الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي-

كلية العلوم الدقيقة

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

شعبة: الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

إعداد الطالبتين:

زواد الهام

بوهلال امال

الموضوع

محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبيArtemisia absinthium المزروعة في تقرت

نوقشت بتاريخ: 16 /2022/06

امام لجنة المناقشة:

زواري احمد رشيدة	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–	رئيسا .
نموسة يحي تجاني	أستاذ محاضر ب	جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–	مناقشا .
سكينة تجاني	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–	مؤطر .

السنة الجامعية: 2022/2021.

إهـــداء

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك، ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ، ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ولا تطيب الاخرة إلا بعفوك ، و تطيب الجنة إلا برؤيتك لك الشكر والحمد حمدا كثيرا كما ينبغ لجلال وجهه وعظيم سلطانه الشكر أولا و أخيرا لله سبحانه وتعالى على إمدادي بالقوة والعزيمة لإتمام و إنجاز هذا البحث

أما بعد: اهدي ثمرة جهدي ودراستي طيلة سنوات مضت إلى:

من كانت ولا تزال دعوتها تملأ الكون نورا لي ويضئ لي طريق الحياة

صاحبة القلب الكبير الذي يفيض حبا وحنانا مدرسة الحب والإخلاص

.....أمي الحنونة.....

أطال الله عمرها.

إلى من دفع بي إلى منعرج العلم والمعرفة وكافح من

أجل تربيتي وتعليمي

.....أبي العزيز.....

أطال الله عمره.

الى كل عائلتي و امي ثانية منى واخوتي حيدر , هديل , وائل , اشرف والى اختي و نصفي الثاني صديقة عمري ربيعة بوتلي . و الى من كانت سندا لي في حياتي اميرة حفري

والى صديقتي راضية بن لهزيل التي كانت نقطة قوتي في وقت ضعفي

إلى كل من عمل معي بكد بغية إتمام هذا العمل عامة و مروة نجيمة خاصة.

الى جميع من حملتهم ذاكرتي ولم تحملهم مذكرتي.

إلهام زواد

إهـــداء

أحمد الله عز وجل على منه وعونه لإتمام هذا البحث.

إلى التي رعتني، التي صبرت على كل شيء، إلى التي وهبت فلذة كبدها كل العطاء والحنان حق الرعاية وكانت سندي في الشدائد، وكانت دعواها لي بالتوفيق، تتبعتني خطوة خطوة في عملي، إلى من إرتحت كلما تذكرت إبتسامتها في وجهي نبع الحنان أمي أعز ملاك على القلب والعين جزاها الله عني خير الجزاء في الدارين.

إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق له آماله، إلى من كان يدفعني قدما نحو الأمام لنيل المبتغى، إلى الذي سهر على تعليمي بتضحيات جسام، إلى الإنسان الذي إمتلك الإنسانية بكل قوة، إلى مدرستي الأولى في الحياة، مترجمة في تقديسه للعلم أبي الغالي على قلبي أطال الله في عمره.

إليهما أهدي هذا العمل المتواضع لكي أُدخل على قلبهما شيئا من السعادة إلى روح خالي العزيز بابا العيد ملاقاتنا في الجنة الخالد ان شاء الله و الي اختي التي شجعتني ودفعت بي قدما رغم صغر سنها ابتسام وأخويا رمز الوفاء الأعزاء حسين ولؤي، الذين تقاسمو ا معي عبء الحياة؛

إلى رفيقة الدرب الطويل والمشوار الدراسي الصعب "فلة"

إلى زميلتي في المذكرة الهام

كما أهدي ثمرة جهدي لأستاذتي الكريمة الدكتورة: تجاني سكينة التي كلما تظلمت الطريق أمامي لجأت إليها فأنارتها لي وكلما دب اليأس في نفسي زرعة فيا الأمل لأسير قدما وكلما سألت عن معرفة زودتني بها وكلما طلبت كمية من وقتها الثمين وفرتها لي بالرغم من مسؤولياتها المتعددة؛ إلى كل أساتذة قسم الكيمياء والعلوم الدقيقة؛ وإلى كل من يؤمن بأن بذور نجاح التغيير هي في ذواتنا في أنفسنا قبل أن تكون في أشياء أخرى

قال الله تعالى: " إن الله لا يغير ما بقوم حتى يغيروا ما بأنفسهم " من سورة الرعد 11 الآية

إلى كل هؤلاء أهدي هذا العمل

امال بوهلال

الشكر و العرفان

يقول العبد الفقير إلى رحمة ربه الغني بفضله طارق بوديار وفقه الله تعالى:

الحمد لله الذي بيده الملك و الملكوت، و له الأسماء الحسنى و النعوت، العالم فلا يعزب عنه شيء في السماوات و الأرض و لا يفوت ، علم بالقلم، علم الإنسان ما لم يعلم، و الصلاة و السلام على معلم البشر و آله، ما اتصل بالإسلام جده المبخوت وانقطع بالكفر حبله المبتوت و سلم كثيرا .

أولا و قبل كل شيء أتقدم بأسمى عبارات الشكر و الامتنان و التقدير إلى من يعجز لساني عن إيجاد العبارات المناسبة لشكره، إلى من سدد خطاي و أنار طريقي، إلى واهبي الحياة، إلى ربي، رب العزة جل جلاله .

يجدر بي في هذا المقام أن أتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان إلى الأستاذة تيجاني سكينة لاقتراحها موضوع الرسالة والاشراف عليها ولما ابدت لنا من ملاحظات ونصائح وتوجيهات قيمة، راجين من الله سبحانه وتعالى أن يجعلها عطرا فواحا يملئ صدور من نذروا أنفسهم للعلم والتعليم.

كما أتقدم بالشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة الأستاذة زواري احمد رشيدة و الاستاذ نموسة يحي تيجاني لمناقشتهم لهذا العمل

كما اتقدم بجزيل الشكر الى جميع طاقم المخابر بكلية العلوم الدقيقة لصبرهم و مجهوداتهم و ارشاداتهم لنا

كما أتقدم بالشكر الجزيل لكل من ساهم في إنجاز هذا العمل.

الملخص

شجرة مريم (*Artemisia absinthium*)هو نبات يتواجد في المناطق الرطبة كولاية سوق اهراس لكننا قمنا بزراعة هذه النبتة في المناطق الصحراوية و بالتحديد ولاية تقرت إن الهدف من هذا العمل هو دراسة مقارنة لمردودية المستخلص الميثانولي و الميثانول ماء و مستخلصي الهيكسان و ثنائي الكلور وميثان , بالإضافة الى ذلك قمنا بالفحص الكيميائي للنبتة للتعرف على مكوناتها وجد انها تحتوي على عديدات الفينول و التانينات و الفلافونويدات و الكومارينات و تربينات و خالي تماما من القلويدات و الصابونيات و كأول خطوة من الدراسة هو التقدير الاجمالي لمحتوى الفينولي و الفلافونويدي للمستخلصات المحضرة من الأجزاء الهوائية مع المذيبات التالية ميثانول ومزيج ميثانول ماء (2/8) .

و قد اظهرت أن أعلى مقدار للمركبات الفينولية في المستخلص الميثانولي قدرت ب 64,498 ±0.027 mg EAG/g و كذلك بالنسبة للمركبات الفلافونويدية 27.21± 0.76 mg EAG/g وفي الجزء الثاني تمت الدراسة لمستخلصات النبتة بطريقتين :الطريقة الطيفية و الطريقة الكهروكيميائية , حيث تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية التي تمثلت في اختبار DPPH واختبار FRAP واختبار موليبدات الفوسفات , حيث وجدنا في اختبار DPPH أعلى قيمة تثبيط للمستخلص الميثانولي 136,75 ± 1,81 و كذلك بالنسبة لاختبار FRAP قدرت ب 1,837± 0,0871 , و ايضا اختبار موليبدات الفوسفات 23,234 ± 0,168 . أما بالطريقة الكهروكيميائية استعملنا تقنية الفولتامتري الحلقي حيث أعطى مستخلص الميثانول قدرة عالية على تثبيط الجذر الحر. و في الاخير تم اختبار الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتة وذلك عن طريق ثلاثة سلالات بكتيرية, حيث تبين لنا أن البكتيريا تمتلك مقاومة ضد مستخلصات النبتة المدروسة.

الكلمات المفتاحية :(Artemisia absinthium) ،شجرة مريم, المركبات الفينولية، الفعالية المضادة للأكسدة، screening, الفولتامتري الحلقي، الفعالية البيولوجية.

Abstract:

Maryam tree Artemisia absinthium is a plant that is found in wet areas such as Souk Ahras, but we have planted this plant in desert areas, specifically the Wilayat of Touggourt. The aim of this work is a comparative study of the yield of the methanol extract, methanol, water and extracts of hexane, dichloride and methane, in addition to that. We chemically examined the plant to identify its components and found that it contains polyphenols, tannins, flavonoids, coumarins and terpenes and is completely free of alkaloids and saponins. As the first step of the study is the total estimation of the phenolic and flavonoid content of the extracts prepared from the aerobic parts with the following solvents: methanol and a mixture of methanol-water (8/2). And it showed that the highest amount of phenolic compounds in the methanolic extract was estimated at 64,498 ± 0.027 mg EAG/g, as well as for flavonoid compounds 27.21 ± 0.76 mg EAG/g. Antioxidant activity by spectroscopic method, which was represented in the DPPH test, FRAP test, and the phosphate molybdate test, where we found in the DPPH test the highest inhibition value of the methanolic extract was 136,75 ± 1,81, as well as for the FRAP test, it was estimated at 1,837 ± 0.0871, and also the molybdate test. Phosphate 23,234 ± 0.168. As for the electrochemical method, we used the cyclic voltammetry technique, where the methanol extract gave a high ability to inhibit free radicals. Finally, the biological anti-bacterial activity of the extracts of the plant was tested by three bacterial strains, where it was found that the bacteria have resistance against the studied plant extracts.

Keywords: Artemisia absinthium: Mary tree, phenolic compounds, antioxidant activity, screening, cyclic voltammetry, biological activity.

جدول المحتويات

الملخص:.....V-IV
جدول المحتويات :.....XIII-VI
قائمة الجداول :.....XIV-XV
قائمة الأشكال البيانية:.....XVIII-XVI
قائمة الرموز والاختصارات:.....XX - XIX
مقدمة عامة :.....01
مراجع المقدمة:.....04

الجزء النظري

الفصل الاول : الدراسة النظرية لنبتة شجرة مريم " Artemisia absinthium"

I- تمهيد 07
I-1: العائلة النجمية:(Asteraceae) 07
I-2:الجنس الأرطماسيا (Artemisia) :.....08
I-3:دراسة نوع (Artemisia Absinthium).....08
I-4:تصنيف شجرة مريم Artemisia Absinthium.....09
I-5:الأسماء الشائعة لنبتة " Absinthium Artemisia 10
I-6:التواجد الجغرافي لنبتة "Absinthium Artemisia".....10
I-7:الاستعمال الطبي لنبتة "Absinthium Artemisia".....11
مراجع الفصل الاول 13-12

الفصل الثاني : المركبات الفينولية

مدخل 14
II-1: تعريف المنتجات الطبيعية:.....14
II-1-1: الايض الاولي métabolites primaires.....14
II-1-2: الايض الثانوي métabolites secondaires.....14
II-2: عديدات الفينولات :.....14

II-2-1: تعريف : 14
II-2-2: اقسام عديدات الفينولات:...15
II-2-2-1: الأحماض الفينولية:...16
II-2-2-2: الفلافانويدات: 16
II-2-3: اهمية و دور عديدات الفينول في النبات:...17
II-2-4: الاستعمالات العلاجية لعديدات الفينول :...17
II-2-5: الاحماض الفينولية :...17
II-2-5-1-1: تعريف : 17
II-2-5-1: الاحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:...................................17
II-2-5-2: الاحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك : 18
II-2-6: الخصائص البيولوجية والعلاجية للأحماض الفينولية:...............................18
II-2-7: الكومارينات :..19
II-2-7-1: تعريف : 19
II-3: الفلافونويدات:...19
II-3-1: تعريف:...20
II-3-2: تصنيف الفلافونيدات:..20
i- الفلافون (flavones) : 21
ii- الفلافونولات (flavonols) :...21
iii- الفلافانول (flavonoles) :..21
iv- الأيزوفلافون (Isoflavone) :...21
v- الأنثوسيان(Anthocyanes):...21
II-3-3: فوائد الفلافونويدات بالنسبة للإنسان :..22
II-3-4: فوائد الفلافونويدات بالنسبة للنبات
II-3-4-1: التانينات(التانينات) Les tanins :........23...23
II-3-4-2: دورها بالنسبة للنبات :...23

II-4: فوائد و استعمالات التانينات :.....23
II-5: القلويدات Alcaloïdes :.....24
II-5-1: تعريف :.....24
II-5-2:دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات : 24
II-5-3:دور القلويدات و فائدتها العلاجية:.....24
II-5-4:الصابونيات Les saponosides:.....25
II-6:دور الصابونيات البيولوجية : 25
II-6-1:التربينات les terpènes:.....25
مراجع الفصل الثاني 27-33

الفصل الثالث: دراسة الفعالية البيولوجية

مدخل:.....34
III-1: البكتيريا :.....34
III-1-1: تعريف:.....34
III-1-2: تسمية البكتيريا :.....35
III-1-3-1: المكونات الاساسية :.....35
i- جدار خلوي(Paroi cellulaire):.....36
ii- الغشاء البلازمي(Plasma membrane) :.....36
iii- سيتوبلازم (Cytoplasmes):.....36
iv- نواة بدائية Nucleoide :.....36
III-1-3-2: المكونات الثانوية:.....36
i- البذور(Spores
ii- الاسواط(Flagella):.....36.....37
iii- الحافظة (Capsule):.....37
iv- الهدبيات (Ciliés):
III-1-4: أساس تصنيف البكتيريا:.....37.....38

III-2: البكتيريا المستعملة في الدراسة :.....39
III-2-1: بكتيريا Escherichia Coli :.....39
III-2-2: بكتيريا Pseudomonas aeruginosa:.....40
III-2-3: بكتيريا Staphylococcus aureus:.....41
III-3: المضادات الحيوية:.....42
III-3-1: تعريف المضادات الحيوية:.....42
III-3-2: انواع المضادات الحيوية :.....43
III-3-2-1: مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: 43
III-3-2-2: مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:.....43
III-3-3: طرق تأثير المضادات الحيوية:.....43
III-3-3-1: مضادات تعمل على ايقاف نسخ ال ADN:.....43
III-3-3-2: مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء السيتوبلازمي:.....43
III-3-3-3: العمل على جدار الخارجي للبكتيريا:.....43
III-3-3-4: العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:.....44
III-3-3-5: المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:.....44
i- تعريف المقاومة:.....44
ii- أسباب مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:.....44
iii- كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:.....44
III-4: الجذور الحرة:.....46
III-4-1: تعريف الجذور الحرة:.....47
III-4-2: أنواع الجذور الحرة:.....48
III-4-3: فعالية الجذور الحرة:.....49
III-4-4: دور الجذور الحرة:.....49
III-4-4-1:الأمراض الناجمة عن الجذور الحرة :.....49
III-5: مضادات الاكسدة:.....50

III-5-1: الاجهاد التأكسدي:.....50
III-5-2: تعريف مضاد الاكسدة:.....51
III-5-3: اقسام مضادات الاكسدة:.....51
III-5-3-1: مضادات اكسدة طبيعية :.....51
III-5-3-2: مضادات الاكسدة الانزيمية:.....51
III-5-3-3 : مضادات الاكسدة الغير انزيمية.....52
III-5-3-4: مضادات الاكسدة الصناعية : 52
III-6 : تقنيات التحليل الكيميائي:.....52
III-6-1: تقنيات الفولطامترية:.....52
III-6-2: مجالات استخدام التقنيات الفولطامترية:.....54
III-6-3: أهمية تعيين النشاطية للأكسدة الفولطامتري الحلقي:.....54
مراجع الفصل الثالث 55-62

الجزء العملي

الفصل الرابع: الطرق و الوسائل

IV-1 : الطرق المتبعة في الميدان:.....65
IV-1-1 : وقت الجمع:.....65
IV-1-2 : التجفيف:.....65
IV-1-2-1 : أسباب تجفيف النبتة:.....65
IV-1-3 : الطحن والتخزين:.....65
IV-2: الوسائل و الادوات المستعملة :.....66
IV-3: الطرق و التجارب المتبعة: 69
IV-3-1: طرق الاستخلاص :.....69
IV-3-1-1:الهدف من هاته الدراسة:.....69
IV-3-2: تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة:.....69
IV-3-2-1: تحضير مستخلص الميثانولي بالنقع :.....70

2-2-3-IV: تحضير مستخلص مزيج من الماء والميثانول بالنقع:......................................71
3-2-3-IV:تحضير مستخلص الهيكسان و الديكلوروميثان بجهاز ultrason :.....................72
4-2-3-IV: الوزن النهائي للمستخلصات :...73
4-IV: حساب مردود الانتاجية
5-IV: التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية:73 للمستخلصات 74
1-5-IV:مطيافية الاشعة فوق البنفسجية المرئية – UV-visible :...............................74
1-1-5-IV:التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-visible :..........................76
2-5-IV: التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-visible:................................78
6-IV: تقدير النشاط المضاد للأكسدة:..80
1-6-IV:اختبار DPPH :...80
2-6-IV:اختبار FRAP :...82
3-6-IV: اختبار موليبدات الفوسفات :...**83**
7-IV:التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية:.........................85
1-7-IV:الاجهزة المستعملة في الدراسة :...86
2-7-IV:خطوات العمل:...86
3-7-IV:تحضير الخلية الكهروكيميائية:...87
8-IV:مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR :...88
1-8-IV:تعريف :..88
2-8-IV:مكونات الجهاز:..89
9-IV:الفحص الكيميائي النباتي (screening):...89
1-9-IV:تعريف :..89
2-9-IV:التحاليل المطبقة :...90
1-2-9-IV:تحليل عديدات الفينول (polyphénol):..90
2-2-9-IV:تحليل الفلافونويدات Les flavonoïdes:...90

IV-9-2-3:تحليل الكومارينات Les coumarines:.....91
IV-9-2-4:تحليل التانينات Les tanins:.....91
IV-9-2-5:تحليل التربينات و الستيرولات Stérols et terpènes :.....92
IV-9-2-6:تحليل القلويدات Les alcaloïdes:.....92
IV-9-2-7:تحليل الصابونيات Les saponosides:.....93
IV-10:دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا:.....93
IV-10-1:تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص:.....94
IV-10-2:تنمية مزارع بكتيريا حديثة:.....94
IV-10-2-1:طريقة العمل:.....94
مراجع الفصل الرابع 96-98

الفصل الخامس: النتائج و المناقشة

V-1: مردود الاستخلاص:.....100
V-2: الفحص الكيميائي النباتي (screening):.....101
V-3: تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية للمستخلصات:.....102
V-3-1: التقدير الكمي للفينولات ب واسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-visible :.....102
V-3-2: التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-visible:.....105
V-4: التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية:.....107
V-4-1: نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH:.....107
V-4-2: نتائج اختبار FRAP:.....111
V-4-3: نتائج اختبار موليبدات الفوسفات phosphomolybdenum:.....112
V-5 : نتائج التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية:.....113
V-6: نتائج مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR:.....116
V-7: الفعالية البيولوجية:.....118
مراجع الفصل الخامس :.....119
خاتمة:.....121-122

الملاحق:.....IXX- XXIV

قائمة الجداول

جدول II-1 : يمثل تصنيف الفينولات حسب عدد الكربون في هيكلها الاساسي:.....15
جدولII- 2: امثلة لأحماض البنزويك:.....18
جدولII- 3 : امثلة لأحماض السيناميك:.....18
جدولII-4 : بعض الامثلة عن الكومارينات:.....19
جدول II-5: مختلف الهياكل الفلافونيدية:.....22
جدول II-6: تقسيم التربينات:.....26
جدول III -1: التصنيف العلمي E.Coli:.....39
جدول III -2: التصنيف العلمي Pseudomonas aeruginosa :.....40
جدول III-3: التصنيف العلمي ل Staphylococcus:.....41
جدول IV-1: الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة عند الاستخلاص:.....66
جدول IV-2: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية:.....67
جدول IV-3: المحاليل الكيميائية , الأدوات و الأجهزة المستعملة في قياس الفعالية المضادة للأكسدة:.....67
جدول IV-4: المحاليل الكيميائية , الأدوات و الأجهزة المستعملة في الفعالية المضادة للبكتيريا:.....68
جدول IV-5: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في مطيافية الاشعة فوق البنفسجية IR:.....68
جدول IV-6: المحاليل الكيميائية, الأدوات المستعملة في Screening:.....69
جدول IV-7: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك:.....76
جدول IV-8: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لمركب الروتين:.....78
الجدول IV-9: أنواع البكتيريا المدروسة:.....93
الجدول IV-10: انواع المضادات الحيوية المستخدمة:.....94
الجدول V-1: كمية المردود (%) لمستخلصات النباتية:.....100
جدولV-2 : نتائج الفحص الكيميائي النباتي:.....102

الجدول V-3: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك:.....102

جدول V-4: كمية الفينولات الكلية في مستخلصات النبتة المدروسة (ملغ/غ):.....103

جدول V-5 : نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لمركب الروتين :.....105

جدول V-6 : كمية الفلافونويدات الكلية في مستخلصات النبتة المدروسة (ملغ/غ) :.....106

جدول V-7: يمثل نتائج قيم IC50 للعينات المدروسة:.....109

الجدول V-8: قيم كثافة شدة التيار بدلالة تركيز حمض الغاليك:.....114

جدول V-9 : نتائج الفعالية البيولوجية لمستخلصات النبتة المدروسة:.....118

قائمة الاشكال البيانية

الشكل I-1 : نبتة شجرة مريم من الفصيلة المركبة:.....08
الشكل I-2: اجزاء نبتة شجرة مريم Artemisia absinthium:.....09
الشكل I-3: خريطة العالم توضح مناطق توزع النبتة :.....10
الشكل II -1: مخطط لتصنيف عديد الفينول:.....16
الشكلII-2: الهيكل الاساسي للفلافونويدات:.....20
الشكل III -1 : شكل يوضح بنية البكتيريا:.....35
الشكل III-2: مخطط توضيحي لتصنيف البكتيريا:.....38
الشكل III– 3: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا E . Coli :.....39
الشكل III– 4: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا P. aeruginosa:.....40
شكل III-5: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا S. aureus:.....42
شكل III- 6: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا:.....46
الشكل III-7: مقياس الجذور الحرة/مضادات الأكسدة:.....47
الشكل III-8: صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة:.....48
الشكل III-9 : البنيات الرنينية في جزئ DPPH:.....49
الشكل III-10: أهم العوامل المسببة للتأكسد- تدريب المنتج:.....50
الشكل III-11: المقادير الاساسية لمنحنى الفولطامتري الحلقي:.....53
الشكل IV-1: صور لعملية التجفيف والطحن:.....66
الشكل IV-2: عملية النقع و الترشيح للنبتة مريم:.....70
الشكل IV-3: عملية تبخير المستخلص في جهاز Rota vapeur:.....70
الشكل IV-4 : مخطط يوضح مراحل الاستخلاص العام لمستخلص السنة:.....71
الشكل IV-5:استخلاص بجهاز ultrason و ترشيح العينة.:.....72
الشكلIV-6: تبخير المستخلص بجهاز Rota vapeur:.....72
الشكل IV-7: spectrum uv-visible:.....74
الشكل IV-8: رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة :.....74

