رقم الترتيب:

رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم بيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي وفيزيولوجيا نبات

الموضوع

مساهمة في تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار نبات الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla*

من إعداد:

عبير جويدة محمد و آمنة معامير

نوقشت يوم 03 / 06 / 2018 من طرف لجنة المناقشة:

➢ أ. خالد خراز	أستاذ مساعد قسم "أ"	رئيسا	جامعة الوادي
➢ د. عاطف شويخ	أستاذ محاضر قسم "أ"	مؤطرًا	جامعة الوادي
➢ أ. نور الهدى مخدمي	أستاذ مساعد قسم "أ"	ممتحنا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2017 /2018

الشكر والتقدير

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

نشكر الله العلي القدير أولا وأخيرا أن من علينا بإتمام هذا العمل وتقديمه بهذه الصورة

نحمده سبحانه جل وعلا علم الإنسان مالم يعلم فانفعنا اللهم بما علمتنا وزدنا علما .

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية أن نقف وقفة شكر وتقدير وعرفان إلى كل من ساهم في إثراء هذا البحث بمساعدتنا بفكرة أضاءت لنا درب العمل

أو بكلمة طيبة أو ابتسامة أو بدعوة خالصة .

ونخص بالذكر الأستاذ الدكتور الفاضل **شويخ عاطف** الذي تقدم بالإشراف على هذا العمل وعلى توجيهاته ونصائحه القيمة لانجاز هذا العمل على أكمل وجه فجزاه الله كل الخير .

كما نتقدم بجزيل الشكر والتقدير إلى أعضاء لجنة المناقشة الذين لبوا دعوتنا من أجل إثراء ومناقشة هذا البحث.

والشكر الخاص إلى كل من وضع بصماته في كتابة هذا العمل وإخراجه بهذه الصورة ونخص بالذكر كل من : علية فاطمة ، عجال الحادة .

وفي الأخير لا ننسى أن نشكر كل الأساتذة الذين ساهموا في تكويننا طيلة مسارنا الدراسي،

كما نشكر موظفي مصلحة المخابر لكلية علوم الطبيعة والحياة

وإلى كل طلبة وطالبات الماستر دفعة **2018**.

الإهـــــــداء

إلى الوجه الذي لا يكفف ابتساما، إلى من علمني كل حرف فكان نعم المعلم، إلى الذي علمني طعم الحياة وعلمني كيف امضي في دروبها .... **أبي العزيز**.

إلى النهر الذي لا يجف حنانا **أمي الحنون** التي أسأل الله أن يرزقني برها ماحييت ، فهي التي كانت ومازالت تغرق علي برعايتها وعطفها وسداد رأيها في أموري كلها.

إلى أشقاء روحي أخوتي وأخواتي

إلى كل الأصدقاء

إلى كل من سكنو قلبي ونسيهم قلمي

ولم تتسع لهم هذه الورقة .

الملخص

Résumé

Abstract

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى المقارنة بين الفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار شجرة الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla* (Mimosaceae) المقطوفة من منطقة عين زعطوط ببسكرة.

بينت النتائج أن أعلى قيمة للمردود سجلت في المستخلص الأوراق FFLA (4.8٪) متفوقا بذلك عن مستخلص الأزهار FFRA (4.1٪)، أما فيما يخص النشاطية المضادة للأكسدة ففي إختبار DPPH أظهر المستخلص الفلافونويدي لمستخلص الأزهار (FFRA) كفاءة عالية في تثبيط الجذر بقيمة IC_{50} قدرت بـ(0.043 ملغ / مل) مقارنة بمستخلص الأوراق (FFLA) حيث قدرت قيمة IC_{50} بـ (0.084 ملغ / مل).

أما بالنسبة لإختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) فأظهرت النتائج تقارب القيم المتحصل عليها عند التركيز(1.2 ملغ / مل) بنسب انحلال قدرت بـ (58.34٪ ، 60.22٪) في مستخلصي الأزهار والأوراق على التوالي.

أما التحليل النوعي للمستخلصين باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) أبدى اختلافات في نوعية وتركيز بعض الأحماض الفينولية والفلافونويدات المرجعية، كحمض الغاليك وحمض الكافييك، حمض الكلورجينيك، حمض ب-كومارين، الروتين والكرستين.

الكلمات المفتاحية: الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla*؛ الفلافونويدات؛ المستخلص الأزهار FFRA؛ مستخلص الأوراق FFLA؛ إختبار DPPH؛ إختبار Hémolyse؛ الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

Résumé

Le but de cette étude est de comparaison entre les flavonoïdes extraits des feuilles (FFLA) et des fleurs (FFRA) de *l'Acacia cyanophylla* (Mimosaceae) . prélevé dans la région d'Ain Zaatout (W. BISKRA).

Les résultats ont montré que la plus grande valeur des rendements dans l'extrait de feuilles FFLA (4,8%) supérieur à l'extrait de fleurs FFRA (4,1%).

L'activité antioxydants avec le test DPPH a montré que l'extrait de les fleurs (FFRA) avait la valeur élevée d'inhibition (IC_{50} = 0,043 mg/ml) comparée à l'extrait de les feuilles (FFLA) où était la valeur de IC_{50} (0,084 mg / ml).

Les résultats du test d'hémolyse ont montré une similitude des taux d'hémolyse (58,34% dans l'extrait de fleurs (FFRA) et 60,22% dans l'extrait de feuilles (FFLA)) avec la concentration 1,2 mg / ml.

L'analyse qualitative des extraits par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) a montré les différences de concentration et de qualité de certains acides phénoliques et flavonoïdes tels que l'acide Gallique, l'acide Caffiec, l'acide Chlorogénique, l'acide p-Coumarine, la Rutine et la Quercitine.

Mots-clés: *Acacia cyanophylla*, Flavonoïdes, FFRA, FFLA, DPPH, Hémolyse, Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC).

Abstract

The aim of this study is to comparison between the flavonoids extracted from the leaves (FFLA) and flowers (FFRA) of the *Acacia cyanophylla* (Mimosaceae) collected from the region of Ain Zaatout (W. BISKRA).

The results showed that the highest value of the yields in the extract of leaves FFLA (4.8%) superior of flowers extract FFRA (4.1%).

The antioxidant activity with the DPPH test showed the extract of Flowers (FFRA) have the High value of inhibition (IC_{50} = 0.043 mg/ml) compared by the extract of leaves (FFLA) where was the value of IC_{50} (0.084mg/ml).

The results of hemolysis test showed a similarity of rates of hemolysis (58.34% in extract of Flowers (FFRA) and 60.22% in extract of leaves (FFLA)) with the concentration 1.2 mg/ml.

The qualitative analysis of the extracts by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) showed the differences in concentrations and quality of some phenolic acid and acid, Chlorogenic acid, p-Coumarin acid, Rutin and Flavonoid's such as Gallic acid, Caffiec Quercitin.

Key words: *Acacia cyanophylla*, flavonoids, FFRA, FFLA, DPPH, Hemolysis, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

الفهرس

الفهرس الوثائق

العنوان	الصفحة
الملخص	
الفهرس	
فهرس الوثائق	
فهرس الجداول	
قائمة الاختصارات	
المقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: الفلافونويدات والنشاطية المضادة للأكسدة	
I. الفلافونويدات	05
1. تعريفها	05
2. تواجدها في النبات	05
3. تصنيف الفلافونويدات	06
4. خصائص الفلافونويدات	08
5. الاصطناع الحيوي	08
6. أدوار الفلافونويدات	10
II. النشاطية المضادة للأكسدة	11
I. الجذور الحرة	11
1. تعريفها	11
2. أنواع الجذور الحرة	11
1.2. التصنيف على أساس الاستقرار	12
2.2. التصنيف على أساس النوع	12
3. مصادر الجذور الحرة	13
1.3. المصادر الداخلية	13
1.3. المصادر الخارجية	13

4. تأثير الجذور الحرة	13
II. مضادات الأكسدة	13
1. تعريفها	13
2. تصنيف مضادات الأكسدة	13
1.2. مضادات الأكسدة الإنزيمية	14
2.2. مضادات الأكسدة غير الإنزيمية	14
1.2.2. مضادات الأكسدة الطبيعية	15
الفصل الثاني: دراسة تصنيفية لنبات الطلع الأزرق *Acacia Cyanophylla*	
1. العائلة الطلحية (Mimosaceae)	17
2. جنس الأكاسيا Acacia	17
1.2. التوزيع الجغرافي لجنس الأكاسيا في العالم	17
2.2. جنس الأكاسيا في الجزائر	18
3.2. استعمالات شجرة الأكاسيا Acacia	20
3. نبات الطلع الزرق *Acacia cyanophylla*	22
1.3. الوصف والتصنيف النباتي	22
4. التصنيف العلمي لأكاسيا السيانوفيلا *Acacia cyanophylla*	4
5. شروط زراعة نبات الطلع الأزرق *Acacia cyanophylla*	25
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: المواد المستعملة والطرق	
1. في الميدان	28
1.1. المادة النباتية	28
2.1. الأدوات والطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية	28
2. في المخبر	28
1.2. الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة	28
2.2. الطرق المتبعة	30

1.2.2. استخلاص الفلافونويدات من أوراق وأزهار نبات	30
2.2.2. تقدير المردود	31
3.2.2. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	32
1.3.2.2. اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH·	32
2.3.2.2. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	33
4.2.2. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات المدروسة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	33
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
1. النتائج	36
1.1. حساب نسبة المردود (R%)	36
2.1. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة (AAO)	36
1.2.1 اختبار الجذر الحر DPPH	36
2.2.1 اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	38
3.1. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات المدروسة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	39
2. المناقشة	46
الخاتمة	50
قائمة المراجع	52

الرقم	العنوان	الصفحة
01	الوحدة الأساسية للفلافونويدات	05
02	البنية الكيميائية لـ Chalcone و Aurone	06
03	البنية الكيميائية لـ Flavone و Flavonol	06
04	البنية الكيميائية لـ Flavanonols و Flavanone	07
05	البنية الكيمائية لـ Flavan3-ols و Flavan3,4diols	07
06	مراحل تخليق الفلافونويدات انطلاقا من حمض الشكميك	09
07	تشكيل Malonyl-CoA انطلاقا من Acétyl-CoA	09
08	التحولات الداخلية بين مختلف أقسام الفلافونويدات	10
09	التوزيع الجغرافي(باللون الأحمر) لجنس الاكاسيا في العالم.	17
10	التوزيع الطبيعي للأنواع الستة من الأكاسيا والحدود الجغرافية	18
11	بعض أشجار السنط	21
12	أوراق وشوك بعض أنواع السنط	21
13	أزهار لأنواع مختلفة من السنط	22
14	شجرة الطلح الأزرق	22
15	أوراق الطلح الأزرق	23
16	لحاء الطلح الأزرق	23
17	أزهار الطلح الأزرق	23
18	ثمار نبات الطلح الأزرق	24
19	برتوكول استخلاص الفلافونويدات من نبات الأكاسيا الأزرق	31
20	آلية التفاعل الذي يحدث في اختبار DPPH بين الجذر الحر DPPH ومضادات الأكسدة.	32
21	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك Acide Ascorbique في اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	36

22	نسبة تثبيط تراكيز من FFRA للجذر الحر DPPH	37
23	نسبة تثبيط تراكيز من FFLA للجذر الحر DPPH	37
24	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك في اختبار Hémolyse	38
25	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص FFLA	38
26	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص FFRA	39
27	المنحى الكورماتوغرافي لمستخلص FFRA	40
28	المنحى الكورماتوغرافي لمستخلص FFLA	40

الفهرس الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
01	بعض الأنواع من الأكاسيا	19
02	التصنيف العلمي لنبات	24
03	الأدوات والطرق المستعملة لتجهيز المادة النباتية	28
04	الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة	29
05	نسب مردود المستخلصات	36
06	قيم IC_{50} للمستخلص (FFLA؛FFRA) وحمض الاسكوربيك	38
07	بعض المركبات الفلافونويدية والأحماض الفينولية لمستخلص FFLA	40
08	بعض المركبات الفلافونويدية والأحماض الفينولية لمستخلص FFRA	42
09	البنى الكيميائية للمركبات المعروفة المتحصل عليها من التحليل الكروماتوغرافي (HPLC) للمستخلصات المدروسة	43
10	تراكيز المركبات المعروفة في كلا المستخلصين FFLA وFFRA	45

قـائمة الاختصـارات

Ac: **الا**متصاصية للعينة الشاهد عند طول الموجة (517 nm).

As: امتصاصية وجود العينة في إختبار DPPH (517 nm).

AA: حمض الأسكوربيك.

IC_{50}: تركيز المستخلص الفلافونويدي لتثبيط 50 % من الجذور الحرة.

I%: النسبة المئوية للتثبيط.

R: المردودية

FFRA: المستخلص الفلافونويدي للأزهار.

FFLA: المستخلص الفلافونويدي للأوراق .

DPPH: 1 ,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

AAO: Activité Antioxydant

HPLC : الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

المقدمة

منذ وجود الإنسان على سطح الأرض عرف عدة أساليب للعلاج وعمل على دراستها وتطويرها من بينها العلاج بالنباتات والأعشاب الطبية، لذلك اجتهد بجمعها وتصنيفها ودراسة خصائصها، حيث أن كل نبات يحتوي على العديد من المواد العلاجية الفعالة وتختلف المواد بتنوع النباتات واختلاف الأقاليم الجغرافية والظروف البيئية المتواجدة فيها حيث تنتشر حسب قدرتها على التكيف مع المحيط (رهواني وساري،2008؛ شروانة، 2007).

ومن بين هذه النباتات نبات الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla* الذي ينتمي إلى جنس *Acacia* وهو أهم أجناس العائلة الطلحية Mimosaceae، يستعمل بكثرة في الطب الشعبي في استراليا الغربية والشرق الأوسط ، أمريكا الوسطى وشمال وجنوب إفريقيا ، حيث عرف بعلاجه للإختلالات المعدية كالإسهال والتخفيف من التهاب الحلق بالإضافة إلى أمراض أخرى (SKKOUR, 2007).

يملك نبات *Acacia cyanophylla* سمعة حسنة في الطب التقليدي مما دفع بالباحثين إلى اختبار مختلف المستخلصات المتحصل عليها من هذا النبات في علاج بعض الاضطرابات الفيزيولوجية والكشف عن المواد الفعالة التي يعزى لها هذا النشاط. وإنصب تركيز الباحثين على المستخلصات العطرية أو الزيوت الأساسية لهذا النبات وأهملت إلى حد ما تلك المستخلصات المتحصل عليها عن طريق الماء أو المذيبات العضوية، هذا ما دفع بنا إلى إقتراح هذا البحث وذلك بناءا على الاستعمالات الشعبية الواسعة لهذا النبات.

في هذه الدراسة سنتطرق إلى استخلاص أكثر المواد الفعالة إنتشارا وفعالية ضد الجذور الحرة ألا وهي الفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار النبات مع تحديد تركيز بعض المجموعات منها ونوعيتها البنيوية عن طريق كروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) ،واختبار النشاطية المضادة للأكسدة من خلال تقدير القدرة التثبيطية للجذور الحرة. وذلك بهدف إيجاد إجابة على التساؤل التالي:

- ما هو الفرق بين الفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار النبات؟ وهل يؤثر هذا الفرق على النشاطية المضادة للأكسدة؟

حيث تم تقسيم العمل إلى جزأين:

← جزء النظري: يتضمن فصلين، الأول يهتم بعرض مركبات الأيض الثانوية، أما الفصل الثاني فخصص للدراسة التصنيفية للنبات قيد الدراسة.

← جزء التطبيقي: كذلك بدوره مقسم إلى فصلين حيث قمنا في الفصل الأول بجرد المواد المستعملة والطرق المتبعة في الدراسة، أما الفصل الثاني فخصص لعرض النتائج ومناقشتها محاولين بذلك الإجابة على الإشكالية المطروحة آنفا.

وفي الأخير ختمنا بحثنا بخاتمة مرفقة بتوصيات وأفاق البحث المستقبلية.

الجزء النظري

الفصل الأول

الفلافونويدات والنشاطية المضادة للأكسدة

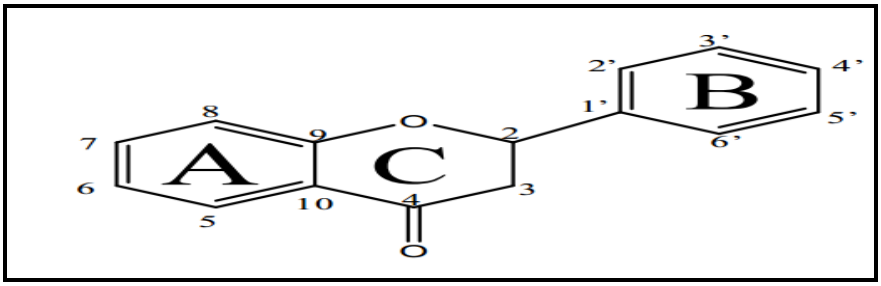
الفلافونويدات

اكتشفت الفلافونويدات لأول مرة من طرف عالم الكيمياء الحيوية «Albert Szent-Györgyi»، الذي صنفها على أنها فيتامين P. ونظرا لاستعمالها في عدة ميادين حيوية، فقد أثارت اهتمام العديد من الباحثين، وذلك نظر لأنها تعد من أكبر مجموعات الأيض الثانوي في النبات، حيث تقدر بحوالي 9000 مركب منها: إيتيروزيدية Heterosides وأجليكونية Aglycones (WILLIAMS et GRAYER, 2004; HARBORNE,1988).

