubisemiquinone} + O_2 \longrightarrow \text{Ubiquinone} + O_2^{\bullet-}$$

❖ **إنزيم NADPH oxidase :**

يتواجد إنزيم NADPH oxidase في العديد من الخلايا على مستوى الغشاء البلازمي، حيث يلعب دورا أساسيا في الاستجابة المناعية ضد العضيات الدقيقة و ذلك بإنتاج كميات عالية من جذر $O_2^{\bullet-}$ وفق التفاعل التالي: (جرموني م.،2009).

$$NADPH + O_2 \xrightarrow[Oxidase]{NADPH} NADP^+ + O_2^{\bullet-} + H^+$$

❖ **إنزيم NOS :**

ينتج عن هذا الإنزيم جذر $NO^{\bullet-}$ في العديد من الخلايا حيث يتشكل هذا الجذر بكميات قليلة من طرف إنزيم E-NOS ، أما في حالة حدوث استجابة مناعية ينشط إنزيم I-NOS التحريضي الذي يحفز إنتاج كميات عالية من $NO^{\bullet-}$ (جرموني م.،2009).

## I-3-2- المصادر الخارجية:

بالإضافة إلى المصادر الداخلية التي تنتجها العضوية توجد مصادر أخرى خارجية تتسبب في إنتاج ROS أهمها:

- ✓ الأشعة الفوق البنفسجية UV و الأشعة المؤينة.
- ✓ الكحولات و الأدوية.
- ✓ المعادن السامة مثل الكروم (Cr) والنحاس (Cu) vanadium (V) (بو لوطة ح.، 2009؛ جرموني.، 2009).
- ✓ السموم المنتشرة في الغذاء والمحيط مثل: التبغ، المبيدات، الإضافات الغذائية (Abdollahi M et al.,2004).

## I-4- الأضرار الناتجة عن الإجهاد التأكسدي:

إن الإنتاج المفرط للأنواع الأكسجينية و الجزيئات المؤكسدة يلحق أضرار بالجزيئات البيولوجية خاصة اللبيدات، بما في ذلك الكولسترول الغشائي و الأحماض الدهنية الحرة و الغشائية والبروتينات و DNA (Sachdev S et al., 2008); (Mohammedi Z., 2013).

## I-4-1- فوق أكسدة اللبيدات:

تحتوي الأغشية الخلوية على كميات كبيرة من البروتينات الدهنية و فوسفولبيدات الغنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة، و التي تكون عرضة للجذور الحرة مؤدية إلى حدوث فوق أكسدة اللبيدات (Pratt D et al.,2011).

### I-4-2- أكسدة البروتينات:

تعتبر البروتينات أيضا أكثر حساسية لفعل الجذور الحرة الأكسجينية، مما يفقدها خصائصها البيولوجية مثل الأنزيمات أو المستقبلات. إن البروتينات المؤكسدة تصبح لها خاصية جد ذوابة في الدهون و ذلك من خلال نزع مجاميع الأمين المتأينة أو من خلال إظهار أو إخراج تلك المناطق المركزية الكارهة للماء، فتؤدي إلى تكوين أكداس(تراكمات ليبيدية بروتينية على الأغشية) غير طبيعية أو حول الخلايا (قندولي ش.، 2009).

### I-4-3- أكسدة DNA:

تؤدي أكسدة المكونات المختلفة للـ DNA إلى تشكل أربعة أنواع من الأضرار وهي كالتالي:

(بولوطة ح.،2009) :

- ✓ تغيرات على مستوى القواعد النووية .
- ✓ تغيرات على مستوى المواقع غير القاعدية .
- ✓ تشكيل جسور بين الـ DNA و البروتين .
- ✓ كسر على مستوى السلاسل (الأحادية و المزدوجة).

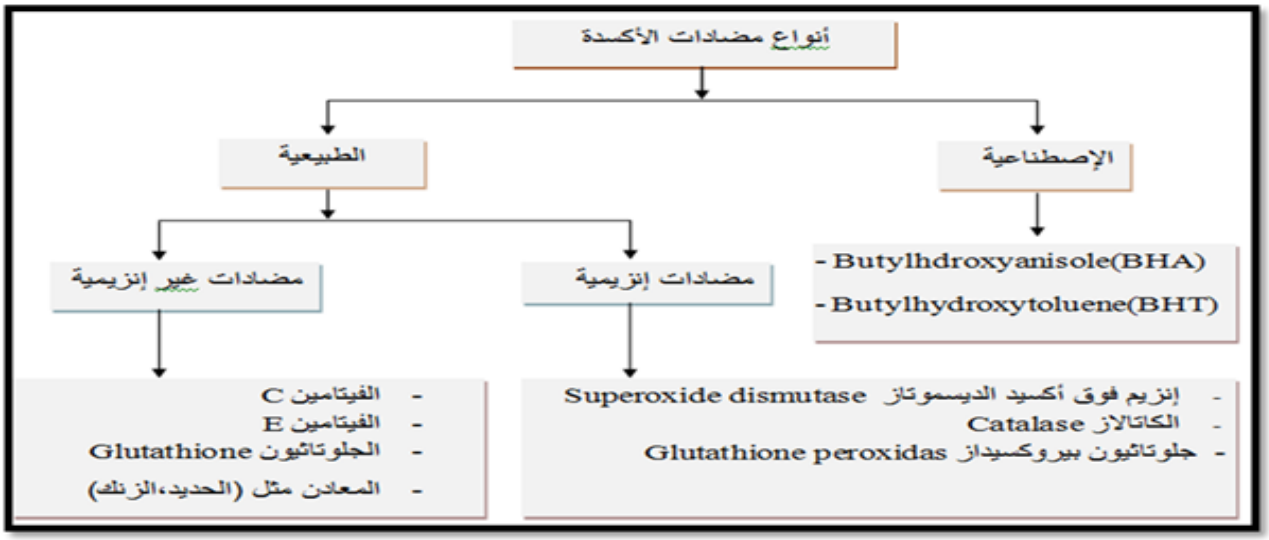
### I-5- الإجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض:

إن التأثيرات التي تحدثها الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يمكن أن تؤدي إلى، تغيرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية (Cakir B et al.,2010). حيث أظهرت كثير من الدراسات أن الإجهاد التأكسدي مرتبط بظهور العديد من الأمراض كعوامل محفزة لها أو بالمضاعفات المطورة لها .و من الأمراض التي يعتبر الإجهاد التأكسدي محفزا رئيسيا لها هي: السرطان، أمراض القلب و الأوعية، الالتهابات، التهاب المفاصل، السكري، الزهايمر.(Cheng F et al., 2002).

**II- مضادات الاكسدة :**

### II-1- تعريف مضادات الأكسدة:

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مركب أو عنصر له القدرة على منع او ابطاء الاضرار الناتجة عن ROS (Miquel J.,2002). حيث تعمل على الوقاية من فعل الجذور الحرة فهي إما أن ترتبط بها فتعمل على تعديلها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم أو أن تمنع تكوينها أو تصلح الضرر الناتج عنها. و تنقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.




**شكل 7 : أنواع مضادات الاكسدة** (Miquel J ., 2002).

## II-2- مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxidants:

تلعب هذه الأنظمة دورا هاما في الخلية وهي حمايتها من الاجهاد التأكسدي وتنقسم هذه المجموعة الى عدة أنواع من أهمها : (Miquel J ., 2002)

### II-2-1- فوق أكسيد الديسميوتاز (SOD Superoxide dismutase ):

يعتبر هذا الإنزيم أحد أهم الإنزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة. فهو يقوم بإزالة جذور فوق الأكسجين وذلك بتسريع معدل إزالته بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل: السيلينيوم والنحاس والزنك. كما يوضحه التفاعل التالي :

كما أن إنزيم SOD يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر. وهو يوجد في كل الأنسجة الهوائية كالميتوكوندري والسيتوسول (Yoshino M.,Murakami K ., 1998).

### II-2-2- الكاتالاز Catalase:

ويوجد في الأجسام البيروكسية Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلى والكبد. كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الاكسيداز Oxidase . فبينما يعمل الاكسيداز على تكوين $H_2O_2$ يقوم الكاتالاز بتكسيره وتحويله إلى ماء وأكسجين حسب التفاعل التالي :

حيث أن الماء والأكسجين الناتج ثابت ومستقر ولا ضرر منه. تحمي إنزيمات Hydroperoxidases الموجودة أيضاً في الأجسام البيروكسيلية الجسم ضد الأكاسيد الضارة، لأن تراكم هذه الاخيرة يؤدي إلى تكون جذور حرة تؤثر على الأغشية الخلوية وتسبب السرطان وأمراض الشرايين. يوجد البيروكسيداز في الحليب وخلايا الدم البيضاء (Jeyapaul J., Jaiswal A ., 2000).

## II-2-3- جلوتاثيون بيروكسيداز Peroxidase :

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى ويقوم بتحفيز تكسير $H_2O_2$ و Hydroperoxides اللبيدات بواسطة الجلوتاثيون المختزل (GSH) ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد 2GS و والماء الاكسجيني $H_2O_2$ كما هو موضح في المعادلة التالية :

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow[GP_X]{} GS\text{-}SG + 2H_2O$$

يقوم الجلوتاثيون بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية والهيموجلوبين ضد الأكسدة بواسطة Peroxides التي يمكن أن يستخدمها كركائز أخرى (Jaeschke H.,1990 ).

## II-3- مضادات الأكسدة الغير الإنزيمية Non-enzymatic antioxidant :

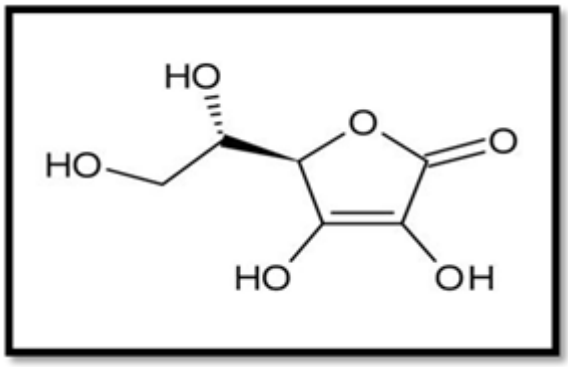
وهي جزيئات تمتلك خصائص مضادات الاكسدة، خارجية المنشأ غالبا ما تكون ذات مصدر غذائي حيث تتفاعل بربط او تبادل الالكترونات الحرة من اجل تثبيط ROS عن طريق عمليات الاكسدة و الارجاع و تنقسم إلى :

### II-1-3- مضادات الأكسدة الطبيعية:

والتي نقصد بها مضادات الاكسدة المنتجة من المادة الحية داخل الجسم وهي حوالي 600 مركب منها:

❖ **فيتامين Vitamin-C:**

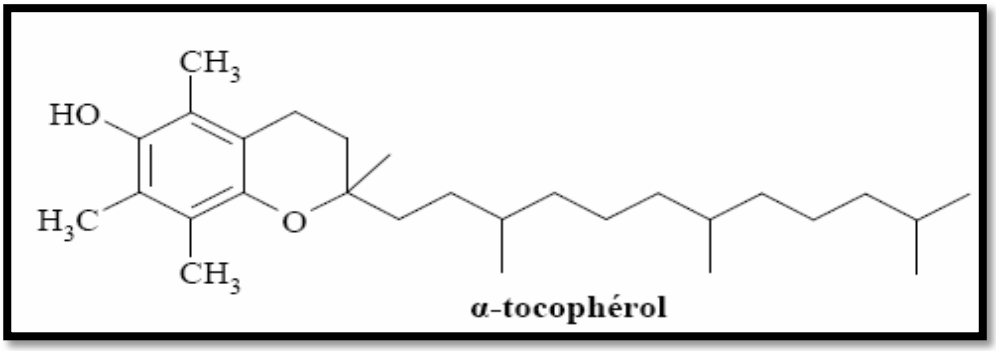
يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك Ascorbic acid وهو مضاد أكسدة يذوب في الماء ويعمل داخل الخلايا ويستطيع إختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها، كما يعمل على مساندة النظام الدفاعي للجسم ويستخدم أيضاً ضمن آليات الجسم لازالة سمية بعض المواد الكيميائية وله دور هام في عملية الأكسدة والاختزال في الجسم. كما أن لهذا الفيتامين دورا مضاداً للموت الخلوي، وبصفة عامة يلعب فيتامينC دورا هاماً في الحفاظ على الصحة العامة ومقاومة الأمراض وتقوية الأغشية الخلوية وإبطال فعل السموم والجذور الحرة. ولأن جسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين يجب تناول الأطعمة التي تحتوي عليه كالحمضيات وخاصة من قبل الأشخاص المدخنين(Cheng H et al., 2003).




**شكل 8 : الصيغة الكيميائية لفيتامين C** (Gardése M et al., 2003) .

❖ **فيتامينVitamin-E :**

يعتبر فيتامين E من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون وتعرف مركباته بالتوكوفيرولات Tocophérols و التوكوترينولات Tocotrénols من أهمها مركب ألفاتوكوفيرول α-Tocopherols الذي يلعب دورا حيوياً في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي وبالتالي منع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين حيث أن هذا الفيتامين يقوم باقتناص الجذور البيروكسيلية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه تعبير " كاسح الجذور ". وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض ومنع أكسدة بعض العناصر الغذائية و كذلك إعاقة سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت.



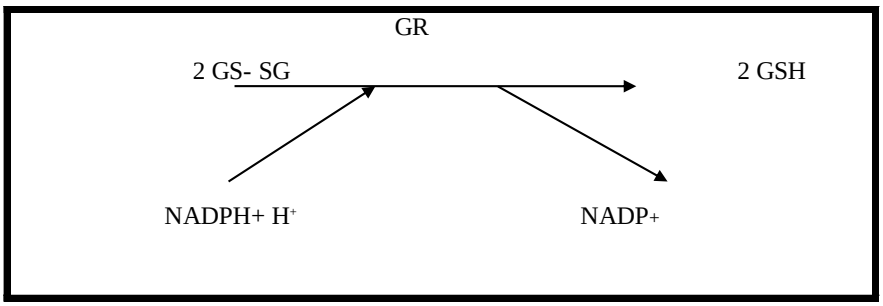

**شكل 9 : البنية الكيميائية لفيتامين E** (Hennebelle T., 2006).

وقد اكتسب فيتامين E أهمية بالغة بعد أن عرف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين، كما أن لهذا الفيتامين دور في وقاية الجينات من حدوث الطفرات. ومن المصادر الغنية بهذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفول السوداني.

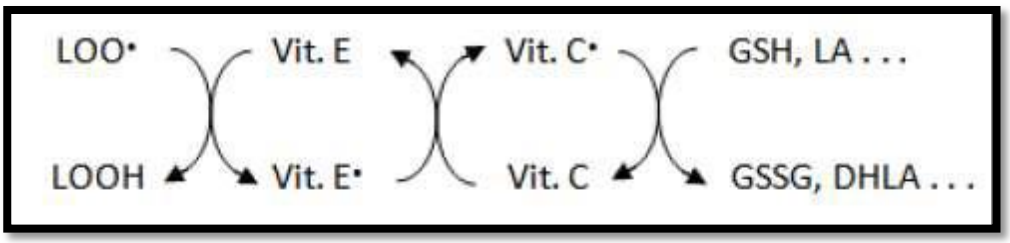
❖ **الجلوتاثيون Glutathione :**

هو ببتيده قصيرة مكونة من ثلاثة أحماض أمينية هي : الجلوتاميك Glutamic والسيستين Cystine والجلايسين Glycine يوجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دورا مهماً كمضاد للأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية، كما يحفز اختزال البيروكسيداز

Peroxidase. يعاد تكوين الجلوتاثيون المختزل (GSH) من الجلوتاثيون المؤكسد (2GS) بتحفيز إنزيم Glutathione reductase الذي يعتمد على تواجد NADPH كما في المعادلة التالية :




يوجد الكثير من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات التي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى. إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنها سترتبط مع (RNA) أو(DNA) أو بروتينات الخلية ، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير ولهذا فإن لـ GSH دورا مهماً كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة (Jaeschke H.,1990 ).




**شكل 10 : آليات التخلص من الجذور الليبيدية بواسطة Glutathione Vitamin-C Vitamin-E**

(Ryan J et al., 2010).

❖ **البيتاكاروتين β-Carotine :**

هي واحدة من حوالي 400 من الكاروتينات وهي عبارة عن صبغة صفراء أو حمراء طبيعية توجد في بعض الأطعمة النباتية وتتحول داخل جسم الإنسان إلى فيتامين( بشرى ب.، 2003) ويعتمد الامتصاص على كمية الفيتامين التي يحتاجها الجسم والباقي يخزن بصورة بيتاكاروتين β-Carotine في الكبد وأنسجة الجسم الدهنية المختلفة وهو من المواد المانعة للأكسدة وتستخدم للتخلص من الزيادة التي قد تسبب ضرر من الجذور الحرة في الجسم. من أهم مصادره النباتية الجزر، البطاطا الحلوة ،الخضروات الداكنة ، الفواكه الصفراء والبرتقالية مثل المشمش (Boumaza A., 2009 );(Beaudeux J et al., 2005).

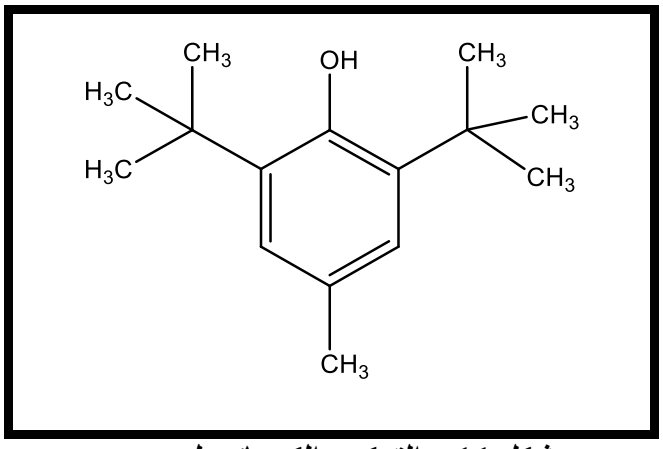
- هناك العديد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الأخرى مثل الفلافونويدات Flavonoids ، الاحماض الفينولية وهي مضادات أكسدة فعالة خصوصاً في عمليات الأكسدة الخاصة ببعض المعادن. توجد هذه المواد في العديد من الأطعمة كالفواكه والخضروات(Edeas M,. 2006). وقد تم التعرف على أكثر من 4000 نوع من الفلافونويدات الطبيعية التي من أهمها الكاتشنات Catechines (Belkhiri F., 2009).

