الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

رقم الترتيب :.....

رقم التسلسلي : .....

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين:

خظور وردة

سعدون يسرى

تحت عنوان:

دراسة القدرة المضادة للأكسدة والنشاط البيولوجي لمستخلصات الميثانولية اثنين من النباتات الطبية التي تنمو في الوادي

(Limoniastrum guyonianum, Cymbopogon citratus)

نوقشت يوم : 2024/06/05 أمام اللجنة المكونة من :

مصباحي محمد عادل	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر–بالوادي	رئيسا
عبادي عبد الرزاق	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر–بالوادي	مناقشا
نغموش نصر صالح	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر–بالوادي	مقررا

السنة الجامعية: 2023 / 2024

إهداء

أهدي ثمرة جهدي المتواضع

إلى من وهبوني الحياة والأمل , والنشأة على شغف

الاطلاع والمعرفة , ومن علموني أن أرتقي سلم الحياة بحكمة وصبرا

براً , وإحساناً , ووفاءً لهما: أبي رحمه الله وأمي أطال الله في عمرها

إلى من وهبني الله نعمة وجودهم في حياتي إلى العقد المتين

من كانوا عوناً لي في رحلة بحثي: أخواني وأخواتي

إلى من كاتفتني ونحن نشق الطريق معاً نحو النجاح في مسيرتنا العلمية,

إلى أختي الصغيرة هنية ورفيقتي دربي: إيناس بقار

وأخيرًا إلى كل من ساعدوني, وكان لهم دور من قريب أو من بعيد في إتمام هذه الدراسة,

سائلة المولى عزوجل أن يجزي الجميع خير الجزاء في الدنيا و الآخرة.

ثم إلى كل طالب علم سعى بعلمه, ليفيد الإسلام و المسلمون

بكل ما أعطاه الله من علم ومعرفة.

وردة ...

إهداء

اهدي ثمرة عملي هذا إلى

من كافح في دنياه فتحمل ويلات الزمان وتجرع علقم السنين فاعتصر الصبر وأخفى ألامه عنا كي لا نشعر

بقسوة الحياة

من علمني الصبر والنجاح وافتقده في مواجهة الصعاب ولم تمهله الدنيا لأرتوي من حنانه وكنت له الأمل

الذي راوده في حياته فحلم ان يراني في مثل هذا اليوم لكن قدره سبحانه حال بينه وبين ذلك

أسئل الله ان يتغمده بواسع رحمته ويدخله فسيح جناته ....أبي

من تعجز كلماتي وتنحني هامتي لعظيم عطائها، شمس حياتي التي لا تغيب، وسبيلي إلى الجنّة

أشد أمة الأرض بأسا، واسماها نفسا، وأدقها حسا، وأرسخها في المكرمات أقداما، وارفعها في الحادثات أعلاما

وأقرها في المشكلات أحلاما، وأمدها في الكرم باعا ورحبها في المجد ذراعا

إلى مشعة النور في ظلمات، نعم الجليس، وخير الأنيس

إليك (يا أُمي) أطال الله في عمرك في صحة وخير حال

رفقاء دربي في هذه الحياة، معكم أكون أنا وبدونكم أكون مثل أي شيء، إلى من أرى التفاؤل بعيونهم

و السعادة في ضحكتهم

إخوتي وأخواتي ياسين مثل أبي، نصر دين، بسمة، أمال وزوجها كمال، حنان وزوجها إلياس وله الشكر الكبير

صديقتي ورفيقتي... إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء إلى كل ينابيع الصدق الصافي

من معهم سعد، وبرفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة سرت إلى من كانوا معي على طريق النجاح

إلى من عرفت كيف أجدهم وعلموني ان لا أضيعهم

بن عمارة سامية

كل أساتذتي وزملائي

سائلة الله العلي القدير أن ينفعنا به و يمدنا بتوفيقه

يسرى...

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين , تبارك وتعالى, له الكمال وحده

والصلاة والسلام على سيدنا محمد نبيه ورسوله الأمين

وعلى سائر الأنبياء والمرسلين

احمد الله تعالى الذي بارك لي في إتمام بحثي هذا

وأتقدم بجزيل الشكر وخالص الإمتنان

إلى كل أساتذتي الأفاضل . الذين كان لهم الفضل في سلوكي هذا الدرب

خاصة أستاذنا الكريم والفاضل نعموش نصر صالح

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة مصباحي محمد عادل

وعبادي عبد الرزاق لقبولهم مناقشة هذه المذكرة

واستفادتنا بتصحيحاتهم ونصائحهم وتوجيهاتهم القيمة

كما تتسع دائرة شكرنا لمختبر المجد في الوادي ومركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية في قسنطينة لدعمهم العلمي و إلى جميع موظفين و عمال المخابر بكلية العلوم الدقيقة

إلى كل الذين أفادوني ولو بكلمة في اعداد هذه المذكرة وكان لهم الفضل في تكويني طيلة السنوات السابقة

إلى كل زملائي وزميلاتي

دون أن أنسى. كل من أعد لي يد العون لانجاز بحثي

هذا لير في الى المستوى المطلوب إنشاء الله

الملخص

تُظهر المستخلصات الميثانولية من أجزاء الساق الهوائية لكل من عشبة الليمون و نبات الزيتة خصائص بيولوجية نشطة هامة. يحتوي مستخلص عشبة الليمون على نسبة عالية من المركبات الفينولية (24 ± 0.069 ميكروجرام GAE/ملغ) والفلافونويدات (16.9 ± 0.33 ميكروجرام QE/ملغ)، مع وجود الكاتيشين، حمض الكلوروجينيك، والساليسين كأهم المكونات. كما يحتوي مستخلص نبات الزيتة على نسبة عالية من الفلافونويدات (185.65±2.66 ميكروجرام QE/ملغ) والمركبات الفينولية (188.085±0.39 ميكروجرام GAE/ملغ)، ويشمل الكيرسيتين، الروتين، الكريسين، وحمض الكافيك. أظهرت كلا المستخلصات نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً، مع نتائج ملحوظة في اختبارات DPPH وABTS وبيتا كاروتين. كما أظهرت تأثيرات مضادة للبكتيريا ضد Escherichia coli وStaphylococcus aureus، ونشاطاً مضاداً للفطريات ضد Thielaviopsis paradox وAlternaria sp.. تبرز هذه النتائج إمكانيات كلا المستخلصين كمصادر طبيعية لمضادات الأكسدة والعوامل المضادة للميكروبات والفطريات.

الكلمات المفتاحية: الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، تحليل LC-MS

ABSTRACT:

The methanolic extracts from Cymbopogon citratus and L.guyonianum exhibit significant bioactive properties. C. citratus extract is rich in phenolics (24 ± 0.069 µg GAE/mg) and flavonoids (16.9 ± 0.33 µg QE/mg), with catechin, chlorogenic acid, and salicin as major components. L.guyonianum extract also has high flavonoid (185.65±2.66 µg QE/mg) and phenolic (188.085±0.39 µg GAE/mg) contents, containing quercetin, rutin, chrysin, and caffeic acid. Both extracts demonstrated strong antioxidant activities, with notable DPPH, ABTS, and β-carotene assay results. They also showed antibacterial effects against Escherichia coli and Staphylococcus aureus and antifungal activity against Thielaviopsis paradox and Alternaria sp. These findings highlight the potential of both extracts as sources of natural antioxidants, antimicrobial, and antifungal agents.

Key words: Flavonoids, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Antifungal activity LC-MSanalys

فهرس المحتويات

المحتويات	
الإهداء	I
شكر و تقدير	III
الملخص	IV
فهرس المحتويات	V
قائمة المختصرات	IX
المقدمة العامة	1
الجزء النظري	
الفصل الأول:دراسة عامة حول نبات الزيتة وحشيشة الليمون	
I.دراسة عامة حول النباتات الزيتة وحشيشة الليمون	5
I .1. النباتات الطبية	5
I .1.1. تعريف النباتات الطبية	5
I .2.1. تصنيف النباتات الطبية	5
I.2.الدراسة النظرية لنبات الزيتة	6
I .1.2. العائلة الرصاصية (Plumbaginaceae)	6
I.2.2.جنس Limoniastrum	6
I.3.2.تسمية النبات	6
I.4.2. الوصف المورفولوجي	7
I .5.2. التصنيف النباتي	7
I.6.2.النمو والازدهار	8
I.7.2.التوزيع والانتشار	8
I.8.2.إستخدمات نبات الزيتة Limoniastrum guyonianum-Dur	8
I.9.2.الدراسات السابقة	8
I.3.الدراسة النظرية لنبات حشيشة الليمون	9
I.1.3.التعريف بنبتة حشيشة الليمون	9
I.2.3.التصنيف النباتي حشيشة الليمون	10
I.3.3.وصف النبات	10
I.4.3.الموطن و الانتشار الجغرافي	10
I.5.3.الخواص والاستعمالات الطبية	10

6.3.I.الدراسات السابقة	11
قائمة مراجع الفصل الأول	
الفصل الثاني: الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة	
II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة	14
1.II. الليبيدات	14
2.II. الأحماض الدهنية	15
3.II. تقسيم الليبيدات	15
4.II. الهيدروبيروكسيدات	15
1.4.II. الأكسدة الآلية	15
2.4.II. الأكسدة الضوئية	15
3.4.II. الأكسدة الإنزيمية: تحدث في وجود إنزيم Lipoxyenase	15
5.II. المركبات المضادة للتأكسد	16
6.II. تعريف الجذور الحرة	16
7. II. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS)	17
8.II.الماء الأوكسجيني H_2O_2	17
1.8.II.جذر الهيدروكسيل $OH^{\cdot}$	18
2.8.II. جذور البيروكسيل $ROO^{\cdot}$	18
3.8.II. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH	18
4.8.II. جذور الألكوسيل $RO^{\cdot}$	18
9.II. مكافحة الجذور الحرة	18
1.9.II. نظام الدفاع داخل العضوية	19
2.9.II. نظام دفاع خارج العضوية	19
10.II. مضادات التأكسد	19
1.10.II. استعمالات مضادات التأكسد	19
2.10.II. النباتات ومضادات التأكسد	19
3.10.II. مضادات التأكسد الطبيعية	20
11.II. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد	20
1.11.II. تحليل المركبات المتأكسدة	21
2.11.II. تحليل البيروكسيدات	21
3.11.II. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد	21

12.II. إجهاد التأكسد: Oxidative stress	22
13.II .المركبات الفينولية	22
1.13.II .تعريف المركبات الفينولية	22
13.II .2. تصنيف المركبات الفينولية	23
1.2.13.II.عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار	24
13.II .2.2. عائلات المركبات الفينولية قليلة الانتشار	24
13.II .3. خصائص المركبات الفينولية	25
14.II.المركبات الفلافونويدات	25
14.II .1.تعريف	25
2.14.II.أهمية الفلافونيدات	26
3.14.II.تصنيف الفلافونيدات	28
14.II .4.الخواص الفيزيوكيميائية للفلافونويدات	29
14.II .5.خصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونويدات	29
قائمة مراجع الفصل الثاني	
الجزء النظري	
الفصل الثالث: المواد والطرق المستعملة	
III الجزء العملي	37
1.III. تحضير العينة	37
2.III. الأجهزة والأدوات و المواد المستعملة لمراحل الاستخلاص	37
3.III. المواد والطرق	38
1.3.III. المواد الكيميائية	38
2.3.III.جمع العينات النباتية	38
3.3.III.استخلاص النبات	38
3.4.III. تحليل (LC-MS-MS)	38
III .4.التحقيقات الكيميائية للنبات:	39
1.4.III.إجمالي محتوى البوليفينول (TPC)	39
2.4.III. محتوى الفلافونويد الكلي (TFC)	39
5.III. النشاط المضاد للأكسدة	39
1.5.III.اختبار DPPH	40
2.5.III. مقايسة β- كاروتين	40

III.5. 3. الكسح الجذري لـ ABTS	40
III.6.التحليل الإحصائي	41
III 7.النشاط البيولوجي	41
III.7.1. بروتوكول الفحص المضاد للبكتيريا	41
III.7.2. نشاط مضاد للفطريات	41
قائمة مراجع الفصل الثالث	
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	
IV. النتائج والمناقشة	44
IV.1.النبتة الاولى الزيتة	44
IV.1.1.تحديدTPCوTFC	44
IV.1.2. تحليلLC-MS	45
IV.1.3. نشاط مضادات الأكسدة	46
IV.1.4. النشاط المضاد للبكتيريا	47
IV.1.5. النشاط المضاد للفطريات	48
IV.2.النبة الثانية عشبة الليمون	50
IV.2.1.إنتاجية المستخلص و الكيمياء النباتية	50
IV.2.2. تحليل LC-MC	50
IV.2.3. نشاط مضادات الأكسدة	51
IV.2.4. نشاط مضاد للميكروبات	51
IV.2.5.النشاط المضاد للفطريات	52
IV.2.6. الكيمياء النباتية	53
IV.2.7. تحليل LC-MS	53
IV.2.8.نشاط مضاد للأكسدة	55
IV.2.9.النشاط المضاد للميكروبات	56
IV.2.10.النشاط المضاد للفطريات	57
قائمة مراجع الفصل الرابع	
خاتمة عامة	X

قائمة المختصرات

BHT	Butylated hydroxytoluene
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
$O_2^{\bullet-}$	Superoxide anion
OH	Hydroxyl radical •
ROS	Reactive oxygen species
FRAP	Ferric reducing ability of plasma
TP	Total polyphenols
RSM	Response surface methodology
ALT	Alanine Transaminase Test
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MBC	Minimum Bactericidal Concentration
BHA	Butylated hydroxyanisole
TBH	Tert-Butylhydroquinone
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
CAT	Catalase

مقدمة عامة

مقدمة عامة

تتمتع العديد من الثقافات حول العالم بتاريخ طويل في استخدام النباتات الطبية في أنظمة الطب التقليدي .وقد لوحظ مؤخرا تقدم غير متوقع في تطبيق الأعشاب في أنظمة الرعاية الصحية الأولية في آسيا وافريقيا [1].يستخدم الآن أكثر من ثلثي سكان العالم النباتات الطبية كمصدر للعلاج؛ ويمكن تفسير هذه الزيادة من خلال قبول الأدوية الطبيعية وتوافقها ومرونتها وتأثيراتها السلبية البسيطة غير الموجودة على صحة الإنسان [2,1] وفي هذا البحث سنتطرق الى دراسة نبتتي الزيتة و عشبة الليمون

ينتمي نبات الزيتة الى عائلة الرصاص هو نبات صحراوي مرن معروف بفوائده الطبية المتنوعة[2,3]. وقد تم استخدامه في أنظمة الطب التقليدي في جميع أنحاء آسيا و إفريقيا لعدة قرون[4]. يحظى النبات بالاحترام بسبب إمكاناته الدوائية, والتي تعزى إلى تركيبته الكيميائية النباتية الغنية[6-4]. يتجه الباحثون وأخصائيون الأعشاب بشكل متزايد إلى مادة **الزيتة** لكشف أسرارها و الاستفادة من خصائصها العلاجية.

يشمل جنس Cymbopogon حوالى55نوعا من الأعشاب, المعروفة باسم عشبة الليمون.يعتبر نبات citratus من أكثر أنواع الليمون المزروعة على نطاق واسع ومعروفة باستخداماتها الطهوية والطبية [7] , موطنه الأصلي المناطق الاستوائية,يتم تقدير عشبة الليمون لنكهتها الحمضية وهي عنصر رئيسي في العديد من المأكولات الأسيوية , من الناحية الطبية , تعرف عشبة الليمون بفوائدها الصحية المحتملة . ويعتقد أيضا أنه يساعد في تقليل الحمى وتخفيف أعراض البرد و الانفلونزا. في السنوات الاخيرة , تم توثيق ودراسة الآف من الأعشاب الطبية لمعرفة مكوناتها النشطة بيولوجيا. ومن بين هذه بأنشطتها الدوائية المتنوعة نظرا لاستخدامه العرقي الدوائي على نطاق واسع, فقد بحثت العديد من الدراسات في تركيبه الكيميائي , والكشف عن الاختلافات القائمة على الأصل الجغرافي.

وتعرف كل من مستخلصات نبات الزيتة وعشبة الليمون بخصائصها المضادة للأكسدة, و المضادة للفطريات, والمضادة للبكتيريا, مما يجعلها ذات قيمة في الأبحاث الطبية الحيوية والصيدلانية[7] . هذه المركبات تجعل من نبات الزيتة وعشبة الليمون موردا قيما في الطب الحديث, حيث تقدم بديلا طبيعيا للأدوية الاصطناعية. وغنياتان بالمواد الكيميائية النباتية المختلفة التي تساهم في خصائصه الطبية وتقييم الأنشطة البيولوجية, وتوصيف التركيب الكيميائي باستخدام للمستخلصات نبات الزيتة و عشبة الليمون الميثانولي من تحليل LC-MS/MS.

الشكل1 . صورة للنبات الزيتة

الشكل 2. صورة للنبات عشبة الليمون

تم الحصول على مستخلص ميثانولي لكل من نبات الزيتية وعشبة الليمون لغرض تحليل محتوى الفلافونويد الكلي، والمحتوى الفينولي، والنشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المضاد للميكروبات. بالإضافة إلى ذلك، هناك القليل جدًا من الأبحاث المنشورة التي تم إجراؤها باستخدام المستخلصات الفينولية لهذه النباتات. كنتيجة مباشرة، قمنا بالتحقيق في الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للنباتات الزيتية وعشبة الليمون الصحراوي.

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص نباتات الزيتة و عشبة الليمون ، حيث يشمل عملنا هذا ما يلي:

جزء نظري الذي يتضمن فصلين:

- ✓ **الفصل الأول:** يشمل دراسة عامة حول نبات الزيتة و عشبة الليمون والدارسات العلمية السابقة حول هذه النبات.
- ✓ **الفصل الثاني:** يدرس طرق مضادات الأكسدة و استعمالاتها و اهم مركبات التي لها قدرة مثالية لي الإجهاد التأكسدي.

و جزء تطبيقي يشمل فصلين:

- ✓ **الفصل الثالث:** ويتضمن الأجهزة والوسائل المستعملة بالإضافة إلى المواد، وخطوات العمل التجريبية لتحديد القدرة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات.
- ✓ **الفصل الرابع:** يشمل النتائج التجريبية المحصل عليها ومناقشتها ومقارنتها مع النتائج المنشورة في المراجع.

وننهي عملنا هذا بخلاصة عامة.

المراجـــــع:

[1] Krifa, M., Bouhlel, I., Ghedira-Chekir, L. and Ghedira, K., 2013. Immunomodulatory and cellular anti-oxidant activities of an aqueous extract of Limoniastrum guyonianum gall. Journal of ethnopharmacology, 146(1), pp.243-249.

[2] Trabelsi, N., Oueslati, S., Falleh, H., Waffo-Téguo, P., Papastamoulis, Y., Mérillon, J.M., Abdelly, C. and Ksouri, R., 2012. Isolation of powerful antioxidants from the medicinal halophyte Limoniastrum guyonianum. Food Chemistry, 135(3), pp.1419-1424.

[3] Zouhaier, B., Najla, T., Abdallah, A., Wahbi, D., Wided, C., Chedly, A. and Abderrazak, S., 2015. Salt stress response in the halophyte Limoniastrum guyonianum Boiss. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 217, pp.1-9.

[4] Oladeji, O.S., Adelowo, F.E., Ayodele, D.T. and Odelade, K.A., 2019. Phytochemistry and pharmacological activities of Cymbopogon citratus: A review. Scientific African, 6, p.e00137.

[5] Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B.O.L.C., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C. and Dicko, M.H., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of Cymbopogon citratus and Cymbopogon giganteus essential oils alone and in combination. Phytomedicine, 18(12), pp.1070-1074.

[6] Blanco, M.M., Costa, C.A.R.A., Freire, A.O., Santos Jr, J.G. and Costa, M., 2009. Neurobehavioral effect of essential oil of Cymbopogon citratus in mice. Phytomedicine, 16(2-3), pp.265-270.

[7] Nambiar, V.S. and Matela, H., 2012. Potential functions of lemon grass (Cymbopogon citratus) in health and disease. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives, 3(5), pp.1035-1043.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة عامة حول نبات الزيتة وعشبة الليمون

I. دراسة عامة حول نبات *الزيتة وعشبة الليمون* :

I .1. النباتات الطبية

I .1.1. تعريف النباتات الطبية :

النباتات الطبية هي التي تحتوي على مواد طبيعية ذات فوائد صحية وعلاجية. وتشمل هذه النباتات مجموعة كبيرة من الأنواع المختلفة التي يتم استخدامها في الطب البديل والتقليدي، تحتوي النباتات الطبية على مكونات طبيعية مثل الألكالويدات والفيتامينات والأحماض الأمينية والزيوت الأساسية والمركبات الفينولية والكربوهيدرات والعديد من المركبات الأخرى التي تعمل على تحسين الصحة والعلاج من الأمراض [1].

يتم استخدام النباتات الطبية لعلاج الكثير من الأمراض المختلفة، مثل الأمراض الجهازية والعصبية والعضلية والهضمية والتنفسية والجلدية وغيرها الكثير. كما يمكن استخدامها لتخفيف الأعراض المرتبطة ببعض الأمراض، مثل الآلام والتهابات الجسم، والأرق، والقلق، والتوتر [2].

تشكل النباتات الطبية جزءاً هاماً من الطب التقليدي والبديل، ويتم تحضيرها واستخدامها بعدة طرق مثل الشاي والمستخلصات والزيوت العطرية والأعشاب والمساحيق والكثير من الطرق الأخرى. ومع ذلك، يجب توخي الحذر عند استخدام النباتات الطبية، حيث يمكن أن تسبب بعضها تفاعلات سلبية مع بعض الأدوية الحديثة والحالات الطبية الخاصة، وينصح بالتشاور مع الطبيب أو الصيدلي قبل استخدامها [3].

يستخدم مصطلح "العقاقير الخام من أصل طبيعي أو بيولوجي" من قبل الصيادلة أو علماء الصيدلة للإشارة إلى النباتات أو أجزاء من النباتات التي لها خصائص طبية [4]. سيتم اختيار الأجزاء الأكثر تركيزًا في المكونات النشطة بحيث يمكن أن تكون النبات بأكمله، أو الأوراق، أو الساق، أو الأغصان، أو القمم المزهرة، أو اللحاء، أو الجذور، أو الفواكه أو الزهور، سواء كانت طازجة أو مجففة [5].

