الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية: العلوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم الفلاحية

تخصص: انتاج نباتي

مذكرة تخرج مقدمة لنيل شهادة الماستر

الموضوع

استخلاص وتقدير الفعالية البيولوجية لبذور نبات

Tribulus terrestris L

من إعداد الطلبة:

- شيباني عبد الرحيم
- فاضل محمد الامين

نوقشت يوم 06 / 06 / 2024 من طرف لجنة المناقشة:

مسعودي محمد	أستاذ محاضر	رئيسا
سعيد مسعودة	أستاذ محاضر	مناقشا
حني مريم	أستاذ مساعد	مؤطرا

الموسم الجامعي: 2023\2024

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وعرفان:

نحمد الله العلي القدير حمدا كثيرا الذي أعاننا على انجاز هذا العمل وألهمنا صبرا وأعطانا القوة، نتقدم بأتم وأصدق عبارات الشكر والعرفان والاحترام إلى الأستاذة **حني مريم** الذي أشرفت على انجاز هذا العمل ولم تبخل علينا بنصائحها القيمة وتوجيهاتها

نشكر الأستاذ **ربيعي عبد الكريم** على نصائحه وتوجيهاته القيمة.

وكما نتوجه بالشكر الى أعضاء لجنة المناقشة:

مسعودي محمد، سعيد مسعودة

والشكر موصول لعمال مخبر البيولوجيا على ما قدموه لنا من مساعدة وتسهيلات.

وإلى كل من ساهم وساعد في إنجاز هذا البحث أو أسدى نصيحة أو توجيها جزاهم الله عنا كل الخير

الاهداء

إلى من أطفأوا من شموع قيامهم كي يبقى الطريق أمامنا نورا ساطعا أعلى

وأعز البشر والدي الكريمين

أمي وأبي

إلى جسر المحبة والعطاء والصدق والوفاء: إخوتنا وأخواتنا

" إلى رفقاء الدرب الطويل والمشوار الدراسي الصعب

أصدقائنا الأعزاء

.إلى منبر العلم الذي أفخر به وأتمنى أن يرفع رأسه بي

.جامعتي جامعة الشهيد حمه لخضر –الوادي

إلى كليتي المبدعة

كلية علوم الطبيعة والحياة

إلى هؤلاء الذين غمرونا برحاب صدورهم وألانوا لنا الصعاب في إعداد هذه

المذكرة

إلى كل من مر من هذا وزين عملي بنظراته، إليكم جميعا

نهدي ثمرة جهدنا هذا

قائمة المختصرات:

ml Millilitre

Nm Nanométre

mg Milligrame

DPPH 2.2- diphényl-1-picrylhydrazy

FRAP Ferric reducing ability of plasma

% Pourcentage

IC50 Inihibion Concentration 50%

I% النسبة المئوية للتثبيط

UV Rayons ultraviolets

g غرام

pH درجة الحموضة

λ max طول الموجة الاعظمية

M كتلة العينة

AA حمض الاسكوربيك

$FeCl_3$ كلور حديد الثلاثي

A الامتصاصية الضوئية

$K_3Fe(CN)_6$ Potassium ferrcianure

TCA حمض ثلاثي كلورو أسيتيك

الملخص

ملخص الدراسة بالعربية:

الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص وتقدير فعالية البيولوجية لبذور نبات الحسك Tribulus terrestris L تم طحن البذور واستخلاصها مع المذيبات التالية: الماء المقطر والايثانول ومزيج ماء وايثانول (3\7)، تم الكشف مسح فيتو كيميائي على مركبات التالية: الفينولية والقلويدات الفلافونيدات والتربينات وكانت غنية بهذه المركبات.

بعد عملية الاستخلاص تم حساب مردود الاستخلاص فكان مستخلص مزيج ماء والايثانول هو أعلى قيمة حيث كانت نسبته 18% وبعدها تم تقدير الكمي للفينولات أظهرت النتائج ان قدرة مستخلص الايثانولي هي أعلى قيمة و قدرت ب 410.8 (EqAG mg/g) كما تم تقدير كمي للمركبات الفلافونويدات قدرت أعلى قيمة في مستخلص مزيج ماء والايثانول ب 209.29 (EqQr mg/g) وبعدها تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في اختبارين : اختبار DPPH و اختبار FRAP حيث وجدنا أن مستخلص الايثانولي يمتلك أكبر قيمة للفعالية المضادة للأكسدة وفي الأخير تمت دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا حيث تم اختبار أربع سلالات من البكتيريا عند تراكيز مختلفة أظهرت النتائج أن البكتيريا تمتلك مقاومة ضد بعض المستخلصات المدروسة.

كلمات مفتاحية

Tribulus terrestris L ، تقدير الفعالية المضادة للأكسدة، اختبارDPPH ، اختبارFRAP ، الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا.

Abstract:

The aim of this study is to extract and estimate the biological effectiveness of Tribulus terrestris L seeds. The seeds were ground and extracted with the following solvents: distilled water, ethanol, and a mixture of water and ethanol (3/7). A phytochemical survey revealed the following compounds: phenolics, alkaloids, flavonoids, and terpenes, and they were rich in these compounds.

After the extraction process, the extraction yield was calculated, and the extract of a mixture of water and ethanol had the highest value, with a percentage of 18%. After that, the phenols were quantitatively estimated. The results showed that the capacity of the ethanolic extract was the highest value and was estimated at (EqAG mg/g) 410.8. Flavonoids were also quantitatively estimated. The highest value was estimated in the extract of a mixture of water and ethanol at (EqQr mg/g) 209.29, and then the antioxidant activity was estimated in two tests: the DPPH test and the FRAP test, where we found that the ethanolic extract had the largest value for antioxidant activity. Finally, the biological antibacterial activity was studied, where Then four strains of bacteria were tested at different concentrations, and the results showed that the bacteria possessed resistance to some of the studied extracts.

Keywords

Tribulus terrestris L, determination of antioxidant activity, DPPH test, FRA test, biological antibacterial activity

الفهارس

فهرس الصور

الرقم	اسم الصورة	الصفحة
01	الجنس	04
02	أوراق نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	04
03	أزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	05
04	ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	05
05	بذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	06
06	ساق نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	06
07	جذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	07
08	الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* في العالم	07
09	أزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي	10
10	ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي	11
11	مقطع عرضي لثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي	11
12	توضح بنية البكتيريا	22
13	تمثل خريطة الحدود الجغرافية والتقسيم الإداري لولاية الوادي.	31
14	تجفيف البذور	32
15	طحن البذور	32
16	نتائج اختبار مركبات الفينولية	35
17	نتائج اختبار فلانويدات	36
18	نتائج اختبار DPPH	37
19	نتائج اختبار FRAP	38
20	الأدوات المستعملة في تجربة قياس تأثير المستخلص على عدة انواع من البكتيريا	**39**

فهرس الجداول

الرقم	عنوان الوثيقة	الصفحة
01	التصنيف النباتي لنبات الحسك	08
02	نتائج مردود مستخلصات لنذور نبات الحسك	45
03	الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصين لبذور نبات الحسك	46
04	النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك	47
05	كمية مركبات الفينولية في المستخلصات النبتة المدروسة	48
06	كمية المركبات الفلافونيدات لنبتة المدروسة	50
07	نتائج قيم IC50 للعينات المدروسة	52
08	نتائج اختبارFRAP	54
09	نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص مائي.	55
10	نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الايثانولي	55
11	نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص ماء +ايثانول	56

فهرس الاشكال

الرقم	عنوان الوثيقة	الصفحة
01	اقسام مركبات الفينولية	18
02	مخطط يوضح مراحل الاستخلاص العام لمستخلصات النبتة.	35
03	تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابت	39
04	مردود المستخلص المائي والايثانولي ومزيج ماء مقطر والايثانول لبذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	45
05	المنحنى القياسي لحمض الغاليك كمرجع لفينولات	48
06	كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي والايثانولي ومزيج الماء والايثانول لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من وزن المستخلص الجاف	48
07	منحنى قياسي لحمض الكرستين كمرجع للفلافونويدات	49
08	كمية المركبات الفلافونويدات لمستخلصات النبتة المدروسة	50
09	منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك كمرجع لDPPH	51
10	منحنيات اختبار DPPH للعينات المدروسة	52
11	مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبارDPPH للعينات المدروسة	53
12	منحنى قياسي لحمض اسكوربيك كمرجع لFRAP	54
13	مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبارFRAP للعينات المدروسة	54

فهرس المحتوى	الصفحة
مقدمة	أ–ث
الجزء النظري	
الفصل الاول: الدراسة النظرية للنبتة	
I. العائلة الرطراطية	
تمهيد	03
1. الأجناس	04
2. الوصف المورفولوجي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*	05
3. التوزيع الجغرافي	08
4. التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*	08
5. التركيب الكيميائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*	09
6. الاستعمالات الطبية لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*	09
II. الدراسات السابقة	11
III. الدراسة التشريحية لبذور الحسك	13
1. الدراسة التشريحية للأزهار والثمار	13
الفصل الثاني: المركبات الفينولية	
تمهيد	16
I. تعريف المنتجات الطبيعية للأيض الأول والثانوي	17
II. عديدات الفينولات	17
III. الفلافونيدات	18
الفصل الثالث: دراسة الفاعلية البيولوجية	

تمهيد	**23**
I. البكتيريا	**24**
II. الجذور الحرة	**25**
III. مضادات الأكسدة	**28**
الجزء التطبيقي	
الفصل الاول: مواد وطرق الدراسة	
I. تقديم منطقة الدراسة	**33**
II. المواد والطرق	**34**
1. المادة النباتية	**34**
2. تحضير المستخلص المائي والايثانولي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*	**34**
3. الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	**35**
4. التقدير الكمي للمركبات الفينولية	**36**
5. التقدير الكمي للفلانويدات الكلية للمستخلصات	**37**
III. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	**38**
1. اختبار DPPH	**38**
2. اختبار FRAP	**40**
3. فعالية مضادة للبكتيريا	**40**
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
I. النتائج والمناقشة	**45**
1. حساب المردود لمستخلصات النبات	**45**
2. التقدير الكمي للمركبات الفينولية	**45**
2-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)	**47**
2-2- التقدير الكمي للفلافونويدات (FV)	**49**

3. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	**50**
3-1- نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH	**50**
3-2- منحنيات DPPH مستخلص الميثانولي ومستخلص مائي ومستخلص المزيج (ميثانول +ماء)	**51**
3-3- نتائج اختبار FRAP	**53**
4. نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا	**55**
خاتمة	**58**
قائمة المصادر والمراجع	**60**

مقدمة

مقدمة

خلق الله سبحانه وتعالى النباتات على الأرض قبل خلقه للإنسان وبدا جعل أسباب معيشته على الأرض وسائر الأحياء مرهونا بما تنتجه من خيرات، فكان الانسان يستعمل النباتات كغذاء حتى أصبح يزرعها وتارة أخرى يستعملها كدواء للعالج.

ان التداوي بالنباتات معروف منذ القدم في جميع أنحاء العالم، اذ تملك بلادنا ثروة هائلة وتراث غني بالنباتات الطبية بدون استغلالها فنحن بحاجة ملحة الاستغلال هذا التراث من قبل مختصين حتى يتمكنوا من دراسته لانتفاع به [1] يعتبر استعمال النباتات الطبية اشيع أداة دوائية في الطب التقليدي والطب التكميلي على نطاق العالم. ويعتمد كثير من المجتمعات المحلية على المنتجات الطبيعية التي تجمع من النظم الإيكولوجية لأغراض دوائية وثقافية، بالإضافة الى الأغراض الخاصة بالغذاء .

وبالحديث على النباتات خاصة في منطقة وادي سوف بما في ذلك النباتات الطبية فأنها تمتلك غطاء نباتي مفتوح وقليل كثافة، بالرغم من تباعد نمو هاته الافراد النباتية الا ان اغلبها نباتات عشبية [2] تم استخدام النباتات الطبية كعالج لان الطب النباتي من جذر بعمق في ثقافتنا وكما تستخدم في عدة مجالات أخرى كالتعطير ومواد التجميل والتتبيل وحافظات الغذاء.

وتظهر أهمية النباتات الطبية في العلاج في أن المواد الفعالة بهذه النباتات لا تنفرد بجزء واحد له علاقة خاصة بعضو معين في الجسم، بينما تحوي على المواد الفعالة الشافية مما يجعلها مفيدة في مداواة أمراض مختلفة هل يمكن استخدام تقنيات جديدة لتحسين تقدير الفعالية لبذور نبات الحسك *Tribulus Terrestris L* ؟

ومن البديهي أن معرفة النبتة معرفة حقيقة وصحيحة، تحديد خصائصها ووصف مميزاتها ومكوناتها الفعالة بدقة يعد أساس البحث العلمي الصحيح، ولهذا الغرض أخترنا نبات أستخدمه الانسان منذ العصور القديمة، الا وهو نبتة الحسك *Tribulus Terrestris L* وهي من عائلة الرطراطية المعروفة بالعائلة Zygophllacea حيث في هده الدراسة سنقوم دراسة الفعالية البيولوجية (الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا)، وتقدير محتوى المركبات الفينولية لمستخلصات نبتة الحسك

وهدفنا هو استخلاص وتقدير فعالية البيولوجية لبذور نبات الحسك *Tribulus Terrestris L*

من اجل انجاز هذا العمل تم تقسيم هذا العمل الى جزئين الجزء النظري يتضمن 3 فصول حيث:

- الفصل الأول: دراسة نظرية للنبتة الحسك *Tribulus Terrestris L*

- الفصل الثاني: مركبات الفينولية .
- الفصل الثالث: دراسة الفعالية البيولوجية.

الجزع التطبيقي يتضمن فصلين حيث:

- الفصل الأول: مواد وطرق الدراسة.
- الفصل الثاني: النتائج والمناقشة.

الجزء النظري

الفصل الأول:

الدراسة النظرية للنبتة

I. العائلة الرطراطية

تمهيد

1. الأجناس
2. الوصف المورفولوجي لنبات الحسك Tribulus terrestris L
3. التوزيع الجغرافي
4. التصنيف النباتي لنبات الحسك Tribulus terrestris L
5. التركيب الكيميائي لنبات الحسك Tribulus terrestris L
6. الاستعمالات الطبية لنبات الحسك Tribulus terrestris L

II. الدراسات السابقة

III. الدراسة التشريحية لبذور الحسك

1. الدراسة التشريحية للأزهار
2. الدراسة التشريحية للثمار

تمهيد

منذ آلاف السنين، عرف الإنسان العديد من الأمراض وسعى دائما لعلاجها أو التخفيف من آلامه، لذلك استخدم مختلف الموارد الموجودة في البيئة الطبيعية للعلاج وعلاج جميع أنواع الأمراض ومن بينها التداوي بالنباتات وتسمى هذه النباتات بالنباتات الطبية.

لطالما اعتبرت النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان، و لا تزال العديد من الثقافات التقليدية تثمن الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية ومنافعها الأخرى، يتقدم علم التداوي بالأعشاب بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية في مجال البحث البيو صيدلاني نظرا لخصائصها العلاجية وكلفتها المنخفضة وسهولة الحصول عليها والعلاقة التراثية بها والاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا ونجاعة من العقاقير المصنعة.

منظمة الصحة العالمية (OMS) تقدر أن حوالي 80% حاليا من سكان العالم يستخدمون المستحضرات النباتية التقليدية للشفاء، فمثلا في أفريقيا حوالي 80% من السكان يستخدمون النباتات الطبية التقليدية وتعتبر المصدر الوحيد للأدوية، و في الصين حوالي 40% من السكان يستخدمون النباتات الطبية في الرعاية الصحية، وكذلك بعض بلدان أمريكا اللاتينية أن 71% من سكان شيلي يستخدمون الطب التقليدي وكذلك 40% من سكان بريطانيا، وتشير كل هذه الأرقام إلى أن الناس يتحولون مرة أخرى إلى الطب التقليدي خاصة اتجاه النباتات التقليدية الطبية في كثير من البلدان المتقدمة فإن شعبية الطب التقليدية الذي يسمى بالطب التكميلي تغذيها المخاوف بشأن الآثار الضارة للعقاقير كيميائية.