الشكلIV-9: جهاز الاشعة الفوق البنفسجية المرئية المستعمل في الدراسة:.....75
الشكل IV- 10: المنحنى القياسي لحمض الغاليك(Ac,gallic):.....77
الشكل IV-11: المحاليل بعد اضافة كاشف الفولين:.....77
الشكل IV-12: المنحنى القياسي للروتين(Rutine):.....79
الشكل IV-13: المحاليل بعد اضافة كلوريد الالمنيوم:.....79
الشكل IV-14: محلول DPPH المحضر :.....80
الشكل IV-:15صورة توضح توزع المستخلص في الانابيب قبل إضافة DPPH:.....81
الشكل IV-16: المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:.....83
الشكل IV-17: المحاليل في الحمام المائي:.....84
الشكل IV-18: المنحنى القياسي لحمض الغاليك:.....84
الشكل IV-19: رسم تخطيطي يوضح مكونات جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR:.....86
الشكل IV-20: المحاليل المستعملة في الفولطامتري الحلقي :.....88
الشكل IV-21: رسم تخطيطي يوضح مكونات جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR:.....89
الشكل IV-22: المحاليل بعد اضافة FeCl3 5%:.....90
الشكل IV-23: المحاليل بعد اضافة HCl وMg :.....90
الشكل IV-24: المحاليل بعد اضافة NH_4OH:.....91
الشكل IV-25: المحاليل بعد اضافة $FeCl_3$ 1%:.....91
الشكل IV-26: المحاليل بعد الاضافة :.....92
الشكل IV-27: المحاليل بعد اضافة كاشف Dragendorff:.....93
الشكل IV-28: صورة توضع اختبار الفعالية للبكتيريا :.....95
الشكل V-1: أعمدة بيانية تمثل مردود(%) المستخلصات المستعملة في الدراسة:.....101
الشكل V-3: أعمدة بيانية تمثل كمية عديدات الفينول بالملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من وزن المستخلص:.....104
الشكل V-5 : أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونويدات بالملغ مكافئ لمركب الروتين / غ من وزن المستخلص:.....106

الشكلV-6: المنحنى القياسي لاختبار ال DPPH لحمض الأسكوربيك:.....107
الشكل V-7: منحنيات اختبار DPPH للعينات المدروسة:.....108
الشكل V-8: منحنيات اختبار DPPH للمستخلص ميثانولي:.....109
الشكل V-9: منحنيات اختبار DPPH للمستخلص ميثانول ماء :.....109
الشكل V-10| : مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار DPPH للعينات المدروسة:.....110
الشكل V-12: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار FRAP للعينات المدروسة:.....111
الشكل V-14: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار موليبدات الفوسفات للعينات المدروسة:.....112
الشكل V-15: المنحنى الفولتامتري الحلقي لحمض الغاليك في وسط موقي pH=4 [-200 – 1200]
مسرى العمل هو الكربون الزجاجي, سرعة المسح s^{-1}. 100mv , درجة حرارة 25.....113
الشكل V-16: المنحنى العياري لحمض الغاليك:.....114
الشكل V-17: المنحنى الفولتامتري الحلقي لمستخلص الميثانولي لنبتة المدروسة:.....115
الشكل V-18: المنحنى الفولتامتري الحلقي لمستخلص ميثانول-ماء لنبتة المدروسة:.....115
الشكل V-19: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الفولطامتري الحلقي
للعينات المدروس:.....116
الشكل V-20: طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانول :.....117
الشكل V-21: طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص ميثانول ماء:.....117
الشكل V-22: نتائج بكتيريا لمستخلصات النبتة المدروسة:.....118

قائمة الرموز و الاختصارات

A_0	الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات
A_i	الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلصات) بعد مرور زمن
AA	حمض الأسكوربيك
R	المردود
IR	مطيافية الاشعة تحت الحمراء
UV-visible	مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية
%I	النسبة المئوية للتثبيط
IC50	تركيز المستخلص الفينولي لتثبيط % 50 من الجذور الحرة
DMSO	ثنائي ميثيل سلفاكسيد (Dimethl Sulfoxide)
DPPH	(2 ,2'- diphenyl-1-picrylhydrazy)
FRAP	The Ferric Reducing Antioxidant Power
TAC	الفاعلية المضادة للأكسدة الكلية
Ceq	التركيز المكافئ الجديد
C	تركيز العينة داخل الخلية
I_0	شدة الضوء الوارد
I	شدة الضوء الصادر
CIP	Ciprofloxacin

Cefazolin	CZ
Cefixime	CFM
Cotrimoxazole	COT
Screening	الفحص الكيميائي النباتي

مقدمة عامة

المقدمة العامة

تعتبر النباتات من أهم الموارد الطبيعية المتواجدة بشكل كبير على الكرة الأرضية حيث تعود علاقة الانسان بالنباتات الى أقدم العصور فالحضارات القديمة سواء الصينية، الهندية أو الشرق الأوسط كانت تعتمد على كل ما هو طبيعي لغنى حضارتها بحقل العلم والمعرفة والصحة والبيئة فهي ذات أهمية كبيرة جدا في انتاج وتوفير المواد الفعالة.[1] فقد اعتمد الانسان على الاعشاب و النباتات لعلاج الامراض التي تصيب الانسان و هو ما يعرف بطب الاعشاب فهي طريقة قديمة للعلاج .

كان الإنسان يهتدي في كشف الخواص العلاجية للأعشاب بالصدفة أحيانًا، وبالتجربة التي لا تخلو من مخاطر في أحيان أخرى. بل إن معرفة الإنسان القديم للأعشاب كدواء جاءت نتيجة مراقبته لبعض الحيوانات مثل القطط والكلاب وتناولها لأعشاب معيّنة عندما يلم بها مرض أو ألم. وقد أدت الصدفة دورا كبيرا في اكتشاف العديد من الأعشاب والنباتات التي تعالج الأمراض وكان الاهتداء إلى بعضها يتحقق بوحي من الحدس أو الإحساس الصادق.[2]

في الصين ظهر عام 2700 ق. م أول كتاب طبي للأعشاب وأصبح هذا الكتاب أساسا لجميع المعلومات الصينية التي كتبت بعد أما في بابل القديمة كانت .The Great Herbal ذلك عن النباتات، وأشهرها كتاب الأعشاب الكبير المعلومات التي تتعلق بالنباتات المستعملة في الطب تسجل على الاسطوانات الحجرية والطينية وهناك ألواح مدون عليها ما يزيد على 250 نباتاً وقانون حمورابي المحفور على الصخر والذي يرجع تاريخه إلى 1728 ق. م ينص على استعمال النباتات الطبية لشفاء الكثير من الأمراض. وفي مصر تدل الكتابات القديمة والصور الملونة على جدران المعابد والقبور وكذلك بقايا الأعشاب التي وجدت في المقابر بجانب الجثث المحنطة، على استعمال هذه النباتات منذ 3000 سنة ق. م .[3]

تجلت اهمية النباتات الطبية و تعددت استخداماتها فبدأت تدخل في بعض الصناعات الغذائية كمواد حافظة و مكسبات للطعم و فاتحة الشهية و غيرها من الاستخدامات ذات الاهمية الاقتصادية الكبيرة . و بلاد الجزائر و كغيرها من البلدان تزخر بكم هائل من النباتات الطبية لما لها من مساحات واسعة و مناخات عديد و مما لا شك فيه ان لهذا التنوع المناخي الكبير الاثر البالغ على شدة التنوع النباتي و لكن ايضا على تركيب النباتات و اعطائها المميزات الخاصة[4] , لذلك تركزت دراستنا في هذا البحث على احدى نباتات الجزائر الطبية و التي زرعت في المناخ الصحراوي في منطقة تقرت , و التي تعرف باسم شجرة مريم و اسمها العلمي (*Artemisia absinthium*)

, و التي لها العديد من الاثار الطبية لكثير من الامراض منها أعراض ما قبل الحيض والمساهمة في علاج حب الشباب وتحسين الخصوبة لدى المرأة ومسكن لآلام الروماتيزم في الجنوب الغربي للبلاد.[5]

عند مشاهدتنا للنبتة ظاهريا لا يمكننا التعرف على مكوناتها الا بعد اجراء بعض التحاليل المخبرية كالفحص الفيتوكيميائي لها و الكشف عن مكوناتها و منتجاتها الطبيعية الفعالة و استخلاصها [6]. و سنقوم بدراسة الفعالية البيولوجية (الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا) وتقدير محتوى المركبات الفينولية لمستخلص نبتة شجرة مريم (Artemisia absinthium) .

ومن أجل أنجاز هذا البحث تم تقسيم هذا العمل الي جزئين:

الجزء النظري: ويتضمن ثلاثة فصول

- الفصل الأول: الدراسة النظرية لنبتة شجرة مريم " Artemisia absinthium "
- الفصل الثاني: المركبات الفينولية.
- الفصل الثالث: دراسة الفعالية البيولوجية.

الجزء العملي: ويتضمن فصلين

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

وفي الاخير توجت هاته الدراسة بخاتمة شملت النتائج العملية المتحصل عليها.

مراجع المقدمة

1. M. M. Zareh ،A. M. Faried ،and M. H. Mohamed ،Revision of Launaea Cass.(Compositae) in Egypt with special references to cypselar diversity ،vol. 127 ،Feddes Repert ،2016 ،pp. 14-29.
2. El-Chwikhat, Ahmed.,(2004) encyclopedie arabique globale.
3. الطب القديم المؤلف : عادل عبد العال (نائب رئيس أكاديمية أونتاريو للطب البديل كندا) الطبعة الأولى 2007 م
4. حوقة سارة . الكشف الكيميائي لنواتج الايض الثانوي لنبات شيحة الابل Cotula cinerea Del و استخلاص الزيوت الطيارة في الطوري النمو الزهري و الثمري , لنيل شهادة ليسانس اكاديمي في علوم الطبيعية والحياة ,2013 .
5. حلمي ع و آخرون، (1997).النباتات الطبية . الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة, الاتحاد العلمي لحفظ الطبيعة, الجزائر, ص: 107.
6. P.Ozenda. Flore du sahara, Centre nationale de la recherche scientifique.2éme édition , paris , 1983 .

الجزء النظري

الفصل الاول : الدراسة النظرية لنبتة

شجرة مريم (Artemisia absinthium)

I- تمهيد

عرف التداوي بالأعشاب منذ القديم في الحضارة المصرية واليونانية وحضارات اخرى، لاحتواء الأعشاب الطبية على مواد كيميائية فعالة في مختلف أعضائها بنسب متفاوتة، يحدث هذا بالاستخلاص او بشكلها الطازج، مجفف. [1] [2] بينما عادت المجتمعات الى التداوي بما يسمى بالطب التقليدي او الشعبي، لخلوه من المضاعفات والاثار الجانبية عكس الادوية المصنعة مخبريا, وكذلك لاحتوائه على كميات كبيرة ومتنوعة من المواد الكيميائية العلاجية والوقائية للعديد من الامراض. [3]

يتم الان استخدام أكثر من 35000 نوع من النباتات في مختلف انحاء العالم للأغراض الطبية، وتتنوع هذه النباتات بتنوع المناخ، الجزائر نضرا لكبر مساحتها وتنوع مناخها أدى هذا الى ضهور العديد من النباتات التي تجعل الجزائر ضمن المراكز الاولى في التداوي بالأعشاب. [3,4]

I-1 العائلة النجمية *(Asteraceae)* :

من اهم العائلات العشبية العائلة النجمية وتعرف بالمركبة وهي فصيلة واسعة الانتشار وتعد من النباتات الزهرية وهي من أكبر عائلات النباتية ذات الفلقتين وهي في الغالب اعشاب حولية معمرة نادرا ما تتواجد بشكل نبات مائي، تتواجد بشكلها الشجيري بنسبة 2% حيث يتواجد 1100 جنس و35000 نوع يوجد بشكل خاص 109 جنس و408 نوع في الجزائر [4]، اما عن مناطق تواجدها فتتواجد في المناطق المعتدلة والشبه استوائية والمدارية لجنوب شرق وشرق اسيا أفريقيا [5].

تتميز نباتات الفصيلة المركبة باحتوائها على جذور وتدية الشكل ولها وضيفة التخزين كما تحمل هذه العائلة بسيقان ذات اجنحة شوكية في امتداد الورقة اما اوراقها فتكون متبادلة او متقابلة عديمة الذينات وقد تتحور الي شوك في المناطق الجافة [6]، كما تتميز هذه الفصيلة بوجود أنواع مختلفة من الازهار؛ نذكر منها ثلاثة تختلف حسب اختلاف النورة حيث ازهار انبوبية وتتميز بنورة انبوبية وتنتهي براس على شكل قريصة اما النوع الثاني ازهار لسينية الشكل والثالثة ازهار شعاعية مثل عباد الشمس. [7]

I–2: الجنس الأرطماسيا *(Artemisia)*:

يعتبر من اهم اجناس العائلة النجمية وذألك لعدة أسباب اولهم لوجوده بوفرة في الطبيعة كونه نبات معمر ويتحور حسب المناطة المتواجد بها، ثانيا له أهمية اقتصادية وطبية لوفرة المواد او المركبات الكيميائية ذات فاعلية وأهمية بيولوجية فيه مثل البوليفينولات والفلافانويدات وغيره وأيضا يستعمل كنبات زينة. [8]

I–3دراسة نوع *(Artemisia Absinthium)*:

نبتة" *Artemisia absinthium*" المعروفة ب "شجرة مريم" هي من النباتات العشبية المعمرة التي تنتمي الي الفصيلة النجمية المعمرة وتعرف أيضا بالفصيلة المركبة، يصل نموها الي ارتفاع ما بين 60 و120سم.

تتميز بأوراق مركبة ريشية مغطاة بشعيرات كثيفة ودقيقة وبيضاء وهي ذات أوراق غزيرة وكثيرة التفرع حيث تتميز بصنفين من الأوراق طويلة المعلاق وقصيرة المعلاق، طويلة المعلاق في الأسفل وقصيرة المعلاق في الوسط والأعلى[789] ، اما الأوراق الزهرية ثلاثية الفصوص أو تامة الحافة، تجتمع الأزهار في نوارات رئيسية صغيرة، كروية الشكل تقريبا قصيرة الشمراخ، متدلية تشكل هذه الرؤيسات بدورها نوارات هرمية الشكل، عبقة الرائحة يصل طولها الى نحو 30سم، القنابات خطية منطبقة موبرة تتوضع في 4- 3 صفوف، كرسي النورة مسطح موبر بكثافة، الأزهار صفراء، الثمرة صغيرة جدا مستطيلة اسطوانية، ملساء [789] ، لديها سوق تحت أرضية أفقية متخشبة وسوق منتصبة متفرعة الساق، الساق مثلمة، رمادية اللون[7].

الشكل I–1 : نبتة شجرة مريم من الفصيلة المركبة [8, 9]

الشكل I–2: أجزاء نبتة شجرة مريم *Artemisia absinthium*[8,9]

I–4: تصنيف شجرة مريم ***Artemisia Absinthium***

حسب تصنيف Cronquist 1971 [10]

المملكة	Plantae
النطاق	حقيقيات النوى
الفرقة العليا	النباتات الأرضية Embryophytes
القسم	نباتات وعائية Tracheophytes
الشعبة	البذريات Spermatophytes
تحت الشعبة	مستورات البذور Angiospermae
الرتبة	نجميات Asterales
الفصيلة	نجمية Asteraceae
الجنس	شيح Artemisia
النوع	شجرة مريم Artemisia absinthium

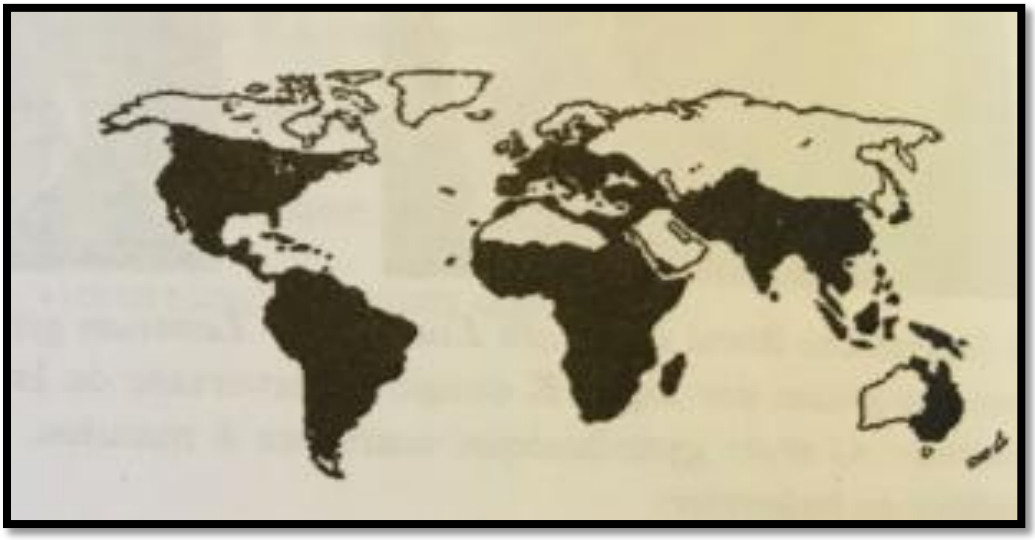
I –5:الأسماء الشائعة لنبتة " *Absinthium Artemisia* [7]

عرفت نبتة *absinthium Artemisia* بعدة مسميات شائعة نذكر منها:

- الابسنت
- الشبية
- الافسنتين
- لبعيثران
- شجرة مريم
- شيح ابن سينا
- الدمسيسة
- الشيح الرومي

I–6: التواجد الجغرافي لنبتة " ***Absinthium Artemisia***"

تتواجد هذه النبتة *Artemisia absinthium* في المناطق الرطبة على ضفاف الوديان وبالخصوص في المناطق البحرية في منطقة البحر الأبيض المتوسط وشمال افريقيا واسيا الغربية والوسطى وحاليا دراستنا على هذه النبات في الجزائر. [7]



الشكل I–3: خريطة العالم توضح مناطق توزع نبتة *Artemisia absinthium* [7]

I–7: الاستعمال الطبي لنبتة " ***Absinthium Artemisia***"

لهذ الصنف أهمية كبيرة من الناحية الاقتصادية والبيولوجية لتوفره على مواد كيمائية كثيرة ومهمة مما يأهلها للاستعمال الطبي ويستعمل أيضا في مستحضرات التجميل نذكر بعض من استعمالاتها [11,7]:

- مضاد للأورام السرطانية لوجود المركبات المرة السيسكوتربينة
- يستعمل العقار في حالات فقدان الشهية واضطرابات وظائف الكبد والمرارة والمعدة والهضم
- يستخدم لعلاج مرض كرون
- ينقي العقار الجسم من السموم وعلى الأخص مركبات الرصاص والزئبق
- علاج أمراض الكبد واضطرابات الطمث

المراجع العربية

5- ل. زعيتر، "تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة Compositae والسيستية، Cistaceae أطروحة دكتورا جامعة منتوري، قسنطينة

8- وائل. أبو. عبد. الله، أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي، الطبعة الأولى

المراجع الفرنسية

1- Acharya, Deepak and Shrivastava Anshu (2008): Indigenous 2012Herbal Medicines: Tribal Formulations and Traditional Herbal Practices, Aavishkar Publishers Distributor, Jaipur-India. ISBN 978-81-7910-252-7. pp 440

2- N. R. Faenszorth. et. al, "lace des plantes médicinales dans la thérapeutique " Bulletin of the World Health Organization 64 (2) p. 159, 1986

3- J. A. Duke, "The green pharmacy: New discoveries in herbal remedies for common diseases and conditions from the world's foremost authority on healing herbs " Rodale,1997

4- Heywood V.H et al. 1977; Dupont F, Guignard JL.2005; Bruneton J.2007

6- M. Elqaj, A. Ahami, and D. Belghyti " ,Lo phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires " "Journée scientifique ressources naturelles et antibiotiques ," Maroc , .2007

7- N. Mahmoudi. P. Rajael "Ethnobotanical study of medicinal plants of Hezar mountain allocated in south east of Iran," Iranian

Journal of pharmaceutical research: UPR, vol. 11 (4): .6. .7 .8 P. 1153 2012

9- S. Mansour" ,Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L., Artemisia herba alba Asso et hypericum scarboides -Etude in vivo ",-Thèse de doctorat, Université Mohamed Boudiaf, Oran, 2015

10- E. Al-Snafi, "The pharmacological importance of Artemisia campestris-A review,"Journal of pharmaceutical research, vol. 5(2), pp. 88-92, 2015

11- L. Messai, "Etude photochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (Artemisia herba alba) " Thèse de doctorat, Université Mentouri, Constantine,2011

الفصل الثاني : المركبات الفينولية

مدخل :

الاستعمال التقليدي للنبات هو الاساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطية الفيزيولوجية او الطبية لأي دواء نباتي الاصل فقد كثر الاهتمام بدراسة النباتات الطبية و الاستفادة منها في معالجة الامراض المتخلفة , فالنباتات لها القدرة على انتاج نوع او عدة انواع من المواد الفعالة طبيا التي تبين الامكانيات العلاجية لهذا النبات , فلبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية اكبر من العقاقير التي تملكها الادوية الصناعية في معالجة بعض الامراض[1].

II–1: تعريف المنتجات الطبيعية:

هي منتجات انتجتها الكائنات الحية فهي تعبر عن المركبات العضوية من اصل طبيعي , و اكثرها اهمية هي التي تؤدي دورا في التفاعلات الايضية [2]التي يتم فصلها من النباتات و الكائنات الحية الدقيقة . و هي جزيئات تنتج من عمليات الايض و تنقسم الى قسمين : ايض اولي و ايض ثانوي[3]

II–1–1: الايض الاولي *métabolites primaires*

المركبات الداخلة في التفاعلات الاولية و تشير الى العمليات الايضية الاساسية التي ينتج عنها الاحماض الكربوكسيلية البسيطة و الاحماض الامينية , السكريات , الدهون و البروتينات فهي تميز المنتجات الاولية بخاصيتها الحيوية و الضرورية لبقاء الخلية و الجسم [4]

II–1–2: الايض الثانوي *métabolites secondaires*

تنقسم منتجات الايض الثانوي في حد ذاتها الى اصناف مختلفة لتسهيل دراستها , فقد تصنف احيانا وفق للمصادر الطبيعية التي تنتج منها, و تصنف ايضا لتأثيرها الفسيولوجية كما قد تصنف و هي اكثر شيوعا تبعا لتركيبها البنائي او على الاقل دراستها على هيئة مجموعات , حيث تصنف الى التربينات , المركبات الفينولية , القلويدات , المضادات الحيوية و الفيتامينات .