## II-3-2- مضادات الأكسدة الاصطناعية:

مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعياً داخل الخلايا تعد غير كافية مما أدى إلى تصنيع مجموعة مضادات الأكسدة المصنعة والتي تحضر و تستعمل تجاريا في حفظ المنتجات الطبيعية ومن امثلة هذه المركبات : (وائل غ.، 2008)؛(حوة أ.، 2013).

❖ **Butylated hydroxy toluene (BHT) :**

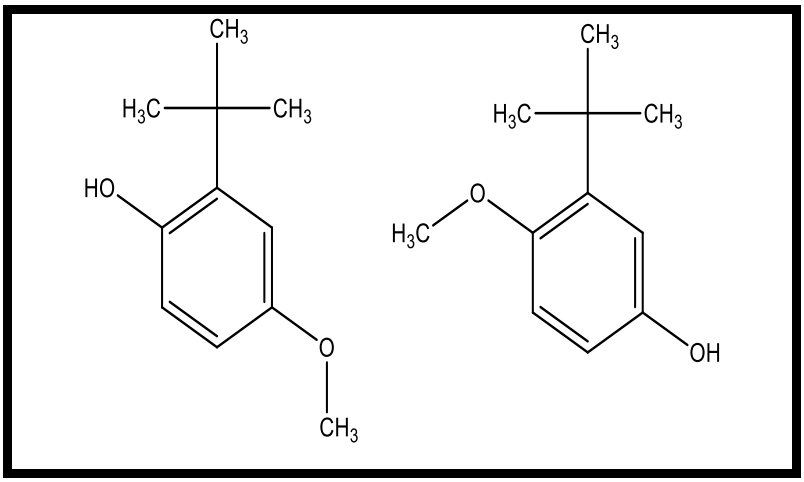
من مضادات الاكسدة الفينولية المصنعة وهو مركب ذو لون ابيض متبلور عديم الرائحة لا يذوب في الماء الا انه قابل للذوبان في المذيبات العضوية و الدهون ، استعمل بداية في المنتجات البترولية والمطاط، بعد ذلك استخدم في منتجات الاغذية كمادة مضافة للغذاء لإبقائه صالحا للاستخدام لفترات اطول حيث له دور وقائي من التسرطن الكيميائي بفضل خواصه المضادة للأكسدة التي لها نشاط كاسح للجذور الحرة (Hallinvell B et al., 1995).




**شكل 11 : التركيب الكيميائي لـ BHT**

❖ **Butylated hydroxy anisole (BHA):**

يعتبر مركب BHA من مضادات الاكسدة التي تصنع تجاريا بطريقة butylation للمركب parmethoxyphenol . ولـ BHA صيغتين لكل منهما رائحة الفينول وذوبانية جيدة في الدهون ومن أهم خواص هذين المركبين هو قدرتهما على المحافظة على قابليتهما كمواد مضادة للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين كالقلي مثلا (فرحات س.،2013).




**شكل 12 : التركيب الكيميائي لـ BHA**

* يسمح باستعمال هذه المواد المصنعة في الاغذية بشرط ان تكون :
  - ✓ ذات درجة سمية ضعيفة
  - ✓ فعالة بتراكيز منخفضة و في انواع عديدة من الدهون
  - ✓ لاتضيف نكهة او رائحة او لونا غير مرغوب فيه للمنتوج (Boumaza A., 2009).

## II-4- أهمية مضادات الأكسدة :

تتعرض خلايا الجسم للعديد من الهجمات التي تسببها الجذور الحرة حوالي 100000هجمة في اليوم الواحد، حيث تلحق هذه الجذور الحرة أضرار متعددة بالجسم فهي تستهدف المادة الوراثية في أغلب الأحيان مسببة عدة طفرات في الجسم، وتؤدي كثرة هذه الطفرات إلى خطر حدوث السرطان. ينتج جسم الإنسان خلال 70 سنة حوالي 17 طن ( 17000 Kg) من الجذور الحرة وأمام هذا الكم الهائل من الجذور الحرة تنقص فاعلية مضادات الأكسدة داخلية المنشأ كالإنزيمات التي تفرزها الخلايا وهنا تكمن أهمية مضادات الأكسدة خارجية المنشأ، حيث تعتبر الأغذية الطبيعية المصدر الأساسي لها كالفيتامينات ( C،E،A) المتواجدة في الكبد، البيض، الفواكه الحمضية، المكسرات، الذرة واللحوم. والكاروتينات المتواجدة في الجزر، القرع، السبانخ، الطماطم والسيلينيوم. وإنزيم $Q_{10}$ المتواجد في الخضر والفواكه وبعض الأعشاب الطبيعية (Abdelhamid I,.Bekhechi C.,2014)؛( بنت هزاع القحطاني.، 2004).

# الجزء التطبيقي

# الفصل الأول

# الطرق والوسائل

## I- النبات المدروس :

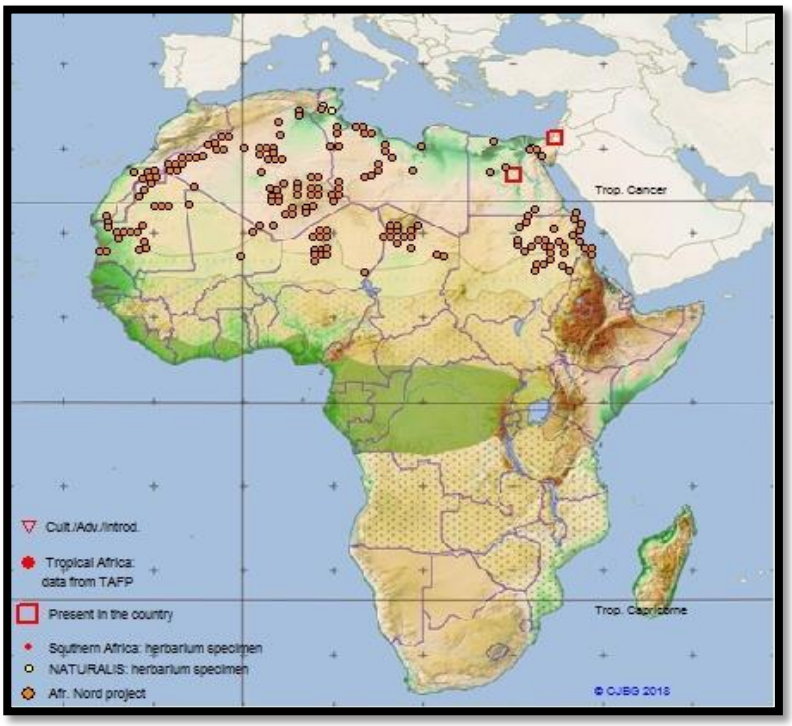
### I-1- نبات *Cleome arabica*:

الاسم *Cleome* يأتي من اللغة اليونانية "Kleio" وتعني المحيط أو الإحاطة، وبالفرنسية *Cleome arabica*.هذا الجنس يحتوي على 250 نوع من بينها 7 أنواع وهي : *capparis, cadabaforsk gyndaudropsisds, cleome, maeruaforsk, boscialam, crataeua* ( OzendaP., 1991).

تستعمل في الطب التقليدي و الاسم العلمي للنبات هو *Cleome arabica*.

### I-1-1- مكان تواجده:

يتواجد هذا النوع في المغرب العربي وتحديدا في المناطق الصحراوية الحضنة (المسيلة)، والمناطق المجاورة (Ozenda P.,1991). يسمى محليا النتينة (Baba A.,2000). ويسمى في مصر تحديدا في سيناء بأم جنينة، زيتية، أمجنينة. *C .arabica* نبات شائع ينمو في معظم الأماكن سواء في مناطق العرق أو الصحن وما إلى ذلك (حليس ي.،2007). كما أنها نوع شائع في جميع أنحاء الصحراء الشمالية، مصر وأفريقيا الاستوائية (Lebrun Jet al.,1991).



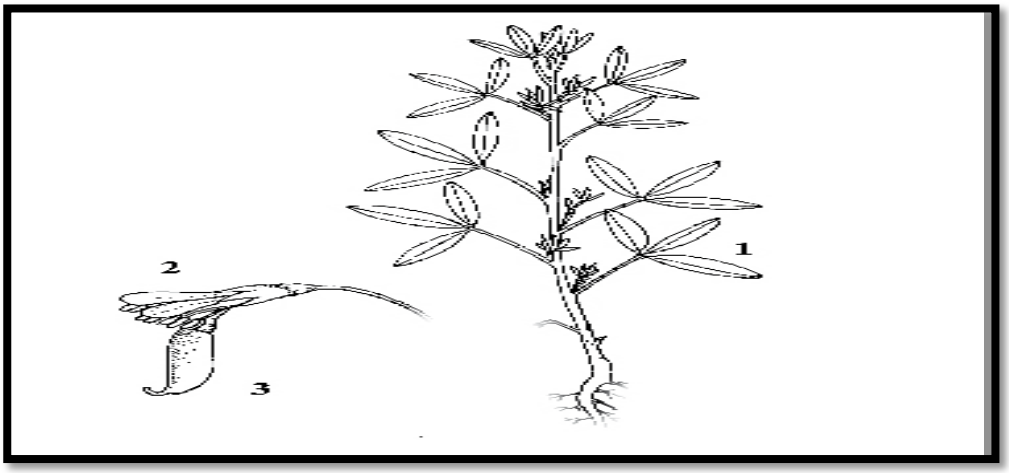

**شكل 13 : الانتشار الجغرافي لـ *C .arabica* على مستوى قارة افريقيا** ( Lebrun J et al.,1991).

### I-1-2- الوصف النباتي :

*C. arabica* هي نبتة عشبية، سنوية، غدية، غروية، كريهة الرائحة. و المظهر العام أخضر رمادي. أوراقها مكونة من ثلاث وريقات بيضوية ومتناوبة، تحمل في إبطها أزهار صفراء ذات حواف سمراء أرجوانية. الزهرة تحتوي على أربعة بتلات، أربعة سبلات خضراء و ستة مآبر. و تحتوي كذلك على ثمار

بشكل كبسولات متطاولة حوالي 1 الى 2 سم طولا. تظهر قبل إزهار البتلات تشبه حبة الفاصوليا، تحمل حبوب عارية قصيرة جدا (Baba A.,2000).

**شكل 14 : صورة توضح نبات النتينة *C. arabica***




**شكل 15 : رسم توضيحي لنبات النتينة *C. arabica*** (حليس ي .،2007).

**1.** الأوراق الساقية تتكون من3 وريقات بيضاوية، الأوراق الزهرية (القنابات) تتكون من وريقة واحدة.

**2.** تتكون الزهرة من 4 سبلات ذات حواف أرجوانية، 4 بتلات بيضاء بقمة أرجوانية و4 أسدية ذات متوك أرجوانية اللون.

**3.** الثمرة قرنية خضراء تحتوي على بذور سوداء تحمل شعيرات كثيفة.

### I-1-3- التصنيف النباتي لنبات النتينة *C. arabica*

**جدول 2: التصنيف النباتي لنبات النتينة *C. arabica*** (Guy D.,1979).

| Règne | Plantes | المملكة |
|---|---|---|
| Sous règne | Plantes vasculaires | تحت المملكة |
| Embranchement | Spermaphytes | الشعبة |
| Sous embranchement | Angiospermes | تحت الشعبة |
| Classe | Dicotylédones | القسم |
| Ordre | Pariétales | الرتبة |
| Famille | Capparidacées | العائلة |
| Genre | *Cleome* | الجنس |
| Espèce | *Cleome arabica* | النوع |

### I-1-4- النمو والإزهار:

عندما تعتدل الظروف الجوية في الأيام الأخيرة من الشتاء تبدأ بذور النتينة في الإنبات والنمو، موعد الإزهار(الربيع) يعتمد على الظروف المحيطة بها حيث تزهر باكرا في ظروف الجفاف ويتأخر إزهارها عندما تكون الظروف مناسبة للنمو(حليس ي .،2007).

### I-1-5- استعمالات نبات النتينة *C. arabica* في الطب التقليدي :

تستعمل نبتة *C. arabica* في الطب التقليدي من طرف السكان المحليين و البدو الرحل في الصحراء لعلاج آلام البطن و الروماتيزم (Sharaf M et al.,1992). كما تستخدم في علاج :

- الانفلونزا والبرد علي وجه الخصوص مشكلة الرشح .
- أعراض ضربة الشمس من دوران، غثيان، صداع، والوقاية منها، ومزال كبار السن يضعون ساقا غضا منه في آذانهم أثناء الحصاد في الصيف لتجنب ضربات الشمس.
- لدغات الحشرات بفرك الأوراق الغضة ووضعها ككمادة فوق مكان الإصابة (Burkill H.,1985).

### I-1-6- الدراسات السابقة للنوع النباتي :

وفي ما يلي أهم الدراسات المتعلقة بهذا النبات حيث :

قامت كل من ( تيقرين ش؛ تونسي ح.،2015) بدراسة تمحورت حول تقدير النشاط المضاد للأكسدة لعدد من المستخلصات المحضرة انطلاقا من نبتة *C. arabica* وذلك باستعمال عدة طرق لتقدير هذا النشاط طريقة تثبيط الجذر الحر، طريقة القدرة المرجعة FRAP و طريقة β-Carotène/ حمض اللينولييك. بالإضافة إلى التقدير الكمي الكلي للبوليفينولات و الفلافونويدات.

ومن خلال هذه الدراسة تم إثبات أن مختلف المستخلصات لنبتة النتينة تمتلك نشاطا مضادا للأكسدة جد فعال. حيث تأكد ذلك بتثبيطها للجذر الحر DPPH• وامتلاكها قدرة إرجاعيه كبيرة للحديد كما أعطت نتيجة ايجابية مع طريقة β-Carotène.

ترجع كل هذه التأثيرات لاحتواء هذه المستخلصات كميات متفاوتة من متعددات الفينول خاصة الفلافونويدات. ومن خلال ما سبق تبين أن لهذه النبتة أهمية عالية في العلاج لاحتوائها على كميات معتبرة من المركبات الفعالة (تيقرين ش؛ تونسي ح.،2015).

قام (Chouikh A.,2015) بدراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي عن طريق النقع و المستخلص الميثانولي عن طريق الموجات الفوق صوتية للأجزاء الهوائية من نبات النتينة ، حيث توصل أن للمستخلصين لهما قدرة معتبرة على كبح هذا الجذر بنسبة تثبيط قدرت بـــ 41% للمستخلص الميثانولي عن طريق النقع، و60.67% مع المستخلص الميثانولي عن طريق الموجات الفوق صوتية.

كما تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين مع سلالتين بكتيريتين *S. aureus* *Escherichia coli* حيث بينت النتائج التي توصل إليها في هذه الدراسة أن:

- السلالتين أبدتا حساسية ضعيفة مع مختلف تراكيز المستخلصين
- المستخلص بطريقة النقع لديه فعالية أكبر لدى السلالات البكتيرية المختبرة مقارنة بمستخلص الأمواج الفوق صوتية (Chouikh A.,2015) .

## I -2- الأنواع البكتيرية المستعملة أثناء الدراسة :

### I-2-1- *Salmonella enterica*:

تنتمي إلى العائلة *Enterobacreriaceae* و هي بكتيريا عصوية صغيرة، سالبة الغرام، لا هوائية، تنمو في الأوساط العادية. عموما تسبب هذه البكتيريا التهابات وفي بعض الأحيان مسؤولة على أمراض خطيرة مثل حمى التيفويد، كما تسبب أيضا أمراض للجهاز الهضمي (Fedreghi M.,2005).

### I-2-2- *Bacillus anthracis*:

وهي بكتيريا موجبة الغرام ذات حجم كبير يتراوح طولها من (5-3µm) وقطرها (2-1µm) حركية هوائية أو لاهوائية، تنمو في الأوساط المالحة التي يتراوح فيها تركيز NaCl 0.5 %، درجة الحرارة للنمو ( 42-50C° ) و(PH=4.5-8)، تصيب كل من الإنسان و الحيوان مسببة في ذلك أعراض أهمها الإسهال والغثيان(Fedreghi M.,2005).

### I-2-3- *Escherichia coli*:

تنتمي الى العائلة *Enterobacreriaceae* وهي بكتيريا عصوية، سالبة الغرام، ذات الأبعاد (1-3µm)

معظمها ليست ممرضة تتواجد عادة في أمعاء الثديات بما في ذلك الإنسان. يمكن ان تتسبب في عدة أمراض منها : التهابات معوية، التهابات الأعضاء التناسلية وأيضا تسبب التهاب السحايا لدى الأطفال حديثي الولادة (Silivia M.,2003 ); (Singlenton P.,2004).

### I-2-4- *Enterococcus faecalis*:

تنتمي إلى العائلة *Enterobacreriaceae* وهي بكتيريا عصوية الشكل، سالبة الغرام، لاهوائية، حركية أو لاحركية، تنمو في الأوساط القاعدية، تتواجد في التربة والماء على شكل طفيليات وفي بعض الأحيان تكون ممرضة أو متعايشة لدى الإنسان والحيوان(Fedreghi M.,2005).وهي السبب الرئيسي للعدوى في المستشفيات التي تحدث بعد العمليات الجراحية، حيث تمتلك مقاومة عالية للمضادات الحيوية (Hidron A et al.,2008).

### I-2-5- *Pseudomonas aerogenos*:

تنتمي إلى العائلة *Enterobacreriaceae* وهي بكتيريا سالبة الغرام، تملك سوط أو عدة اسواط للحركة عادة ما تكون قطبية، هوائية، تتواجد في التربة والماء وهي عامل ممرض لكل من الإنسان، الحيوان والنبات(Singlenton P.,2004). يسبب هذا النوع التهابات في المجاري البولية وأيضا على مستوى الجهاز الهضمي(Hidron A et al.,2008) .