1. تعريفها

مصطلح «الفلافونويدات» يشير إلى مجموعة واسعة من المركبات النباتية التي تنتمي إلى عائلة عديدات الفينول (GHERIB, 2009)، حيث تشتق في الغالب من مركب الـ 1,3-diphenylpropane. وهي مركبات يتميز معظمها باللون الأصفر؛ الذي يظهر جليا في الأزهار والفواكه (لكحل، 2008).

وتمتلك جميع الفلافونويدات هيكلاً كربونيا مكونا من 15 ذرة كربون (C_6-C_3-C_6) موزعة في حلقتين عطريتين A وB تربط بينهما بحلقة بيران غير متجانسة التركيب تعرف بالحلقة (C) (بكه وحفيان، 2015)، حيث يعتبر الـ 2-phenylchromane الوحدة الأساسية لها - الشكل (01) - (ATHAMENA, 2009؛ غيابة 2015).



الوثيقة (01): الوحدة الأساسية للفلافونويدات (بكه وحفيان، 2015).

2. تواجدها في النبات

تعتبر الفلافونويدات من المركبات الطبيعية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية، حيث تنتشر بصورة كبيرة في النباتات الراقية، في حين تتواجد بنسب ضئيلة أو شبه معدومة في النباتات الدنيا. تتواجد عادة على مستوى النبات في الأوراق، الأغصان والأزهار(MEDIC-SARIC et *al.*, 2004)؛ وكذا في القشرة الخارجية لبعض الفواكه (MARFAK, 2003). أما على المستوى الخلوي فتتواجد على مستوى الفجوة

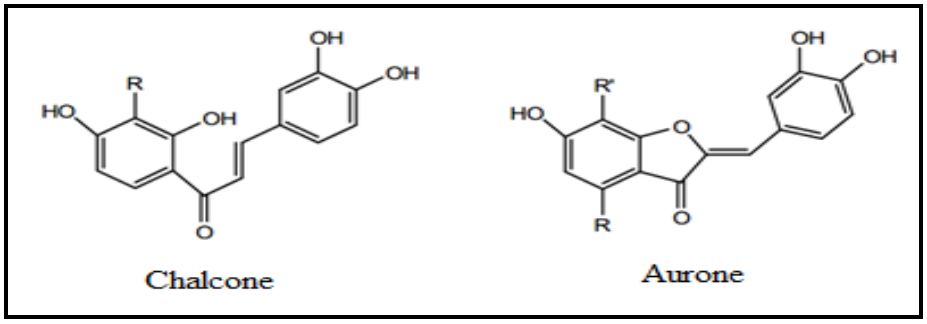
العصارية؛ إما بشكل جليكوزيدات ذائبة في الماء، أو على شكل أجليكونات لها القدرة الذوبان في المذيبات غير القطبية (حوقة ومرغني،2016).

3. تصنيف الفلافونويدات

تقسم المركبات الفلافونويدية إلى عدة مجموعات، وذلك حسب درجة تأكسد الحلقة (C)، حيث يحدد نوع الفلافونيد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين (A) و(B) (حوقة ومرغني 2016)، حيث تصنف كالآتي:

- **Chalcone و Aurone**

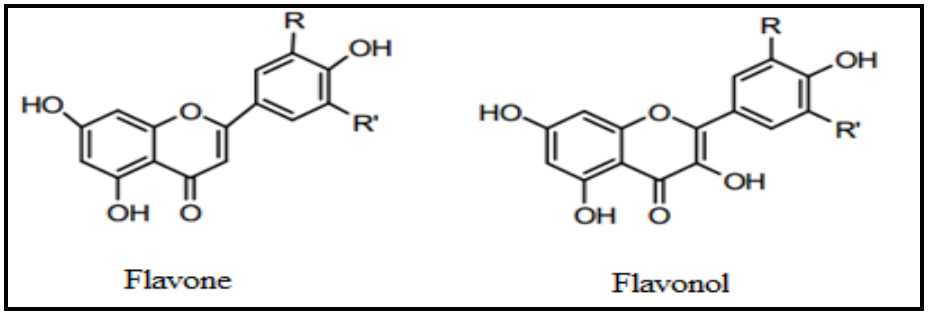
تتميز مركبات Chalcone بوجود حلقة ثلاثية الكربون مفتوحة، أما مركبات Aurone فتتميز بوجود ذرتي كربون فقط على مستوى الحلقة (C) (جرموني،2009) (الشكل (02)).



الوثيقة (02): البنية الكيميائية لـ Chalcone وAurone (NKHILI, 2009).

- **الفلافون Flavone والفلافونول Flavonol**:

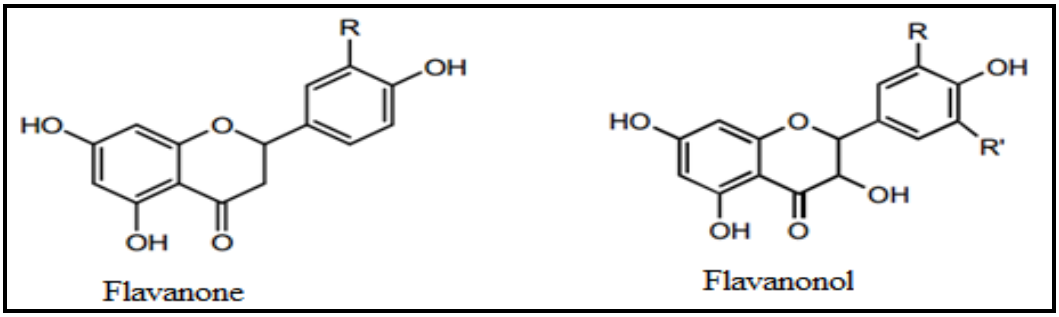
يختلف Flavone عن Flavonol بغياب مجموعة OH على مستوى الحلقة (C).(جرموني، 2009)، الشكل (03).



الوثيقة(03): البنية الكيميائية لـ Flavone وFlavonol (NKHILI, 2009).

- **الفلافانونول Flavanonol والفلافانون Flavanone**

تتميز هذه المركبات بغياب الرابطة المزدوجة C_2-C_3، وتختلف الـ Flavanonol عن الـ Flavanone بوجود مجموعة OH في الوضعية C_3 (جرموني، 2009) -الشكل (04)-.



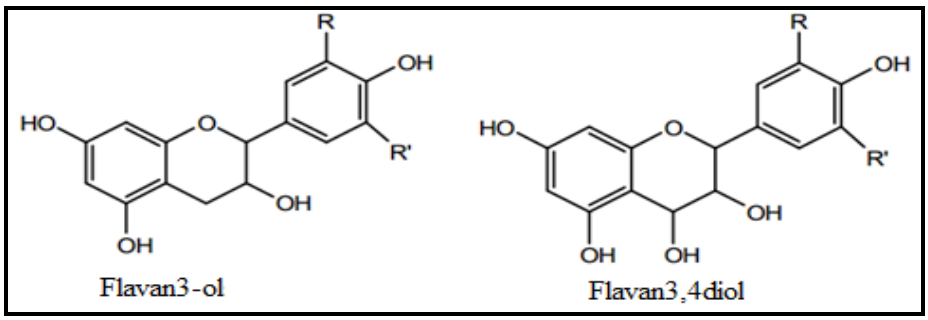
الوثيقة (04): البنية الكيميائية لـ Flavanonols وFlavanone (NKHILI, 2009).

- **نظائر الفلافون Isoflavone**

تختلف نظائر الفلافون عن باقي أقسام الفلافونويدات في موضع ارتباط الحلقة B بالحلقة C، حيث يتم ذلك على مستوى C_3 بدلا من C_2 (جرموني،2009).

- Flavan3-ol وFlavan3,4diol وAnthocyanidol

بخلاف الفلافونيدات السابقة، تتميز هذه الأقسام باحتوائها على مجموعة OH في C_3،كما تتميز بغياب مجموعة كربونيل في C_4، حيث تكون حرة في Flavan3-ol وAnthocyanidol، أو مرتبطة مع مجموعة OH في Flavan3-ol وFlavan3,4diol (جرموني،2009).



الوثيقة (05): البنية الكيمائية لـ Flavan3-ols وFlavan3,4diols (NKHILI, 2009).

4. خصائص الفلافونويدات

ترتبط خصائص الفلافونويدات بنوع وقسم الفلافونيد وبحالة وجوده (فلافونويدات حرة، جليكوزيدية، كبريتية)، حيث يمكن تلخيص هذه الخصائص فيما يلي:

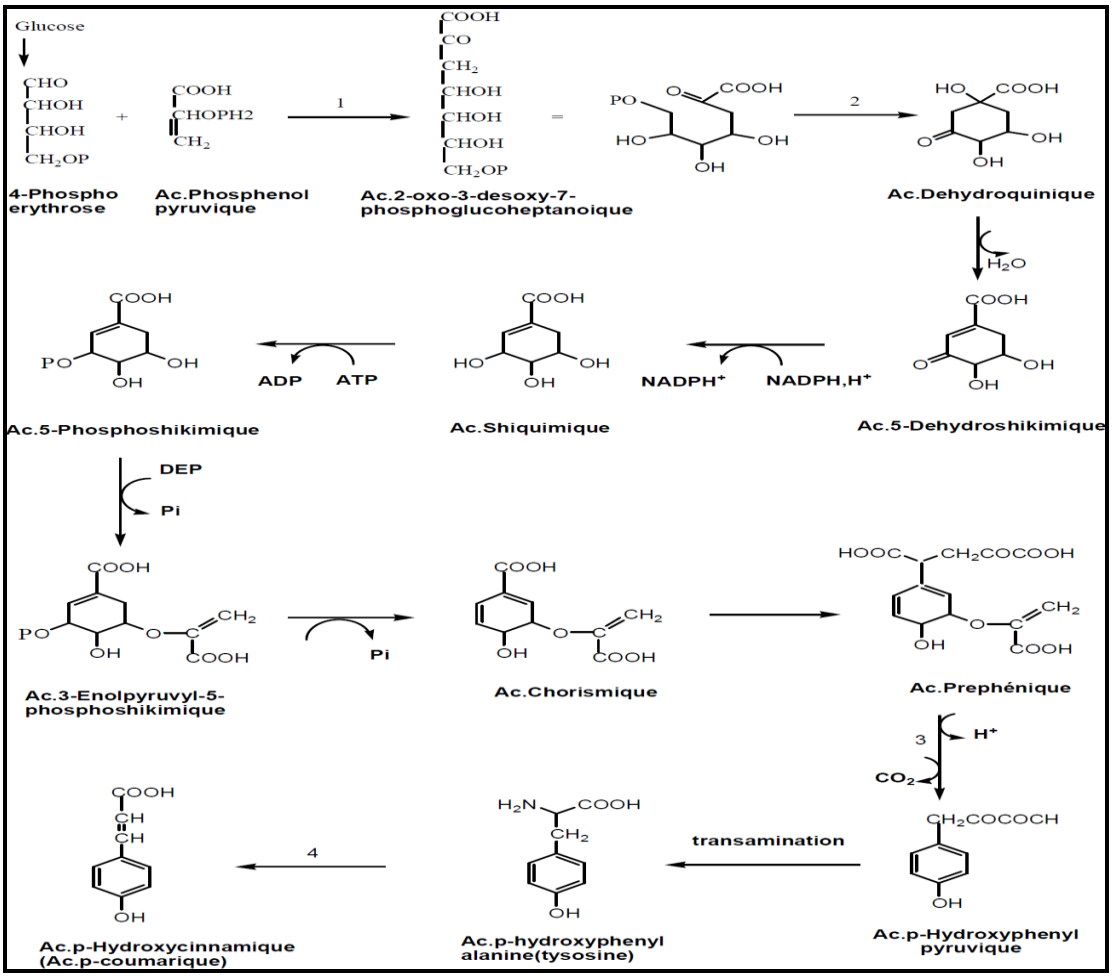
- تختلف ألوان الفلافونويدات باختلاف أنواعها حيث تتدرج من الأصفر حتى الأحمر، أما الأنتوسيانيدات فعادة تتغير بين الأحمر القاتم، البنفسجي والأزرق.
- تتعلق درجة ذوبان الفلافونويدات بشكل تواجدها وتموضع المستبدلات في هيكلها، حيث تذوب الفلافونويدات الجليكوزيدية والأنثوسيانيدات في الماء والكحول، أما الفلافونويدات الأجليكونية متعددة الهيدروكسيل تذوب في الكحول فقط (شباح كوثر، 2007).

5. الاصطناع الحيوي

إن الاصطناع الحيوي للمركبات الفلافونويدات ناتجة أساسا من تفاعلات الأكسدة والإرجاع، ولمتابعة آلية هذا التخليق تم إجراء تجارب عدة باستعمال النظائر الموسومة للكربون (C_{14})، حيث تبين أن الأصل الوراثي لنواتي البنزين مختلف حيويا. وباستمرار هذه التجارب تم التوصل إلى أن هذا الاصطناع يتم وفقا للمراحل الآتي ذكرها:

❖ **المرحلة الأولى : مسار حمض الشيكيميك**

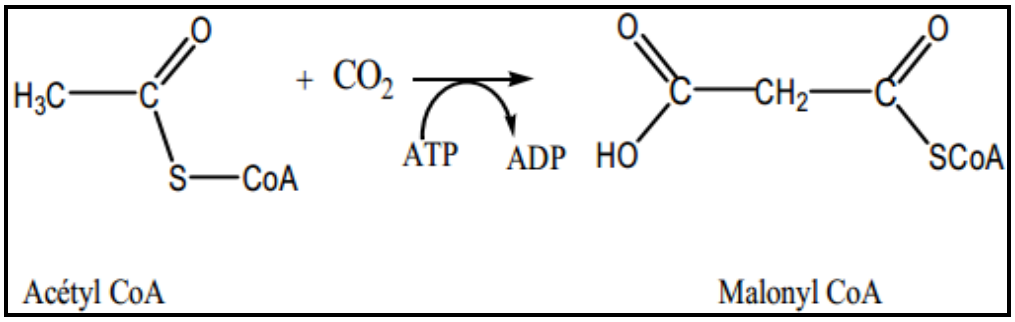
حسب ما ذكر عند شروانة، 2007 يتم تخليق الحلقة (B) انطلاقا من حمض الشيكيميك. بينما تنشأ السلسلة الكربونية (الحلقة C) انطلاقا من الجلوكوز الذي يتحول Ac.p-coumarique ثم p- coumaroyl-CoA؛ كما هو موضح في الشكل (06).



الوثيقة (06): مراحل تخليق الفلافونويدات انطلاقا من حمض الشيكيميك (شروانة، 2007)

❖ **المرحلة الثانية : مسار الخلات**

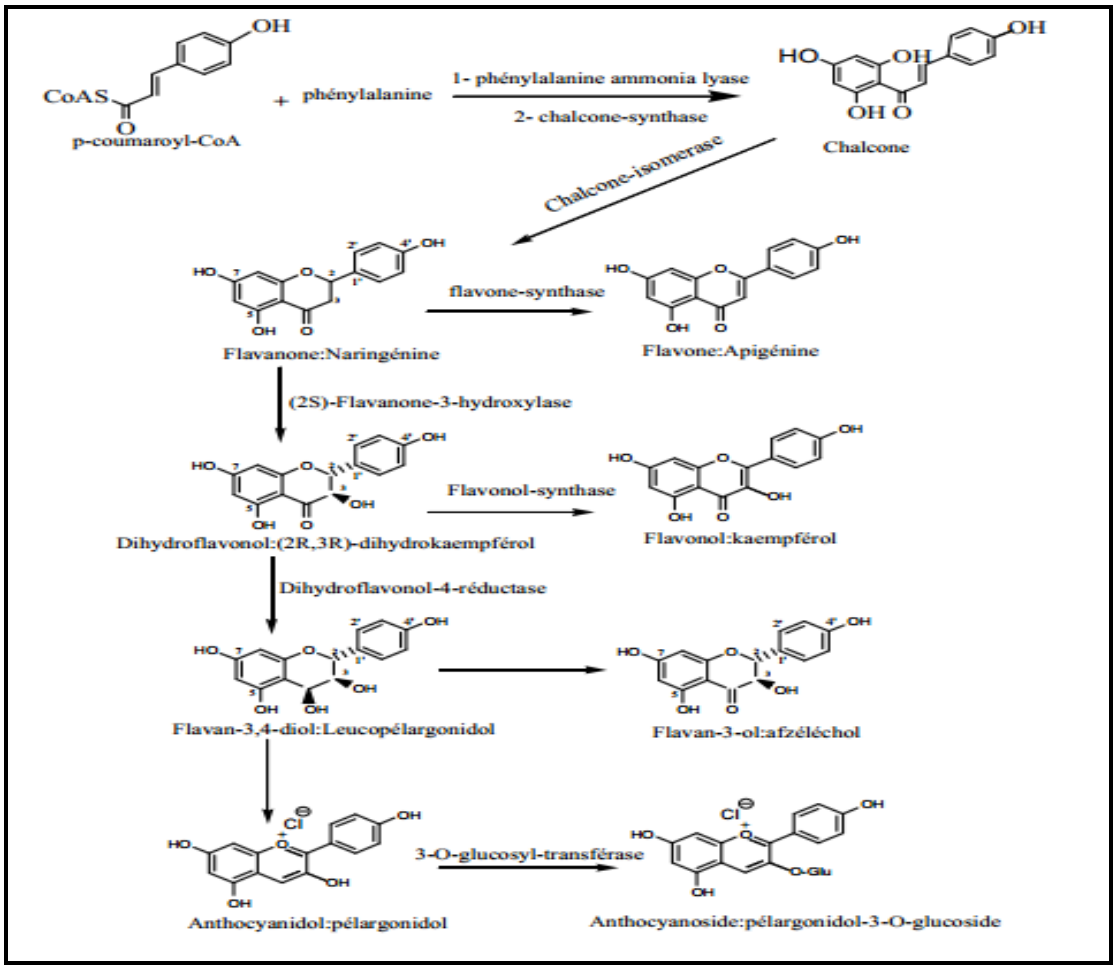
يتم فيها تثبيت مجموعة كربوكسيل مع Acétyl-CoA مؤديا بذلك إلى إنتاج وحدة Malony-CoA الشكل (07) (شروانة، 2007).