I .2.1. تصنيف النباتات الطبية :

تصنف النباتات الطبية عادة حسب الاستخدام الطبي الذي يمكن الحصول عليه منها. وبشكل عام، يمكن تصنيف النباتات الطبية إلى الفئات التالية:

1- النباتات المسهلة: وهي النباتات التي تستخدم لتخفيف الألم وتهدئة الجهاز العصبي، وتشمل مثل القرفة والكمون والليمون.

2- النباتات المنشطة: وهي النباتات التي تستخدم لتحفيز الجهاز العصبي وزيادة الطاقة، وتشمل مثل الجنسنغ والقهوة والزعتر.

3- النباتات المضادة للالتهابات: وهي النباتات التي تستخدم لتخفيف الالتهابات والألم، وتشمل مثل الزنجبيل والكركم والمرمية.

4- النباتات المضادة للأكسدة: وهي النباتات التي تحتوي على مضادات الأكسدة القوية التي تحمي الجسم من الضرر الناجم عن الجذور الحرة، وتشمل مثل العنب الأسود والأفوكادو والتوت الأحمر.

5- النباتات المضادة للفيروسات: وهي النباتات التي تستخدم لعلاج الأمراض الفيروسية، وتشمل مثل الألوفيرا والشاي الأخضر والكاموميل.

وهناك العديد من النباتات الأخرى التي تستخدم في الطب، وتصنف عادة حسب الخصائص الطبية التي تتميز بها. ويجب الانتباه إلى أن استخدام النباتات الطبية يجب أن يكون بتوجيه من الطبيب المختص، حيث إن استخدامها بشكل غير صحيح يمكن أن يؤدي إلى آثار جانبية خطيرة [6].

I.2.الدراسة النظرية لنبات الزيتة :

I.2.1. العائلة الرصاصية (Plumbaginaceae) :

تنتمي العائلة الرصاصية أو البلمية Plumbaginaceae إلى الرتبة Plumbaginales تضم حوالى836 نوعا نباتيا موزعة على 27 جنسا تتواجد هذه الانواع على هيئة اعشاب وهي حالة نادرة او على هيئةنبات بصفة معمرة او حولية حيث تتوزع هذه الفصيلة من نباتات على نطاق واسع في العالم حيث أن اغلبها تتركز في النصف الشمالي من الكرة الارضية وخاصة في الاماكن الجافة والقاحلة أي بعبارة اخر، تتوزع في الاماكن الصحراوية ذات نسب الجفاف عالية وقليلة تساقط الامطار. كما اوضح مجموعة من العلماء في عدت مقالات علمية على أن هذه الفصيلة نباتاتها تحبذ النمو في التربة ذات الملوحة العالية مثل المسطحات المالحة ومناطق سواحل البحر خاصة سواحل البحر الابيض المتوسط ومناطق غرب اسيا. في الجزائر ينمو منها 34 نوع نباتي مصنفة ضمن 4 اجناس اغلبيتها تنتمي إلى جنس Limoniumالذي يضم 23 نوع وبقية الانواع تنتمي إلى جنس Armeria الممثل ب 6 أنواع Limoniastrum الذي يشمل 4 أنواع و Plumbago الذي به نوع واحد.

I.2.2.جنس Limoniastrum :

نباتاته معمرة، بأوراق كاملة أو مسننة، لحمية، جلدية الى حد ما أزهارها وردية أو أرجوانية, لهذا الجنس توزيعا واسعا في المناطق المعتدلة وشبه إستوائية وعلى السواحل الداخلية والسهوب المالحة. وتختلف تقديراته بعدد أنواعه تقريب إلى 23 نوعا كما له دورا في تثبيت الكثبان الرملية (KALED BEN ,2018),حيث تحتوي أوراقه على عامل مضاد للفطريات وضد C.albican وضد البكتيريا E.coli وتحتوي على مواد مضادة للأكسدة وتستخدم عادة في عالج التهابات المعدة (CHERITI et ,2007 BELBOUKHARI) , كما له أهمية اقتصادية و بيئية -PABLOFERRER

I.2.3. تسمية النبات:

يوجد عدة تسميات لنبات الزيتة وذلك لاختلاف أماكن تواجدها والثقافات المختلفة ولهجات المتنوعة حيث يعرف في الجزائر وتونس بالزيتة (Zeïta) أو(Zita) كما يعرف في بعض المناطق الجزائرية بحنة الابل(Hanet al-ibel) وفي مناطق من الجنوب الشرقي من المغرب ب Tirremt أو Zeyata بينما عند قبائل ليبيا يعرف ب Alzaia ، وحسب الموسوعات العلمية العالمية فان التسمية العلمية الدقيقة L.guyonianum

الشكل .I. 1. صورة للنبات الزيتة

I.4.2. الوصف المورفولوجي:

الزيتة هي شجيرات معمرة كثيرة التفرع طولها يتعدى 1 متر وهو نبات مغطى بطبقة كلسية بارتفاع(20–40)سم, السيقان الحديثة خضراء أسطوانة, تحمل أوراقها متبادلة وشبه إسطوانة عرضها (30-50) مم وهي خضراء لحمية تظهر وكأنها محببة وخشنة الملمس، تتكون أزهارها من سبلات على محور متعرج تكون وردية أو حمراء بنفسجية تتجمع في نورة قمية متفرعة و تمتلك نظاما جذريا واسعا وعميقا يعيش في تربة شديدة الملوحة، ينتشر في جميع أنحاء شمال الصحراء الجزائرية والتونسية، نادرة في الصحراء الغربية و الوسطى ،كما انه مقام للملوحة وينمو على حواف الشطوط المالحة, ويزدهر في فصل الربيع ولها خصائص في إزالة الجذور الحرة لأنها تعتبر من النباتات الطبية يحتوي الجزء الهوائي على نسبة عالية من مادة البولي فينول وعلى نواتج الايض الثانوي بما فيها فلافونويدات و الفينولات و التانينات المكثفة مما يكسبها نشطا كليا مضادا للأكسدة.

I .5.2. التصنيف النباتي :

يوضح (الجدول01) التصنيف النباتي لنبات الزيتة (L. guyonianum)

الجدول01.التصنيف النباتي لنبات الزيتة (L. guyonianum)

الفئة التصنيفية	Scientific classification	Taxonomic category
المملكة	Plantae	Kingdom
الشعبة	Spermaphytes	Division
تحت الشعبة	Angiosperms	Subdivision
القسم	Dicotyledons	Class

الرتبة	Plumbaginales	Order
الفصيلة	Plumbaginaceae	Family
الجنس	Limoniastrum	Genus
النوع	Limoniastrum guyonianum Dur	Specie
الاسم الشائع	zeita الزيتة	Common name

I.6.2.النمو والازدهار:

الزيتة من الاشجار دائمة الخضرة طوال العام تزهر في فصل الربيع بين شهري أفريل وماي

I.7.2.التوزيع والانتشار:

نبات ينمو فقط في العروق الشمالية للمنطقة, ونادرا ما يصادف في العروق الجنوبية, مستوطن في شمال إفريقيا, حيث يتواجد في تربة المالحة و الرملية, كما يتواجد في شط ملغيغ في الصحراء الجزائرية.

I.8.2.إستخدمات نبات الزيتة Limoniastrum guyonianum-Dur :

❖ استخداماته العالجية:

يستخدم الجزء الهوائي لنبات في عالج التدفق الدموي, كما يستعمل مع قشور نبات الرمان ككمدات لجروح وعالج فقر الدم والزكام والإمساك.

❖ استخداماته الصناعية:

يدخل هذا النبات في صناعة مضادات الأكسدة الاصطناعية مثل BHT و BHA وعلى نطاق واسع في صناعة الأغذية المسؤولة عن تلف خلايا السرطانية .

I.9.2.الدراسات السابقة:

بينت الدراسة التي قامت بيها TRABELSI وزملائها (2013) لمحتويات الفينول والأنشطة البيولوجية ل Limoniastrum guyonianum التي تم الحصول عليها عن طريق الفصل اللوني بالطرد المركزي بأن جميع أجزاء L. guyonianum تحتوي على محتويات عالية كبيرة من البوليفينول و الفلافونويدات والعفص المكثف , أيضا مضاد للأكسدة قلل من أكسدة بيتا كروتان بواسطة hydroperoxides كما أظهرت أن جميع أجزاء النبات لها القدرة مضادة ل Anti-

amyloidogenic المسؤول عن مرض الزهايمر, بالإضافة إلى نشاطه المضاد للبكتيريا, وترجع قوة مضادات الأكسدة لمشتقات Catechin و Phenolic acids و خاصة Epigallocatechin-3-O-gallate.

أظهرت الدراسة التي قام بها BEN KHALED وزملائه (2018) حول التوصيف الكيميائي وتأثيرات نقص السكر في الدم والوقاية بواسطة مستخلص الأوراق المائية من L. guyonianum على متلازمة التمثيل الغذائي التي يسببها الفركتوز في الفئران, بأن مستخلص الاوراق يمتلك قدرات مخفض لسكر في الدم ومخفض الدم ودهون الدم ومضاد للأكسدة والقدرة على حماية الكلى ضد متلازمة التمثيل الغذائي التي يسببها الفركتوز في الفئران[7].

قدمت دراسة HADJADJ وزملائها (2020) في تكوين البولي فينول والنشاط المضاد للأكسدة لنبات tripartite Searsiaو Limoniastrum guyonianum النامية في جنوب شرق الجزائر حيث توصلت إلى أن المستخلص الميثانولي لنبات الزيته يحتوي أعلى كمية من البولي فينول والعفص، بينما كان الفلافونويد أعلى في جزء أسيتات الإيثيل، و بإستخدام تحليل HPLC وجود خمسة مستقلبات فينولية من فئة الفلافونويد، بالإضافة على قدرته كمضاد أكسدة معتبر[8].

بينت الدراسة قام بها (2012) TRABELSIوزملائها حول تقييم مضادات الاكسدة لمستخلص الخام والأقسام المائية وخلات الإيثيل في نبات L.guyonianum, أظهرت الدراسة مرحلة أسيتات الإيثيل نشاطا كبير في مضادات الأكسدة بواسطة إختبار DPPHحيث أدت تجزئة هذا المستخلص عن طريق الفصل الكروماتوغرافيا بالطرد المركزي CPC بالاستخدام أنظمة المذيبات الرباعية الى عشرة كسور وتم تقسيم هذه الكسور باستخدام نفس الاختبارات السابقة و أظهرت الدراسة 8 أجزاء لها أعلى سعة لمضادات الأكسدة و القدرة على إزالة الجذور الحرة DPPH و إرجاع الحديديك FRAP، كما انه مضاد للأكسدة، بالإضافة الى وجود ثلاث فلافونويدات مهمةGallocatechin -Epigallocatechin, . O-gallate3-

أثبتت الدراسة التى قام بها BARHOUMI (2015) وزملائه حول مسح المجهر الإلكتروني وتحليل الأشعة السينية لغدد ملح الأوراق من نبات L.guyonianum تحت ملوحة كلوريد الصوديوم بعد ثلاثة أشهر في تربة رملية مع أو بدون الكلوريد، بأن تم إفراز الملح في تلك الحالتين، والنبات الذي خضع لمعالجة الكلوريد الصوديوم أدت إلي زيادة في عدد فجواتها وحجمها وكثافة العضيات وخاصة الميتوكندريا ، أما التي لم تعامل بالملح وجدت ذو فجوات قليلة الحجم والعدد[9].

I.3.الدراسة النظرية لنبات عشبة الليمون:

I.1.3.التعريف بنبتة عشبة الليمون:

عشبة الليمون عشبة ذات رائحة عطرية جميلة, يصل ارتفاعها حوالي متر ونصف, ذات أوراق نصيلة رفيعة وسوقا متفرعة الأزهار. تعرف علميا باسم Cymbopogon citratas من فصيلة النجيليه Gramineae. وموطن عشبة الليمون جنوبي الهند وسريلانكا وتزرع حاليا في المناطق المدارية حول العالم[10].

I.2.3.التصنيف النباتي عشبة الليمون :

الإسم العلمي: Cymbopogon citratas

الإسم الشائع: Lemon grass

إسم العائلة: Gramineae

I.3.3.وصف النبات :

عشبة الليمون نبات عشبي معمر مستديم الخضرة يتبع العائلة النجيلية يظل في الأرض مدة تصل إلى (10) سنوات له أوراق طويلة ملساء السطح تحتوى على زيت عطري رائحته تشبه رائحة الليمون يزرع في بعض الأماكن كنبات زينة ومن الممكن وجوده على حواف الترع في مصر[11].

I.4.3.الموطن و الانتشار الجغرافي:

الهند ومدغشقر, وينمو في المناطق المدارية من اسيا وماليزيا وجنوب شرقي اسيا وفي كاليفورنيا , يزرع في كثير من البلدان في اسيا و افريقيا و امريكا وبعض الدول العربية مثل سوريا ومصر والسودان والمملكة العربية السعودية[12].

I.4.3.الخواص والاستعمالات الطبية :

تتمتع الاوراق والزيت الطيار بخواص مسكنة ومهدئة , ومضادة للاقياء ,طاردة للغازات وما يصاحبها من اضطرابات معدية ومعوية. ويتمتع الزيت الطيار بما يحويه من مركبي الدهيد السيترال و الميرسين بخواص مضادة للالتهاب ,ومضادة للبكتيريا والفطريات . دلت البحوث على تأثير الايجابي لعشبة الليمون في القضاء على الخلايا السرطانية ويستخدم مغلي الاوراق شعبيا, كمدر معتدل للبول , ومقوي للجسم , ومزيل لرائحة العرق ,يفيد في علاج أمراض الكلى والجهاز الهضمي , وطارد للديدان الحلقية , يعمل على تخفيض ضغط الدم المرتفع. تستخدم عجينة الأوراق موضعيا في الحد من الصداع وعلاج للالتهابات الجلدية, وحب الشباب, والآلام العصبية والروماتزم المزمن, والتواء المفاصل وآلام العضلات, وآلام العصب الوركي Iumbago .

I.3.5.الدراسات السابقة:

لقد حظي Cymbopogon citratus، المعروف باسم عشبة الليمون، باهتمام كبير في البحث العلمي بسبب تركيبته الكيميائية النباتية الغنية وأنشطته البيولوجية المتنوعة. يتميز الزيت العطري لعشبة الليمون بتركيزات عالية من السترال (الذي يشمل نيرال وإبرة الراعي)، والجيرانيول، والميرسين، وهي المسؤولة بشكل أساسي عن خصائصه العطرية وإمكاناته العلاجية. أثبتت الدراسات الشاملة القدرة المضادة للأكسدة القوية لمستخلصات عشبة الليمون من خلال فحوصات مختلفة مثل DPPH (2،2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل)، ABTS (2،2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) و FRAP (قوة الحديديك المضادة للأكسدة)، مما يشير إلى فعاليته في تحييد الجذور الحرة والحماية من الإجهاد التأكسدي (أبو بكر، 2009) [12].

تمت دراسة الخصائص المضادة للبكتيريا لـ Cymbopogon citratus على نطاق واسع، مما كشف عن تأثيرات مثبطة كبيرة ضد مجموعة من البكتيريا المسببة للأمراض بما في ذلك المكورات العنقودية الذهبية، والإشريكية القولونية، والسالمونيلا التيفية. وتعزى هذه التأثيرات إلى المحتوى العالي من السيترال الذي يعطل أغشية الخلايا البكتيرية ويمنع نموها [13]. بالإضافة إلى ذلك، تم التحقق من صحة النشاط المضاد للفطريات لزيت عشبة الليمون ضد أنواع مثل Aspergillus niger، Candida albicans، و Trichophyton mentagrophytes، مما يدل على إمكاناته كعامل طبيعي مضاد للفطريات [14].

بالإضافة إلى خصائصه المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة، يستخدم Cymbopogon citratus على نطاق واسع في الطب التقليدي والعلاج العطري. يتم استخدامه لتأثيراته المسكنة والمضادة للالتهابات والمهدئة، مما يجعله مفيدًا في علاج حالات مثل الصداع وآلام العضلات واضطرابات الجهاز الهضمي. غالبًا ما يستخدم شاي عشبة الليمون للتخفيف من مشاكل الجهاز الهضمي وكمدر للبول لتعزيز وظائف الكلى [15]. علاوة على ذلك، فإن رائحته اللطيفة وخصائصه المهدئة تجعله خيارًا شائعًا في العلاج العطري لتقليل التوتر وتحسين الحالة المزاجية. تسلط هذه التطبيقات متعددة الأوجه الضوء على الإمكانات العلاجية الكبيرة لـ Cymbopogon citratus، مما يعزز أهميتها في كل من البحث العلمي وممارسات العلاج التقليدية [16].

قائمة مراجع الفصل الأول

1 Ralte L, Bhardwaj U, Singh Y (2021) Traditionally used edible Solanaceae plants of Mizoram, India have high antioxidant and antimicrobial potential for effective phytopharmaceutical and nutraceutical formulations. *Heliyon* 7(9) : e07907. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07907

2 De Medeiros PM, Soldati GT, Alencar NL, Vandebroek I, Pieroni A, Hanazaki N, Albuquerque UP (2012) The Use of Medicinal Plants by Migrant People : Adaptation, Maintenance, and Replacement. *Evidence-based Complementary And Alternative Medicine* 2012 : 1-11. https://doi.org/10.1155/2012/807452

3 Pandey A, Kumar PS, Saxena M, Maurya P (2020a) Distribution of aromatic plants in the world and their properties. Dans : Elsevier eBooks. p 89-114

4 Kamaruddin ZH, Jumaidin R, Selamat MZ, Ilyas RA (2021b) Characteristics and Properties of Lemongrass (*Cymbopogan Citratus*) : A Comprehensive Review. *J Nat Fibers* 19(14) : 8101-8118. https://doi.org/10.1080/15440478.2021.1958439

5 Hussain A, Kausar T, Rehman A, Batool A, Saleem M, Musharraf TM, An Q, Fatima H, Yaqub S, Gorsi FI, Haroon H, Arif M (2023) Evaluation of the Phytochemical and Medicinal Value of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*), by Conversion into Powders and Extracts to Develop a Nutritional Bakery Product. *Future Integrative Medicine* 2(3) : 129-140. https://doi.org/10.14218/fim.2023.00033

6 Kiani HS, Ali A, Zahra S, Hassan ZU, Kubra KT, Azam M, Zahid HF (2022) Phytochemical Composition and Pharmacological Potential of Lemongrass (Cymbopogon) and Impact on Gut Microbiota. *AppliedChem* 2(4) : 229-246. https://doi.org/10.3390/appliedchem2040016

7 Kazemi A, Iraji A, Esmaealzadeh N, Salehi M, Hashempur MH (2024) Peppermint and menthol : a review on their biochemistry, pharmacological activities, clinical applications, and safety considerations. *Crit Rev Food Sci Nutr* : 1-26. https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2296991

8 Du X, Zhao M, Wang S, Li J, Zhang J, Liu D (2023) Ethnopharmacology, chemical composition and functions of *Cymbopogon citratus*. *Chin Herb Med*. https://doi.org/10.1016/j.chmed.2023.07.002

9 Reungsuwat S, Sookkhee S, Itthidecharon C, Wanachantararak P (2023) Investigation of Cajuput and Lemongrass Essential Oils Supplemented in Alcohol-Free Mouthwash : Anti-Inflammation on Human Gingival Fibroblast Cells In Vitro. *Trends In Sciences* 20(8) : 6752. https://doi.org/10.48048/tis.2023.6752

10 Ti H (2021) Phytochemical Profiles and their Anti-inflammatory Responses Against Influenza from Traditional Chinese Medicine or Herbs. *Mini-Rev Med Chem* 20(20) : 2153-2164. https://doi.org/10.2174/1389557520666200807134921

11 Sharifi-Rad M, Varoni EM, Salehi B, Sharifi-Rad J, Matthews KR, Ayatollahi SA, Kobarfard F, Ibrahim SA, Mnayer D, Zakaria ZA, Sharifi-Rad M, Yousaf Z, Iriti M, Basile A, Rigano D (2017) Plants of the Genus Zingiber as a Source of Bioactive Phytochemicals : From Tradition to Pharmacy. *Molecules* 22(12) : 2145. https://doi.org/10.3390/molecules22122145

12 Kumar S, Abedin MM, Singh AK, Das S (2020) Role of Phenolic Compounds in Plant-Defensive Mechanisms. In: Lone, R., Shuab, R., Kamili, A. (eds) Plant Phenolics in Sustainable Agriculture . Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_22

13 Tuladhar P, Sasidharan S, Saudagar P (2021) Role of phenols and polyphenols in plant defense response to biotic and abiotic stresses. Dans : Elsevier eBooks. p 419-441

14 Rahardiyan D (2018) Antibacterial potential of catechin of tea (*Camellia sinensis*) and its applications. *Food Research* 3(1) : 1-6. https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(1).097

15 Taylor PW, Hamilton-Miller JMT, Stapleton P (2005) Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull* 2(7) : 71-81. https://doi.org/10.1616/1476-2137.14184

الفصل الثاني

الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة :

ينتج الإجهاد التأكسدي باختلال التوازن بين طلائع المؤكسدات ومضادات الأكسدة، حيث يمثل طلائع المؤكسدات الأنواع النشطة المشتقة من الأكسجين والنتروجين، التي يتم إنتاجها بصورة دائمة من طرف الخلايا خاصة على مستوى الميتوكوندري خلال عملية التنفس الخلوي، وفي الخلايا الداخلية للأوعية بتنشيط إنزيم xanthine oxidase وفي حالة ارتفاع حموضة الدم(acidose) خلال الأكسدة الذاتية للكاتيكولامينات (catecholamines) خلال الالتهاب بواسطة إنزيم NADPH oxidase و myeloperoxidase وخلال اضطراب استقلاب الكالسيوم [1] .

1.II. الليبيدات :

هي مركبات عضوية غير قطبية ذات ملمس دهني، حيث تضم عدة مركبات تختلف من حيث التركيب الكيميائي والوظيفة، وتشترك من حيث بأنها شحيحة الذوبان في الماء، ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل البنزين، والإيثر، والكلوروفورم وغيرها...، للليبيدات (الدهون) عدة وظائف نذكر منها:

- مخزنات طويلة الأمد للطاقة، وتعطي عند إحتراقها كمية من الطاقة أكبر من السكريات.
- وله وظيفة تركيبيه في الخلية، حيث يدخل في تركيب الغشاء الخلوي، حيث تكون الطبقة المزدوجة التي تحافظ على سلامة الخلية والعضيات...
- لا يحتاج تخزين المادة الدهنية إلى الماء نظرا لطبيعتها الكارهة للماء، عكس ما يحدث في السكريات البروتينات.
- بعض المواد الدهنية عبارة فيتامينات، ومساعدات إنزيم.
- الكثير من الليبيدات لها دور هرموني.
- الليبيدات أو الدهون تضم في غالبيتها أسترات لأحماض دهنية بالإضافة إلى الستير ولات، إن أهم مكونات الليبيدات هي الأحماض الدهنية، والتي تحدد الكثير من خصائص المادة الدهنية.