### I-2-6- *Klebsiella pneumonia*:

هي بكتيريا عصوية سالبة الغرام غير متحركة، منتجة للكبسولة، لا تكون جراثيم داخلية وتفرز البكتيريا مادة لزجة ذائبة رخوة، تعطي مظهرا مخاطيا، مستعمراتها كبيرة الحجم و لزجة ومخاطية وهوائية وقد تكون لاهوائية اختيارية، تتواجد بصورة طبيعية في الفم، الأمعاء وعلى الجلد. تسبب التهاب شديد في الرئة، المثانة، الكلية، الأذن، الأنف والجيوب الأنفية. تظهر مقاومة للمضادات الحيوية (Hidron A et al., 2008).

## II - المواد والطرق :

### II -1- المواد الكيميائية و الأجهزة :

❖ المواد، الأدوات و الأجهزة المستعملة عند استخلاص الزيت الأساسي لنبات *C. arabica*

عند عملية استخلاص الزيت الأساسي قمنا باستعمال المواد، الأدوات والأجهزة الموضحة في الجدول التالي:

**جدول 3 : المواد والأدوات والأجهزة المستعملة أثناء عملية الاستخلاص .**

| المواد | الأدوات | الأجهزة |
|---|---|---|
| - ماء مقطر<br>- المادة النباتية | - مقص<br>- قارورات زجاجية خاصة بحفظ الزيت<br>- دورق 500ml | - Clevenger<br>- ميزان |

❖ **الأدوات المستعملة للحصول على المستخلصات النباتية:**

عند عملية الاستخلاص قمنا باستعمال الأدوات والمحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول :

**جدول 4: الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة أثناء عملية الاستخلاص .**

| الأدوات | المحاليل | الأجهزة |
|---|---|---|
| - المادة النباتية<br>- قمع زجاجي<br>- Ballon | - Methanol<br>- Hexane<br>- Acetat d'ethyl<br>- ماء مقطر | - جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur<br>- ميزان<br>- جهاز Soxhlet |

❖ **المحاليل الكيميائية،الأدوات و الأجهزة المستعملة في التقدير الكمي للمركبات الفينولية :**

خلال عملية التقدير الكمي لكل من الفلافونويدات و عديدات الفينول قمنا باستخدام المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة التالية :

**جدول 5: الأدوات المستعملة عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية**

| | المحاليل | الأدوات | الأجهزة |
|---|---|---|---|
| **التقدير الكمي لعديد الفينول** | - ماء مقطر<br>- حمض الغاليك<br>- كربونات الصوديوم<br>% 7-2($Na_2CO_3$)<br>- Methanol<br>- كاشف foline Ciocalteau | - أنابيب اختبار<br>- حامل أنابيب إختبار<br>- بيشر<br>- Micropipette<br>- Spatule<br>- Les cuves<br>- المستخلصات النباتية | - ميزان حساس.<br>- جهاز المطيافية الضوئية Spéctrophotométre |
| **التقدير الكمي للفلافونويدات** | - Methanol<br>- كريسين<br>- ألمنيوم نترات 10% ($Al(NO_3)_3, 9H_2O$)<br>- أستات البوتاسيوم ($CH_3COOK$)<br>- ماء مقطر | | |

❖ **الأدوات المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :**

بالنسبة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة استعملنا المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المدرجة التالية :

**جدول 6: المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي و المستخلصات النباتية.**

| | المحاليل والمواد | الأدوات | الأجهزة |
|---|---|---|---|
| **اختبار كبح الجذر الحر $DPPH^•$** | - Méthanol<br>- حمض الأسكوربيك<br>- $DPPH^•$<br>- المستخلصات النباتية<br>- الزيت الأساسي | - أنابيب اختبار<br>- بيشر<br>- حامل أنابيب اختبار<br>- Micropipette<br>- Spatule<br>- Les cuves | - ميزان حساس.<br>- جهاز المطيافية الضوئية Spéctrophotométre |

❖ **الأدوات المستعملة عند النشاطية البيولوجية المضادة للبكتيريا:**

خلال اختبار النشاطية البيولوجية للمستخلصات النباتية على الأنواع البكتيرية المختبرة استعملنا المحاليل والأدوات والأجهزة التالية :

**جدول 7: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا**

| المواد | الأدوات | الأجهزة |
|---|---|---|
| - المستخلصات النباتية<br>- وسط الزرع MullerHinton<br>- ماء فيزيولوجي معقم<br>- Gentamicin HLG | - أطباق بيتري<br>- ماسح قطني<br>- مسطرة مدرجة<br>- Micropipette<br>- Pipette Pasteur | - ميزان حساس<br>- موقد بنزن<br>- حاضنة<br>- Autoclave |

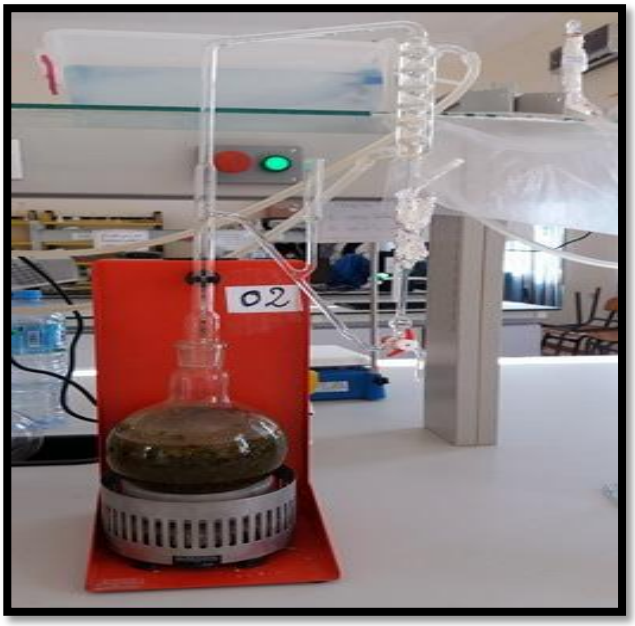
## II -2 - طرق العمل :

### II -2-1- المادة النباتية المدروسة :

تم جمع نبات النتينة *C. arabica* في المرحلة الزهرية يوم 11/04/ 2017 ببلدية الدبيلة ولاية الوادي والتي تبعد عن مقر الولاية حوالي 20 كلم، وذلك من مناطق زراعية مختلفة (أهواد ومزارع)، حيث قمنا بوضع العينات النباتية داخل علب ورقية، مع الأخذ بعين الاعتبار عدم تعرض النبات لبعض العوامل التي تؤدي إلى فقدان المادة الفعالة مثل التعرض للشمس والرطوبة، مع التقليب يوميا. بعد عملية التجفيف نقوم بتفتيت المادة النباتية الجافة إلى قطع صغيرة وحفظها في علب ورقية.

### II -2-2- طريقة استخلاص الزيت الأساسي:

أجريت عملية استخلاص الزيت الأساسي من المادة الجافة للجزء الهوائي (الأوراق+الأزهار) لنبات النتينة *C. arabica* وفق طريقة التقطير المائي باستعمال جهاز Clvenger، حيث وُزن مقدار 600g، في كل مرة توضع 50g من العينة في الدورق الخاص بالجهاز ويضاف لها 750mL من الماء المقطر، وجرت عملية التقطير بتسخين الدورق بشكل مستمر لمدة أربع ساعات كما هو موضح في الشكل ﴿16﴾.




**شكل 16: صورة توضح جهاز Clevenger.**

كررت هذه العملية 12 مرة و ذلك لتجميع مقدار كافي من الزيت، حيث تكونت طبقتان المائية والزيتية، وفصلت هاتان الطبقتان من خلال حمام الفصل في أنبوبة جمع الزيت، فالماء يكون في الأسفل والزيت في الأعلى لأنه أخف من الماء، وبعد فصل الطبقة الزيتية وضعت عينة الزيت في قنينة معتمة محكمة الغلق وحفظت في الثلاجة لحين استخدامها.

* وبعد عملية الاستخلاص يجب حساب المردودية R الزيت المستخلص حسب الطريقة التالية:

$$R = ( Pb/Pa )\times 100$$

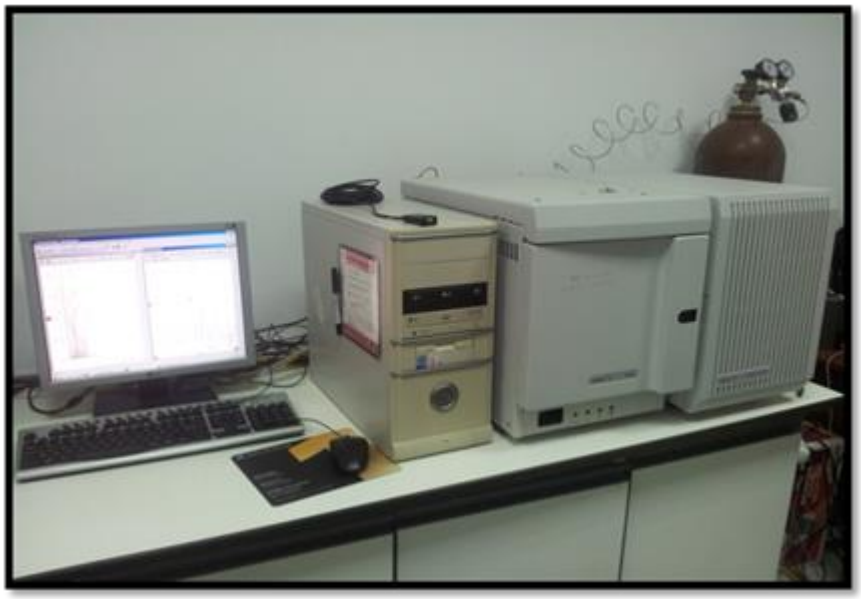
R: مردود الزيت الأساسي (%)

Pb: وزن الزيت المستخلص (g)

Pa: وزن المادة النباتية المعالجة (g)

## II -3-2- التحليل الكيميائي للزيت الأساسي :

تم تحليل الزيت الأساسي لنبتة النتينة *C. arabica* بواسطة كروماتوغرافيا الغاز المدمجة مع القياس الطيفي للكتلة ﴿GC/MS﴾ من نوع ﴿saturn2100﴾ على عمود﴿DB1﴾ الشكل(17). حيث كان طول العمود ﴿DB-1﴿30mx0.25 mm و السمك الداخلي للغشاء﴿0.25 µm﴾. و الطور الثابت في هذه الحالة عبارة عن السليكا ترتبط بجدران العمود الشعيرية الداخلية، أما الغاز الناقل فهو الهليوم ومعدل تدفقه كان بمقدار﴿1.4 ml/min﴾، و قد تم ضبط درجة الحرارة من $60C^0$ إلى $240C^0$ بسرعة تسخين قدرها﴿$4C^0$/min﴾ لمدة 10 دقائق. أما درجة حرارة الحاقن و الناقل هي $250C^0$ و $180C^0$ على التوالي. و كانت درجة حرارة أيون الاحتباس $200\ C^0$ و حجم الحقن 0.2µl، نسبة الفصل 01:30، طاقة التأين 70ev و زمن المسح 0.5s.



**شكل 17: صورة توضح جهازGC/MS.**

يسمح جهاز GC/MS بالتعرف على بنية المركبات الكيميائية الموجودة في العينة النباتية حيث يتمثل مبدؤه على تحويل المركبات التي تم فصلها بواسطة الكروماتوغرافيا، وبواسطة الغاز الناقل تهاجر إلى جهاز القياس الطيفي للكتلة حيث تُجزأ إلى أيونات مختلفة الكتل، ويتم فصلها بحسب كتلها .

يتم التعرف على المكونات تبعا لمقارنة أطيافها مع أطياف أخرى موجودة في بنوك معطيات أعدت لهذا الغرض(Desjobert J et al.,1997).

## II -4-2- الاستخلاص بجهاز سوكسلي Soxhlet :

هو عبارة عن جهاز من أجهزة الفصل حيث يوضع المذيب السهل التطاير في دورق و يتصل هذا الأخير بأنبوبة الاستخلاص، توضع المادة النباتية المحتوية على المركب المراد استخلاصه داخل أنبوب أو خرطوشة مصنوعة من السيليلوز أو من ورق ترشيح سميك ، يوضع بها g15 من المادة النباتية المراد تقدير نسبة المستخلص الخام بها، و 280 ml من المذيب(Hexane،Acetat d'ethyl،Methanol).

ثم توضع الخرطوشة في الغرفة الرئيسية لجهاز السوكسلي مع تركيب المكثفة، عندما يسخن المذيب يصعد بخار هذا الأخير في ذراع التقطير، ثم يفيض إلى الغرفة المحتوية على المادة النباتية، حيث تضمن المكثفة تبريد البخار للمذيب الذي يقطر على الغرفة المحتوية على المادة النباتية. تمتلئ الغرفة ببطيء بالمذيب الدافئ مما يجعل المستخلص الخام يذوب في المذيب، عندما تكاد أن تمتلئ غرفة التقطير فإنها تفرغ تلقائيا بواسطة الذراع الجانبية الملتوية و يرجع المذيب مرة اخرى لدورق التقطير، بعد ذلك نترك الدورة تتكرر عدة مرات ولمدة أربع ساعات. في الأخير يتركز المذيب في الدورق ، بعد ذلك ينزع المذيب و يبخر باستعمال جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur حيث يعطي المستخلص النباتي(سمية ف.، حوة ح.،2015).

تكرر العملية 3 مرات مع استبدال المذيب في كل مرة و الحفاظ على نفس المادة النباتية .

**شكل 18: صورة توضح جهاز سوكسلي Soxhle**

**شكل 19: صورة توضح جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur**

ويتم حساب مردود المستخلصات المتحصل عليها لكل مذيب حسب القانون التالي:

$$R = \frac{Mf}{Mi} \times 100$$

Mf : الكتلة النهائية للمستخلص الخام

Mi : الكتلة الابتدائية للمادة النباتية الجافة

## II -2-5-التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

### II-2-5-1- التقدير الكمي لعديد الفينول :

تم تقدير تركيز عديدات الفينول حسب(Singleton V et al.,1999). باعتماد الطريقة التي تستعمل كاشف Folin- Ciocalteu وتتلخص الطريقة فيما يلي:

في أنبوب اختبار نضع 125µl من المستخلص النباتي (Methanol،Acetat d'ethyl، Hexane)، 500µlماء مقطر، 125µl من Folin-ciocalteur يرج الخليط جيدا وبعد 3 دقائق يتم إضافة 1250µl من كربونات الصوديوم ويرج ثانية. يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 2 ساعة وتقرا الامتصاصية على طول الموجة 760 nm في جهاز التحليل الطيفي (Slinkard K et al.,1977).

نقوم بتحضير عدة تراكيز متزايدة من حمض الغاليك Acid Gallique، وذلك بإذابة 2 mg من حمض الغاليك مع 2 ml من الميثانول للحصول على التراكيز التالية (300µg/ml, 400µg/ml, 500µg/ml, 200µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml,25µg/ml).لأجل التقدير الكمي لعديدات الفينول عند المستخلص الميثانولي.

نستعمل حمض الغاليك Acid Gallique لتحديد معادلة المنحنى الخطي، ويتم التعبير عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل ملغ من وزن المستخلص النباتي.

### II-2-5-2- التقدير الكمي للفلافونويدات :

قدرت الفلافونويدات الكلية للمستخلصات النباتية بطريقة $AlCl_3$، في أنبوب اختبار نضع 250µl من المستخلص النباتي (Hexane ,Acetat d'ethy, Methanol)، 2250µl من Méthanol، 100µl منAluminium nitrate يترك الخليط في الظلام وفي درجة حرارة المخبر لمدة 40 دقيقة وتقرا الامتصاصية على طول الموجة 415nm في جهاز التحليل الطيفي(Türkoğlu A et al,. 2007).

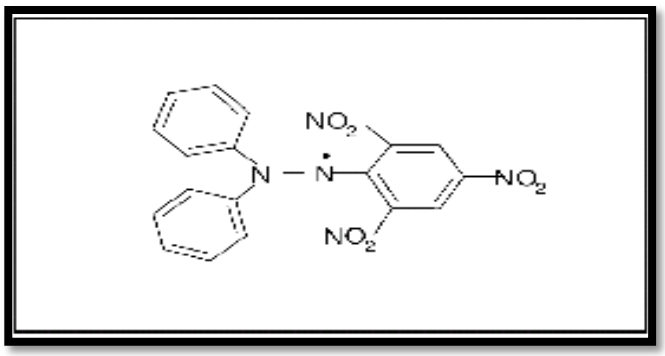
نقوم بتحضيرعدة تراكيز متزايدة من الكرستين ، وذلك بإذابة 3mg من الكرستين مع 3ml من الميثانول ثم تحضر التراكيز التالية: (200µg/ml, 175µg/ml, 150µg/ml, 125µg/ml, 100µg/ml, 75µg/ml, 50µg/ml, 0µg/ml) لأجل التقدير الكمي للفلافونويدات عند المستخلص الميثانولي .

نستعمل الكرستين لتحديد معادلة المنحنى الخطي ويتم التعبير عن النتائج بعدد المليغرامات المكافئة للكرستين لكل ملغ من وزن المستخلص النباتي.

## II-6-2- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الجذر الحر DPPH•:

### II-6-2-1- مبدأ عمل جذر DPPH• :

جذر DPPH• هو اختصار لـ ثنائي فينيل بكريل هيدرازيل و هو مادة صلبة ذو لون بنفسجي مسود، يعطي لونا برتقالي مصفر عند استقراره ، يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام و ذلك لوجود الحلقات الأروماتية التي تحمل أشكال رنينية متعددة وهذا يعني عدم تمركز الالكترونات بموقع واحد(حوة إ.،2013).