في الواقع منظمة الصحة العالمية لديها استراتيجية لحماية المواد الخام في النباتات، لأن الأبحاث وجدت في النباتات من الجزيئات الجديدة النشطة أو المواد الخام للدور نصف التصنيع التي تستخدم في الصيدلة لصناعة العقاقير المشتقة من النباتات.

I. العائلة الرطراطية

وهي عائلة مكونة من حوالي 27 جنس و285 نوع معظم نباتات هذه العائلة شجيرات، أعشاب ونادرا ما تكون شجرة، في الغالب محدودة في المناطق الجاف والشبه الجاف للمناطق الاستوائية والشبه الاستوائية.

حيث لوحظ في الصحراء 7 أجناس و27 نوعا، إذا تشكل العائلة الرطراطية أكثر من 3% من النباتات الصحراوية. [3]

الأجناس الرئيسية لهذه العائلة هي:

- Zygophyllum (80 ssp)
- Fagonia (40ssp) .
- Balanites (20 ssp) .
- Tribulus (20ssp)

ونصادف في الولايات المتحدة القارية أجناس لـ Guaiacum (6SPP): Zygophyllum Kallstroemia Larrea Porlieria Tribulu.

العديد من الأنواع النباتية لهذه العائلة لها خصائص علاجية معروفه، وهي تستخدم في الطب التقليدي في علاج الكثير من الأمراض.

1. الأجناس:

نبات الحسك هو نبات يتميز بجماله وتعدد استخداماته في مختلف المجالات.[4] ينتمي هذا النبات الى فصيلة الحساويات وينمو في بعض المناطق الرطبة في جنوب شرق آسيا وشمال أستراليا. وقد اشتهر هذا النبات بفضل جمال لون أوراقه الخضراء المتعددة الأشكال والأحجام. نبات الحسك يتميز بأنه دائم الخضرة، مما يعني أنه يمتلك القدرة على البقاء خضراً على مدار العام.

وهذا يعني أنه يمكن استخدامه في التصميمات البستانية لإضفاء الجمال والتنوع الطبيعي على الحدائق والفناءات. ويظهر نبات الحسك بألوان وأشكال متنوعة، حيث يمكن أن تكون أوراقه على شكل مروحة، أو مسننة، أو مثقوبة، مما يعزز جماله ويجعله من النباتات الأكثر ظهوراً وسحراً في الحدائق. [5]

كما يتميز بأنه ينمو بصورة سريعة ويمكن استخدامه في تشكيل الحواجز الطبيعية والمظلات. ولا يقتصر فائدة نبات الحسك على الجانب الجمالي فقط، بل يعتبر مصدرًا غنيًا بالفيتامينات والمعادن المهمة لصحة الإنسان.

فمن خلال استهلاك أوراق النبات يمكن الحصول على مجموعة من الفيتامينات والعناصر الغذائية الضرورية للجسم. [6]

الصورة 1: الجنس

2. الوصف المورفولوجي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

- الأوراق:

يحمل هذا النبات أوراق مركبة ريشية قصيرة طولها 1.25 سم، متقابلة مكونة من 4-7 أزواج واحد من كل زوج أصغر من الآخر، مكون من 8-16 وريقات بيضاوية مرتبة في صفين اليمين واليسار بدون وريقة نهائية في الجزء العلوي من الورقة، حيث تحمل جميع الوريقات سويقة قصيرة. [7]

الصورة2: أوراق نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

- الأزهار:

الأزهار إبطية صفراء اللون منفردة وهي ثنائية الجنس متناظرة شعاعياً وتتكون من بتلات محمولة على سيقان قصيرة وهي ذات سبلات بيضاوية تكون اقل طولا من البتلات. [8]

الصورة3: أزهار نبات الحسك. *Tribulus terrestris L*

- الثمار:

ثمار هذا النبات علبة كروية شوكية وهي خضراء تكون طرية ولا تؤذي أما عندما تجف تصبح حادة ومؤذية حيث تلتصق بالأحذية والملابس، وتتكون الثمار من مكورات أو ثميرات وعادة ما تكون شائكة خشبية لكل منها زوج من الشوك الصلب الحاد واحد من هذين الزوجين أطول من الآخر، حيث تنفصل هذه الثمار عند النضج إلى خمسة أجزاء بدءا من المنتصف كل على حدة، كل واحد من 5 أجزاء من الثمار تسقط من دون فتح مع 2 أو 3 من البذور. [9]

الصورة 4: ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

- البذور:

البذور مغلفة على شكل نجمة خشبية يصل عدد البذور في كل مكورة إلى ثلاثة بذور ويبلغ طول البذور حوالي 31.5 مم ذات لون مصفر وللبذور نهاية مدببة [10] وتتوضع هذه البذور واحدة فوق الأخرى في مقصورات صغيرة بينهما فواصل مستعرضة ذات نسيج صلب وعديم الرائحة وطعمها مر ولاذع قليلا فكل نبات واحد يمكن أن يحمل 2000 بذرة [11] تبقى البذور كامنة في التربة لمدة 4 إلى 5 سنوات. [12]

الصورة 5: بذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

- الساق:

السيقان مغطاة بالكثير من الشعيرات ذات لون أبيض وأحيانا مخضرة [13] يصل طول الساق من 2-4 متر وتنبع من نقطة مركزية في الجذر الرئيسي يتفرع ويتمدد على الأرض في كل الاتجاهات ويتفاوت لونها من الأخضر إلى البني المحمر. [14]

الصورة 6: ساق نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

- الجذور:

الجذور عرضية ليفية، أسطوانية وطولها يتراوح من 8 إلى 18 سم وقطرها من 0.3 إلى 0.8 سم في كثير من الأحيان متفرعة تحمل عددا من الجذيرات الصغيرة ذات لون أصفر إلى البني الفاتح تتميز بوجود عقيدات صغيرة لها رائحة عطرية وطعم حلو وقابض الجذر الرئيسي خشبي ويمكن أن تنمو حتى عمق 1.5-2 متر. [15]

الصورة 7: جذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

3. التوزيع الجغرافي:

التوزيع الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* في العالم تثمر نبات الحسك في حوض البحر المتوسط والمناطق الدافئة من آسيا كلها والأمريكتين الشمالية والجنوبية وأستراليا. وينمو كذلك في جنوب وشمال الجزيرة العربية وكذلك ينمو في إفريقيا باستثناء نيجيريا، الكونغو الكاميرون والغابون. كما ينمو القطب في بلغاريا ورومانيا وهنغاريا وسلوفاكيا، ورأس الرجاء الصالح وجزر القمر.[16]

الصورة 8: الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* في العالم

4. التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* :

حسب المرجعين Elise (2002) وJalpa (2015) فان نبات الحسك يصنف كالتالي:

جدول (01): التصنيف النباتي لنبات الحسك Tribulus

المملكة	Végétal / النباتية
الشعبة	Spermatophytes/النباتات البذرية
القسم	Angiospermes/مغطاة البذور
الطائفة	Dicotylédones/ثنائيات الفلقة
الرتبة	Zygophyllales /زيغوفيلال
العائلة	Zygophyllaceae/الرطراطية
الجنس	Tribulus/تريبيلوس
النوع	terrestris /الحسك

5. التركيب الكيميائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* :

يحتوي نبات الحسك *Tribulus terrestris L* على العديد من المركبات الكيميائية، حيث يحتوي على الصابونينان الفلافونويدات والتانينات [17] والأحماض الدهنية الغير مشبعة الفيتامينات، نترات البوتاسيوم، الزيوت الطيارة والثابتة [18] وكومارين Scoparon[19].

6. الاستعمالات الطبية لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* :

يعتبر نبات الحسك مهم طبيا نظرا لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة فهو يستعمل:

- كعلاج:

- البذور الطازجة مع العسل النقي منشطة، وتحسن حيوية ولمعان الجلد وتقلل من التجاعيد.
- تعد السيقان قابضة.
- يعتبر الجذر مدر للطمث وكمنشط جنسي.
- يستخدم مسحوق الثمار الجافة كمسكن وملطف. [20]
- عصير الثمار يستخدم لعلاج اضطرابات الجهاز البولي ومضاد للإسهال ولعلاج حصى الكلى. [21]
- البذور المجففة لعلاج أمراض الكبد وانتفاخ البطن. [21]

- مسحوق الثمار الجافة مع العسل لعلاج الوهن العام ويحسن القدرة على التحمل. [21]
- الأوراق كمدرة للبول وهي مفيدة للأمراض الجلدية. [21]

- كمكملات غذائية:

هناك العديد من المكملات الغذائية تحتوي على نبات *Tribulus terrestris L* وهي:

- Nimal Star Acetabolan II (Muscletech) تستخدم من اجل زيادة في مستوى هرمون التستوستيرون وتنظيم هرمون الأستروجين
- MUSCLE TECH و SPIRE ANDR09-WAY لزيادة قوة وكتلة العضلات والقدرة على التحمل.
- ANDROPLEX 700 ADVANCED PERFORMANCES كغذاء للرياضيين
- METHOXYGEN تثبيط هدم الكورتيزول.
- GEN-TRIBULUS TERRESTRIS زيادة القوة والأداء البدني للرياضيين.
- GROTROPIN PINNACLE زيادة الاستجابة المناعية وتخفيض نسبة الدهون.
- TRIBULUS 250 PVL Nutrients تخفيض نسبة الكولسترول في الدم.

II. الدراسات السابقة

يعتبر نبات الحسك ذو أهمية بالغة في الكثير من الدراسات المخبرية، مما أدى إلى دراسته من قبل بعض الباحثين، وفيما يلي أهم الدراسات المتعلقة بهذا النبات حيث:

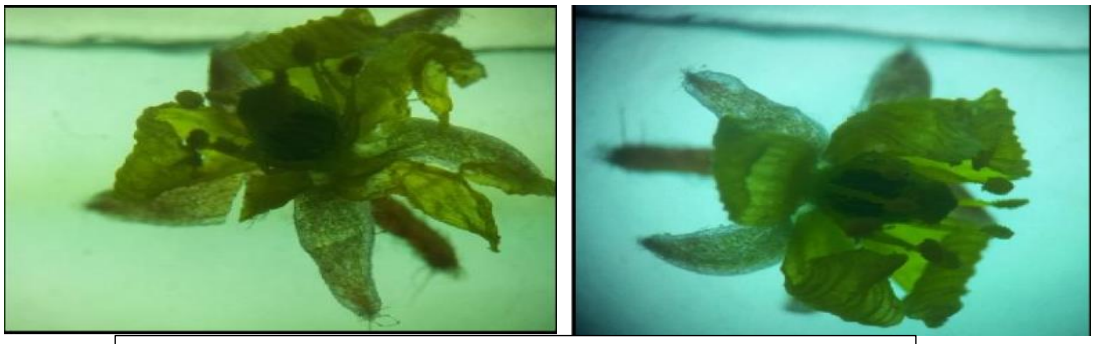
- ⇦ في دراسة قام بها Lamba وزملاؤه (2011): أظهر بأن للمستخلص الايثانولي فعالية في تقليل نسبة السكر في الدم لدى الفئران عن طريق تثبيط عمل إنزيم ألفا جليكوزيداز وأرجع ذلك للصابونين.
- ⇦ أظهرت المستخلصات الميثانولية لهذا النبات فعالية مضادة للنيماتودا Caenorhubditis elegans المتطفلة على النباتات بسبب وجود الصابونينات. [22]
- ⇦ كما بينت الدراسات أن الصابونين المعزول من نبات الحسك نشاط مضاد لفطر Candida albicansالمتسبب لالتهابات الجلد [23]
- ⇦ للمستخلص الايثانولي لثمار نبات الحسك نشاط مضاد Streptococcus mutans المسؤولة عن تسوس الأسنان [24]

⇦ لوحظ أن تناول جرعات (850 مغ /كغ) من المستخلصات المائية لثمار نبات الحسك تفيد في خفض نسبة الكولسترول والدهون الثلاثية.[25]

III. الدراسة التشريحية لبذور الحسك:

1. الدراسة التشريحية للأزهار:

الدراسة التشريحية الأزهار من خلال الملاحظة المجهرية لأزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* نلاحظ أن الكأس يتكون من 5 سبلات منفصلة طولها يتراوح من 3- 5 ملم، ذات لون اخضر شاحب كثيرة الشعيرات على السطح السفلي. أما التويج يتكون من 5 بتلات بيضاوية منفصلة تكون واسعة ومتعرجة في القمة وطولها يتراوح بين 0.6- 1سم، ذات لون أصفر، وتتكون من 10 أسدية حرة، ذات خيط رفيع ضامر ينتهي بمأبر صغير كامل والمبيض يكون لاطئ يتكون من بويضة واحدة. [26]

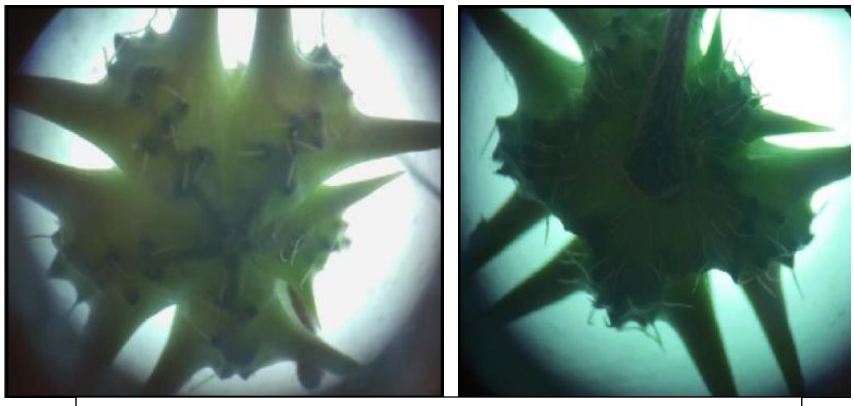


الصورة 9: أزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي

2. الدراسة التشريحية للثمار:

تم ملاحظة أزهار وثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي، وبعدها أجرينا مقطع عرضي للثمار. [26]

الثمار ذات شكل خماسي مضلع أو نجمة مغطاة بالكثير من الشعيرات، وبها خطوط عريضة وتحتوي الثمرة على خمسة أزواج بارزة من الأشواك وهي تتكون من 5 مكورات. [26]



الصورة 10: ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي

وعند ملاحظة المقطع العرضي للثمار نلاحظ أن كل مكورة تتكون من غرفتين بينها فاصل وبها أربعة بذور [26]

الصورة 11: مقطع عرضي لثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris L* تحت المكبر الضوئي

الفصل الثاني:
المركبات الفينولية

I. تعريف المنتجات الطبيعية للأيض الأول والثانوي

II. عديدات الفينولات

III. الفلافونويدات

I. تعريف المنتجات الطبيعية للأيض الأول والثانوي

تنتج النباتات مركبات عضوية معقدة ليس لها وظيفة مباشرة في النمو تسمى مركبات الأيض الثانوي والتي تنتج من مركبات الأيض الأولي (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون), إذ تملك هذه الأخيرة أهمية كبيرة في عمليات نمو وتطور النبات وحياة الإنسان والكائنات الحية الأخرى، أما مركبات الأيض الثانوي فيتجلى دورها في الدفاع عن النبات باعتبارها وسيلة وقاية ضد المسببات المرضية فهي بمثابة جهاز المناعة للنبات، فعندما يهاجم النبات من الخارج بالأمراض تتكون هذه المنتجات الثانوية مثل: الفينولات، التربينات والقلويدات، كما أن البعض منها مسؤول عن الرائحة والطعم ولون النبات، والبعض الآخر يعطي أهمية طبية بالغة، فالدراسات الأخيرة تشير أن أكثر من ربع الأدوية والعقاقير المنتجة في العالم خلال العقود الثلاثة الماضية مشتقة من مركبات ثانوية نباتية، وتصنف هذه المنتجات إلى أنواع مختلفة لتسهيل دراستها.[27]