2.II. الأحماض الدهنية :

هي عبارة عن أحماض عضوية تحتوي من 4 الى 36 ذرة كربون، لكن المنتشرة منها تحتوي من 12 إلى 24 ذرة كربون، وخاصة تلك المحتوية على 16 و 18 ذرة كربون المستخدمة لصنع المركبات ثلاثية الجليسيرول . وهي تحتوي على مجموعة كربونيل واحدة في سلسة غير متفرعة وهي نوعان:

أ)- المشبعة: وهي التي لا تحوي روابط مزدوجة، صيغتها العامة $C_nH_{2n}O_2$.

ب)- غير المشبعة: وهي التي تحوي رابطة مزدوجة أو أكثر صيغتها العامة $C_nH_{2n-x}O_2$ ، حيث x يمثل عدد الروابط المزدوجة في الحمض الدهني.

في الوسط المتعادل تكون الأحماض الدهنية الحرة متأينة(متشردة) بنسبة عالية، وذلك لأن ثابت التأين لمجموعة الكاربوكسيل منخفض pka= 4.8، وفي الحالة الطبيعية تكون الأحماض الدهنية مرتبطة بصورة أسترات كحولية أو أميدية ، مما يفقدها صفة التأين.

تختلف الأحماض الدهنية في خواصها الفيزيائية (قابلية الذوبان، نقطة الانصهار)، حيث يقل الذوبان وترتفع نقطة الانصهار بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية، بينما يقلل وجود الروابط المزدوجة من نقطة الانصهار. وتكون الأحماض الدهنية المشبعة في الحالة الصلبة عند درجة حرارة الغرفة (25°C)، بينما تكون الأحماض غير المشبعة في صورة سائلة عند نفس الدرجة.

$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$

حمض الاوليبك(غير مشبع)OLIEC ACID

$CH_3-CH_2-CH=CH-CH=CH-CH=CH-(CH_2)_7-COOH.$

حمض اللينولينيك(غبر مشبع)LINOLIEC ACID

$CH3-(CH_2)_{14}-COOH$

حمض البالمتيك(مشبع) PALMETIC ACID

II.3. تقسيم الليبيدات :

تقسم الدهون إلى عدة أقسام حسب تركيبها الكيميائي، أو حسب درجة القطبية (الكراهة للماء)، ومن الناحية الوظيفية تقسم الدهون عادة إلى دهون خزنيه وتركيبية (مكونة للأغشية).

II.4. الهيدروبيروكسيدات :

تتشكل الهيدروبيروكسيدات في الأنظمة التي تحوي الأحماض الدهنية غير المشبعة، حسب ثلاثة طرق مختلفة وذلك حسب طبيعة الوسط والعوامل المحفزة لتفاعل الأكسدة [2].

II.4.1. الأكسدة الآلية :

هي التفاعل اللحظي والآني للجذور الحرة مع المركبات العضوية غير المشبعة المحفزة من طرف درجة الحرارة والشوارد المعدنية والجذور الحرة[3].

II.4.2. الأكسدة الضوئية :

هو تفاعل أكسدة الليبيدات المحتوية على الأحماض الدهنية نتيجة تعرضها للضوء (خصوصا الأشعة الفوق البنفسجيةUV)، وفي وجود مستقبلات الضوء مثل (الكلوروفيل، مركبات الهيم) [4]

II.4.3. الأكسدة الإنزيمية: تحدث في وجود إنزيLipoxyenase [5]

أثناء عملية الأكسدة الآلية تكون التفاعلات متعلقة فيما بينها، ونوع الفعل المحفز أثناء تعاقب التفاعلات التي تنقسم إلى ثلاثة(03) أطوار هم:

الطور الابتدائيInitiation

طور الانتشارPropagation

طور الانتهاءTermination

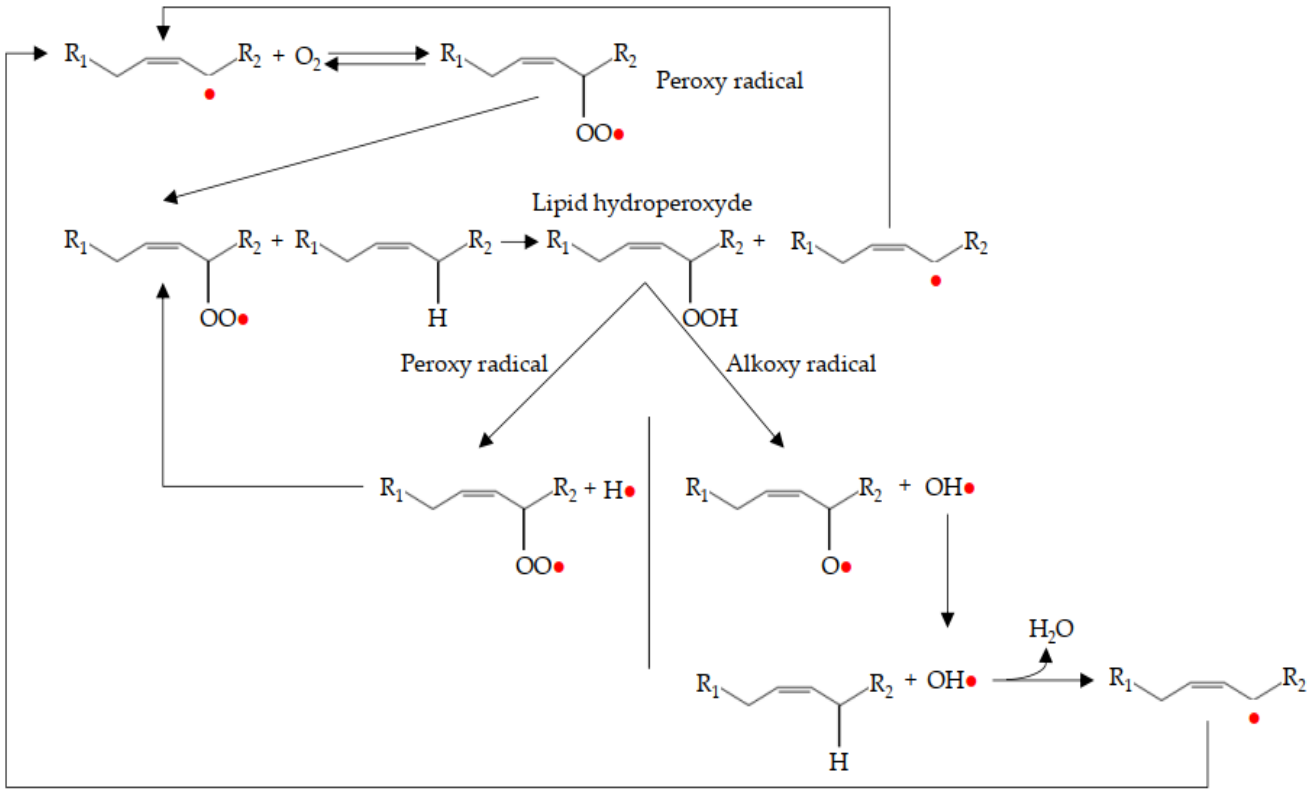
حيث نميز:

اختفاء متفاعلات الأكسدة (الأوكسجين، الحمض الدهني).

ظهور مركبات أو نواتج أولية للأكسدة (البيروكسيدات).

ظهور مركبات أو نواتج ثانوية ناتجة عن الاتحادات انطلاقا من البيروكسيدات.

الشكل 1.II. يوضح تسلسل هذه المراحل .



الشكل II. 1.تفاعل أكسدة الليبيدات

5.II. المركبات المضادة للتأكسد :

تعتبر تفاعلات الأكسدة الإرجاعية عملية مهمة جدا في الحياة اليومية ولجسمنا خصوصا أثناء عملية التنفس، حيث أن جزيء الأوكسجين له القابلية لاكتساب إلكترون وينتج كذلك طاقة على شكل ATP، للأسف هذه العملية لا تتم أو لا تعمل دائما بنفس الشكل والسبب في ذلك يعود إلى تشكل مركبات سامة ذات إلكترونات عزباء تعرف باسم الجذور الحر.

6.II. تعريف الجذور الحرة :

الجذر (غالبا ما يطلق عليه اسم الجذر الحر) عبارة عن ذرة أو مجموعة ذرات تحوي إلكترون أعزب أو أكثر. الجذور الحرة يمكن أن تكون ذرات أو جزيئات ذات شحنة موجبة أو سالبة أو عديمة الشحنة، وتعتبر كوسيط مهم في بعض التفاعلات البيوكيميائية، فهي تتمتع بنشاط كبير.

هنالك عدة أنواع من الجذور الحرة، ولكن أهم الجذور الحرة الموجودة في الأنظمة البيولوجية (بصفة عامة الكائن الحي) مصدرها الأوكسجين أو مشتقة من الأوكسجين، ومعروفة باسم المركبات الأوكسجينية النشطة ROS والتي نرمز اختصارا بالرمز :

Reactive Oxygen Substances ، وذلك بسبب وجود زوج إلكتروني في المدار الخارجي لجزيء الأوكسجين، مما يجعل له قابلية تشكيل الجذور الحرة، أي يحدث أنه يحدث تفاعل إرجاع للجزيئات.

II .7. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS) [6]

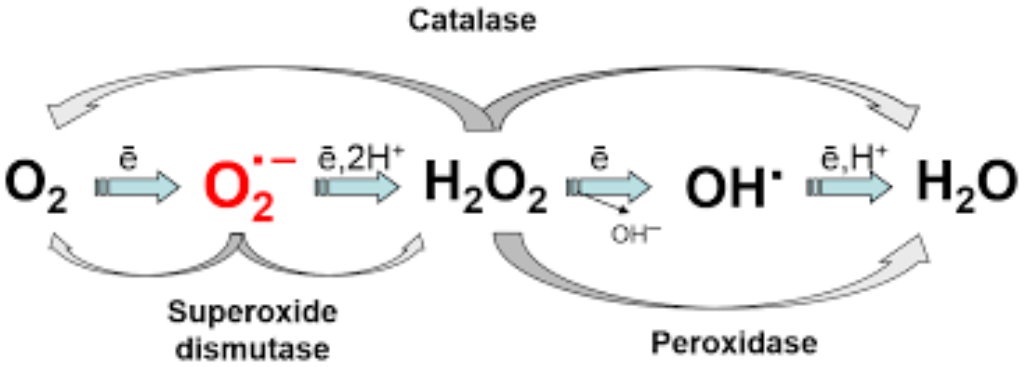
جذر سيبرالبيروكسيد $O_2^{\cdot -}$:

يعتبر جذر نشط وله عدوانية كبيرة، ويمكن أن يتفاعل في وسط حمضي لينتج وفي وجود محفز إنزيمي وهو SOD وفق المعادلة التالية:

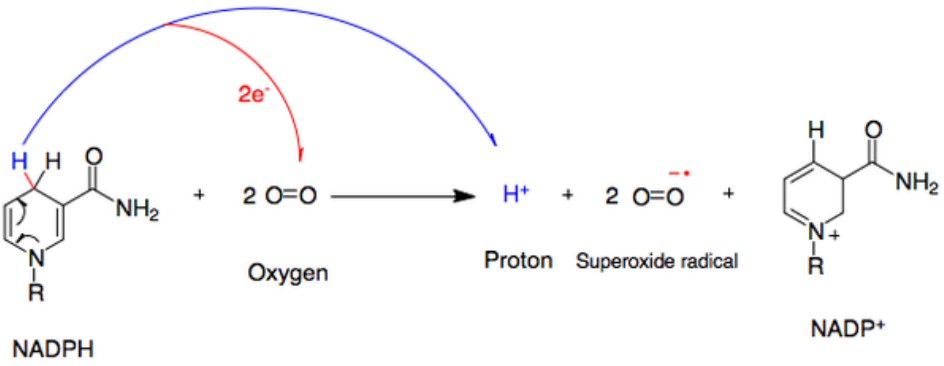
$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{(SOD)} H_2O_2 + O_2$$

يمكن أن يتشكل الجذر السابق في وجود:

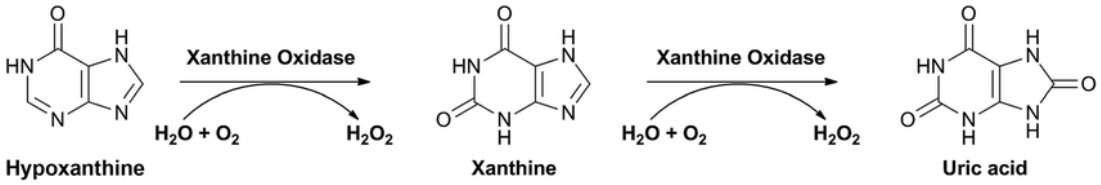
-الإنزيم سيتوكروم اوكسيداز الميتوكندري:



- اوكسيداز:



-**النظام الانزيمي:** Xanthine / Xanthine oxydase



II.8.الماء الأوكسجيني: H_2O_2

يتشكل وفق المعادلة (1) هذا المركب الأوكسجيني النشط، محب للماء يمكن أن يتفاعل في وسط مائي ويعتبر سام جدا.

II.1.8. جذر الهيدروكسيل $OH^{\cdot}$:

من أهم الجذور غير المستقرة والأكثر فعالية ونشاط بالمقارنة مع باقي المركبات الأوكسجينية النشطة ROS يمكن أن يتشكل وفق الآليتين التاليتين:

-تفاعل: Fenton

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\circ}$$

- تفاعل Haber-Wiessh

وهو تفاعل بطيء.

$$Fe^{3+} + \cdot O_2^- \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$$

Total Reaction net:

$$\cdot O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + \cdot OH$$

II.2.8. جذور البيروكسيل $ROO^{\cdot}$:

ممكن أن تكون جذور حرة، يمكن كذلك أن تتوزع داخل الأغشية البيولوجية، يتم الحصول عليها بتفاعل الجذور الحرة الكربونية $R^{\cdot}$ مع جزيء الأوكسجين .

II.3.8. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH :

عبارة عن متفاعلات تتفكك ثانية إلى جذور البيروكسيل أو إلى جذور الألكوسيل .

II.4.8. جذور الألكوسيل $RO^{\cdot}$:

نشط جدا يتم الحصول عليه من تفكك البيروكسيدات العضويةعدة دراسات أثبتت أن ROS تؤكسد الليبيدات، البروتينات، الإنزيمات والـ ADN تسبب عدة أمراض كالسرطان وأمراض القلب والشرايين.... [8-7] .

تعتبر الأغذية المحتوية على الليبيدات حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة الآلية. هذا التفاعل اللحظي (الآني) لليبيدات أو الأحماض الدهنية مع الأوكسجين يؤدي تغير المادة الغذائية من حيث اللون والرائحة والطعم، بسبب الأكسدة ويمكن للجذور الحرة أن تفقد المادة الغذائية من قيمتها الغذائية بالتفاعل مع الفيتامينات بالخصوص مع الفيتامين vit E[9]

II.9. مكافحة الجذور الحرة :

لمكافحة هذه الجذور المؤذية فان جسمنا يستعين ببعض المركبات الجزيئية المضادة للتأكسد لها القدرة للتفاعل مع الجذور الحرة، وبذلك تضع حدا لتفاعل الجذور بدون أن تتلف المادة الحية. حيث أن كل جزيء من مضادات التأكسد يمكن أن تتفاعل مع جذر واحد فقط، ولهذا يجب توفير كبر عدد من مصادر مضادات التأكسد[10].

يملك جسم الإنسان نظامين من مضادات التأكسد تسمح بتعديل إنتاج هذه الجذور والحد من أضراره.

II.1.9. نظام الدفاع داخل العضوية :

والذي يتشكل من الإنزيمات التي تتفاعل فيما بينها لتشكل نظام ضد التأكسد مثل غليتاتيون أوكسيداز Gluthathion oxidase، الكاتالاز Catalase و سيبراوكسيد ديسميتاز Superoxyde dismutase

II.2.9. نظام دفاع خارج العضوية :

يمكن الحصول عليه من الجزيئات الناتجة عن الأغذية الغنية بمضادات التأكسد مثل الفيتامينات C، E و كذلك الفيتامين A و BHT، BHA و البوليفينولات[11].

II.10. مضادات التأكسد :

مضادات التأكسد هي جزيئات لها القدرة على تثبيط على أكسدة الجزيئات وتعمل على تأخير مدة أكسدة الليبيدات، وتستعمل حاليا في بعض الأغذية منزوعة الماء أو التي يتواجد بها بكمية متوسطة من الماء [12].

II.1.10. استعمالات مضادات التأكسد :

هناك عدة مركبات عضوية جزيئية حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة، لهذا من الضروري إضافة بعض المركبات التي بها خاصية التثبيت السريع للأوكسجين الهوائي والتي تساهم هي الأخرى في حماية فعالة.

مضادات التأكسد هذه أو مضادات الأكسحين إن صح التعبير، مستعملة بشكل كبير في الصناعة الغذائية نذكر على سبيل المثال لا الحصر التوكوفورلات، التي تتواجد في الطبيعة من خلال الزيوت والأجسام أو المواد الدهنية ذات الأصل الحيواني [13].

إذا فمضادات التأكسد تستعمل من أجل استباق عملية الأكسدة التي يحدثها بصفة عامة وجود الأوكسجين.

يمكن القول إن الفعل المضاد للأوكسجين احتمال أن يحدث بطريقتين:

أ)-بإزالة العوامل التي تساعد في عملية التأكسد من درجة حرارة و الأوكسجين وتركيز المحفزات (المعادن والإنزيمات) ووجود الضوء.

ب)-إضافة محفز عكسي الذي يوقف التفاعل في مرحلة الانتشار، معناه إضافة مضاد للأوكسجين، يمكن أن يكون مركب طبيعي (الفا توكوفرول، حمض الأسكروبيك) أو مركب اصطناعي أشتق من الفينولات[14].

درست المركبات المضادة للتأكسد والتي يكون مصدرها اصطناعي من حيث سميتها عند الحيوان، من بين النتائج المتحصل عليها أن هذه المركبات لها تأثير على الرئة والمعدة والغدة الدرقية وتحدث مرض السرطان ولها كذلك نتيجة سلبية على صحة الإنسان [15]

ومن بين هذه المركبات الاصطناعية التي تستعمل كمضادات للتأكسد وكذلك كمضادات للبكتيريا بسبب فعاليتها الكبيرة نذكر منها BHT، TBH،BHA [16].

II.2.10. النباتات ومضادات التأكسد :

تتميز المركبات الفينولية بخصائص مضادة للتأكسد (مثل الفلافونويدات ومشتقات حمض السياميك..) التي يمكن أن تستخلص من النباتات والتي كانت محل عدة دراسات [17].

وجد كذلك أن النباتات بمختلف أنواعها يمكن أن تحوي كمية كبيرة من من مضادات التأكسد مثل vit E و vit C والكارنتويدات ..، رغم أغلب المقالات العلمية ترجح أن السبب في الفعل المضاد للتأكسد سببه وجود المركبات الفينولية مثل

الفلافونويدات[17]، والأحماض الفينولية والفينولات ثنائية التربين [18]، فإن بعض الدراسات أثبتت أن النباتات التي لا تحوي المركبات الفينولية يمكن أن يكون لها أثر أو فعل مضاد للتأكسد .

فتوجد عدة دراسات أنجزت في السنوات الماضية لنشاط بعض النباتات الطبية المثبط للأكسدة التي تحدث في وجود الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل و وشرسبة سيبر اوكسيد والبيروكسيدات[19-18].

النشاط المضاد للتأكسد لعدة فواكه والشاي درست بشكل كبير في عدة مقالات علمية [20-19] وأشاروا فيها أن الفعل المضاد للتأكسد لهذه النباتات مصدره وجود فيتامينات مثل الفيتامين C، بيتا كاروتان أو الفلافونويدات، وحسب Abaga et al [21] فان مزيج من عدة مضادات التأكسد التي هي من أصل طبيعي الموجودة في الفواكه والخضر يمكن أن يكون له فعالية أحسن من أن يستعمل مضاد واحد فقط للتأكسد، أو مزيج بسيط من حمض الاسكوربيك والفا توكوفيرول وبيتا كاروتان.

بعض الفواكه والخضر تحوي مجموعة من مضادات التأكسد ليس لها نشاط عالي فقط بل فهي تتميز بنوعية عالية جدا على سبيل المثال دراسة أنجزت من قبل Abaga et al سنة 1998 أثبت فيها أن مستخلص عصير العنب يمكن أن يملك حماية عالية لتأكسد الليبوبروتينات liporotiene[22]، من جهة أخرى متعددات الفينولات الموجودة في مستخلصات نداء البحر romarin هي السبب في نشاطها المضاد للتأكسد في زيت الزيتون وزيت tournesol، كذلك معروف أن زيت الرانتج لعباد الشمس يملك نشاط مضاد للتأكسد مرتفع بالمقارنة مع زيت الرانتج لندى البحر ولكن اقل نشاط من BHT و BHA [23].

كما نشر Yin Chen سنة 1998 أن استعمال النباتات التي تنتمي إلى عائلة alliaceae يمكن أن تعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في المواد الغذائية ممكن جد [24].

وأخيرا أثبتت النتائج المتحصل عليها من طرف Varder et al سنة 2003 أن الزيت الطيار للزعتر Thymus pectinatus يمكن أن يعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في الأغذية[24].

II.3.10. مضادات التأكسد الطبيعية :

توجد عدة مضادات التأكسد ذات المصدر الطبيعي، نذكرمنها :

أ)–حمض الأسكوربيك أو الفيتامين Vit C :

يملك عدة خصائص إلى جانب قدرته الكبيرة المضادة للتأكسد فهو مضاد للزكام، وله القدرة كذلك على تعديل الجذور الحرة وتكوين النيتروز أمين[25].

ب)–التوكوفيرول او الفيتامين Vit E:

يستعمل بكثرة في مواد التجميل لما له من خصائص مضادة للتأكسد على مستوى الأغشية (الجلد)، فهو مفخخ للجذور الحرة[26].

ج)– بيتا كاروتان β-carotene :

الذي يملك تسعة روابط مضاعفة مترافقة فله إمكانية تحفيز الوظيفة المناعية للجسم، وذلك بتجميد عمل الجذور الحرة حيث يقوم بتعطيل عملية الأكسدة الضوئية[27].

II.11. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد:

أكسدة الليبيدات والنشاط المضاد للتأكسد يتعلق أو مرتبط بالوسط وتركيبه ومكوناته ودرجة الحرارة والمحفزات (الإنزيمات والمعادن مثل الحديد ..).