و هناك ثلاث مواد رئيسية : حمض الشيكميك , الاسيتات و الاحماض الامينية , تعتبر وحدات للايوض الثانوية [5]

II–2: عديدات الفينولات :

II–2–1: تعريف :

هي مستقبلات ثانوية نباتية تتميز ببنيتها الاساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيل[6]

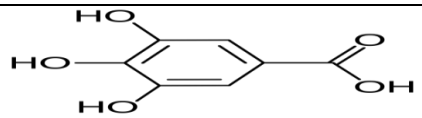
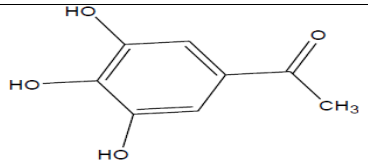
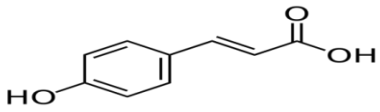
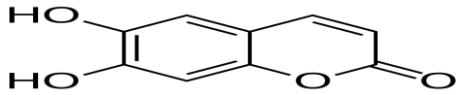
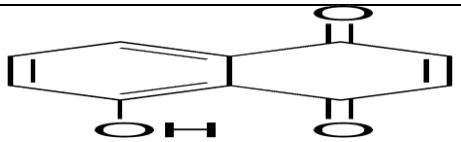
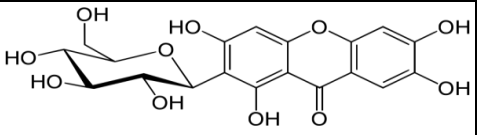
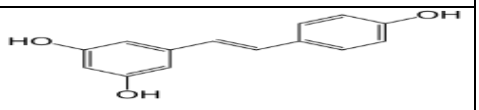
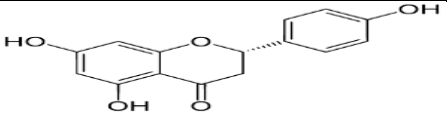
فالمركبات الفينولية تشكل حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية نظرا لكثرة عددها و تباين هيكلها البنائية لها, و قد تم عزل و التعرف على اكثر من 8000 مركب فينولي و تم توزيعها في مختلف الاقسام بدلالة هيكلها الكربوني [7]

والاختلاف في عدد الحلقات وعدد ونوع المجاميع المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة مجاميع أهمها الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، الدباغ، الفلافونيدات تمثل القسم الاكبر منها[8]

II-2-2: اقسام عديدات الفينولات

لقد وجدو ان المركبات الفينولية تضم حوالي 8000 مركب مقسمة الى عدة اصناف , و في سنة 1989 – 1990 اقترح العالمين *HARBORN* و *MACHEIX* تصنيف للمركبات الفينولية الطبيعية و الجول التالي يوضح هاته الاصناف[9]:

جدول II-1 : يمثل تصنيف الفينولات حسب عدد الكربون في هيكلها الاساسي[10]

N° C	Squelette	Classification	Exemple	Structure
7	C_6-C_1	Acides phénols	Acide galique	
8	C_6-C_2	Acétophénones	Gallacetophén-ones	
9	C_6-C_3	Acides hydroxycinamique	Acide ρ-Coumarique	
9	C_6-C_3	Comarine	Esculitine	
10	C_6-C_4	Naphthoquinone	Juglone	
13	C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mangiferine	
14	C_6-C_2-C_6	Stilbénes	Resveratrol	
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoïdes	Naringénine	

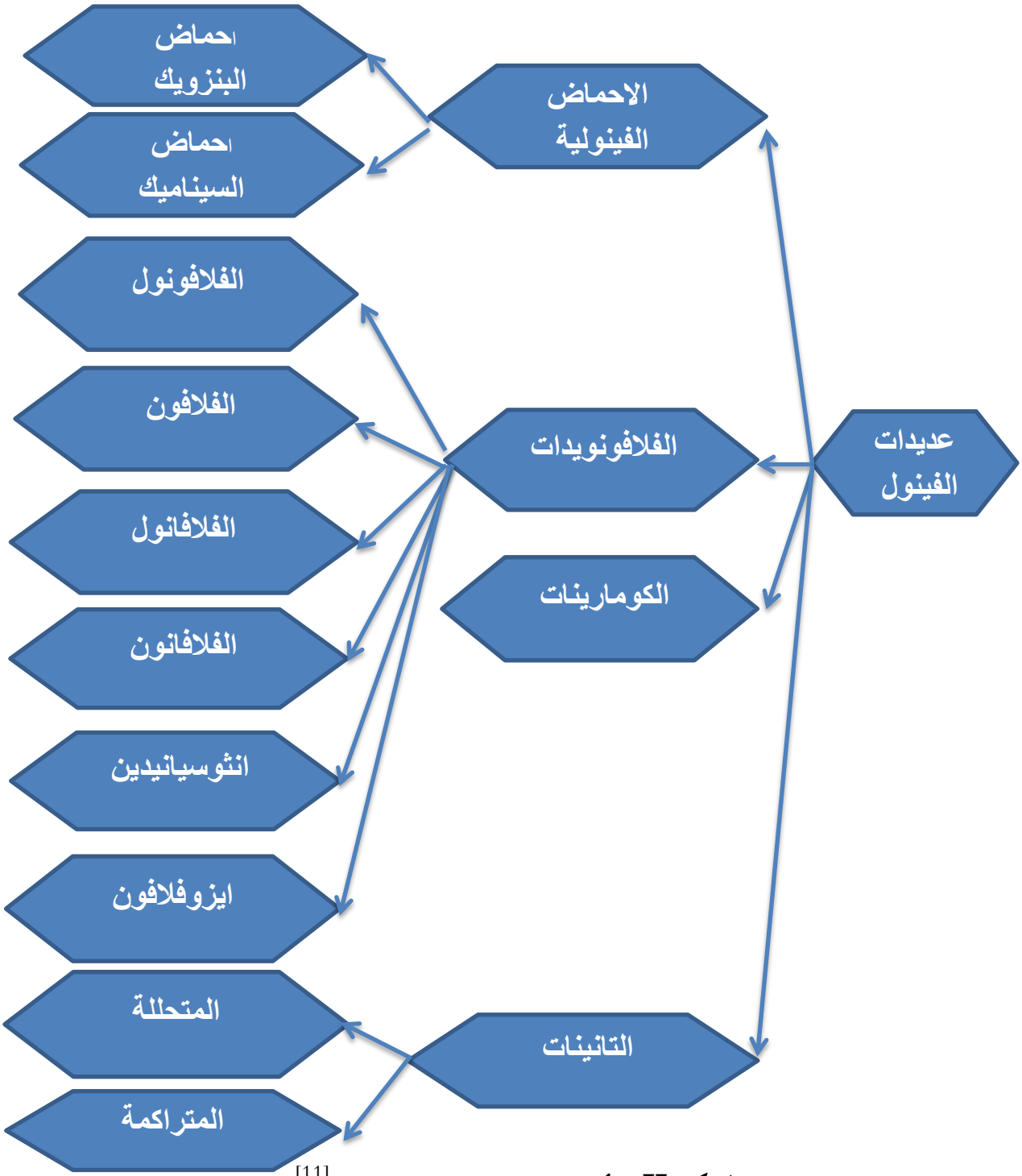
و سنختص في هاته الدراسة اهم هذه الاصناف :

II-2-2-1: الأحماض الفينولية:

الأحماض المشتقة من حمض بنزويك، الأحماض المشتقة من حمض سيناميك

II-2-2-2: الفلافانويدات:

-التانينات، اللقنينات. بالإضافة إلى المركبات الأقل كثافة: الكومارينات، الستلبينات



الشكل II -1: مخطط لتصنيف عديد الفينول[11]

II-2-3: اهمية و دور عديدات الفينول في النبات [12][13]:

- الفينولات ترتبط مع العديد من العمليات الفسيولوجية للنباتات: نمو الخلايا، تمايز الأعضاء، الإزهار والإثمار
- هي عبارة عن أصبغة و مركبات عطرية، تمنح النباتات اللون و الرائحة مما تؤدي الى جذب الحشرات و الطيور الملقحة
- الأدوار المعروفة أيضا للفينولات هي الحماية و الوقاية من الأشعة الفوق البنفسجية UV
- لديها خصائص مضادة للفطريات و مضادة للجراثيم
- تساهم الفينولات في مقاومة النباتات للأمراض
- تقوم الفينولات بظاهرة هامة وهي ظاهرة تراكم المواد الفينولية في الأنسجة النباتية المصابة أو في المناطق القريبة منها

II-2-4: الاستعمالات العلاجية لعديدات الفينول :

تستخدم عديدات الفينول بشكل متزايد في الاستعمالات العلاجية، فهي تحتوي على مكونات فعالة لعديد من الأمراض: مضادة للسرطان ، مضادة للالتهابات، مضادة للفيروسات، مضادة للجراثيم، و مكافحة تصلب الشرايين، مضادة للحساسية، و مضادات الاكسدة .[14]

II-2-5: الاحماض الفينولية :

II-2-5-1-1: تعريف :

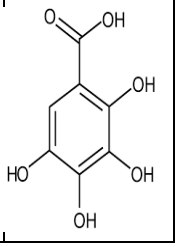
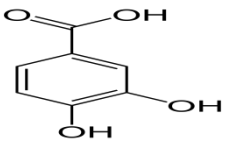
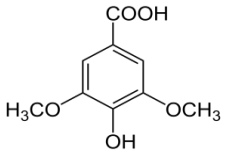
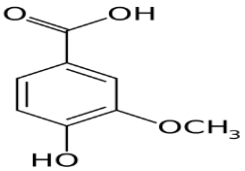
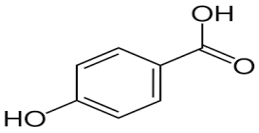
هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية، وتنقسم إلى ثلاث أقسام، أحماض فينولية بسيطة و أحماض مشتقة من حمض البنزويك و أحماض فينولية مشتقة من حمض السينامیك وعموما توجد الأحماض الفينولية في العديد من النباتات الزراعية و الطبية، وكذلك في جميع الحبوب[15].

II-2-5-1: الاحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:

تمتلك الاحماض الفينولية الهيكل (C_6-C_1) ومشتقات حامض البنزويك تعد واسعة الانتشار سواء مرتبطة أو حرة أو في حالة سكريات أو أسترات[16][17].

و من بين المركبات الأكثر شيوعا هي:

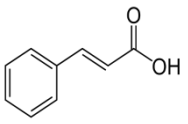
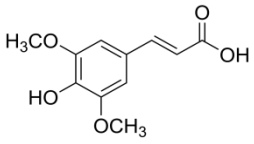
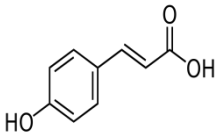
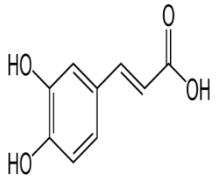
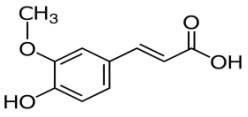
جدولII– 2: امثلة لأحماض البنزويك

امثلة لأحماض البنزويك				
حمض الغاليك 	حمض protocatechuic 	حمض syringic 	حمض الفانيليك 	حمض p- hydroxybenzoic 

II–2–5–2: **الاحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك** :

أغلبية الأحماض الفينولية من الهيكل $(C_6\text{-}C_3)$, حيث تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة ويعتبر حمض*(ferulic)* وحمض*(caffeic)* الأنواع الرئيسية الأكثر انتشارا لها , أما بقية الأحماض الأخرى مثل *(2-coumaric acide)* تعد الأقل تكرار ونادرا ما تكون حرة

جدولII– 3 : امثلة لأحماض السيناميك

امثلة لأحماض السيناميك				
حمض Trancinnamic 	حمض sinapic 	حمض p- coumaric 	حمض caffeic 	حمض ferulic 

II–2–6: **الخصائص البيولوجية والعلاجية للأحماض الفينولية**:

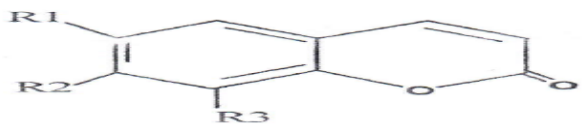
تملك الأحماض الفينولية خصائص بيولوجية مثيرة للاهتمام و تعتبر الأحماض الفينولية ومشتقاتها مسئول عن العديد من النشاطات منها خافضة للحرارة، مضادة للالتهابات، مطهر البولية والكبد، و محفزات حيوية، و يعتبر كل من هذه الأحماض *acide caféique*، *acide gallique*، *acide chlorogénique* مركبات تتميز بأنشطة مضادة للأكسدة، و يعتبر*acide caféique* فعال جدا ضد الفيروسات والبكتيريا و الفطريات، وكذلك حامض الغاليك وحمض الفيرليك التي تظهر أثار مضادة للسرطان في الرئة عند الفئران في المختبر [18][19]

II–2–7: الكومارينات :

II–2–7–1: تعريف :

تتشكل الكومارينات من العنصر ذي البنية (C_6-C_3) اذ تمثل السلسلة من C_3 حلقة اكسيجينية غير متجانسة و اصل تسمية من النبات الذي فصل منه اول مرة *Dipterise odorat , willd* من قبل الباحث Vogel عام 1820 و تعتبر *Ombelliferone* المركب الام للكومارينات , و يمكن لهدريكسيلات الكومارينات البسيطة ان تكون مثيلية *méthyles* و قد تكون احداهما رابطة اتيروزدية [20]

جدول II–4 : بعض الامثلة عن الكومارينات

	الشكل العام للكومارينات : 				
	Ombelliferone	Hemiairine	Esculétol	Scopelétol	Fraxétol
R1	H	H	OH	OCH3	OCH3
R2	OH	OCH3	OH	OH	OH
R3	H	H	H	H	OH

II–3: الفلافونويدات:

يعتبر اخصائيو التغذية ان تعزيز النظام الغذائي الطبيعي الشامل بمعظم انواع مضادات الاكسدة يؤدي الى اطالة فترة حياة الكائن و تحسين صحته و تخفيف علامات الشيخوخة , و قد حظيت الفلافونويدات باهتمام كبير لنشاطيتها الحيوية الكبيرة فهي تساهم في الدفاع الخلوي المضاد لأكسدة و الوقاية من العديد من الامراض [21]

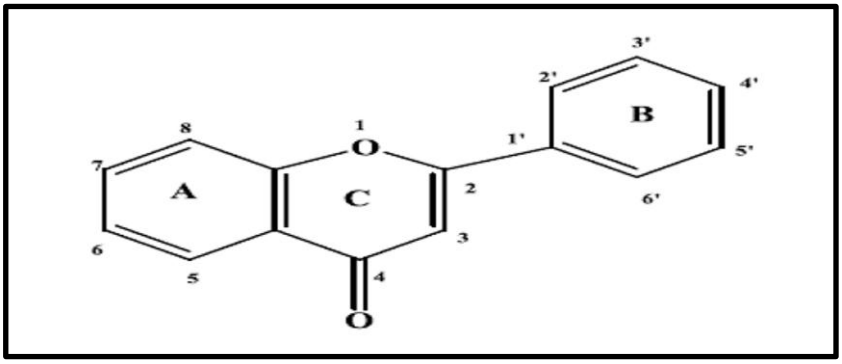
فكانت اول دراسة اجريت حول النشاط البيولوجي للفلافونويدات سنة 1936 من طرف العالم الكيمياء الحيوية *Albert Szent-Györgyi* , حيث انه صنفها على اساس انها فيتامين P [22] فهي احدى اكبر مجموعات الطبيعية في النبات و التي تم تعدادها حوالي 9000 بنية منها في صورة ايتروزيدية (*Hétérosides*) او اجليكونية (*Aglycones*) .[23][24]

II–3–1: تعريف:

يرجع اصل عبارة الفلافونويد الى اللغة اليونانية *Flavus* و قد اشتقت من اللغة اللاتينية *Flavons* التي تعني اللون الاصفر , و هي عبارة عن صبغيات نباتية موزعة على جميع اجزاء النبات , و بشكل اكبر في الجزء الهوائي منه , عموما تعتبر المسؤولة عن الوان الازهار و الثمار و احيانا الاوراق توجد في معظم الاصناف النباتية بالأخص الراقية منها و منعدمة تقريبا عند الطحالب [25]

تملك الفلافونويدات بنية كيميائية مشتركة يتكون فيها الهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون $(C_6-C_3-C_6)$ موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة A و B) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة *Pyrane* او *Pyrone* تدعى الحقة C [26]

تقسم الفلافونويدات بنيويا الى 15 عائلة اهمها ما يلي : الفلافون , الفلافونول , الفلافانول , الايزوفلافون , الشاكلون , الاورون و الانثوسيان و يمكن ان توجد بصورة حرة و تعرف بالاجليكونات و بصورة جليكوزيدات [27]



الشكلII–2: الهيكل الاساسي للفلافونويدات.

II–3–2: تصنيف الفلافونيدات:

بنيويا تتفرع الى عدة انواع تبعا لعدد, موضع و طبيعة المستبدلات [28] . تصنف الى عدة اقسام حيث يمكن تقسيمها حسب درجة تأكسد الحلقة البيرانية C او على اساس طريقة ارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون 2 فهي الفلافونيدات العادية او الكربون 3 فهي الايزوفلافونيدات , او التبادل الموضعي بين الحلقة B في الموضع4 و الوظيفة الكيتونية في الموضع 2 و تعرف بالنيوفلافونيدات [29] الشكل3 يمثل اهم اقسام الفلافونيدات

i- الفلافون (*flavones*) :

تتميز بنية الفلافونات (*Flavones*) بوجود ا ربطة مزدوجة أيضا بين C2 و C3 وتعتبر هذه المجموعة الأقل معرفة من بين الفلافونويدات الأخرى.

ii- الفلافونولات (*flavonols*) :

تملك الفلافونولات (*Flavonols*)ا رابطة مزدوجة بين C2 و C3 مع وجود مجموعة هيدروكسيل في الكربون 3 للحلقة C وتمثل المجموعة الأكثر انتشارا في الأغذية [30]

iii- الفلافانول (*flavonoles*) :

تحمل بنيات الفلافانولات) *Flavanols* (ا ربطة مشبعة على مستوى الحلقة C وتتواجد بشكل أحادي أو متعدد الوحدات مثل *catechin* و *Proanthocyanidin* على التوالي، وخلافا عن الأقسام الأخرى للفلافونويدات تنتشر مركبات هذه المجموعة بشكل غير سكري ومن أمثلتها *catechin* و *epicatechin* المتواجدة بكثرة في الفواكه في حين أن *gallocatechin* و *epigallocatechin gallate* يتواجد خصوصا في الشاي [31]

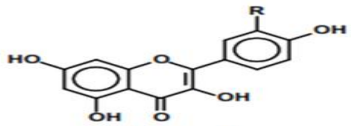
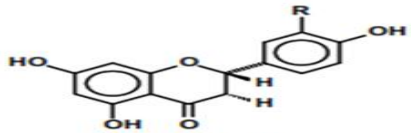
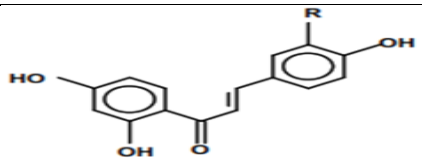
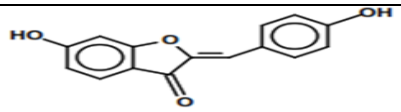
iv- الأيزوفلافون (*Isoflavone*) :

بنية الإزوفلافونات شبيهة ببنية *estrogens* تتميز بوجود مجموعة الهيدروكسيل في الكربون 7 و 4 مثل جزيئة *estradiol* تستطيع الارتباط بمستقبلات *estrogen* لذلك كانت تصنف ضمن الاستروجينات النباتية

v- الأنثوسيان(*Anthocyanes*):

الأنثوسيانات هي صبغات ذائبة في الماء، مسؤولة عن أغلب الألوان الحمراء و الزرقاء والبنفسجية للفواكه والخضر والازهار[32], تظهر بشكل مركبات سكرية ترتبط أساسا في الكربون 3 للحلقة C أو في كربون 5 و 7 للحلقة A ، كما أنه نادرا ما يتم أضافة سكريات على مستوى 3' و 4' و 5' للحلقة B. تتواجد هذه مركبات في بعض من الحبوب والخضار، وبكميات أكبر في الفواكه[33]

جدول II–5 : اهم اقسام الفلافونيدات

	R=H	R=OH
FLAVONES	Apigénine	Lutéoline
 Flavonols	Kaempférol	Quercétine
 Flavanones	Naringénine	Eriodictyol
 Chalcones	Isoliquiritigénine	Butéine
 Aurone		Hispidol

II–3–3: فوائد الفلافونويدات بالنسبة للإنسان :

زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالمركبات الفلافونويدية من قبل العلماء و الباحثين حيث بينت نتائج الابحاث خاصة في ميدان الطب والبيولوجيا كما يلي:[34]

- ✓ تملك فعاليات مفيدة واقية من الامراض [35]
- ✓ تحمي من اضرار الاكسدة الناتجة عن الاشعة فوق البنفسجية و التلوث البيئي [36]
- ✓ تقلل من خطر الاصابة بالسرطان و تمنع نمو الخلايا السرطانية [37]
- ✓ يعتبر مضادا من مضادات الحساسية لدورها المؤثر على انتاج الهيستامين المسبب للحساسية [38]
- ✓ مضاد للجراثيم و الفيروسات خاصة الايزوفلافون [39]

II–3–4: فوائد الفلافونويدات بالنسبة للنبات :

للفلافونويدٌات وظائف وأدوار عديدٌة عند النبات منها :

- ✓ يمكنها التحكم ف نشاط الهرمونات المسئولة عن النمو مثل الأوكسينٌات[40]
- ✓ تعتبر الفلافونويدات من العناصر المسؤولة عن إعطاء اللون للنبات وبصفة خاص الأزهار ، كما أنها تلعب دورا مهم في حماية النبات من الحيوانات الضارة عنها وذلك وبإعطاء طعما مميزا للنبتة[41]
- ✓ تقوم بدور النبات في ايض النبات حيث تشارك في تنظيم نمو النبات بتأثيرها على الهرمونات النباتية[42]
- ✓ حماية النباتات من الإصابات البكتيرية والفطرية[43]
- ✓ تعمل على جلب الحشرات لضمان حدوث الإلقاح [44]

II–3–4–1: التانينات(التانينات) *Les tanins* :

تتواجد الدباغ تقريبا في كل جزء من النبات (الأوراق ، القش رة ، الثمار، الجذ ور)، وزنها الجزيئي يتراوح ما بين 500 إلى 30000 دالتون، تقسم الدباغ إلى مجموعتين دباغ قابلة للإماهة (*Hydrolysable tannins*) و دباغ مكثفة[45]. تتكون الدباغ القابلة للإماهة من مركز سكري غالبا ما يكون الغلوكوز, أما الدباغ المكثفة فهي عبارة عن تكاثف وحدات من *Flavan3-ols* , كما تتميز الدباغ بخاصية الارتباط بالبروتينات مشكلة معها معقدات.[46]

II–3–4–2: دورها بالنسبة للنبات :

النباتات غنية بالتانينات ، و هي تستخدمها لتشديد الأنسجة الرخوة، و التقليل من الإفرازات الزائدة وإصلاح الأنسجة التالفة , و كذلك هي مسؤولة عن الطعم اللاذع للفواكه الغير الناضجة .[47]

II–4: فوائد و استعمالات التانينات :

- تستعمل في علاج الإسهال لمفعولها القابض للأمعاء
- مضيق للأوعية والحد من فقدان السوائل
- تستعمل في الجروح السطحية والحروق و تعمل على وقف النزيف لمفعولها القابض بإضافة إلى تأثيرها المطهر[48]
- التانينات لها قدرات كبيرة كمضادات للأكسدة نظرا لنوى الفينول بهم، التانينات المتحللة والمتراكمة هي 15 إلى 30 مرة أكثر فعالية من الفينولات البسيطة. [49]

II–5: القلويدات *Alcaloïdes*:

II–5–1: تعريف :

أقترح مصطلح قلويد لأول مرة سنة 1818 م [50]من طرف الباحث *(Meisser)* تعتبر القلويدات أحد أهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي[51], القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي, تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها[52].

معظم القلويدات يحتوي التركيب البنائي لها على مجموعات فعالة بها ذرة الأوكسجين مثل المجموعة الهيد وكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر[53].