الوثيقة (07): تشكيل Malonyl-CoA انطلاقا من Acétyl-CoA (شروانة، 2007).

❖ **المرحلة الثالثة : مسار الشالكون**

تتشكل الحلقة (A) انطلاقا من تكاثف phenylalaline مع p-coumaroyl-CoA معطيا بذلك مركب الشالكون، الذي يمثل النواة الأساسية لمختلف هياكل الفلافونيدات (شروانة، 2007).



الوثيقة (08): التحولات الداخلية بين مختلف أقسام الفلافونويدات (شروانة، 2007).

6. أدوار الفلافونويدات

✓ **الدور البيولوجي**

لقد أثبتت العديد من الدراسات أن الفلافونويدات تمتلك فعالية وقائية مضادة لداء السرطان وكذا بعض الأمراض العضوية الأخرى (بكوش وآخرون 2014)، كالحساسية، الالتهابات، التشحم الكبدي. (بومعراف، 2007)، وذلك لدورها الفعال في تعزيز الجهاز المناعي من خلال قدرتها على اقتناص الجذور الحرة المسبب لها، حيث أشارت العديد من الأبحاث إلى أن الزيادة في عدد مجاميع الهيدروكسيل على الحلقتين A وb، إضافة إلى تواجد الرابطة المضاعفة بين $C_3 - C_2$ يؤدي إلى زيادة نشاطها المضاد للأكسدة (بومعراف، 2007).

- ✓ **دورها في النباتات**

تعتبر الفلافونويدات من الصبغات المسؤولة على إعطاء الألوان للأزهار، البذور والثمار في النبات، حيث تعمل الألوان التي تبدو مميزة للأزهار كعامل لجذب الحشرات والطيور مؤديا بذلك إلى المساهمة في عملية التلقيح والإخصاب. كما أن لها دور في حماية النباتات من الميكروبات، والأشعة فوق البنفسجية المسبب في تلف الأنسجة (برحال، 2003).

- ✓ **دور الفلافونويدات كمعيار تصنيفي في النبات**

تعتبر الفلافونويدات معيار تصنيفي كيميائي في النبات CHALLEM and MONEYSMITH, (2005)، وذلك لانتشارها الواسع وتنوع بنيتها في المملكة النباتية، فوجود الروابط ثنائية، ومجموعات الهيدروكسيلة يسهل في عملية تشخيصها ومعايرتها ودراستها من الناحية الفيزيوكيميائية بدقة (2001 CHEZE and *al*.).

النشاطية المضادة للأكسدة

I. الجذور الحرة

1. تعريفها

الجذور الحرة هي أنواع كيميائية (ذرات أو جزيئات) تملك إلكترون حر أو أكثر(شمسة وآخرون 2014). في المدار الخارجي؛ حيث تعمل هذه الإلكترونات على جعلها غير مستقرة وأكثر نشاطية (HECHIFA D, MERAD K. 2016) .

قد تكون هذه الجذور مشتقة من الأكسجين مشكلة بذلك (ROS) أو من النيتروجين مشكلة (NOS). حيث يمكن أن تكون هذه الأنواع مؤكسدة أو مرجعة، وإن عدم استقرارية هذه الأنواع تجعل من الصعب ملاحظتها في الأوساط البيولوجية (جرموني، 2009). وتنقسم الجذور الحرة إلى قسمين وهما:

- ✓ **الجذور الحرة الأحادية (الأولية):** تحتوي على إلكترون أحادي ومتعادل مثل: NH_2, C_6H_5, CH_3, CL, F.
- ✓ **الجذور الحرة الثنائية (الثانوية):** تحتوي على إلكترونين أو أكثر غير مزدوج ومتعادل مثل: N, HC, H_2O ذات أعمار قصيرة جدا قد تصل إلى بيكرو ثانية و فاعلية كيميائية عالية (بن عتوس وأخرون ، 2014) .

2. أنواع الجذور الحرة

تصنف الجذور الحرة وفقا لعدة أسس أهمها:

1.2. التصنيف على أساس الاستقرار

❖ **الجذور النشطة (غير مستقرة)**

وهي الجذور التي لها أعمار قصيرة ولها عادة أوزان جزيئية صغيرة مثل: $NO^{\cdot}$, $HO^{\cdot}$, $I_2^{\cdot}$, $CH_3^{\cdot}$, $Cl^{\cdot}$, $H^{\cdot}$ (شمسة وأخرون، 2015).

❖ **الجذور المستقرة (الصامدة)**

وهي الجذور التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني ويمكن إن تصل إلى أيام، ومن أمثلتها جذر ثلاثي ميثيل أمين وجذر ثنائي فينيلل بكريل هيدرازين (DPPH) (حوه، 2013).

2.2. التصنيف على أساس النوع

✓ **الجذور الحرة الأوكسجينية**

هي الجذور التي تحتوي على الأكسجين الذي عادة يكون المستقبل النهائي للإلكترونات، يعتبر هذا النوع من أخطر الجذور إلا أن عمرها قصير لا تدوم طويلا (حوه، 2013). ومن أهم أنواعها $^{\bullet}OH$، H_2O_2 وClO (شريط و لبيضة، 2016).

✓ **الجذور الحرة النيتروجينية**

هي التي تحتوي عادة النيتروجين، وتتمثل في أكسيد النتريك، ثاني أكسيد النتروجين، بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النتريك، حيث يعتبر هذا الأخير أكثرهم خطورة (حوه، 2013).

✓ **الجذور الدهنية**

وهي الجذور الناتجة من أكسدة الدهون غير المشبعة في العضوية، حيث تتميز بأنها ذات أعمار طويلة (حوه، 2013).

✓ **جذور السموم الحرة**

وهي الناتجة من المواد السامة، المطفرات والمسرطنات الكيميائية (حوه، 2013).

3. مصادر الجذور الحرة

1.3. المصادر الداخلية

تعتبر الوظائف الحيوية الخلوية مصدرا داخليا للجذور الحرة، حيث يتم إنتاجها إما خلال عمليات الدفاع المناعي أو خلال مختلف عمليات النشاط الأيضي (شريط ولبيضة، 2016).

2.3. مصادر خارجية

حسب ما ورد عند كل من HAMIDA et AZZI (2016) واللبي ودردوري (2016) فإن المصادر الخارجية للجذور الحرة تتمثل في:

- عوامل البيئة الخارجية (التلوث، المعادن الثقيلة،...)
- الأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء
- أكسدة العقاقير، الكحولات والمخدرات

4. تأثير الجذور الحرة

تستخدم العضوية الـ (ROS) لأغراض فسيولوجية مختلفة، لذا تقوم بإنتاجها بكميات وتراكيز ضعيفة، إلا أن الإفراط في إنتاجها بإمكانه أن يحدث أضرار لا يحمد عقباها، حيث يمكن أن تتسبب في:

- ✓ إتلاف الأحماض النووية مؤدية بذلك إلى موت الخلايا أو ضعف المناعة.
- ✓ تخريب البروتينات وتغيير وظائفها مسببة بذلك أمراض المناعة الذاتية.
- ✓ أكسدة الدهون والتي يمكن أن ينتج عنها خلايا سرطانية (بوغزالة ودوش، 2016).

II. مضادات الأكسدة

1. تعريفها

هي كل المواد والمركبات التي لها القدرة على منع أو تثبيط نشاط المواد المؤكسدة -الجذور الحرة- (بوديار، 2008)، حيث تتواجد في جسم الكائن الحي على هيئة إنزيمات أو مرافقات أنزيمية أو مركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل، كما تتواجد بصورة طبيعية في الخضراوات والفواكه وأغلب النباتات الطبية (شريط ولبيضة، 2016).

2. تصنيف مضادات الأكسدة

تصنف مضادات الأكسدة إلى مجموعتين أساسيتين هما:

1.2. مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic antioxidants:

وتلعب دورا هاما وأساسيا في حماية الخلية من الإجهاد التأكسيدي، وحسب (تواتي وميلودي، 2016) تقسم هذه المجموعة إلى:

- ✓ **فوق أنزيم أكسيد الديسميوتاز Superoxide dismutase (SOD):**

يعتبر هذا الأنزيم من أهم الأنزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة (اللبي ودردوري، 2016). فهو يقوم بإزالة جذور فوق الأكسجين وذلك بتسريع معدل إزالته بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل: السيلنيوم والنحاس والزنك (تواتي ومليودي، 2016)، كما هو موضح بالتفاعل الآتي:

$$2O^{\circ-}_2 + \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

- ✓ **الكاتلاز Catalase**

يوجد في الأجسام البيروكسمية Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام والأغشية والكلى والكبد (تواتي ومليودي، 2016). كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو Oxidase حيث يعمل هذا الأخير على تكوين H_2O_2، يقوم Catalase بتكسير وتحويله إلى أكسجين وماء (اللبي ودردوري، 2016)، حسب المعادلة التالية:

$$2H_2O_2 \xrightarrow[\text{Catalase}]{} 2H_2O+O_2$$

- ✓ **جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione Peroxidase**

يتواجد هذا الإنزيم بكثرة في الميتوكندريا والسيتوبلازم خلايا الدم الحمراء، حيث يقوم هذا الأخير بتحفيز كسر H_2O_2 وHydroperoxides بواسطة الجلوتاثيون المختزل GSH وH_2O_2 ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد (2GS) والماء (تواتي ومليودي، 2016)، حسب المعادلة التالية:

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

2.2. مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية منها ما هو طبيعي المصدر ومنها ما هو صناعي:

1.2.2. مضادات الأكسدة الطبيعية

- ✓ **الجلوتاثيون Glutathione**

الجلوتاثيون عبارة عن ببتيد قصير مكون من ثلاثة أحماض أمينية: الجلوتاميك Glutamic، السيستين Cystine والجلايسين Glycine، حيث يواجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دور مهم كمضاد للأكسدة داخل الجسم، وذلك من خلال قدرته على حماية الخلية من التلف التأكسدي عبر اختزال البيروكسيداز وجذر.α-TO (قمولي، 2009).

- ✓ **فيتامين ج Vitamin C**

يعرف أيضا بحمض الأسكوربيك Ascorbic acid، وهو عبارة عن مضاد للأكسدة يذوب في الماء، يعمل على اختزال الجذور الحرة، ويساعد في الوقاية من الأمراض (تواتي وميلودي، 2016).

- ✓ **فتامين Vitamin E**

يعتبر فتامين E من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون، وتعرف مركباته بـ Tocopherols ومن أهمها Tocopherol - α الذي يلعب دورا في حماية الأغشية من التلف التأكسدي؛ وبالتالي يمنع الكولسترول من الالتصاق بجدران الشرايين، حيث يقوم هذا الأنزيم باقتناص الجذور البروكسيدية في الأغشية، لذلك يطلق عليه "كاسح الجذور". (اللبي ودردوري، 2016).

الفصل الثاني

دراسة تصنيفية لنبات الطلح الأزرق

Acacia Cyanophylla

مدخل

استطاع العلماء إعطاء أسماء محددة على الأصناف والأنواع والأجناس النباتية، وإدراجها ضمن عائلات لتسهيل الدراسات التجريبية التي تهدف لتثمين المواد الفعالة (EDDOUKS *et al*., 2007)، ومن الفصائل النباتية التي سنعنى بدراستها في بحثنا العائلة الطلحية.

1. العائلة الطلحية (Mimosaceae)

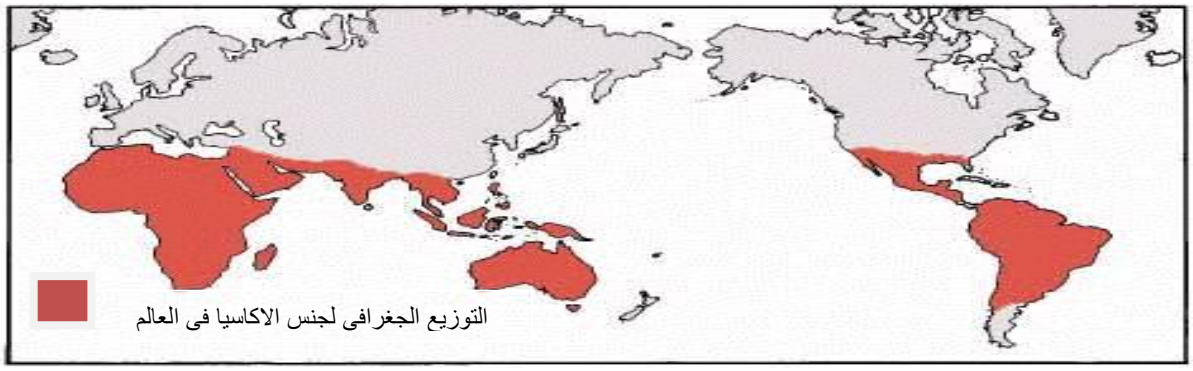
يكثر انتشار نباتات هذه الفصيلة في المناطق المدارية وشبه مدارية، وتكون متخشبة وعشبية، أوراقها ريشية عادة، أزهارها شعاعية الشكل مجتمعة في نورة كروية صغيرة أو شبه سنبلية. الأزهار عادة ما تكون رباعية الأجزاء، مميزة أسدية ذات خيوط ملونة، وغالبا يتجمع طلعها في كتل كروية كبيرة (الخطيب، 2005) .

2. جنس الأكاسيا *Acacia*

تعد الأكاسيا (*Acacia* Mill.) من الأشجار المعمرة والتي يمكن أن يصل ارتفاعها إلى 8 م التابعة للعائلة الطلحية (Mimosaceae)،والتي تحتوي على حوالي 50 جنسًا و1200-1300 نوعا تقريبا معظمها تعيش في المناطق الحارة والمعتدلة من العالم (BLAKESLFY et *al*., 2002؛ التميمي، 2009).

1.2. التوزيع الجغرافي لجنس الأكاسيا في العالم

ينقسم جنس الاكاسيا في العالم إلى ثلاثة تحت أجناس منتشرة في العالم هي تحت جنس *Acacia* وتحت جنس *Aculeiferum* وتحت جنس *Heterophyllum*. فرقعة انتشار الأول تمتد في الأمريكيتين وأفريقيا وآسيا والقسم الشمالي من استراليا. ورقعة انتشار الثاني تتوزع على الأمريكيتين وأفريقيا وآسيا. ورقعة انتشار الثالث تنحصر في أستراليا فقط (الغانمي، 1994؛ CHARCHAR, 2014).



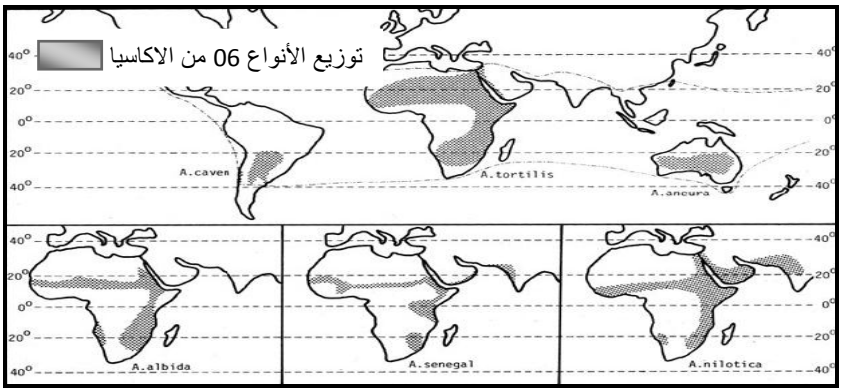
الوثيقة (09): التوزيع الجغرافي(باللون الأحمر) لجنس الاكاسيا في العالم . (ChARCHAR; 2014)

2.2. جنس الأكاسيا في الجزائر:

يمثل الجنس في الجزائر من قبل 06 أنواع تستوطن في المناطق الصحراوية الجنوبية وهي:

Acacia arabica	*Acacia albida*	*Acacia laeta*	*Acacia taxa*	*Acacia saligna* Syn: *Acacia cyanophylla*	*Acacia raddiana*

هذه الأنواع من الأكاسيا تتوزع في الصحراء الوسطى؛ ولا سيما منطقة الهقار، ومن هذه الأنواع ما أصبحت نادرة ومهددة بالانقراض، و يتم استخدامها كمصدر للحطب أو الخشب أو الفحم أو لرعي للماشية أثناء فترات الجفاف (CHEVALLIER, 1934).