عدة طرق استعملت لتحديد حالة أكسدة غذاء [28]نذكر منها :

II.11.1. تحليل المركبات المتأكسدة :

والتي تتم بـ :

معايرة الأحماض الدهنية التي لم تتأكسد والمتبقية خصوصا بالكروماتوغراقيا الغازية.

II.11.2. تحليل البيروكسيدات:

وذلك بـ:

حساب نسبة البروكسيد بواسطة معامل البيروكسيد(IP) .

- تحديد الدينات المترافقة بواسطة المطيافية فوق البنفسجية UV.
- تحليل المركبات الثانوية الناتجة عن عملية الاكسدة بالطرق التالية:

أ) –بمعايرة المركبات الالديهيدية بواسطة اختيار حمض ثيو باربوتيريك TBA

ب) –معايرة الأحماض المؤكسدة بقياس وفصل باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

ج) –قياس المركبات الطيارة باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية.

من خلال ما سبق نستنتج أنه لا توجد طريقة معينة ومحددة لتقويم فعالية مضادات التأكسد، فلكل هدف طريقة خاصة به تميزه عن الأخرى، فتقويم حالة أكسدة المادة الغذائية، ينجز بعدة تقنيات تعتمد أساسا على الكروماتوغرافيا الغازية و المطيافية فوق البنفسجية [29]، والرنين النووي المغناطيسي والكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة HPLC.

وطريقة النشاط المضاد للتأكسد الكلية، أو القدرة على إلغاء أو حذف كل منابع الجذور الحرة، هذه الأخيرة يمكن أن تقاس بعدة طرق من بينها:

قياس القدرة الامتصاصية للجذور الحرة الأوكسجينية ORAC [30]

II.11.3. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد:

كما ذكر سابقا فان المصادر الطبيعية لمضادات التأكسد جلبت اهتمام الباحثين، فتعددت الدراسات ومن ثمة تعدد الطرق المستعملة في الكشف عن النشاط المضاد للتأكسد، من بين هذه الطرق أو الاختبارات Test والخاصة ببعض المستخلصات النباتية والمركبات الطبيعية والاصطناعية نذكر:

–اختبار TBA TBA assay [30]

–اختبار TBARS TBARS assay [31]

–إختبار TBARS المعدلة TBARS assay Modified [32-31]

-نظام حمض اللينوليك [33] acid linoliec system

-نظام بتا كاروتان / حمض اللينوليك [34] β-carotene/linoliec acid system

-اختبار DPPH [35] DPPH assay

-طريقة التيوسيانات[36]thiocyanat method

-طريقة الدينات المترافقة [31] conjugated dienne method

-اختبار تغير لون بيتا كاروتان [37] β-carotene bleaching test

-تفخيخ الجذر الحر DPPH [35] scavenging effect on DPPH

-اختبار DPPH بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة [38]DPPH assay by TLC

II.12. إجهاد التأكسد: Oxidative stress

كما سبق ذكره الجذور الحرة لها أثر سلبي على الصحة، والتي مصدرها الأوكسجين، بسبب مصادرها الداخلية والخارجية التي تسبب سهولة ظهورها، من الأسباب الخارجية نذكر التلوث الدخان الناتج عن السجائر، الأوزون الأشعة فوق البنفسجية UV، من جهة أخرى المصادر الداخلية تأتي من الأغذية التي تحوي مركبات مؤذية كالبيستسيدات Ppesticide، والمواد المطهرة Detergent، والمياه الملوثة.... الخ.

تصبح هذه الوضعية أكثر تعقيدا عندما تصبح الأنظمة داخل Endogene وخارج العضوية Exogene لا تكفي لحماية الجسم أخطار تهدده بسبب المركبات الأكسجينية النشطة ROS التي سبق التعرف عليها والأخطار التي يمكن أن تسببها، هذا الاختلال في التوازن يسبب إجهاد التأكسد [39].

يعرف إجهاد التأكسد كناتج عدم التوازن بين نظام الدفاع ضد التأكسد Antioxidant وأنظمة الإنتاج للمركبات المؤكسدة pro-oxidants ، لصالح هذه الأخيرة كنتيجة لعدم التوازن هذا يمكن أن تسبب أضرار للخلية، ويمكن كذلك أن تسبب أضرار لل ADN، وتسبب طفرة لها علاقة بأمراض القلب، السكر [40].

II.13. المركبات الفينولية :

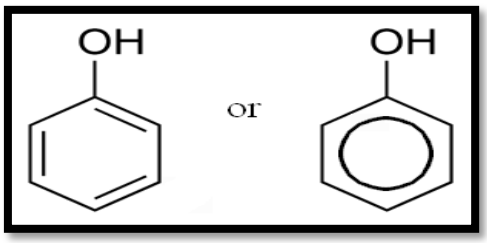
II.13. 1. تعريف المركبات الفينولية :

وفقا لجرموني (2009)، تعتبر المركبات الفينولية أكثر المركبات إنتشاراً في المملكة النباتية، تملك المركبات الفينولية القدرة على الحماية من أشعة الشمس (الأشعة الفوق البنفسجية) والأجسام الغريبة على النبات، حيث تتكون بنيتها الأساسية من أحماض فينولية بسيطة وتتميز بحلقة عطرية أو أكثر من ذلك وترتبط بوظيفة هيدروكسيلية حرة أو أخرى مثل : الإثير أو الأستر.

غير أن هذا التعريف الكيميائي الصرفي للفينولات يعد غير كافياً لتحديد المركبات الفينولية النباتية، حيث يوجد مركبات منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف لكنها تنتمي إلى مجموعات فيتو كيميائية مثل بعض القلويدات كالمورفين، وبعض

التربينات كالتيمول[41]. ، التي تضم في بنيتها حلقة عطرية ومجموعة هيدروكسيل فينولية ، مما يتطلب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة وعلية يكون تعريف المركبات الفينولية الأدق على النحو التالي:

مشتق غير أزوتي يمكنه تكوين حلقة أو حلقات من أيض حمض الشيكيميك (Acide shikimique), أومتعدد الأسيتات (poly acetates) .



الشكل II. 2.. الصيغة الكيميائية لمركب الفينول

II.13. 2. تصنيف المركبات الفينولية :

يوجد الكثير من المركبات الفينولية التي قسمت إلى مجموعات وتصنيفات متعددة، حيث تم تصنيفها من طرف العالم (dacosta) عام2003وفق بنيتها إلى مجموعات: [42].

الأحماض الفينولية، الفلافونيدات ، التانينات والصابونيات.

وهناك تصنيف اخر يقوم تقسيم المركبات الفينولية حسب إنتشارها ومدى تعقيدها الذي قام به العالمان (simmonds, harbome) عام 1964 حيث الفينولات البسيطة وهي فينولات قليلة الانتشار ، أحماض فينولية ، الفلافونيدات الكومارينات وهي قليلة الانتشار واخرى مركبات فينولية على شكل بوليمرات. [43].

الجدول التالي يبين ذلك:

يضم قسم المركبات الفينولية حوالي 8000 مركب مقسمة إلى عدة أصناف، بعض منها مدون في الجدول:

الجدول II. 1. أصناف المركبات الفينولية وبعض مصادرها من النبات

الهيكل الأساسي	الصنف	أمثلة	بعض المصادر
C_6	الفينولات البسيطة	Catéchol	في عديد الأنواع
C_6-C_1	أحماض البنزويك	p-hydrxobenzioque	الفراولة
C_6-C_3	أحماض السيتاميك الكومارينات	Acide caféique Acide férulique Scopolétine	البطاطا، التفاح الليمون
C_6-C_4	النافتوكينون	Juglone	الجزر
C_6-C_2-C_6	الستلبينات	Resvératrol	الكروم
C_6-C_3-C_6	الفلافونيدات	Catéchine Naringénine Daidéine	الفواكه الحمراء الخضر، التفاح، العنب

	الأيزوفلافونيدات		السوجا
$(C_6-C_3)_n$	اللقنين		أنواع الفواكه

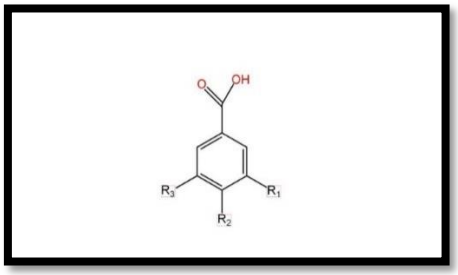
في ما يلي سنأخذ المركبات الفينولية الأساسية :

II.13. 1.2.عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار:

الأحماض الفينولية:

- الأحماض الفينولية هي مركبات واسعة الانتشار وتملك هذه المركبات وظيفة كربوكسيلية واحدة على الأقل (COOH) وتشتق من حمضين أساسين وهما: حمض البنزويك (acide benzoique) أو حمض السينامیك (Acide cinnamique) .[44]
- الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:

تملك البنية التالية (C6-C1) وتكون حرة أو غير حرة أو مثل حالة السكريات أو الأستر.

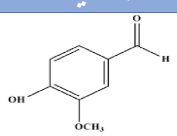
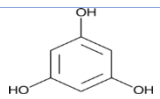


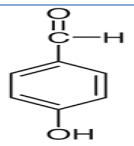
. **الشكل II. 3**. الهيكل الأساسي الأحماض الفينولية مشتقة من الحمض البنزويك

II.13. 2.2. عائلات المركبات الفينولية قليلة الانتشار:

الأحماض الينولية تملك بنية بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، في غالب تكون مكونات الزيوت الطيارة ونلخص في مايلي المركبات الفينولية قليلة الانتشار من الهيكل (C6 -C1),(C6 -C2) ، في الغالب عبارة عن كحولات والدهيد وكيتونات ونماذج على ذلك في الجدول التالي :

الجدوال II. 2.نماذج المركبات الفينولية من الهيكل (C6 -C1),(C6 -C2)

الإسم	الصيغة
4-Hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde	
Bezene-1.3.5-triol	

4-hydroxybezaldehyde	

II.13. 3. خصائص المركبات الفينولية :

الفيزيائية والكيميائية :

- الفينولات تنحل أساساً في المذيبات العضوية القطبية، وايضاً في المحاليل هيدروكسيد الصوديوم والكربونات الصوديوم.
- الأحماض الفينولية تذوب في المحاليل القطبية العضوية وفي الأوساط الحمضية المخففة.
- الفينولات لديها قابلية لتأكسد بسهولة خاصة في المحاليل القلوية وغير أن الأحماض السينامیك تعطي تركيبات تظهر تحت تأثير الإشعاعات فوق البنفسجية.
- الأحماض الفينولية تنحل وتذوب بواسطة كربونات الهيدروجين.

البيولوجية والعلاجية لأحماض الفينولية:

- أظهرت الدراسات أن الأحماض فينولية خصائص بيولوجية مهمة جداً حيث تعتبر هي ومشتقاتها من المركبات النشيطة ويتمل بعض هذا النشاط حافظة للحرارة ، مضادات الالتهاب، مطهرة للمجاري البولية.
- تملك الأحماض الفينولية مواد فعالة لعلاج الكثير من الأمراض الخطيرة مثل مضادات الالتهاب ،سلطانات،الفيروسات ، للأكسدة ،مكافحة للحساسية، مكافحة للجراثيم.
- نذكر بعض الأحماض التي لها فعالية علاجية عالية (Acide Gallique , Acide Caféique) وهما مركبان تتميز بنشاطها العالي ضد البكتيريا والفطريات، الفيروسات وتعتبر مضادات الأكسدة قوية
- حمض الفيرليك وحمض الغاليك تأثيرهما عالي اتجاه سرطان الرئة الذي أثبت فاعليته على فئران التجارب.

الكيميائية للأحماض الفينولية:

- الأحماض الفينولية تنحل بواسطة كربونات الهيدروجين.
- ستخلص الأحماض الفينولية بمذيبات عضوية في الوسط حمضي مخفف ، كل الصيغ المستبدلة للمركبات الفينولية تذوب في الماء وتعد غير ثابتة.
- كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة ،حيث أن أحماض سينامیك تعطي تراكيب تظهر تحت الأشعة فوق البنفسجية.

II.14. المركبات الفلافونويدات :

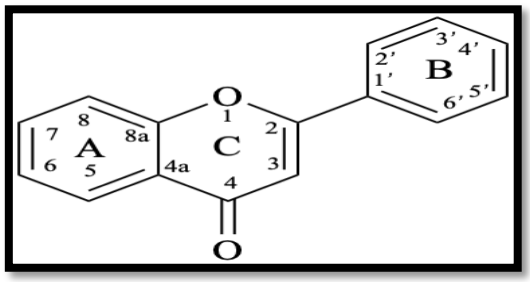
II.14. 1.تعريف :

- تعتبر مركبات طبيعية ناتجة من عملية الايض الثانوي وتكون على شكل صبغات متواجدة في جميع أجزاء النبات (الأوراق، أزهار، الجذور) وغيرها .

تم اشتقاق إسمها من (flavus) وتعني باللاتينية اللون أصفر ويمثل مصطلح عام لكثير من المركبات الفينولية التي أكتشفها العالم (Albert ,szent-gyorgyi) لأول مرة الذي صنفها بأنها فيتامين P .

تتواجد الفلافونويدات بشكل ممركز في القسم الهوائي لنبات، و في داخل الخلية على شكل غليكوسيدات حويصلية قابلة لذوبان في المذيبات العضوية أما الفلافونويدات قابلة لذوبان في المذيبات الغير القطبية تكون متواجدة في سيتوبلازما الخلية، وهي أحد أهم الأقسام المركبات الفينولية [45].

تتوضع الفلافونويدات على الأنسجة السطحية للأوراق عندما تكون في صورتها أجليكونات (aglycones) لنبات التي تنمو في المناطق المعتدلة، في حالة نباتات التي تنمو في مناطق الحارة وجافة فتكون ملازمة لمواد مفرزة هي الأخرى ليبوفيلية. تحتوى الفلافونويدات على 15 ذرة كربون في هيكلها الرئيسي الموزعة في الهيكل (C_6-C_3-C_6) حيث تتصل بحلقة (A) بالحلقة(B) وهما حلقتين متجانستين بحلقة (C) غير متجانسة وتحتوى على ذرة أكسجين .



. الشكل II. 4. البنية الأساسية للفلافونيدات

II.14. 2.أهمية الفلافونيدات :

➢ دور البيولوجي والعلاجي:

يمكن تلخيص بعض الفعاليات البيولوجية الهامة في مايلي[46]:

- من خلال الدراسات أظهرت لها تأثير كبير على خلايا السرطانية وحيث الفولافونات والفلافونولات الميتوكسيلية تأثيرات قوية على الخلايا سرطان البلغوم الأنفي والأورام لويس.
- تعتبر الفلافونويدات مضادات تشنج اذا يعتبر (Quercétine ,Kaenférole luteoline) وبعض مشتقاتها مؤثرة على العضلات الملساء .
- الفلافونيدات لها تأثير مضاد للإ لتهاب وذلك أن بعض الأمراض المتميزة بزيادة النفاذية أو بضعف الشعيرات يمكن أن تعالج بمستخلصات اليمون الغنية بالفلافونيدات.
- _ تعتبر كأدوية للعجز الوريدي، إذا تعتبر منشطات للأوردة، وفي نفس الوقت تقلل نفاذية الأوعية الدموية، فتأثيرها على جدار الأوعية وكذا خواصها المضادة الالتهاب وهي أصل استعمالها في التطبيب كحاميات أوعية أو مقومات وريدية.
- تقوم بمعالجة تورم الساقين نتيجة الاحتباس الماء في الجسم.
- تحمي من ارتفاع ضغط الدم.

- تقوم بحماية الأوعية الدموية والكبد.
- تمنع التجلط القلب وذلك بتثبيت الظواهر المسبب لذلك وتقليل انسداد العضلة القلب.

دورها الفيسيولوجي:

- تملك الفينول تركيبة متعددة تمنحها دوراً هاماً في سلاسل الأكسدة الإرجاعية وبعضها ضد المؤكسدات وإذ يظهر مفعولها في الترابط المعقد للمعادن الداخلية في عمليات الأكسدة[47].
- المركبات الفلافونيدية تحتوي على مجموعات كثيرة من مركبات الفينولية التي لها القدرة تثبيت على بعض البروتينات والإنزيمات وبعد ذلك تقوم بتغير التوازنات الإنزيمية، لها تدخلات في مراحل أخرى مختلفة للتطور وخاصة عند التلقيح.

دورها في التغذية:

- تملك مركبات الفلافونويدات دوراً اساساً في النظام الغذائي وحيث أظهرت الدراسات أن البشر يجب أن يستهلكوا من (50 إلى 800مغ) يومياً وذلك بالاستهلاك كميات كبيرة من الفواكه والخضروات الورقية والمشروبات مثل الشاي، عصير الحوامض مثل الليمون، البرتقال [48]..

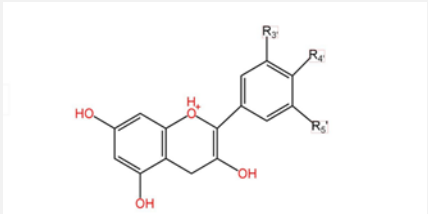
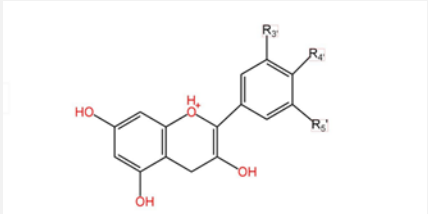
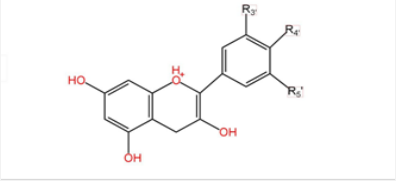
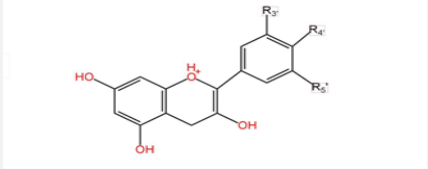
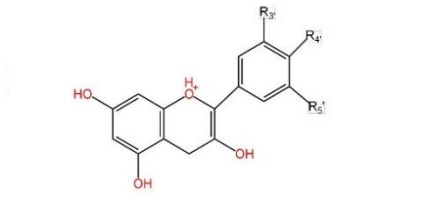
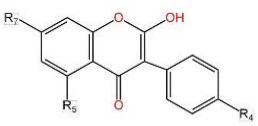
دورها في النبات:

- تقوم بجذب الطيور والحشرات المساعدة لها في عملية التلقيح.
- تقوم على حماية النبات من الجراثيم المؤذية لها.
- تحمي النبات من الأشعة الشمس الحارقة وحيث تتراوح طول الموجي للأشعة البنفسجية (315-280mm).

II.14. 3.تصنيف الفلافونويدات :

تنقسم إلي عدة أنواع ذلك بتميزها بعدد من المستبدلات المختلفة طبيعيتها و موضعها وتتوضح في الجدول التالي:

. الجدول II. 3 يوضح تصنيف الفلافونويدات

التصنيفات	الصيغ الكيميائية	'3	'4	'5	الأمثلة
Flavones		OH	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH_3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthhocyanidines.		**H**	**OH**	**H**	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflqvones		R5	R7	R4	
		OH	OH	OH	Genisteine

Daidzeine	OH	O-GLU	H		

II.14. 4.الخواص الفيزيوكيميائية للفلافونويدات :

- الفلافونويدات هي مركبات فينولية اذا تملك الصيفة الحامضية ضعيفة فهي تذوب في المحاليل القاعدية بشكل قوي مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH .
- تتصف الفلافونويدات التي تتصل بعدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة بالصفة قطبية وعليه فإن دوابنيتها في المذيبات القطبية مثال على ذلك الإيثانول والماء، سيلفوكسيد الأستون، في وجود السكريات تكون ذوابنيتها في الماء أفضل [49].
- الفلافونويدات الأقل قطبية تذوب في الإيثروالكلوروفورم مثال على ذلك: إلايزوفلافونات، الفلافونويدات التي ترتبط بيها عدد كبير من مجموعات الميثوكسيل .

II.14. 5.خصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونويدات :

إضافة إلى دورها المعروف في إعطاء لون ورائحة للنبات تعمل هذه المركبات على مراقبة نمو وتطور النبات من خلال التداخل بطريقة معقدة مع هرمونات النمو النباتية ودورها الأساسي في حمايته من البكتيريا والفطريات[49].

تحتوي على العديد من الأدوية التي استخدمت قديماً والنباتات الطبية على الفلافونويدات كمركبات فعالة بيولوجياً، غالباً ما توصف الفلافونويدات النشطة حيويا ببيوفلافونويدات لقدرتها الكبيرة من الناحية الدوائية فمثلا هي:

- ✓ مضادات للفيروسات وللسرطان والالتهاب ومضادة للهميستامين.
- ✓ تمنع النزيف وتورم الساقين نتيجة الاحتجاز الماء بالجسم.
- ✓ تحمي من ارتفاع ضغط الدم.
- ✓ تحمي الكبد والأوعية الدموية.
- ✓ تنشط الأوعية والأوردة وتجعلها قوية ضد الأمراض القلبية الوعائية.
- ✓ تقلل من الإصابة خطر انسداد عضلة القلب وتثبيط ظواهر التجلط.

قائمة مراجع الفصل الثاني

1. Gramza, A.; Korczak, J.; Amarowicz, R., Tea polyphenols-their antioxidant properties and biological activity-a review. *Polish Journal of food and nutrition sciences* **2005,** 14, (3), 219.
2 . Sinaga, M. S.; Tambun, R.; Rahmadani, D.; Mardhiyani, F. D. In *The effect of amount of hydrogen peroxide on utilization of unsaturated fatty acids from avocado seeds waste into sourcing of raw materials in the making of epoxy compounds*, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2021; IOP Publishing: p.012112
3 . Porter, N. A.; Caldwell, S. E.; Mills, K. A., Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* **1995,** 30, (4), 277-290.
4 . Josephy, P. D.; Eling, T.; Mason, R. P., The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3, 5, 3', 5-'tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates. *Journal of Biological Chemistry* **1982,** 257, (7), 3669-3675.
5 . Leshem, Y.; Wurzburger, J.; Grossman, S.; Frimer, A., Cytokinin interaction with free radical metabolism and senescence: Effects on endogenous lipoxygenase and purine oxidation. *Physiologia plantarum* **1981,** 53, (1), 9-12.
6 . Liu, H.-N.; Pei, M.-S.; Wei, T.-L.; Yu, Y.-H.; Guo, D.-L., Molecular cloning and expression analysis of hydrogen peroxide sensors under H2O2 and ROS inhibitor treatment in 'Kyoho'grape berry. *Postharvest Biology and Technology* **2021,** 180, 111617.
7 . Liochev, S. I., Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine* **2013,** 60, 1-4.
8 . Wu, D.; Cederbaum, A .I., Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol research & health* **2003,** 27, (4), 277.
9 . Savard, C., Le stress oxydatif est-il responsable de la toxicité des mycotoxines sur le système reproducteur mâle?
10 . Goddio, A., Oxygen derived free radicals in plastic surgery—therapeutic interest of fighting free radicals: the superoxide dismutases. *European Journal of Plastic Surgery* **1989,** 12, (3), 111-116.
11 . Farouk, S.; Al-Amri, S. M., Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2019,** 180, 333-347.