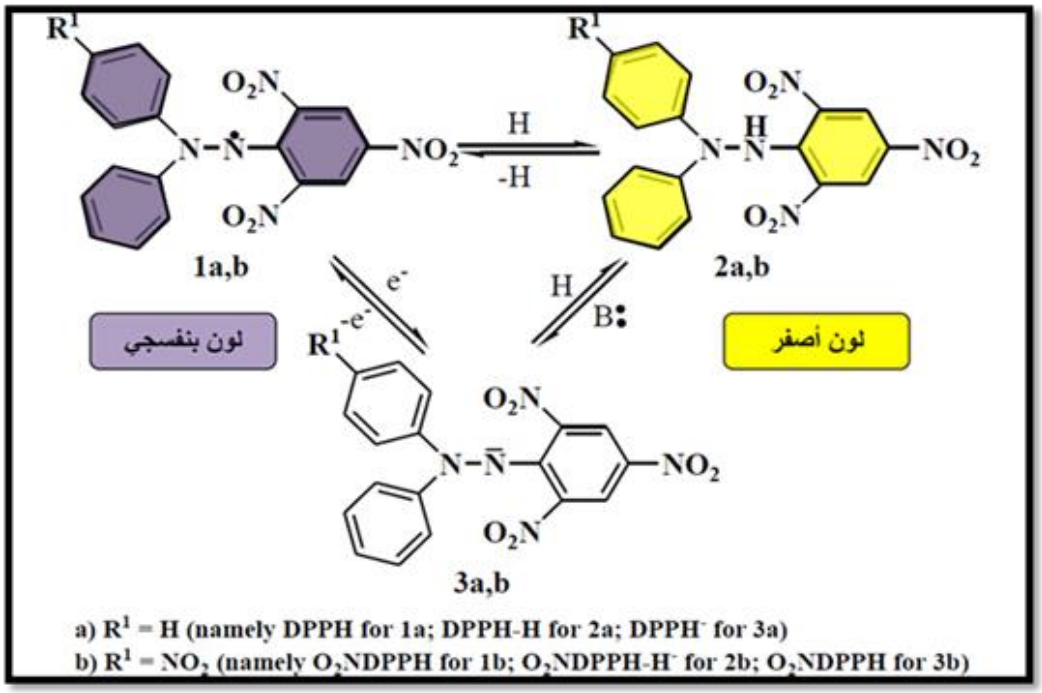

**شكل 20: التركيب الكيميائي للجذر الحر• DPPH**

### II-6-2-2 - اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•:

يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذور الحرة DPPH• و ذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات لذرة الهيدروجين حيث يمكن تتبع عملية إرجاع DPPH• لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية هذا الانخفاض يمكننا من معرفة قدرة المستخلصات من تثبيط الجذور (Dziri S et al., 2012).

### II-6-2-3- تحضير محلول DPPH• :

لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة تم إجراء اختبار مهم وهو إختبارالـDPPH• والذي يسمح بقياس قدرة المستخلص على توقيف عملية الأكسدة، حيث تكون جزيئاته قادرة على إرجاع الجذر ذو اللون البنفسجي(2-2.diphenyl-1-Picrylhydrazyl) إلى غير جذرية ولونها أصفر الـ(DPPH-H) (2,2.diphenyl-1-Picrylhydrazyl)، وهذا باستعمال جهاز الطيف الضوئي لقياس مقدار الامتصاصية( Dziri S et al., 2012) حيث يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المستخلصات من تثبيط الجذور أنظر الشكل التالي :




**شكل 21 يوضح آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت الـ $DPPH^{\bullet}$.**

يتم تحضير محلول الـ $DPPH^{\bullet}$ بوزن 4 mg من مسحوق الـ $DPPH^{\bullet}$ وإذابته في 100 ml من الميثانول (Mth) من أجل الحصول على تركيز 0.1 mmol/L ويوضع بحوجله مغطاة بورق الألمنيوم على جهاز المخلاط الكهربائي. ويترك لمدة 15 دقيقة من أجل ذوبان الـ $DPPH^{\bullet}$ كلياً.

### II-2-6-4- تحضير التراكيز :

❖ **تركيز الزيت المستخلص :**

تم تحضير عدة تراكيز(62.5µg/ml ,125µg/ml , 250µg/ml , 500µg/ml , 1000µg/ml,2000µg/ml 31.25µg/ml). من الزيت الأساسي وذلك بأخذ 7 أنابيب اختبار حيث يوضع في الأنبوب الأول 4mg من الزيت المستخلص ونكمل بالميثانول إلى 2mL، للحصول على التركيز 2000µg/ml، ونأخذ من المحلول الأول 1mL ونضعه في الأنبوب الثاني مع إضافة 1mL من الميثانول للحصول على التركيز 1000µg/ml، وهكذا مع باقي الأنابيب الأخرى بحيث تصبح التراكيز النهائية كالآتي:

(31.25µg/ml,62.5µg/ml , 125µg/ml 250µg/ml , 500µg/ml,1000µg/ml ,2000µg/ml) ,

❖ **تحضير تراكيز المستخلصات النباتية :**

تم تحضير عدة تراكيز من المستخلصات النباتية ( Hexane، Acetat d'ethyl Methanol) وذلك بأخذ 7 أنابيب اختبار حيث يوضع في الأنبوب الأول 4mg من المستخلصات ونكمل بالميثانول إلى 2mL ، للحصول على التركيز 2000µg/ml ونأخذ من المحلول الأول 1mL ونضعه في الأنبوب الثاني مع إضافة 1mL من الميثانول للحصول على التركيز 1000µg/ml، وهكذا مع باقي الأنابيب الأخرى بحيث تصبح التراكيز النهائية كالآتي : (62.5µg/ml,125µg/ml , 250µg/ml , 500µg/ml , 1000µg/ml , 2000µg/ml 31.5µg/ml)

❖ **تحضير العينات النباتية من أجل قراءة النشاطية المضادة للأكسدة:**

لأجل تحديد نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH• نضع في خلية ضوئية سعتها 1ml العينة المراد حساب نشاطيتها ويضاف اليها 800µl من محلول DPPH• ذو التركيز (1mM) وذلك بمعدل 3 تكرارات لكل تركيز، تم تحضير3 تكرارات لكل تركيز من أجل تفادي الأخطاء التي يمكن أن تحدث خلال مختلف مراحل التجربة.

❖ **ملاحظة :**

- تم استعمال Vit C كمركب مرجعي.

- تم استعمال Mth كمذيب لكل المستخلصات المدروسة وأيضا الزيت الأساسي والمركب المرجعي Vit C.

❖ **قراءة نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للعينات النباتية:**

بعد تحضير العينات نحفظها في مكان مظلم وبعيداً عن الضوء لمدة 30min، وبعدها نخرجها ونبدأ بالقراءة بالأنبوب المحضر أولاً بعد أن نقوم بتصفير الجهاز بـ 1ml من الميثانول وضبطه على 517nm.

بعد قراءة النتائج الخاصة بالامتصاصية الضوئية يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر• DPPH للتراكيز المختلفة للزيت الأساسي و للمستخلصات النباتية المدروسة وفقا للقانون التالي :

$$AA\% = \frac{A0-AI}{A0} \times 100$$

A0 :امتصاصية الشاهد (الميثانول)

AI :امتصاصية العينات النباتية

❖ **تحديد مقدار $IC_{50}$ المثبطة لجذر DPPH•:**

يعرف مقدار $IC_{50}$ على انه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50% من جذر• DPPH والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط (%) بدلالة تراكيز المستخلصات المدروسة ( Dziri S et *al.*,2012) .

## II -7-2- النشاطية المضادة للبكتيريا:

- تم استعمال 6 أنواع من البكتيريا في هذه الدراسة وهي:

| الاسم العلمي | الرمز |
|---|---|
| *Pseudomonas aerogenosa* | Ps |
| *Bacillus anthracis* | Ba |
| *Klebsiella pneumonia* | Kl |
| *Esherichia Coli* | Ec |
| *Salmonella enterica* | Sa |
| *E*nterococcus faecalis | En |

**II -2-7-1- تحضير اوساط الزرع:**

أولا تعقم منطقة العمل ثم يتم تحضير 24 طبق بتري ونسكب بها وسط الزرع (Miller Hinton) الذي تم إذابته في Autoclave في درجة حرارة 121°، بوجود موقد بنزن في طاولة العمل للحصول على وسط معقم وتترك الأطباق لتبرد وتتجمد(Chakraborty M and Mitra A., 2008).

**II-2-7-2- تحضير المعلق البكتيري:**

لتحضير معلق بكتيري نقوم بأخذ مستعمرة من كل سلالة بكتيرية بواسطة ماصة باستور معقمة، ثم توضع في انبوب اختبار يحتوي على ماء فيزيولوجي وترج قليلا حتى نتحصل على معلق متجانس.

**II-2-7-3- زراعة البكتيريا:**

لزراعة البكتيريا نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يتم مسحه على كامل اوساط الزرع المحضرة سابقا في اطباق بتري بشكل خطوط متقاربة مع تكرار العملية 3 مرات مع تدوير الطبق بزاوية $60^0$ في كل مرة (Chakraborty M and Mitra A., 2008).

**II-2-7-4- وضع الاقراص:**

ـ بعد تحضير أوساط الزرع: يتم تحديد 5 أجزاء في كل طبق بتري حيث خصصت 3 أجزاء للمستخلصات المحضرة ذو التركيز2mg/lm. تم استعمال اقراص محضرة من ورق Wat main معقمة وبواسطة Micropipette نضع في كل قرص تقريبا 10µl من كل المستخلص ،في حين خصص الجزء الرابع للشاهد (Méthanol) أما الجزء الخامس خصص للمضاد الحيوي بحيث يوضع في مركز الطبق لغرض المقارنة .

ـ يتم وضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 370 لمدة 18 ساعة .

ـ بعد انتهاء مدة الحضن نقوم بإخراج علب بتري لقياس الاقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلصات والمضاد الحيوي والشاهد (Chakraborty M et al Mitra A., 2008).

من خلال دراسة نشاطية المستخلصات المختلفة لنبات النتينة *C. arabica* على الأنواع البكتيرية المذكورة سابقا تم استعمال مضاد حيوي قصد مقارنة الفعالية البيولوجية للمستخلصات النباتية مع المضاد الحيوي المستعمل وهو : Gentamicin HLG120 :30 µg /disc-

# الفصل الثاني

# النتائج والمناقشة

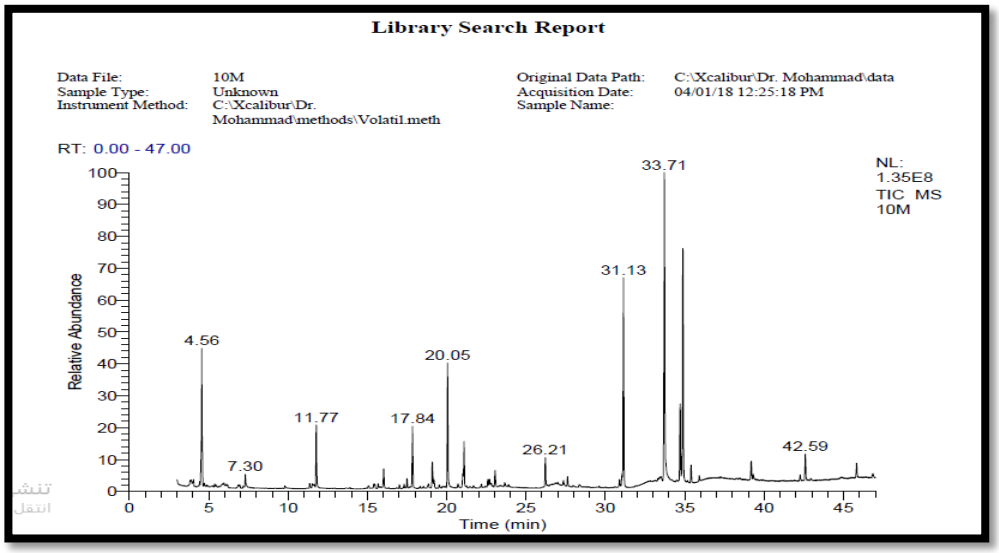
## I- النتـائـج :

### I-1- استخلاص الزيوت الأساسية:

تعد نبتة *C. arabica* من النباتات الهامة في الطب البديل فقد استخدمت لعلاج عدة أمراض منها آلام البطن والروماتيزم كما يستخدم لعلاج لدغات الحشرات وغيرها من الأمراض الأخرى، وينتشر هذا النبات في المغرب العربي وفي بعض المناطق الصحراوية الجزائرية. وقد تم في هذه الدراسة إجراء استخلاص للزيت الأساسي لنبتة النتينة C.*arabica* باستعمال طريقة التقطير المائي Hydradistillation بواسطة جهاز كلفنجر Clevenger قمنا باستخلاص الزيت الأساسي من الجزء الهوائي للنبات وقد تم الحصول على كمية ضئيلة جداً بحيث كان المردود 0.018%. يتميز الزيت المستخلص من *arabica*. C ظاهريا بعدة خصائص : لون أصفر فاتح، رائحة كريهة، كثافة أقل من كثافة الماء ولزوجة عالية حيث يظهر ككتل شبه جامدة، بالإضافة إلى ذوبانيته الشديدة في الهكسان.

### I-2- التحليل الكيميائي للزيت الأساسي:

بعد إجراء التحليل الكيميائي للزيت الأساسي بواسطة جهاز GC/MS تحصلنا على المنحنى الكروماتوغرافي (chromatogramme) الموضح في (الشكل22).



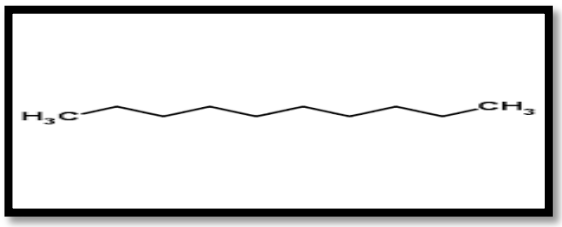
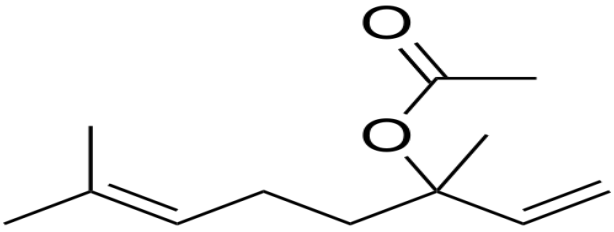

**شكل22: كروماتوغرافيا الزيت الأساسي لـ *C .arabica* .**

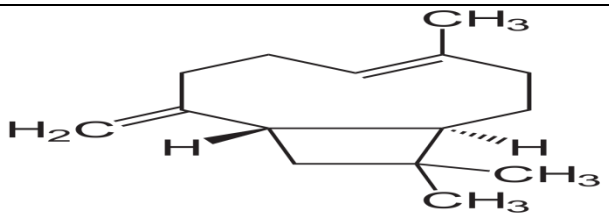
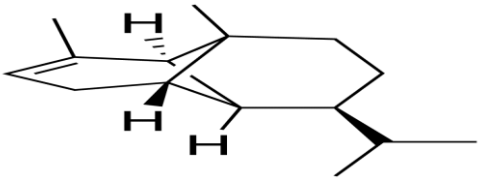
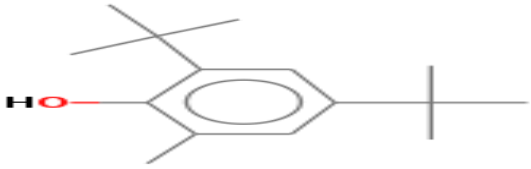
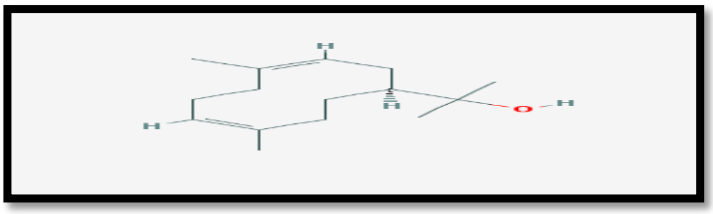
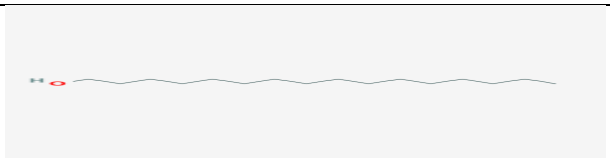
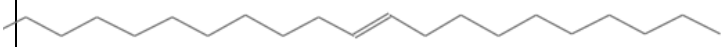
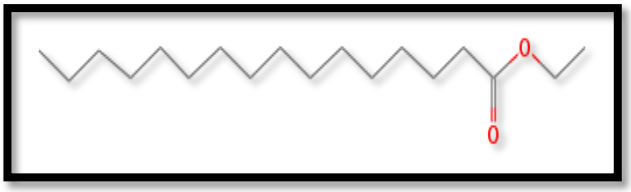
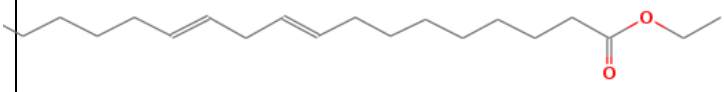
باستعمال تقنية GC/MS أمكن التعرف على العديد من المركبات الكيميائية للزيت الأساسي للجزء الهوائي لـ *C. arabica*، وقد أظهرت النتائج أن الزيت يحتوي على 14 مركب كان Phytol متواجد بأكبر نسبة ويليه Ethyl 9, 12, 15-octadecatrienoate ثم Hexadecanoic acid, ethyl ester ثم Decane ثم Hedycaryol بتراكيز 18.09 %، 12.15%، 10.96%، 6.79%، 6.42%، على الترتيب. يبين (الجدول 8) مختلف المركبات الكيميائية المكونة للزيت الأساسي وأيضا نسبة كل منها مع زمن الاحتباس Retention Time (RT).