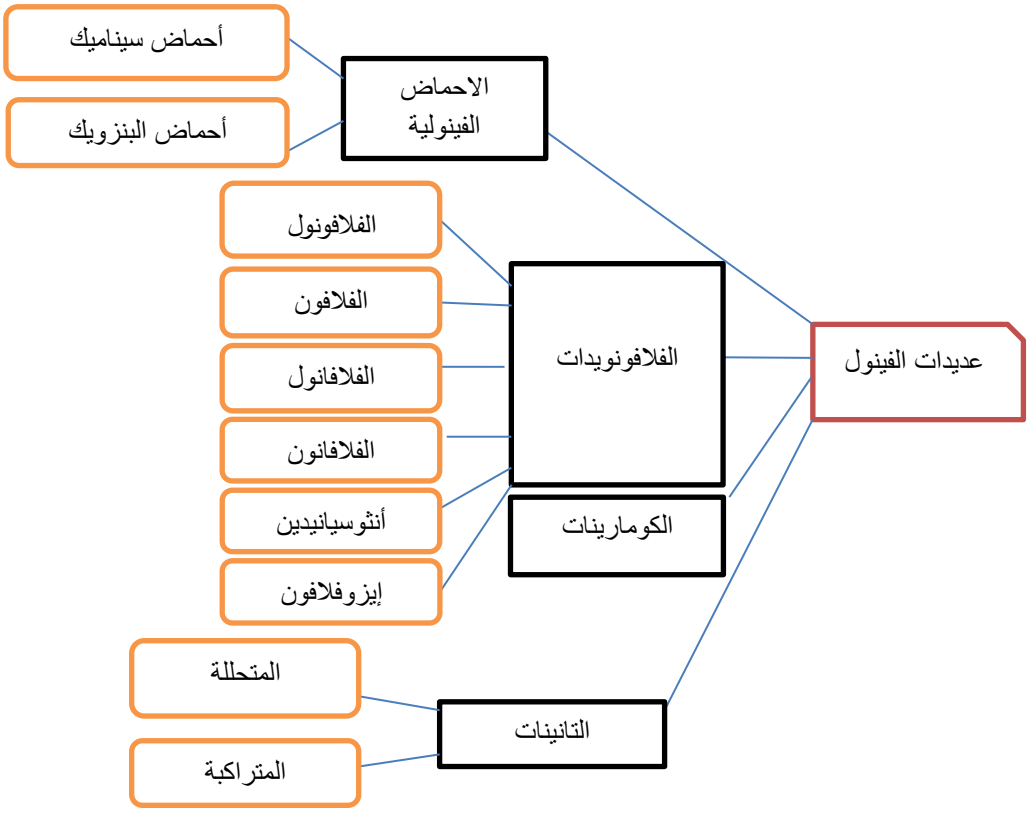
وتمثل هذه المنتجات مجموعة هائلة من المركبات الطبيعية المصنعة حيويا من طرف النباتات ابتداء من منتجات الأيض الأولى المتمثلة أساسا في الأحماض الأمينية، السكريات الدهون البروتينات وتصنف منتجات الأيض الثانوي إما على أساس مصدرها الطبيعي أو على أساس تأثيراتها البيولوجية والتصنيف الأكثر شيوعا يكون على أساس البنية الكيميائية, كما تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية حيث تم التعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي، يتكون هيكلها القاعدي من الأحماض الفينولية البسيطة، تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مع وظيفة أخرى مثل: لاستر أو الإيثر، والاختلاف في عدد الحلقات وعدد ونوع الوظائف المرتبطة بها يجعلها تقسم إلى عدة مجامع تتمثل في: الأحماض الفينولية, الفلافونويدات, التانينات, الكومارينات التي تتواجد في جل النباتات.[28]

II. عديدات الفينولات

عديدات الفينول من أكثر مركبات الأيض الثانوي في الطبيعة انتشارا معظمها من أصل مشترك من الأحماض الأمينية وPhenylalanine وTyrosine، تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيل. هذه الميزة تشمل أيضا مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات (كالمورفين Morphin) وبعض التربينات (كالتيمول Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية و مجموعة هيدروكسل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة، و عليه ليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا، يستوجب أن يكون على النحو التالي :

مشتق غير آزوتي حاو ي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى تكونت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأستات مجاميع الهيدروكسيل الفينولية من أحسن مضادات

الأكسدة التي تثبط أنواع الأكسجين التفاعلية، وتعمل على تكسير حلقة توليد الجذور الحرة، كما تضفي هذه المركبات طعم ونكهة فريدة من نوعها للفواكه والخضر [29]



الشكل 01: يمثل أقسام المركبات الفينولية

III. الفلافونويدات

1- تعريف الفلافونويدات:

نظرا لاتساع دائرة البحث في مجال المنتجات الطبيعية، فقد أخذت الفلافونيدات حيزا كبيرا من اهتمام الباحثين باعتبارها من أهم المجموعات الفينولية و القسم البالغ الأهمية من نواتج الأيض الثانوي التي تحدث في جميع خلايا و أنسجة النباتات و الدليل على ذلك أن 8000 نوع من الفلافونيدات في صورتها الإيتروزيدية و الأجليكونية تم استخراجها طبيعيا من النبات.

و مصطلح Flavonoide في اللغة الأجنبية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus و تعني أصفر و هي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة على جميع أجزاء النبات، و بشكل أكبر في الجزء الهوائي منه، مسؤولة عن ألوان الأزهار، الفواكه و أحيانا الأوراق، و تتوزع بشكل واسع و تنوع كبير في النباتات الراقية (خاصة Angiospermes) و

بشكل جد محدود في الفطريات و الطحالب. و قد اكتشفت الفلافونيدات من طرف عالم الكيمياء الحيوية "györgyi-Szent Albert" و الذي صنفها على أساس أنها فيتامين P و أدرك أنها تزيد و تعزز من دور الفيتامين C، أما كلمة فلافونيد فقد أدخلت عام 1952م من طرف "Geissman" إشارة إلى جميع الصفات التي تملك الهيكل القاعدي C_3-C_6-C_6 و هي عبارة عن وحدتين عطريتين C_6(B et A) ترتبطان (C) بسلسلة من 3 كربونات.[30]

2- خصائص الفلافونويدات:

2-1- المدلول أو الدور البيولوجي:

للفلافونيدات وظائف وأدوار عديدة فخاصية امتصاص المركبات الفلافونيدية للأشعة فوق البنفسجية هامة جداً، فهي تقوم بدور الحماية الضوئية للنباتات ضد الإشعاعات الضارة حيث تعمل حجاباً مرشحا، أيضاً أهميتها القيمة في تلوين الأزهار والفواكه، كذلك دورها الجذاب فهناك علاقة بين لون الأزهار والملحقات، فبعض الحشرات لها جهاز رؤية يسمح بأن تكون حساسة للفلافونيدات فمثلاً النحل يفضل الألوان الزرقاء والصفراء الطيور تفضل اللون الأحمر أما الفراش فيفضل اللون الوردي والأبيض, وهكذا توجد صلات متباينة بين الحشرات والنبات، ولذلك يكثر استعمال المظهر الفلافونيدي ذي الصلة باصطباغ النباتات في صناعة الملونات الغذائية والصيدلية، تمثل هذه الصباغ بالانثوسيانات المعروفة تحت اسم (E163).

كما أن لون النباتات لا يتوقف على الطبيعة الكيميائية للصباغ فحسب بل على عدة عوامل كيميائية وفيزيائية باستطاعتها تغيير اللون الذاتي للإصباغ، فطيف امتصاص الصبغ داخل الخلية يختلف عن طيف امتصاصه في المحلول. وبالتالي فإن هذه العوامل المختلفة هو المفسر لكثرة الصباغ المشاهدة في الطبيعة انطلاقاً من عدد محدود نسبياً من الأصباغ.[31]

2-2- دور الفلافونيدات الفيزيولوجي:

تستطيع المركبات الفلافونيدية بفضل تركيبها المتعدد الفينولي أن تلعب دوراً هاماً في سلاسل الأكسدة الإرجاعية فبعضها مؤكسدات، إذ يظهر سلوكها في الترابط المعقد للمعادن الداخلة في تفاعل الأكسدة. كما أن غناها بالمجاميع الفينولية يجعلها قادرة على أن تتثبت على بعض البروتينات والأنزيمات وتتدخل في المراحل المختلفة للتطور وخاصة عند التلقيح بالنسبة للنبات، أما بالنسبة لتأثيرها على الإنسان فهي عموماً غير سامة إلاّ أن تأثيرها بطيء.

2-3- خواص الفلافونيدات المقاومة للتأكسد:

تعتبر الفلافونيدات عوامل مرجعة طبيعية ممتازة فهي بمثابة مصيدة للعينات (lipidique peroxidation) مثل $OH;O_2$ كما تقوم بتكسير تسل ل التفاعل الجذري وذلك بتشكيل مركبات أكثر استقرارا، كما يمكن

للفلافونيدات مثل الكيرستين أن تلعب دور مصيدة جذور فوق الأكاسيد. وتزداد فعالية مقاومة الفلافونيدات للأكسدة مع الأتي :

- زيادة عدد ومواقع OH خاصة المستبدلة على الموقع 3 للحلقة C، أرثو ثنائي هيدروكسي 3',4' للحلقة B و 5,7 ثنائي هيدروكسي للحلقة A.
- وجود رابطة ثنائية مثبتة على الحلقة C في الموقع C_3-C_2 مع وجود وظيفة Ceto4- يكسب هذه المركبات مقاومة كبيرة ضد التأكسد.
- استوائية الجزيئة فكلما كانت الجزيئات أكثر استوائية كلما كانت مقاومتها للتأكسد أكثر فعالية.

2-4- استعمال الفلافونيدات كمشخصات وراثية:

تلعب الفلافونيدات دوراً هاما في التصنيف الكيميائي كغيرها من نواتج الأيض الثانوي (قلويدات – تربينات – فينولات) وأهمية الفلافونيدات المعتبرة كمشخصات وراثية تسمح لها باحتلال مكان مهم وجيد في الدراسات العلمية المعقدة ،يظهر ذلك من خلال انتشارها العالمي الكبير، كما أن امتلاكها لثروة بنيوية ذات تنوع هائل يسمح بالوصول إلى مئات من أنواع الجزيئات الأجليكونية مثبتة في الغالب في صورة إتيروزيدية، فوجود روابط ثنائية، ومجموعات هيدروكسيلية فينولية، ومستبدلات متنوعة يسهل تشخيصها ومعايرها بدقة فائقة فضلا عن أن ثباتها البنيوي الجيد يسهل دراستها الفيزيوكيميائية.[31]

الفصل الثالث:

دراسة الفاعلية البيولوجية

I. البكتيريا

II. الجذور الحرة

III. مضادات الأكسدة

تمهيد:

من المعروف أن الجذور الحرة يتم التغلب عليها بما يسمي المواد المضادة للأكسدة والتي تقوم بمعادلة الجذور الحرة في الخلايا الحيوانية و الأنسجة النباتية, ولكن هذه المواد يقل محتواها تدريجيا وذلك بزيادة ظروف الإجهاد أو التقدم في العمر.

في هذا الفصل سنعرف أولا على مفهوم وبنية البكتيريا, من ثم معرفة مفهوم الجذور الحرة من خلال التطرق لبعض العناصر منها مصادر وأضرار الجذور الحرة, وأخير سنسلط الضوء على مضادات الأكسدة ومعرفة آليات عملها.

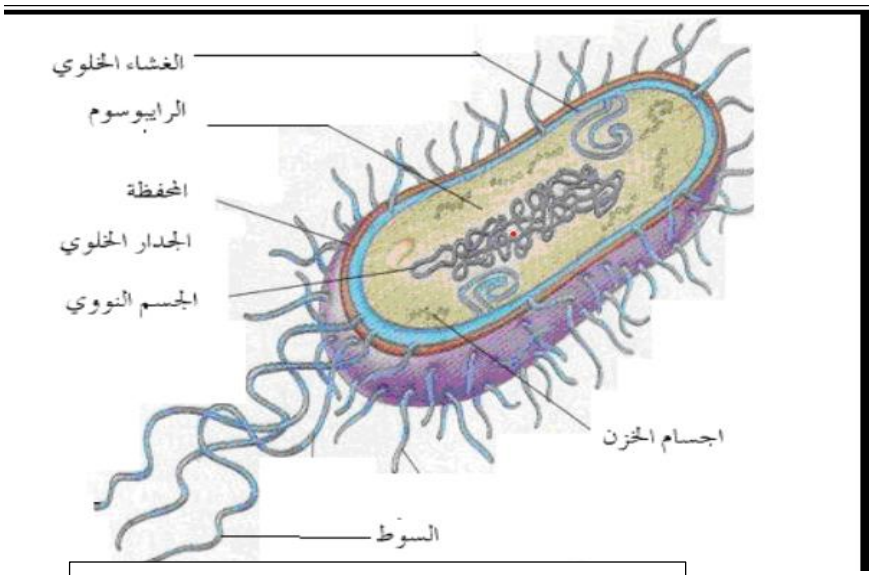
I. البكتيريا:

1- تعريف البكتيريا:

البكتريا (Bacteria) كائنات حية دقيقة مجهرية بدائية النوى بسيطة تحتوي على خلية واحدة، تعتبر من أصغر الكائنات الحية. يتراوح قطر معظمها ما بين 0,3 و 2,0 ميكرون. و هي ذات أشكال مختلفة.

2- بنية البكتيريا:

تحيط بجميع أنواع البكتيريا طبقة واقية تسمى جدار الخلية ، ويعطى جدار الخلية البكتيريا شكلها ويساعدها على العيش في بيئات متعددة ، يحيط ببعض أنواع البكتيريا إضافة إلى ذلك حافظة ، وهي طبقة لزجة خارج جدار الخلية (ويكون للخلية البكتيرية كحد أقصى ثلاث طبقات وتمتد أسواط ا تشبه الشعر من خلال الطبقات وتساعد البكتيريا على الحركة) وتجعل هذه الحافظة الخلية مقاومة للمواد الكيميائية الفتاكة, ويوجد داخل الغشاء السيتوبلازم وهي مادة رخوة تشبه الهلام ، تحتوي السيتوبلازم على مواد كيميائية كثيرة تسمى الإنزيمات تساعد على تحلل الطعام وبناء أجزاء الخلية، كما تحتوي خلايا البكتيريا مثل جميع الكائنات الحية على (ADN الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين) الذي يتحكم في نمو الخلية وتكاثرها وجميع النشاطات الأخرى، يشكل ADNالخلية البكتيرية منطقة من السيتوبلازم تسمى الجسم النووي, وفي جميع الكائنات الحية الأخرى ما عدا الطحالب الخضراء المزرقة يوجد ADN داخل النواة, وهو جزء من الخلية يفصله عن السيتوبلازم غشاء الشكل, تعمل المضادات الحيوية على إجبار الخلية البكتيرية على الانتفاخ و من ثم الانفجار.[32]



الصورة 12: توضح بنية البكتيريا

3- أشكال البكتيريا:

يقسم العلماء البكتريا تبعاً لشكلها عادة إلى أربع مجموعات والذي يظل ثابتا إلى حد كبير وهذا لعدم تأثره بالوسط الخارجي. فبعض البكتيريا مكورة الشكل وتسمى المكورات وبعضها يأخذ شكل العصا وتسمى العصويات، والبعض يأخذ شكل الفاصلة أو الضمة وتسمى بالضميات والبعض يأخذ الشكل
اللولبي وتسمى اللولبيات.