12 . Razzaghi-Asl, N.; Garrido, J.; Khazraei ,H.; Borges, F.; Firuzi, O., Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry* **2013,** 20, (36), 4436-4450.

13 . Suzuki, K., Anti-oxidants for therapeutic use: why are only a few drugs in clinical use? *Advanced Drug Delivery Reviews* **2009,** 61, (4), 287-289.

14 . Bin, Z.; Feng, L.; Yan, Y., Biomimetic metalloporphyrin oxidase modified carbon nanotubes for highly sensitive and stable quantification of anti-oxidants tert-butylhydroquinone in plant oil. *Food Chemistry* **2022**, 132898.

15 . Lee, T.-J.; Kim, S.; Cho, H.-J.; Lee, J.-H., The incidence of thyroid cancer is affected by the characteristics of a healthcare system. *Journal of Korean medical science* **2012,** 27, (12), 1491-1498.

16 . Ito, N ;.Fukushima, S.; Tsuda, H., Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *CRC Critical reviews in Toxicology* **1985,** 15, (2), 109-150.

17 . Li, H.-B.; Wong, C.-C.; Cheng, K.-W.; Chen, F., Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology* **2008,** 41, (3), 385-390.

18 . Ch, S.; Dave, R., In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* **2009,** 3, (13), 981-996.

19 . Tiwari, O. P.; Tripathi, Y. B., Antioxidant properties of different fractions of Vitex negundo Linn. *Food Chemistry* **2007,** 100, (3), 1170-1176.

20 . Pękal ,A.; Dróżdż, P.; Biesaga, M.; Pyrzynska, K., Evaluation of the antioxidant properties of fruit and flavoured black teas. *European journal of nutrition* **2011,** 50, (8), 681-688.

21 . Abaga, A.-G. E. Valorisation non alimentaire des huiles de friture usagées en tant que biolubrifiants. Université de Lorraine, 2013.

22 . Abaga, J. O. The Steroid Hormone Corticosterone Decreases Paraquat Toxicity in Swiss-Webster Mice. Mankato State University, 1998.

23 . Kahl, R.; Kappus, H., Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung und-forschung* **1993,** 196, (4), 329-338.

24 . Chen, Y.; Le Cahérec, F.; Chuck, S. L., Calnexin and other factors that alter translocation affect the rapid binding of ubiquitin to apoB in the Sec61 complex. *Journal of Biological Chemistry* **1998,** 273, (19), 11887-11894.

25 . Ahmed, E. A.; Omar, H. M.; Ragb, S. M.; Nasser, A. Y., The antioxidant activity of vitamin C, DPPD and L-cysteine against cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* **2011,** 49, (5), 1115-1121.

26 . Mosca, A.; Crudele, A.; Smeriglio, A.; Braghini, M. R.; Panera, N.; Comparcola, D.; Alterio, A.; Sartorelli, M. R.; Tozzi, G.; Raponi, M., Antioxidant activity of Hydroxytyrosol and Vitamin E reduces systemic inflammation in children with paediatric NAFLD. *Digestive and Liver Disease* **2021,** 53, (9), 1154-1158.

27 . Terao, J., Antioxidant activity of β-carotene-related carotenoids in solution. *Lipids* **1** ,989 .661-659 ,(7) ,24

28 . Kristinova, V.; Mozuraityte, R.; Storrø, I.; Rustad, T., Antioxidant activity of phenolic acids in lipid oxidation catalyzed by different prooxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009,** 57, (21), 10377-10385.

29 . Jayaprakasha, G. K.; Singh, R.; Sakariah, K., Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry* **2001,** 73, (3), 285-290.

30 . Dávalos, A.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B., Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC− fluorescein) assay. *Journal of agricultural and food chemistry* **2004,** 52, (1), 48-54.

31 . Antolovich, M.; Prenzler, P. D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K., Methods for testing antioxidant activity .*Analyst* **2002,** 127, (1), 183-198.

32 . Ghani, M. A.; Barril, C.; Bedgood Jr, D. R.; Prenzler, P. D., Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food chemistry* **2017,** 230, 195-207.

33 . Sakanaka, S.; Tachibana ,Y.; Ishihara, N.; Juneja, L. R., Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food chemistry* **2004,** 86, (1), 99-103.

34 . Osman, H.; Rahim, A. A.; Isa, N. M.; Bakhir, N. M., Antioxidant activity and phenolic content of Paederia foetida and Syzygium aqueum. *Molecules* **2009,** 14, (3), 970-978.

35 . Chen, Z.; Bertin, R.; Froldi, G., EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry* **2013,** 138, (1), 414-420.

36 . Chapman, R.; Mackay, K., The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **1949,** 26, (7), 360-363.

37 . Dawidowicz, A. L.; Olszowy, M., Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β-carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant. *European Food Research and Technology* **2010,** 231, (6), 835-840.

38 . Cieśla, Ł.; Kryszeń, J.; Stochmal, A.; Oleszek, W.; Waksmundzka-Hajnos, M., Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2012,** 70, 126-135.

39 . Sies, H.; Berndt, C ;.Jones, D. P., Oxidative stress. *Annual review of biochemistry* **2017,** 86, 715-748.

40 . Davies, K. J., Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB life* **2000,** 50, (4-5), 279-289.

41. Manthey, J. A., Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation* **2000,** 7, (sup1), S29-S34.

42. Jucá, M. M.; Cysne Filho, F. M. S.; de Almeida, J. C.; Mesquita, D. d. S.; Barriga, J. R. d. M.; Dias, K. C. F.; Barbosa, T. M.; Vasconcelos, L. C.; Leal, L. K. A. M.; Ribeiro, J. E., Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural product research* **2020,** 34, (5), 692-705.

43. Denisow, B.; Denisow-Pietrzyk, M., Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2016,** 96, (13), 4303-4309.

44. Cushnie, T. T.; Lamb, A. J., Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents* **2011,** 38, (2), 99-107.

45. Manthey, J. A.; Guthrie, N.; Grohmann, K., Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current medicinal chemistry* **2001,** 8, (2), 135-153.

46. Patel, D. K., Biological importance, therapeutic benefit and analytical aspects of bioactive flavonoid pectolinarin in the nature. *Drug Metabolism Letters* **2021,** 14, (2), 117-125.

47. Małecka, M.; Skoczyńska, A.; Goodman, D. M.; Hartinger, C. G.; Budzisz, E., Biological properties of ruthenium (II)/(III) complexes with flavonoids as ligands. *Coordination Chemistry Reviews* **2021,** 436, 213849.

48. Carvalho, M. T.; Araújo-Filho, H. G.; Barreto, A. S.; Quintans-Júnior, L. J.; Quintans, J. S.; Barreto, R. S., Wound healing 3properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine* **2021,** 90, 153636.

49. Kinoshita, T.; Lepp, Z.; Kawai, Y.; Terao, J.; Chuman, H., An integrated database of flavonoids. *Biofactors* **2006,** 26, (3), 179-188.

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث

المواد والطرق المستعملة

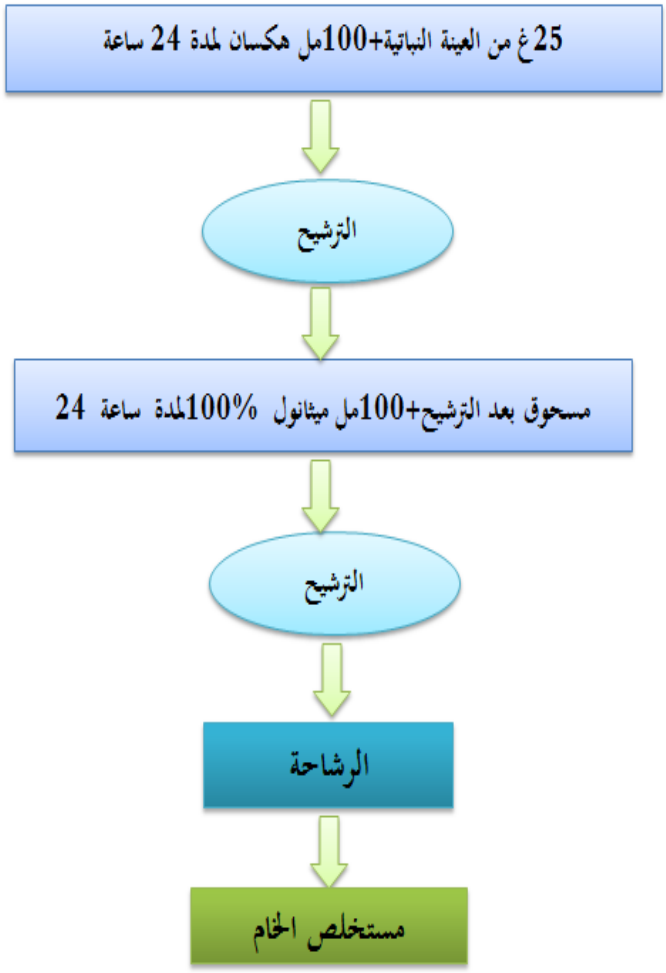
III الجزء العملي

1.III. تحضير العينة:

تمت عملية الاستخلاص على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي,والدراسة المضادة للاكسدة في مركز البحث في البيوتكنولوجيا بقسنطينة ، والنشاط المضاد للبكتيريا في مخبر المجد بالوادي.

2.III . الأجهزة والأدوات و المواد المستعملة لمراحل الاستخلاص:

الأجهزة	المواد	الأدوات
ميزان الكتروني حساس	نبات الزيتة و عشبة الليمون	ببشر
جهاز التبخير الدوراني.(Rotavapeur)	الهكسان (Hexane)	ورق ألمنيوم
الترشيح تحت الفراغ	ايثانول(EtOH)	سحاحة
مضخة	ماء مقطر	قمع ترشيح



الشكل III. 1 .مخطط توضيح مراحل الاستخلاص

III.3. المواد والطرق

III.3.1. المواد الكيميائية

كانت شركة Sigma Aldrich مصدر لعدد من المواد الكيميائية المختلفة ، بما في ذلك Folin-Ciocalteu و sodium carbonate و (3-ethylbenzothiazoline-6-sulonic acid) 2،2'-azino-bis و picrylhydrazyl 2،2-diphenyl-1-(DPPH)، (BHT)، (BHA) ، كيرسيتين ، حمض الغاليك ، كيرسيتين, ومركبات اخرى. تم اختيار هذه المواد الكيميائية لملاءمتها للتطبيقات التحليلية, وتم استخدام المذيبات العضوية في هذا البحث.

III.3.2.جمع العينات النباتية

إن منطقتي جامعة والوادي في الساحل الجنوبي الشرقي للجزائر هي المكان الذي تم فيه جمع عشبة الليمون ونبات الزيتة لهذه الدراسة (الإحداثيات 33.5376درجة شمالآ,5.9900درجة شرقا). استخدام المعهد الوطني الجزائري للبحث الزراعي, سيدي مهدي , الخصائص المورفولوجية و النباتية للنبات لتحديد هويته. في البداية , تم جمع الأجزاء الهوائية , وتنظيفها بدقة تحت الماء الجاري لإزالة الأوساخ , ثم تجفيفها بالهواء في الظل عند درجة الحرارة المحيطة (25± 2 درجة مئوية) لمدة 15يوما. بعد عملية التجفيف , يتم طحن المادة النباتية إلى مسحوق.

III.3.3.استخلاص النبات

تم نقع إجمالي 25غ من مسحوق عشبة الليمون و مسحوق الزيتة في الميثانول لمدة 24 ساعة في دورق , باستخدام نسبة 1غ من المسحوق إلى 4 مل من الميثانول . بعد النقع , خضع الخليط للترشيح باستخدام ورق الترشيح , وتم تبخير المذيب عند 45 درجة مئوية باستخدام المبخر الدوار الذي يعمل تحت فراغ . تم بعد ذلك تخزين المستخلص الصلب الناتج عند درجة حرارة 4 درجة مئوية في بيئة مظلمة.

III.3.4. تحليل (LC-MS-MS):

تم إجراء تحليل نوعي للمكونات الموجودة في المستخلص الميثانولي للعشبة الليمون ونبات الزيتة باستخدام UPLC-ESI-MS-8040 MS Shimadzu مع تقنية UFMS فائقة الجودة و مجهزة بقطب ثنائي Nexera XR LC-20AD. تم تحقيق الفصل باستخدام عمود C18 فائق القوة(معرف 2.1x150mm,حجم جسيم 3ميكرومتر ؛ Restek) عند درجة حرارة فرن تبلغ 25 درجة مئوية. تم إجراء الفصل الكروماتوغرافي باستخدام شطف متدرج يحتوي على30% ماء (0.1%حمض الفورميك)كمرحلة متنقلة A و70% ميثانول كمرحلة متنقلة B. وكانت مدة الشطف المتدرج كما يلي:0 دقيقة إلى 2 دقيقة عند 95% A , ومن 18 دقيقة إلى 20 دقيقة عند95% A,ومن 20 دقيقة غلى 30 دقيقة عند 95%A. تم ضبط معدل التدفق على 0.4مل/دقيقة, وكان حجم الحقن 5 ميكرولتر تم تمريره عبر مرشح Millex-LCR(PTFE) بأحجام مسام 0.22 ميكرومتر . تم إجراء الفصل في درجة حرارة الغرفة, وكان إجمالي وقت التشغيل 60 دقيقة. استخدام تحليل MS /MS شروط ESIالتالية:غاز KPs CID230 ، وداينود تحويل 0.66- كيلو فولت, ودرجة حرارة واجهة 350 درجة مئوية،ودرجةحرارة250درجة مئويةDL. تدفق غاز رذاذ 3.00 لتر/دقيقة ، وكتلة حرارية 400 درجة مئوية, و15.00 لتر/دقيقة تدفق غاز التجفيف. تم استخدام مطياف كتلة مصيدة الأيونات في كل من الايونات السالبة و

الموجبة في وضع MRM (مراقبة التفاعلات المتعددة). تم تحقيق التحديد الدقيق من خلال مقارنة أطياف الكتلة بالأدبيات المنشورة وتحديد الأجزاء النموذجية.

III .4.التحقيقات الكيميائية للنبات:

III.4.1.إجمالي محتوى البوليفينول (TPC)

تم تحديد إجمالي محتوى الفينول (TPC)باستخدام اختيار صفيحة ميكروسكوبية معدلة. في صفيحة ميكروية ذات 96بئرا, تمت إضافة 20 ميكرولتر من العينة و 100 ميكرولتر من الكاشف Folin-Ciocalteu بنسبة 7.5% (FCR)بشكل منفصل .تم تخفيف FCR100 مرة في الماء المقطر(1/10). تم تحضين الخليط عند درجة حرارة الغرفة في الظلام لمدة ساعتين قبل قياس الامتصاصية عند765 نانومتر. تم تحضير الفراغ باستخدام الميثانول بدلا من المستخلص . أجريت التجارب في ثلاث نسخ للتأكد من دقتها . تم تحديد TPC باستخدام منحنى معايرة حمض الغاليك (25–200 ميكروغرام /مل) في ظل ظروف مماثلة للمستخلصات . يتم التعبير عن النتيجة بالميكروغرام من مكافئات حمض الغاليك لكل ملغرام من المستخلص(ميكروغرامGAE/ملغ مستخلص) وتمثل المعادلة (1) معادلة الانحدار الخطي المقابلة لمنحنى المعايرة.

$$TPC = \frac{C \times V}{M} \quad (1)$$

مع: V: حجم المستخلص (مل). M: وزن المستخلص (ملغ). C: ميكروغرام / مل.

III.4.2. محتوى الفلافونويد الكلي (TFC)

تم تقييم إجمالي محتوى الفلافونويد (TFC) باستخدام مقايسة اللونية لنترات الألومنيوم [53]. يشمل خليط التفاعل على 50 ميكرولتر من محلول الاستخلاص (ملغ/مل), و10 ميكرولتر من 10% نترات الألومنيوم, 130مل من الإيثانول, و10مل من خلات البوتاسيوم(1M). وبعد حضانة لمدة 40 دقيقة في درجة حرارة الغرفة, تم قياس الامتصاصية عند 415 نانومتر. خدم كيرسيتين كعنصر تحكم إيجابي لإنشاء نطاق المعايرة (25-200ميكروغرام/مل). تم تحديد TFC, الذي تم الإبلاغ عنه في مكافئات (ميكروغرام من التيسير الكمي/مستخلص ملغ), باستخدام معادلة الانحدار الخطي لمنحنى المعايرة الذي تم الحصول عليه باستخدام كيرسيتين والمعادلة (2).

$$TFC = \frac{C \times V}{M} \quad (2)$$

مع: V: حجم المستخلص (مل).M: وزن المستخلص (ملغ). C: ميكروغرام / مل

III.5. النشاط المضاد للأكسدة

قد يكون من الضروري استخدام عدة طرق لاستكشاف الخصائص المضادة للأكسدة في المستخلصات النباتية. هذا نتيجة تعقيد المواد الكيميائية النباتية. لاستكشاف إمكانات مضادات الأكسدة لمستخلصات Limoniastrum guyonianum, Cymbopogon citratas ، تم استخدام اختبار DPPH ، واختبار ABTS ، واختبار بيتا كاروتين ، واختبار الفينانثرولين ، مما

يجعل من الممكن تقييمها بسهولة أكبر وتفسيرها بطريقة أبسط وربطها بمواد أخرى. تم استخدام المؤشرات A0.5 و IC_{50} كطرق قياس أثناء إجراء تحليل الانحدار الخطي لتقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات التي تم أخذها في الاعتبار لهذه التجربة. تم إجراء هذا التقييم من أجل تحديد فعالية المقتطفات. ترتبط كفاءة النشاط ارتباطًا عكسيًا بقيم A0.5 و IC_{50}.

III.1.5. اختبار DPPH

تم استخدام اختبارDPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) لتقييم قدرة مضادات الأكسدة للمستخلص الميثانولي من L.guyonianum و c.citratas . باستخدام هذا الأسلوب, تمت إضافة المستخلص إلى محلولDPPH الذي تم تحضيره في الميثانول. وبعد 30دقيقة من الحضانة في الظلام, تم قياس امتصاص الخليط عند517نانومتر. تم إثبات نشاط المستخلص المضاد للأكسدة من خلال انخفاض الامتصاص, مما أظهر أنه كان يتخلص من جذورDPPH.كمضادات أكسدة مرجعية, تم استخدام معايير مثل بوتيل هيدروكسيانيسول(BHA) وبوتيل هيدروكسي تولوين(BHT)[7,6].

.

$$DPPH\ inhibition\ (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \qquad (3)$$

في المعادلة (3), يمثل A_0 امتصاص التحكم (محلول DPPH بدون أي عينة), ويمثل A_1 امتصاص العينة بعد السماح لها بالتفاعل مع محلول DPPH لمدة 30 دقيقة. تم اختبار بوتيل هيدروكسيانيسول (BHA) وبوتيل هيدروكسي تولوين (BHT) كمعايير لهذا البحث. تم إجراء الحسابات الرسومية باستخدام منحنى نسبة التثبيط بتركيزات مختلفة , وتم الحصول على قيم IC_{50} باستخدام برنامج OriginLab . قيمةIC_{50} هي تركيز العينة (بالميكروجرام/مل) الذي يؤدي إلى انخفاض بنسبة 50% في الجذور .

III.2.5. مقايسة β– كاروتين:

يتضمن اختبار تبييض بيتا كاروتين حساب الامتصاص عند 453 نانومتر (A_{453}), 505 نانومتر(A_{505}), و 663 نانومتر(A_{663}) من مستخلص الميثانول المذاب في خليط أسيتون–هكسان (6:4, حجم/حجم). يتم استخدام المعادلتين (4)و(5) لحساب الكمية الإجمالية β – كاروتين و الليكوبين. يتم التعبير عن النتائج على أنها ميكروغرام من الكاروتينويد لكل ملغرام من المستخلص[9,8].

$$lycopene\ (mg/100mL) = 0.0458 \times A_{663} + 0.372 \times A_{505} - 0.0806 \times A_{453} \qquad (4)$$

$$\beta - carotene(mg/100mL) = 0.216 \times A_{663} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453} \qquad (5)$$

III.3. 5. الكسح الجذري لـ ABTS:

يتكون جذرABTS+ عن طريق تجريد إلكترون من ذرة النيتروجين في ABTS, ويتم امتصاصه عند طول موجي قدره 734 نانومتر . في وجود أحد مضادات الأكسدة التي تمنح ذرة هيدروجين , فإن ذرة النيتروجين تلتقط ذرة هيدروجين فيَ ABTS+, مما يؤدي إلى

تكوين محلول ABTS+متغير اللون. لإنشاء الجذر الكاتيوني ABTS+, يتم خلط 7 ملي مولار ABTS في الماء مع 2.45 ملي مولار كبريتات البوتاسيوم وحضنت لمدة 16ساعة في الظلام في درجة حرارة الغرفة. يتم بعد ذلك تخفيف محلول الميثانول للوصول إلى امتصاص قدره 0.70±0.020 عند 734 نانومتر . في مقايسة ABTS , تتم إضافة 160ميكرولتر. من محلول الاستخلاص بتركيزات مختلفة . بعد 10 دقائق , يتم قياس الامتصاص عند 734 نانومتر باستخدام قارئ صفيحة ميكروسكوبية ذو 96بئر. يتم إعداد عنصر تحكم سلبي من خلال الجمع بين 40 ميكرولتر من الميثانول مع 160ميكرولتر من محلول ABTS+ . يتم حساب نسبة التثبيط عند كل تركيز بالنسبة لامتصاص العينة الفارغة (الميثانول). تستخدم المعادلة (6) لتحديد قدرة ABTS على الكسح.

$$ABTS^{\bullet+} scavenging\ activity\ (\%) = \frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}} \times 100 \qquad (6)$$

في المعادلة (6) يمثل A_{Sample} هو الامتصاص للتركيز المتبقي لـ ABTS+ في وجود العينة والتحكم هو تركيز البداية لـ ABTS+ تم استخدام الرسم البياني لنسبة ABTS+ • تأثير الكسح الجذري مقابل تركيز المستخلص لحساب تركيز المستخلص الذي يعطي نشاط الكسح الجذري بنسبة 50٪ (IC_{50}). تم استخدام BHT و BHA كمعايير لمقارنة نشاط مضادات الأكسدة[11,10].