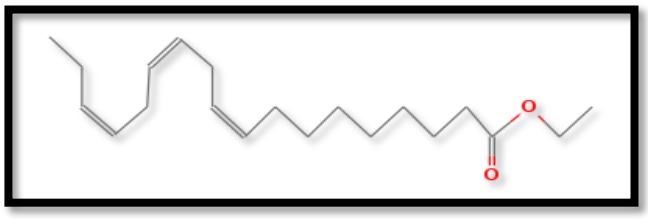
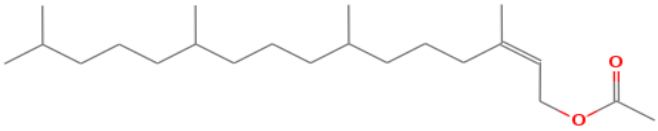
**جدول 8: المركبات الكيميائية للزيت الأساسي لـ *C. arabica***

| Peaks: | RT | Compound Name | Area % |
|---|---|---|---|
| 1 | 4.56 | Decane | 6.79 |
| 2 | 11.78 | Linalyl acetate | 2.96 |
| 3 | 16.02 | Caryophyllene | 1.18 |
| 4 | 17.84 | à-copaene | 3.00 |
| 5 | 19.09 | Phenol, 4, 6-di(1, 1-dimethylethyl)-2-methyl | 1.59 |
| 6 | 20.05 | Hedycaryol | 6.42 |
| 7 | 21.08 | 1-Hexadecanol | 3.07 |
| 8 | 26.21 | 10-Heneicosene (c, t) | 1.46 |
| 9 | 31.13 | Hexadecanoic acid, ethyl ester | 10.96 |
| 10 | 33.71 | Phytol | 18.09 |
| 11 | 34.7 | 9, 12-Octadecadienoic acid, ethyl ester | 3.94 |
| 12 | 34.88 | Ethyl 9, 12, 15-octadecatrienoate | 12.15 |
| 13 | 39.18 | 2-Hexadecen-1-ol, 3, 7, 11, 15-tetramethyl | 1.15 |
| 14 | 42.59 | Phytyl acetate | 1.53 |
| | | Total | 74.29 |

**جدول9: جميع المركبات الناتجة من عملية تحليل زيت *C. arabica* مع البنية الكيميائية.**

| اسم المركب | البنية الكيميائية |
|---|---|
| **Decane** |  |
| Linalyl acetate |  |

| | |
|---|---|
| Caryophyllene |  |
| α-copaene |  |
| Phenol, 4, 6-di(1, 1-dimethylethyl)-2-methyl- |  |
| **Hedycaryol** |  |
| 1-Hexadecanol |  |
| Heneicosene (c, t)10 |  |
| **Hexadecanoic acid, ethyl ester** |  |
| **Phytol** | |
| 9,12 -Octadecadienoic acid, ethyl este |  |

| | |
|---|---|
| **Ethyl 9, 12, 15-octadecatrienoat** |  |
| 2-Hexadecen-1-ol, 3, 7, 11, 15-tetramethyl | |
| Phytyl acetate |  |

## I-3- مردود المستخلصات النباتية :

تم تقدير مردود المستخلصات لنبات النتينة *C . arabica* بـ (%)، وانطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وكتلة المادة الجافة المستخلصة، حيث كانت نسبها كما يوضحه الجدول التالي :

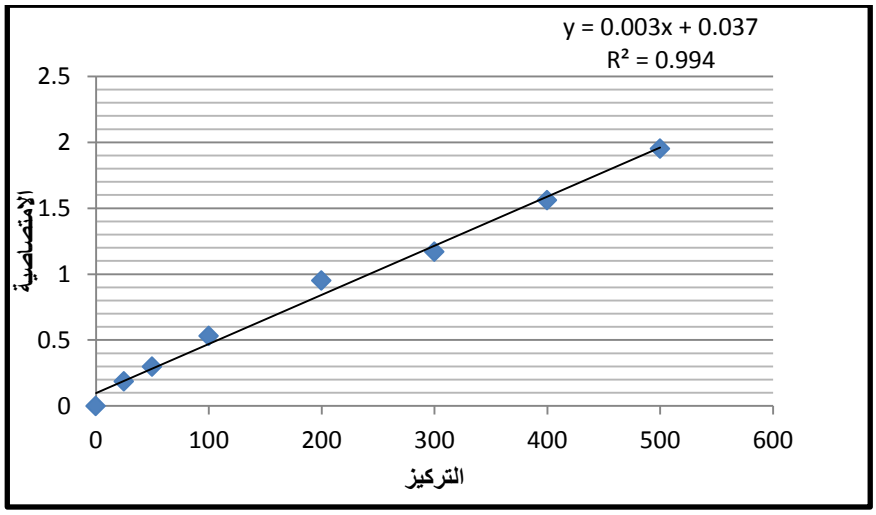
**جدول 10 :مردود المستخلصات النباتية**

| كتلة المادة النباتية الجافة | المذيبات | كتلة الناتج الخام | % |
|---|---|---|---|
| 15g | Méthanol | 2.2 | 14.6 |
| | Acetat d'éthyle | 0.8 | 5.3 |
| | Hexane | 0.6 | 4 |

انطلاقا من الجدول اعلاه نلاحظ ان أعلى مردود كان لمستخلص Méthanol بنسبة 14.6% ويليه مستخلص Acetat d'éthyle بنسبة 5.3% أما اقل مردود كان لمستخلص Hexane قدر مردوده بنسبة 4%.

## I-4- التقدير الكمي لعديدات الفينول

باستخدام طريقة Singleton and Rossi واستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك، يعبر عن المحتوى الكمي لعديدات الفينول للمستخلص الـ Méthanol, Acetat d'éthyle و Hexane بالملغرام من حمض الغاليك /ملغ من المستخلص النباتي كما هو موضح في الجدول(11):




**شكل 23: المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول عند المستخلصات المدروسة**

**جدول 11: كمية عديدات الفينول لمستخلصات نبات النتينة *C.arabica***

| مستخلصات نبات C .arabica | مستخلص Mth | مستخلص Act | مستخلص Hex |
|---|---|---|---|
| **كمية عديدات الفينول** | 82.95 ± 8.69 | 57.77 ± 0.68 | 22.88 ± 1.64 |

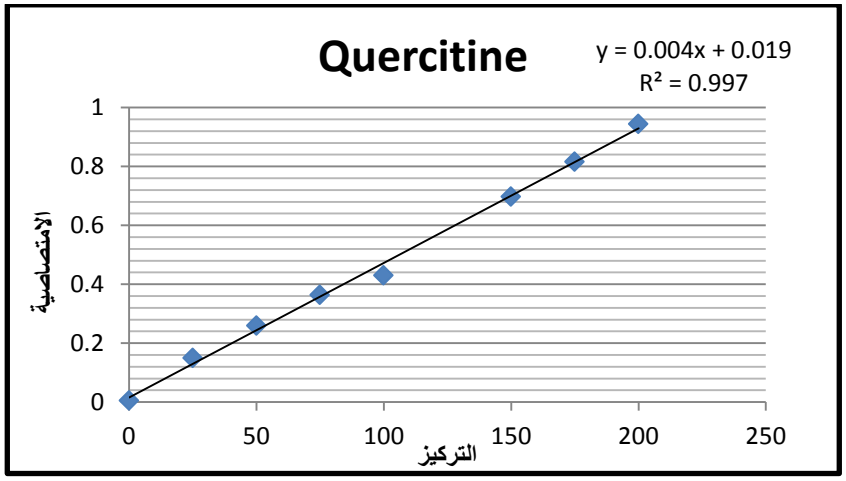
من خلال النتائج المدرجة في الجدول (11 ) :

أظهرت خلاصةMethanol أعلى نسبة من عديدات الفينول والتي قدرت بـ( mg AGE/mgEP 82.95±8.69) مقارنة بالمستخلصات Acetat d'ethyl وHexane والمقدرة بـ ( 22.88 ± 1.64 و 57.77± 0.86 mg AGE/mg EP) على التوالي.

## I-5- التقدير الكمي للفلافونويدات:

تم التقدير الكمي للفلافونويدات باستخدام كاشف$AlCl_3$ وباستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرستين ، حيث يتم التعبير عن النتائج بـ: ملغ مكافئ للكرسيتين في ملغ من المستخلص النباتي كما هو موضح في الجدول (12):

شكل 24 : المنحنى القياسي للكرستين لتقدير الفلافونويدات عند المستخلصات المدروسة




جدول 12: كمية الفلافونويدات لمستخلصات نبات النتينة *C .arabica*

| مستخلصات نبات C .arabica | مستخلص Mth | مستخلص Act | مستخلص Hex |
|---|---|---|---|
| **كمية الفلافونويدات** | 38.45 ± 3.72 | 33.43 ± 9.45 | 9.50 ± 1.04 |

من خلال النتائج المدرجة في الجدول (12) فقد :

أظهرت خلاصة Methanol أعلى نسبة من كمية الفلافونويدات والتي قدرت بـ (38.45 ± 3.72 mg QE/mg EP ) مقارنة بالمستخلصات Acetat d'ethyl وHexane المقدرة بـ (33.43±9.45 mg QE/mg EP) على التوالي.

## I-6- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للعينات النباتية :

تم اجراء النشاطية المضادة للأكسدة لنبات *C .arabica* باستعمال الجذر الحر DPPH• بالطريقة الموضحة سابقا كما تم استعمال حمض الاسكوربيك A.A كمركب مرجعي حيث كانت النتائج المتحصل عليها كالآتي :

جدول 13: النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية وVit.C

| التركيز | AA%Eoil | AA Mth% | AA% Act | AA% Hex | AA%Vit C |
|---|---|---|---|---|---|
| **500** | 42.78±1.52 | 74.81±0.84 | 61.71±0.84 | 52.26±0.70 | 70.14±0.63 |
| **250** | 32.30±0.62 | 61.53±1.01 | 50.41±1.83 | 38.15±3.56 | 47.75±1.10 |
| **125** | 28.40±0.56 | 49.35±1.35 | 43.19±1.12 | 31.40±2.42 | 32.82±1.42 |
| **$IC_{50}$ (mg/ml)** | 0.74±0.028 | 0.110±0.01 | 0.256±0.02 | 0.564±0.019 | 0.062±0.01 |

من خلال النتائج نلاحظ أنه كلما زاد تركيز الزيت زادت النشاطية المضادة للأكسدة حيث أن التركيز(500µg/mL) أعطى أحسن نشاطية مضادة للأكسدة مقارنة بالتراكيز الأخرى، فعند التركيز (125µg/mL) كانت النشاطية المضادة للأكسدة (28.40±0.56) وفي التركيز(250µg/mL) كانت النشاطية (32.30±0.62) وفي التركيز ( 500µg/mL) كانت (42.78 ±1.52) لكن في المقابل تعتبر نسبة جد ضئيلة مقارنة بالمركب المرجعي (Vit. C) الذي كانت النشاطية المضادة للأكسدة له(70.14± 0.63)عند التركيز (500µg/mL).وبما أن أقل قيمة للـ $IC_{50}$ تمثل التأثير التثبيطي الأفضل للعينة فإن التأثير التثبيطي للزيت الكابح للجذر الحر المقدر بـ (0.74mg/mL) يعتبر ضعيف جدا مقارنة بـ ( Vit. C) والذي كانت قيمته (0.062mg/mL).

أما بالنسبة للمستخلصات النباتية نلاحظ أكبر نسبة تثبيط للجذر الحر DPPH• للمستخلص Méthanol والتي تقدر بـ (74.81±0.84) عند التركيز(500µg/ml) مقارنة بالمستخلصين Acetat déthyl وHexane .

ـ كما نلاحظ أيضا أقل نسبة تثبيط للجذر الحر DPPH• للمستخلص Hexane والتي تقدر بـ (31.40±2.42)عند التركيز( 125µg/ml) مقارنة بالمستخلصين Méthanolو Acetat d'ethyl

ـ أما بالنسبة لحمض الاسكوربيك فقد سجل أكبر نسبة تثبيط للجذر الحر DPPH• التي قدرت بـ ( 70.14 ±0.63) عند التركيز(500 µg/ml) مع كل العينات النباتية المدروسة، حيث تفوق مستخلص Méthanolعلى باقي المستخلصات وحمض الاسكوربيك في نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH•.

**جدول 14 :قيم $IC_{50}$ للمستخلصات النباتية المدروسة وVit.C**

| العينات النباتية المدروسة | مستخلص Eoil | مستخلص Mth | مستخلص Act | مستخلصHex | Vit C |
|---|---|---|---|---|---|
| **$IC_{50}$ (mg/ml)** | 0.74±0.028 | 0.110±0.01 | 0.256±0.02 | 0.564±0.019 | 0.062±0.01 |

ـ أما بالنسبة للقيمة $IC_{50}$المثبطة لـ 50% من الجذر الحر DPPH• والمدونة في الجدول (12) :

- نلاحظ أن الزيت المستخلص أبدى فعالية ضعيفة جدا في تثبيط جذر DPPH• إذ قدرت قيمة $IC_{50}$ بـ 0.74 mg/ml .

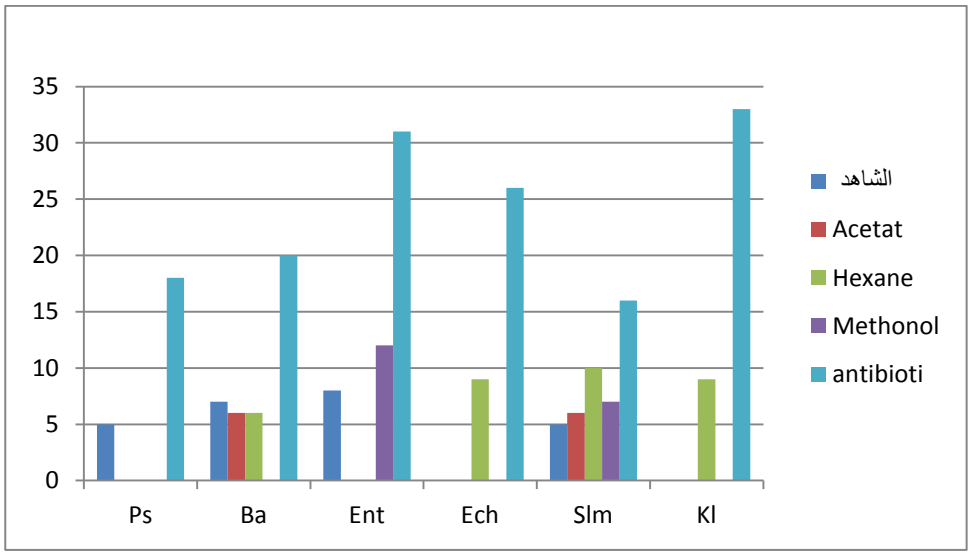
- نلاحظ أن المستخلص Méthanol أبدى فعالية كبيرة في تثبيط جذر DPPH• إذ قدرت قيمة $IC_{50}$ بـ 0.110 mg/ml.

ـ أما بالنسبة للمستخلص Acetat d'ethyl أبدى فعالية جد ضئيلة في تثبيط جذر DPPH• إذ قدرت قيمة $IC_{50}$ بـ 0.256 mg/ml.

ـ وبالنسبة لمستخلص Hexane أبدى فعالية ضئيلة في تثبيط جذر DPPH• إذ قدرت قيمة $IC_{50}$ بـ 0.564mg/ml.

## I-7- دراسة النشاطية المضادة للبكتيريا :

من خلال دراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات *C .arabica* وبعض المضادات الحيوية لبعض الانواع البكتيرية الممرضة تحصلنا على النتائج التالية :




**شكل 25:متوسط الاقطار التثبيطية للسلالات البكتيرية المختبرة لمستخلصات نبات *C.arabica***

- الفعالية البيولوجية لمستخلص Méthanol ضد البكتيريا *Ent* المعروفة بمقاومتها للمضادات الحيوية والمسببة لعدة امراض خطيرة كان للمستخلص الميثانولي فعالية كبيرة ضد هذه البكتيريا حيث سجلت أقطار تثبيط قدرت بمتوسط 12 mm مقارنة مع البكتيريا *Ps – Ba- Ech- Kl* التي لم تسجل فيها أي مناطق تثبيط، في حين سجلت بكتيريا *Slm* حساسية ضعيفة قدر متوسط قطر تثبيطها بـ 7 mm .

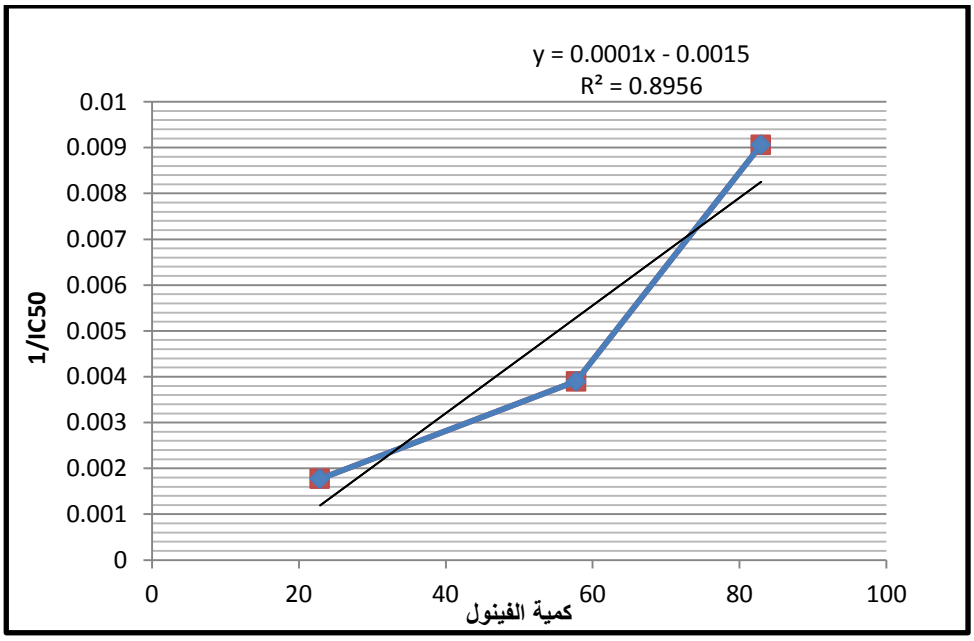
- أما في مسخلص Hexane فقد كانت اكبر فعالية بيولوجية ضد السلالة البكتيرية *Slm* قدر متوسط قطر تثبيطها بـ 10 mm تليها الفعالية البيولجية ضد السلالتين البكتيريتين *Ech- Kl* التي سجلت اقطار تثبيط متساوية قدرت بمتوسط 9 mm، بينما لم تسجل اي مناطق تثبيطية في السلالتين البكتيريتين *Ps-Ent*.