يمكن وصف خليتين من البكتيريا أو أكثر يتصل بعضها ببعض باستخدام المصطلحات مزدوج (ثنائي) وعنقودي وعقدي (سلسلي), فالمكورات العقدية على سبيل المثال نوع من البكتيريا الكروية متصل بعضها ببعض في سلاسل. [1]

II. الجذور الحرة:

للجذور الحرة دور كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي في جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية، وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات المؤكسدات (antioxydants) داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوية من أضرار الجذور الحرة. وللحفاظ على التوازن الإرجاعي الداخلي يسخر الجسم على مجموعة معقدة من أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة تعمل على حد من التأثيرات السلبية للجذور الحرة والتي تكون غالبيتها غير عكسية.[33]

1. تعريف الجذور الحرة:

تجتمع الذرات في جزيئات بروابط قوية بواسطة الكترونات حلزونية متعاكسة، تكون حاملة لطاقة كافية قادرة على أن تؤدي إلى تخريب هذه الروابط وبهذا تؤدي إلى ظهور وحدات كيميائية تمتلك إلكترون غير مرتبط على المدار الخارجي. تسمي هذه الوحدات الكيميائية الجذور الحرة

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزئية تحتوي على إلكترون أو أكثر غير مزدوج، تتولد أثناء التفاعلات الكيميائية كمركبات وسطية وتنتهي بنهاية التفاعل منها.[34]

وتعرف الجذور الحرة بأنها أنواع كيميائية (ذرات أو جزيئات) تملك إلكترون أو أكثر حر في المدار الخارجي، وجود إلكترون حر يجعل هذه الأنواع غير مستقرة و أكثر نشاطية مما يجعله في حالة بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون زوجاً من الإلكترونات المستقرة، وهذا ما يجعله ينتزع إلكترون من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم. كثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل يكون فيها الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات، الذي يدخل في تشكيل الأنواع الأوكسجينية النشطة (ROS) species oxygene Reactive التي يمكن أن تكون جذرية أو غير جذرية.[33]

2. أنواع الجذور الحرة:

تنقسم الجذور الحرة من حيث استقرارها إلى نوعين:

2-1- الجذور الحرة التي لها أعمار حياة قصيرة:

وهي الجذور الحرة غير المستقرة في الظروف العادية، ويشمل هذا النوع ذرات العناصر مثل الهيدروجين والنتروجين والكلور والفلور والجذور التي لها وزن جزيئي ضعيف بصورة عامة مثل: NO, OH, CH_3, وما شابه ذلك، تقدر أعمار حياة هذه الجذور بالميكروثانية أو أقل حتى تصل إلى البيكوثانية.

2-2- الجذور الحرة التي لها أعمار حياة طويلة:

وهي الجذور التي تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات و حتى الأيام، مثل جذر triphenylméthyl ذو لون أصفر و مستقر بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات، وجذر 2,2- dipheny l-1- (DPPH) picrylhydrazyl ذو لون بنفسجي مسود, وهو عبارة عن مادة صلبة و محلوله مستقر لعدة أيام.[45]

3. طرق تفاعلات الجذور الحرة:

تتفاعل الجذور الحرة بكافة أنواعها المستقرة أو النشطة المشحونة والمتعادلة بتفاعلات سريعة جدا ومختلفة:

⇦ تفاعلات التبادل الإلكتروني:

يتم في هذا التفاعل انتقال إلكترون من المادة المستقرة المتواجدة بالمحيط إلى الجذر الحر وبذلك يتكون أيون سالب مشتق من الجذر الحر وجذر حر جديد مشتق من الأيون السالب

⇦ تفاعلات تفكك الجذور الحرة:

تتفكك الجذور الحرة بصورة مختلفة معتمدة بدلك على طبيعة الجذر الحر ومثال ذلك تفكك جذور الأسيل بواسطة فقدان جزيئة أول أكسيد الكربون.

⇦ تفاعلات اتحاد الجذور الحرة:

إن تفاعلات الجذور الحرة مع بعضها البعض تعد من التفاعلات المهمة جدا حيث ينتهي وجود هذه الجذور بنظام ما بهذه التفاعلات مع تكوين مركبات مستقرة ويطلق على هذه التفاعلات بتفاعلات الاتحاد. [36]

4. مصادر الجذور الحرة:

تنتج الجذور الحرة بشكل مستمر من خلال آليات مختلفة:

أ- المصادر الداخلية:

تنتج الجذور الحرة داخل العضوية كآلية للحماية ضد الجزيئات الغريبة وأكجزء من نواتج العملية الأيضية عبر العديد من الآليات الموجودة داخل الجسم. [37]

ب- المصادر الخارجية:

يمكن أن تنتج الجذور الحرة عند التعرض لمختلف العوامل البيئية الفيزيائية والكيميائية منها، الإشعاعات فوق البنفسجية وتحت الحمراء والحرارة والموجات فوق الصوتية وبعض المعادن مثل الحديد والتدخين وأثناء تعرض الخلايا للمواد الكيمائية.[38]

5. أضرار الجذور الحرة:

أن التأثيرات التي تحدثها الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يمكن أن تؤدي إلى تغييرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية, حيث تنتج الجذور الحرة من أجل الدفاع عن جسم الإنسان ضد الأجسام الغريبة، إلا أن الإنتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى الجزيئات الخلوية, وأساسها ثالث إما ضرر واقع على الحامض النووي والذي يؤدي إلى طفرات التي تسبب موت الخلايا أو ضعف المناعة، أما ضرر واقع على البروتينات ومن ثم تحويل وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية، وأخيرا ضرر واقع على الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون وهو الأخطر إذا تنتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمر أطول وانتشار أوسع مسببتا بذلك خاليا سرطانية، كما يمكن أن تنجم أضرار أخرى كأمراض القلب والأوعية الدموية.[39]

III.مضادات الأكسدة:

1- تعريف مضادات الاكسدة:

تعرف مضادات الأكسدة أنها مركبات لديها القدرة على منع أكسدة المركبات الأخرى أو اعاقتها، حيث تقوم بتقديم إلكترونات إلى الجذور الحرة، و تتحول بدورها إلى جذور حرة ضعيفة غير فعالة و غير سامة.

والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى قسمين طبيعية ومصنعة.[36]

1-1- مضادات الاكسدة الطبيعية:

وهي ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالإنزيمات الجلوتاثيون و الكتالاز و البيروكسيداز وبعض المركبات غر الإنزيمية لا تنتج من طرف العضوية وقد تأتي من الأغذية تشمل هذه المركبات كل من الجزيئات الصغيرة مثل فيتامين (E توكوفيرول) وفيتامين (C حمض الأسكوربيك) والفيتامينات ذات الأصل بيتاكاروتين و هي حوالي 600 مركب، و تتعداها إلى المعادن الطبيعية كالزنك و غيرها وهناك العديد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الأخرى مثل الفلافونويدات Flavonoids و البوليفينول polyphenol التي توجد في العديد من الأطعمة كالفواكه والخضروات.[39]

تحمل العضوية أنظمة دفاعية جد فعالة و تنقسم إلى نوعين: مضادات الأكسدة الإنزيمية و مضادات الأكسدة غير الإنزيمية. هذه المواد المضادة للأكسدة يمكن استخدامها في علاج أو محاولة الوقاية لمنع الأكسدة.[34]

1-2- مضادات الأكسدة المصنعة:

إن مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعيا داخل الخلايا غير كافية مما أدى إلى تصنيع مجموعة من المركبات التي تعمل كمضادات للتأكسد أطلق عليها مسمى مضادات الأكسدة المصنعة والتي يضاف بعضها إلى الأطعمة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات والبروتينات.[34]

تعتبر مضادات الأكسدة المصنعة كعنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إتلافها إلى أقصى حد وذلك لسرعة تأكسدها منها PG (Propyl Gallate)،TBHQ (tertiobutylhydroxyquinone)))، BHA(3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole) (2,6-ditertiobutyle-4-hydroxytoluéne) (BHT و هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية، فعالة وقليلة التكلفة بالمقارنة مع مضادات الأكسدة الطبيعية كما أنها غير سامة.[4]

2- آليات عمل مضادات الأكسدة:

تلعب المواد المضادة للأكسدة دورا مهما في إزالة سمية الجذور الحرة الناتجة بإفراط في العضوية عن طريق منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض

النووية والدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى. وتصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها المادة التي لديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة أو تقليلها، لذا فان القليل من جزيئات مضادات الأكسدة كبعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما، إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، رغم ذلك لا يمكن أن نعيش بدون جذور حرة، فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم، وتستخدم أيضا في إنتاج الطاقة، والمشكلة تكمن في أن معظم الناس يتعرضون لكميات فائضة (زائدة) من الجذور الحرة، ولكن يمكن تجنب العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أو تزيد من إنتاج أجسامنا لها بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات والفواكه. [35]

الجزء التطبيقي

الفصل الاول:

المواد وطرق الدراسة

I. تقديم منطقة الدراسة

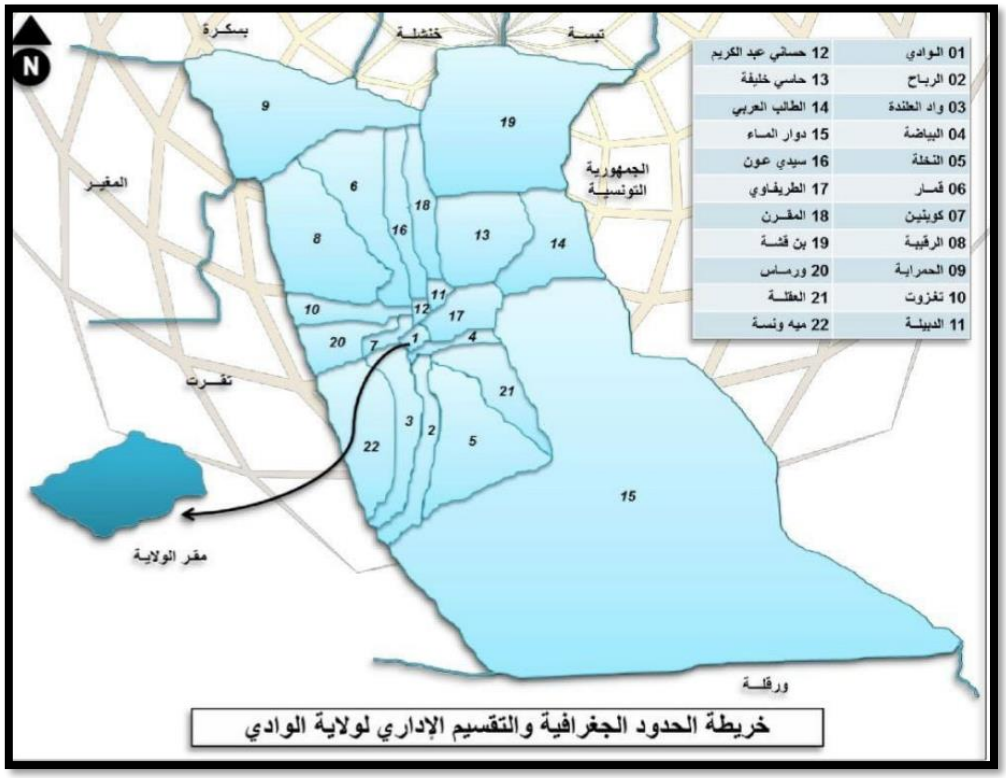
1. الموقع الجغرافي لجامعة الوادي:

ولاية الوادي كانت ملحقة سابقًا بولاية الواحات تابعة لولاية بسكرة قبل إعادة التنظيم الإقليمي لسنة 1974، بعد هذا التاريخ أصبحت ولاية رسمية بفضل التقسيم الإداري سنة 1984وتضم 30 بلدية و12دائرة، وهي تتكون حاليا من 22 بلدية و10دوائر بعد التقسيم الإداري الأخير لسنة.2020

تبلغ مساحة الولاية 5752 3كلم^2 ويقدر عدد سكانها في نهاية سنة 2021 بـ 716905نسمة (أي بمعدل كثافة سكانية يبلغ 20،05٪)

ولاية الوادي الواقعة جنوب شرق الوطن وحدودها كما يلي:

- شمالا ولاية خنشلة
- شمال شرقي ولاية تبسة
- شمال غرب ولاية المغير
- غرب ولاية تقرت
- بالجنوب الغربي ولاية ورقلة
- شرقا الحدود التونسية (شريط حدود 260كلم).

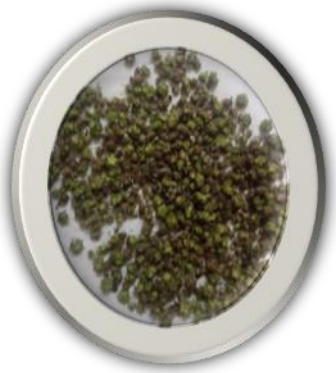


الصورة 13: تمثل خريطة الحدود الجغرافية والتقسيم الإداري لولاية الوادي.

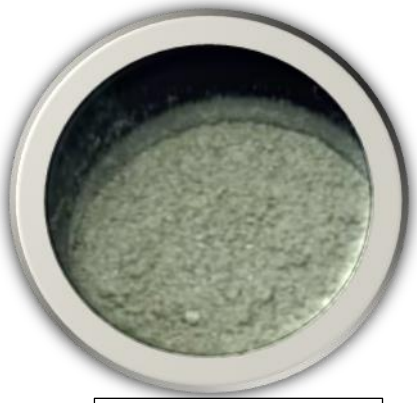
II.المواد والطرق

1. المادة النباتية

تم تجميع نبات الحسك من منطقة الوادي في جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي عند الاحداثيات التالية N 6°51'38,473"E"47,482'23°33 في شهر ديسمبر 2023 في الصباح حيث تم فصل الأجزاء الهوائية عن بعضها (أوراق وسيقان وثمار) وكذلك المجموع الجذري ووضعا في أكياس ورقية، وثم غسلها بالماء البارد لإزالة الشوائب و الرمل والحشرات الدقيقة منها، ويتم تجفيف البذور في مكان مهوى بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة فوق قطعة قماش مع ترك مسافات بين الأجزاء و تقلب من حين إلى آخر بمعدل مرتين في البوم لمدة شهر للتأكد من الجفاف التام للأوراق، بعد إتمام عملية التجفيف نقوم بطحن البذور بآلة طحن كهربائية وغربلة المسحوق الناتج وبعد ذلك نضعها في أكياس ورقية ونقوم بغلفها وتخزينها إلى حين استعمالها.



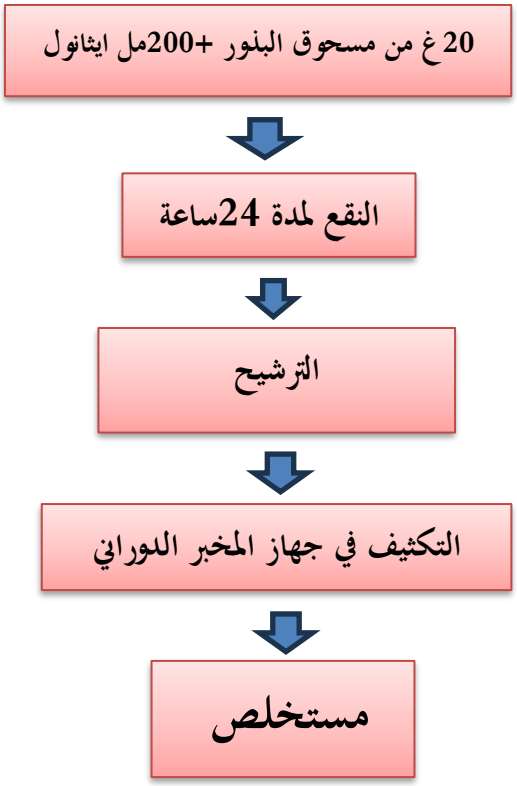
الصورة 14: تجفيف البذور



الصورة 15: طحن البذور

2. تحضير مستخلص الايثانولي والمائي ومزيج الايثانول مع ماء لأوراق نبات *Tribulus terrestris L* :

نزن بالميزان الالكتروني كمية قدرها 20 غ من مسحوق البذور الجافة، ثم ننقعها في حجم قدره 200مل من الإيثانول في حالة مستخلص الايثانولي والماء المقطر في حالة المستخلص المائي و140مل من الايثانول و60 مل من الماء المقطر في حالة مزيج الايثانول مع ماء مقطر ونقوم بتغطيتها بورق الألمنيوم، وثم توضع في جهاز المبخر الدوران (Rotavapeur)عند درجة حرارة 25°C وبعد 24 ساعة نقوم بعملية الترشيح والحصول على مستخلص خام [40].