III.6.التحليل الإحصائي:

أجريت الدراسة في ثلاث نسخ, واستخدم متوسط الانحراف المعياري(SD) للتعبير عن النتائج. تم تضمين اختبارANOVA واختبار توكي($P<0.05$) لمقارنات متعددة في التحليل الإحصائي. تم استخدام ثلاث مكررات بيولوجية لكل تجربة, مع عتبة أهمية $P<0.05$. تم استخدام اختبارt للطلاب لتحديد الفروق بين المجموعات.

III 7.النشاط البيولوجي:

III.7.1. بروتوكول الفحص المضاد للبكتيريا:

تم إجراء تجربة التخفيف الدقيق للمرق وفقاً لإرشادات CLSI للتأكد من الحد الأدنى للتركيز المثبط(MIC) والحد الأدنى لتركيز مبيد الجراثيم(MBC)لمستخلصات نبات الزيتة و عشبة الليمون ضد سلالات مختلفة من البكتيريا والخميرة. تم صنع معلقات الخميرة والبكتيريا وتخفيفها بشكل مناسب. تم عمل المحاليل التي تحتوي على مستخلصات نباتية بتركيز 80ملغ/ مل في DMSO. تمت إضافة خليط معين من المعلق الميكروبي ومحلول المستخلص النباتي, إلى جانب أدوات التحكم العيار الميكروي. استنادا إلى قمع النمو الملحوظ, تم حساب MIC وMBC بعد الحضانة[13,12].

III.7.2. نشاط مضاد للفطريات:

تم إعادة تكوين المستخلص النباتي بتركيز 4 ملغ/مل في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) على أجار دكستروز البطاطس(PDA) لإجراء عملية تناول الطعام السام. بعد الحضانة, تمت إضافة مسببات الأمراض الفطرية إلى أطباق بيتري التي تحتوي على المستخلص

المعاد تشكيله, وتم تحديد المناطق المثبطة. من خلال تحضير تخفيفات المستخلص وتحديد أقل تركيز يثبط نمو الفطريات, تم العثور على الحد الأدنى للتركيز المثبط(MIC). تم استخدام قياسات قطر المستعمرة لحساب النسبة المئوية لتثبيط نمو المفطورة[15,14].

قائمة مراجع الفصل الثالث

1 Francisco V, Costa G, Figueirinha A, Marques CG, Pereira P, Neves BM, Lopes MC, García-Rodríguez C, Cruz MT, Batista MT (2013) Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaves infusion via proteasome and nuclear factor-κB pathway inhibition : Contribution of chlorogenic acid. *Journal Of Ethnopharmacology* 148(1) : 126-134. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.077

2 Garcia RC, Ferreira JP, Costa G, Santos TN, Branco F, Caramona M, De Carvalho R, Dinis A, Batista MT, Castel-Branco M, Figueiredo IV (2015) Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Cymbopogon citratus* In vivo-Polyphenols Contribution. *Research Journal Of Medicinal Plant* 9(1) : 1-13. https://doi.org/10.3923/rjmp.2015.1.13

3 Liang N, Kitts DD (2015) Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients* 8(1) : 16. https://doi.org/10.3390/nu8010016

4 Antoniadou K, Herz C, Le NPK, Mittermeier-Kleßinger VK, Förster N, Zander M, Ulrichs C, Mewis I, Hofmann T, Dawid C, Lamy E (2021) Identification of Salicylates in Willow Bark (Salix Cortex) for Targeting Peripheral Inflammation. *International Journal Of Molecular Sciences* 22(20) : 11138. https://doi.org/10.3390/ijms222011138

5 Zhai K, Duan H, Khan GJ, Xu H, Han F-K, Cao W-G, Gao G, Shan L, Wei Z (2018) Salicin from Alangium chinense Ameliorates Rheumatoid Arthritis by Modulating the Nrf2-HO-1-ROS Pathways. *J Agric Food Chem* 66(24) : 6073-6082. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02241

6 Fuloria S, Mehta J, Chandel A, Sekar M, Rani NNIM, Begum MY, Subramaniyan V, Chidambaram K, Thangavelu L, Nordin RB, Wu YS, Sathasivam KV, Lum PT, Meenakshi DU, Kumarasamy V, Azad AK, Fuloria NK (2022) A Comprehensive Review on the Therapeutic Potential of Curcuma longa Linn. in Relation to its Major Active Constituent Curcumin. *Front Pharmacol* 13. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820806

7 Malik P, Mukherjee TK (2014) Structure-Function Elucidation of Antioxidative and Prooxidative Activities of the Polyphenolic Compound Curcumin. *Chin J Biol* 2014 : 1-8. https://doi.org/10.1155/2014/396708

8 Suwannasom N, Kao I, Pruß A, Georgieva R, Bäumler H (2020) Riboflavin : The Health Benefits of a Forgotten Natural Vitamin. *International Journal Of Molecular Sciences* 21(3) : 950. https://doi.org/10.3390/ijms21030950

9 Lee TY, Farah N, Chin VK, Lim JCW, Chong PP, Basir R, Lim WF, Loo YS (2023) Medicinal benefits, biological, and nanoencapsulation functions of riboflavin with its toxicity profile : A narrative review. *Nutrition Research* 119 : 1-20. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2023.08.010

10 Castellano JM, Ramos-Romero S, Perona JS (2022) Oleanolic Acid : Extraction, Characterization and Biological Activity. *Nutrients* 14(3) : 623. https://doi.org/10.3390/nu14030623

11 Marchese A, Orhan İE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Gortzi O, Izadi M (2016) Antibacterial and antifungal activities of thymol : A brief review of the literature. Food Chemistry 210 : 402-414. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111

12 Kacem MH, Simon G, Leschiera R, Miséry L, Elfeki A, Lebonvallet N (2014) Antioxidant and anti-inflammatory effects of Ruta chalepensis L. extracts on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal* 51(2) : 128-141. https://doi.org/10.1007/s11626-014-9813-7

13 Xu Y, Chen G, Chen G (2019) Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and Their Correlations with Flavonoids. *Antioxidants* 8(8) : 296. https://doi.org/10.3390/antiox8080296

14 Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph B, Alessa FM, Al-Mssallem MQ (2022) Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules : A Review. *Molecules* 27(9) : 2901. https://doi.org/10.3390/molecules27092901

15 Deepika, Maurya PK (2022) Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules* 27(8) : 2498. https://doi.org/10.3390/molecules27082498

الفصل الرابع

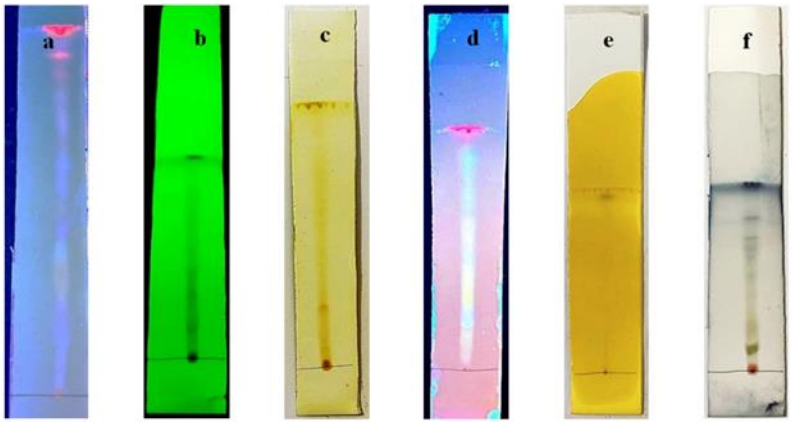
النتائج و المناقشة

IV. النتائج والمناقشة

1.IV.النبتة الاولى الزيتة:

1.1.IV.تحديدTPCوTFC:

إجمالي محتوى الفينول TPCو085±188.085ميكروغرام GAE/ملغ ومحتوى الفلافونويد الإجمالي(TFC)2.66 ±185.65ميكروغرامQE/ملغ مستخلص في المستخلص الميثانولي ل L.guyonianum . تشير هذه النتائج إلى أن المستخلص يحتوي على مستويات عالية من مركبات الفلافونويد و المركبات الفينولية, المعروفة بخصاصها المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة. بمقارنة هذه النتائج مع الدراسات المنشورة, فإن قيم TPC و TFC لمستخلصنا تقع ضمن النطاق المذكور. على سبيل المثال, أبلغ عن قيم TPC تتراوح بين40إلى 80 ميكروغرام من GAE/ملغ في مختلف انواع L. وهو ما يتوافق مع النتائج التي توصلنا إليها [1]. وبالمثل تم الإبلاغ عن قيم TFC تتراوح من60إلى100ميكروغرام من QE/ملغ في L.guyonianum, والذي يتوافق مع قيمةTFCلدينا[2]. وعلاوة على ذلك, تم الابلاغ عن قيمة TPC تتراوح من50 إلى 70 ميكروغرام من مستخلصQE/ملغ في L.guyonianum وهو ما يتوافق مع قيمةTPC لدينا [3]. أبلغ أيضاً عن قيم TFC تتراوح بين 80 إلى120 ميكروغرام من مستخلص QE/ملغ في L.guyonianum وهو أعلى قليلاً من قيمةTFC لدينا ولكنه لا يزال يقع ضمن نطاق مشابه[4]. بشكل عام ، تؤكد نتائجنا ان المستخلص الميثانولية لنبات L.guyonianum غني بالمركبات الفينولية و الفلافونويدات ,مما يدعم امكاناته كمصدر طبيعي لمضاد الاكسدة ذات الخصائص المعززة للصحة.تعزيز الخصائص . تم استخدام كروماتوغرافيا TLC كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لفص مستخلص L.guyonianum خلال التقييم البصري الاول , تم تحديد العديد من النماط التركيبية من المستخلص النباتي بناء على وجود او عدم وجود النقاط . يوضح الشكل1 صورة للمسخلص النباتي بالإضافة الى نتائج الرش بالالمنيوم AICI3 و اليود و الفانيلين / حمض الكبريتيك و اختبار دراجندروف (الاشعة فوق البنفسجية 245 و365 نانومتر) . كشف اختبار الفانيلين / الكبريت عن ثلاثة عشر جزءا (F1_F13), تم تحديدها بواسطة: 0.59 Rf الى 0.960 (الالوان الوردي و الاخضر و البرتقالي و الازرق و الاصفر و البني) (الشكل f1). تم العثور على ثلاثة عشر جزءا (F1/F13) بواسطة اختبار الالمنيوم من نوع الفلافونويد. هذه الكسور لها لون ازرق تحت الاشعة فوق البنفسجية (365)وRF قدره 0.121,0.454,0.651,0.696,0.818,و0.909 (الشكل 1 ب). بعد تطبيق اختبار دراجندروف في النظام (الشكل 1ه), لاحظنا وجود جزء واحد , له لون اخضر و FR قدره 0.962, مما يشير الى وجود قلويدات.



الشكل1:كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة(TLC) للمستخلص الميثانولي ل L.guyonianum a:تحت الأشعة فوق البنفسجية(254) ؛ b:تحت الأشعة فوق البنفسجية(365)؛c:كاشف اليودd:الألمنيوم$AlCl_3$؛e: كاشف دراغوندروف ؛ f:كاشف حامض الكبريتيك /الفانيلين.

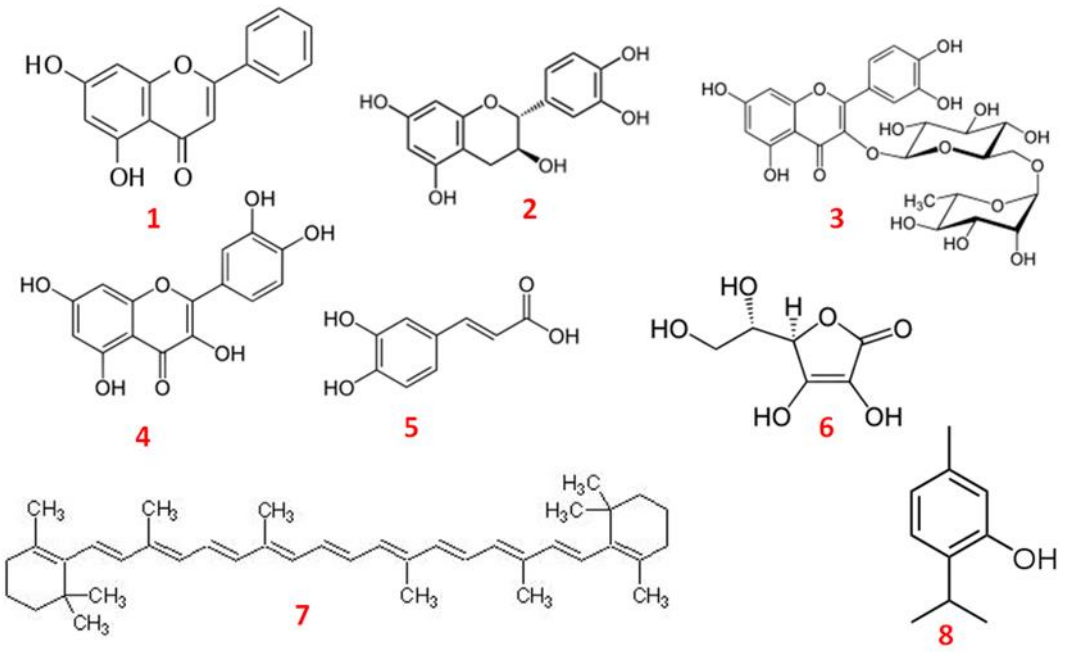
2.1.IV. تحليلLC-MS:

كشف تحليل LC-MS لمستخلص الميثانول L.guyonianum عن وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجياً, كما هو موضح في الجدول1والشكل2. تتمتع هذه المواد بعدد من الخصائص الدوائية, مثل مضاد للجراثيم, ومضاد للالتهابات, وتأثيرات مضادة للأكسدة, والتي تعتبر حاسمةلاستخداماتها الطبية المحتملة. الكريسين (1), هو المركب الأكثر وفرة بنسبة50.607%, وهو معروف بخصائصه المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة. وقد أظهرت الدراسات آثاره العلاجية المحتملة واضطرابات القلب والأوعية الدموية[5]. يمتلك الكاتشين(2), وهو المركب الثاني الأكثر وفرة بنسبة25.371%, أيضاً خصائص قوية مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات, مما يفيد صحة القلب والأوعية الدموية ويحتمل أن يحمي من بعض أنواع السرطان[6]. على الرغم من وجودها بنسبة أقل, إلا أن مركبات مثل الروتين(3)(3.421%), والكيرسيتين(4)(3.469%), وحمض الكافيين(5) (6.611%) تساهم بشكل كبير في إمكانات المستخلص المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات[7]. تمت دراسة روتين وكيرسيتين, وكلاهما من الفلافونويد, لتطبيقاتهما العلاجية في مرض السكري واضطرابات التنكس العصبي, من بين أمور أخرى[8]. حمض كافيين, وهو حمض الفينول, معروف بآثاره المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات[9]. .حمض الأسكوربيك(6)(1.945%), بيتا كاروتين(7)(0.872%), والثيمول(8)(1.159%), على الرغم من وجودهم بنسب أقل, يلعبون أيضاً أدواراً حاسمة في نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص. يعتبر حمض الأسكوربيك وبيتا كاروتين من مضادات الأكسدة الضرورية للحفاظ على الصحة العامة والحماية من الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي[10]. الثيمول هو فينول أحادي التربين موجود بشكل طبيعي وله خصائص مضادة للالتهابات ومضادة للبكتيريا ومضادة للأكسدة والتي قد تساعد في مشاكل الجهاز الهضمي والجهاز التنفسي[11]. بالإضافة إلى ذلك, فإن المركبات مثل حمض الأوليانوليك, وحمض الساليسيليك, والفانيلين, وحمض الفانيليك, على الرغم من وجودها بنسب أقل, قد يساهم في النشاط البيولوجي الشامل للمستخلص. هذه المواد لها مجموعة متنوعة من التأثيرات البيولوجية , بما في ذلك الخصائص المضادة للبكتيريا والالتهابات ومضادات الأكسدة. تمت دراسة آثارها العلاجية المحتملة في أمراض مثل السرطان وأمراض القلب والاضطرابات

الالتهابية [12]. يشير تحليل LC-MS إلى أن المستخلص الميثانولي لL.guyonianum متوافر بكثرة في المركبات النشطة بيولوجياً مع خصائص محتملة مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات وغيرها من الخصائص المعززة للصحة. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتأكيد هذه النتائج و التحقيق الدقيق في الاستخدامات العلاجية المحتملة للمستخلص.

الجدول1. تخصيصات القمم من المخططات اللونية بواسطة LC/MS مع الكميات النسبية(%) من مستخلص الميثانول L.guyonianum.

Entry	Name	Molecular Formula	Ret. Time (min)	Relative amounts (%)
1	Ascorbic Acid	$C_6H_8O_6$	8.955	1.94
2	8-hydroxyquinoline	C_9H_7NO	7.408	0.20
3	Beta caroten	$C_{40}H_{56}$	15.871	0.87
4	Rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	16.903	3.42
5	Oleanolic Acid	$C_{30}H_{48}O_3$	14.302	0.98
6	**Chrysin**	**$C_{15}H_{10}O_4$**	**11.707**	**50.60**
7	Salicin	$C_{13}H_{18}O_7$	13.594	0.23
8	Salycilic acid	$C_7H_6O_3$	6.636	2.42
9	Quercetine	$C_{15}H_{10}O_7$	12.569	3.46
10	Vitexin	$C_{21}H_{20}O_{10}$	8.755	0.61
11	Vanillin	$C_8H_8O_3$	7.721	0.22
12	Catechin	$C_{15}H_{14}O_6$	13.768	25.37
13	thymol	$C_{10}H_{14}O$	9.330	1.15
14	Caffeic Acid	$C_9H_8O_4$	7.286	6.61
15	Chlorogenic Acid	$C_{16}H_{18}O_9$	6.854	0.08
16	Vanillic Acid	$C_8H_8O_4$	8.381	1.49
17	Gallic acid	$C_4H_4O_4$	3.967	0.27



الشكل 2.المركبات النشطة بيولوجيا التي تم تحديدها في استخراج L.guyonianum

3.1.IV. نشاط مضادات الأكسدة:

يتم عرض فحوصات نشاط مضادات الأكسدة (β-carotene,DPPH ،وABTS) للمستخلص الميثانولي ل L.guyonianumفي الجدول2. مع قيمةIC50 تبلغ 28.88 ميكروغرام/مل, أظهر المستخلص نشاط مضاد للأكسدة يعتمد على الجرعة في تجربة DPPH, يشير هذا إلى أنه عندما يتعلق الأمر بتطهير جذورDPPH, فإن المستخلص أقل فعالية من مضادات الأكسدة التقليدية BHT(IC50=22.32ميكروغرام/مل) وBHA (IC50=5.73 ميكروغرام/مل). تتوافق هذه النتيجة مع الأبحاث الاخرى التي استخدمت اختبارDPPH لتقييم قدرة مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية المختلفة[13]. مع قيمةIC50 تبلغ 14.13ميكروغرام/مل, أظهر المستخلص نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة في مقايسة البيتا كاروتين. يشير هذا إلى أنه فيما يتعلق بتثبيط أكسدة البيتا كاروتين, فإن المستخلص فعال مثل مضادات الأكسدة التقليديةBHT(1.05 =IC50ميكروغرامBHA (IC50=0.90ميكروغرام). تتوافق هذه النتيجة مع الأبحاث السابقة التي قيمت قدرة مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية باستخدام اختبار البيتا كاروتين[14]. أظهر المستخلص نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة في تجربة ABTS, بقيمة IC50تبلغ 23.03ميكروغرام/مل. يشير هذا إلى أن قدرة المستخلص على التخلص من جذورABTSقابلة للمقارنة بقدرة مضادات الأكسدة الشائعة BHT(IC50=1.29ميكروغرام/مل)وBHA (IC50=1.81ميكروغرام/مل). تتوافق هذه النتيجة مع الابحاث السابقة التي استخدمت اختبار ABTS لتقييم نشاط مضادات الاكسدة في المستخلصات النباتية[15]. تتوافق هذه النتائج مع الدراسات السابقة التي أظهرت أن مستخلصاتL.guyonianum لها خصائص مضادة للأكسدة. في جنوب الجزائر, على سبيل المثال نشاط مضادات الأكسدة للمستخلصات الهيدروميثانولية من الأنواع الطبية ووجد أن L.guyonianum لديه قدر كبير من نشاط مضادات الأكسدة. وجد ان المستخلص الميثانولي لL.guyonianum أظهر نشاطاً كبيراً مضاداً للاكسدة في اختبارDPPH, مما يدعم الاستخدام المحتمل ل L.guyonianum كمصدر طبيعي لمضادات الأكسدة لمختلف الفوائد الصحية[16].