II–5–2:دور القلويدات وفائدتها بالنسبة للنبات :

القلويدات النباتية تلعب دورا بيولوجيا و فيسيولوجيا هاما خلال فترات دورة الحياة النباتية، متمثلا في الفعالية الحيوية كمنظمات للنمو , وتعتبر كمواد مخزنة للنتروجين ولمواد أخرى التي يحتاجها النبات خلال مراحل النمو، كما تلعب دور دفاعي للنبات لما تحتويه من مواد سامة بحيث تقيه من الحشرات و آكلات الأعشاب والكائنات الحية الدقيقة. وعلاوة على ذلك القلويدات تحمي النباتات من التلف التي تسببها الأشعة فوق البنفسجيةUV .[53]

II–5–3:دور القلويدات و فائدتها العلاجية:

- إن التأثير الطبي للقلويدات يختلف حسب نوع القلويدات فمثلا المورفين *Morphine* و الكودايين *Codaine*قلويدان مسكنان ومخدران .
- الكافيين *Caféine* يعتبر منبها و مزيل التعب
- بابافيرين *Papavérine* مخفف للآلام
- الفلفلين *Pipérine* يعتبر مقو للمعدة
- كولشيسين *Colchicine* يستعمل لعالج الروماتيزم و عرق النسا[50]
- الإفدرين*Ephédrine* يسبب ارتفاع ضغط الدم ويستعمل قلويد الأتروبين *Atropine* في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين**[54]**

II–5–4:الصابونيات *Les saponosides*:

و هي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية و يتعدد السكر ليصل من 2 الى 10 و عليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالي .

و قد اشتق اسمها من الكلمة اليونانية *sapo* بمعنى الصابون لأنها تعطي رغوة كثيفة اذا رجعت مع الماء او الكحولات المخففة و تستمر مدة طويلة .

فهي تتواجد في النباتات ذات احادية الفلقة *monocotylédones* مثل الفصيلة الاماريلية و الاليلية.[55]

II–6:دور الصابونيات البيولوجية :

ولها ادوار كثيرة [56]من بينها :

- تأثر على الاغشية الدهنية ,و تعمل على حث تمديد الدم في المختبر , او عند حقنها وريديا .
- لها اثار سامة لغذاء الانسان و الحيوان
- تستخدم في المنظفات
- مضادة للبكتيريا و الفطريات
- مضاد للالتهاب

II–6–1:التربينات *les terpènes*:

يتواجد منها ما يقارب 9000 مركبا تتكون من وحدتين إزوبرين تندمجان من الرأس إلى الذيل بارتباط بين درة الكربون رقم 1 في الوحدة الأولى مع ذرة الكربون رقم 4 في الوحدة الثانية وهذه المجموعة تعتبر الأهم بالنسبة للنباتات العطرية، ينقسم أحادي التربين بدوره إلى عدة مجموعات إما خطي وإما وحيد الحلقة إما ثنائي الحلقة، أو حتى ثلاثية الحلقة [57]

تقسم التربينات [58] الى :

جدول II–6: تقسيم التربينات

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	احادي التربين *mono terpène*	**2**
15	سيسكوتربينات *sesquiterpènes*	**3**
20	ثنائي التربين *Di terpène*	**4**
30	ثلاثي التربين *tri terpènes*	**6**
40	رباعي التربين *Tétra terpènes*	**8**
اكبر من 40	متعدد التربين *poly terpènes*	**اكبر من 8**

المراجع العربية

1-م.س. و عمر –عبد الرزاق عمر , هيكل النباتات الطبية و العطرية , كيمياؤها, انتاجها و فوائدها .الطبعة الثانية .دار النشر منشاة المعارف بالإسكندرية (مصر) (1993). 13-134.

6- بن سلامة ع , النشاطات المضادة للأكسدة و المثبط الانزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلص اوراق hertia cheirifolia. مذكرة ماستر اكاديمي – جامعة فرحات عباس –سطيف(2012)- 22 ص.

7- بوبطيمة ا , مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية و الطريقة الالكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي . مذكرة ماستر اكاديمي –جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2012). ص. 97

8- م. جرموني, "لنشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة Teucrium polium , » مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء و الفيزيولوجيا التجريبية, جامعة فرحات عباس, سطيف، الجزائر(2009)

9- بن خناثة . المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة الكلخة ferula vesceritensi . مذكرة ماستر اكاديمي , جامعة قاصدي مرباح ورقلة(2014). 83 ص .

10- ناني ب, المسح الفيتوكيميائي و تحليل بعض نواتج الايض الثانوي لمستخلصات نبات cymbopogon schoenanthus . مذكرة ماستر اكاديمي , جامعة 20 اوت 1995 سكيكدة (2019). 15 ص .

11- ربيعي عبد الكريم, "تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية, " University of Ouargla جامعة ورقلة, (2016)

20- زمالي ج . – دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة الصحراوية . solanum nigrum مذكرة تخرج ماستر اكادمي – جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2007). ص49

22-بن مرعاش ع., – دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة الأكسدة للنبتة (Convolvulus supinus Coss. & Kral. (Convolvulaceae . مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء. جامعة منتوري قسنطية.الجزائر (2012). 136 ص.

25- عاشوري امال . فصل و تحديد منتجات الايض الفلافونيدي pulicaria crispa . مذكرة ماجستير قسنطينة , جامعة منتوري قسنطينة , (2006), 36-26-21 ص

28- زيدان محمد , دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان , جامعة قاصدي مرباح ورقلة , 2018 .

50-حوه إ., - دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة .قاصدي مرباح. ورقلة(2013). 109 ص.

51-طه ح . , - النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها . دار المريخ للنشر. الرياض(1981). ص .112- 6

52-الحازمي ح . ، - المنتجات الطبيعية . مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية (1995) 125 – 120 ص

54-العابد إ . , - دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران .Traganeum nidatum مذكرة ماجستير. جامعة قصدي مرباح. ورقلة (2009). 106 ص.

المراجع الفرنسية

1-Franswothn.R. Akereloo.,BingelA. S.,Soej qrto D.D.et GuoZ.Place Des Plants medicinales Dans la Therapeutque.Bull.O.M. S. (1 986) . 64(2), I 59 -L7 5 .,2"d

2- Gill .min the chemistry of natural products ,2nd (ed.R.H.Thomson).blackie.Glasgow.(1993) . pp :60.

3- HHURABLEILLE M., Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1 Généralisés. Mongraphies. Masson)1980(-, P :10-18 ,261-266

4- Simpson-T.Jinthe chemisyry of natural products (ed.R.H.Thomson) .Blackis .glasgon, (1984) pp :107.

5- M. Shukla, K. Gupta, Z. Rasheed, K. A. Khan, and T. M. Haqqi, "Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punica granatum L) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE 2 production in human chondrocytes in vitro ",Journal of inflammation, vol. 5, pp. 1-10, (2008).

12- H. Harkat, "Hétérocycles oxygénés et composés aromatiques de Frankenia thymifolia Desf," UB1, (2008.)

13- K. KANOUN, "Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine)," (2011.)

14- ATHAMENA S., - Etude quantitative flavonoides des grains de Cuminum cyminum et Les feuiles de Rosmarinus officinalis et l'evaluation de l'activite biologique. Memoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister. Université El -Hadj Lakhder Batna(2009). 126p.

15- KANOUN K., - Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Universite Aboubekr Belkaid Tlemcen(2011).118 p.

16- J. B. Harborne, "Biochemistry of phenolic compounds," Biochemistry of phenolic compounds.,(1964).

17- B. J. Pharmacognosie, "phytochimie, plantes médicinales," Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris, (1999).

18- BENHAMMOU N., – Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thése doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen(2012). 174 p

19- BOUKRI N H., - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla(2014). 99 p.

23- H. J, The Flavoniods: Chapman and hall, Ltd,, 1988.

24- C. A. Williams and R. J. Grayer, "Anthocyanins and other flavonoids," Natural product reports, vol. 21, pp. 539-573, (2004).

26- Cazarolli L. H., Zanatta L., Alberton E .H., Figueiredo M. S., Folador P., Damazio R. G., Pizzolatti M. G. and Silva F. R.(2008). Flavonoids: prospective drug candidates. Mini Rev Med Chem. 8: 14291440.

27- MIDLETON E., - The flavonoids. trends pharmacol Science. Art. Sci. 5, (1984)pp. 335– 338.

29-BENZAHI K., Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante Cynodon dactylon-L " chiendent". Thème de Magister Université Kasdi Merbah Ouargla(2001)4p.

30-Cortell JM, Kennedy JA. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (Vitis vinifera L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. J Agric Food Chem.54: (2006)8510-8520

31-Arts IC, Van de Putte B, Hollman PC Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. J Agric Food Chem. . (2000) 48:1746-1751

32-G. Mazza, J. E. Cacace, and C. D. Kay, "Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids," Journal of AOAC international, vol. 87,)2004(pp. 129-145,

33-M. D Archivio, C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, and R. Masella, "Polyphenols, dietary sources and .,(2007)bioavailability," Annali-Istituto Superiore di Sanita, vol. 43, p. 348

34-PIETTA P., 2000. Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural .Products,63(7),1035-1042

35-ZHOU J., WANG L., WANG J., TANG N.,. Antioxidative andantitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. Transition .63,26(1-2), 57-) 2001(Met. Chem

36-YOCHUM L.,. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. American Journal of Epidemiology. .1999p: 149-10

37-HERTOG M., - Flavonoid intake and long-term risk of coronary and heart. disease cancer in the seven countries study. Archives of Internal ..(1995)Medicine, Vol. 155 No. 4p:28

38-CHAUDHRY P., CABRER A ., JULIANI H., VARMA S., - Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, sulindac and Indomethacin Biochem Pharmacol, vol 32. (1983)p:1995.

39-ZHOU J., WANG L., WANG J., TANG N., 2001. Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. Transition Met. Chem ,26(1-2), 57-63.

40-Harborne J.. The flavonoids, advances in recherch since 1980.

Eds Chapman and Hall, New York(1989).

41-Medic M., Jasprica I., Smolcic-Bubalo A., Mornar A Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croatica Acta . (2004)., p:361-366.

43- Harborne J. Phytochemistry. Litton Educational Publishing Inc,

Lawrenc P, L , ed , Vol II (1973)., p:334.

44-Wollenwebre E., Dietz V. Biochemical Systematic and Ecology.(1980) , v 8 , p:21.

45-Charlton A. J., Baxter N. J., Khan M. L., Moir A. J., Haslam E., Davies A. P. and Williamson M. P. Polyphenol/peptide binding and precipitation. J Agric Food Chem. .(2002)50: 1593-1601.

47-BENHAMMOU N., - Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thése doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen. (2012)174 p.

48-BOUKRI N H., - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla(2014). 99 p.

49-FERRADJI A., - Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister. Université Ferhat Abbas.Setif(2011). 90p.

53-MAURO NM., - Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±) camptothécine. Thèse doctorat, Université Joseph fourier(2006). 195p.

55-Richter.EMetabolisme Des végétaux. Physiologie et Biochemie .(I 993).pp:376

56-BRUNETON J., - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. Tec & Doc, Paris. (1999)P : 484 – 510.

57- -JOHN B., -Dictionary of Natural Products, England(2006).267p

58-Guigpard. J-L B iochimie végétale'2'*" Ed. De I'Abréeé - (2000) .pp.274.

الفصل الثالث : دراسة الفعالية البيولوجية

مدخل :

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى يتعامل معها الانسان دون ان يراها , فقد عرف انها تسبب الامراض , و لقد كان الكشف المجهري الاثر كبير في العرف عليها ولقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان ادى الى اكتشاف المضادات لهذه البكتيريا تسمى المضادات الحيوية التي تعمل على مقاومة البكتيريا [1].

ففي عام 1859 كان اول اكتشاف للبكتيريا على يد العالم الفرنسي لويس باستور (*louis pasteur*) , اكتشف البكتيريا الهوائية و اللاهوائية من خلال تجارب التخمر و اكتشف طعومها , و ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية المتواجدة في السوائل .

و العالم الالماني روبرت كوخ (*Robert kokh*) عمل على اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض و يعتبر اول من عمل مزارع نقية للبكتيريا[2][3].

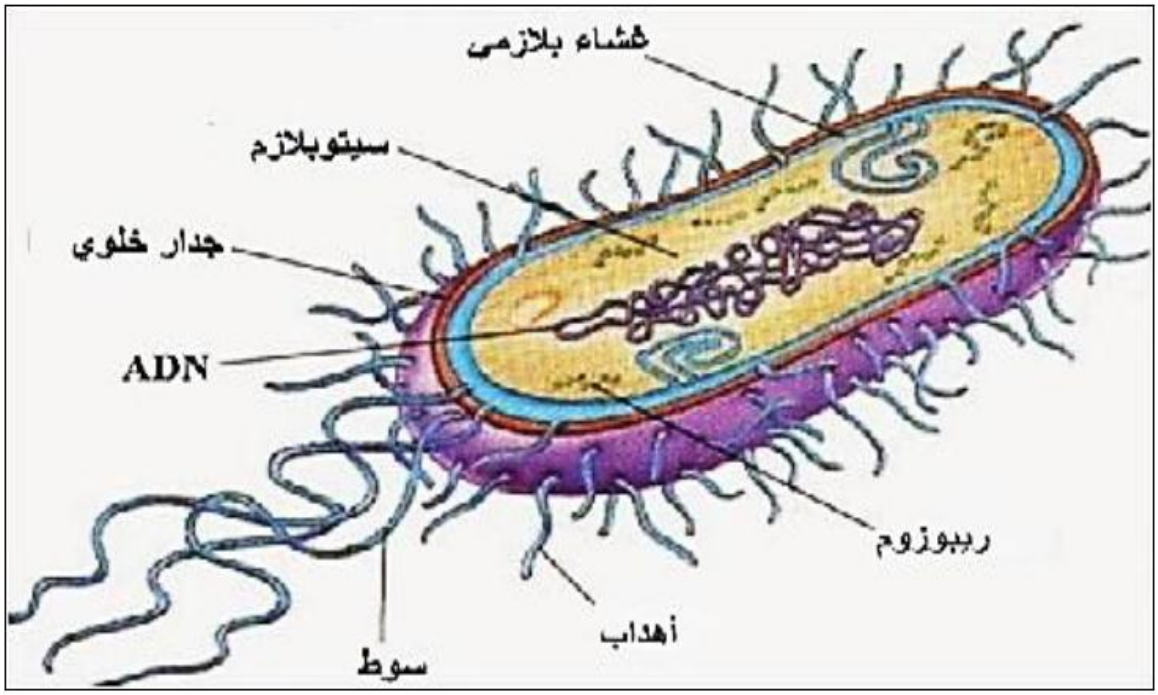
ولكن الاكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة المياه و المعالجة الحيوية لمخلفات المزار ع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان[4].

III–1: البكتيريا :

III–1–1: تعريف:

هي كائنات حية دقيقة تكون أما كروية أو عصوية أو حلزونية, تتميز بالصفات العامة التي تتميز بها الاحياء جميعا , و هي النمو التكاثر التنفس و التغذية و الحركة والموت ,غير انها وحيدة الخلية ذات حجم دقيق , بدائية النواة *procaryote* فنواتها غير محاطة بغشاء نووي , تتكاثر عادة بالانقسام الثنائي البسيط *Binary fission*[5]

و هي تمثل ابسط انواع الكائنات الحية الخلوية , و هي تضم مجموعة كبيرة من المجهريات الواسعة الانتشار في الكرة الارضية [6] والمعروف عنها انها تعيش لأعوام طويلة ولها القدرة على تحمل جميع الأحوال الغير مناسبة، حيث تتواجد في كل مكان الماء والهواء والتربة. ولكن معظمها غير ضار وهي عوامل بيئية نافعة تحافظ أنشطتها الأيضية على أعلى أشكال حياة .[7]



الشكل III –1 : شكل يوضح بنية البكتيريا .[6]

III–1–2: تسمية البكتيريا :

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية *(Binominal)*حيث ينقسم الاسم الي مقطعين المقطع الاول من الاسم يعبر عن الجنس*(Genre)* والمقطع الثاني الي نوع*(espace)* وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في *(Staphylocoque Streptocoque)*أو اسم المكتشف مثل *(Escheriche.Coli)*

أما بالنسبة للنوع فقد يشير الي المرض كما هو الحال *(Cholerae)* و *(VibrioCholerae)* أو مكان عزلها كما هو الحال في *(E.Coli)* تعزل في *(Une-cole)* اوقد يحمل صفات اللون مثل *(Staphylocoque aureus)* اي الذهبية.

III–1–3: المكونات الخلية البكتيرية:

لديها اربع مكونات اساسية و اخرى ثانوية كالتالي :

III–1–3–1: المكونات الاساسية :

i- جدار خلوي(*Paroi cellulaire*):

جدار خلوي سميك و صلب [8] وهو الذي يعطي للخلية شكلها الثابت والمميز , كما انه يقوم بحماية محتويات الخلية الداخلية , يتركب الجدار من مادتين هما مادة الكربوهيدرات و البيبتيدات [9].

ii- الغشاء البلازمي(*Plasma membrane*) :

غشاء رقيق جدا مكون من الدهون والبروتينات، يتألف من بلايين الثنيات، وظيفته المشاركة في عملية انقسام البكتيريا وهو مركز انزيمات التنفس ويحدد نوعية وكمية المواد التي تنفذ من أو الي البكتيريا والتي تعرف بالنفاذية الاختيارية.[10]

iii- سيتوبلازم (*Cytoplasmes*):

يتكون من خليط معقد من مواد بروتينية وكربوهيدراتية ودهون وأحماض أمينية وأملاح و وفيتامينات، وتوجد هذه المواد مذابة في الماء أو معلقة فيه ووظيفة السيتوبلازم أنها مركز للعمليات الحيوية بالخلية ويتكون حوالي 85 % من وزنه ماء و 15 % مواد صلبة كما يحتوي السيتوبلازم على مواد غذائية مدخرة . وتوجد أيضا تعرف بالريبوزومات، وظيفتها بها حبيبات من مداد *ARN* تكوين البروتينات سواء كانت تركيبة أو وظيفية

مثل الإنزيمات والهرمونات. وكذلك يوجد بها حبيبات مكونة من تحمل صفات (جينية) معينة وتعرف *ADN* بالبلازميدات.[11]

iv- نواة بدائية *Nucleoide* :

هي الماد ة التي تحمل الوراثية لتواجدها في المنطقة النووية في السيتوبلازم في بدائيات النواة غير محاطة بغشاء نووي ، وهي عبارة عن جزيء طويل مفرد من ال*ADN* في صور حلقية يرتبط ارتباط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسم بالكرموسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية عل كرموسوم واحد [8] .

III-1-3-2: المكونات الثانوية:[9]

i- البذور(*Spores*):

عندما تسوء الظروف البيئية تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميكا يحيط النواة وقليل من السيتوبلازم ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تضل حية لمدة طويلة الي أن تتحسن الظروف ،فيتشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل البكتيريا مثل الجمرة الخبيثة و كلوستريديا و الغرغرينا الغازية .

ii– الاسواط(*Flagella*) :

زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين، أو من جميع سطح البكتيريا.

iii– الحافظة (*Capsule*):

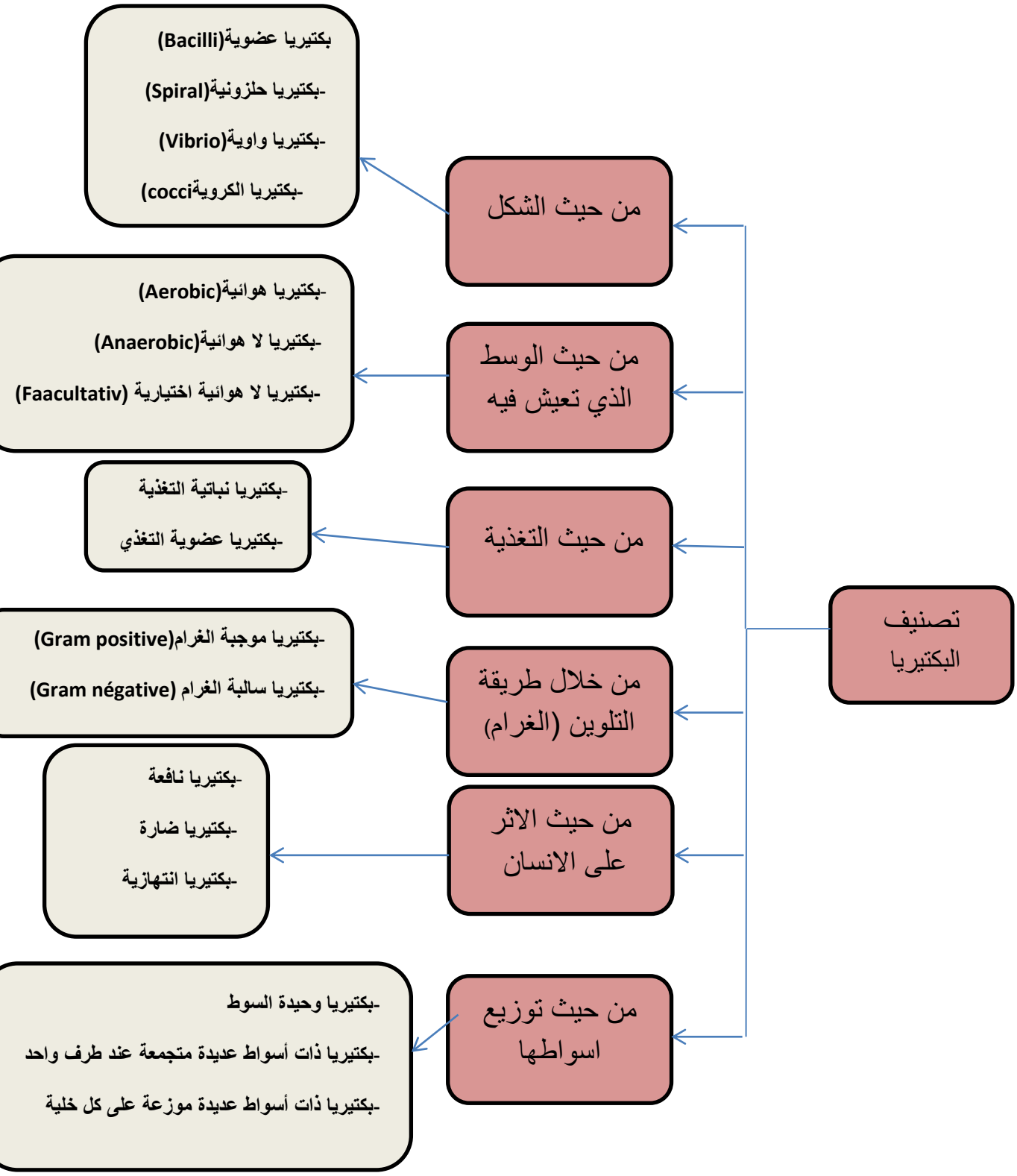
طبقة هلامية سميكة تحيط بالبكتيريا وتمنع التصاقها بالخلايا البلعومية (*Phagocyte*) لذلك فهي من العوامل الضرورية لبعض الانواع وتوجد في الثنيات الرئوية والجمرة الخبيثة .

iv– الهدبيات (*Ciliés*):

زوائد دقيقة جدا تدعى (*pilli*) , وظيفتها تثبيت على سطح الخلايا العائلة وبعضها يعرف بالهدبيات الجنسية التي تلتصق ببعضها لاندماج الانوية من خلية لأخرى وهي مسؤولة عن ضراوة البكتيريا مثلا بكتيريا السيلان.