الشكل2: مخطط يوضح مراحل الاستخلاص العام لمستخلصات النبتة.

ثم يتم وزن المستخلصات الناتجة لنتحصل على مردود الاستخلاص، حيث يقدر المردود بالعلاقة التالية:

المردود= (وزن المستخلص / وزن المادة الابتدائية) ×100

3. الاختبارات الفيتو كيمائية الأولية:

وهي جملة من الاختبارات وذلك لتحديد وحصر مختلف المواد الفعالة التي يحتويها النبات ونلخص مجمل هذه الاختبارات فيما يلي:

❖ **الكشف عن القلويدات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي او من مستخلص مزيج من الايثانول والماء المقطر و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Mayer ظهور راسب ابيض.[41]

❖ **الكشف عن القلويدات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي المقطر و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشفً Waynce negentظهور راسب احمر بني[41] .

❖ **الكشف عن القلويدات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Acide picriqueظهور راسب اصفر[42] .

❖ **الكشف عن التربينات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Terqene ظهور راسب بني على السطح [42].

❖ **الكشف عن الفينولية:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Fecl2 ظهور راسب اخضر غامق[43] .

❖ **الكشف عن الفينولية:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Acetate ظهور راسب ابيض كثيف[44] .

❖ **الكشف عن الفلافونيدات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف NaOH dilierظهور راسب اصفر بني[45] .

4. التقدير الكمي للفينولات الكلية للمستخلصات:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية (Singleton Rossi) 1965 وذلك باستعمال كاشف الفولين (Folin ciocalteu) حيث أن هذا يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات الي أكسيد التغنستين (WO_3) والموليبدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق [46] .

يتم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز طيف الاشعة الفوق بنفسجية والمرئية UV visible- باستعمال حمض الغاليك كمحلول قياسي عند الطول الموجي$\lambda max=760$ [46].

❖ **طريقة العمل**

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 1ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز0.1مل ونضيف له 0.5مل من كاشف الفولين Folin ciocalteu ثم نضيف له 2مل من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 بتركيز75% ونتركه في الظلام لمدة 30دقيقة فنتحصل على اللون الأزرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي = λmax 760nm

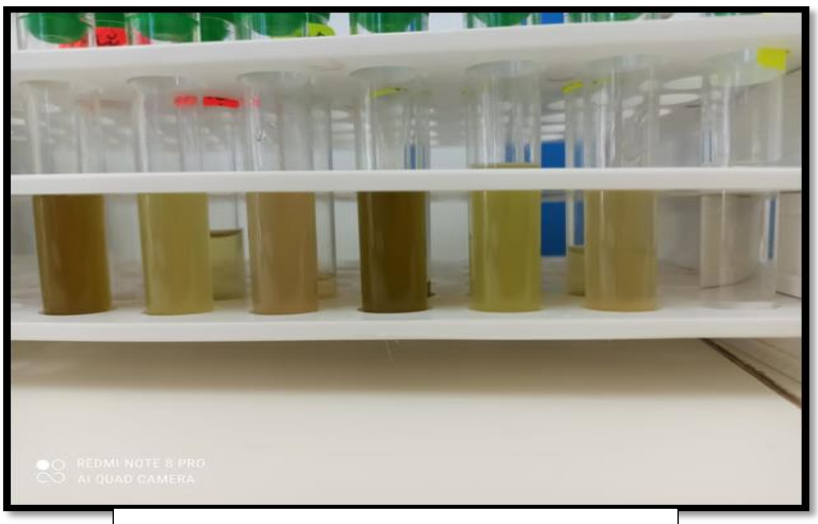
صورة (16): نتائج اختبار وكبات الفينولية

5. التقدير الكمي للفلانويدات الكلية للمستخلصات:

تمثل الفلافونيدات مجموعة كبيرة من المركبات الفبنولية، حيث يتم تحديد كمية الفلافونيدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الالمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا على طريقة Woisky and salation مع بعض التعديلات الطفيفة، ويمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH)الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل واورثوهيدركسي الموقع 5و3، كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثوهيدركسي، ذو معامل امتصاص عال. ويمتص عند طول موجه λmax=430 [47]

❖ **طريقة العمل**

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 0.1 ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز 1مل ونضيف له 1مل من محلول ثلاثي كلور الالمنيوم ($AlCl_3$)ذو تركيز 2%ونتركه في الظلام لمدة 30دقيقة فنتحصل على اللون الأصفر، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موج λmax = 430nm.



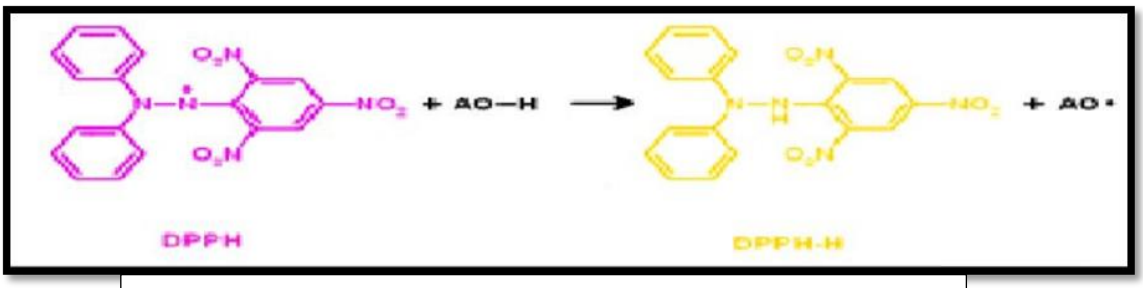
صورة (17): نتائج اختبار فلانويدات

III.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

1. اختبار DPPH

هو اختبار مضاد للجذور الحرة سبق تعريفها من 50سنة ماضية من طرف Blois سنة1958, هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المركبات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين أو إلكترون حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذرDPPH لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة و كفاءة المركبات من تثبيط الجذور، ويعتمد هذا الاختبار على قدرة المستخلص على أسر الجذر المستقر بعد مدة زمنية قدرها 30دقيقة، و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر.

يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمة IC50و هي تركيز المادة القادرة على تثبيط 50 % من جذر DPPH ويتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط(I %) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية [48]



الشكل 03: تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابت

❖ طريقة العمل

نقوم بتحضير محلول DPPH وذلك بإذابة 4 ملغ في 100مل من الميثانول نتحصل على محلول بنفسجي داكن يغلف بالألمنيوم ويحفظ في الظلام.

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات المخففة بالميثانول المحصور بين (10 مل\ملغ و0.3مل\ملغ) نأخذ 1مل من كل تركيز ونضعها في أنابيب اختبار ثم نقوم بإضافة كمية تقدر ب 1مل من محلول، DPPH نتركها في الظلام لمدة 30دقيقة ثم نقوم بقراءة الامتصاصية في جهاز الاشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-visible عند الطول الموجي المقدر بـ λ max=517 nm

ومن خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I % وذلك وفق العلاقة التالية:

$$\mathbf{I\%=(A_0-A_i \backslash A_0) \times 100}$$

في غياب المستخلص DPPH: امتصاصية: A_0

في وجود المستخلص بعد 30 دقيقة DPPHامتصاصية: A_i

ثم نقوم برسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز. I%=f (C)

صورة (18): نتائج اختبار DPPH

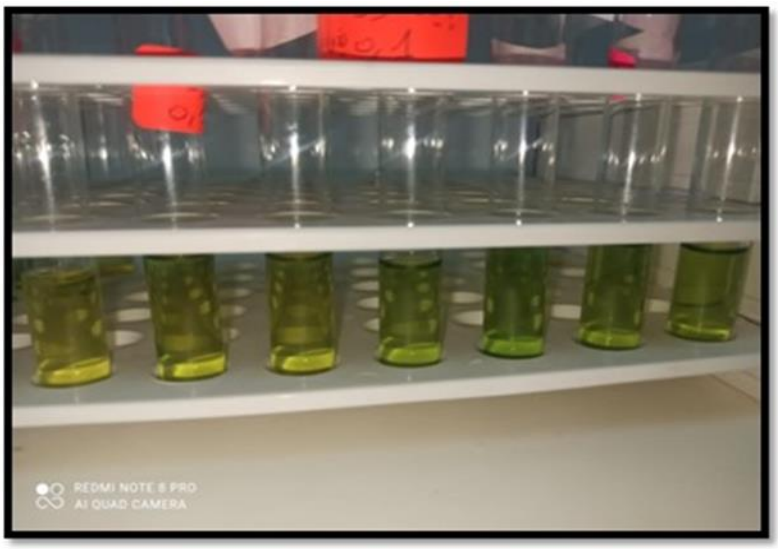
2. اختبار FRAP

اختبار (Ferric Reducing/AntioxydantPower) يدرس فعالية مضادات الأكسدة الارجاعية في تفاعل الارجاع اللوني، أي تدرس مدى قدرة المستخلصات كمثبطات لعملية الأكسدة.

❖ طريقة العمل

نأخذ في أنبوب اختبار 2.5 ml من كل محلول ممدد، نضيف 650ml من المحلول $K_3Fe(CN)_6$ (1%) ثم نضيف 650ml من محلول الفوسفات منظم (phosphate tampon) (pH=6.6) نضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 50°C بعدها نضيف 650ml من حمض ثلاثي كلورو أسيتيك TCA) (10% ثم نضعه في جهاز طرد المركزي عند 3000 دورة لمدة 10 دقائق ونأخذ 650ml من المحلول المحضر +650 ml من الماء المقطر+ 0.125ml من $FeCl_3$(0.1%) نحسب الامتصاصية عند طول موجة. λ max=700 nm.[49]

نقوم بنفس الخطوات مع حمض اسكوربيك بتركيز مختلفة المحصور بين (2مل \ملغ و0.02مل\ملغ) قصد مقارنة الفاعلية المضادة للجذور الحرة والأكسدة للعينات المدروسة مع حمضاسكوربيك.



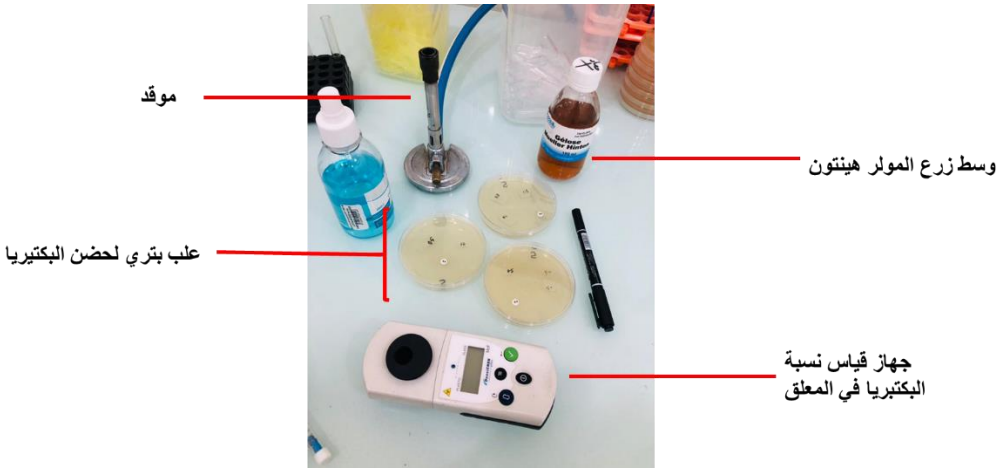
صورة (19): نتائج اختبارFRAP

3. فعالية مضادة للبكتيريا

تعد طريقة انتشار القرص المعيار الذهبي لتأكيد حساسية البكتيريا. وقد تم إدخال انتشار القرص الموحد من خلال تجارب باور وكيربي عام 1956 [50، 51].

اختبار انتشار الآبار:

تم تحديد الاختبار المضاد للبكتيريا للمركب باستخدام طريقة انتشار الآبار (WD) ضد أربعة أنواع من البكتيريا، وهي الباسيلس جوني Bacillus subtilis ATCC 25973، والزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853، والمكورات الذهبية Staphylococcus aureus ATCC 25923، والاشريكية القولونية Escherichia coli ATCC 25922. أعدت العينة بتركيز (100، 50، 25، و12.5 ملجم/مل) في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO). تم استخدام وسط أغار مولر–هينتون. تمت زراعة البكتيريا على وسائط الأجار وحضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. تم خلط المحاصيل البكتيرية مع محلول كلوريد الصوديوم 9٪ وتم مقارنة العكارة بمعيار عكارة ماكفارلاند 0.5 (10 ^ 8 وحدة تشكيل مستعمرة / مل). بعد ذلك، صُب الأجار فوق أطباق بتري وتم تسويا تعليق البكتيريا على الأجار. تم وضع 60 ميكرولتر من المركب في آبار بقطر 6 مم، والتي تم وضعها في الأجار الملقح بالسلالة البكتيرية. ثم تم حضان اللوحات عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة. تم استعمال المضاد. تمثل منطقة التثبيط الفعل المضاد للبكتيريا.



صورة (20): الأدوات المستعملة في تجربة قياس تأثير المستخلص على عدة انواع من البكتيريا

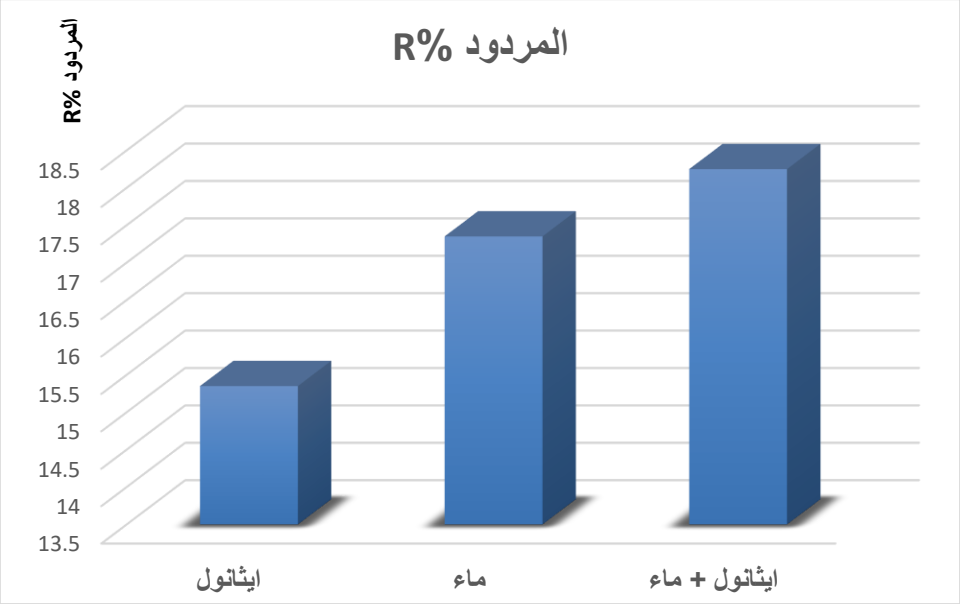
الفصل الثاني:

النتائج والمناقشة

I. النتائج والمناقشة

1. حساب المردود لمستخلصات النبات:

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود بـ (%) والنتائج مدونة في الشكل (4):



الشكل 4: مردود المستخلص المائي والايثانولي ومزيج ماء مقطر والايثانول لبذور نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

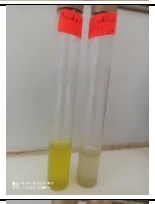
جدول (02): يوضح نتائج مردود مستخلصات لنذور نبات الحسك

مستخلصات النبتة المدروسة	المردود%
ايثانولي	15
مائي	17
ماء+ايثانول	18.55

أظهر الشكل 4 والجدول (02) ان مردود المستخلص الماء +ايثانول تمتلك المردود الأعلى بنسبة % 18.55يليها المستخلص المائي مردود بنسبة % 17 أما المستخلص الايثانولي بمردود اقل نسبته 15%.