الجدول2. فحوصاتDPPHو β-carotene وABTS لمستخلص الميثانول L.guyonianum

Methods	% Inhibition							
	3.125 µg	**6.25 µg**	**12.5 µg**	**25 µg**	**50 µg**	**100 µg**	**200 µg**	**IC_{50} µg/mL**
DPPH	6.80±0.92	7.09±1.55	10.11±0.73	20.09±0.39	29.72±0.91	4987±0.44	51.03±0.92	28.88±0.37
BHT	11.69±1.88	22.21±1.30	37.12±1.80	52.63±2.70	56.02±0.53	83.60±0.23	87.28±0.26	22.32±1.19
BHA	28.95±1.16	54.33±1.59	76.76±1.65	84.09±0.35	87.53±0.82	87.73±0.15	88.43±0.23	5.73±0.41
β-carotene	10.55±0.34	31.90±0.56	36.10±0.67	41.37±0.33	50.93±0.19	58.77±1.12	65.09±0.87	14.13±0.45
BHT	81.14±0.84	86.0.9±1.04	87.52±4.24	91.67±0.52	94.11±0.42	94.41±0.32	95.28±3.25	1.05±0.01
BHA	84.23±1.14	90.11±0.68	94.59±0.77	96.09±0.02	97.35±1.08	99.59±0.14	99.76±	0.90±0.02
ABTS	20.03±1.33	29.67±0.54	39.87±0.37	53.60±0.77	61.45±1.02	71.49±0.44	75.10±0.29	23.03±0.22
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10

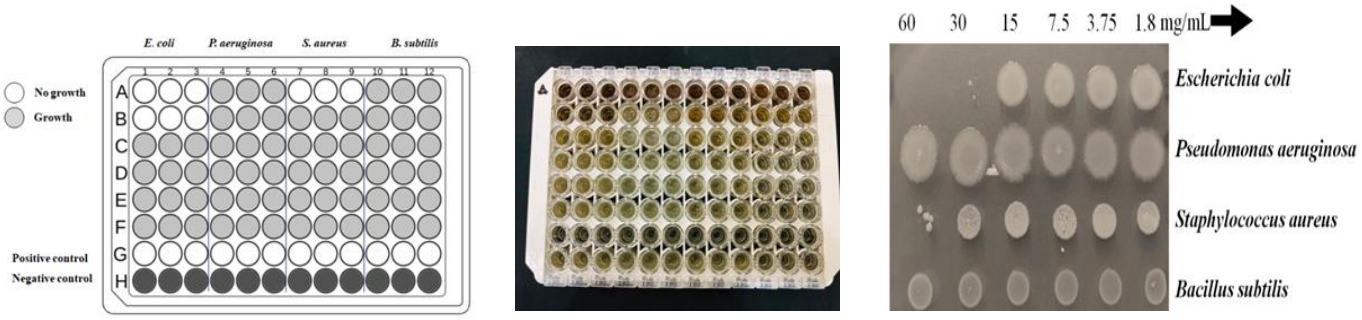
4.1.IV. النشاط المضاد للبكتيريا:

تم عرض نتائج نسبة MIC وMBC وMBC/MIC لمستخلص L.guyonianum ضد أربع سلالات بكتيرية (Escherichiacoli ATCC25922, Pseudomonas aeruginosaATCC27855, Bacillus subtilisATCC25973, و Staphylococcus aureusATCC25932) في الجدول3. والشكل3. كانت قيمMIC وMBC ل E.coli ATCC25922 30ملغ/مل, مما يشير إلى أن المستخلص يثبط بشكل فعال نمو هذه البكتيريا. تشير نسبةMBC/MIC البالغة1إلى أن المستخلص مبيد للجراثيم ضدE.coli ATTC 25922.تم تصنيف قيمMIC وMBC لـ P.aeruginosa ATCC27853 على أنها VHC(تركيز عال جداً), مما يشير إلى أن المستخلص لم يظهر تثبيطاً كبيراً أو نشاط مبيد للجراثيم ضد هذه السلالة عند التركيزات التي تم اختيارها. لا يمكن حساب نسبة MBC/MICبسبب عدم وجود MIC و MBC قابلين للقياس. كانت قيم MIC وMBC لـS.aureusATCC25932 60ملغ/مل, مما يشير إلى تثبيط فعال ونشاط مبيد للجراثيم للمستخلص ضد هذه السلالة. تشير نسبةMBC/MIC البالغة1 إلى أن المستخلص مبيد للجراثيم ضد S.aureusATCC25932 .وعلى غرارP.aeruginosaATCC27853, تمتصنيف قيم MIC و MBC ل B.subtilisATCC25973على أنهاVHC, مما يشير إلى عدم وجود نشاط كبير لل MBC. استخراج ضد هذه السلالة. لا يمكن حساب نسبةMBC/MICبسبب عدم وجود MIC و MBC قابلين للقياس. تتوافق قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط(MIC) والحد الأدنى لتركيز مبيد الجراثيم (MBC) التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة مع نتائج الأبحاث السابقة حول النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص L.guyonianum, على سبيل المثال, التحقيق في أنشطة مكافحة الشيخوخة لمستخلصات النباتات الملحية الطبية التونسية, بما في ذلك L.guyonianum, ومكوناتها العطرية[17]. بالإضافة إلى ذلك أجرى تحقيقات أولية في الكيمياء النباتية ومضادات الميكروبات لمستخلصات H.scoparium, وهو نوع يرتبط ارتباطاً وثيقاً ب L.guyonianum.قام بتقييم الإمكانات المضادة للميكروبات لبعض النباتات الطبية الهندية الأيورفيدا, والتي قد تشمل أنواعاً مشابهة لـL.guyonianum · علاوة على ذلك النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الثوم(Allium sativum) ضد المكورات العنقودية الذهبية, مما يوفر نظرة ثاقبة للعوامل الطبيعية للبكتيريا [18]. وعلاوة على ذلك, أجرى بحثا حول الخصائص المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة للمستخلصات الفينولية من L.guyonianum, وتسليط الضوء على التطبيقات العلاجية المحتملة لهذا النبات[19]. تدعم هذه الدراسات بشكل جماعي وتعزز نتائج البحث الحالي حول النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص L.guyonianum.

الجدول3.نسبةMBC,MIC,وMBC/MIC لمستخلص L.guyonianum ضد أربع أنواع من البكتيريا.

Bacteria strains (n = 3)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
***Escherichia coli* ATCC 25922**	30mg/ml	30mg/ml	1
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	VHC	VHC	/
***Staphylococcus aureus* ATCC 25932**	60mg/ml	60mg/ml	1
Bacillus subtilis ATCC 25973	VHC	VHC	/

*VHI=تركيز عالي جداً



الشكل3. صور فوتوغرافية تصور النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص L.guyonianum

5.1.IV. النشاط المضاد للفطريات:

تم تقييم النشاط المضاد للفطريات لمستخلص L.guyonianum ضد Thielaviopsis paradox, Alternaria sp, و Fusarium solani بتراكيز مختلفة(100%,50%,25%). أظهرت النتائج درجات متفاوتة من التثبيط لكل فطر وبتراكيز مختلفة(جدول 4 وشكل 4). أظهر المستخلص نشاطاً مضاداً للفطريات عاليًا ضد Thielaviopsis paradox, مع مناطق تثبيط تتراوح من 93.73% إلى 94.51%. تشير هذه النتائج إلى خصائص مضادة للفطريات قوية للمستخلص أيضاً نشاطًا مضاداً للفطريات ضد Alternaria sp., حيث تراوحت مناطق التثبيط من 75.12% إلى 82.59%. وهذا يشير إلى أن المستخلص فعال في تثبيط نمو Alternaria sp. اظهر المستخلص نشاط مضاد للفطريات معتدل ضد Fusarium solani, مع مناطق تثبيط تتراوح من39.61%إلى53.33%. على الرغم من أن التثبيط كان أقل مقارنة بالفطريات الأخرى, فإنه لا يزال يشير إلى بعض الفعالية ضد Fusarium solani.

الجدول4. النشاط المضاد للفطريات لمستخلص الميثانول L.guyonianum .

Concetraction (%)	Pathogenic fungi (cm)		
	Thielaviopsis paradox	*Alternaria* sp.	*Fusarium solani*
100	93.73±0.67	82.59±3.10	39.61±4.75
50	94.51±0.67	77.61±4.47	47.06±4.24
25	93.73±0.67	75.12±1.73	53.33±4.75

الشكل4. صور فوتوغرافية تصور النشاط المضاد للفطريات لمستخلص L.guyonianum. تركيزات 25%, 50% ,100%.(TP) Thielaviopsis paradox, Fusarium solani (Fs) ,Alternaria sp (ALT).

IV.2.النبة الثانية عشبة الليمون:

- **النتائج:**

IV.2.1.إنتاجية المستخلص و الكيمياء النباتية:

وجد أن إنتاجية المستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية لنبات عشبة الليمون تبلغ 5%. يتم التعبير عن كميات إجمالي البوليفينول و الفلافونويدات في المستخلص بما يعادل ميكروغرام ويتم عرضها في الجدول 1. تم استخدام مكافئ كيرسيتين (QE) لحساب إجمالي محتوى الفلافونويد (TFC) بالميكروغرام QE/mg,في حين تم استخدام مكافئ حمض الغاليك (GAE) تم استخدامه لحساب إجمالي محتوى الفينول (TPC) بوحدة ميكروغرام GAE/mg .

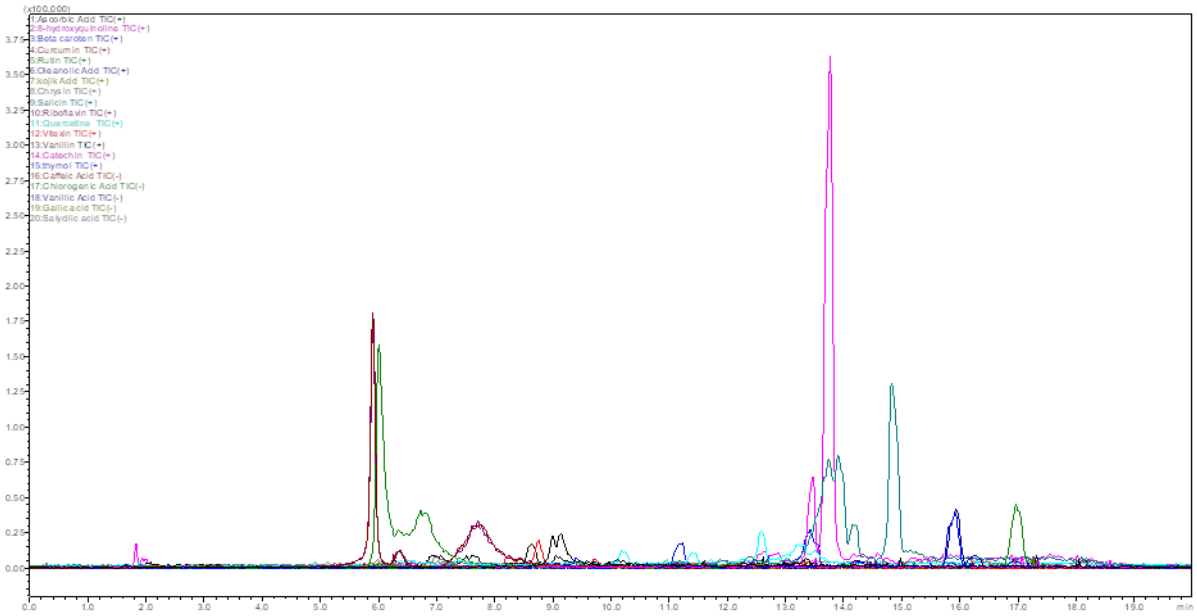
الجدول1. مجموع المركبات الفينولية ومحتويات الفلافونويد

محتويات الفلافونويد (µgQE/mg extract)	محتويات الفينولات (µgGAE/mg extract)
92.82±0.91	58.98±0.19

تم التعبير عن القيم ±تعني الانحراف العياري(ن=3)

2.2.IV. تحليل LC-MC:

تم تحليل المستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية للعشبة الليمون باستخدام UPLC-ESI-MS-MSفي وضع المسح الكامل مع الأيونات السالبة و الموجبة . يوضح الشكل 2 UPLC-ESI-MS-MS وأطياف الكتلة لعشرين مادة كيميائية محددة. ويبين الجدول 2 وقت الاحتفاظ (Rt),m/z,وصيغة المركبات المقترحة أو المستنتجة استنادا إلى البيانات المبلغ عنها سابقا.



الشكل 2.UPLC-ESI-MS-MS اللوني وأطياف الكتلة للمستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية للعشبة الليمون.

3.2.IV. نشاط مضادات الأكسدة:

للتحقيق في إمكانات مضادات الأكسدة لمستخلص عشبة الليمون, تم استخدام عدة طرق , بما في ذلك اختبار DPPH, واختبار ABTS, واختيارβ - كاروتين يعرض الجدول3 نتائج الاختبار لإجراء تقييم مباشر وتفسير وارتباط مع المواد الاخرى. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المستخلص باستخدام تحليل الانحدار الخطي, حيث كان IC_{50}(تركيز التثبيط بنسبة50%) بمثابة تقنية القياس. تم إجراء هذا التقييم لتحديد فعالية المستخلصات, حيث ترتبط كفاءة النشاط عكسيا مع قيمةIC_{50} .

الجدول3 .أنشطة مضادات الأكسدة للمستخلص الميثانولي من عشبة الليمون باستخدام فحوصات مختلفة مثلDPPH,ABTS, ومقايسة بيتا كاروتين, ومقارنتها بمعايير مثل BHTوBHA.

Extracts	% Inhibition							
	3.125 µg	**6.25 µg**	**12.5 µg**	**25 µg**	**50 µg**	**100 µg**	**200 µg**	**IC_{50} µg/mL**
β-carotene	13,22±0,87	29,39±0,59	39,97±0,99	44,81±0,52	51,82±0,78	60,76±1,02	64,80±0,99	18,22±0.66
BHT	81.14±0.84	86.0.9±1.04	87.52±4.24	91.67±0.52	94.11±0.42	94.41±0.32	95.28±3.25	1.05±0.01
BHA	84.23±1.14	90.11±0.68	94.59±0.77	96.09±0.02	97.35±1.08	99.59±0.14	99.76±	0.90±0.02
ABTS	18,09±1,09	25,71±0,66	40,98±0,99	55,12±0,09	60,54±0,09	72,09±0,78	78,19±1,87	24,77±0,81

BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10
DPPH	11,17±0,34	12,04±1,03	22,92±1,09	29,03±1,07	29,66±0,96	51.03±0,83	61,88±1,05	29,09±0,98
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23	5.73±0.41

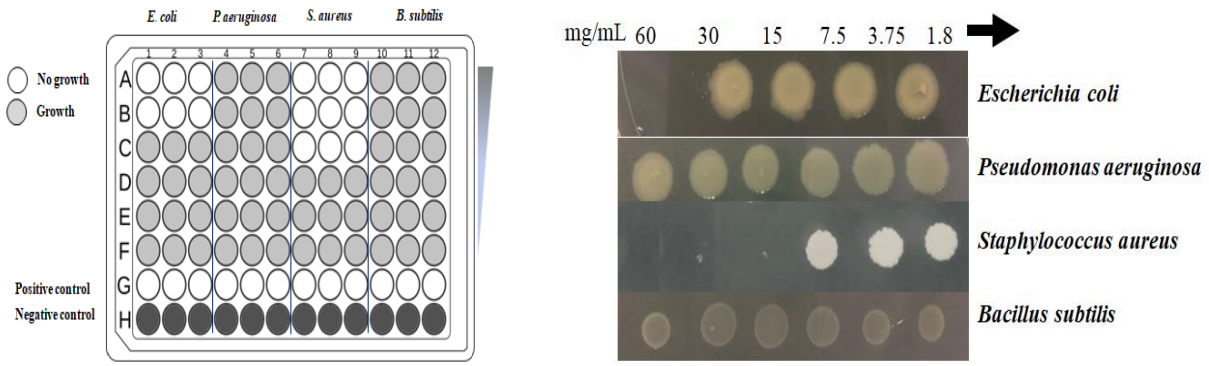
تظهر القيم على النحو التالي(يقصد ± SD ,n=3 ,$p<0.05$).

IV.4.2. نشاط مضاد للميكروبات:

ويبين الشكل 4 صورا للنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص عشبة الليمون .تصور هذه لوحات أبار مع سلالات البكتيرية ومناطق التثبيط حول الآبار التي تحتوي على المستخلص. يتم عرض نتائج الاختبار لتحديد الحساسية الميكروبية للمستخلصات في الجدول 4.تم اختبار التأثيرات المضادة للميكروبات للمستخلص من الأجزاء الهوائية لعشبة الليمون على Bacillus subtilis ATCC 25973, Staphylococcus aureus ATCC 25932, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 باستخدام طريقة انتشار البئر مع بئر مشرب بالمستخلص ووسط مولر هينتون.

الجدول4. نسبة MICوMBCوMBC/MIC لمستخلص عشبة الليمون ضد أربع بكتيريا

Bacteria strains (n = 3)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
***Escherichia coli* ATCC 25922**	30mg/ml	60mg/ml	2
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	60mg/ml	VHC	/
***Staphylococcus aureus* ATCC 25932**	15mg/ml	15mg/ml	1
Bacillus subtilis ATCC 25973	60mg/ml	VHC	/



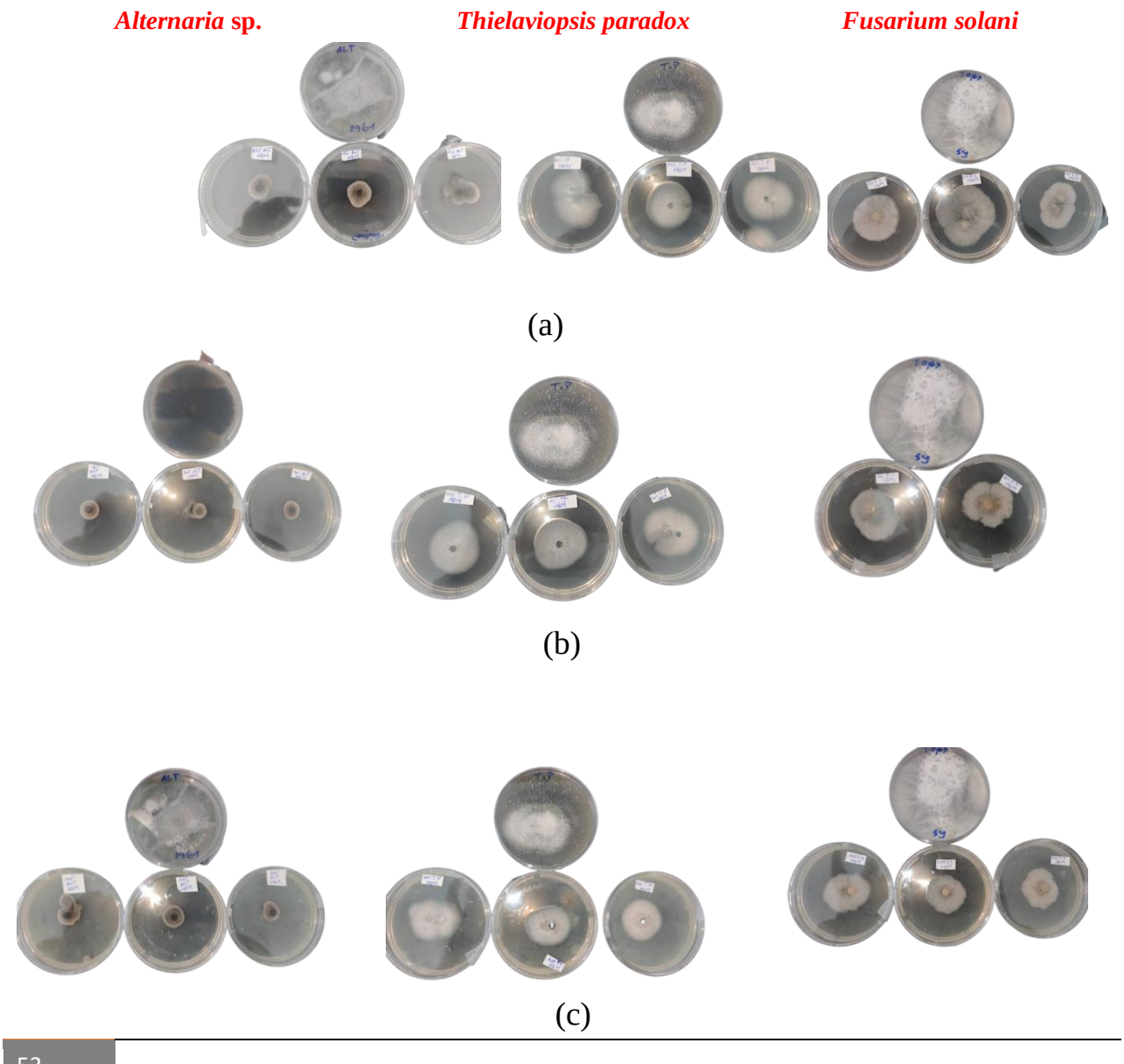
الشكل 4 .صور توضح النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص عشبة الليمون

IV.5.2.النشاط المضاد للفطريات:

يوضح الجدول 5 والشكل 3 نتائج النشاط المضاد للفطريات لمستخلص عشبة الليمون ضد ثلاثة فطريات ممرضة: Thielaviopsis paradox, Alternaria sp وFusarium solani.يبدو أن المستخلص له تأثير مثبط بالمقارنة مع التحكم. وقد ظهر أعلى تأثير علىAlternaria sp بنسبة 70.20% تليها*Thielaviopsis paradox* بنسبة 61.5753% ثم Fusarium solaniبنسبة 50.59 %.

الجدول 5. النشاط المضاد للفطريات لعشبة الليمون ضد الفطريات المسببة للأمراض

Concetraction (%)	Inhibition rate (%)		
	Thielaviopsis paradox	*Alternaria* sp.	*Fusarium solani*
100	61.17±0.67	69.01±1.79	45.49±5.30
50	61.56±1.79	70.19±1.79	50.58±1.17
25	57.25±0.67	68.62±6.03	43.92±2.96



الشكل3. صور توضح النشاط المضاد للفطريات لمستخلص عشبة الليمون تركيزات,(a)25%, (b)50%,(c) 100%

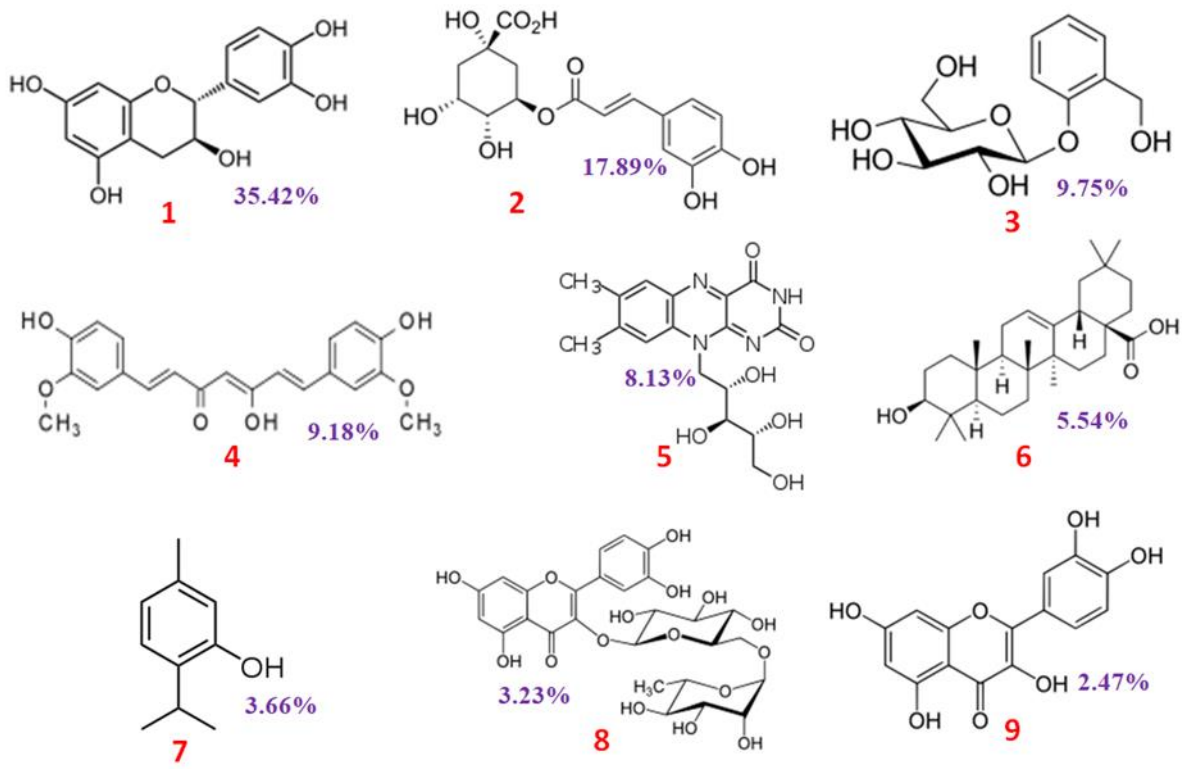
- **المناقشة:**

6.2.IV. الكيمياء النباتية:

وجد أن إجمالي محتوى الفينول ومحتوي الفلافونويد في المستخلص الميثانولي من الأجزاء الهوائية لنبات عشبة الليمون هو58.98±0.19 ميكروغرامGAE/ملغ مستخلص 92.82±0.91ميكروغرامQE/ملغ مستخلص, على التوالي. وتشير هذه النتائج إلى أن المستخلص غني بالمركبات الفينولية و الفلافونويدات المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة. المركبات الفينولية و الفلافونويدات هي مستقلبات ثانوية تنتجها النباتات كآلية دفاع ضد الضغوطات البيئية مثل الأشعة فوق البنفسجية ومسببات الأمراض[19].