III–1–4: أساس تصنيف البكتيريا

تختلف البكتيريا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة وانتاج الغازات ($CO2$ الناتج من الغلوكوز) وافراز السموم والانزيمات وأيضا تختلف من حيث البنية وشكل الخلايا والقدرة الحيث البنية وشكل الخلايا والقدرة الإمراضية وكذلك حساسيتها للمضادات الحيوية هذا الاختلافات أظهرت طرقا حيوية متعددة لتميز البكتيريا. إن الهدف الأساسي من تصنيف البكتيريا هو التعرف على أنواع مختلفة مان البكتيريا وتشخيصها و وضع أسمائها في مجموعات لدراسة كل من العلاقة فيما بينها وطبيعتها الوراثية.[12]



الشكل III–2: مخطط توضيحي لتصنيف البكتيريا

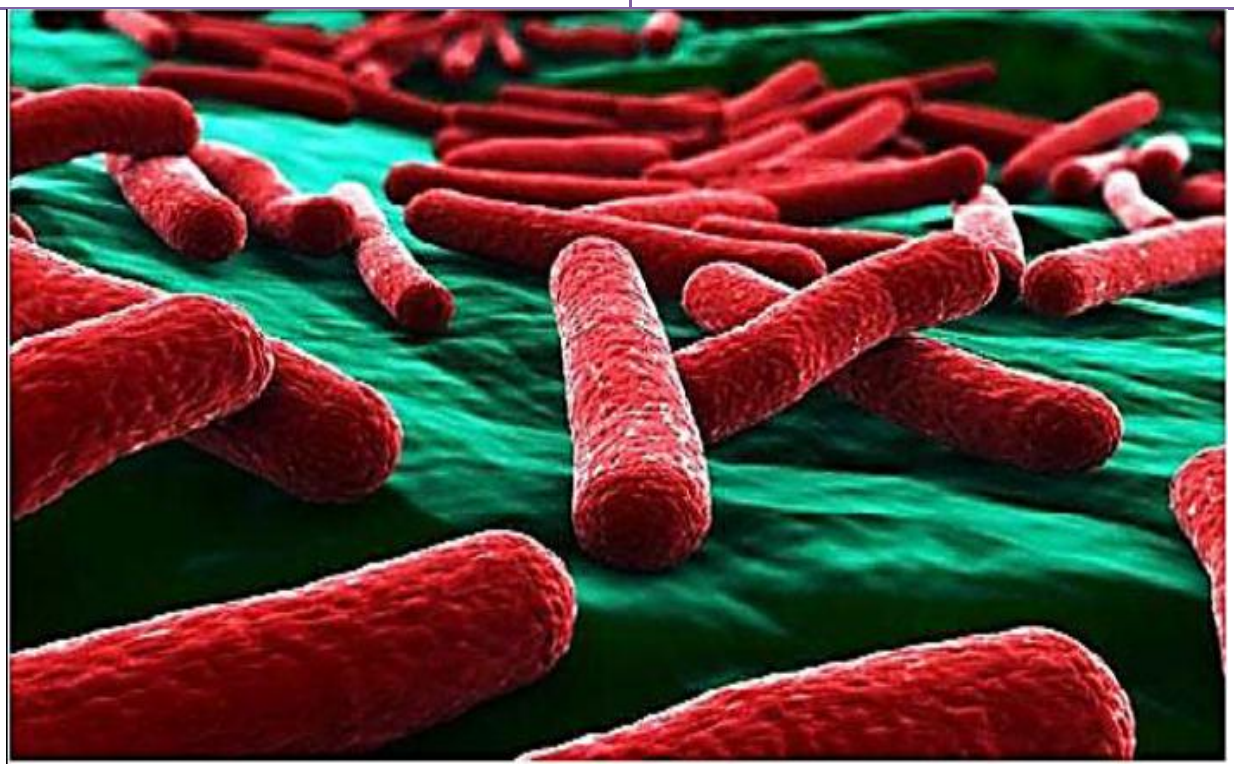
III–2: البكتيريا المستعملة في الدراسة :

III–2–1: بكتيريا *Escherichia Coli* :

هي بكتيريا ذات - *Gram* , و التي تنتمي الى

جدول III –1: التصنيف العلمي *E.Coli* [13] [14]

Bactérie	المملكة
Protebactérie	التصنيف
Gammaproteobacteria	القسم
Enterobacteriales	الرتبة
Enterobacteriaceae	العائلة
Escherichia	النوع
Escherichia coli	الصنف



الشكل III– 3: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا*E . Coli*

هي بكتيريا موجودة في الجهاز الهضمي للإنسان او الفضلات الحيوانية (G^-) عصوية الشكل ذات ابعاد من 1 ميكروميتر الى 3 ميكروميتر , سالبة غرام , تتكاثر بسرعة عند درجة حرارة 37° تمتاز بأنها تنتج كمية CO_2 مساوية لكمية ال O_2 تؤدي الى تحميض اللبن و بالتالي تخثره اضافة الى تسببها لعدة امراض :

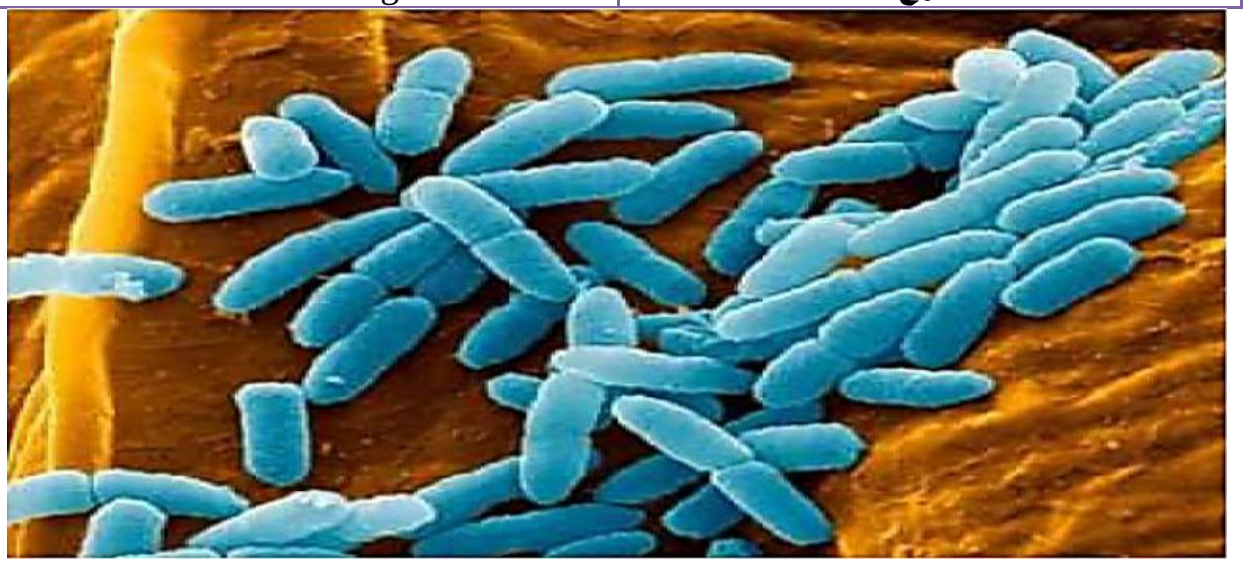
كأمراض الجهاز التنفسي , التهاب الزائدة الدودية , التهاب القلب , الاسهال الطفيلي , و تسبب في ارتفاع شديد في درجة الحرارة عند انتشارها في الدم [15][16].

III–2–2: بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا ذات غرام موجب + *Gram* تنتمي الى

جدول III –2: التصنيف العلمي *Pseudomonas aeruginosa*

المملكة	Bactérie
الصنف	Pseudomonabactéries
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
الجنس	Pseudomonas
النوع	Pseudomonas aeruginosa



الشكل III– 4: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا *P. aeruginosa*

هي اقوى انواع البكتيريا المقاومة طبيعيا لمعظم المضادات الحيوية , لامتلاكها القدرة على التصدي لهذه المضادات بعدة طرق مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان , الماء او التربة , و هي من نوع G^+ متحركة هوائية , تكون على شكل عصيات مستقيمة بأسواط طرفية , طولها ما بين (1,5 – 4) ميكروميتر و عرضها (0,5-1) ميكروميتر

تعمل على الاتلاف السطحي للأغذية المبردة و محللة للدهون الموجودة في اللبن مما يؤدي الى تغير لونه و طعمه , و ترتبط ايضا بحالات العدوى المكتسبة في المستشفيات خصوصا في غرف العمليات الجراحية , تنمو في نطاق حراري واسع ما بين 34 الى 43 [17]

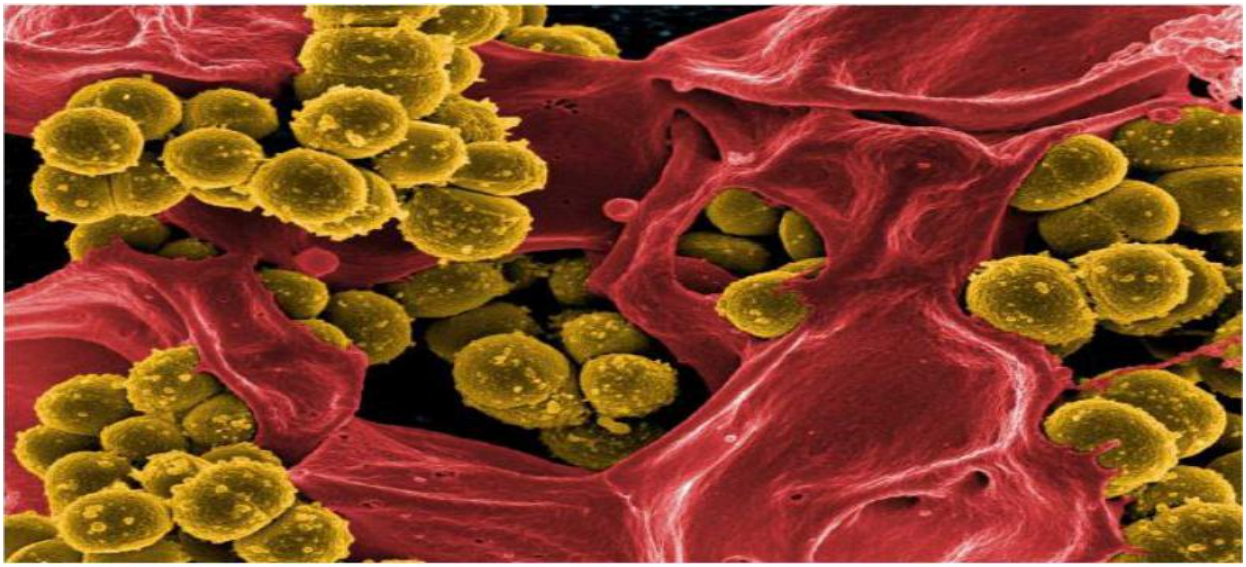
تعتبر ممرضة للإنسان و الحيوان حيث تسبب تعفن كل من العين و الحروق و الجروح كما تسبب أمراض الرئتين و السحايا .[18] [19]

III–2–3: بكتيريا *Staphylococcus aureus*:

هي بكتيريا ذات *Gram+* تنتمي الى

جدول III–3: التصنيف العلمي ل *Staphylococcus*

Bactérie	**المملكة**
Firmicutes	**الصنف**
Bacilli	**القسم**
Bacillales	**الرتبة**
Staphylococcaceae	**العائلة**
Staphylococcus	**الجنس**
Staphylococcus aureus	**النوع**



شكل III–5: صورة بالمجهر الالكتروني لبكتيريا *S. aureus*

هي بكتيريا كروية الشكل عديمة الحركة تكون على شكل عناقيد مكومة قطرها حوالي 1 ميكروميتر تتواجد عند الانسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه ، تنمو بالتنفس الهوائي أو التخمر وهي مسؤولة عن تشكل الصديد، مسببة للعديد من الأمراض من بينها التهابات جلدية خطير والتهابات الرئتين وتسم الدم وغيرها[20] [21]

III–3: المضادات الحيوية:

III–3–1: تعريف المضادات الحيوية:

كان اول استعمال لكلمة المضادات الحيوية سنة 1889 من طرف العالم *Vullemin* الذي عرفها بأنها الظروف التي تقتل تحتها كائن حي من طرف كائن حي اخر , و عرفها ايضا العالم *Waksman* سنة 1945 بانها الظاهرة ترجع الى افراز مواد كيماوية تؤثر سلبا على المكروبات [22]

و هي عبارة عن مادة او مركب يقتل او يثبط نمو الجراثيم و البكتيريا , و تستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثير من الامراض الميكروبية.[23][24][25]

III-3-2: انواع المضادات الحيوية :[26]

للمضادات الحيوية قسمان رئيسيان هما:

III-3-2-1: مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع وكاثرها وهو ما يساعد على القضاء عليها.

III-3-2-2: مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها أو التسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها أو حتى بمنع تكوين البروتين داخل الخلية.

III-3-3: طرق تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب أو تثبيط الميكروبات وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للخلية أو على الغلاف الداخلي أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين.

III-3-3-1: مضادات تعمل على ايقاف نسخ ال *ADN*:

تجعل عمل ال *ADN* مضطربا , و ذلك ما يمنع الخلية من الانقسام و تكوينها للأنزيمات الخاصة بذلك [27][28]

III-3-3-2: مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء السيتوبلازمي:

كما هو معروف وجود بعض المضادات الحيوية تأثر على هندسة *Apidoprotine* لهذا الغشاء فيقوم بتحللها مما يؤدي الي فقد السيتوبلازم الكروموزومي [29]

III-3-3-3: العمل على جدار الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط *Transpeptidase* هذا ما يمنع من تركيب *Peptidoglycane* وهذا ما يوقف نموها وعملها.[28]

III-3-3-4: العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكن من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي, ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا , هذا ما يسمح بتدميرها.[28]

III-3-3-5: المقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:

i- تعريف المقاومة:

هي قدرة البكتيريا على النمو و التكاثر في وجود نسبة من المضاد الحيوي ,و قد ظهرت المقاومة البكتيرية عند استعمال المضادات الحيوية في الامراض المعدية , لأنها اظهرت مقاومة شرسة فقد اصبحت امرا مستعصا على الاطباء لأنها في تطور مستمر[30].

هناك نوعان من المقاومة البكتيرية :

- ✓ مقاومة طبيعية
- ✓ مقاومة مكتسبة

ii- أسباب مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

تكون المقاومة على شكل طفرة جينية تلقائية أو مكتسبة أو اكتساب جين مقاوم من بكتيريا أخرى. حتى وان كانت سلالة مغايرة ويتم ذلك عن طريق عملية نقل الجين الأفقي ويرجع سبب زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية من أسبابها التعرض الكثير للمضادات الحيوية المستهلكة بدون أذن الطبيب ولا وصفات طبية، وبالتالي تظهر مقاومة وظهور عدة أجيال جديدة .[29]

iii- كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

هناك طريقة تحليلية لتحديد مدى فعالية المضاد الحيوي على الميكروب , و هي الأفضل لمعالجة المرض المتسبب و هناك طريقتين للمعالجة و هما :

❖ طريقة الانتشار (*Méthode de diffusion*):[31]

وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية ، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز وأهم وسط جيلوزي هو (*Hilton Muller gélose*) نسبة للباحث الذي حضره (*Hilton Muller*) عام 1941، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي وتحديد التركيز الأدنى للتثبيط *CMI* (وهو أقل تركيز يبدأ عنده تثبيط نمو البكتيريا) ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية :

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي, يسكب بكميات محددة في علب بتري, يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي, ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي) , تدخل العلب الحاضنة للتجفيف, بعدها توضع أقراص الاختبار معقمة و مشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته, ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة 37 °م لمدة 18 سا – 24 سا.

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي ، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا

- اذاكان قطر التثبيط اكبر او يساوي 15mm فهي حساسة .
- اذاكان قطر التثبيط اصغر من 15mm فهي متوسطة الحساسية .
- اذاكان قطر التثبيط منعدم فإنها مقاومة للمضاد الحيوي .[32]

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على مدى الانتشار الجيد للمضاد الحيوي في وسط الزرع.

شكل III– 6: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا.

❖ **طريقة التمديد (*méthode de dilution*)**:

تعتمد على اجراء تخفي متدرج للمضادات الحيوية في أنابيب اختبار او تخفيف الآجار في الاطباق ثم يزرع الميكروب , ويتم تحديد أقل جرعة مثبطة لنمو الميكروب *CMI* وبالطبع المضاد الحيوي و أقل *CMI* هو الذي يتم اختياره بعد النظر في ظروف المريض.[33]

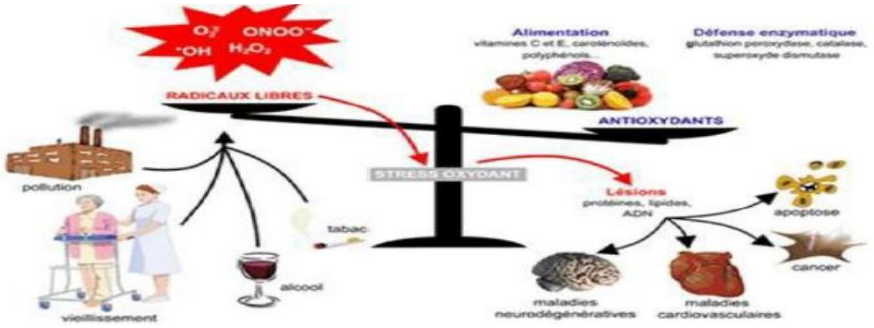
III–4: الجذور الحرة:

عملية إنتاج الجذور الحرة في الجسم من الأمور الطبيعية، وتحصل نتيجة عملية تدعى الأيض الخلوي، وتعتبر الميتوكوندريا المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الجذور، تتسرب من 2 % إلى 5 %من الأوكسجين المستخدم في الأيض الأوكسيجيني داخل الميتوكوندريا خارج النظام لتشكل ما يطلق عليها الجذور الحرة . الجذور الحرة تعمل على تخريب الخلايا، الأنسجة والأعضاء مؤدية للأمراض الحادة والمزمنة [34]

للجذور الحرة دور كبير في الآليات الجزئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبعيي في الجسم ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجة, وبموازاة ذلك يتركز الاهتمام على دراسة مضادات المؤكسدات *antioxydants* داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضوي من أضرار الجذور الحرة [35][36][37].

كما تعتبر مضادات الأكسدة ثورة العالم الحديث فهي تعتبر مواد ذات أهمية بالغة كونها تحمي الجسم عن طريق محاربة الجذور الحرة والناتجة عن الإجهاد التأكسدي مثلا وبذلك خلق التوازن بين المواد المؤكسدة من جهة والمواد المضادة للأكسدة من جهة أخرى[38].

لمعرفة أهمية مضادات الأكسدة كان يجيب التطرق إلى ما يعرف بالجذور الحرة والإجهاد التأكسدي.



الشكل III–7: مقياس الجذور الحرة/مضادات الأكسدة [39]

III–4–1: تعريف الجذور الحرة:

تعرف الجذور الحرة على أنها الأصناف الكيميائية الذرية أو الجزيئية التي تحتوي على إلكترون أو أكثر أعزب في مداراتها الخارجية , تتولد عموما لثناء التفاعل الكيميائية [40] .

حين يفقد الجزيء أحد الإلكترونين فإنه يصبح غير مستقر و مؤذ للجزيئات الأخرى المجاورة، و عدم الاستقرار هذا يكون عن طريق استقبال إلكترون آخر أو عن طريق نقل الإلكترون الحر إلى جزيئة أخرى, تنتج هذه الأنواع الجذرية غير المستقرة و النشطة جدا بشكل مستمر في العضوية من خلال العديد من الظواهر البيولوجية [41].

الشكل III–8: صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة.

III–4–2: أنواع الجذور الحرة

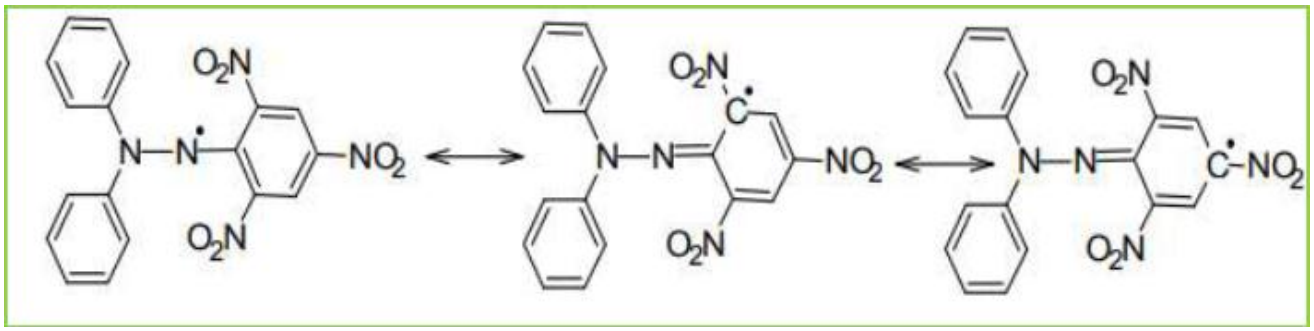
و تنقسم الى قسمين :

III–4–2–1: *الجذور النشطة أو غير مستقرة:*

و هي التي تقدر اعمارها بالميكرو ثانية و اقل تصل حتى بالبيكو ثانية , وتشمل بعض العناصر مثل: ذرات الهيدروجين والنيتروجين والفلور والكلور والبروم واليود وكذلك الجذور التي لها وزن جزيئي صغير بصفة عامة نذكر منها : الميثيل CH_3 و الايثيل C_2H_5 و الفينيل C_6H_5 و الهيدروكسيل OH [42]

III–4–2–2: *الجذور الحرة المستقرة:*

حيث يقدر اعمار حياتها بالثواني او الدقائق او الساعات و حتى بالأيام مثل جذر ال *2-diphényl-1-picrylehdrazyle (DPPH)* [43] .



الشكل III–9 : البنيات الرنينية في جزئ *DPPH*

III–4–3: فعالية الجذور الحرة:

معظم الجذور الحرة على درجة عالية من الفاعلية وعادة لا يمكن فصلها، وفي بعض الاحيان لابد من استخدام طرق غير مباشرة للكشف عن أحد الجذور, وطاقات التنشيط بين جذرين حرين ضئيلة للغاية تقرب من الصفر غالبا ومع ذلك فالمعدل الحقيقي للتفاعل يعتمد على سرعة تقابل الوحدتين مع بعضهما البعض.

ومثل هذه التفاعلات توصف بأنها محكومة بالانتشار وتنطوي خطوة الايقاف في كثير من التفاعلات المتسلسلة على هذا الطراز من الاتحاد بين الجذور السريعة.[44][45]

III–4–4: دور الجذور الحرة:

الجذور الحرة لها دور مزدوج إما أن تكون ضارة أو نافعة للأنظمة الحية ففي حالة انخفاضها وفي شروط معتدلة تلعب الجذور الحرة دورا حيويا:

- قتل الجراثيم باستخدام إنزيم الميليوبروكسيداز و ذلك عن طريق تحفيز من بيرو كسيد الهيدروجين. [46]
- تمايز الخلايا بشكل عام تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد.[47][48]
- للحفاظ على الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم أساسا في الجهاز المناعي, إنضاج هيكل الخلية، اليات عمل الخلايا. [49]

III–4–4–1:الأمراض الناجمة عن الجذور الحرة :

تتسبب الجذور الحرة في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان بما في ذلك [50][51]:

- ✓ اضطرابات الأعصاب مثل مرض الزهايمر، مرض باركنسون، التصلب المتعدد، التصلب الجانبي الضموري، فقدان الذاكرة و الاكتئاب .
- ✓ الاضطرابات الرئوية مثل التهاب الرئة، مرض الربو، مرض الانسداد الرئوي المزمن و أمراض الكبد.
- ✓ الاضطرابات الكلوية مثل التهاب الكلية و الفشل الكلوي المزمن.
- ✓ التهاب المفاصل الروماتيدي و البنكرياس.
- ✓ أمراض الجهاز الهضمي مثل القرحة المعدية، التهاب القولون و الأمعاء.
- ✓ ارتفاع ضغط الدم و الصدمات النفسية.
- ✓ الايدز و الأورام السرطانية.
- ✓ أمراض القلب و الأوعية الدموية .

III–5: مضادات الاكسدة:

III–5–1: الاجهاد التأكسدي:

إن التأثيرات التي تحدثها الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يمكن أن تؤدي إلى تغيرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية, حيث أظهرت الكثير من الدراسات أن الإجهاد التأكسدي مرتبط بظهور العديد من الأمراض كعامل محفز لها أو بالمضاعفات المطورة لها .