يرتبط اختلاف نسبة المردود الاستخلاص بقطبية المحلول ونوعيته الذي يحدد كمية المركبات المستخلصة وهذا ما أثبتها العديد من الدراسات التي بينت أن المحاليل القطبية من أكثر وأحسن الأنظمة استعمالا للاستخلاص، ان وقت الاستخلاص ودرجة الحرارة ونسبة العينة بالنسبة للمحلول والتركيب الكيميائي للنبات لها دور مهم في عملية الاستخلاص .[52].

الجدول (03): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصين لبذور نبات الحسك

مركبات الايض الثانوية	مستخلص مائي	مستخلص الايثانولي	ملاحظة
القلويدات			تشكل راسب ابيض في مستخلص الايثانولي ولم يتشكل في مستخلص المائي
القلويدات			تشكل راسب احمر بني في مستخلص مائي والايثانولي
القلويدات			تشكل راسب اصفر في مستخلص مائي والايثانولي
التربينات			تشكل راسب بني على السطح في مستخلص مائي والايثانولي
الفينولات			تشكل لون ابيض كثيف في مستخلص مائي والايثانولي
الفينولات			تشكل لون اخضر غامق في مستخلص مائي والايثانولي
الفلافونيدات			تشكل لون اصفر بني في مستخلص مائي وفي مستخلص الايثانولي

الجدول (4): النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك

مركبات الايض الثانوية	مستخلص مائي	مستخلص ايثانولي
القلويدات	+	–
القلويدات	+++	+++
القلويدات	+	+
التربينات	++	+
الفينولية	+++	++
الفينولية	+++	+++
الفلافونيدات	+++	+++

(+): وجود مادة فعالة (كلما زادت زاد التواجد)

(–): عدم وجود مادة فعالة

من خلال نتائج الجدولين (3)(4) يتضح لنا ان المستخلص المائي يحتوي على نسبة عالية من التربينات الفلافونيدات والقلويدات بثلاثة كواشف مختلفة لتأكد من ذلك والفينولية بكاشفين مختلفين لتأكد من ذلك.

اما بالنسبة من مستخلص الايثانولي فنلاحظ تواجد كمية من القلويدات وكمية عالية من التربينات وكمية من الفينولية وكمية عالية من وجود الفلافونيدات.

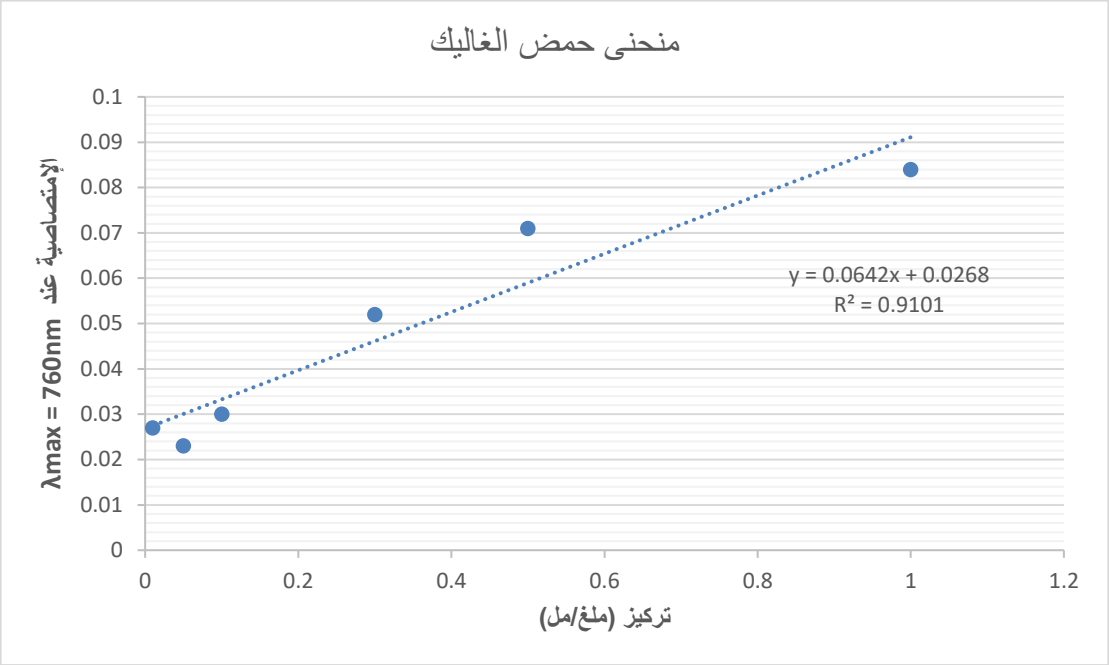
ان وجود القلويدات ضروري لنبات فهي مثابة مخزنة احتياطي لعنصر النيتروجين لإمداده به وقت الحاجة اليه وعند نقصه بالتربة لها دور دفاعي فهي تستعمل كمنظمات للنمو وبهذا نفسر تواجدها في نبات الحسك [53]

نفسر وجود التانينات في النبات كونها مركبات يستعملها النبات استعداد في مرحلة الازدهار نظرا لرائحتها الجاذبة للحشرات بهدف مساعدة النبات في عملية التلقيح[54]

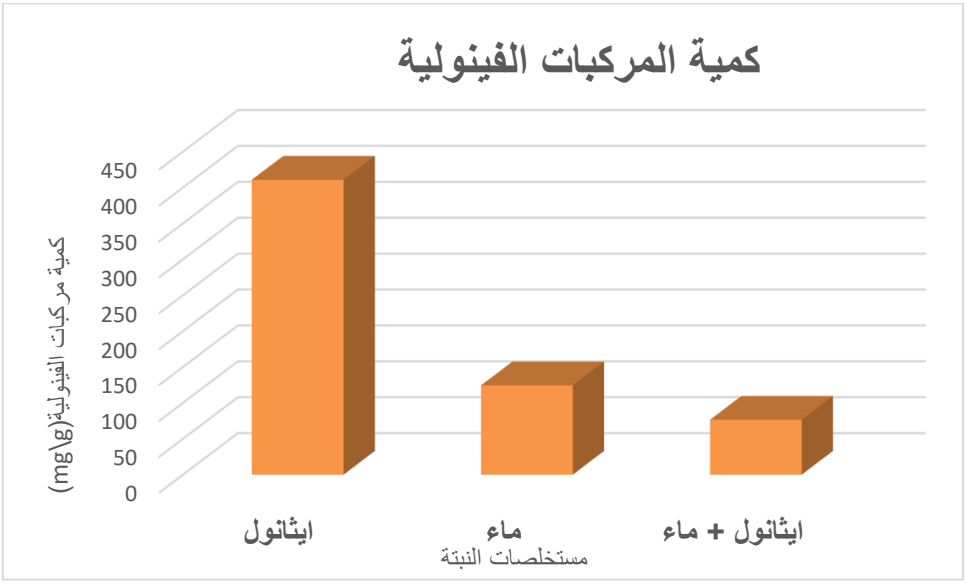
2. التقدير الكمي للمركبات الفينولية

2-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)

قدرت كمية المحتوى الفينولي باستعمال معادلة دالة خطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الايثانول، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية للمستخلصات المائي والايثانولي ومزيج ماء والايثانول بالميليغرام (mg) على أساس الحمض الغاليك المكافئ \غرام(g)من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (5): المنحنى القياسي لحمض الغاليك كمرجع لفينولات



الشكل (6): كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي والايثانولي ومزيج الماء والايثانول لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من وزن المستخلص الجاف

الجدول (5): كمية مركبات الفينولية في المستخلصات النبتة المدروسة

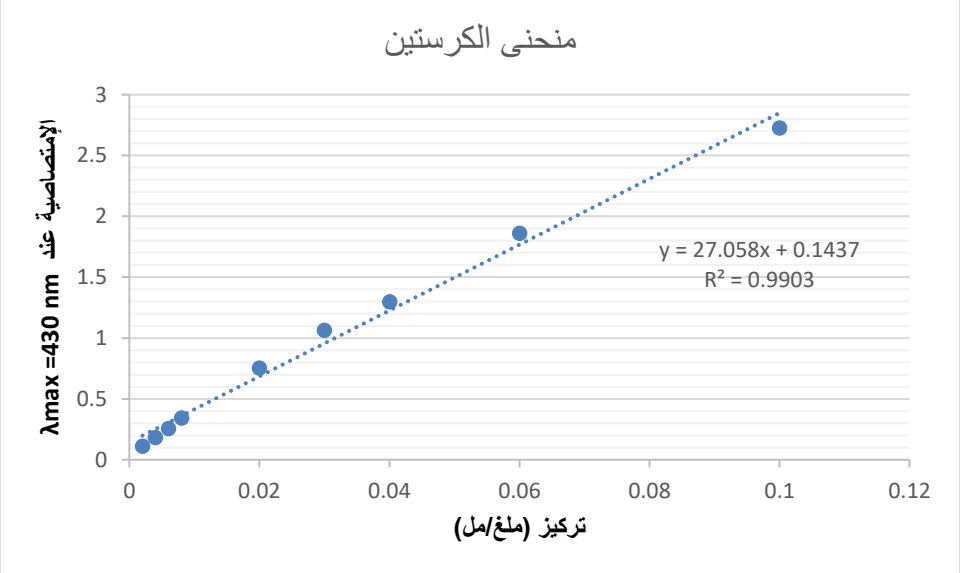
مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات الفينولية (EqAG mg/g)
ايثانول	410.8
ماء	124.5
ايثانول + ماء	76.6

من خلال الشكل (5) والجدول (5) نلاحظ ان هناك اختلاف في كمية المركبات الفينولية حيث في المستخلص الاثيانولي كانت اكبر قيمة قدرة ب (EqAG mg/g) 410.8 وفي مستخلص ايثانول +ماء قدرة ب EqAG (mg/g) 76.6. وفي مستخلص المائي قدرة ب (EqAG mg/g) 5. 124.

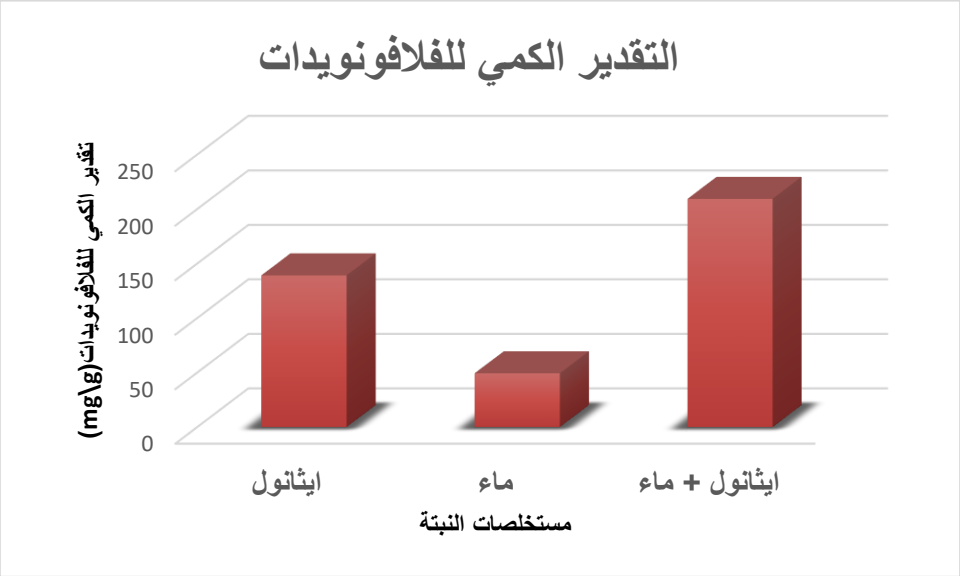
نفسر الاختلاف الملاحظ في كمية الفينولات الكلية إلى قطبية مختلف هذه المركبات المتواجد في النبات [55]

2-2- التقدير الكمي للفلافونويدات(FV)

قدرة كمية الفلافونيدات باستعمال حمض قياسي للكريستين في الايثانول حيث حسبت كمية الفلافونويدات للمستخلصات المائي والايثانولي ومزيج ماء والايثانول بالمليغرام (mg) على أساس حمض الكرستين المكافئ /غرام (g) من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (7): منحنى قياسي لحمض الكرستين كمرجع للفلافونويدات.



الشكل (8): كمية المركبات الفلافونويدات لمستخلصات النبتة المدروسة

الجدول (6): كمية المركبات الفلافونيدات لنبتة المدروسة

مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات الفلافونويدية (EqQr mg/g)
ايثانول	139.07
ماء	49.26
ايثانول + ماء	209.29

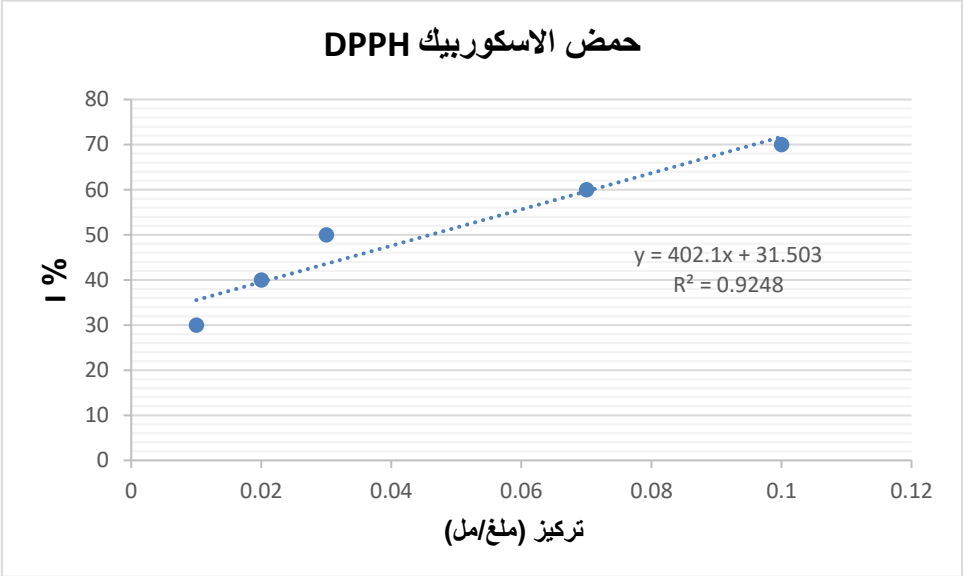
من خلال الشكل (8) والجدول (6) نلاحظ ان هناك اختلاف في كمية المركبات الفلافونيدات حيث في المستخلص الماء+ ايثانول كانت أكبر قيمة حيث قدرة ب (EqQr mg/g) 209.29 وفي مستخلص ايثانول قدرة ب (EqQr mg/g) 139.07وفي مستخلص مائي قدرة ب(EqQr mg/g)49.26.