- الفعالية البيولوجية الاضعف سجلت في مستخلص Acetat d'éthyle حيث قدرت اقطار التثبيط بـ 6 mm في السلالتين *Slm – Ba*، في حين انعدمت الفعالية البيولوجية في السلالات الاخرى *Ech- Kl- Ps Ent*

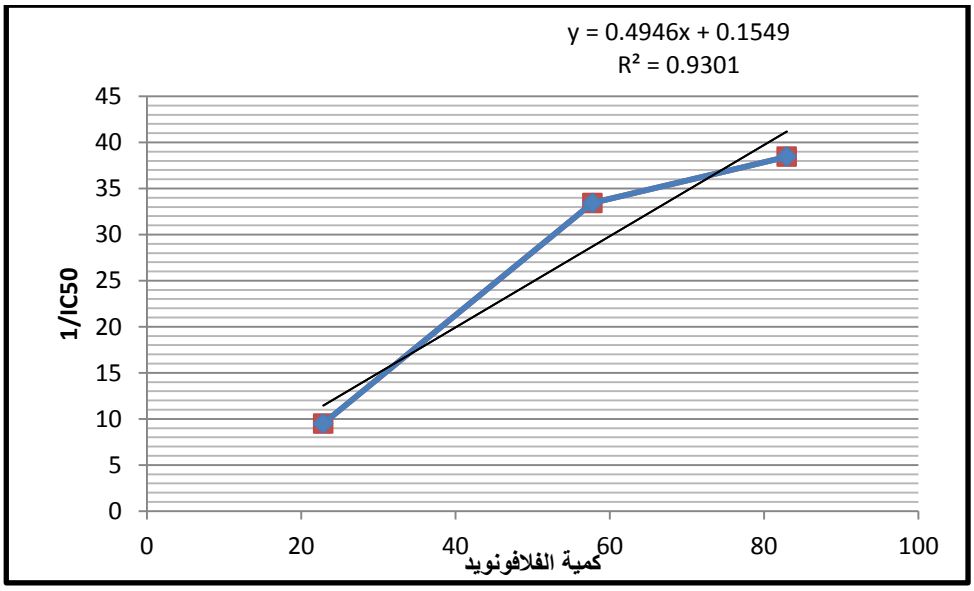
أما في ما يخص الفعالية البيولوجية للمضاد الحيوي (Gentamicin) فكانت أقطار التثبيط متفاوتة تجاه السلالات البكتيرية الستة حيث كان متوسط قطر التثبيط تجاه البكتيريا (*Ps*) 18mm أما بالنسبة للبكتيريا (*Ba*) كان متوسط قطر التثبيط 20 mm ولكن في السلالة الثالثة (*Ent*) سجلنا متوسط قطر تثبيط قدر بـ 31 mm، اما في سلالة (*Ech*) قدر قطر التثبيط 26 mm، وبالنسبة للبكتيريا (*Slm*) قدر قطر تثبيطها 16 mm وفي السلالة السادسة (*Kl*) قدر قطر تثبيطها ب 33 mm.

## I-8- الدراسة الاحصائية :

تم حساب معامل الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة، كمية الفلافونويدات والنشاط المضاد للأكسدة والمبينة في الشكل التالي:




**شكل 26: منحنى الارتباط بين عديدات الفينول والنشاط المضاد للأكسدة**




**شكل 27: منحنى الارتباط بين الفلافونويدات والنشاط المضاد للأكسدة**

من خلال الشكل (26) نلاحظ ارتباط قوي ($R^2$=0.89) بحيث ان كلما زادت كمية الفينولات زادت قيم $IC_{50}$ .

من خلال الشكل (27) نلاحظ ارتباط قوي جدا ($R^2$=0.93) بحيث ان كلما زادت كمية الفلافونويدات زادت قيم$IC_{50}$ .

## II- المناقشة :

### II-1- مناقشة نتائج استخلاص و تحليل زيت *C. arabica* :

تظهر عملية استخلاص الزيت الأساسي للجزء الهوائي لنبات *C. arabica* أن مردود الزيت كان ضعيف حيث قدر بـ 0.018 % وربما يعود ذلك لشح النباتات الصحراوية عموماً للزيوت الأساسية، تم إخضاع الزيت الأساسي لعملية التحليل الكيميائي باستخدام جهاز GC/MS وقد تحصلنا على منحنى الطيف الكروماتوغرافي الموضح في الشكل (22)، والذي يظهر تواجد عدد معتبر من المواد في الزيت الأساسي لـ *C. arabica* وقد تم التعرف على 14 مركب موضحة في الجدول (8).

| مركبات اخرى (كحول وأحماض دهنية) | تربينات | مركبات هيدروكربونية |
|---|---|---|
| - Hexadecanoic acid, - ethyl ester<br>- Phytol<br>-9, 12-Octadecadienoic acid, ethyl ester<br>- Ethyl 9, 12, 15-octadecatrienoate | - Linalyl acete<br>- Caryophyllene<br>- Hedycaryol<br>- Phytyl acetate | - Decane<br>- α copaene<br>- Phenol, 4, 6-di(1, 1-dimethylethyl)-2-methyl<br>-1-Hexadecanol<br>-10-Heneicosene (c, t)<br>- Hexadecen-1-ol, 3, 7, 11, 15-tetramethyl |

**جدول 15: تصنيف المركبات الكيميائية المحتوية بزيت الاساسي لنبات *C. arabica***

كما يتضح في النتائج المدونة في الجدول السابق أن الزيت الأساسي لـ *C. arabica* يتكون من نسبة كبيرة من المركبات(Decane , Hexadecanoic acid ethyl ester,Ethyl9,12,15-octadecatrienoate,Phytol Hedycaryol) بنسب 18.09، 12.15، 10.96، 6.79 و6.42% على الترتيب. بمجموع 74.29%.

هناك عدد قليل من الزيوت الأساسية والتي يظهر في تركيبها الكيميائي تواجد نسبة كبيرة من الأحماض الدهنية، ومن بين هذه الدراسات فقد وجد Radulovic وآخرون في دراسة أجريت على التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لـ *Geranium columbinum* و *G. lucidum* أن نسبة الأحماض الدهنية كانت 65.0% و 86.3% على الترتيب (Radulovic.,2010) .

كما أن المركب السائد في التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبات *C. arabica* فقد كان الحمض الدهني Phytol بنسبة 18.09% أي تقريبا ثلث الكمية من الزيت، حيث أن هذا المركب عبارة عن كحول حلقي ثنائي التربين يدخل في الصناعات التجميلية.

ويليه مركب Ethyl9,12,15-octadecatrienoate بنسبة 12.15% ويسمى أيضا حمض اللينولييك وهو واحد من الأحماض الدهنية الأساسية لأن الجسم لا يستطيع صنعه. وهو حمض غير مشبع و مضاد للالتهابات وللأكسدة.

وأخيرا مركب Hexadecanoic acid, ethyl بنسبة 10.96% هو أكثر الأحماض الدهنية المشبعة الموجودة في الحيوانات والنباتات والكائنات الحية الدقيقة، وهو عبارة عن مادة صلبة عديمة اللون بها رائحة تشبه الشمع كيميائيا، والمعروف أيضا بإثيل بالميتات وهو استر حامض البالمتيك يستخدم إثيل بالميتات كعامل لتصفيف الشعر والبشرة.

أما المركبات الأخرى و التي تشكل فيما بينها نسبة 19.88% من الزيت فهي متواجدة بنسب متقاربة وضئيلة جدا من 1% إلى 3%.

وقد أثبتت دراسات عديدة أخرى وجود عدة عوامل خارجية يمكن أن تؤثر على التركيب الكيميائي للزيت منها درجة الحرارة، نسبة الرطوبة، مدة تعرض النبتة للضوء و كذا نوعية التربة و تركيبها كلها عوامل بيئية تستطيع أن تغير من بنية الزيت (Bruneton J,. 1999). وهناك دراسات أخرى تبين أن فترة قطف النبتة من حيث التوقيت السنوي، عمرالنبتة وكذلك طريقة الاستخلاص كلها عوامل مهمة تؤثر على غنى و تنوع التركيب الكيميائي للزيت وكذا المردود العام (Bruneton J,. 1999).

## II-2- مناقشة نتائج مردود المستخلصات النباتية :

بينت النتائج المتحصل عليها الخاصة بالاستخلاص أن المذيبات المستعملة للمستخلصين Hexane ، Acetat d'éthyle تقريبا متساوية من حيث المردود مقارنة بالمستخلص الميثانولي الذي كان مردوده 14.6%. من خلال المذيبات المستعملة تبين أن قدرة الاستخلاص (المردود المتحصل عليه) يختلف من مذيب إلى آخر، حيث كان ترتيبهم من الأكثر مردود إلى الأقل كما يلي:Méthanol ، Acetat d'éthyle ثم Hexane بمردود يوافق 14.6، 5.3 و4% على الترتيب. ونفسر الاختلاف في قيم المردود إلى اختلاف في خصائص وطبيعة المذيب من حيث القطبية والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في النبات (Sanni C., 1952) ومن المعروف أن مذيب الـ Hexane وAcetat d'éthyle يتميزان بقطبيتهما الضعيفة مقارنة بقطبية الـ Méthanol، الأمر الذي يفسر انخفاض المردود عند المستخلصين Hexane و Acetat d'éthyle (الفراجي غ.،2003 )؛( حجاوي ح وآخرون.،2009).

## II-3- مناقشة نتائج التقدير الكمي لعديدات الفينول و الفلافونويدات:

تعد الفينولات مركبات نباتية جد هامة بسبب قدرتها الكابحة لاحتوائها على مجموعة الهيدوركسيل، حيث تساهم هذه المركبات في التأثير المضاد للأكسدة فهي تنتشر بشكل واسع في المنتجات النباتية الثانوية (بولوطة ح.،2008)، كما تعتبر قدرة هذه المركبات كمضادات للالتهابات والسرطان (بوديار ط .،2008). تم تطبيق طريقة Singleton and Rossi للتقدير الكمي لعديدات الفينول وذلك باستعمال حمض الغاليك كمركب قياسي. بينت النتائج أن مستخلص Méthanol يحتوي على كمية اكبر من الفينولات المقدرة بـ (82.95±8.69 mg AGE/mg EP) من حمض الغاليك المكافئ /ملغ، في حين قدرت المركبات الفينولية للمستخلصين Acétate éthyle وHexane بـ (0.86 ±57.77 وAGE/gm EP mg 22.88±1.64) على التوالي. تتغير كمية الفينولات من مستخلص إلى آخر حسب اختلاف المركبات الفينولية في كل مستخلص (Hayouni F et al،.2007) فسلوكها يختلف مع اختلاف بنيتها الكيميائية والوسط الموجودة فيه (حمضي- قاعدي).

تعتبر الفلافونويدات واحدة من أهم المركبات الاكثر تنوعا على نطاق واسع (Sanni C., 1952)، فهي من أهم المركبات الفينولية الطبيعية (Dufresn C., 2001). والتي تملك مجال واسع من الانشطة الكيميائية والبيولوجية بما في ذلك الخصائص الكانسة للجذور الحرة والمثبطة لنمو البكتيريا (Delgado M., 2008).

بينت العديد من الدراسات فعالية المستخلصات الخام المحتوية على الفلافونويدات تملك القدرة على التفاعل كمادة مضادة للأكسدة، حيث تقوم بكبح الاكسجين الاحادي ( $O_2^{\bullet-}$) ولكن على الرغم من ان الفلافونويدات تتفاعل بسرعة مع الانواع الاكسجينية النشطة فإن تفاعلها حيوي يعتمد على النموذج البيولوجي للخلايا والأنسجة (Merghem R., 2004).

تم تطبيق طريقة $AlCl_3$ لتقدير الفلافونويدات باستعمال الكرستين حسب (Bahorun T.,2003) بينت النتائج ان التقديرالكمي للفلافونويدات ان مستخلص Méthanol يحتوي على كمية اكبر من الفلافونويدات والمقدرة بـ (38.45± 3.72 mg QE/gm EP) ويليها مستخلص Acetat d'ethy والمقدرة بـ mg QE/mg (33.43± 9.45EP)، في حين قدرت كمية الفلافونويدات للمستخلص Hexane أقل بكثير من المستخلصين السابقين. وهذا راجع الى ان الـ Méthanol لديه القدرة الأكبر لإذابة الفلافونويدات المتواجدة في نبات.

تتسبب الجذور الحرة والأنواع الأكسجينية النشطة مثل أيون السوبر أكسيد ( $O_2^{\bullet-}$)، بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$)....الخ في ظهور الإجهاد التأكسدي الذي يؤدي الى عدم التوازن بين مولدات الأكسدة /مضادات الأكسدة مسببا في ذلك تلف الخلايا وتضررالأنسجة (Yuan J et al Yonkrier B.,2000). تتأثر كمية الفينولات والفلافونويدات المستخلصة من النبات بتغير مكان ومناخ وبيئة النبات (Ksouri R et al., 2008). كما يلعب وقت القطف وطريقة التخزين، في كمية المواد الفعالة في النبات (Rebiai A et al.,2013);( Kahkonen M et al.,1999).

كما لطرق الاستخلاص والمذيبات المستعملة دور مهم في تغير كمية الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات (Ksouri R et al., 2008) .

## II-4- نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية :

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هوالتأكد والتحقق من القدرة المضادة للتأكسد لكل من الزيت الأساسي والمستخلصات ( Hexane, Acetat d'ethyl, Méthanol ) لنبات *C .arabica* على الجذور الحرة المسببة للأمراض عن طريق اجراء اختبار خارج الكائن الحي *in vitro* والمتمثلة في اختبار DPPH• وذلك بقياس النشاط المضاد للتأكسد لكل مستخلص على حدا بالمقارنة مع نشاط جزيئات مضادة للأكسدة معروفة بقدرتها التثبيطية لجذر DPPH• مثل: حمض الاسكوربيك.

وقد استعملت كثيرا قدرة إزاحة جذر DPPH• في عدة دراسات، وهو عبارة عن جذر حر عضوي جد ثابت لونه بنفسجي غامق الذي يعطي امتصاصية عظمى في المجال الموجي 512 nm - 520 ( Mosquera O et al., 2007)، ولتحديد خاصية إزاحة لمستخلص نبات *C. arabica* من خلال زوال اللون البنفسجي المميز لجذرDPPH• وتحوله إلى اللون الأصفر نتيجة إرجاعه إلى مركب مستقر (Brand-Williams W.,1995).

وبناءا على النتائج المسجلة فإن الزيت الأساسي لنبات *C. arabica* يملك نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة جدا مقارنة بالنتائج التي حققها الشاهد المرجعي Vit. C وهذا في ما يخص كسح جذر DPPH•.

ومن المحتمل أن ضعف النشاطية المضادة للأكسدة الخاصة بالزيت الأساسي لنبات *C .arabica* يعود إلى عدم احتوائه على المركبات الكيميائية التي تعمل على تثبيط الجذور الحرة وزيادة النشاطية المضادة للأكسدة.

كما بينت النتائج المتحصل عليها في دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المدروسة، وجود علاقة طردية بين محتوى المستخلصات من المركبات الفينولية ($R^2$=0.89) والفلافونويدية ($R^2$=0.93) والتأثير الإزاحي على جذر DPPH•، فقد أظهر مستخلص Méthanol الذي يحوي كمية أكبر من عديدات الفينول أنه يملك أعلى تأثير إزاحي لجذر DPPH• وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل اليه (Dudonne S et al., 2009). حيث وجد أن 97 % من هذه المستخلصات تملك فعل ازاحي اتجاه جذر DPPH• يتناسب مع محتواها الفينولي. كما تتوافق هذه النتائج مع ما توصل اليه Wu وآخرون 2010 في دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمختلف مستخلصات *Gerniu sibiricum* حيث وجد ان مستخلص Acetat d'éthyle الأغنى بالفلافونويدات يملك اكبر تأثير ازاحي على جذر DPPH•، أما بالنسبة لمستخلصات نبات *C .arabica* فقد لوحظ أن مستخلص Méthanol يحتوي على كمية كبيرة من الفلافونويدات والتي تقدر بـ 38.45±3.72 حيث تتناسب طرديا مع التأثير الازاحي اتجاه جذر DPPH•، فقد بين العديد من الباحثين ان القدرة الازاحية للمركبات الفلافونويدية والفينولية على جذر DPPH• لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، حيث أظهر (Zheng C.D et al.,

2010). في دراسة التأثير الازاحي لـ 31 فلافونويد على جذر DPPH• أن عدد مجموعات الهيدروكسيل وتموضعها لها دور كبير في التأثير الازاحي، أما بالنسبة للفلافونويدات فإن وجود سكر أوالمثيل يرفع من الفعل الازاحي.

## II- 5- مناقشة نتائج النشاطية المضادة للبكتيريا:

تطرق العديد من الباحثين في الآونة الأخيرة إلى دراسة قدرة النباتات الغنية بالمركبات الفينولية على الوقاية من الميكروبات (Chakraborty M et al Mitra A .,2008) ولهذا الغرض تمت القيام بدراسة لمستخلصات نبات *C. arabica* ضد بعض السلالات البكتيرية المختبرة، حيث بينت نتائج اختبار الانتشار بالأقراص أن الفعل المضاد للبكتيريا للمستخلصات الثلاث على السلالات البكتيرية المختارة لهذه الدراسة كانت متباينة من حيث فعل المستخلص وقدرة السلالة على مقاومة أو وجود حساسية اتجاه المستخلصات.

- وقد وجد ان مستخلص Méthanol لنبات *C .arabica* والذي اختبر فيه النشاط المضاد للبكتيريا كان من أكثر المستخلصات نشاطا ضد السلالات الموجبة والسالبة الغرام مقارنة بالمستخلصين Acetat déthyl و Hexane و هذا راجع لكون المستخلص Méthanol يحتوي على نسبة عالية من عديدات الفينول والفلافونويدات وهذه المركبات هي التي تعطي النشاط العالي في التثبيط (Ramarethinam S., 2004).

يمكن أن يعود الاختلاف في الحساسية بين السلالات المختبرة موجبة الغرام وسالبة الغرام إلى بنية وتركيبة وطبيعة جدار الخلية البكتيرية لكل نوع (LambertP.,2009).

كما يفسر تأثير النشاطية المضادة للبكتيريا بامتصاص الاغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفينولية وتفاعلها مع الانزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية (Dhaouadi K et al., 2010).

# الخاتمة

## الخاتمة

كانت النباتات الطبية ولا زالت محط اهتمام العديد من العلماء بغية اكتشاف مواد طبيعية فعالة تستعمل في الطب والصيدلة والتجميل، حيث أن أغلب سكان العالم يستعملون هذه الأدوية، حيث أن أكثر مواد التجميل رواجا مصنوعة من المواد الطبيعية.