أصبح الإجهاد التأكسدي ظاهرة العصر فهو يتسبب في العديد من الاضطرابات الخلوية مؤديا إلى الكثير من المشاكل الصحية. يعرف على أنها اختلال التوازن بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة وهذا نتيجة لانخفاض مضادات الأكسدة أو الإنتاج المفرط للجذور الحرة.[52]

الشكل III–10: أهم العوامل المسببة للتأكسد– تدريب المنتج [53]

كثيرا ما نسمع مصطلح المواد المضادة للأكسدة ولكن الكثيرين منا لا يعلم بالضبط ماهي المواد المضادة للأكسدة أو السبب في أنها مهمة ولذلك نتطرق الي تعريف بهذه المواد بما في ذلك تصنيفها وأين يكمن دورها.

III-5-2: تعريف مضاد الاكسدة:

هي جزيء أو ايون أو جذر مستقر نسبيا قادرة على تأخر أو منع أكسدة جزيئات أخرى , تحمي الخلايا من الأضرار التي تسببها الجزيئات غير المستقرة و التي تعرف بالجذور الحرة , و تتكون من مجموعتين رئيسيتين هما منع بدء الأكسدة و إبطاء تطور سلسلة التفاعلات , حيث تعرف على انها أي مادة تكون بتركيزات منخفضة مقارنة بما كانت عليه المواد القابلة للأكسدة , تؤخر أو ربما تمنع أكسدتها و توجد بوفرة في الفواكه، الخضروات، الحبوب، المكسرات، بعض اللحوم، الدواجن و الأسماك , فهي تلعب دورا كبيرا في تأخر تفاعلات أكسدة دهون المنتجات الغذائية . [55][54][56]

III-5-3: اقسام مضادات الاكسدة:

تنقسم الى قسمين هما :

III-5-3-1: مضادات اكسدة طبيعية :

المقصود بها ما تنتج الماد الحية من مضادات كالإنزيمات والفيتامينات وتنقس إل قسمين[57]:

III-5-3-2: مضادات الاكسدة الانزيمية:

تلعب هذه الانزيمات دورا فعالا في وقاية الجسد من التأثير المدمر للجذور الحرة وينتج الجسد بعض

الانزيمات المضاد للأكسدة أهمها :

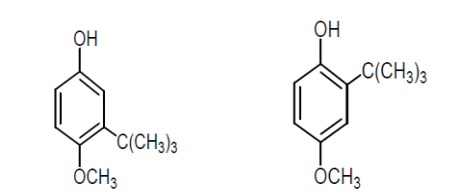
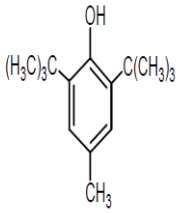
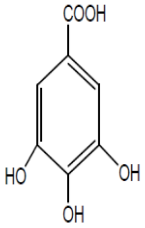
- ✓ انزيم (SOD) *Superoxide dismutase*
- ✓ انزيم (CAT) *Catalase*
- ✓ انزيم (GP_X) *Glutathion peroxidase*
- ✓ انزيم (GR) *Glutathion reductase* [58]

III-5-3-3 : مضادات الاكسدة الغير انزيمية:

تأتي معظم هذه المضادات من الاغذية [59], و تشمل هذه المركبات المواد الكبريتية و عديدات الفينول و الفيتامين C و الفيتامين E و غيرها. [60]

III-5-3-4: مضادات الاكسدة الصناعية :

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة لتقليل من إفسادها إل أقصى حد و لذلك لتأكسدها قبل غيرها , وكذا تستعمل في صناعة المطاط والمشتقات البترولية منها [61]:

Buthylhydroxylanisole(BHA)	Buthylhydroxyltoluéne (BHT)	حمض الغاليك
 3-tert-butyl-4-methoxyphenol 2-tert-butyl-4-methoxyphenol	 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (Butyl hydroxy toluene)	 3,4,5-trihydroxybenzoicacid (Ac.gallique)

III-6 : تقنيات التحليل الكيميائي:

هناك العديد من التقنيات و الطرق للتحليل الكهروكيميائي منها الامبيرومترية و البيامبيروميتيرية التي طبقت في تحديد الفعالية لمضادات الاكسدة , و تعتبر تقنية الفولطامتري الحلقي من احسن الطرق لما تتميز به من مصداقية و دقة في العمل و هي الاكثر طرق استخداما [10].

III-6-1: تقنيات الفولطامترية

الفولطامتري هي تقنية تحليلية كهربائية تعتمد على قياس تدفق التيار الناتج من ارجاع أو أكسدة الانواع المتواجدة في المحلول وهذا تحت تأثير فرق جهد بين مسريين نوعيين، والتي تسمح بتحديد وقياس كمي لعدد كبير من المركبات (شوارد موجبة وسالبة ،مركبات عضوية)، كما تسمح أيضا بدراسة التفاعلات الكيميائية التي تحتوي على هذه المركبات [61]

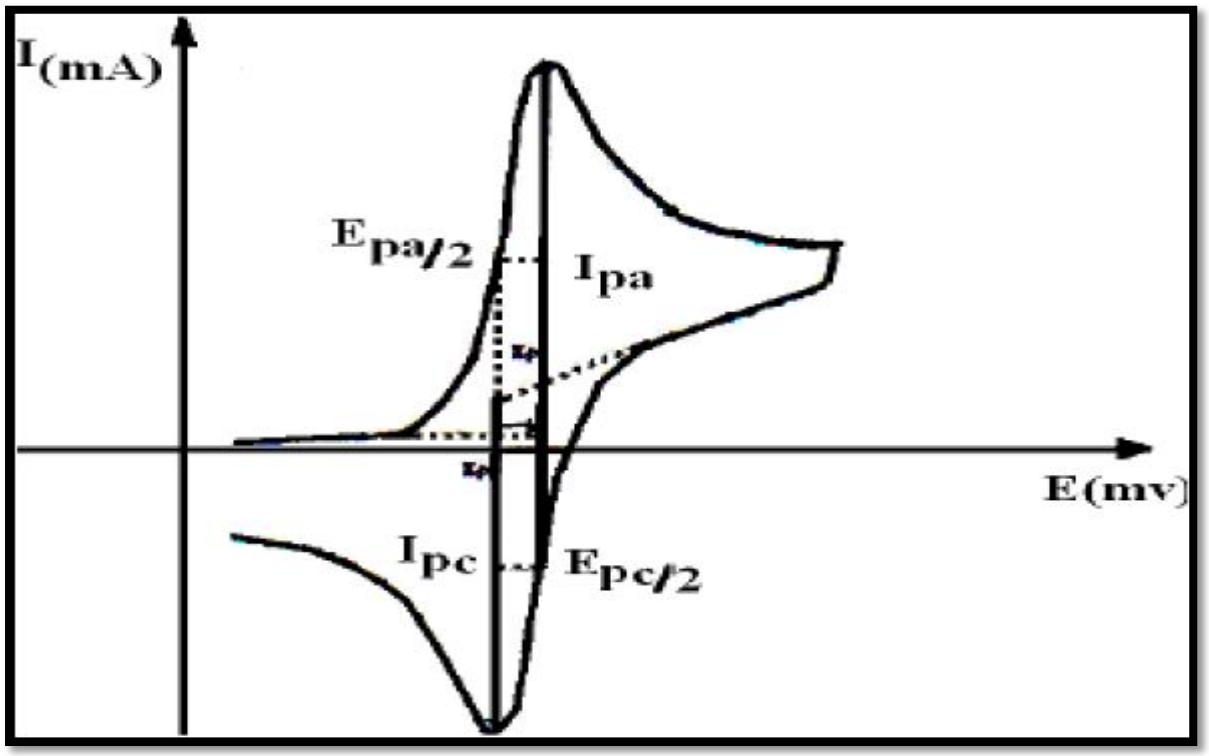
هناك عدة طرق لقياس الفولطامتري التي تقدم لنا معلومات حول خصائص المواد، وفي هذه الدراسة تم استخدام طريقة الفولطامتري الحلقي .

i- طريقة الفولطامتري الحلقي

فولطامتري الحلقي هي واحدة من طرق التحليل الكهروكيميائي وفيها ينطبق فرق الجهد المتغير على مسرى العمل بالنسبة للمسرى المرجعي ويقاس التيار بين مسرى العمل والمسرى المساعد .

هذه الطريقة تسمح على الخصوص بتحديد الشروط التي ينجز فيها تفاعل الأكسدة أو الارجاع, وكذا تقدير درجة عكوسية جملة (أكسدة – ارجاع) , كما تسمح أحيانا بتحديد ألية التفاعل عند المسرى خاصة عندما تشترك تفاعلات كيميائية في نقل الالكترونات وكذلك تحديد ثوابت السرعة للتفاعلات الكهروكيميائية السريعة . [62]

تعتمد تقنية الفولطامتري الحلقي على قياس التيار بدلالة فرق الكمون المتغير المطبق بين المسريين العمل والمرجعي , هذا الكمون يتغير بصفة خطية بين قيمتين حديتينEi (كمون الابتدائي) , Ef (كمون النهائي) حيث يتم مسح فرق الكمونات المصعدية في هذه الطريقة بصورة حلقية فبعد اجراء المسح مثلا باتجاه فرق الكمونات المصعدية وانجاز تفاعل الاكسدة يعكس اتجاه تغيرات فرق الكمون لإجراء المسح في اتجاه فرق الكمون المهبطي. [63]



الشكل III-11: المقادير الاساسية لمنحنى الفولطامتري الحلقي [64]

حيث :

Ipc و Ipa : تيارات النتوءات المصعدية (عملية أكسدة) والمهبطية (عملية ارجاع) على الترتيب.

Epc و Epa : كمونات النتوءات المصعدية والمهبطية على الترتيب.[63]

III-6-2: مجالات استخدام التقنيات الفولطامترية:

التقنيات الفولطامترية متعددة الاستعمالات في مختلف مجالات البحث العلمي وخاصة في مجال الكيمياء الكهربائية وتفاعلاتها، وكان استخدامها متعدد نذكر منها كالتالي:

- البحث عن المواد المقاومة للصدأ (التآكل يكون نتيجة لسلسلة من التفاعلات الكهربائية والكيميائية).
- انتاج انواع جديدة من البطاريات التي يمكنها تخزين كميات كبيرة من الطاقة.
- من أهم التطبيقات الفولطامترية هي التحليل الكمي لأثار المعادن مثل الذهب من أكسدة وارجاع هذه المواد الكيميائية.
- استخدمت مؤخرا في تقدير فعالية المواد المضادة للأكسدة باستعمال تقنية الفولطامتري الحلقي.[65][66]

III-6-3: أهمية تعيين النشاطية للأكسدة الفولطامتري الحلقي:

حماية الانسان من الجهد التأكسدي هي وقاية من تطور السرطان والامراض المزمنة وهي مهمة اخرى مباشرة في الطب والكيمياء الحيوية في العالم، مضادات الأكسدة تلعب دور كبير في حماية النظام البيولوجي من عدة أمراض لا تشفى ولديها استعمال واسع في مختلف المجالات الصناعية والطبية كمواد توقف سلسلة جذور الاكسدة.

الفولطامتري الحلقي هي طريقة ملائمة لدراسة خصائص مضاد الاكسدة وتحديد نشاطية مضاد الأكسدة في النظام البيولوجي، في هذه الايام تطور الكيمياء الالكتروتحليلية هو الناجح وهو المشروط بطبيعة المادة لان الطريقة الكتروكيميائية تعمل على أساس أغلبية معالجات الكيمياء الحيوية.[67]

المراجع العربية

1-ح. ابراهيم، "مذكرة ماجستير: دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة «، كلية العلوم والتكنولوجيا، ورقلة، (2013).98ص.

3-د. جون بوستجيت , ترجمة د عزت شعلان , الميكروبات و الانسان , عالو المعرفة الكويت ,(1985).

4-العابد إبراهيم دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص قلويدات الخام لنبات الضمران . مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة. (2009). . 36-106 ص.

5-د. محمد الصاوي محمد مبارك – د. عبد الوهاب محمد عبد الحافظ – د. راوية فتحي جمال – عالم البكتيريا world of bacteria - مكتبة اوزوريس – القاهرة(2005) -167 ص.

8-د. رافت حسن عبد الوهاب , ج. فضاء ادعيج العون .(2018) . تصنيف عالم النبات و الاحياء الدقيقة . شركة دار العلم للنشر و التوزيع . الكويت .

9-مجلة العلوم. تحديات المقاومة البكتيرية . 15 العدد 10 اكتوبر /تشرين الاول (1999).

10-حمودي فاطمة . محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي Artemisia absinthium . جامعة حمة لخضر الوادي . 2021.

11-نور الهدى دركي . مقارنة كمية للمستخلصات الخام الفينولية بمختلف طرق الاستخلاص للقاح النخيل (الذكار) ودراسة الفعالية البيولوجية استنادا لدراسات سابقة . جامعة حمة لخضر الوادي . 2019 .

26-فاتن قبي .مفيدة مسعودي . دراسة طيفية لسندات متعددة السن الحاملة للوظيفة الأمينية و تطبيقاتها étude spectrale des ligands polydentates qui portent des fonction iminique et leurs applications , جامعة حمة لخضر الوادي . 2019.

31- العابد ابراهيم , دراسة فعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران . مذكرة شهادة الماستر , جامعة قاصدي مرباح ورقلة , 2009.

33- زيدان محمد .(2018) . دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان Punica granatum L . مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتوراه , جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

34- احمد عبد الفتاح أبو العلا،(2003). الشقوق الطليقة العدو الحقيقي للأداء الرياضي.

37- عباس بن مرعاش. دراسة نواتج الأيد الثانوي الفلافونودي والفعالي والمضادة للأكسدة للنبتة مذكرة لنيل شهادة الماجستير 2012.

41- بلقط خولة، سباع نجوى، دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الكحولي والمائي عند نبات Plantago albicans L لنيل مذكرة تخرج شهادة ماستر أكاديمي ، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي2015.

42- الخطيبر. 2014. علم العقاقير (التانينات و الكومارينات).كلية الصيدلة للسنة الثالثة . 20ص.

43- علي عبد الحسن سعيد.2001. كيمياء الجذور الحرة . دار المسيرة للنشر و التوزيع و الطباعة . عمان (الاردن) .ط1.15-18 ص.

44- م. بوقوادة, "دراسة فيتو كيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلي," مذكرة ماجستير, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, 2008.

45- م. وبويد, ترجمة فاروق قنديل وصلاح القادري الكيمياء العضوية،. دمشق: منشو ا رت المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر, 2000

57- حوة ابراهيم .2013. دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية ضد الاكسدة . مذكرة ماجيستير الكيمياء . جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

65- نور الهدى حمادو ، تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للنبتة . Senecio delphinifolius Vahl مذكرة لنيل شهادة الماستر في كيمياء العضوية 2017 / 2018

المراجع الفرنسية

2- J.P. Euzeby : Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale, à l'usage des étudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas.

6- K. PARRENO, "Development and assessment of pomegranate (Punica granatum.L) derived food produts. Rich in bioactive phytochemicals, » Thése doctorat.

7- K. Rogers ،« Bacteria and Viruses، » 1 ed. ،29 East 21st Street ،New York ،NY10010 ،Britannica Educational Publishing ،(2011،) p. 3.

12- R.C.Bottger, « Liebigs Ann Chem « pp. 109,351 , 1859

13- Robert-Dernmet . S. (1995) . Antibiotique et antibiogrammes .Décarie Vigot, Montréal . p 322.

14- Brazilian Journal of Microbiology(2006) ISSN 1517-8382.

15- D. Anthony, M.D.Harris, J.A.Johnson,P.J Glenn, J.K. Johnson, P.Bali more. Haw important is pqtient-transmission is extended – spectrum β-lactamase Escherichia-coli acquition. (March 2007).

16- MELLIES J., BARRON A., CARMONA A., 2007- Enterpathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli virulence gene regulation. Infection and Immunity. P:4199-4210.

17- M. D. H. D. Anthony, J.A.Johnson,P.J Glenn, J.K. Johnson, P.Bali more , . "Haw important

18- J.N. Joffin, C. Schuter. Pseudomonas et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes(2003).

19- POOL K., 2001- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa and releted organisms. J. MOL. Microbiol. Biotechnol. (2001)3(2) :255-264.

20- Staphylococcus،Un article de Wikipédia،l'encylopédielibre. (Juillet 2007).

21- Ayodeji, A., & Omoniyi, A. (2009). Multi-drug resistant Staphylococcus aureus in clinical cases in Ile-Ife, Southwest Nigeria. International Journal of Medicine and Medical Sciences, 1(3), 068-072.

22- Ericsson, H. M., & Sherris, J. C. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta pathologica et microbiologica scandinavica, (Suppl. 217). Pp. 90,217.

23- Zhang J. Synthéses of Phophinic Acide and Aza β and g-lactams as Potential Inhibitors of D, D-Peptidqses and β-lactamases. These of doctor at University Catholique de Louvain (2003).

24- Solensky R., Earl HS., Gruchalla RS… Lack of penicillin resensitization in patients with a history of penicillin allergy after receiving repeated penicillin courses. Arch Intern Med (2002).

25- Corvaglia A.R.. Role résidus d'antibiotique dans environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres

Aeromonas, Acinetobacter et Legionella. Thése de doctorat l'Université de Genéve(2006).

27- Guérin-Faublée, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme : principe, méthodologie intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA, 5-12.

28- Sharan, R., Chhibber, S., & Reed, R. H. (2011). Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholerae in copper water storage vessels. BMC infectious diseases, 11(1), 204.

29- A. B. e. al, "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method," Am J clin pathol, vol. 45, 493-496, 1966.

30- J. Seignalet. Alimentation et Spondylarthrite. Polyarthrite rumatoide et bactéries intestinales(2005).

32- Poncea . G ;Fritzr ;Del vallc .et Rouras I(2003) . Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic swiss chard . lebensmittel –Wissenxchuft and Technoligie.

35- N.Hamidi 1, H. A. Lazouni 2, A.Moussaoui3, L.Ziane4, M.Djellouli,A. Belabbesse.Ethnopharmacology,Antibacterial and Antioxidant Activities,Phytochemical Screening of Bioactive Extracts From the Aerial Parts of Fagonia Longispina.Asian Journal of Natural &Applied Sciences Vol.3(3) September 2014.

36- Riti Sha ran Sanjay Chhibber,Inactivation and sub –lethal injury of – salmonella typhi , salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels , Sharan etal. BMC Infectious Diseases 2011.

38- Cristina Popovici , Ilonka Saykova, Evaluation de l'activité antioxydant des composés Phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel39.---2009,4,pp25

39- http://www.nature-algues.com

40- S.M.Raquibul Hasan, DPPH free radical scavenging of some Bangladeshi medicinal plants , Journal of Medicinal Plant Research Vol.3(11),pp.875-879,

46- Thomas.S, and Balasubramanian.K.A, Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. Free Radic Biol Med, 2004. 36(6): p. 745-56.

47- Sohal.R, Allen.R, and Nations C, Oxygen free radicals play a role in cellular differentiation: an hypothesis. Journal of free radicals in biology & medicine, 1986. 2(3): p. 175-181.

48- Bazsó-Dombi.E, Oravecz.K, Jeney.F, Nagy.K, and Nagy.I.Z, On the useful role of OH free radicals in differentiation of cultured human fibroblasts. Archives of gerontology and geriatrics, 2000. 31(3): p. 233-242.

49- Mazumder.P.M, Rathinavelusamy.P, and Sasmal.D, Role of antioxidants in phytomedicine with special reference to antidiabetic herbs. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2012. 2: p. 969-979.

50- Pourmorad.F, Hosseinimehr.S, and Shahabimajd.N, Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African journal of biotechnology, 2006. 5(11).

51- Sharma.S, Shrivastav.B.R, and Shrivastav.A, Free Radicals, Antioxidants and Oxidative Stress. International Journal of Advanced Research 2013 1(9): p. 252-258.

52- Favier A.(2003) le stress oxydant.intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. P108-115.

53- www.infoacai.com/ ?p=28

54- Pinchuk.I, Shoval.H, Dotan.Y, and Lichtenberg.D, Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. Chemistry and Physics of Lipids 2012. 165 (6) : p. 638– 647.

55- Hamid.A, Aiyelaagbe.O, Usman.L,Ameen.O, and Lawal.A, Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 2010. 4 (8) : p. 142-151.

56- Tubaro.F, Ghiselli.A, Rapuzzi.P, Maiorino.M, And Ursini.F, Analysis Of Plasma Antioxidant Capacity By Competition Kinetics. Free Radical Biology and Medicine, 1998. 24 : p. 1228-1234.

58- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemicobiological interactions, 160(1), 1-40.

59- Karthikeyan, J., & Rani, P. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidants in selected Piper species.

60- Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & sports, 10(1), 1-13.

61- Ionita, P. (2005). Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species. Chem Pap, 59(1), 11-16.

62- A. J. Bard, Faulkner, L.R, Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications, 2nd ed. New York: John Wiley and Sons 2001.

63- Alexis LAFORGUE doctorat - PARIS XII - val de marne. synthèse et de polymères conducteurs - plicationap au stockage de l'énergie P- 23. 24. 25 (2001)

64- BADA, A., FAULKNER, L.R. Electrochimie, Principes, Méthodes et Applications.Masson Paris ed , 1983

66- Vire, J.C,Kauffmann,J. M, Patriache, G.J.J. Pharm. Biomed. Anal. 7 , 1323.

67- R.Kopanica, M. Pure Appl. Ch Kalvoda pp. 61,97, 1987.

الجزء العلمي

الفصل الرابع : الطرق و الوسائل

IV-1 : الطرق المتبعة في الميدان:

IV-1-1 : وقت الجمع:

تم قطف النبتة (شجرة مريم) من منطقة تقرت في شهر مارس 2021 وقت الربيع موعد الازهار، في هذه الدراسة قمنا باستعمال الجزء الهوائي من النبتة وضعت في كيس ورقي غير مغلق ليتعرض للهواء والرطوبة.

IV-1-2 : التجفيف:

قمنا بتجفيف النبتة في الهواء الطبيعي في الظل بعيدا عن الشمس والرطوبة والدخان وجميع الروائح المضرة، في درجة حرارة الغرفة.

IV-1-2-1 : أسباب تجفيف النبتة:

- التخلص من الرطوبة لمنع التعفن وإيقاف عمل الانزيمات والمحافظة على المكونات الفعالة.
- سهولة طحن النبتة.
- تقليل وزنها.

IV-1-3 : الطحن والتخزين:

بعد التجفيف تم قص أجزاء النبتة الى إجزاء صغيرة، من بعدها يقام طحنها في مطحنة كهربائية (يجب ان تكون معقمة وجافة) ومحاولة تفادي الطحن الكبير ، بعدها توضع في أكياس ورقية محكمة الغلق لمنع العفن او التعرض لأشعة الشمس.

الشكل IV–1: صور لعملية التجفيف والطحن.

IV–2 : الوسائل و الادوات المستعملة :

جدول IV–1: الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة عند الاستخلاص.

الأدوات	المحاليل	الأجهزة
النبتة بيشر ورق ترشيح قمع Spatule Para film Erlenmeyer	ميثانول(CH_3OH) ماء مقطر CH_2Cl_2 Hexane	ميزان حساس جهاز المبخر الدوراني Rota vapeur Etuves حاضنة Ultrason

جدول IV–2: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية.