يعزي اختلاف في كمية الفلافونيدات الى طريقة الاستخلاص ودرجة الحرارة ومدة الاستخلاص ونوع المذيب المستعمل [56]

3. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

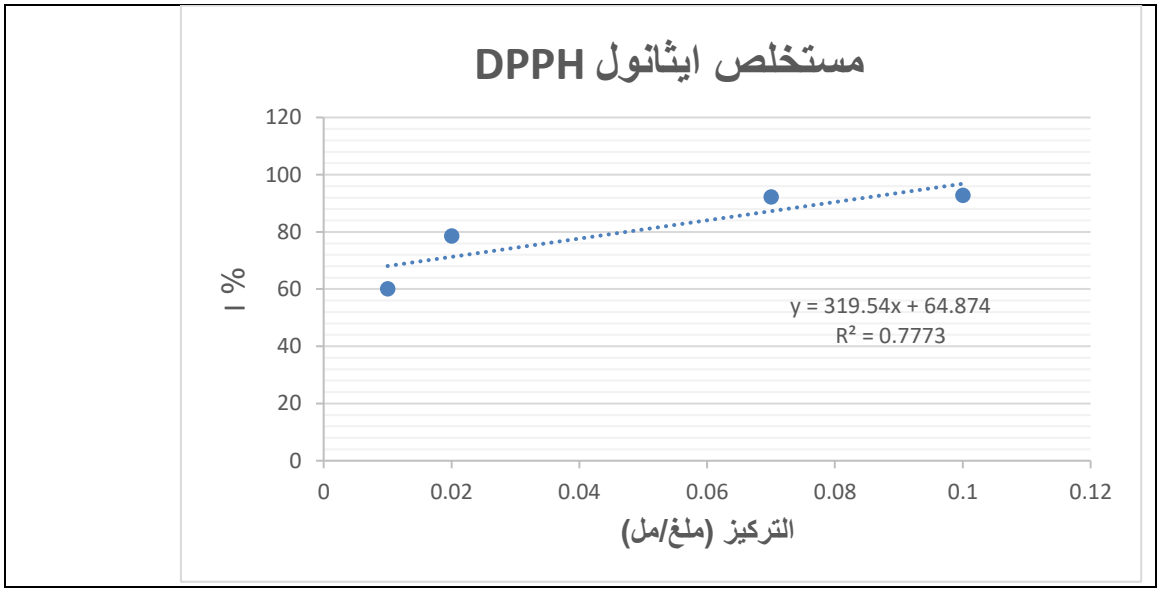
3-1- نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH

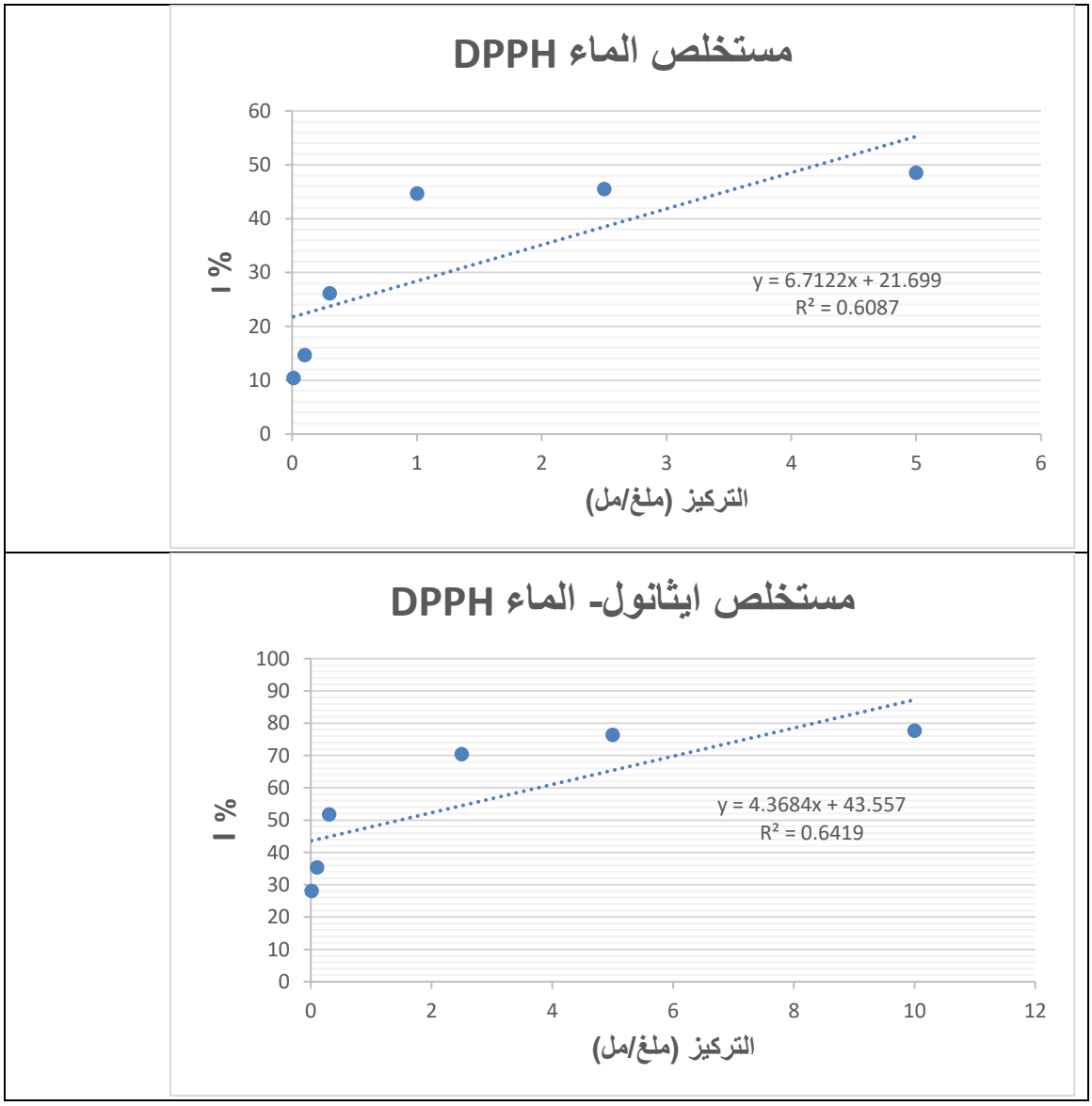
تم تقدير نشاطية المستخلصات النباتية المضادة لجذر DPPH ومقارنتها بنشاطية حمض الاسكوربيك باعتباره مركبا قياسيا، وذلك بحساب IC_{50} بعد رسم المنحنى البياني للنشاطية المضادة للأكسدة بدلالة التركيز، ومنه نستخرج المعادلة وقيمة، R^2 ويتم تعويض قيمة Y بـ 50واستخراج قيمة Xوهي التي تمثلIC_{50} .



الشكل (9): منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك كمرجع ل DPPH

3-2- منحنيات DPPHمستخلص الميثانولي ومستخلص مائي ومستخلص المزيج (ميثانول+ماء)

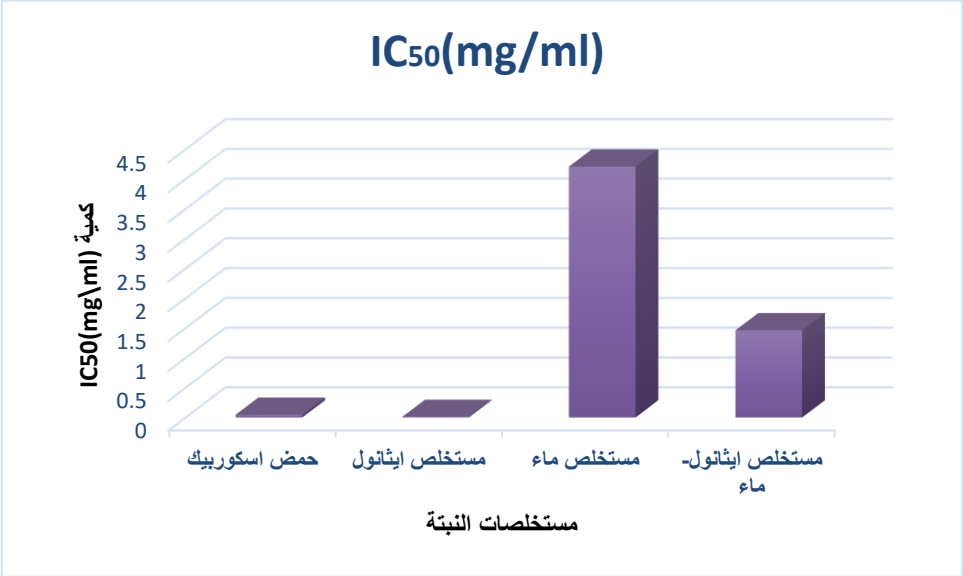




الشكل (10): منحنيات اختبار DPPH للعينات المدروسة

الجدول (7): يمثل نتائج قيم IC50للعينات المدروسة

العينة	معادلة المستقيم	IC50 (mg/ml)
حمض اسكوربيك	y = 402.1x + 31.503	0.046
مستخلص ايثانول	y = 319.54x + 44.874	0.01
مستخلص ماء	y = 6.7122x + 21.699	4.21
مستخلص ايثانول–ماء	y = 4.368x + 43.605	1.464



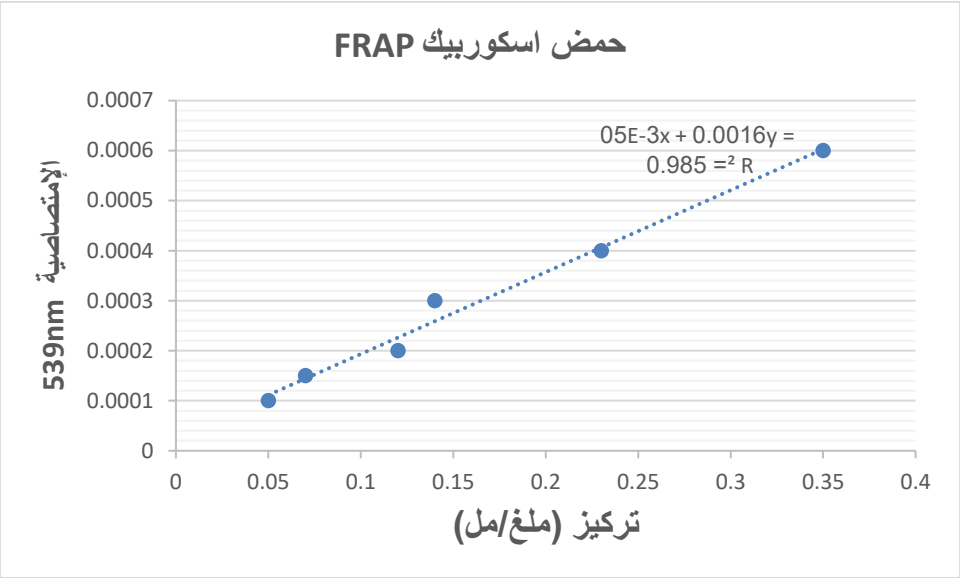
الشكل (11): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار DPPHللعينات المدروسة

من خلال قيم IC50المثبطة للجذر الحر DPPH في المستخلص لبذور نبات الحسك المتمثلة في الشكل (11)، حيث نجد ان مستخلص مائي أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر DPPH اذ قدرت قيمة IC ب(mg/ml) 4.21 بينما قدرت قيمة IC50 في المستخلص ماء+ايثانول ب(mg/ml) 1.464وفي مستخلص الايثانولي قدرت ب .0.01(mg/ml)

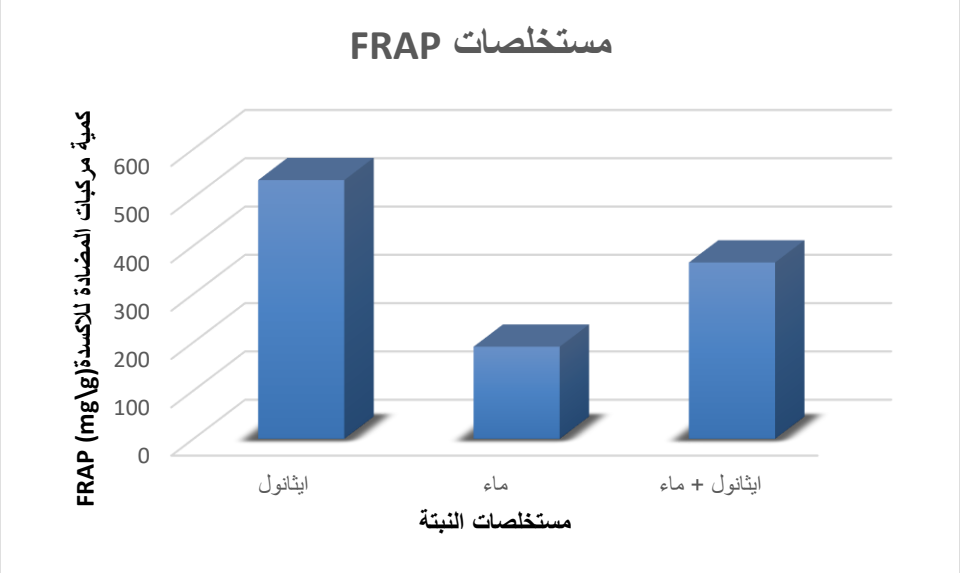
يعزي هذا التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات للكمية المعتبرة للمركبات الفينولية الفلافونويدات التي يحتويها المستخلصات، فقد أكدت دراسات عديدة أن هناك ارتباط وثيق بين المحتوي الفينولي الفلافونويدات والتأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية[57]

تعتبر الفينولات كعوامل مرجعية، ومعطية للهيدروجين وكاسرات للأكسجين الأحادي وهي عبارة عن مانحات جيد للإلكترونات [58]

3-3- نتائج اختبار FRAP



الشكل (12): منحنى قياسي لحمض اسكوربيك كمرجع ل FRAP



الشكل (13): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار FRAPللعينات المدروسة

الجدول(8) : يمثل نتائج اختبار FRAP

مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات المضادة للاكسدة (EqAG mg/g)
ايثانول	535.62
ماء	190.62
ايثانول + ماء	365

من خلال الشكل (13) والجدول (8) نلاحظ ان المستخلص ايثانول+ماء ذات فعالية عالية حيث قدرت ب (EqAG mg/g) 365 ومستخلص الايثانولي قدرت ب (EqAG mg/g) 535.62 ومستخلص مائي قدرت ب(EqAG mg/g) 190.62.

يمكن تفسير هذه التباين في النتائج لبنية الجزيئات وطبيعة الوسط الذي اجري فيه الاختبار

4. نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا

الجدول (9): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص مائي.

	النشاط المضاد للميكروبات				
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
Escherichia coli ATCC 25922	**10**	NI	NI	NI	32
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	NI	NI	NI	NI	28
Bacillus subtilis ATCC 25973	NI	NI	NI	NI	27
Staphylococcus aureus ATCC 25932	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	**12**	NI	NI	NI	/

NI = لا يوجد تثبيط= CN أقراص الجنتاميسين 30 (CN)ميكروغرام

من خلال الجدول (9) نلاحظ ان مستخلص المائي أعطت قيم تثبيطية متوسط مع البعض سلالات البكتيرية المختبرة ولم يعطي أي تثبيط مع البعض الاخر.

حيث عند Escherichia coli ATCC 25922: نلاحظ عند تركيز120 mg/ml يقدر قطرها 10وغير تثبيطية وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

عند Candida albicans ATCC 10231: نلاحظ عند تركيز 120mg/mlيقدر قدرها متوسط 12وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

اما بالنسبة للبكتيريا الأخرى لم تظهر اقطار تثبيطية عند مختلف التراكيز.

الجدول (10): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الايثانولي

	النشاط المضاد للميكروبات				
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
Escherichia coli ATCC 25922	NI	NI	NI	NI	32
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	NI	NI	NI	NI	28
Bacillus subtilis ATCC 25973	NI	NI	NI	NI	27
Staphylococcus aureus ATCC 25932	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	NI	NI	NI	NI	/

ميكروغرام 30 (CN) أقراص الجنتاميسين = CN لا يوجد تثبيط = NI

من خلال الجدول (10): لا يوجد أي نوع من البكتيريا في مستخلص الايثانولي في مختلف الأقطار وبتراكيز مختلفة.

الجدول (11): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص ماء +ايثانول

	النشاط المضاد للميكروبات				
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
Escherichia coli ATCC 25922	NI	NI	NI	NI	32
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	NI	NI	NI	NI	28
Bacillus subtilis ATCC 25973	10	NI	NI	NI	27
Staphylococcus aureus ATCC 25932	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	NI	NI	NI	NI	/

= NIلا يوجد تثبيط= CN أقراص الجنتاميسين 30 (CN)ميكروغرام

من خلال الجدول (11): نلاحظ ان مستخلص الماء +ايثانول أعطت قيم تثبيطية متوسط مع البعض سلالات البكتيرية المختبرة ولم يعطي أي تثبيط مع البعض الاخر

حيث نلاحظ ظهور بكتيريا Bacillus subtilis ATCC 25973 عند تركيز 120mg/ml يقدر قطرها 10 وعدم ظهورها في مختلف التراكيز الأخرى.