ان الاهتمام بمضادات الاكسدة في تزايد مستمر، كما زاد الاهتمام اكثر بمضادات الاكسدة الطبيعية المتواجدة في النباتات و ذلك لفعاليتها، توفرها و قلة تأثيراتها الجانبية. يعود التأثير المضاد للأكسدة للمواد الطبيعية النباتية اساسا الى محتواها من عديدات الفينول خاصة الفلافونويدات.

تهدف هذه الدراسة الى النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات *C .arabica* للتأكد والتحقق من القدرة المضادة للأكسدة للنبات المدروس على الجذور الحرة المسببة للعديد من الامراض.

ويندرج هذا العمل في اطار تثمين نبات *C .arabica* والمعروف في الاوساط الشعبية باسم النتينة وهو معروف في الطب الشعبي على أنه نبات عشبي صحراوي كريه الرائحة، يستعمل جزئه الهوائي في علاج أمراض الانفلونزا ، صداع ، آلام الروماتيزم ، كما يملك نبات النتينة خصائص مضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات.

- ✓ تم استخلاص الزيت الأساسي من الجزء الهوائي للنبات المدروس بإتباع طريقة التقطير المائي، وتحصلنا على مردود(0.018%)، ثم قمنا بتحليل الزيت كيميائيا لمعرفة تركيبه الكيميائي، حيث احتوى على 14 مركب مختلفة النسب ومثلت المركبات السيسكوتربينية والمركبات الهيدروكربونية النسبة الاكبر،
- ✓ وأيضا قمنا بعملية استخلاص المواد الفعالة من النبات و ذلك باستعمال المذيبات Méthanol، Acetat d'éthyle ، Hexane، تمكنا من خلال ذلك تقدير مردود المستخلصات حيث كانت كمية الكتلة الجافة المتحصل عليها في كل من المستخلصين Hexane، Acetat d'éthyle متفاوتة، في حين كان مردود المستخلص Méthanol معتبر و الذي قدر بـ 14.6 % .

كما تم تقدير المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستعمال الكاشف Folin-ciocalteu، اذ قدرت كمية عند الـ Méthanol بـ (82.95±8.69 mg AGE/mgEP) و(57.77±0.86mgAGE/gmEP)، (22.88±1.64mg AGE/gEP)عندAcetat déthyl و Hexane، و المحتوى الفلافونويدي باستعمال ($AlCl_3$) فقدرت عند الـ Méthanol بـ(38.45±3.72 mg QE/g EP) و (33.43 ± 9.45mg QE/mg EP) (9.50±1.04mg QE/mgEP) عند Acetat d'éthyle وHexane، حيث بينت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص الـ Méthanol يحتوي على كمية من المركبات الفينولية و الفلافونويدات أكبر مقارنة بالمستخلصين الـ Acetat déthyl وHexane.

- ✓ تم استعمال اختبار اقتناص الجذر الحر DPPH• في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة، للزيت الأساسي والمستخلصات النباتية لنبات حيث اظهر هذا الاختبار أن الزيت الأساسي أعطى نشاطية ضعيفة جدا ($IC_{50}$= 0.74±0.028) مقارنه بالمركب المرجعي (vit. C) وهذا راجع الى فقر الزيت للمركبات الفينولية والمعروفة بقدرتها على كبح الجذور الحرة.

أما بالنسبة للمستخلصات النباتية لنبات *C .arabica* فقد بين هذا الاختبار ان مستخلص Méthanol أبدى فعالية كبيرة في تثبيط جذر DPPH• حيث قدرت نشاطيته بـ ($IC_{50}$= 0.110 ± 0.01mg/ml ) و المستخلصين Hexane،Acetat déthyl أقل تأثير ازاحي على جذر DPPH• $IC_{50}$= 0.256±0.02 mg/ml;0.546±0.019 ) على التوالي وهذا ما يتناسب مع المحتوى الفلافونويدات المتواجدة بهذه المستخلصات.

- ✓ اما بالنسبة لدراسة النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة وذلك باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص حيث اظهرت النتائج المتحصل عليها ان مستخلص Méthanol لنبات *C .arabica* له فعالية بيولوجية معتبرة اتجاه بعض الانواع البكتيرية الموجبة والسالبة الغرام المختبرة .وترجع كل هذه التأثيرات لاحتواء هذه المستخلصات كميات متفاوتة من البوليفينولات خاصة الفلافونويدات.

ومن خلال ما سبق تبين أن لهذه النبتة أهمية عالية في العلاج لاحتوائها على كميات معتبرة من المركبات الفعالة.

وتعتبر هذه الدراسة على نبات النتينة هي الاولى حيث تم استغلال الوسائل الحديثة لاستخلاص الزيت الاساسي والمواد الفعالة الموجودة في النبات وفصلها والتعرف على بنيتها بغية اختبارها على الإنسان والحيوان وبالتالي تثمنيها والحفاظ عليها و تنميتها.

وقد طرحت التساؤلات في جانب مهم من التأثيرات البيولوحية الفعالة لنبات النتينة بهدف إثراء الرصيد العلمي و البحثي في الجزائر. اما استعمال النبتة صيدلانيا يبقى معتمد على تدخل الأخصائيين في مجال النباتات الطبية.

# قائمة المصادر والمراجع

**المصادر والمراجع باللغة العربية**


1) أبو زيد أ.، 2000 ، الزيوت الطيارة.الدار العربية للنشر والتوزيع بالإسكندرية .
2) بشرى ب.، 2003، التغذية والصحة الادارة العامة للتغذية بوزارة الصحة السعودية .مجلة منظمة الصحة العالمية ،المجلد 2 ،العدد 1.
3) بن سلامة ع أ.، 2012،النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات اوراق *Hertia cheirifolia l* ، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء، جامعة فرحات عباس. سطيف .
4) بن عاشورة ص.، 2007، الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة و المركبات الفينولية لـ *Deverra scoparia*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة ورقلة.
5) بنت هزاع القحطاني.، 2004، تاثير التشعيع في وجود و عدم وجود الالفاتوكوفيرول على الاكسدة الانزيمية في كبد فئران الالبينو، شهادة الماجيستير، جامعة الملك سعود والمملكة العربية السعودية.
6) بوبطيمة ا.، 2012، مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية و الطريقة الإلكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمرالمحلي. مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح . ورقلة . الجزائر. 97 ص.
7) بوبلوطة ح.، 2009، النشاطية المضادة للتأكسد وامكانية وقاية المستخلصين الميثانوليين لنبتتي *Matricaria pubescens* و*Centaurea incan* على السمية الكبدية. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة.
8) بوختي ح.، 2010، النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكترية لزيوتها الأساسية. مذكرة لنيل شهادة ماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف، 116ص.
9) بودیار ط.، 2008، فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Euphorbia gugoniana*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، 128ص .
10) تيقرين ش.،تونسي ح.،2015، دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نبات النتينة *Cleome arabica*. مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي. المدرسة العليا للأساتذة، القبة.
11) جرموني م.،2009،النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات الخياطة *Teucrium polium* ،شهادة ماجستير ،جامعة فرحات عباس .
12) حسين حجاوي.،حياة المسيمي.، رولا محمد جميل قاسم . علم العقاقير، الطبعة الأولى، مكتبة دار الثقافة للنشر و التوزيع – عمان – الأردن . 2001.

13) حليس ي.، 2007. الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار النشر المنطقة الصناعية كونين ولاية الوادي، مطبعة الوليد.

14) حلمي واخرون،( 1997 ) . النباتات الطبية ، الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة ، الاتحاد العلمي لحفظ الطبيعة ،الجزائر ، ص : 1

15) حوة ا،2013،دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الاكسدة مذكرة لنيل شهادة الماجيستير في الكيمياء العضوية و فيزيوكيماء الجزئيات ،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة .

16) د. ريدة أبو سمرة.، الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدات و داء التهاب المفاصل الرثياني، مجلة جامعة دمشق المجلد 15 العدد 2، 1999.

17) دحية م.، 2009 ، النباتات الطبية في مناطق الجلفة، بوسعادة والمسيلة- دراسة نبات القزاح*pituranthos*، أنواعه، التركيب الكيميائي والنشاطية البيولوجية للزيوت الطيارة للسيقان. أطروحة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم. جامعة فرحات عباس – سطيف-.

18) زعتر ل.،2010، تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم الزيت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة Compositas والسيتية Cistaceae. مذكرة لنيل شهادة دكتوراه، جامعة منتوري، قسنطينة.

19) زيدي م، 2012، المساهمة في الدراسة الفيتو كيميائية لنبات *Deverrascoparia* (البسباس البري)- الزيوت الطيارة واللبيدات. مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح- ورقلة- .

20) سمية فرح.، حواء حمزة.، 2015.الدراسة الفيتو كيميائية لمستخلصات نبات القطن و فعاليتها. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر أكاديمي. كيمياء مطبقة، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

21) الصديق ق.،2011.دراسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر في الكيمياء التطبيقية من جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر.

22) طاهر سلمان م.، 2000 ، استخدام المذيبات العضوية في استخلاص وتقدير نسبة الزيوت الأساسية والمستخلصات الأخرى لأعمار مختلفة من أوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camadulensis*. المعهد التقني كركوك .

23) العابد أ.،2009، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للكاسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* مذكرة لنيل شهادة الماجيستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة الخام لنبات الضمران مذكرة لنيل شهادة الماجيستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص 106.

24) -عبد الجليل م.، 2008- كيمياء المنتجات الطبيعية. دار الفكر - المملكة الأردنية- عمان.

25) الفراجي غ .، 2003، تعيين وتنقية مساعد انزيم Co $Q_{10}$ في عشرة أصناف من التمور العراقية بأطوار النمو الأربع، الكمري، الخلال، الرطب، النمو. أطروحة دكتوراه فلسفة كيمياء، جامعة بغداد، العراق.

26) قمولي ص.،2009 ، دراسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي ، مذكرة لنيل شهادة الماستر. كيمياء مطبقة . جامعة قاصدي مرباح .ورقلة .

27) قندولي ش.،2009 ، دراسة تأثير النشاط المضادة للسكري و للتأكسد للألوين Aloin في جرذان مصابة بالسكري المحرض بـ Streptozotocin. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيولوجيا الخلوية و الجزئية. جامعة منتوري قسنطينة.

28) لبيب ع س ن.،2010، دراسة فوتو كيميائية لنبات *Thymelaea microphylla* وتثمين الفعالية البيولوجية. شهادة الماجيستير، جامعة منتوري ، قسنطينة.

29) مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء و الفيزيولوجيا التجريبية. جامعة فرحات عباس. سطيف.الجزائر .

30) مصطفى بوقوادة.، دراسة فيتو كيميائية للبيبدات و الفينولات في بعض انواع التمر المحلي ماجيستسر. جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،2008.

31) هيكل م و عمر س.،1993، النباتات الطبية- كيمياؤها- إنتاجها و فوائدها. منشأة المعارف بالإسكندرية.

32) وائل غ م.، 2008 ، اسس الكيمياء العضوية .دار الكتب الوطنية ، بنغازي ،ليبيا . 296 ص.

## المصادر والمراجع باللغة الأجنبية


**1)** Abdelhamid I,Bekhechi C ……,2014-Antimicrobial activity of Ammoducus leucotrichus fruit oil from Algerian sahara.nPC,Vol.9.n°.5.pp.(711-717)1-717.

**2)** Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S. and RezaiE A. 2004- Pesticides and oxidative stress. Med Sci Monit. 10: RA141-RA147

**3)** Appleton , Wisconsin , Inter Science Publishers . A Division of John Whley & sons ( من سلمان، 2010) (p22. Vol)

**4)** Atef Chouikh.,2015. Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médecinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).

**5)** Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., _Debbache N., 2009- Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chem, 112: 303-309

**6)** Baba Aissa, F., Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Librairie Moderne Rouiba (Alger), 2000, 368p.

**7)** BahorunT., 2003- Substances Naturelles Activities: La flore mouricienne, une source d'approvisionnement potentielle. 1-11.

**8)** Balaban R. S., Nemoto S. and Finkel T. 2005- Mitochondria, oxidants, and aging. Cell. 120: 483-495.

**9)** Beaudeux J.L. and Dominique B.R., 2005- Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques .Edition médicales. Internationales, Paris, France, 550 p.

**10)** Bekhechi C et Abdelouahid D., 2151 - Les huiles essentielles. edition1.04.5145 Office des publication universitaires. 11 p.

**11)** Bekhechi C., Abdelmouahed .D., 2010- Huiles Essentielles. Office de publication universitaires. 55p.

**12)** Belaiche P.,1979- Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, L'aromato-gramme.éd. Maloine.

**13)** -Belhattab R., 2005- Composition chimique et propriétes antioxydantes, antifongiques et antiaflatoxinogenes d extrais de *Origanum glandulosum* Desf. Et *Marrubium vulgare* L.(famille des Lamiaceae).thèse de doctorat d ètat, Département de biologie, Faculté des sciences , UFA de Sétif. ( 2010، من بوخبتي.)

***14)*** Belkhiri F., 2009- L'Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tamus communis* L. et *Carthamus caeruleus* L. Mémoire Magister en microbiologie applique, Université Farhat ABBAS,. Algérie ,141 p

**15)** Bencheikh H., 2005- Contribution à l'étude de la composition, de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de Thymus fontanesii et de *Foeniculum vulgare*. Mémoire de Magistère, UFA Sétif,p85 .

**16)** Bonnefont-Rousselot, D. Thérond, P. Delattre, J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In Borges, F. Fernandes, E. Roleira, F. (2002). Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem*. 9, 195–217.

**17)** Bouldjadj., 2009- Etude de effet antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*artemisia herba alba asso* chez des rats saines rendus diabétiques par streptozotocine. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine. 111p

**18)** Boumaza A., 2009- Effet l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss. contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire Magister en toxicologie cellulaire et moléculaire, Université Mentouri, Algérie, 126 p.

**19)** Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmitel –Wissenschauft und Technologie, 28, p: 25-30.

**20)** Browning B., 1967- Method of wood chemistry. Institute of paper chemistry .

**21)** Bruneton J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Éd 3 TEC et DOC, Paris.(2010 ، . من بوخبتي) .

**22)** Brun, J. P. & A. L. Stork (1991). Enumération des plantes à fleurs d'Afrique tropicale. Généralités et Anonaceae à Pandanaceae. Énum. Pl. Fleurs Afr. Trop. 1: 58

**23)** Burkill, H.M., The useful plants of west tropical Africa, (Families A-D), 2nd ed, Kew, UK: Royal Botanic Gardens, 1985, 980p

**24)** Cakir B., Kasimay O., Kolgazi M., Ersoy Y., Ercan F. and Yegen B. C. 2010- Stress-induced multiple organ damage in rats is ameliorated by the antioxidant and anxiolytic effects of regular exercise. Cell Biochem Funct. 28: 469-479.

**25)** Chaabi, M., 2008.. Etude phytochimique et biologique d'espècesvégétales africaines : *Euphorbia stenoclada* Bail l. (Euphorbiaceae) ,*Anogeissus leiocarpus* Guill. & Perr. (Combretaceae), *Limoniastrum feei* (Girard)Batt. (Plumbaginaceae). Mémoire de magister. universite louis pasteur .France p29.

**26)** Chakraborty M., and Mitra A.,2008-The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from Cocos nucifera mesocarp. Food Chem; 107: 994–999.

**27)** Cheng F. C., Jen J. F. and Tsai T. H. 2002- Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 781: 481-496.

**28)** Cheng, H., Ta-chen, A., Kuo-hua ,B., CHien-min C ., CHun C., 2003.Antioxidant and free radical scavenging activities of Terminalia chebula. Biol. Pharm. Bull. 26: 1331–1335.

**29)** Delattre, J. Durand, G. Jardillier, J.C.2003 Biochimie pathologique: aspects moléculaires et Cellulaires Médecine-sciences Flammarion Paris. 59-81.

**30)** Delgado M ;Haza A ; Arranz H., (2008) .Dietary polyphenels protect against Nitrosamine Benzopyrene induced DNA damage in human hepatoma cells Eue J Nutr Val 30,pp 328-33.

**31)** Desjobert J., Bianchini A., Tommy P., Costa J et Bernardini A., 1997- Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse.)2010، من بوخبتي(Analysis.vol. 25(6): p13-16.

**32)** Dhaoudi K et al., 2010- Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer ) polyphenolic extract .J. Agric .food chem .59: 402-406.

**33)** Dranka B .P., Hill B. G. and Darley-usmar V. M. 2010 - Mitochondrial reserve capacity in endothelial cells: the impact of nitric oxide and reactive oxygen species. Free Radic Biol Med. 48: 905-914.

**34)** Dubai A., Kholaidi A.,2005- Medicinal and Aromatic Plants in components of effective - uses" Ebadi Center for Studies and Publishing. Sana'a - Yemen.p54-57.

**35)** Dudonne S and al., 2009- Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem.* 57: p 1768-1774.

**36)** Dufresne, C. J.; Farnworth, E. R., 2001- A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr.Biochem.* 2001, *12*, pp 404-421.

**37)** Dziri S et al., 2012- Phenolic constituent, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (Allium roseum var. odoratissimum). Journal of Functional Foods.4 P:423-432.

**38)** Edeas M., 2006- Les antioxydants. Nanterre France.

**39)** Fedreghi M., 2005- Bacteriologie alimentaire. Ed economica, paris, p:27

**40)** Fernandes, E. Roleira, F. (2002). Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem*. 9, 195–217.

**41)** Gardèse-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z et Jore D., 2003 - Espèces Réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique.p 91-96

**42)** .Ghestem A., Seguin E., Paris M et Orecchioni A., 2001- Le préparateur en pharmacie. Botanique – Pharmacognosie – Phytothérapie – Homéopathie. Ed. Tec & Doc et E. M. Internationales. p (99-191).

**43)** God'swill., Nduka A., Kayode O., Ogunwenm O., 2010- Comparative Antioxidant, Phytochemical and Proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vernoniaamygdalina and Talinumtriangulare. Pakistan Journal of Nutrition 9 (3): 259-26.