التقدير الكمي	المحاليل	الأدوات	الأجهزة
التقدير الكمي للفينولات	• ميثانول(CH_3OH) • ماء مقطر • حمض الغاليك • كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) • Folin	• المستخلصات • أنابيب اختبار • حامل أنابيب • اختبار • Micropipette • Spatule • Les cuves ·	▪ميزان حساس ▪جهاز مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية والمرئية
التقدير الكمي الفلافونيدية	• ميثانول CH_3OH () • ماء مقطر • كرستين • ثلاثي كلور • الألمنيوم $AlCl_3$		

جدول IV–3: المحاليل الكيميائية , الأدوات و الأجهزة المستعملة في قياس الفعالية المضادة للأكسدة.

الطريقة	المحاليل	الأدوات	الأجهزة
طريقة الفولطامتري الحلقي	ماء مقطر أسيتات الصوديوم CH_3COONa حمض الخل CH_3COOH حمض الغاليك KCl ميثانول CH_3OH	مستخلصات	
اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	ميثانول (CH_3OH) ماء مقطر محلولDPPH حمض الأسكوربيك	أنابيب الاختبار حامل أنابيب الاختبار خلية زجاجية Micropipette	ميزان حساس جهاز مطيافية الأشعة الفوق البنفسجية والمرئية
اختبار FRAP	أسيتات الصوديوم CH_3COONa حمض الخل الثلجي CH_3COOH الماء المقطر TPTZ HCl ثلاثي كلوريد الحديد		

	المائية $FeCl_3.6H_2O$		
اختبار موليبدات الفوسفات	حمض الكبريتيك H_2SO_4 فوسفات الصوديوم Na_3PO_4 موليبدات الأمونيوم $(NH_4)\ 2MoO_4$		

جدول IV–4: المحاليل الكيميائية , الأدوات و الأجهزة المستعملة في الفعالية المضادة للبكتيريا.

المحاليل	الأدوات	الأجهزة
وسط الزرع (Muller Hinton)	المستخلصات	ميزان حساس
	أنابيب اختبار	موقد بنزان
DMSO	Pipette pasteur	حاضنة
ماء فيزيولوجي معقم	Micropipette	Autoclave
	أطباق بيتري	
	ماسح قطني	
	القدم القنوية	

جدول IV–5: المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في مطيافية الاشعة فوق البنفسجية IR

الادوات	الاجهزة
المستخلصات	جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية IR
أنابيب اختبار	

جدول IV–6: المحاليل الكيميائية, الأدوات المستعملة في Screening

الادوات	المحاليل
المستخلصات	$FeCl_3$ 5%
انابيب اختبار	HCl
	Mg
agitation	NH_4OH 20%
	$FeCl_3$ 1%
	$CHCl_3$
	anhydride acétique
	H_2SO_4
	Réactif de Dragendorff

IV–3: الطرق و التجارب المتبعة:

IV–3–1: طرق الاستخلاص :

IV–3–1–1:الهدف من هاته الدراسة:

تم عملنا في مختبر البحوث في كلية علوم الطبيعية و الحياة والعلوم الدقيقة في جامعة الوادي و مختبر العلوم الطبيعية والحياة , قسم الكيمياء جامعة قسنطينة .في إطار العمل للحصول على شهادة الماستر في الكيمياء العضوية . الهدف من هاته الدراسة استخلاص أكبر كمية من متعدد الفينول المتواجد في الجزء الهوائي من نبتة شجرة مريم

(*Artemisia absinthium*)

و قد تم هذا الاستخلاص باستعمال بعض المذيبات ميثانول , ميثانول والماء , الهيكسان و ديكلوروميثان .

IV–3–2: تحضير المستخلصات المستعملة في الدراسة:

حضر مستخلص الميثانول و المستخلص ميثانول و ماء عن طريق النقع , و كذلك حضر مستخلص الهيكسان و ثنائي كلوريد الميثان بجهاز *Ultrason* . و بالتالي استعملت اربع مستخلصات في الدراسة .

IV-3-2-1: تحضير مستخلص الميثانولي بالنقع :

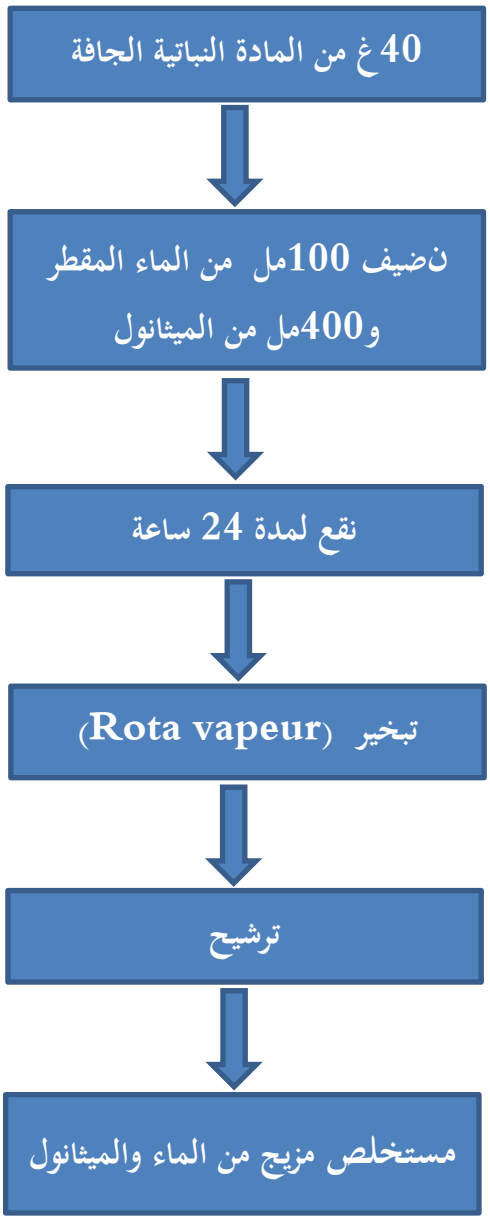
أخذ وزن قدره 40 غ من نبتة مريم (*Artemisia absinthium*) الجافة و المطحونة , اضيف 500 مل من الميثانول في ارلن ماير سعته 500 مل و يغطى ب *para film* و ذلك لمنع المذيب من التبخر و يترك لمدة 24 ساعة في مكان يحفظ الشروط النظامية , و ترشح العينة بعد ذلك نستحفظ بالرشاحة ونعيد بنفس الخطوة و بنفس المذيب في 24 ساعة التالية , و توضع في جهاز *rota vapeur* المبخر الدوراني عند درجة تبخر المذيب حتى نتحصل على مركب ذو قوام سميك لزج نتركه تحت التهوية لنتأكد من تبخر الميثانول ثم نقوم بحساب المردود.

الشكل IV-2: عملية النقع و الترشيح للنبتة مريم .

الشكل IV-3: عملية تبخير المستخلص في جهاز *Rota vapeur*

IV-3-2-2: تحضير مستخلص مزيج من الماء والميثانول بالنقع:

أخذ وزن قدره 40 غ من نبتة مريم (*Artemisia absinthium*) الجافة و المطحونة , اضيف 100 مل من الماء المقطر و 400 مل من الميثانول اي بنسبة (2/8) في ارلن ماير سعته 500 مل و يغطى ب *para film* و ذلك لمنع المذيب من التبخر و يترك لمدة 24 ساعة في مكان يحفظ الشروط النظامية . و ترشح العينة بعد ذلك نستحفظ بالرشاحة و نعيد نفس الخطوة و بنفس المذيب في 24 ساعة التالية , يوضع المستخلص المرشح في جهاز البخر الدوراني *rota vapeur* عند درجة تبخر المذيب حتى نتحصل على مركب ذو قوام سميك لزج نتركه تحت التهوية للتأكد من تبخر الماء و يحسب المردود .



الشكل IV-4: مخطط يوضح مراحل الاستخلاص العام لمستخلص السنة

IV-3-2-3:تحضير مستخلص الهيكسان و الديكلوروميثان بجهاز ***ultrason*** :

اخذ وزن قدره 50 غ من النبتة الجافة و المطحونة , و نضيف لها 200 مل من الهيكسان في ارلن ماير سعته 500 مل و يوضع في جهاز *ultrason* مدة 15 min و يرشح في المستخلص في ارلن ماير اخر و نستحفظ بالرشاحة و نعيد نفس الخطوة و بنفس المذيب مدة 15 دقيقة اخرى و ترشح العينة و نعيدها للمرة الثالثة بنفس الخطوات و ترشح و يوضع مستخلص النهائي في جهاز مبخر الدوراني *rota vapeur* حتى نتحصل على مركب ذو قوام سميك لزج نتركه للتهوية للتأكد من تبخر الهيكسان و يحسب المردود .

الشكل IV-5:استخلاص بجهاز *ultrason* و ترشيح العينة.

الشكل IV-6: تبخير المستخلص بجهاز *Rota vapeur*

تأخذ الرشاحة و توضع في200 مل من كلوريد الميثان CH_2Cl_2 و يوضع في جهاز ***Ultrason*** مدة 15 دقيقة و يرشح المستخلص في ارلن ماير اخر و نقوم بنفس الخطوات مرتين اخريين اي ما يعادل 600 مل من كلوريد الميثان و يوضع المستخلص النهائي ايضا في جهاز مبخر الدوراني ***rota vapeur*** حتى نتحصل على مركب ذو قوام سميك لزج نتركه للتهوية للتأكد من تبخر كلوريد الميثان و يحسب المردود .

IV-3-2-4: الوزن النهائي للمستخلصات :

بالنسبة لمستخلص الميثانولي تم الحصول على كتلة قدرها 7.064 غ.

و أما المستخلص الم زيج الميثانولي والماء فكانت كتلته 6.31 غ.

بالنسبة لمستخلص الهيكسان تم الحصول على كتلة قدرها 0.74 غ.

اما كلوريد الميثان فكانت كتلته 15.58 غ.

IV-4: حساب مردود الانتاجية للمستخلصات:

مردود الانتاجية للمستخلصات هي النسبة بين وزن المادة المستخلصة والتي نرمز لها m_f على وزن المادة الابتدائية للنبتة ونرمز لها ب m_i حسب العلاقة التالية:

$$R\% = (mf/mi) * 100$$

حيث :

$R\%$: المردودية الانتاجية للمستخلصات ب%. [4]

m_i: الكتلة الابتدائية.

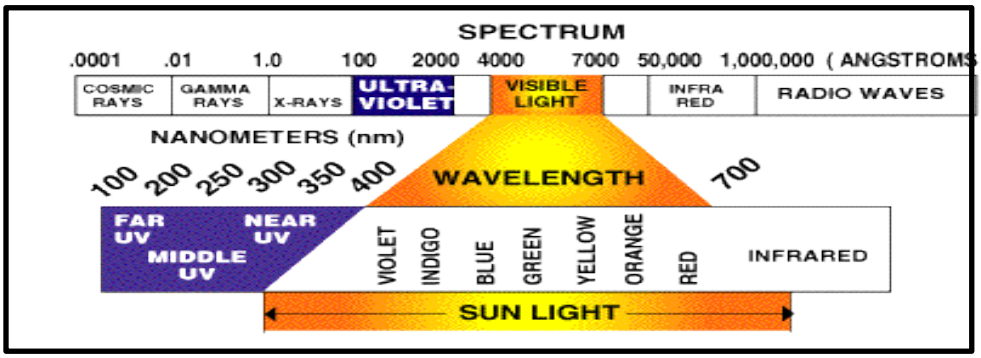
m_f:الكتلة النهائية.

IV–5: التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية:

IV–5–1:مطيافية الاشعة فوق البنفسجية– المرئية *UV-visible* :

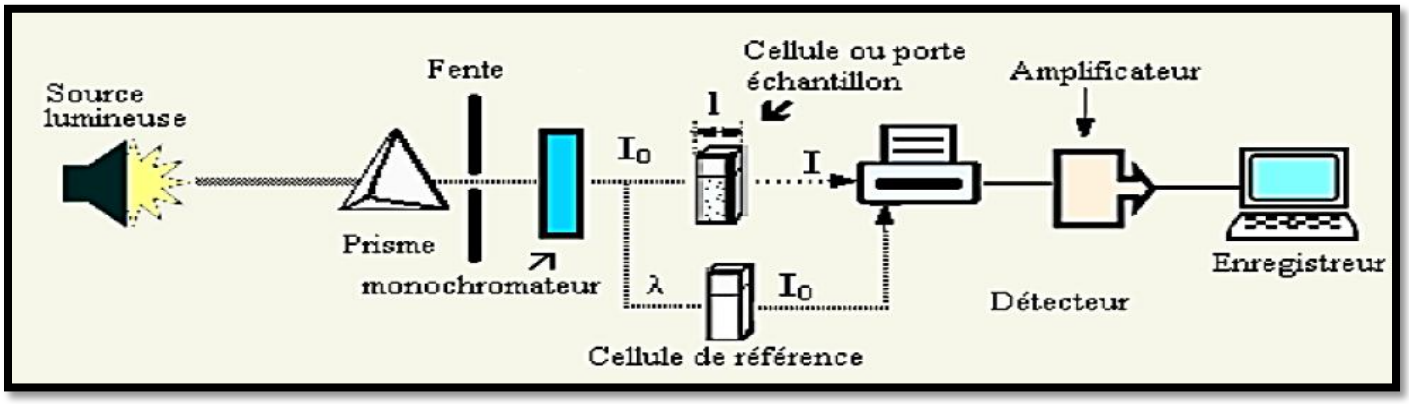
يسلك الضوء المرئي سلوك الضوء فوق البنفسجي في كثير من مظاهره حيث أن كلاهما ينتج عن امتصاصية إثارة إلكترونية في الجزيئات. كما أن أغلب الأجهزة التي تستخدم في طرق التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية هي نفسها التي تستخدم في طرق

التحليل الطيفي في مجال الأشعة فوق البنفسجية. لذا فقد جرت العادة على دراستهما معاً. ويغطي هذان الطيفان المجال من 200 إلى 800 نانو متر (ميلي ميكرون) .



الشكل IV–7: *spectrum uv-visible*

المطيافية الإلكترونية هي أحد أنواع الدراسات الطيفية والتي تعتمد على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية ، ولقد سميت بهذا الاسم لأن امتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي إلى إثارة الإلكترونات في الجزيء الذي يمتص تلك الأشعة .



الشكل IV–8: رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز مطيافية الأشعة[5] ***UV-visible***

مبدأ العمل:

يتكون جهاز الطيف الذري من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لكل أي طول موجي محدد , و مقياس كثافة الضوء , حيث وضع السائل ا لم ا رد قياس تركيز العناصر الموجودة في داخله في حامل العينة (*Cuvette*)

ثم وضع العينة بين المصدر الضوئي والكاشف، وعند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل, حيث تعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالاعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد.[6]

قانون بير لامبرت:

$$A=\log I_0 / I$$

حيث:

I_0 : شدة الضوء الوارد

I: شدة الضوء الصادر

A: الامتصاصية

الشكل IV-9: جهاز الاشعة الفوق البنفسجية المرئية المستعمل في الدراسة .

IV–5–1–1:التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة ***UV-visible*** :

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية(*Singleton Ross*) 1965 وذلك باستعمال كاشف الفولين (*Folin ciocalteu*) حيث أن هذا يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) و حمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات الي أكسيد التغنستين (WO_3) و الموليبدين (MoO_3) ذات اللون الأزرق. [8]

يتم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز طيف الاشعة الفوق بنفسجية و المرئية *UV-visible* باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند الطول الموجي λ_{max} = 760nm . [9]

المنحنى القياسي لحمض الغاليك(*Ac,gallic*):

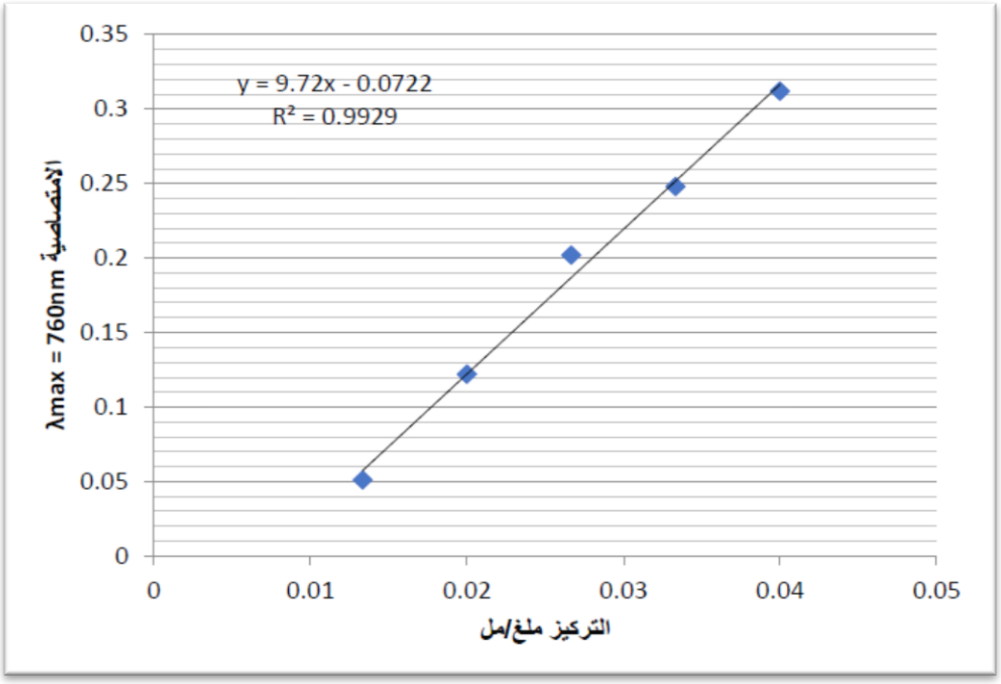
نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزه تتراوح ما بين (0.0133 – 0.04) ملغ/مل في أنابيب اختبار, ثم نأخذ 0.2 مل من المحاليل الممددة ونضيف لها 1 مل من كاشف الفولين (*Folin ciocalteu*) الممدد 10 مرات, ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 (7.5%) , ونضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة, بعدها نقوم بقياس الامتصاصية عند طول موجي عندλ_{max} = 760nm .

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك نرسم منحنى القياسي للكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز

$A=f(C)$ [10]

جدول IV–7: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك.

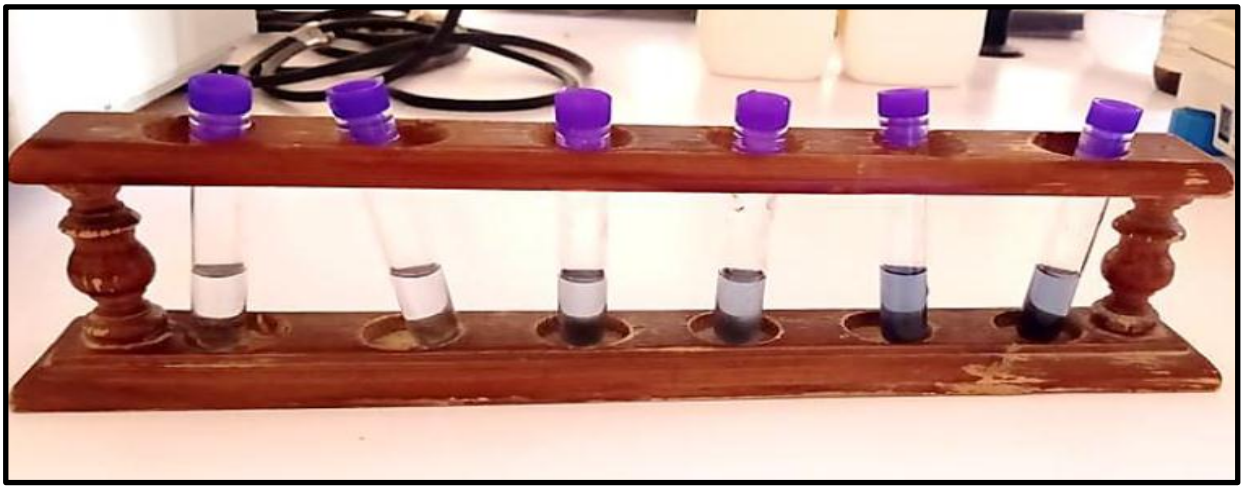
التركيز(ملغ/مل)	0.0133	0.02	0.026	0.033	0.04
الامتصاصية A	0.051	0.122	0.202	0.248	0.312



الشكل IV– 10: المنحنى القياسي لحمض الغاليك(*Ac,gallic*).

التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص عضوي تراكيز مختلفة قدرها (0.3 /0.5/0.8)ملغ/مل . نأخذ من كل تركيز 0.2 مل و نضيف له 0.5 مل من الفولين (*Folin ciocalteu*) ثم نضيف له 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%) ونتركه في الظلام لمدة 30 دقيقة فنتحصل على اللون الأزرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 760nm .



الشكل IV–11: المحاليل بعد اضافة كاشف الفولين.

IV–5–1–2: التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة ***UV-visible***:

تمثل الفلافونيدات مجموعة كبيرة من المركبات الفينولية، 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 وهيدروكسي الموقع 5 و 3 , كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثوهيدروكسي , ذو معامل امتصاص عال. ويمتص عند طول موجة λ_{max} = 430nm .

ونستعمل في هذه التجربة الروتين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي ويتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز المطيافية الضوئية باستعمال الروتين كمحلول قياسي عند طول موجي λ_{max} = 430nm [11]

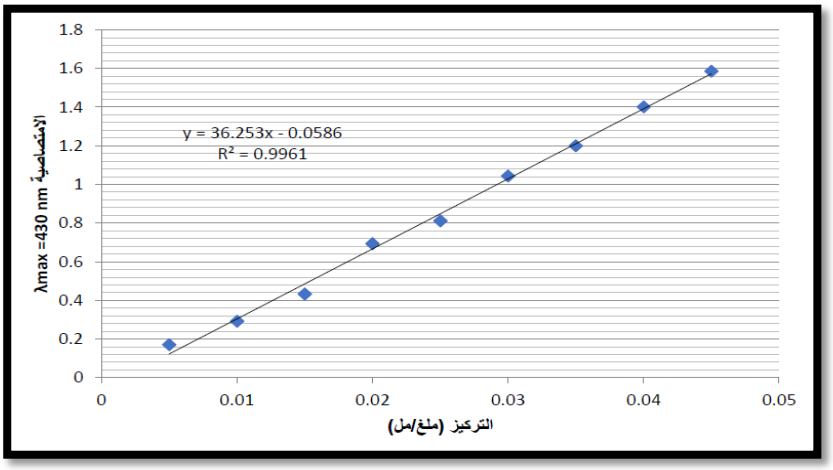
المنحنى القياسي للروتين (*Rutine*):

حضرت محاليل بتراكيز مختلفة للروتين محصورة ما بين(0.005 -0.045)ملغ/مل , وبإضافة 1 مل من محلول ثلاثي كلور الالمنيوم ($AlCl_3$) ذو تركيز (2% المحضر في الميثانول) لكل 1 مل من التراكيز المحضرة ثم نتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة . تتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز طيف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية-*UV visible* عند الطول الموجي λ_{max} =430 nm.[12]

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل الروتين نرسم منحنى القياسي للكثافة الضوئية(الامتصاصية) بدلالة التركيز A=f(c).

جدول IV–8: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لمركب الروتين.