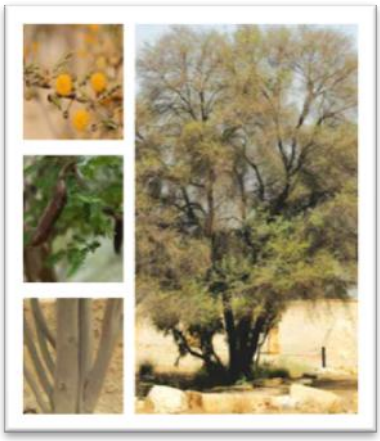
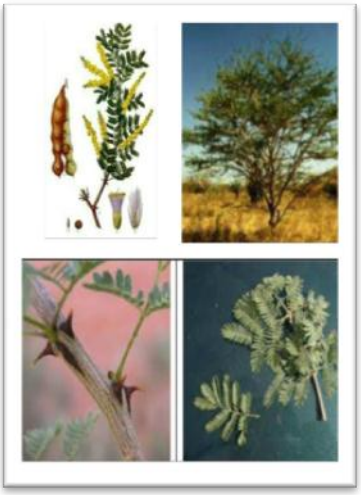


الوثيقة (10): التوزيع الطبيعي للأنواع الستة من الأكاسيا ، والحدود الجغرافية (DOMMERGUES, 1999; CHARCHAR, 2014).

تتعدد الأنواع التابعة لجنس الأكاسيا ويضم الجدول (01) بعض الأنواع التابعة لها:

الجدول (01): بعض الأنواع من الأكاسيا.

(الهيئة العليا لتطوير مدينة الرياض، 2014؛ السيد. وآخرون، 2007؛ Hmmouda et *al*., 2005)

النوع	الخصائص	الصورة
Acacia Fernesiana	**الوصف:** شجرة شائكة كثيرة التفرع، تحمل أوراقا مركبة ريشية مزدوجة، وأزهارا صفراء في هامات زكية الرائحة والثمار قرون غير متفتحة. **الموطن:** الهند الغربية وتزرع في جنوب فرنسا ومصر وسوريا والجزائر والمغرب. **الموسم:** فصلي الربيع والصيف. **الاستخدام الطبي:** تستعمل القرون كقابض في الدباغة، ولعلاج الإسهال، كما يعمل منها مرهم لأكزيما وتهتك ما بين أصابع القدم وتستخدم الأزهار ضد المغص، والصمغ كملين.	
Acacia senegal	**الوصف:** أشجار معمرة يبلغ طولها، 12 م، أوراقها سنبلية أزهارها صفراء ذهبية، ينضج الصمغ في كتل بيضاء، صفراء بنية على الساق، نتيجة الجروح التي تصيبها. **الموطن:** السودان، وبعض دول قارة إفريقيا. **الموسم:** فصلي الصيف والخريف. **الاستخدام الطبي:** العقار يدخل في العديد من الأشكال الصيدلية والصناعات الغذائية، مثل: المربات،	

	والكريمات،والمثلجات .	
Acacia Nilotica	**الوصف:** شجرة صغيرة طولها 2.5 إلى 14 مترا، أوراقها ريشية مركبة، أزهارها صفراء لامعة. **الموطن:** دلتا النيل، وادي النيل، الواحات، سيناء الصحراء الغربية. **الموسم:** فصل الصيف. **الاستخدام الطبي:** مكافحة السرطان والأورام المضادة، مضاد للاكتئاب، الدواء القابض ومدر للبول، أرغفة معوية وإسهال، منبه عصبي.	

3.2. استعمالات شجرة الاكاسيا Acacia

في وقتنا الحاضر زادت شعبيتها والسبب يعود لخصائصها العلاجية، حيث أثبت أنها علاج طبيعي لمجموعة واسعة من الاضطرابات والأمراض من خلال اللحاء القابض والقوي ومحتوياتها المفيدة الأخرى، نجد منها حسب ما ذكر عند LAHOURIA (2010) ما يلي:

- تعالج السعال ونزلات البرد.
- تخفف من التهاب الحلق.
- تعالج حالات الإسهال والإمساك.
- تخفف الألم الناتج عن قرحة المعدة.
- تخفف من أعراض القولون العصبي.
- لها خصائص مضادة للالتهابات والميكروبات.
- تحتوي على كمية قليلة من الألياف لذلك فهو يساعد على إنقاص الوزن.
- تساعد الجسم على امتصاص العناصر الغذائية المهمة.
- تعطي إحساسا بالشبع وتقلل من الشهية.
- تساعد على تكوين نظام غذائي متوازن داخل الجسد.

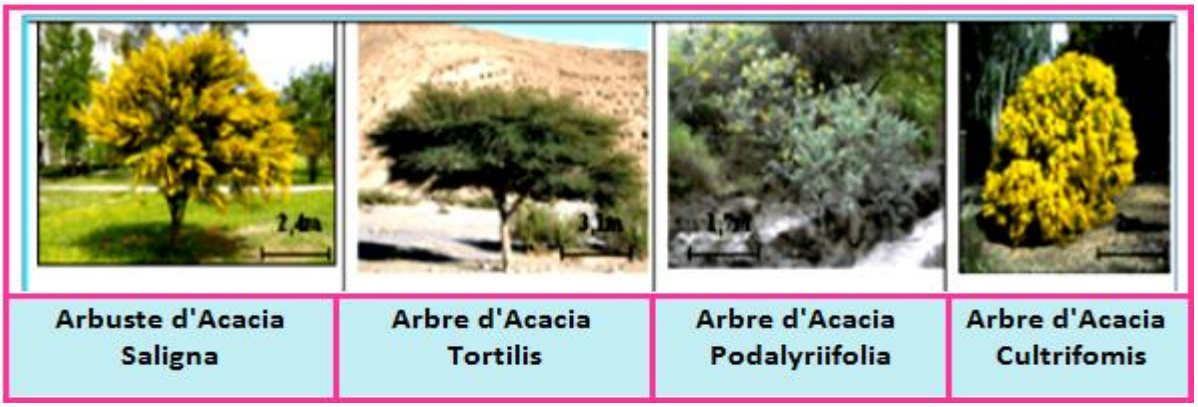
كما لها استخدامات أخرى:

– تستخدم أخشابها في الوقود وفي بعض الصناعات مثل: صناعة الخشب.

– أوراق شجرة أكاسيا علف جيد سواء بأوراقها الخضراء أم الجافة .

- تثبيت الكثبان الرملية، وتستخدم أيضا كصادات رياح.
- تثبيت النيتروجن لما تحمله جذورها من بكتريا متخصصة بتحويل نتروجين الهواء إلى نترات تزيد خصوبة التربة.
- شجرة زينة لجمال أوراقها وأزهارها، ولكونها دائمة الخضرة تصل لارتفاعات متوسطة وهي غزيرة التفرع.
- بعد موسم الأمطار تبدأ شجرة السنط (الأكاسيا) بإنتاج الصمغ العربي، حيث يستفاد منه في صناعة المواد اللاصقة.
- كما أنها تنتج نوع من أنواع العسل الذي يتميز بطعمه الخفيف ورائحته الزكية.

الأوراق تتميز بوجود غدد في الأعناق أو في القاعدة والإزهار في مجموعات عنقودية أو كروية أو على شكل مدبب، في مجموعات أو في حويصلات طرفية ويمكن أن يكون الأكاسيا شوكي كما في الوثائق (LEBBIDA, 2009).



الوثيقة (11): بعض أشجار السنط (LEBBIDA, 2009)

الوثيقة (12): أوراق وشوك بعض أنواع السنط (LEBBIDA, 2009).

الوثيقة (13): أزهار لأنواع مختلفة من السنط (LEBBIDA, 2009).

3. نبات الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla*

الطلح الأزرق Lindl (*Acacia cyanophylla*) (TACHHLOM, 1974) يسمى أيضا (*Acacia saligna* (Labill.) H . Wendl) (BOUAZZA, 2014).

ينتمي في الأصل إلى استراليا الغربية (MASLIN, 2001) واسع الانتشار تم إدخاله من نطاقه الطبيعي، وقد تم تقديمه في العديد من البلدان منهم الشرق الأوسط، وأمريكا الوسطى، شمال أفريقيا ثم جنوب أفريقيا كمثبت للكثبان الرملية.

1.3. الوصف والتصنيف النباتي

شجرة غير شوكية، طولها من 2 إلى 5 أمتار، ولكن يمكن أن تكون أيضًا على شكل شجرة طولها 8 أمتار مع جذع واحد يصل إلى 30 سم (SKKOUR, 2007). وهي من الأشجار المحبة للضوء وتتحمل درجات الحرارة المرتفعة ولا تتحمل البرد ودرجات الحرارة المنخفضة، لها القدرة على العيش في الترب الكلسية والرملية والفقيرة جدا ولا تقاوم الترب القلوية وتقاوم الملوحة الشديدة في التربة (داود، 1979).

الوثيقة (14): شجرة الطلح الأزرق (SKKOUR, 2007).

- **الأوراق:**

لونها أخضر إلى أخضر مزرق غامق، يتوسطها عرق رئيس شديد الوضوح، طويلة ضيقة إلى رمحية، طولها 8-25 سم، مستقيمة أو منجلية الشكل، متدلية في بعض الأحيان، مزودة بغدة دائرية أو متطاولة، قطرها 1- 2 مم في قاعدتها (SKKOUR, 2007).

الوثيقة (15): أوراق الطلح الأزرق (SKKOUR, 2007).

- **اللحاء:**

ناعم، بني أحمر في الأغصان، على الأشجار القديمة اللحاء رمادي (SKKOUR, 2007).

الوثيقة (16): لحاء الطلح الأزرق (SKKOUR, 2007)

- **النورة**:

عنقودية تتكون من رؤوس كروية الشكل، كبيرة نسبيا، قطرها 5-10 مم، يحتوي كل رأس على 25 إلى 55 زهرة، لونها أصفر فاقع (SKKOUR, 2007).

الوثيقة (17): أزهار الطلح الأزرق (SKKOUR, 2007).

- **الثمار:**

قرنية ضيقة ولاسيما بين البذور، عرضها مم 4-6، وطولها 8 -12 سم، مسطحة - متموجة البذور مستطيلة، طولها 5-6 مم، عرضها 3-3.5 مم، لونها بني غامق إلى أسود لامع. يتراوح عددها بين و14000 25000 بذرة / كغ (SKKOUR, 2007).

الوثيقة (18): ثمار نبات الطلح الأزرق (SKKOUR, 2007)

4. التصنيف العلمي لأكاسيا السيانوفيلا (*Acacia cyanophylla*)

الجدول (02): التصنيف العلمي لنبات *Acacia cyanophylla*

(LAHOUARIA, 2010)

Groupe de classification	التصنيف العلمي	الفئة التصنيفية
Règne	végétal	المملكة
Embranchement	phanérogames	الشعبة
Sous embranchement	Angiospermes	تحت الشعبة
Classe	Dicotyledones	القسم
Sous classe	Dialypètales	تحت القسم
Ordre	Fabales	الرتبة
Famille	Mimosaceae	العائلة
Genre	Acacia	الجنس
Espèce	*Acacia cyanophylla*	النوع

5. شروط زراعة نبات الطلح الأزرق (*Acacia cyanophylla*)

ينمو النبات في درجات الحرارة المعتدلة والدافئة في الصيف ما بين °26م و°36 م، وتتراوح درجة الحرارة في فصل الشتاء بين °4 م و°9م (CROMPTON,1992)، وفي معدلات تساقط من 300 و1000 مم، كما يمكن أن تنمو حتى في المناطق ذات معدل تساقط من 200-250 ملم (LAKANY, 1987).

تتكيف أكاسيا سيانوفيلا مع أنواع مختلفة من التربة وبشكل أساسي في الترب ضعيفة الحموضة أو الترب الرملية الجيرية (FOX, 1995).

وفي التربة الرملية العميقة وفي الكثبان الرملية الساحلية تمتلك أكاسيا السيانوفيلا عمر يتراوح بين 25 و 30 سنة ، في ظل ظروف الجفاف الشديد لا يتجاوز عمر الشجيرة 10 سنوات ، عموماً تُرعى شتلات الأكاسيا وتُزرع على الأرض في عمر من 7 إلى 8 أشهر وفترة الزراعة المناسبة من 15 إلى 30 مارس. وتتراوح كثافة زراعة الأكاسيا من 1100 إلى 700 نبات/هكتار حسب معدل هطول الأمطار وظروف التكاثر (LAHOURIA, 2010).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد المستعملة والطرق المتبعة

1. في الميدان

1.1 المادة النباتية

في هذا البحث استعملنا أوراق وأزهار نبات الطلح الأزرق (*Acacia cyanophylla*) المقطوف من منطقة عين زعطوط ببسكرة، وذلك لغرض استخلاص الأطوار الفلافونويدية من كلتا أجزاء النبات.

2.1. الأدوات والطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية

حضرت المادة النباتية بواسطة الأدوات والطرق موضحة في الجدول (01).

الجدول (03): الأدوات والطرق المستعملة لتجهيز المادة النباتية .

	الطرق المستعملة	الأدوات
الجمع	تم جمع العينة النباتية في المرحلة الزهرية.	مقص، أكياس ورقية
التجفيف	بعد عملية الجمع قمنا بتجفيف العينة في درجة حرارة معتدلة بعيدا عن أشعة الشمس والضوء لعدة أيام.	أوراق تجفيف
الطحن	نقوم بطحن النبات بعد التأكد من الجفاف التام للعينات، ويتم المحافظة على المسحوق في أكياس ورقية محكمة الغلق، بعيد عن الضوء، الرطوبة والحرارة إلى حين استعمالها.	آلة الطحن كهربائية، أكياس ورقية

2. في المخبر

1.2. الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة

قصد تحضير واستخلاص الفلافونويدات من المادة النباتية، وتقدير النشاطية المضادة للأكسدة استعملنا الأدوات والمحاليل المدونة في الجداول التالية:

الجدول (04): الأدوات والمحاليل المخبرية المستعملة أثناء عملية الاستخلاص وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

	الأدوات	المحاليل	الأجهزة
عملية الاستخلاص	- المادة النباتية - قمع زجاجي - ورق ترشيح - بيشر - ملعقة Spatule - Erlenmeyer - Ballon - Ampoule à decanter	- ميثانول - ماء مقطر - Acétate d' éthyle - Dichlorométhane - 1-butanol	- ميزان حساس - جهاز المبخر الهوائي (Rotavapeur)
اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	- أنابيب اختبار Tubes à essayés - حامل أنابيب الاختبار - بيشر - ملعقة - أنبوب مدرج - ورق ألمنيوم - Para-film - Micropipette - Les cuves	- المستخلص النباتي Extrai de plante - ميثانول - حمض الأسكوربيك - محلول جذر DPPH	- ميزان حساس Balance analytique - جهاز المطيافية
اختبار انحلال كريات الدم	- أنابيب اختبار - حامل أنابيب اختبار	- المستخلص النباتي - ماء مقطر	- جهاز الطرد المركزي

الحمراء Hémolyse	- Micropipette - حقنة Seringue	- محلول البروكسيد - محلول ثلاثي كلور الحديد - محلول حمض الأسكوربيك	- حاضنة Étuve - جهاز المطيافية الضوئية
التحليل HPLC	- أنابيب اختبار - Micropipette	-المستخلصات النباتية - ماء مقطر عالي النقاوة - الاسيتونتريل - حمض الخل	- جهاز HPLC - جهاز حاسوب