**44)** Guignard J., 1979 - Abrégé de biochimie végétale. Ed. Masson. Paris. 263p. ( من دحية 2007،)

**45)** Gutierrez J, Ballinger SW, Darley-Usmar VM, Landar A. (2006) Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res*. 99: 924- 932.

**46)** Guy, D., Organisation et classification des plantes vasculaires:Systématique, Edition Sedes (Paris), 1979, 540p

**47)** Halliwel B. (1997).Antioxidants and human disease: General Introduction. Nutrition Revieus55(1): 544 – 552)

**48)** Hayouni E., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M., 2007- The effects of- solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem, 105: 1126-1134

**49)** Hennebelle T., 2006-Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: *Marribium peregrinum, Ballota pseudodictamnus*(Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Univ Liille- Liille 1. p304.

**50)** Hidron A et al., 2008- National healthcare safety network team and participating national healthcare safety network facilities. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention. Infect control hosp epidemiol.29: 996-1011. inhibition of hoxa2 and mintains glutathione homeostasis in mouse embryos in culture. Cell

**51)** Hidron A. I. , Edwards, J. R. and Patel, J., (2008). Antimicrobial-Resistant pathogens Associated with Healthcare-associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007". infection control and hospital epidemiology, Vol. 29 (11): Pp. 996–1011

**52)** Jaeschke H., 1990- Glutathione disul. de formation and oxidant stress during acetaminopheninduced hepatotoxicity in mice in vivo: the protective effect of allopurinol, *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 255, 935–941.

**53)** Jeyapaul, J. and Jaiswal, A.K., 2000.regulation of antioxidant response element (ARE)-mediated expression and induction of gammaglutamylcysteine synthetase heavy subunit gene. Biochem. Pharmacol. 59(11):1433– 1439

**54)** Jore D., 2003 - Espèces Réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique L'actualité chimique.p 91-96.

**55)** Kähkönen M., Hopia A., Vuorela H., Rauha J., Pihlaja K., Kujala T., 1999- Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J Agric Food Chem, 47(10): 3954-3962.

**56)** Kang D.G., Yun C.K. and Lee H.S., 2003- Screening and comparison of antioxidant activity of extracts of herbal medicines used in Korea. Journal of Ethnopharmacol, 87:231-236

**57)** Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdelly C., 2008- Influence of biological environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. C, R, Biol, 331: 865- 873

**58)** Lambert P., 2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in gram - positive bacteria and mycobacteria . *Jornal of applied microbiology* .92:46-54.

**59)** Laouer H.,2004- Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de M sila et de djelfa. composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d *Ammoides pusilla ( Brot) Breistr.* et de *Magydaris pastinacea (Lamk) Paol* .thèse de doctorat d'état. Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

**60)** Lebrun, J. P. & A. L. Stork (1991). Enumération des plantes à fleurs d'Afrique tropicale. Généralités et Anonaceae à Pandanaceae. Énum. Pl. Fleurs Afr. Trop. 1: 58.

**61)** Matkowski, A., Piotrowska, P. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77: 346-353

**62)** Merghem R, Jay N, Burn N, Voirin B.,( 2004). "Quantitative analysis and HPLC isolation and identification of procyanidins from Vicia faba L". Phytochemistry Analysis 15, pp 95-99.

**63)** Miquel J,. 2002- Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage Ann N Y Acad Sci. 959: 508-516.

**64)** Mohammedi Z ., 2013- Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'algérie. Thèse doctorat. Université Abou Bekr.170 p.

**65)** Mohammedi Z., 2006- Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région Tlemcen. Mémoire de Magistère. univ abou bakr belkaid. Tlemcen.155p

**66)** Mosquera O and al., 2007-Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 102:631–634.

**67)** Ozenda, P., Flore et végétation du Sahara. Edition CNRS (Paris), 1991, 662p. -

**68)** Pratt D. A., Tallman K. A. and Porter N. A.(2011)- Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: new mechanistic insights and the development of peroxyl radical clocks. Acc Chem Res. 44: 458-467.

**69)** Ramarethinam S, Rajalakshmi N.,( 2004). "Caffeine in tea plants [Camellia sinensis (L) O. Kuntze]: In situ lowering by Bacillus licheniformis (Weigmann) chester". Indian Journal of Experimental Biology 42, pp 575-580.

**70)** Raven., Evert R et Eichhorn S., 2007 - Biologie végétale. Ed. De Boeck Univ. Bruxelles, pp. 28 – 30 . (2007، من دحية)

**71)** Rebiai A., Lanez T., and Belfar M., 2013- Total Polyphenol Contents, Radical Scavenging And Cyclic Voltammetry Of Algerian Propolis. Int J Pharm Pharm Sci, Vol(6), Issue 1, ISSN-0975-1491. P: 395-400

**72)** Rubin M. ,2004- Guide pratique de phytothérapie et d' aromathérapie. Ellipses Edition Marketing S.A.

**73)** Ryan m.J., Dudash H.J., Docherty M., Geronilla K.B., Baker B.A., Haff G.G., Cutlip R.G. and Alway S.E., 2010- Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp Gerontol*. 45: 882-895.

**74)** Sachdev S. and Davies K. J. 2008- Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. Free Radic Biol Med. 44: 215-223.

**75)** Sanni C,Sauvin H.L., 1952-Les Couleurs des fleurs et des fruits ,Anthocyannes et flavones. Editeurs du museum,Paris ,pp 1952-220..

**76)** Sharaf, M., Mansour, R.M.A., Saleh, N.A.M., 1992. Exudate flavonoïds from aerial parts of four Cleome species. Biochemical Systematics & Ecology 20, 443-448.

**77)** Silvia M., 2003- Escherichia coli O157:H7 la bacteria que dispar el HACCP en la indu stria de la carne, Enfasis Alimentos.17, P :40-42.

**78)** -Singleton P., 2004- Bactériologie pour la médicine la biologie et le biotechnologie, Ed dunod, paris, p 542.

**79)** Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos: Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin- Ciocalteu Reagent. Met. Enzym. 1999, 299, 152-178

**80)** Slinkard and V.L. Singleton (1977). Total phenol analys: automation and comparison withmanual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28. 49-55.

**81)** Thulasiram h V and Bhat V B and Madyastha M K.,2001 - Effect of ring size in *R*-(1)-Pulegone-mediated hepatotoxicity: studies on the metabolism of *R* (1)-4-methyl-2-(1-methylethylidene)-cyclopentanone and dl-camphorone in rats. *Drug metabolism and disposition*, 6 ( 29): 821-829.

**82)** Toledo C., Brittaa E., Ceoleb L., Silvac E., DE Melloa J., Dias Filho B., Nakamura C., Nakamura T., 2011- Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado ,using Brazilian cachaca as extractor liquid. Journal of Ethnopharmacology 133,420-425

**83)** Turkoglua A et al., 2007- Antioxidant and antimicrobial activites of *Laetiporu sulphureus* (Bull) Murrill. Food chemistry, Vol 101, p: 267 – 273.

**84)** Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD , Mazura M, Telser J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. *Int J Biochem Cell B.* 39: 44–84.

**85)** Veronique L C.,2001- Toxicité des huiles essentielles. Thèse pour obtenir legrade de docteur vétérinaire, diplôme d'état. Ecole nationale vétérinaire, Toulouse.

**86)** -Wollenweber, E., Dorr, M., 1992. Flavonoïd aglycones of Cleome spinosa (Cleomaceae). Phytochemical Bulletin 24, 2-4.

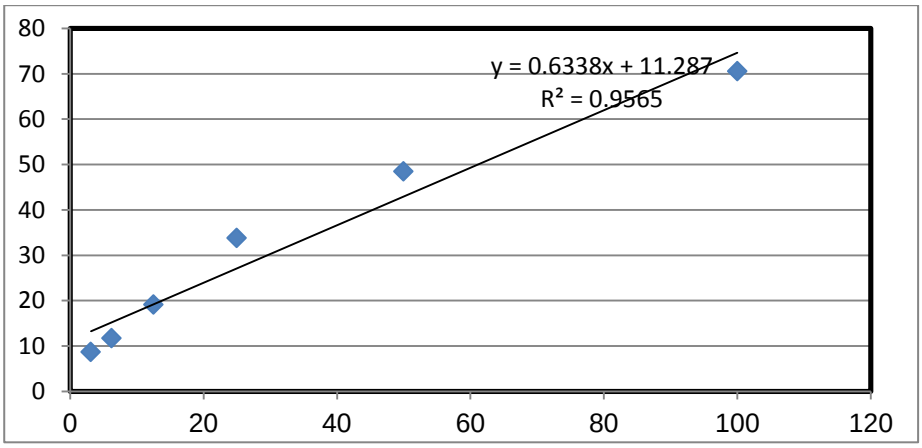
**87)** Yoshino, M., Murakami, K., 1998. Interaction of iron with polyphenolic Percival., antioxidants. clinical nutrition insights:1- 4.

**88)** Yuan J and Yankner B., 2000- Apoptosis in the nervous system. Nature. 407 : 802-809.

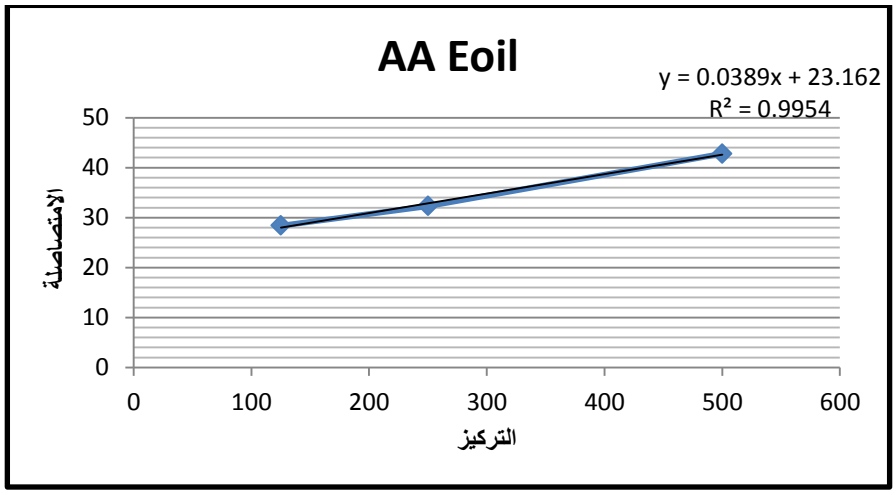
**89)** Yung S., Yao J., Jyh S., 2003- Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves Journal of Agricultural Food Chemistry, 5(7), p: 1864–1873.

**90)** Zheng C.D., LI G., LI H.Q., XU X.J., GAO J.M. and Zhang A.L., 2010- DPPH scavenging activities and structure-activity relationships of phenolic compounds. Nat Prod Commun, 5. 1759-1765.

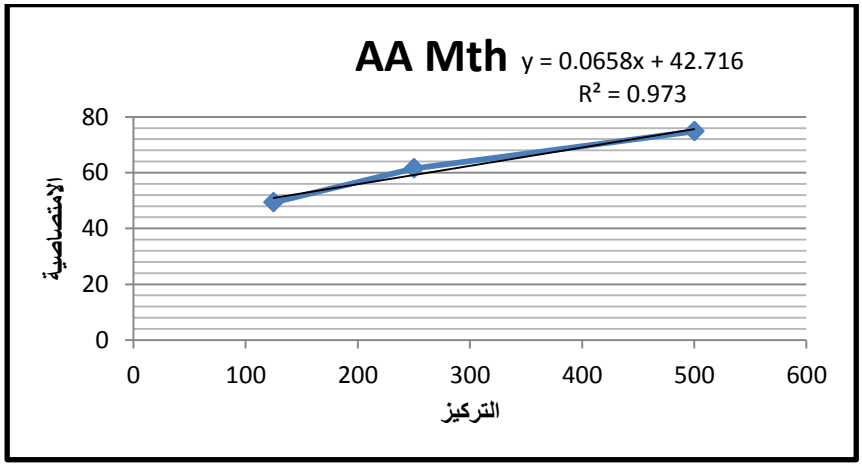
# الملاحق



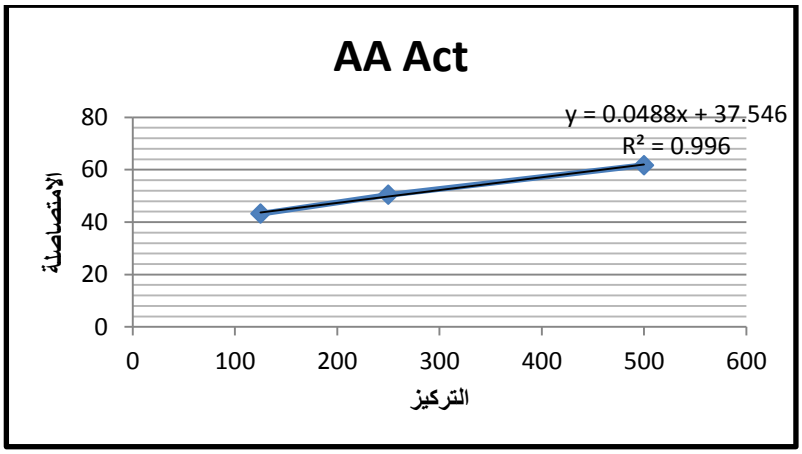

**الملحق( 01): المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك**



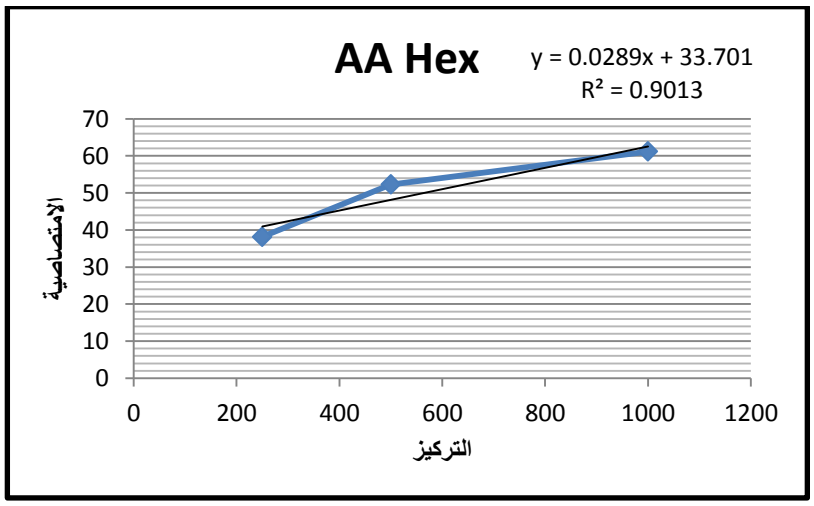

**الملحق ( 02): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة من طرف الزيت الأساسي لنبات *C.arabica***




**الملحق (03): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة من طرف مستخلص الـ Methanol لنبات *C.arabica***




**الملحق ( 04): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة من طرف مستخلص الـ Acetat d'ethyl لنبات *C.arabica***




**الملحق ( 05): منحنى نسبة تثبيط الجذور الحرة من طرف مستخلص الـ Hexane لنبات *C. arabica***

الزيت المستخلص

المستخلصات النباتية المدروسة

ميزان حساس

موقد بنزين

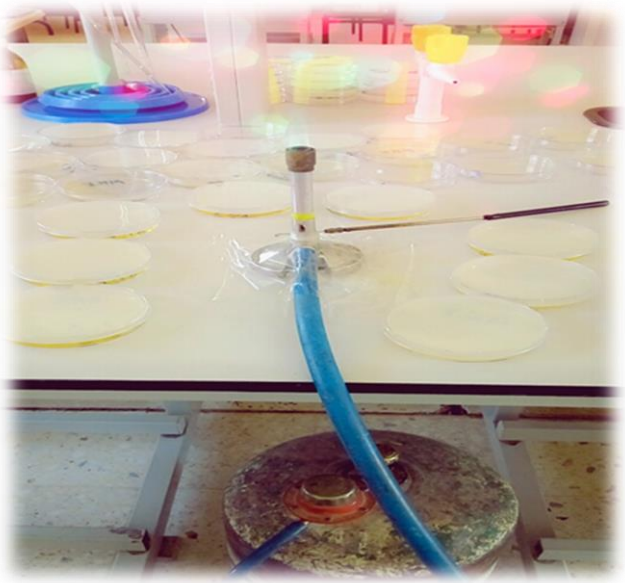
جهاز تعقيم Autoclave

جهاز قياس الامتصاصية الضوئية

الحاضنة

صورة توضح نبات النتينة وهي جافة

تحضير وسط زرع البكتيريا

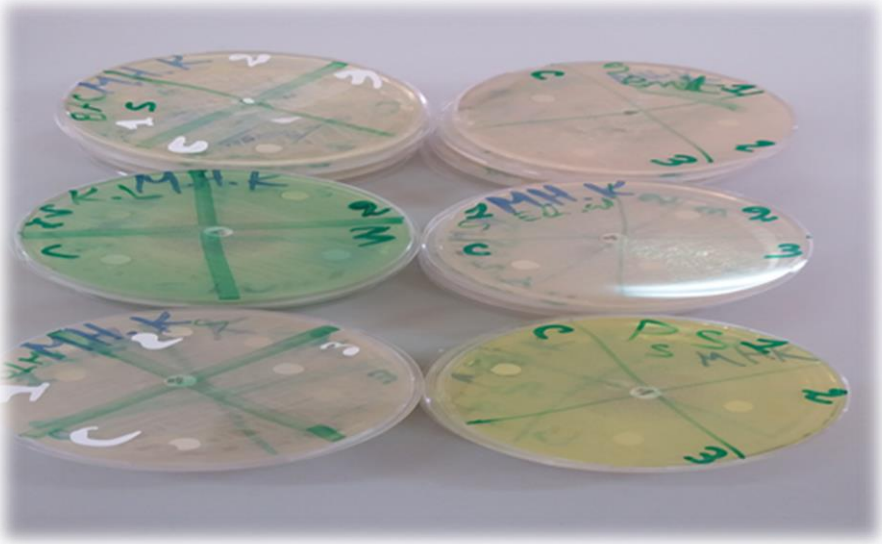


زراعة البكتيريا

أقراص وتمان للدراسة البكتيرية

المضاد الحيوي المستعمل في الدراسة

ماسح قطني



الأنواع البكتيريا المزروعة

**حاضنة خاصة لحفظ البكتيريا**