اما بالنسبة للبكتيريا الأخرى لم تظهر اقطار تثبيطية عند مختلف التراكيز.

خاتمة

الخاتمة

وفي الأخير يمكن القول ان النباتات محل اهتمام الإنسان منذ القدم، حيث تؤكد منظمة الصحة العالمية أن حوالي 80% من سكان العالم خاصة في البلدان النامية يعتمدون على النباتات من أجل الرعاية الصحية وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة طبيعية تختلف فيما بينها في البنية والتأثيرات البيولوجية وكذلك آليات التأثير، وتعتبر عديدات الفينول وخاصة الفلافونيدات ذات تأثيرات مزيحة للجذور الحرة ومضادة للأكسدة.

وفي دراستنا هذه قمنا بدراسة أحد النباتات من العائلة الرطراطية هو الحسك *Tribulus terrestris L*

وهذا لما تتضمنه الدراسة من أهمية كبيرة في كون أن هذا النبات من الناحية الفيتوكيميائية فقمنا بإجراء مسح فيتوكيميائي أولي للتعرف على مختلف المواد الفعالة المتواجدة به،

ان مردود مستخلص ماء+ايثانول قدرت ب 18.55 % أكبر من مستخلص مائي حيث قدرت ب 17% ومستخلص الايثانولي قدرت ب 15%.

وان مستخلص بذور نبات الحسك غني بعديدات الفينولات الفلافونيدات.

وتم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستعمال اختبار DPPH واختبار FRAP حيث كانت نسبة ايثانول صغيرة حيث قدرت ب(mg\ml) 0.01 بمقارنة مع مستخلص مائي حيث قدرت ب(mg\ml)4.21 ومستخلص الايثانول+ماء حيث قدرت ب(mg\ml) 1.464هذا بالنسبة اختبار DPPHوبالنسبة الى اختبار FRAP كان مستخلص الايثانولي حيث قدرت ب (EqAG mg\g) 535.62له فعالية أكثر بمقارنة من نستخلص مائي حيث قدرت ب (EqAG mg\g) 190.62 ومستخلص الايثانول +ماء حيث قدرت ب (EqAG mg\g) .365

وعند دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا حيث تم اختبار خمس سلالات من البكتيريا عند تراكيز مختلفة حيث في مستخلص الايثانولي عدم ظهور البكتيريا عند مختلف التراكيز وعند مستخلصين الايثانولي ومائي ظهور نوعين من البكتيريا عند تركز واحد فقط وعند مستخلص الماء +ايثانول ظهور نواع واحد من بكتيريا عند تركيز واحد فقط.

في الأخير نرجو أن نكون قد وفقنا في انجاز هذا البحث والمساهمة ولو بقليل في إثراء الرصيد البحثي بخصوص النباتات الجزائرية بصفة عامة والصحراوية بصفة خاصة.

التطلعات المستقبلية:

التطبيق الميداني للمستخلصات لبذور نبات انضمت تخصصات أخرى مكملة وابحاث ودارسات تشمل:

- اخضاع مستخلصات لاختبار انعدام السمية حتى نحتاط من كيفية استعمالها والعلاج بها من طرف الانسان لأمراض مختلفة.
- توسيع دائرة هذا البحث على مستخلصات بإجراء اختبارات الفيزيولوجية على الكائنات الحية ثم تعميمها أكثر فأكثر حتى تشمل الانسان.
- التحليل النوعي والكمي للمستخلصات باستعمال طرق وتقنيات أكثر حداثة والبحث عن المركبات النشطة وفصلها ومن بعدها تحديد الصيغ الكيميائية لها ودراسة تأثيرها.
- اختبار فعالية المضادة للأكسدة باستعمال طرق تقديرية أخرى من اجل إمكانية استعمال مستخلصات كمصدر طبيعي مضاد للأكسدة سهل وصول اليه وذالك لحماية الأغذية من الاكسدة لزيادة عمر تخزينها مثلا.
- ان الا تتوقف هذه الدراسة بل نقترح مواصلة هذا العمل الى دراسة تأثير المستخلصات، وكذالك دراسة جل أجزاء النبات.

قائمة المصادر
والمراجع

قائمة المصادر والمراجع باللغة العربية

[1]العابد إ ، 2009, دراسة الفعالية المضادة لأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران traganum nudatum مذكرة ماجستير كيمياء عضوية تطبيقية، جامعة قصدي مرباح، ص 106-103

[2] حليس يوسف،2007, الموسوعة النباتية لمنطقة سوف النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار النشر المنطقة الصناعية كويينن ولاية الوادي. مطبعة الوليد ص 212.76.82.248

[3] قعري فاطمة الزهراء و اخرون ،جرد النباتات الطبية في شمال منقطة وادي سوف، مذكرة لنيل شهادة ماستر اكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، كلية علوم الطبيعة والحياة، قسم البيولوجيا ،2021،ص19.

[11] محمد احمد ع.، 1997 – النباتات السعودية المستعملة في الطب الشعبي. إدارة البحث العلمي، مرتبة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية،الرياض، 354 ص.

[13] محمد طه م.،مثنى ج.، 2008 – فصل المركبات القلويدية من ثمار نبات القطب *Tribulus terrestris L* ودراسة تأثرها البايولوجي في نمو عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام، جامعة الموصل، العراق، 5ص.

[26] آمنة تامة، نصيرة بن عمارة، دراسة بيولوجية وفيتو كيميائية لنبات الحسك Tribulus terrestris L, مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، كلية علوم الطبيعة والحياة، قسم البيولوجيا, 2017م، ص 39

[27] نورة بن شنة, استخلاص الفينولات و الفلافونيدات من بذور نبات armenica Pronus ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة, مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, كلية الرياضيات وعلوم المادة, قسم الكيمياء, 2020م, ص 09

[28] آمنة تامة, نصيرة بن عمارة, دراسة بيولوجية و فيتوكيميائية لنبات الحسك Tribulus terrestris L, مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي, جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي, كلية علوم الطبيعة والحياة, قسم البيولوجيا, 2017م, ص 17

[29] بن ساسي شيماء, تقييم الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة, أطروحة لنيل شهادة الدكتوراه, جامعة قاصدي مرابح ورقلة, كلية الرياضيات وعلوم المادة, قسم الكيمياء, 2018م, ص 25

[30] شباح كوثر, فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتة (Degla beida) Phoenix dactylifera, مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير, جامعة منتوري, قسنطينة, كلية العلوم, قسم الكيمياء, 2007م, ص 22

[31] ميثاق الجبر, بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات edulis Catha من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا jaubertii Pulicaria من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية, رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه, جامعة منتوري, قسنطينة, كلية العلوم الدقيقة, قسم الكيمياء, 2010م, ص 53

[32] حوة ابراهيم, دراسة الفاعلية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفاعلية ضد الأكسدة, مذكرة لنيل شهادة الماجستير, جامعة قاصدي مرباح, ورقلة, كلية العلوم والتكنولوجيا وعلوم المادة, قسم علوم المادة, 2013, ص54.

[33] عاد منى, حوري مسعودة, تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لـ نبات Helianthemum Lippii (L) Pers, مذكرة لنيل شهادة الماستر, جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي- , كلية العلوم الدقيقة, قسم الكيمياء, 2020, ص 37

[34] بن عربية عبدالله, دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء Inermis Lawsonia لولاية أدرار, مذكرة لنيل شهادة الماستر, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, كلية العلوم والتكنولوجيا وعلوم المادة, قسم علوم المادة, 2013, ص 27.

[35] بكه شهرزاد و حفيان خولة, الدراسة الفيتوكيميائية والفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة Zygophyllum gaetulum, مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, كلية الرياضيات و علوم المادة, قسم الكيمياء, 2016, ص 19

[36] آمنة تامة, نصيرة بن عمارة, دراسة بيولوجية و فيتوكيميائية لنبات الحسك Tribulus terrestris L, مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي, جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي, كلية علوم الطبيعة والحياة, قسم البيولوجيا, 2017م, ص 25

[37] عبد الرحيم بن سلامة, النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق L cheirifolia Hertia, مذكرة لنيل شهادة الماجيستير, جامعة فرحات عباس – سطيف–, كلية علوم الطبيعة والحياة, قسم البيوكيمياء, 2012, ص 05.

[38] كريبع لطيفة, التقدير المخبري للنشاطية المضادة للأكسدة والجذور الحرة لبعض مركبات الثنائي ثيول الحلقي و الفينولية, مذكرة ماستر, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, كلية العلوم والتكنولوجيا وعلوم المادة, قسم علوم المادة, 2013, ص17

[39] بالقط خولة, سباع نجوى, دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في مستخلص الكحولي والمائي عند نبات (Plantago albicans L), مذكرة لنيل شهادة الماستر, جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي, كلبة علوم الطبيعة والحياة, قسم البيولوجيا, 2015, ص 26

[44] نعمه ج, أبو مجددا, جبر م.،2007, تقييم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر Ziziphus *spina- Christi* (L) Deaf .مجلة البصرة للعلوم (ب)، مجلد (25) ،العدد(1) ،1-16.

[48] بن عربية ع،2013_ دراسة فعالية المضادة للأكسدة لنبات الاحناء Lawsonia Inermis لولاية ادرار, مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 54ص.

[49] ربيعي عبد الكريم، "المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية،" مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،2010

[53] العابد ا.،2009–دراسة الفالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* .مذكرة ماجستير ،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص105

قائمة المصادر والمراجع باللغة الأجنبية:

[4] Nasroallah M., Jalal B. Z., Moradi kor Z. Physiological and pharmaceutical effects of Tribulus Terrestris as Multipurpose and Valuable Medicinal Plant. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research, vol. 1, 2013, p562

[5] Elise J, contribution a l'étude tribulus terrestris. diplôme d'état de docteur en pharmacie. universite henri poincare, nanc,2002 p 79.

[6] Jalpa R., Pooja M., Sumitra Ch- Phytochemical screening and reported biological activities of some medicinal plants of Gujarat region. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, vol.4(2), 2015. 192-198p.

[7] Deole YS., Chavan SS., Ashok BK., Ravishankar B., Thakar AB., Chandola HM., Evaluation of anti-depressant and anxiolytic activity of Rasayana Ghana Tablet (Acompound Ayurvedic formulation) in albino mice. Ayu, Vol 32.(3), 2011, P 9.

[8]Anita P., Bipin D., Lade., Pharmacological Aspects of Tribulus terrestris Linn. (Goksura): Progress and Therapeutic Medicinal Plants: From Lab to the Market. University Amravati India Prospects, 2015, p 376-391

[9] Sepide M.,2016. Tribulus terrestris : Chemistry and pharmacological properties. Der Pharma Chemica, vol. 8. (17).142-147p.

[10] Saima H., Tamana B., Khan., Asad J.,2014. Medicinal properties, phytochemistry and pharmacology of *Tribulus Terrestris* L. (Zygophyllaceae) .pak. j. bot, vol .46. (1). 399-404p.

[12] Donaldson S., Dawn R.,2011- Identification and Management of Puncturevine (*Tribulus terrestris* L). University of Nevada, Cooperative Extension Fact Sheet, Vol .3.34p.

[14] Yanala S.R., Sathyanarayana D., Kannan K.,2016 - A Recentm Phytochemical Review – Fruits of *Tribulus Terrestris* Linn.Journal of pharmaceutical sciences and Research, Vol. 8. (3). 132-140p.

[15] Gosavi r., Sameer M., Tejashree S., Tikes.,2014 –Pharmacognostical Evaluation of Gokshura (*Tribulus Terrestris* linn). An international peer reviewed ayurved Journal., Vol.2. ISSUES: 4.6p.

[16] Nasroallah M., Jalal B. Z., Moradi kor Z., 2013.Physiological and pharmaceutical effects of Tribulus Terrestris as Multipurpose and Valuable Medicinal Plant. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research,vol. 1. Issue 5.556-562p.

[17] Raja M., Venkataraman R., 2011- Pharmacognostical studies on *Tribulus Terrestris* and *Tribulus Alatus*. Der Pharmacia Sinica, vol. 2. (4): 136-139p.16- Abirami P., A. Rajendran.,2011- GC-MS Analysis of *Tribulus terrestris* L.Asian Journal of Plant Science and Research, Vol.1. 4.13-16P.

[19] Mamdouh S., Mokhtar M., Bishr A., Mohamed S., 2016 - A review of non-steroidal phytoconstituents of Tribulus Terrestris international journal of pharmacognosy vol. 3(5). 212-216p.

[20] Deole YS., Chavan SS., Ashok BK., Ravishankar B., Thakar AB., Chandola HM.,2011- Evaluation of anti-depressant and anxiolytic activity

of Rasayana Ghana Tablet (Acompound Ayurvedic formulation) in albino mice. Ayu, Vol 32. (3). 9P.

[21] Ghazala S., Irshad A., Khan U., Naveed A., Mukhtiar A., Sabira S.,Akram M., 2012- Monograph of Tribulus terrestris. Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 6. (5). 641-644p.

[22] Sepide M.,2016. *Tribulus terrestris*: Chemistry and pharmacological properties. Der Pharma Chemica, vol. 8. (17).142-147p.

[23] Zhang., Yong-Bing cao., Zheng XU., A Hui-Hua S.,Mao-Mao an, A Lan Y.,2005 -In Vitro and in Vivo Antifungal Activities of the Eight Steroid Saponins from Tribulus Terrestris L. with Potent Activity against Fluconazole-Resistant Fungal Jun-Dong Biol. Pharm,Bull, vol.28.(12).2211-2215p.

[40] REBIAI A., LANEZ T., BELFAR M., 2014– Total 58igure58nols contents,radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis.Academic science. 6:396-400.

[41] Azzi R.,2013 – Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dansle -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéteethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de 58igure *Ficus carica* et de coloquinte(*Citrullus colocynthis*) chez le rat wister.these doctrorat en biologie , Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,169p

[42] Trease E., Evans W., 1987- A textbook of Pharmacognosy Bacilluere Tinal Ltd, London. 13 th Edition. 62P.

[43] Kissoum A., Khalfaoui K. (2015). Evaluation phytochimique et étude des activitésbiologiquesd'une plante médicinale Algérienn (Foeniculumvulgare). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplômede Maste.34-35p

[45] S. Asadi. E. al, "In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: a comparative study," Food and chemical toxicology, vol. 48(5), pp. 1341-1349, 2010.
[46] J. Ito. Et al, "Anti-AIDS agents. 48. 1 Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferonerelated triterpenoid isolated from Brazilian propolis," Journal of Natural Products, vol. 64(10), pp. 1278- 1281, 2001
[47] J. Zhishen. Et. Al, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals," *Food chemistry,* vol. 64(4), pp. 555-559, 1999.
[50] Bauer, A., et al., turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology, 1966. 45(4): p. 493.
[51] Bauer, A.W., D.M. Perry, and W.M. Kirby, Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci. Journal of the American Medical Association, 1960. 173(5): p. 475-480.

in plants, fruit and vegetables. *J Chromatogr A*, 1000: 657-691

[54] Messai L., 2011- Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est

Algerien (*Artemisia herba alba*). thèse de Doctorat Chimie Organique, Option Phytochimie, Universite Mentouri Constantine, Algérie, p:118.

[55] Wojcikowski K., Stevenson L., Leach D., Wohlmuth H., Gobe G., 2007-

Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. *J Alt* Compl Med, vol.13: 103–110p.

[56] Khoddami A., Wilkes MA., Roberts TH., 2013-Techniques for Analysis

of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*,18: 2328-2375

[57] Nowak R., Gawlik-Dziki U., 2007 - Polyphenols of Rosa L. leaves

extracts and their radical scavenging activity. *Z. Naturforsch*. 62: 32-38P

[58] Rice-Evans CA., Miller NJ., Paganga G., 1997- Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci, 2: 152-159.