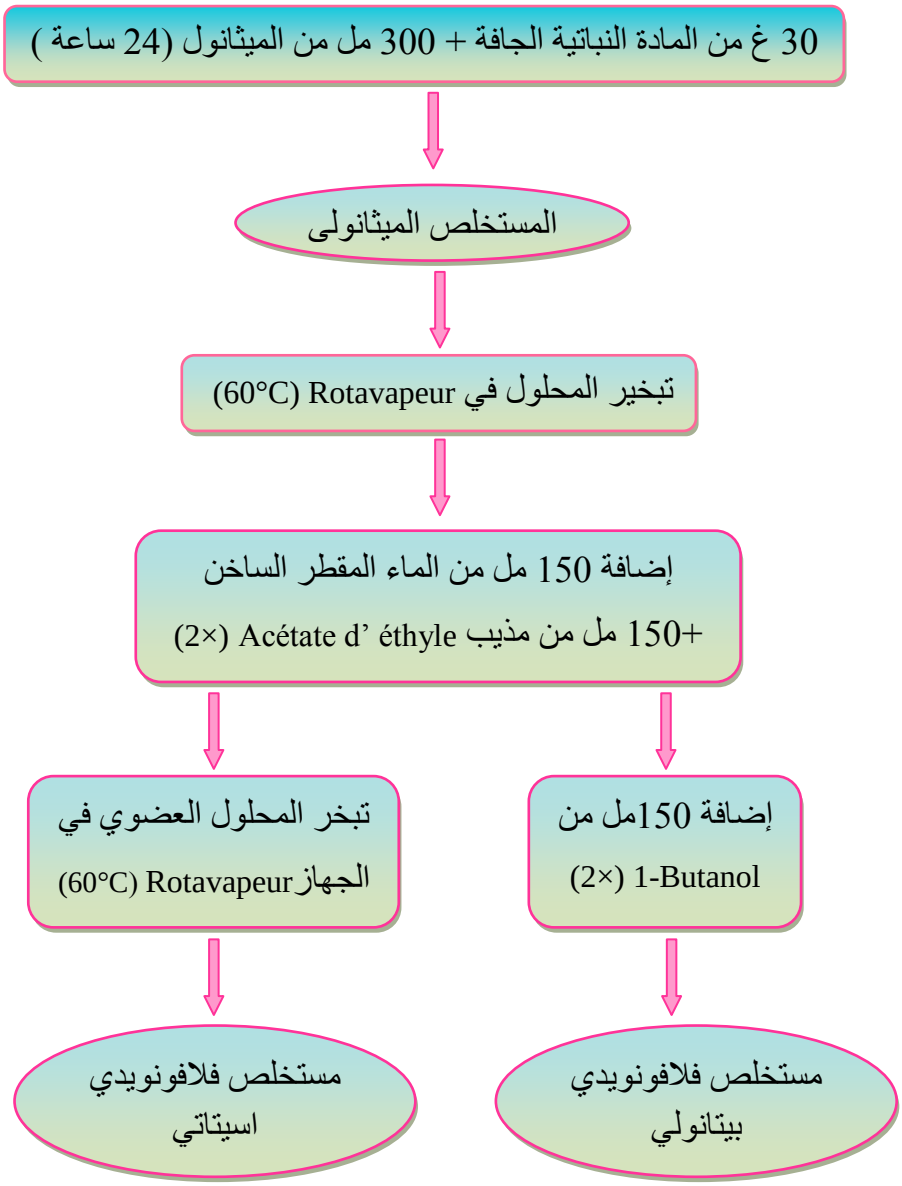
2.2. الطرق المتبعة

1.2.2. استخلاص الفلافونونيدات من أوراق وأزهار نبات *Acacia cyanophylla*

حسب (BEKKARA et *al*., 1998) تم أخذ 30g من المادة النباتية الجافة والمطحونة ووضعت في 300 ml من الميثانول نقي99% لمدة 24 ساعة ثم نقوم بترشيح المزيج وأخذه لجهازالمبخر الدوراني (Rotavapeur) في درجة حرارة 60ºC حتى نتحصل على مستخلص ميثانولي، نضيف لهذا المستخلص 150 ml من الماء المقطر الدافئ ويمزج جيدا مع إضافة 150 ml من مذيب Acétate d'éthyle، ويوضع المزيج في قمع للفصل (Ampoule à decanter) وتكرر العملية مرتان، ثم يؤخذ الطور العضوي Phase organique و ينقل إلى جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur) في درجة 60ºC للحصول على المستخلص الفلافونويدي طور Acétate d' éthyle (E.A.E) والذي يحفظ في درجة حرارة منخفضة (4° C).

نضيف للطور المائي Phase aqueuse المتبقي 150 ml من أحادي البيتانول 1- butanol ويرج المزيج جيدا ويوضع في قمع الفصل، مع تكرار هذه العملية مرتين، يمزج الطوران العضويان ويبخر المزيج في الجهاز(Rotavapeur) عند درجة حرارة 50ºC للحصول على المستخلص الفلافونيدي البيتانولي (E.1.B).

نقوم بعد ذلك بمزج الطورين معا للحصول على المستخلص الفلافونويدي للأزهار وأوراق نبات الطلح الأزرق.



الوثيقة (19): برتوكول استخلاص الفلافونويدات من نبات الأكاسيا الأزرق.

2.2.2. تقدير المردود

المردود هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص (كتلة المادة الابتدائية الجافة)، وتقدر حسب GUETTAF et *al*. (2016) بالعلاقة التالية:

المردودية % = (كتلة المستخلص/كتلة المادة النباتية الابتدائية جافة) ×100

3.2.2. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

هي قياس لقدرة المركب لتثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة، حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار- ABTS- DPPH - FRAP تثبيط نشاط بيروكسيد الهيدروجين والجذر الهيدروكسيلي.

في دراستنا هذه قمنا باختبار تثبيط الجذر الحر DPPH.

1.3.2.2. اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH

جذر DPPH هو الجذر المستقر نسبَيا، والحالة الفَيزَيائَية صلبة لونه بنفسجِي مسودَ يصبح لونه أرجوانِي إلى بنفسجِي عند التحضَير، وفِي حالة التفاعل َيتحول لونه إلى الأصفر. َيعتمد مبدأ فعالَية ضد الأكسدة علَى تحدَيد المقدار IC_{50} وهو تركيَز المستخلص اللازم لكبح 50 % من جذر DPPH (BLOIS, 1958)

- **طريقة العمل**

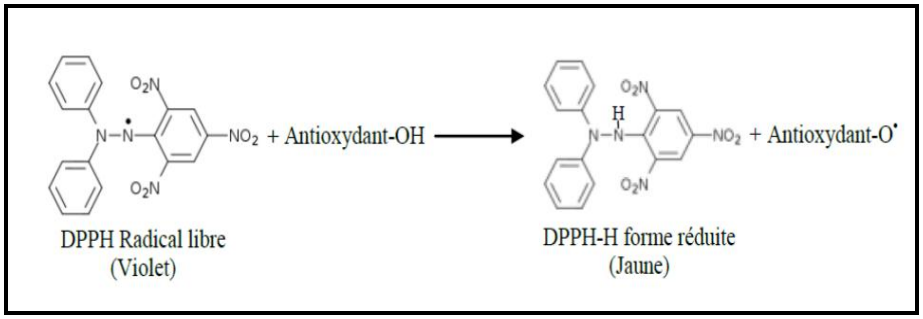
نمزج 1 ml من المحلول الميثانولي لـ DPPH مع 0.5 ml من تراكيز مختلفة لمستخلص النبات يحرك الخليط بشدة مدة 5 ثواني ثم نقرأ قيمة الشدة الضوئية للمزيج وللكاشف (مكان المستخلص يعوض بالميثانول) في طول موجة 517 نانومتر، من خلال ذلك يمكن حساب نسبة التثبيط بالعلاقة التالية :

$$I\% = [(Ac - As)/Ac] X\ 100$$

I %: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر DPPH.

Ac: لامتصاصية للعينة الكاشف عند طول الموجة (517 nm).

A s: امتصاصية المزيج في وجود المادة المدروسة (517 nm).



الوثيقة (20): يوضح آلية التفاعل الذي يحدث في اختبار DPPH بين الجذر الحر DPPH ومضادات الأكسدة.

2.3.2.2. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)

يهدف هذا الاختبار إلى التعرف على مدى حماية المستخلص النباتي لكريات الدم الحمراء من الانفجار عقب تعرضها للمواد المؤكسدة والجذور الحرة، وذلك من خلال قياس نسبة الكريات المنحلة. حيث يعتمد هذا الاختبار على كريات الدم الحمراء للإنسان، التي يتم الحصول عليها بعد عملية التخفيف بالماء المقطر وباستعمال جهاز الطرد المركزي عند سرعة 3000 Tour / min لمدة 10 min.

- **طريقة العمل**

حسب ما ذكر عند كل من ABIRAMI et *al*. (2014)، يؤخذ 40 µl من كريات الدم الحمراء ويضاف لها 2 ml من مستخلص النبات ويحفظ لمدة 5 min في درجة حرارة 37°C، ثم يضاف للمزيج 40ul من محلول كل من: البروكسيد H_2O_2 (30 ml mol)، ثلاثي كلور الحديد $FeCl_3$ (80 ml mol) ومحلول حمض الأسكوربيك (50 ml mol)، ثم يترك الخليط لمدة ساعة في الحاضنة عند درجة حرارة 37°C، بعدها ينقل لجهاز الطرد المركزي ويوضع في سرعة 700 Tour/min لمدة 10 min ثم يقرأ في جهاز الامتصاصية الضوئية عند طول موجة 540 nm =λ. وتحسب نسبة انحلال كريات الدم الحمراء وفقا للقانون الآتي:

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs contrôle} / \text{Abs échantillon}] \times 100$$

حيث:

- Abs contrôle: شدة امتصاص الخليط في غياب المستخلص النباتي.
- Abs échantillon: شدة امتصاص الخليط في وجود المستخلص النباتي.

4.2.2. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات المدروسة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

نشأت فكرة التحليل الاستشرابي على يد العالم الروسي تسويت سنة 1091 م عندما حاول فصل الصبغات النباتية الملونة، ولهذا أسماها الكروماتوغرافي (كلمة chroma باللغة اللاتينية معناها لون وgraphein تعني الكتابة) (BELKACEM, 2009).

كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC هي من أحدث تقنيات الكروماتوغرافيا، حيث تم تطوير الكروماتوغرافيا السائلة إلى ما يعرف الآن بكروماتوغرافيا السائلة ذو الكفاءة العالية، وذلك لأن عمليات

الفصل والجمع والتحليل بواسطة كروماتوغرافيا السائلة التقليدية تستغرق عدة ساعات لذا فكر الباحثون في تطويرها، بإدخال نظام جديد للحقن (الحقن بواسطة الصمام) وإدخال كواشف حديثة للكشف عن المواد لحظة خروجها من العمود وعليه يتم الفصل والكشف في دقائق معدودة (الحمادي، 2000).

تعد من أكثر الطرق استعمالا في التحليل الكروماتوغرافي التجزيئي وفصل المركبات صعبة التطاير والتي تتأثر بالحرارة أو استخدام جسيمات دقيقة من مادة صلبة لها خاصية الإدمصاص كوسط ساكن أو مواد لها خاصية الإستبدال الأيوني وكذلك المواد الهلامية ذات المسامات المحددة. ويمكن أيضاً استخدام سائل محمل على جسيمات دقيقة من مادة صلبة (تبوت، 2010).

تحتوي المستخلصات النباتية على العديد من المركبات الكيميائية الفعالة وبتراكيز مختلفة، وأن هذا التنوع الكبير في محتواها يجعل عملية تحليلها صعبة نوعا ما (المنديل، 2012)، إلا أن استخدام تقنيات الفصل الكروماتوغرافي تعد من الطرائق المفضلة في هذا المجال لأنها تمكن المشتغلين في حقل كيمياء النبات من إجراء فصل كمي ونوعي لخليط من المركبات الكيمائية المستخلصة من أجزاء مختلفة من نباتية (DASZYKOWSKI et *al*., 2008).

- **مبدأ عمل الجهاز**

يعتمد الجهازعلى حقن عينات من المستخلصات النباتية في مجرى تدفق الطور المتحرك (injecteur) وهو مؤلف من مزيج من المذيبات أهمها الماء، الاسيتونتريل وحمض الخل، مع مراعاة الضغط العالي الذي تحدده المضخة (pompe) والتي تعمل على دفع الطور المتحرك (phase mobile) نحو العمود (colone) المحتوي على جزيئات السيليس والمتمثل في الطور الثابت (phase stationnaire) وهو يتكون من جزيئات دقيقة جدا يصل قطر الواحد منها 5µm. يقوم الجهاز بفصل مكونات العينة ثم التعرف عليها وتقديرها كميا في مخرج العمود من خلال جهاز (Detector) حيث عندما يمر كل مكون من مكونات العينة فيه يحدث تغير في الإشارات الكهربائية يتم تسجيلها على خريطة متحركة لتعطي كروماتوغرام في جهاز الكومبيوتر الملحق بالجهاز لإعطاء النتائج على شكل منحنيات تحتوي على قمم (pics) تحدد لنا عدد ونوع المركبات في كل مستخلص (Kepiec, 2004).

الفصل الثاني

النتائج و المناقشة

1. النتائج

1.1. حساب نسبة المردود (R%)

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود ب (%) والنتائج مدونة في الجدول (05)

المستخلص	المردود %
FFRA (مستخلص الأزهار)	4,1
FFLA (مستخلص الأوراق)	4,8

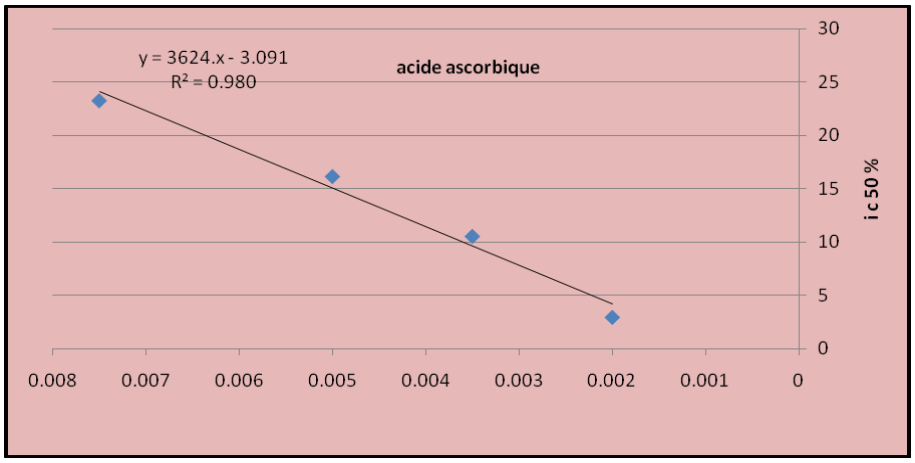
الجدول (05): نسب مردود المستخلصات.

من خلال النتائج الموضحة في الجدول (05) نلاحظ أن مستخلص الأوراق سجل به أعلى مردود حيث قدرت نسبته بـ 4,8%. في حين سجل مستخلص الأزهار بأقل منه قيمة تقدر بـ 4,1%.

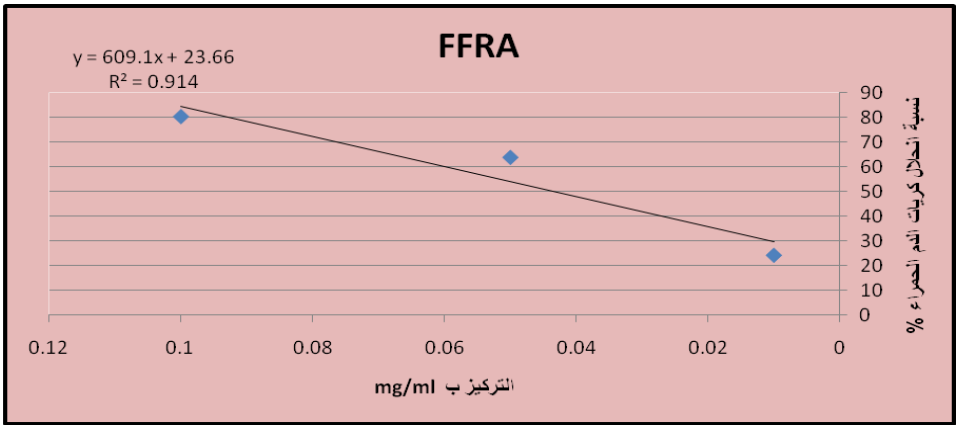
2.1. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة (AAO)

1.2.1. اختبار الجذر الحر DPPH

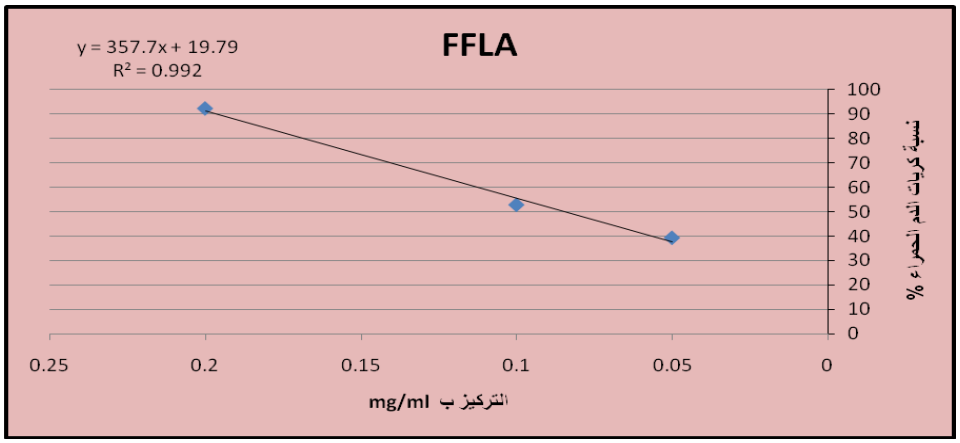
استعملت طريقة اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH للمستخلص الفلافونويدي لنبات *Acacia cyanophylla*، وهو الاختبار الأكثر استعمالا في الكشف عن قدرة مستخلص ما والمضادة للجذور الحرة نظرا لاستقرار هذا الجذر وثباته. وللمقارنة الإيجابية استخدمنا المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك Acide Ascorbique الوثيقة (20).