7.2.IV. تحليل LC-MS:

كشف تحليل LC-MS لمستخلص نبات عشبة الليمون عن وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجيا (الشكل3). فيما يلي مناقشة حول مركبات الأغلبية المحددة وآثارها المحتملة: الكاتشين(1)(35.42%), هو فلافونويد ذو خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات. يشير وجوده في المستخلص إلى فوائد صحية محتملة مرتبطة باستهلاك عشبة الليمون[11]. حمض الكالوروجينيك (2)(17.89%), هو مركب فينولي ذو خصائص مضادة للأكسدة و مضادة للالتهابات. يشير وجوده في المستخلص إلى الفوائد الصحية المحتملة المرتبطة باستهلاك عشبة الليمون. الساليسين (3) (9.75%), هو مركب طبيعي ذو خصائص مضادة للالتهابات ومسكن. يشير وجوده في المستخلص إلى تأثيرات علاجية محتملة على الحالات الالتهابية[12]. الكركمين (4) (9.18%), هو مركب مدروس جيدا ومعروف بخصائصه المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة. يشير وجوده إلى أن المستخلص قد يمتلك نشاطا مضادا للالتهابات بالإضافة إلى تأثيراته المضادة للأكسدة الريبوفلافين(فيتامين B2)(5) (8.13%) , هو فيتامين يشارك في عمليات التمثيل الغذائي المختلفة و يعمل كمضاد للأكسدة. يشير وجوده في المستخلص إلى فوائد غذائية محتملة حمض الأوليانوليك (6)(5.54%), هو مركب ترايتيربينويد له أنشطة بيولوجية مختلفة, بما في ذلك التأثيرات المضادة للأكسدة و المضادة للالتهابات. يشير وجوده في المستخلص إلى فوائد صحية محتملة مرتبطة باستهلاك عشبة الليمون[13]. الثيمول (7)(3.66%), هو مركب موجود في الزعتر و يمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات. يشير وجود إلى نشاط محتمل مضاد للميكروبات للمستخلص. روتين (8)(3.23%), هو فلافونويد ذو خصائص مضادة للأكسدة بشكل عام للعشبة الليمون كيرسيتين(9)(3.23%), هو فلافونويد ذو خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات . يشير وجوده في المستخلص إلى تأثيرات محتملة لتعزيز الصحةب[14] . شكل عام, كشف تحليل LC-MS عن وجود مركبات نشطة بيولوجيا مختلفة في مستخلص نبات عشبة الليمون, مما يشير إلى إمكاناته في الأنشطة المضادة للالتهابات. هناك مايبرر إجراء مزيد من الدراسات لتوضيح آليات العمل المحددة والفوائد الصحية المحتملة لهذه المركبات.



الشكل3. المركبات النشطة بيولوجيا المحددة في مستخلص عشبة الليمون

IV.8.2.نشاط مضاد للأكسدة :

وفقا للنتائج الموضحة في الجدول 2, أظهر المستخلص الميثانولي من عشبة الليمون نشاطا مهما مضادا للأكسدة في اختبار DPPH, مع تركيز200ميكروغرام/مل يظهر نسبة تثبيط قدرها 61.88±1.05%. كان هذا النشاط مشابها أو أعلى من نشاط مضادات للأكسدة المرجعية BHTوBHA بتركيزات معينة. على سبيل المثال, عند25 ميكروغرام /مل, أظهر المستخلص نسبة تثبيط قدرها 29.03±1.07%, بينما أظهر BHT 22.21±1.30%.وبالمثل, عند 200ميكروغرام/مل أظهر المستخلص تثبيطا بنسبة61.88±1.05% ,في حين أظهر BHT تثبيطا بنسبة87.28 ±0.26%.بالإضافة إلى ذلك , أظهر المستخلص نشاطا هاما مضادا للأكسدة في اختبار ABTS, بتركيز 200ميكروغرام/مل يظهر نسبة تثبيط قدرها 78.19±1.87%. ومع ذلك, بالمقارنة مع BHTوBHA, أظهر المستخلص نشاطا أقل لمضادات الأكسدة في جميع التركيزات التي تم اختبارها. علاوة على ذلك, في اختبار البيتا كاروتين, أظهر المستخلص نشاطا مضادا للأكسدة يعتمد على الجرعة, مع تركيزات أعلى تؤدي إلى زيادة نسب التثبيط. عند200ميكروغرام/مل, أظهر المستخلص نسبة تثبيط قدرها 64.80±0.99%, مما يشير إلى نشاط كبير مضاد للأكسدة. ومع ذلك, على غرار اختبار ABTS, أظهر المستخلص نشاطا مضادا للأكسدة أقل مقارنة بBHTوBHA في جميع التركيزات. تشير هذه النتائج إلى أن المستخلص الميثانولي من عشبة الليمون يمتلك نشاطا كبيرا مضادا للأكسدة, والذي يمكن أن يعزي إلى وجود المركبات الفينولية و الفلافونويدات, كما يتضح من إجمالي محتويات الفينول والفلافونويد المحددة مسبقا. وهكذا العلماء [16, 15] . ركزوا الكثير من أهتمامهم على المركبات الفينولية بسبب نشاطها المضاد للأكسدة وقدراتها على تنظيف الجذور الحرة. تؤثر هذه القدرات

بشكل إيجابي على صحة الغنسان وتشكل فئة كبيرة من مضادات الأكسدة لذلك, يبدو أن العلاج بمضادات الأكسدة خيار علاجي مفيد لهذه الأمراض حيث يبدوأن الإجهاد التأكسدي متورط في نشأة العديد من الامراض المزمنة والتنكسية العصبية بثلاث طرق مختلفة, تحمي مضادات الأكسدة الخلايا من أضرار الجذور الحرة: عن طريق منع الجذور من التطور في المقام الأول, أو التخلص منها أو تعزيز انهيارها [16].

IV.9.2.النشاط المضاد للميكروبات:

يوضح الجدول 4 والشكل 2 التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص عشبة الليمون على سلالات بكتيرية مختلفة. يعتبر المستخلص أكثر فعالية في قتل (MBC) مقارنة بتثبيط نموها(MIC). تشير نسبة MBC/MIC البالغة2 إلى أن المستخلص مبيد للجراثيم ضد Escherichia coli. أدى المستخلص إلى تثبيط نمو P. aeruginosa عند 60 ملغ/مل, ولكن لا يمكن تحديد MBC ضمن نطاق التركيز الذي تم اختباره. يشير هذا إلى أن المستخلص قد يكون فعالا في قتل P. aeruginosa عند التراكيزات التي تم اختبارها. المستخلص فعال بنفس القدر في تثبيط النمو وقتل المكورات العنقودية الذهبية. تشير MBC/MIC البالغة1إلى أن المستخلص مبيد للجراثيم ضد المكورات العنقودية الذهبية. على غرار P. aeruginosa, أدى المستخلص إلى تثبيط نمو B. subtilis عند60ملغ/مل, ولكن لا يمكن تحديد MBC ضمن نطاق التركيز الذي تم اختياره. يشير هذا إلى أن المستخلص قد لا يكون فعالا في قتل البكتيريا العصوية الرقيقة عند التركيزات التي تم اختيارها. تتوافق نتائجنا مع النتائج التي تم الحصول عليه [17].تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة لأوراق عشبة الليمون المستخرجة بالتتابع باستخدام المذيبات (الكلوروفورم والميثانول والماء). ومن المعروف أن النباتات تحتوي على جزيئات نشطة بيولوجيا مختلفة, بما في ذلك الفينولات, والقلويدات, والتربين, التربينويدات, والستيرول, والتي يمكن أن تؤثر على الخلايا البكتيرية وتمنع نموها. ثبت أن بعض البوليفينول, وخاصة العفص والفلافونويد, تعزز الخصائص المضادة للميكروبات للمستخلصات. يمكن أن تتأثر السمية والنشاط المضاد للميكروبات للمركبات الفينولية بموضع وكمية مجموعات الهيدروكسيل, مع زيادة الهيدروكسيل بشكل عام مما يؤدي إلى زيادة السمية. يمكن أن تعزى الخصائص المضادة للبكتيريا الفينولات إلى قدرتها على تثبيط نمو البكتيريا بعد الالتصاق بأغشية الخلايا, أو التفاعل مع الإنزيمات والمؤثرات, أو استنزاف الركائز والأيونات المعدنية الضرورية لبقاء البكتيريا. أثبتت مركبات الفلافونويد, وهي نوع من مادة البوليفينول, خصائص مضادة للميكروبات ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض المختلفة. على الرغم من المحتوى العالي من المركبات الفينولية الكلية (TPC) ومركبات الفلافونويد الكلية (TFC) في المستخلصات الميثانولية لنبات عشبة الليمون إلا أن المستخلصات لم تظهر أي نشاط ضد Pseudomonas aeruginosa وانخفاض النشاط ضد المكورات العنقودية الذهبية و الإشريكية القولونية. هذا النقص في النشاط المضاد للبكتيريا. قد تشير إلى أن المستخلصات تعمل بشكل غير مباشر, وربما تتطلب التنشيط في الجسم بآلية غير معروفة. فعالية المستخلصات النباتية ضد البكتيريا يمكن أن تختلف تبعا لتركيبها الكيميائي. قد تكون المستخلصات ذات التركيزات العالية من مادة البوليفينول النشطة بيولوجيا أكثر فعالية من تلك التي تحتوي على نسبة عالية من TPCولكن نشاط بيولوجي منخفضق[18]. د تساهم التأثيرات التآزرية للمواد الكيميائية المتعددة في المستخلص في نشاطه المضاد للبكتيريا بشكل عام, بدلا من مكون واحد يعمل كعنصر

نشط أساسي. تتداخل مكونات معينة من المستخلص مع بروتينات الغشاء الميكروبي, مثل إنزيمATPase, ويمكن أن تمنع تخليق DNAوRNA والبروتينات والسكريات من المحتمل أن تؤثر هذه المواد النشطة بيولوجيا على الخلايا الميكروبية من خلال آليات متعددة, مما يؤدي إلى تدمير المادة الوراثية وموت البكتيريا. من ناحية أخرى, قد تنتج المقاومة البكتيرية عن الاختلافات الهيكلية في أغشيتها الخارجية. من المحتمل الأ يعزي النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات إلى آلية واحدة ولكن إلى عدة أهداف خلوية, نظرا للتباين في الكميات وملامح مكونات المستخلص وطبيعة البكتيريا. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحديد المكونات النشطة بيولوجيا الأولية وطرق عملها على البكتيريا [19].

IV.10.2.النشاط المضاد للفطريات:

يعرض الجدول 5 النشاط المضاد للفطريات للعشبة الليمون ضد ثلاثة فطريات ممرضة. Thielaviopsis paradox, Alternaria sp, Fusarium solani. بتركيزات مختلفة(50,100و25%). تشير معدلات التثبيط, معبرا عنها بالنسب المئوية, إلى فعالية للعشبة الليمون في تثبيط نمو هذه الفطريات. بشكل عام, أظهرت النتائج أن عشبة الليمون له خصائص مضادة للفطريات ملحوظة ضد مسببات الأمراض التي تم اختبارها. عند أعلى تركيز(100%), أظهرت عشبة الليمون معدلات تثبيط كبيرة لجميع الفطريات الثلاثة: 61.18 % ل Thielaviopsis paradox. 69.02% لAlternaria sp , و45.49% ل Fusarium solani. ومن المثير للاهتمام أن فعالية عشبة الليمون لا تزداد باستمرار مع التركيز. على سبيل المثال, معدلات تثبيط Thielaviopsis paradoxوAlternaria sp . وهي أعلى قليلا بنسبة 50% مقارنة ب 100% ، على الرغم من أن الاختلافات طفيفة. يظهر Fusarium solani معدل تثبيط أعلى قليلا بنسبة 50 % مقارنة بكل من 100 %و 25 %.

تشير هذه النتائج إلى أن عشبة الليمون لها تأثير مضاد للفطريات يعتمد على الجرعة ، ولكن التركيز الأمثل لأقصى قدر من التثبيط قد يختلف اعتمادا على الأنواع الفطرية . يمكن لمزيد من الدراسات استكشاف الآليات الأساسية للنشاط المضاد للفطريات للعشبة اليمون و التحقيق في تطبيقه المحتمل كعامل طبيعي مضاد للفطريات في الزراعة أو الطب . يستكشف الباحثون بنشاط إمكانات المستخلصات النباتية العطرية و الزيوت الأساسية ، التي تمتلك خصائص مضادة للميكروبات و الفطريات ، للسيطرة على مسببات الأمراض المنقولة بالغذاء والكائنات الحية الدقيقة المنتجة للسموم [20].

في هذه الدراسة ، أظهر مستخلص عشبة الليمون نشاطا مضادا قويا ضد ثلاثة فطريات ممرضة Thielaviopsis paradox, Alternaria spوFusarium solani.ذكر البخاري فردوس 2009 أن مستخلصات عشبة الليمون أظهرت خاصية أبادة فطرية كبيرة ضد Microsporum canis بقطر30±1.5ملم,Microsporum gypseum 22±0.5 ملم و Trichophyton verrucosum 30±1.6ملم.كان مستخلص عشبة الليمون الميثانولي الأكثر عرضة لفطريات Aspergillus Nigerوفطريات Colletotrichum musae,حيث أظهر مناطق تثبيط تبلغ 10.20ملم و9.50 ملم، على التوالى [21]. يبرز مستخلص عشبة الليمون كعامل مضاد للميكروبات طبيعي وغير سام, مما يدل على فعاليته ضد الالتهابات المختلفة التي تسببها الفطريات والفيروسات والبكتيريا والطفيليات وغيرها من الغزاة المجهرين.

قائمة مراجع الفصل الرابع

1 Orsavová J, JuríKová T, Bednaříková R, Mlček J (2023) Total Phenolic and Total Flavonoid Content, Individual Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Sweet Rowanberry Cultivars. *Antioxidants* 12(4) : 913. https://doi.org/10.3390/antiox12040913

2 Salleh SNAS, Hanapiah NAM, Ahmad H, Johari WLW, Osman NH, Mamat MR (2021) Determination of Total Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity and GC-MS Analysis of Malaysian Stingless Bee Propolis Water Extracts. *Scientifica* 2021 : 1-11. https://doi.org/10.1155/2021/3789351

3 Ozuna C, Mulík S, Valdez-Rodríguez B, Del Rosario Abraham-Juárez Ma, Fernández-López CL (2019) The effect of organic farming on total phenols, total flavonoids, brown compounds and antioxidant activity of spent coffee grounds from Mexico. *Biological Agriculture & Horticulture* 36(2) : 107-118. https://doi.org/10.1080/01448765.2019.1704876

4 Mohammed EA, Abdalla IG, Alfawaz M, Mohammed MA, Maiman SAA, Osman MA, Yagoub AEA, Hassan AB (2022) Effects of Extraction Solvents on the Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity in the Aerial Part of Root Vegetables. *Agriculture* 12(11) : 1820. https://doi.org/10.3390/agriculture12111820

5 Pisoschi AM, Pop A (2015) The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress : A review. *European Journal Of Medicinal Chemistry* 97 : 55-74. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040

6 Raza MA, Malik MS, Azam M, Azam M (2020) Impact of Natural Antioxidants on Biological Systems. *LGU Journal Of Life Sciences* 4(02) : 139-162. https://doi.org/10.54692/lgujls.2019.0402105

7 Balakrishnan B, Paramasivam S, Arulkumar A (2014) Evaluation of the *lemongrass* plant (*Cymbopogon citratus*) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens. *Asian Pacific Journal Of Tropical Disease* 4 : S134-S139. https://doi.org/10.1016/s2222-1808(14)60428-x

8 Silva V, Igrejas G, Falco V, Santos TM, Torres C, Oliveira AM, Pereira JE, Amaral JS, Poeta P (2018) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food Control* 92 : 516-522. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.031

9 Liang J, Huang X, Ma G (2022) Antimicrobial activities and mechanisms of extract and components of herbs in East Asia. *RSC Advances* 12(45) : 29197-29213. https://doi.org/10.1039/d2ra02389j

10 Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanović-Radić Z, Stojanovic NM (2013) Antimicrobial Plant Metabolites : Structural Diversity and Mechanism of Action. *Current Medicinal Chemistry* 20(7) : 932-952. https://doi.org/10.2174/092986713805219136

11 Delcour AH (2009b) Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins And Proteomics* 1794(5) : 808-816. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.005

12 Wang L, Hu C, Shao L (2017) The antimicrobial activity of nanoparticles : present situation and prospects for the future. *International Journal Of Nanomedicine* 12 : 1227-1249. https://doi.org/10.2147/ijn.s121956

13 Vemula SR, Kumar RN, Polasa K (2012) Foodborne diseases in India – a review. *British Food Journal* 114(5) : 661-680. https://doi.org/10.1108/00070701211229954

14 Soliman K, Badeaa RI (2002) Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food And Chemical Toxicology* 40(11) : 1669-1675. https://doi.org/10.1016/s0278-6915(02)00120-5

15 Valero M, Salmerón MC (2003) Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. *International Journal Of Food Microbiology* 85(1-2) : 73-81. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00484-1

16 Naseem Z, Zahid M, Hanif MA, Shahid M (2020) Green extraction of ethnomedicinal compounds from *Cymbopogon citratus* Stapf using hydrogen-bonded supramolecular network. *Separation Science And Technology* 56(9) : 1520-1533. https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1781894

17 Nacer SN, Zobeidi A, Bensouici C, Amor MLB, Haouat A, Louafi F, Moussaoui Y, Salem RB, Khan MI, Ghernaout D, Elboughdiri N (2023) In vitro antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts from the leaves and stems of Oudneya Africana R. growing in the El Oued (Algeria). *Biomass Convers Biorefin*. https://doi.org/10.1007/s13399-023-04856-9

18 Wang B, Liang P, Zhu L, Ren P (2007) Protective effect of total flavonoids from Spirodela polyrrhiza (L.) Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids Surf B* 60(1) : 36-40. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.05.020

19 Aanachi SE, Gali L, Nacer SN, Bensouici C, Dari K, Aassila H (2020) Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatal Agric Biotechnol* 29 : 101819. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101819

20 Benchikha N, Rebiai A, Ouarda B, Salah NN, Larbi BAM (2019) Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of essential oil from *Ammodaucus* leucotrichus Cosson & ; Durieu (Apiaceae) growing in South Algeria. *Bull Chem Soc Ethiop* 33(3) :541. https://doi.org/10.4314/bcse.v33i3.14

21 Rahhal B, Qneibi M, Jaradat N, Hawash M, Qadi M, Issa L, Bdir S (2024) Multi-biological activity assessment and phytochemical characterization of an aqueous extract of the Cymbopogon citratus grown in Palestine. *BMC complement med* ther 24(1). https://doi.org/10.1186/s12906-024-04338-z

خاتمة عامة

خاتمة عامـــــة

إن الاهتمامات المسلطة من طرف العلماء مازالت في قيد البحث والدراسة بسبب أهميتها البالغة في جميع المجالات سواء كانت غذائية أو علاجية لاحتواها على مواد كيميائية فعالة ناتجة عن الايض الثانوي للنباتات.

يهدف عملنا هذا في دراسة القدرة المضادة للأكسدة والنشاط البيولوجي لمستخلصات الميثانولية اثنين من النباتات الطبية المتواجدة في الوادي ودراسة التركيبة النباتي وأنشطته البيولوجية وهما نبات L.guyonianum المعروف باسم نبات الزيتة و Cymbopogon citratasالمعروف باسم نبات عشبة الليمون, حيث تم في البداية الحصول على المستخلصات وفق تدرج القطبية من المستخلص الهكساني ثم مستخلص ميثانولي، لتنتقل بعدها إلى تقييم بعض الفعاليات البيولوجية للمستخلصات بإجراء ثلاثة إختبارات للفعالية البيولوجية هما DPPH وβ-carotene و ABTS لتقييم نشاط مضادات الأكسدة في المستخلصات حيث كانت هذه المستخلصات غنياتان بالمركبات الفينولية و الفلافونويدات, وتشتهر هذه المركبات بخصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات, والمضادة للبكتيريا مما يشير إلى تطبيقات علاجية محتملة في بعض الحالات. و علاوة على ذلك, أظهر المستخلصات فعالية مضادة للفطريات معنوية ضد Thielaviopsis paradox وAlternaria sp ., وفعالية متوسطة ضد Fusarium solani. تدعم هذه النتائج استخدامه التقليدي في علاج الالتهابات الفطرية.

وأخيرا كتوصيات مستقبلية نتمنى التوسع والتعمق في دراسة هذا النبات لما له من فوائد علاجية وغذائية هامة، إضافة لدراسة الخصائص الكيميائية النباتية كعامل و هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحديد المكونات النشطة بيولوجيا للمستخلصات وطريقة عملها على البكتيريا