الوثيقة (21): المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك Acide Ascorbique في اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH.



الوثيقة (22): نسبة تثبيط تراكيز من FFRA للجذر الحر DPPH.



الوثيقة (23): نسبة تثبيط تراكيز من FFLA للجذر الحر DPPH.

ومن خلال النتائج المتحصل عليها في منحنيات التراكيز بدلالة نسب التثبيط المدرجة في الوثائق (21) (22) (23):

- نلاحظ أن أعلى نسبة تثبيط (I%) الجذر الحر DPPH بلغت أقصاها بنسبة 80.269 % عند مستخلص الأزهار (FFRA) لدى تركيز (0.1 mg/ml) و92.227 % عند مستخلص الاوراق (FFLA) عند تركيز (0.2 mg/ml)، فعموما كانت نسب التثبيط ضعيفة مقارنة بحمض الأسكوربيك.

❖ **مقدار IC_{50} المثبطة لجذر الحر DPPH:**

تم حساب قيم IC_{50} من المعدلات الخطية لمنحنيات التثبيط (I%) للمستخلص وحمض الأسكوربيك كما هو موضح في الجدول (06). حيث أن هذه القيم تمثل التركيز الموافق لتثبيط 50% من الجذر الحر DPPH والقيمة الأقل له تعني التأثير التثبطي الأفضل للعينة.

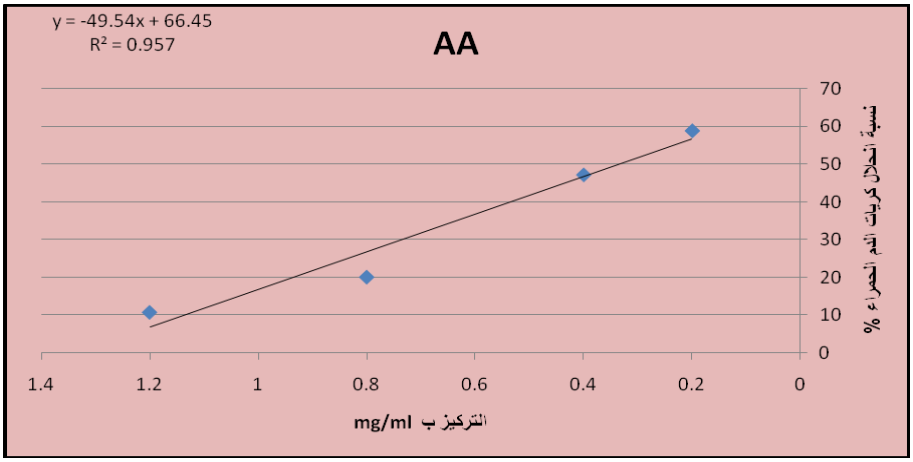
الجدول (06): قيم IC_{50} للمستخلص (FFRH ؛FFLH)، حمض الاسكوربيك .

المستخلص	حمض الأسكوربيك	FFRA	FFLA
IC_{50}(mg/ml)	0.014	0.043	0.084

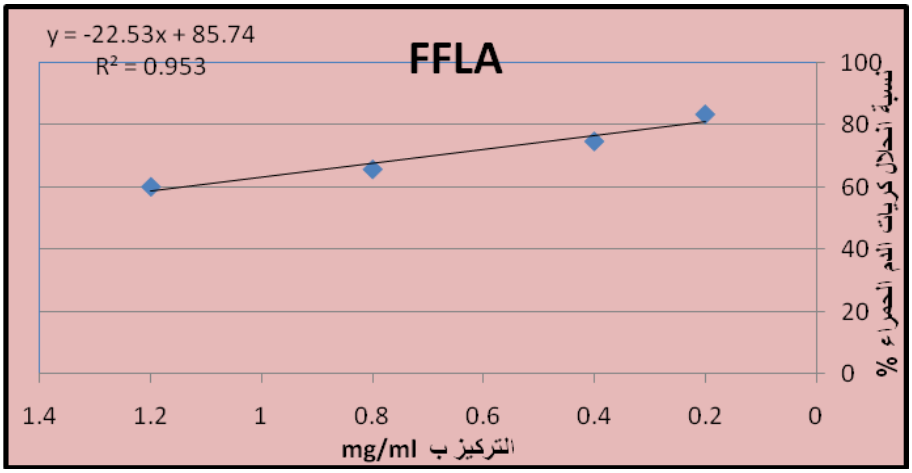
من خلال الجدول (06) نجد:

- إن لحمض الأسكروبيك نشاطية مضادة للأكسدة DPPH عالية جدا عن باقي المستخلصات بقيمة (0.014 mg/ml). بينما أبدت مستخلصات النبات (FFRA ؛FFLA) نشاطية معتبرة.
- كما أن المستخلص الفلافونويدي للأزهار (FFRA) أعطى نشاطية أفضل من مستخلص الأوراق (FFLA).

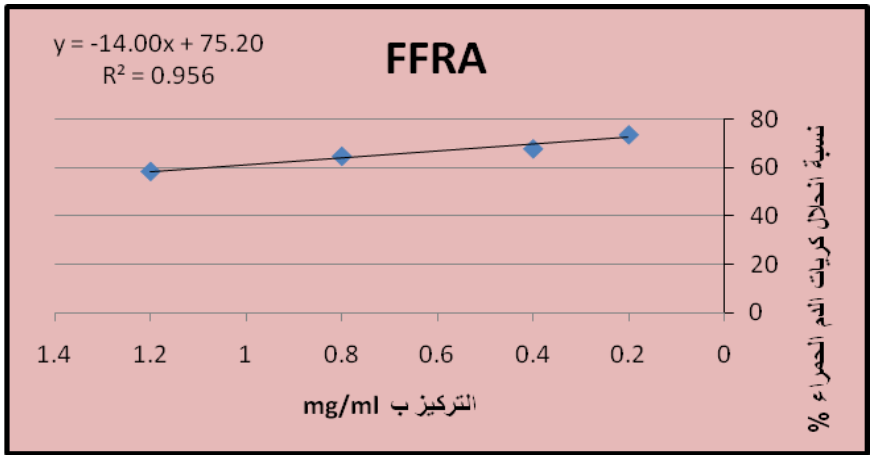
2.2.1. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse:



الوثيقة (24): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك في اختبار Hémolyse.



الوثيقة (25): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص FFLA.



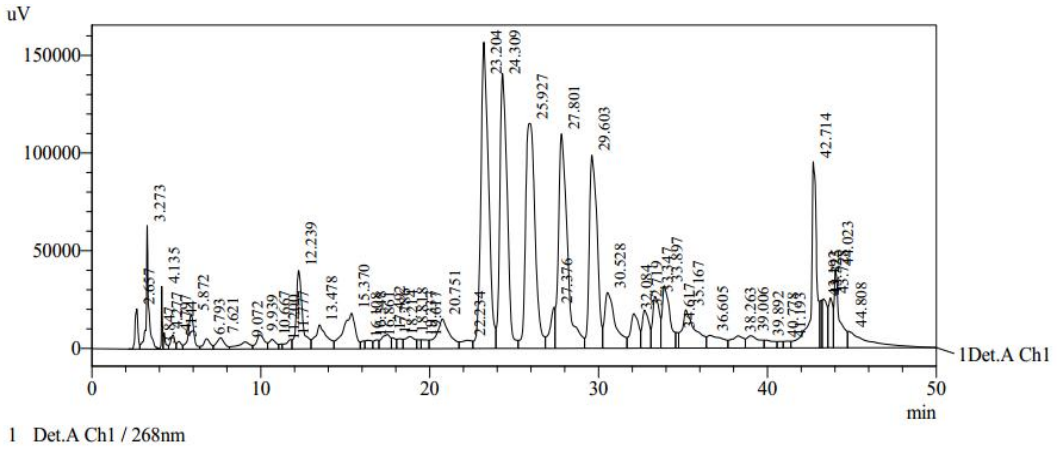
الوثيقة (26): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص FFRA.

من خلال النتائج المتحصل عليها في منحنيات نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المدرجة في الوثائق (24) (25) (26):

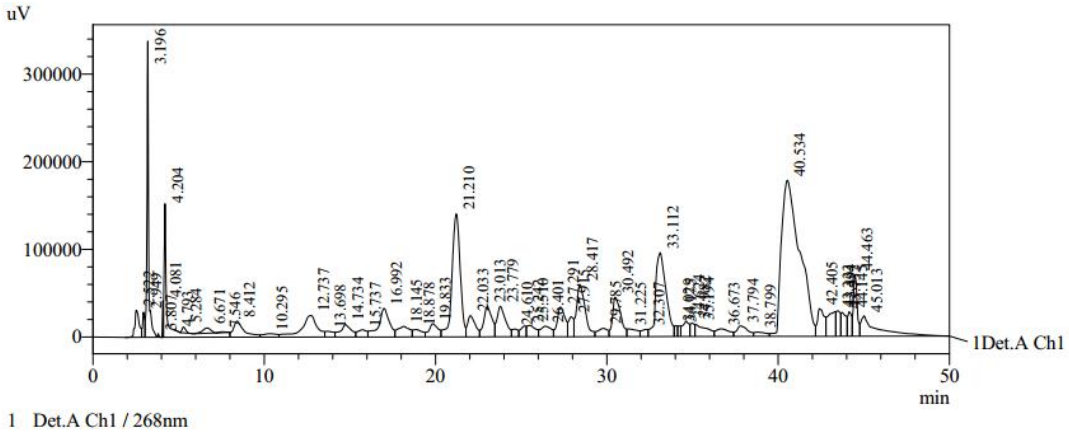
- من خلال الوثائق(24) (25) (26) الموضحة لنسب انحلال كريات الدم ، نلاحظ تناسب عكسي بين نسب الانحلال وتراكيز المستخلصات، حيث كلما زادت تركيز المستخلصات قل نسبة كريات الدم المنحلة.
- ومن النتائج يتضح أن الأثر الواقي لانحلال كريات الدم الحمراء في التركيز (1.2 mg/ml) متقاربة عند المستخلصات (FFRA؛ FFLA) حيث سجلت النسب 58.34% عند مستخلص الأزهار و60.22 % عند مستخلص الأوراق ، فيما عدا محلول حمض الأسكوربيك الذي دونت عنده أدنى قيمة انحلال بـ 10.87 %.

3.1. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات النباتية باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

تعتبر الـ HPLC من بين أهم التقنيات المستعملة في تحليل وفصل مختلف المركبات الفلافونيويدية، حيث أظهرت المنحنيات الكروماتوغرافية للمستخلصين الفلافونويدين لنبات *Acacia cyanophylla* المدرجة في الوثيقة (27) و(28)، احتواءها على بعض المركبات الفلافونويدات والأحماض الفينولية المعروف، كما هو موضح في الجدول (07) و(08)، وذلك بعد مقارنة زمن احتجازها (Ret.Time) بزمن احتجاز المركبات القياسية.



الوثيقة (27): المنحنى الكروماتوغرافي لمستخلص FFRA.



الوثيقة (28): منحنى الكروماتوغرافي لمستخلص FFLA.

جدول (07): بعض المركبات الفلافونويدية والأحماض الفينولية لمستخلص FFLA.

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %	Name of compound	concentration (µg/mg Extract)
1	2.522	544986	30754	1.013	1.684	Indefinite	/
2	2.949	235810	28805	0.438	1.577	Indefinite	/
3	3.196	2224874	337861	4.136	18.497	Indefinite	/
4	3.807	15692	3680	0.029	0.201	Indefinite	/
5	4.081	145043	41593	0.270	2.277	Indefinite	/
6	4.204	2293817	152414	4.264	8.344	Indefinite	/
7	4.793	5513	341	0.010	0.019	Indefinite	/
8	5.284	96631	6567	0.180	0.360	Acid Gallic	0.35
9	6.671	197665	5905	0.367	0.323	Indefinite	/
10	7.546	25232	1008	0.074	0.055	Indefinite	/
11	8.412	804519	18374	1.496	1.006	Indefinite	/
12	10.295	222462	3884	0.414	0.213	Indefinite	/
13	12.737	1550057	24470	0.481	1.340	Indefinite	/
14	13.698	218984	6594	0.407	0.361	Indefinite	/

15	14.734	623085	14250	1.185	0.780	Indefinite	/
16	15.737	302516	8220	0.562	0.450	Indefinite	/
17	16.992	1434147	42640	2.666	1.787	Indefinite	/
18	18.145	592243	12056	1.101	0.660	Indefinite	/
19	18.878	322795	8354	0.600	0.457	Indefinite	/
20	19.833	554286	15040	1.030	0.123	Indefinite	/
21	21.210	4656886	140347	8.657	7.684	Indefinite	/
22	22.033	764192	24214	1.421	1.326	Indefinite	/
23	23.013	1153411	34400	2.144	1.883	Indefinite	/
24	23.779	1215876	34710	2.260	1.900	p-coumarin acid	**4.91**
25	24.610	210754	8884	0.392	0.486	Indefinite	/
26	25.242	273503	12170	0.508	0.660	Indefinite	/
27	25.510	474406	12950	0.863	0.709	Indefinite	/
28	26.401	521115	11960	0.969	0.655	Indefinite	/
29	27.291	1047823	33835	2.007	1.852	Indefinite	/
30	27.915	459953	22674	0.855	1.241	Indefinite	/
31	28.417	2075783	59546	3.859	3.26	Rutin	**14.75**
32	29.785	381671	9426	0.710	0.516	Indefinite	/
33	30.492	1504962	45016	2.798	2.465	Indefinite	/
34	21.225	362094	8784	0.673	0.481	Indefinite	/
35	32.307	214492	8200	0.399	0.449	Indefinite	/
36	33.112	4005612	95709	7.446	5.240	Indefinite	/
37	34.029	145286	12167	0.270	0.666	Indefinite	/
38	34.175	132322	12090	0.246	0.662	Indefinite	/
39	34.624	462360	16736	0.859	0.916	Naringin	**4.77**
40	34.982	261191	15315	0.486	0.838	Indefinite	/
41	35.194	642761	13598	1.195	0.744	Indefinite	/
42	36.673	474859	8701	8.883	0.476	Indefinite	/
43	37.794	552286	11969	1.027	0.655	Indefinite	/
44	38.799	232037	4888	0.431	0.268	Indefinite	/
45	40.534	13210545	178046	24.558	9.748	Indefinite	/
46	42.405	875866	31560	1.628	1.728	Indefinite	/
47	43.333	877863	28081	1.632	1.537	Indefinite	/
48	43.494	490989	28975	0.913	1.586	Indefinite	/
49	43.732	558880	27154	1.039	1.487	Indefinite	/
50	44.145	439775	28012	0.818	1.534	Indefinite	/
51	44.463	1067295	70213	1.984	3.844	Indefinite	/.
52	45.013	1614969	23428	3.002	1.283	Quercitin	**7.12**
Total		53794182	1826566	100.000	100.000		

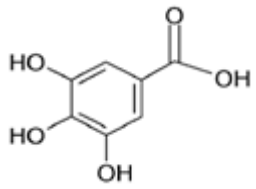
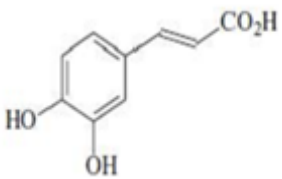
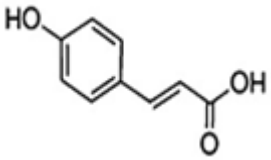
جدول (08): بعض المركبات الفلافونويدية والفينولية لمستخلص FFRA.

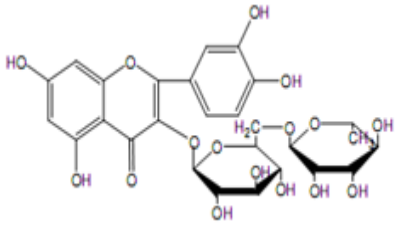
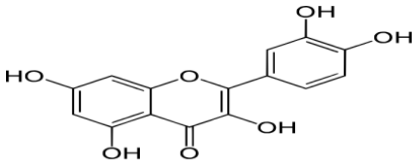
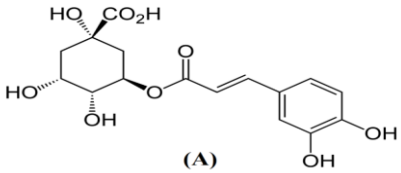
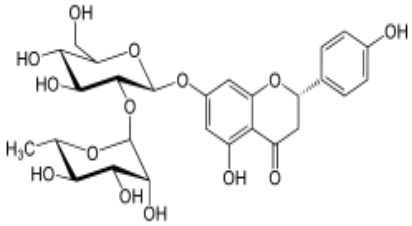
peak	Ret. Time	Area	Height	Area%	Height %	Name of compound	concentration ug/mg Extract)
1	2.657	241990	20552	0.599	1.505	Indefinite	/
2	3.273	636651	63230	1.575	4.631	Indefinite	/
3	3.847	1448	223	0.004	0.016	Indefinite	/
4	4.135	128712	32116	0.318	2.352	Indefinite	/
5	4.277	78649	8392	0.195	0.615	Indefinite	/
6	4.797	125966	7281	0.312	0.533	Indefinite	/
7	5.144	78745	3952	0.181	0.289	Indefinite	/
8	5.872	407228	17507	1.008	1.282	Indefinite	/
9	6.793	146896	5271	0.363	0.386	Indefinite	/
10	7.621	189414	5473	0.469	0.423	Indefinite	/
11	9.072	181070	3614	0.448	0.265	Indefinite	/
12	9.939	240649	7294	0.595	0.534	Indefinite	/
13	10.667	143315	4907	0.355	0.359	Indefinite	/
14	11.2	30634	2490	0.076	0.182	Indefinite	/
15	11.777	121948	4797	0.302	0.351	Indefinite	/
16	12.239	1028161	40091	2.544	2.936	Indefinite	/
17	13.478	575156	12262	1.423	0.898	Chlorogenic Acid	**5.31**
18	15.37	912353	18167	2.257	1.330	Indefinite	/
19	16.108	61324	3990	0.152	0.320	Indefinite	/
20	16.348	118369	4363	0.293	0.320	Caffiec Acid	**0.28**
21	16.861	94004	4511	0.233	0.330	Indefinite	/
22	17.492	267690	7310	0.662	0.535	Indefinite	/
23	17.786	97170	5584	0.240	0.409	Indefinite	/
24	18.214	113970	5052	0.282	0.370	Indefinite	/
25	18.818	259831	6198	0.643	0.454	Indefinite	/
26	19.337	70600	4577	0.175	0.335	Indefinite	/
27	19.617	127513	4529	0.316	0.332	Indefinite	/
28	20.751	825641	15173	2.043	1.111	Indefinite	/
29	22.234	189125	4203	0.468	0.308	Indefinite	/
30	23.204	4949228	156760	12.246	11.48	Indefinite	/
31	24.309	42381665	140709	10.486	10.305	Indefinite	/
32	25.927	4512393	115121	11.165	8.431	Indefinite	/
33	27.376	430607	20965	1.065	1.535	Indefinite	/
34	27.801	40322919	109769	9.978	8.039	Indefinite	/
35	29.603	3192547	98839	7.899	7.238	Indefinite	/
36	30.528	1264982	28507	3.130	2.088	Indefinite	/
37	32.084	593852	17611	1.469	1.290	Indefinite	/
38	32.719	533281	19465	1.319	1.426	Indefinite	/
39	33.347	717061	26522	1.774	1.942	Indefinite	/
40	33.897	1004883	31928	2.489	2.338	Indefinite	/
41	34.617	83873	8079	0.208	0.592	Naringin	**0.86**
42	35.167	1046427	19527	2.589	1.430	Indefinite	/

43	36.605	411589	6498	1.018	0.476	Indefinite	/
44	38.263	313389	6143	0.775	0.452	Indefinite	/
45	39.006	32579	6213	0.815	0.455	Indefinite	/
46	39.892	164087	4006	0.406	0.293	Indefinite	/
47	40.778	72453	3331	0.179	0.244	Indefinite	/
48	41.193	93087	3454	0.230	0.253	Indefinite	/
49	42.714	2211671	95235	5.472	6.974	Indefinite	/
50	43.192	205756	24397	0.509	1.787	Indefinite	/
51	43.325	480899	25025	1.190	1.833	Indefinite	/.
52	43.728	449952	25548	1.113	1.871	Indefinite	/
53	44.023	894047	39935	2.212	2.925	Indefinite	/
54	44.808	700222	8479	1.733	0.621	Quercitin	**3.08**
total		40416171	1365506	100.000	100.000		

من نتائج التحليل الكروماتوغرافي نلاحظ تباين في عدد المركبات الفلافونويدية والفينولية في كل مستخلص، حيث سجل في مستخلص الأوراق (FFRA) (54 مركب) من بينهم مركبات معروفة (حمض الكافييك وحمض كلوروجينيك، الكرستين، النرنجين)، بينما احتوى مستخلص الأزهار (FFLA) على(52 مركب) من بينهم (حمض الغالييك وب– كومارين، الرتين، النرنجين، الكرستين) جدول (09).

جدول (09): البنى الكيميائية للمركبات المعروفة المتحصل عليها من التحليل الكروماتوغرافي (HPLC) للمستخلصات المدروسة (BRUNETON, 1993; REIMER, 1976؛ قمولي، 2010؛ علية وسعدون، 2017)

	الأسماء العلمية للمركبات الناتجة	الصيغة الكيميائية المفصلة
حمض الغالييك (GallicAcid)	(3,4,5- trihydroxybenzoic acid)	
حمض الكافييك (caffiecAcid)	(3,4-dihydroxycinnamic acid)	
ب- كومارين (p-coumarin)	(4-hydroxycinnamic acid)	

الرتين (Rutin)	(5,7, 3',4', tetrahydroxy flavonol-3-rhamnoglcoside)	
كرستين (Quercitin)	(3,3'4',5',7-pentahydroxyflavone)	
الكلورجينيك (chlorogenic)	(acide 3 - [3- (3,4-dihydroxyphényl - 1-oxo-2-propényl] oxy] -1,4,5-trihydroxycyclohexanecarboxylique)	 (A)
النرنجين (Naringin)	(4 ', 5,7-trihydroxyflavanone-7-rhamnoglucoside)	

ولوحظ أيضا اختلاف في أنواع و عدد المركبات القياسية المعروفة بين المستخلصين، حيث أن الكرستين والنرجين ظهرا في المستخلصين، بينما أبدى حضور كل من حمض الغالييك وب- كومارين والرتين في مستخلص الأوراق (FFLA)، في حين سجل غيابهم في مستخلص الأزهار (FFRA)، بينما تواجد كل من حمض الكافييك والكلورجينيك في مستخلص الأزهار (FFRA)، في حين سجل غيابهم في مستخلص الأوراق (FFLA) .

والجدول (10) يوضح تراكيز المركبات المعروفة في كلا المستخلصين FFLA و.FFRA.

التركيز بالميكروغرام /ملغرام من المستخلص µg/mg Ext		
FFRA	FFLA	
0	0.35	**Gallic Acid**
0	4.91	**p-coumarin acid**
0	14.75	**Rutin**
0.86	4.77	**Naringin**
3.08	7.11	**quercitin**
0.28	0	**caffiec acid**
5.31	0	**chlorogenic acid**

بينت النتائج المدرجة في الجدول (10) أن هناك تباين واضح في قيم تراكيز المركبات المعروفة لكلا المستخلصين، حيث لوحظ تواجد بعضها في المستخلصين وغياب البعض الأخر، فيما أبدت تراكيز مركبات مستخلص الأوراق (FFLA) تفوق ملحوظا على تراكيز مركبات مستخلص الأزهار (FFRA) .

بينما أبدى تركيز مركب quercitin تفوقه عن تركيز مركب Naringin في كل من المستخلصين، فظهرت أعلى قيمة له عند مستخلص الأوراق (FFLA) (7.11 µg/mg) بينما في المستخلص الأزهار (FFRA) كانت قيمته (3.08 µg/mg).

وقد بينت النتائج أيضا غياب كل من حمض الغالييك وp- كومارين والرتين في مستخلص الأزهار (FFRA)، وظهورها فقط في مستخلص الأوراق (FFLA) بتراكيز معتبرة قدرت بـ (0.35 µg/mg ، 4.91 µg/mg ، 14.75 µg/mg) على التوالي.

وغياب كل من حمض الكافييك والكلوروجينيك في مستخلص الأوراق (FFLA) وظهورها في مستخلص الأزهار (FFRA) بتراكيز (0.28 µg/mg، 5.31 µg/mg)على التوالي.

4. المناقشة

✓ **المردود**

من خلال النتائج المتحصل عليها في قيم مردود المستخلصات الفلافونويدية لنبات *Acacia cyanophylla* نلاحظ تفوق طفيف لمردود مستخلص الأوراق (FFLA) على مستخلص الأزهار (FFRA)، وقد يفسر هذا الاختلاف بالدرجة الأولى لاختلاف الجزء النباتي المستعمل. بينما أشار حجاوي وآخرون (2004) وصحراوي وبيسي (2017) أن المركبات النباتية عادة ماتكون موزعة توزيعا غير متساوي في أجزاء النبات حيث تكون مركزة في أعضاء معينة دون غيرها (كالثمار والأزهار). كما أن طبيعة المركبات الكيميائية في العينات النباتية تأثر على المردود أي خصائص وطبيعة المذيب من حيث قطبيته. بالإضافة إلى اختلاف طريقة الاستخلاص وظروفها، تتم بعد عملية التجفيف في الظل بعيدا عن الإضاءة، وذلك بهدف ضمان عدم تفكيك المواد الفعالة الطبيعية في النبات بواسطة الإنزيمات (وذلك في حالة الغضة للنبات) (MARSTON ET HOSTETTMANN, 2006).

من ناحية أخرى تعتبر شروط جمع النبات من بين العوامل المؤثرة في المردود، وأيضا عملية التجفيف وظروف تخزين النبات وظروف النمو والتطور، درجة النضج، كما أن المركبات النباتية تتأثر بالعوامل الخارجية المحيطة بها كالإضاءة والحرارة (جمل، 2015)، اللتان يمكن أن تعملا على تماكب أو تخريب جزئي لبعض المواد النباتية.

✓ **النشاطية المضادة للأكسدة**

- **اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH**

اختبار DPPH هو اختبار مضاد للجذور الحرة و لقد سبق تعريفه من 60 سنة من طرف العالم "بولواز" سنة 1958 ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة (العابد، 2009).

ينشأ نشاط أسر الجذور الحرة من تثبيط مضادات الأكسدة الموجودة في النباتات، هناك عدة طرق تستعمل لتحديد النشاط المضاد للأكسدة للنباتات لما تحويه من مركبات فينولية وفلافويندية. (BONDENT et *al*., 1997; SOARES et *al*., 1997).

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ تذبذب في نسب التثبيط بين المستخلصين، حيث نلاحظ مستخلص الأزهار كان أفضل كابح للجذر الحر DPPH مقارنة بمستخلص الأوراق ، حيث أنه من المعروف كلما كانت قيمة IC_{50} أقل زادت النشاطية المضادة للأكسدة، فهذا راجع إلي اختلاف الأجزاء

النباتية واختلاف مكوناتها، وبمقارنة نتائج المستخلصين (FFLA؛FFRA) بالقيمة المتحصل عليها مع حمض الأسكوربيك فنلاحظ أن قيمة IC_{50} لايوجد تقارب بينهم ، حيث هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (جرموني، 2009؛ بكه وحفيان، 2016) حيث وجد أن مستخلصات النبات المدروس تمتلك نشاطية ضعيفة مثبطة للجذر الحر DPPH مقارنة مع نشاطية BHT كمرجع.

فقد بينت العديد من الدراسات فعالية المستخلصات الخامة المحتوية على الفلافونويدات في النشاطية المضادة للأكسدة، حيث تقوم بكبح الاكسجين الأحادي ($O_2^{\bullet-}$) (اللبي ودردوري، 2016). ولكن على الرغم من أن الفلافونويدات تتفاعل بسرعة مع الأنواع الاكسجينية النشطة فإن تفاعلها حيوي يعتمد على النموذج البيولوجي للخلايا والانسجة (MERGHEM, 2004).

ومن هنا يمكن إرجاع سبب اعتبار النشاطية المضادة للأكسدة معتبرة لمستخلصات النبات المدروس إلى وجود علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، حيث أظهر (ZHANG et *al*., 2010) في دراسة التأثير الإزاحي لـ 31 فلافونويد على جذر DPPH أن عدد مجموعات الهيدروكسيل وتموضعها لها دور كبير في التأثير الإزاحي. وفي دراسة أخرى أجراها (AMIČ et *al*., 2003) تدل على وجود علاقة بين تراكيب كيميائية لـ 29 مركب فلافونويدي (flavonols et flavanones, flavones)، لها علاقة وطيدة بتثبيط الجذر الحر DPPH. إن نتائج هذه الدراسة بينت أن المركبات الفلافونيدية التي تحتوي على وظيفة 3',4'-dihydroxy على الحلقة B و/أو وظيفة 3-OH على الحلقة C تكون الأكثر فعالية في تثبيط الجذور الحرة.

كما يمكن أن نفسر ارتفاع الفعالية المضادة للأكسدة بين مستخلص الأزهار ومستخلص الأوراق إلى بنية ونوعية المركبات الفلافونويدية وتركيز هذه المركبات داخل الأنسجة النباتية (RICE et *al*.,1997؛ تواتي وميلودي، 2016)، ويفسر الفرق في النشاط المضاد للأكسدة بين العينات باختلاف السلوك في إعطاء البروتون والإلكترون (MILIAUSKAS et *al* .,2004).

- **اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)**

بينت النتائج المتحصل عليها في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء أن للمستخلصين (FFRA؛ FFLA) القدرة على حماية كريات الدم الحمراء من الانحلال، حيث كلما زاد تركيز المستخلصات قلت نسبة كريات الدم المنحلة والتي تكون أكثر حساسية وعرضة للجذور الحرة المؤدية بذلك إلى أكسدتها (جديل، 2015).

من خلال النتائج نلاحظ أن مستخلص الازهار لديه أعلى قدرة على حماية الكريات الدم الحمراء من الانحلال مقارنة بمستخلص الأوراق ، حيث يعود هذا التباين والفارق لاختلاف أجزاء النبات وأيضا اختلاف المركبات الكيميائية في كلا العضوين النباتين، كما أن لأنواع الفلافونويدات المتواجدة في

المستخلصات دورا كبيرا في ذلك، أي كل ما كان المستخلص يحوي على فلافونويدات أقل قطبية أي محبة للذوبان في الدهون كلما زادت من سهولة عبورها للطبقة الفوسفوليبيدية للغشاء وبالتالي زيادة نسبة الحماية من الجذور الحرة (جديل، 2015).

✓ **التحليل الكروماتوغرافي للمستخلص المدروس باستعمال HPLC**

بينت نتائج التحليل النوعي للمركبات الفينولية لمستخلصي (الأوراق والأزهار) لنبات *Acacia cyanophylla* ظهور مركبات في مستخلص وغيابها في المستخلص الأخر إلى كون المركبات الفعالة تتمركز في أجزاء خاصة في النبات وتختفي في بعض الأجزاء الأخرى وهذا راجع إلى اختلاف وظيفة كل جزء، وأيضا على حسب الدور الفسيولوجي الذي تلعبه هذه المركبات خلال مراحل نمو النبات (علية وسعدون، 2017 ؛ حجاوي وآخرون، 2004).

قد يعود سبب ظهور حمض الغالييك وp-كومارين والرتين في مستخلص الأوراق (FFLA) وعدم ظهورها في مستخلص الأزهار (FFRA) إلى نوع العضو النباتي.

وكما أشار كل من (NITSCH et NITSCH 1961; ALIBERT *et al*., 1977) أن ظهور حمض الغالييك في المستخلص الأوراق وغيابه في مستخلص الأزهار راجع إلى أن له علاقة ترتبط مع العديد من العمليات الفسيولوجية للنبات (البناء الضوئي) ، وتمايز الأعضاء وعملية الإزهار والإثمار.

أما فيما يخص حمض p-كومارين فان له دور في تراجع النمو الخضري للنبات بتقدم العمر، كما يعتبر هذا الحمض وسيط في تركيب العديد من الفينولات منها الفلافونويدات.

كما يعتبر الروتين من الفلافونويدات التي لها دور أيضا في حماية النبات من الأشعة فوق البنفسجية (طويل، 2009)، حيث أثبت SAJEETH *et al* (2010) أنه يعمل كمنظم لهرمونات النمو الخضري، النقل والعمليات الأيضية في النباتات وهذا ما يفسر تواجده في مستخلص الأوراق (FFLA).

وبنسبة لحمض الكافييك فهو مثبط نوعي للـ ROS، وأكثر فعالية ضد جذر H_2O_2 (علية وسعدون، 2017).

الخاتمة

الهدف من هذا البحث هو المقارنة بين الفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار نبات الطلح الأزرق *Acacia cyanophylla* المستزرع والمستوطن في المناطق الصحراوية بالجزائر ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة لكلتا المستخلصين.

قمنا أولا باستخلاص الفلافونويدات بطريقة النقع وقد استعمالنا مذيبات قطبية مختلفة ، أسيتات الإثيل وأحادي البيتانول، بعد عملية الاستخلاص تمكنا من تقدير مردود المستخلص لكل من الأوراق والأزهار، حيث أعطى مستخلص الأوراق مردود أكبر من مستخلص الأزهار.

لجأنا بعد الاستخلاص إلى دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصين وذلك عن طريق اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ حيث تمكنا من تقدير قيمة IC_{50} المثبطة لـ 50% من الجذر الحر DPPH، وقد أظهرت قيم الـ IC_{50} المتحصل عليها أن مستخلص الأزهار (FFRA) أعطى نشاطية أفضل من مستخلص الأوراق (FFLA) ؛ كما قمنا باختبار الـ Hémolyse الذي يهدف للتعرف على نسبة حماية المستخلص النباتي لكريات الدم الحمراء من الانفجار عقب تعرضها للمواد المؤكسدة والجذور الحرة، وذلك من خلال قياس نسبة الكريات الدم المنحلة، حيث سجلت نتائج الاختبار عند تركيز (1.2 mg/ml) قيمة قدرت بـ (58.34%) في مستخلص الأوراق يليه مستخلص الأزهار بقية قدرت بـ 60.22 %.

كما قمنا بالتعرف على بعض المركبات الفلافونويدية في المستخلصين ، وذلك عن طريق التحليل النوعي بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) ، حيث وجد كل من حمض الغالييك ، ب- كومارين ، الكافييك ، الكلورجينيك والرتين كمركبات معروفة ، حيث سجلنا وجود بعض المركبات في مستخلص على غرار المستخلص الأخر، كحمض الغالييك وب- كومارين والرتين في مستخلص الأوراق وغيابه في المستخلص الأزهار كما سجلنا غياب حمض الكافييك والكلورجينيك في مستخلص الأوراق وظهوره في المستخلص الأخر .

ومن خلال ما توصلنا إليه في هذه الدراسة أن لمستخلص الفلانونيدي لنبات *Acacia cyanophylla* نشاطية مضادة للأكسدة جيدة نوعا ما. وذلك إلى وجود علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية.

أخيرا كتوصيات مستقبلية ، نأمل بتوسيع نطاق الدراسة البيولوجية والصيدلانية للنبات وتثمين منتجاته الطبيعية أحسن تثمين ، من خلال البحث عن مركبات فعالة جديدة وعزلها ثم تنقيتها.

قائمة المراجع

I. مراجع اللغة العربية

1. أنور الخطيب.، 2005- الفصائل النباتية، الساحة المركزية بن عكنون، الجزائر، ص: 50- 51.
2. برحال ج.، 2003- فصل وتحديد منتوجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريزيدية (Resedaceae). رسالة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم، جامعة منتوري قسنطينة ص: 5.
3. بكه ش. وحفيان.، 2016- الدراسة الفيتوكيميائية والفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة *Zygophyllum gaetulum*، مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص: 8.
4. بن عتوس مسعود، شتيوى فاطمة الزهراء، بوغزالة محمد الطاهر، واسع هناء ، 2013- دراسة حول الفعل المضاد للأكسدة لمستخلص الوزوازة لمنطقة وادي سوف. مذكرة تخرج لنيل شهادة ليسانس أكاديمي، جامعة الوادي، ص. 4.
5. بوديار ط.، 2008- فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للنبتة *Euphorbia guyoniana*. مذكرة لنيل الماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، ص: 118.
6. بوغزالة م. ط.، ودوش م. ص.، 2016- مقارنة المحتوى الكيميائي والفعالية الكيميائية والبيولوجية للنسغ الكامل (اللاقمي) لصنفين من نبات نخيل التمر *Phoenix dactylifera* (الدقلة البيضاء، الغرس) لمنطقة وادي سوف. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الوادي، ص: 28.
7. بومعراف منال ،2007- فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة *Phoenix dactylifera* (Ghars). مذكرة لنيل شهادة الماجستير في العلوم، جامعة منتوري قسنطينة ص: 36.
8. تبوب ع.، 2010- فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونويدي لنبات *Mantha arvensis* مذكرة ماجستير في العلوم، .جامعة منتوري قسنطينة، ص: 38 – 36 .
9. تواتي ج. وميلودي و.، 2016- المساهمة في دراسة محتوى ثمار وأوراق نوعين من نبات التوت (التوت الأبيض *Morus alba*، التوت الأسود *Morus nigra*) في منطقة الوادي، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة حمه لخضر- الوادي، ص: 28.
10. جديل ص،2015- .تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات أطروحة .L *Pistacia lentisques* و .L *Argania spinosa* و.L *Artemisia campestris* دكتوراه علوم، جامعة فرحات عباس سطيف، ص101.
11. جرموني م.، 2009- النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفزيولوجيا التجريبية، جامعة فرحات عباس سطيف، ص:12.

12. جمل ن.، 2015 – تحديد الشروط المثلى لاستخلاص المركبات الفينولية من بعض أصناف القمح القاسي السوري باستخدام منهجية سطوح الاستجابة، مجلة جامعة تشرين لمبحوث والدراسات العلمية سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37)العدد (3)، ص 161- 178 .

13. حجاوي غ، المسيمي ح، قاسم م.ج ، 2004- .علم العقاقير، الطبعة الأولى، مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع، عمان، الأردن.

14. حلاسة سليمة وفراجي الرميصاء ، 2016- Contribution à l'étude des Propriété antioxydantes des extraits des feuilles de *l'Acacia arabica* مذكرة لنيل شهادة الماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.

15. حوقة س. ومرغني آ.، 2016- المساهمة في دراسة فيتوكيميائية والفعالية البيولوجية لنبات الرتم النامي في منطقة واد سوف. مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الوادي، ص: 19 - 21. *Retama raetam* (Forssk.) Webb

16. حوه إ.، 2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص: 70-71 .

17. د.محفوض الحمادي، 2000- تحليل آلي 3 دليل التجارب العلمية، ص 34، 39، 43.

18. داؤد د. داؤد محمود ،1979- تصنيف أشجار الغابات، دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل، العراق، ص 434.

19. رهواني س . و ساري ع ، 2008 - استخلاص وتحليل الزيت الاساسي لنبات الجعدة *polium Teucirum*، مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة، ص: 62 .

20. زينب عليوي محمد التميمي. أسماء محمد عادل. صباح غازي شريف باجلان. عليوي عبد الرضا محمد علي، 2009- تأثير حامض الجبرليك والكاينتين في إنبات بذور الأكاسيا سيانوفيلا *Acacia cyanophylla* LindL. ونمو البادرات، مجلة القادسية للعلوم الصرف، العراق، 14(1): 34-35.

21. شباح ك.، 2007- فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدات للنبتة *Phoenix dactylifera* (Degla beida). مذكرة لنيل شهادة الماحستير في العلوم شعبة كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة، ص:30.

22. شروانة س ، 2007- فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة *Lycium arabicum* L. مذكرة لنيل شهادة الماحستير في العلوم، جامعة منتوري قسنطينة، ص:5، 8، 65 .

23. شريط ص. ولبيضة س.، 2016- دراسة النشاط المضادة للأكسدة وللتسمم الكبدي بمبيد Deltaméthrine لنبات السدر *Ziziphus lotus* L بمنطقة واد سوف (جنوب–شرق الجزائر). مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي. ص: 16-15.

24. شمسة شمسة، مريم حرزولي، وريدة حميداتو، وناسة ذياب، 2014- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي لنبات القريطفة *Matricaria pubescens*، مذكرة لنيل شهادة ليسانس أكاديمي في بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات، جامعة الوادي، ص: 25.

25. صحراوي ح، بيسي و.، 2017- المساهمة في دراسة العلاقة الكمية والنوعية للمحتوي الفينولي ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة اعسل ونبات المرخ *Genista saharae* Cosson et Dur المنتج بمنطقة واد سوف، مذكرة لنيل شهادة الماستر، جامعة الوادي ص 50 – 54.

26. العابد إ.، 2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات لنبات الضمران *Traganum nurdatum*. مذكرة ماجستير .جامعة قاصدي مرباح ورقلة، 106ص .

27. عبد الباسط محمد السيد أ.عبد التواب عبد الله حسين،2007- الموسوعة الأم للعلاج بالنباتات والأعشاب الطبية، دار ألفا للطباعة والنشر، ص:113-114.

28. علية فاطمة، سعدون نجاة، 2017- مساهمة في تتبع المحتوى الفينولي ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة لنبات المرخ *Genista saharae* Coss. et Dur النامي في منطقة واد سوف خلال مراحل النمو المختلفة، لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الوادي، ص 75.

29. عمیار ك. وغنابزية ح.، 2016- المساهمة في دراسة بيئية، كيميائية وبيولوجية لنبات صحراوي اللماد *Cymbopogon schoenanthus* L. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة حمه لخضر- الوادي، ص: 55.

30. غيابة ز.، 2015- دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية. رسالة دكتوراه، جامعة قاصدي قاصدي مرباح ورقلة، ص: 40، 106، 113، 120.

31. قمولي ص.، 2009- دراسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي. مذكرة لنيل شهادة الماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص: 28.

32. اللبي ز. ودردوري س.، 2016- التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويد ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات الغبيثاء *Bassia muricata* L، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة جامعة حمه لخضر- الوادي، ص: 5- 6 -12.

33. لكحل ه.، 2008- فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة *Stachys ocymastrum* (L).Briq (Lamiaceae). مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العصوية، جامعة منتوري قسنطينة ص: 27.

34. محمد بو عبد الله س.، 2011- دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا. مذكرة ماجستير في البيولوجيا وفيزيولوجيا الحيوان جامعة منتوري قسنطينة، ص 90 .

35. المنديل ع الله ، 2013- استخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) في فصل الحوامض الأمينية الكلوتام كوالالنين من المستخلص الإيثانولي لمنوع *Myriophyllum spicatum* النامي في نهر دجلة ضمن، مجلة تكريت للعلوم الصرفة، العراق، 18 (1): 132.

36. الهيئة العليا لتطوير مدينة الرياض ، 2014- دليل نباتات الرياض، الرياض، ص: 24 -29.

II. مراجع اللغة الأجنبية

1. ALIBERT G., RANJEVA R., BOUDET M.A., 1977- Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. Physiol. Veg. 15: 279-301.
2. AMIČ D., DAVIDOVIC´-AMIC´ D., BESLO D., TRINAJSTIC´ N., 2003- Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Croatica Chemica Acta, 55-61.
3. ATHAMENA S., 2009- Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de Magister, Université Hadj Lakhdar, Batna, 19-20 p.
4. AZZI M. et HAMIDA A., 2016- Effet de l'extrait aqueux de Phragmites australis (1841) chez les rats diabétiques Wistar albinos. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Science; Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED, p: 10.
5. B.R.MASLIN, A.E.ORCHARD AND J.G.WEST., 2003-Namenchatural and classification history of acacia (Leguminosae = Mimosoideae) and the implication of generic subdivision, Australia,P: 03.
6. BEAN, W. 1981- «Tree and Shrubs Hardy in Great Britain», ed. Bruneton. J.(1 999)- 1-4 Marry .
7. BELKACEM S., 2009- Investigation de la phase n-butanol de l'extrait hydro alcoolique des parties aériennes de Centaurea parviflora (Compositea). Mémoire de Magister, Université Mentouri, Constantine, P: 55.
8. BONDENT V., et *al*. 1997. Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. LWT-food science and Technology 30, 609-615.
9. BOUAZZA LYAS., 2014, Etude de la valeur nutritive de légumineuses arbustives du genre Acacia effets spécifique de leur hautes teneurs en tanins condonsés sur la méthanogenèse ruminale d'ovins, Thèse pour l'obtention du diplôme doctorat, Université Costantine 1, P:03 .
10. BRUNETON J., 1993- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier, Paris, 3 ème Ed, p: 454-457.
11. CHALLEM J, MONEYSMITH M., 2005- Basic Health puPlications users guide to carotenods et flavonceids. Basic Health, America, 90p.
12. CHARCHAR NADIA.,2014- opti isation des conditions de crination de raines d'acacia arabica d'Alérie et isolement des rhizobia à partir des nodosités racinaires, Mémoire se magister, Université D'Oran Hohemed boudiaf, P: 05

13. CHEVALLIER A., 1934- Nouvelles observations sur quelques Acacias de l'Afrique occidentale. Rev. Bot. Appl.14 :875-884.

14. CHEZE C, VERCAUTEREN J, VERPOORTE R., 2001-Poly phenols wine and health. Kluwes academic puPlishers, Netherlands, 200p

15. DASZYKOWSKI, M., HAWRYL, M., HAJNOS, W. AND WALCZAK, B., 2008- Identification of Similar an Orthogonal Chromatographic Thin-Layer Systems for Two-Dimensional Separations of Flavonoids and Their Analogues.Acta Chromatographica 20,3: 283– 307.

16. DOMMERGUES Y., DUHOUX E ET DIEM H.G.,1999- Les arbres fixateurs d'azote. Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulière aux zones subhumides et arides. 499 pp. France: CIRAD, Editions Espaces, FAO, IRD, Montpellier, France.

17. EDDOUKS M., OUAHIDI M.L., FARID O., MOUFID A., KHALIDI A., LEMHADRI A., 2007- L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Springer Phytothérapie (5): 194-203.

18. F.M.HAMMOUDA, S. L. ISMAIL, DR. N. S. ABDEL-AZIM AND DR. K. A. SHAMS, K. H. BATANOUNY. , 2005- A Guide to Medicinal Plants North Africa, IUCN, Suisse,P:9-10.

19. FOX, J.E.D., 1995- A review of the ecological characteristics of *Acacia saligna* (Labill.) H. Wendl. Mulga Research Centre Journal 12, 39-55.

20. GHERIB M., 2009- Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d' *Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. sahariensis; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Coll. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie, Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, p:24.

21. HECHIFA D, MERAD K., 2016- Caractérisation phénolique et mesure des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes médicinales dans le Sahara Septentrional Algérien. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Science; Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, p: 28 .

22. IONITA P., 2005- Is DPPH Stab le Fr ee Radical a Go o d Scaven ger for Oxygen Active Sp ec ies?, Ch em, 59 (1) 11-16.

23. KSOURI R., MEGDICHE W., FALLEH H., TRABELSI N., BOULAABA M.,SMAOUI A., ABDELLY C., 2008- Influence of biological environmental and

technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. C, R, Biol, 331: 865- 873.

24. KUPIEC T., 2004- Quality-Control Analytical Methods: High-Performance Liquid Chromatography, International Journal of Pharmaceutical Compounding, Vol, 8 No, p: 223-227.

25. LAHOURIA MOUNIA. MELLE MANSOURI, 2010 – Production d'inoculum de rhizobium nodulant Acacia Saligna pour la revégétalisation de la carrière de terage (Ain témouchent) . Mémoire de magister, Université D'Oran ES-SENIA, P: 23-28 .

26. LAKANY M.H., 1987- Use of Australian acacias in North Africa. In Australian Acacias in Developing Countries. Proceedings of an international workshop held at Gympie, Australia, (ACIAR Proceedings No.16), ed. Turnbull, J.W., pp. 118-125.

27. LEBBIDA FAHIMA, 2009- Caractérisation des rhizobia de quelques Acacia d'algérie en vue de la production d'inoculum pour la bacterisation des des acacias en pépinères, Ecole nationale supérieure d'agronomie. El-Harrache.Alger. P:16.

28. LITIEM O. ZELACI I., 2016- Contribution à l'étude phytochimique et biologique de la plante *Albizia lebbeck* (L) Benth (labakh) cultivée dans une zone saharienne à la région d'El-Oued; Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED p: 21.

29. MARFAK A., 2003- Radiolyse gamma des flavonoides, Etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Thèse de Doctorat, Université de LIMOGES, biophysique, 187p.

30. MARSTON, A. AND HOSTETTMANN, K., 2006- Developments in the application of counter-current chromatography to plant analysis. Journal of Chromatography A 1112, 181-194.

31. MEDIC-SARIC M., JASPRICA I., SMOLCIC-BUBALO A., MORNAR A., 2004- Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids, Croatica Acta, p:361-366.

32. MEDIÉ-SARIÉ, M., JASPRICA, I. SMOLEIÉ-BUBALO, A., MORNAR, A., 2004- «Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids», Croatica Chemica Acta, **77**(1-2), 361-366.

33. MELLE SEKKOUR SONNIA, 2007- essai d'introduction d'un couple symbiotique rhizobium *Acacia Saligna* pour la revégétalisation de la sablière de Sidi Lakhder (wilaya de mostaganem), Mémoire de magister, Université D'Oran ES-SENIA, P: 11-13 .

34. MERGHEM R, JAY N, BURN N, VOIRIN B., 2004- "Quantitative analysis and HPLC isolation and identification of procyanidins from Vicia faba L". Phytochemistry Analysis 15, pp 95-99.

35. MILIAUSKAS , G.V., ENSKUTONIS, P.R., VAN BEEK ,T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85 (2): 231-237.

36. NKHILI E Z., 2009- Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de doctorat Spécialité: Sciences des Aliments, Université d'avignon et des pays de vaucluse, p:13- 16.

37. RICE, C.A.,SAMPSON, J., BRAMELEY, P.M., HOLLOWAY, D.E., 1997.Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vitro?. Free Radical Res. 26 (4): 381-398.

38. SOARES JR, DINIS TCP, CUNHA AP AND ALMEIDA LM., 1997. Antioxidant Activities of some Extracts of Thymus zygos. Free Radical Research 26: 469-478.

39. WILLIAMS C., GRAYER R , 2004- . Anthocyanins and other flavonoids. Natural products repopts, V21, p:539-573.

40. ZHANG B., WANG X., NAZARALI A., 2010- Ascorbic acid reverses valproic acidinduced.

بحمد الله