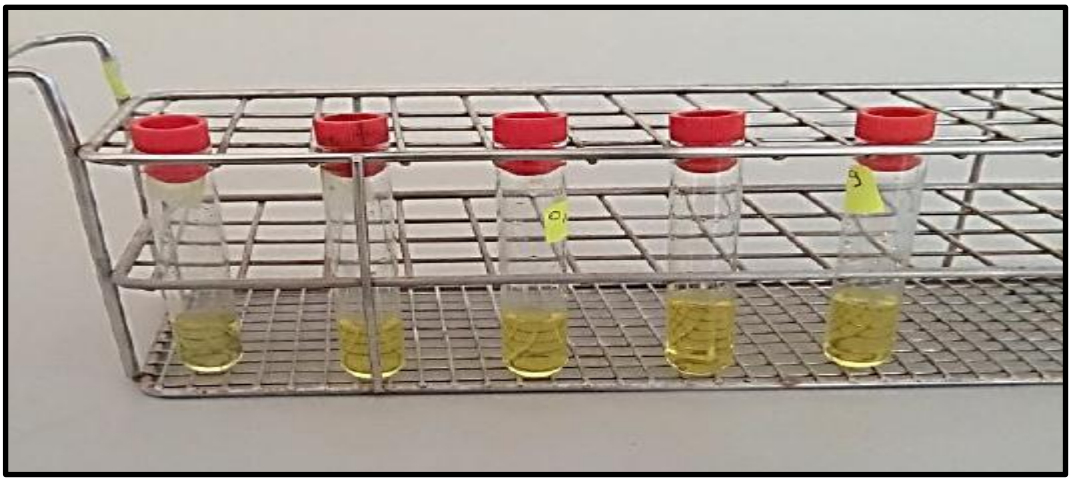
التركيز(ملغ/مل)	0.005	0.01	0.015	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045
الامتصاصية A	0.17	0.292	0.433	0.693	0.811	1.044	1.2	1.401	1.586



الشكل IV–12: المنحنى القياسي للروتين(*Rutine*).

التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

نحضر من مستخلص عضوي تراكيز مختلفة قدرها (1.2/1/0.8/0.5/0.3)ملغ/مل , نأخذ من كل تركيز 1 مل و نضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلور الالمنيوم $AlCl_3$ ذو تركيز 2% , و نتركه في الظلام مدة 30 دقيقة نتحصل على اللون الاصفر , و تقرأ الامتصاصية عند طول موجة λ_{max} = 430nm .



الشكل IV–13: المحاليل بعد اضافة كلوريد الالمنيوم.

IV–6: تقدير النشاط المضاد للأكسدة:

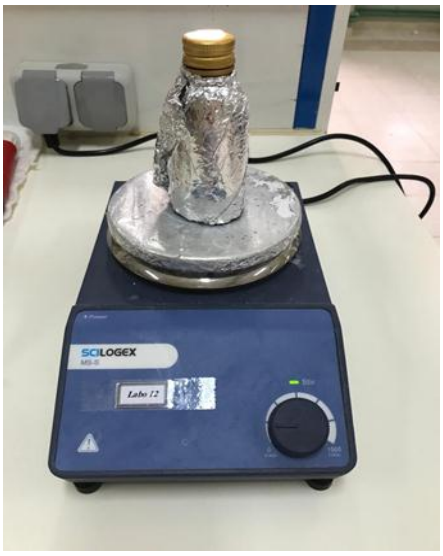
IV–6–1: اختبار *DPPH* :

اختبار للكشف على القدرة المضادة الاكسدة في المستخلص، حيث يعمل على تثبط جذور *DPPH* (ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل) ذات الون البنفسجي فيتحول الى (*DPPH-H* ثنائي فينيل بكريل هايدرازين) ذو اللون الأصفر ينتج على هذا نقصان طول الموجه الممتصة نعلم ان طول الموجه العظمة لهذا التفاعل λ_{max}= 517 mn والمذيب المستخدم هو الميثانول.

المركب المراد اختباره يضاف لمحلول *DPPH* المحضر في الميثانول بعد تركه لمدة 30 دقيقه في الظلام، عندها تم قياس الامتصاصية عند λ_{max} بجهاز الاشعة الفوق بنفسجية المرئية *UV-visible*، هذه القيمة تسمح لنا بمعرفة زمن تهافت اللون البنفسجي للخليط الذي بدوره يسمح لنا الحصول على IC50 حيثIC50 هي للكمية اللازمة لتثبيط 50% من مضادات الاكسدة المتوحدة في *DPPH* وترتبط هذه النتائج بتركيز *DPPH* الأول المنحل في الميثانول حيث يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة المسمى ب A.A بعارة التالية:

$$AA=[DPPH]_{initiale}/IC50$$

قمنا بتحضير 4 ملغ من *DPPH* في 100مل من الميثانول ونقوم بوضعه في الظلام مع التحريك لمدة 30 دقيقة كما هو موضح في الشكل التالي:



الشكل IV–14: محلول DPPH المحضر

تحضير المحلول المدروس :

لدينا المستخلص الأول بالميثانول والثاني بالميثانول-ماء نأخذ4000µg المستخلصين ونذيبه بالمذيب (المستخلصة فيه إذا كان ميثانول او ميثانول وماء) 1مل، نأخذ منه كميات مختلفة توضع في انابيب اختبار، ونقوم بتخفيفها بالمذيب المستخدم في الاستخلاص حتى نتحصل على التراكيز التالية:

µg/ml (4000-2000-1000-500- 250-125-65.5)نقوم بتغطيتهم لتفادي الإضاءة اثناء تفاعلهم معDPPH ، بعدها نقوم بوضع 1 mlمن *DPPH* في هذه الانابيب نتركها لمدة 30 دقيقة، وبعدها نقيس الامتصاصية في جهاز الاشعة الفوق بنفسجية المرئية *UV-visible* لكل أنبوب حيث يكون طول الموجه المقاس به λ_{max} =517mn

نقوم بنفس الخطوات لحمض الأسكوربيك(فيتامينC) حيث يكون التمديد بالميثانول ونأخذ القيم المقروءة على جهاز الاشعة الفوق بنفسجية المرئية *UV-visible* قصد المقارنة.

الشكل IV-15:صورة توضح توزع المستخلص في الانابيب قبل إضافة *DPPH*

تقدير النشاط المضاد لأكسده:

لتقدير النشاط المضاد للأكسدة تم تحدد قدرة كل مستخلص على تثبيط الجذر الحرة وعلى أثره تم مقارنة النتائج مع قدره حمض الأسكوربيك لتثبيط الجذور الحرة حيث ثمة قياس بالنسبة المئوية لإرجاع الجذر الحرة *DPPH* يتم تحديد النسبة المئوية للإرجاع جذور *DPPH* بالعلاقة التالية:

$$I\% = (A_0 - A_I / A_0) \times 100$$

حيث

A_0 :لامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

A_I:الامتصاصية الضوئية للخليط) الجذر + المستخلصات (بعد مرور 30دقيقة.

تحديد قيمة IC 50 :

يتم تحديد قيمة IC50 من جلال المنحنات البيانية لتثبيط الجذور الحرة بدلالة التركيز حيث التركيز الموافق ل 50 % اعتماد على المنحى البياني Y=ax+b نفترض Y= 50% تكون قيمة IC50 كما التالي:

$$X=(50-b)/a$$

IV-6-2:اختبار *FRAP* :

يدعى (*Ferric Reducing/ Antioxydant Power*) والهدف من هذه الدراسة معرفة مضادات الاكسدة الارجاعية في تفاعل ارجاع لوني, أي تدرس مدى قدرة النبتة (المستخلص) لتثبيط الجذور الحرة أي يعتمد مبدأ هذا الاختبار على تلون المعقد ثلاثي بيريديل ثلاثي أزين فريك ***tripyridyl-s-triazine ferrique*** - او عدم تلونه, يحدث كل هذا التفاعل في وسط حمضه.

تحضير *FRAP* :

للحصول على محلول *FRAP* يتم مزج ثلاث محاليل التالية:

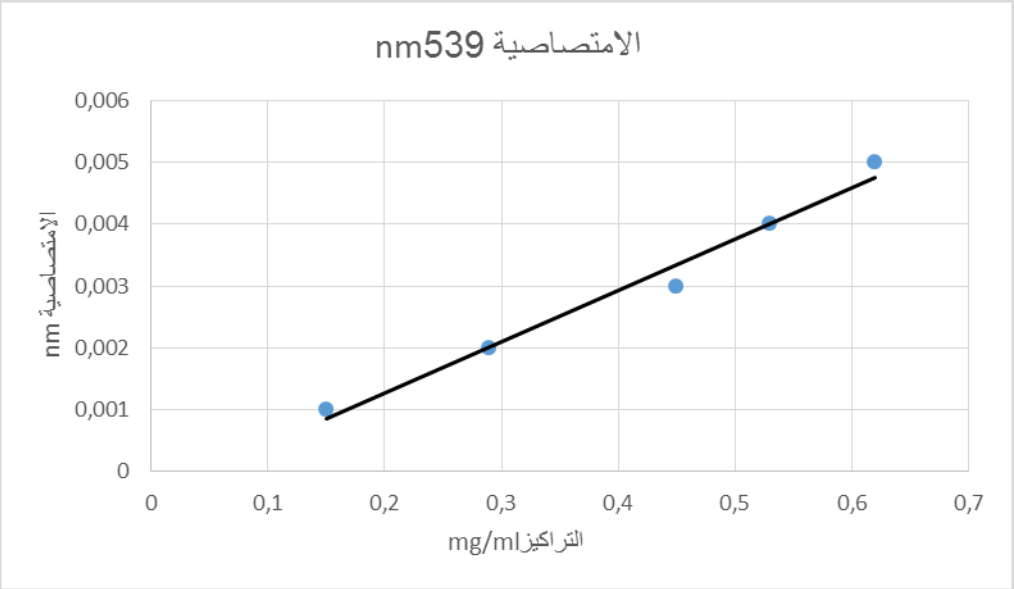
- موقي (منضم –*Tampon*) نحضر 0.19 غ من أسيتات الصوديوم CH_3COONa مع 1.6 مل من CH_3COOH حمض الخل الثلجي عند PH=3.6 في 100مل من الماء المقطر.
- نحضر 6.2 ملغ من *TPTZ* في محلول *HCl* تركيزه40 ميلي مولاري اي ما يعادل 0.33 مل من *HCl*في 10 مل من الماء المقطر .
- نحضر 0.0541 غ من *FeCl3. 6H2O* في 10مل من *HCl* تركيزه 40 ميلي مولاري.

نخلط المحاليل السابقة بتكافؤ على الترتيب 1/1/10 وحدة حجمية ونتحصل على الخليط *FRAP* يحفظ في حرارة 37 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة.

طريقة العمل:

تم تحضير تراكيز مختلفة من حمض الأسكوربيك (0.3 /0.5/0.8) ملغ/مل نأخذ 0.1 مل من كل تركيز، نضعه في انبوبة اختبار ونضيف له 0.9مل من الخليط *FRAP* ويترك لمدة 4 دقائق في درجة حرارة 37 مئوية.

بعدها تقرا الامتصاصية للمزيج عند الطول الموجي λ_{max} =539nm بجهاز الاشعة الفوق بنفسجية المرئية *UV-visible*، انطلاقا من امتصاصية حمض الأسكوربيك ترسم المخطط القياسي يكون فيه الامتصاصية بدلالة التركيز:



الشكل IV–16: المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك.

IV–6–3:اختبار موليبدات الفوسفات:

المبدأ:

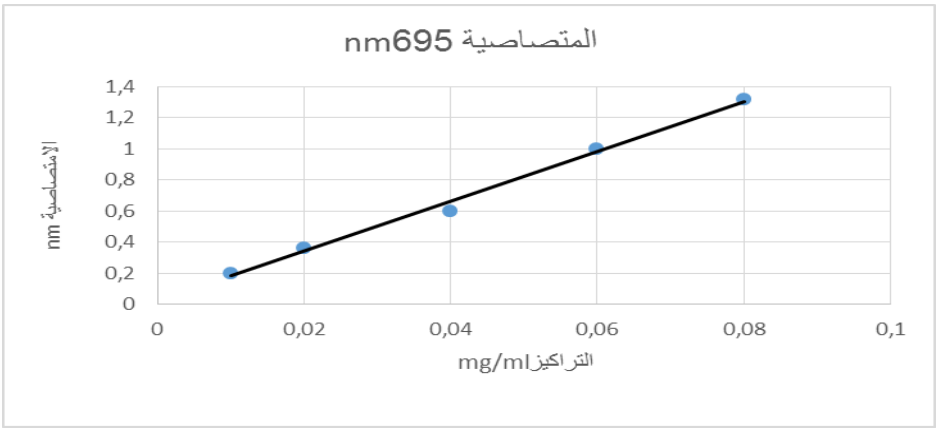
هدف الاختبار قياس القدرة الكلية لمضادات الاكسدة للمستخلصين باستعمال موليبدات الفوسفات *(phosphomolybdenum)*حسب*ARDESTANI and YAZDANPARAST (2007)* وهي طريقة لقياس القدرة الارجاعية لمضادات الاكسدة الغير انزيمية, أي القدرة على حجز او منع الجذور الحرة بواسطة موليبدات الفوسفات، أي القدرة على اجاع الموليبدات ($MoO4^{-2}$) *Molybdate* الي موليبيدين (MO) *Molybdène* حيث تتميز بلونها الأخضر الفاتح

طريقة العمل:

نحضر مجموعة من التراكيز من المستخلصين (بماء-ميثانول وميثانول) نضعها في انابيب اختبار نضع في كل أنبوب 0,1 مل، نضيف له 1مل من موليبدات الفوسفات التي تم تحضيرها ب 0,6 M من حمض الكبريت و mM 28 فوسفات الصوديوم و4 mM من موليبدات الالمنيوم، ثم يتم وضع المزيج في حمام مائي حرارته 95 درجة مئوية لمدة 90 دقيقة بعدها تترك الانابيب تبرد ثم نقيس الامتصاصية حيث طول الموجة المقاس به λ_{max} =695nm بجهاز الاشعة الفوق بنفسجية المرئية *UV-visible*.

الشكل IV-17: المحاليل في الحمام المائي

تم استعمال حمض الغاليك بتراكيز بين (0.009-0.08) ملغ/مل، نقوم بنفس العملية السابقة له، الهدف من هذا مقارنة حمض الغاليك والمستخلصات، المخطط التالي يوضح امتصاصية حمض الغاليك بدلالة التركيز:



الشكلIV-18: المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

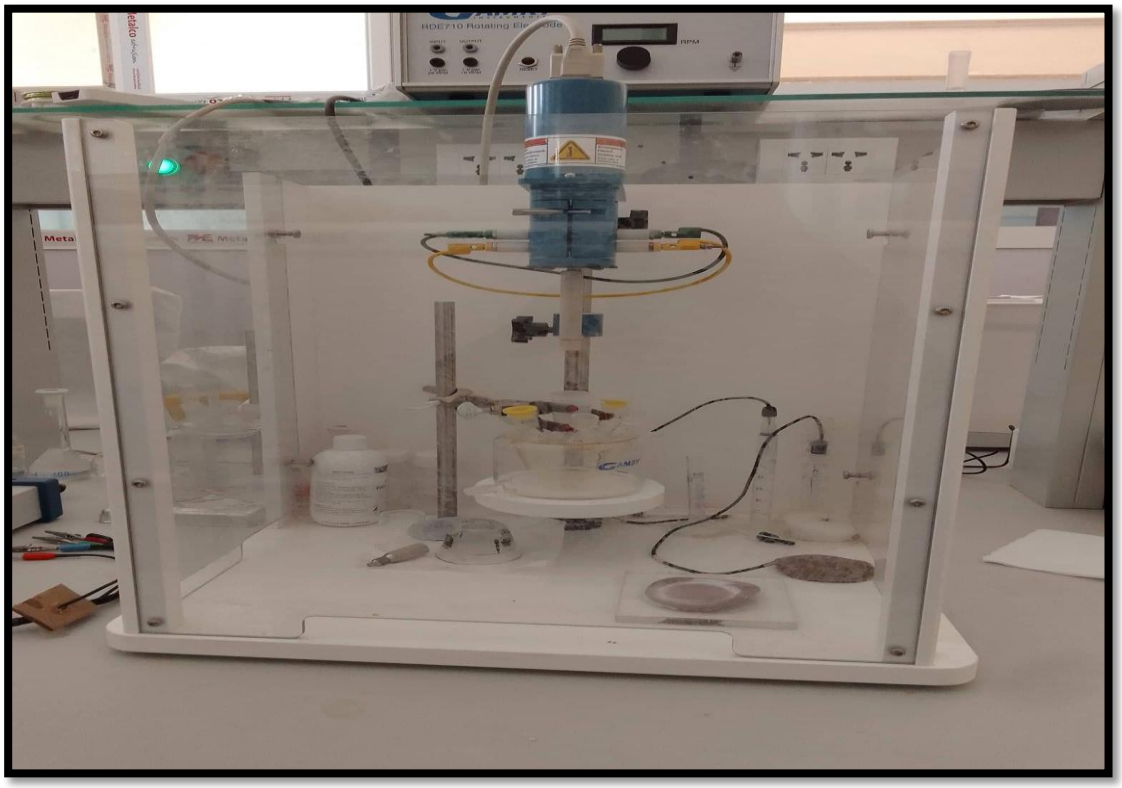
IV-7:التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية:

فكرة التحليل الكهروكيميائي لمضادات الأكسدة اقترحت بعد إعادة النظر جذريا في الطرق الطيفية المعتمدة في تقدير مضادات الأكسدة على المستويات الكمية أو الفاعلية للمواضيع المدروسة . هذا الطرح الجديد وضعت له أسس نظرية جديدة فيها برهان لطرائق و آليات تأثير مضادات الأكسدة و تم ذلك من خلال وضع علاقات رياضية جديدة لحساب العوامل الحركية للعمليات التي تجري على الأقطاب.[13]

الطرق الكهروكيميائية في معظمها تعتمد على خصائص المادة المدروسة و سلوكها على الأقطاب الصلبة. يعتبر قطب الكربون الزجاجي من أكثر الاقطاب شيوعا في تطبيقات دراسة النشاط المضاد للأكسدة و ذلك نظرا لخصائصه الفيزيائية و حساسيته للمركبات المضادة للأكسدة .[14]

تمت ا لدراسة الكهروكيميائية وذلك باستعمال اختبار الفولطامتري الحلقي , وهذه الطريقة تسمح بتحديد الشروط التي ينجز فيها تفاعل الاكسدة والارجاع.

حيث أن هذا العمل أنجز بمخبر كلية العلوم الدقيقة بجامعة حمه لخضر الوادي, حيث تم فيه دراسة السلوك الكهروكيميائي للمواد المضادة للأكسدة.



الشكل IV–19: جهاز فولطامتري الحلقي المستعمل في الدراسة .

IV–7–1:الاجهزة المستعملة في الدراسة :

أجريت الدراسة الكهر وكيميائية للمستخلصات بواسطة جهاز الفولطامتري الحلقي .

السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات تم في خلية زجاجية بسعة 25 مل تحوي ثلاث أقطاب:

- **القطب المرجعي**: يتمثل في قطب الكالوميل المشبع بكلوريد البوتاسيوم (*ECS*) .
- **القطب المساعد**: و يتمثل في سلك البلاتين(Ø=1mm , L=1cm) حيث له وظيفة وحيدة تتمثل في اغلاق الدارة .
- **قطب العمل**: وهو قطب الكربون الزجاجي (Ø=3mm) حيث تتم عليه تفاعلات الاكسدة والارجاع.

IV–7–2:خطوات العمل:

التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية عند PH = 4

تحضير المحلول الموقي (*Tampon*):

نقوم بتحضير المحلول الموقي انطلاقا من مزج حجم يقدر ب 18 مل من (CH_3COONa) تركيزه 0.2 مولاري مع 82 مل من(CH_3COOH) ذات تركيز 0.2 مولاري.

IV-7-3:تحضير الخلية الكهروكيميائية:

نضع في الخلية الزجاجية 3 مل من KCl مع 2 مل من الميثانول CH_3OH. نقوم برسم المنحنى الفولطامتري.

المركب القياسي في هذه التجربة هو حمض الغاليك حيث نضع في الخلية الزجاجية 5 مل من المحلول الموقي , نخفف حمض الغاليك 50 مرة (1مل من حمض الغاليك تركيزه 10ملغ/مل في 50 مل ماء مقطر)

نضيف 0.1 مل من حمض الغاليك المخفف الى المحلول الموقي ثم نضيف 0.2 مل من حمض الغاليك و هكذا على التوالي حتى 1 مل من حمض الغاليك و نرسم المنحنى الفولطامتري لتحديد الفاعلية المضادة للأكسدة الكلية للعينات يستلزم رسم المنحنى الخطي القياسي لحمض الغاليك. وفق المعادلة التالية:

$$Y = a*X + b$$

حيث:

Y: تمثل قيمة كثافة التيار المصعدية بوحدة $\mu A.cm^{2-}$.

X: تمثل قيمة تركيز المحلول القياسي بوحدة g/l.

بعد الحصول على المعادلة نقوم بكل مرة بتعويض قيمة التيار لكل عينة ونحسب التركيز المكافئ الجديد ومنه يمكن حساب الفاعلية المضادة للأكسدة الكلية حسب العلاقة التالية:

$$TAC = C_{eq}/C$$

حيث:

TAC: هي الفاعلية المضادة للأكسدة الكلية وحدتها mg/g.

C_{eq}: التركيز المكافئ الجديد وحدتها g/l.

C: تركيز العينة داخل الخلية وحدتها g/ml.

الشكل IV–20: المحاليل المستعملة في الفولطامتري الحلقي .

نجري نفس العملية على عينة الدراسة (مستخلص الميثانول و ميثانول ماء) نأخذ تركيز 50ملغ/مل من كل عينة و نخففها 50 مرة. و نقوم برسم منحنى الفولطامتري .

IV–8:مطيافية الاشعة تحت الحمراء *IR* :

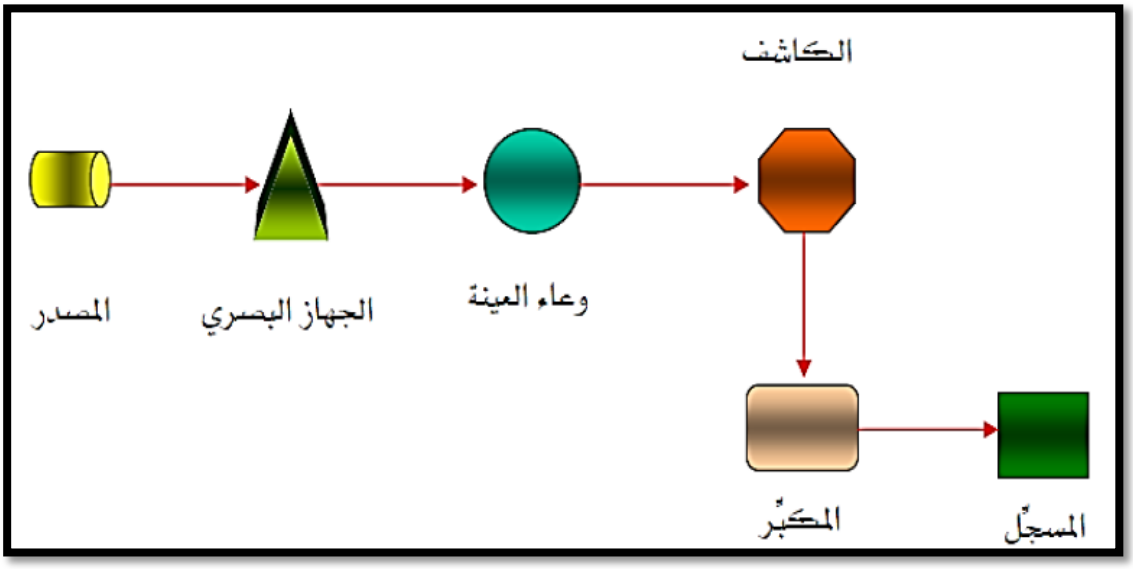
اصبح التحليل الطيفي باستخدام الاشعة تحت الحمراء وسيلة من احدى الوسائل لتعيين ماهية التركيب للمركبات العضوية و تطبيقات هذا العلم على الانظمة العضوية في منطقتي التحاليل النوعية (الكيفي) او التقديري (الكمي).و التحليل الاول اتخذ اعلى تطبيقا الى حد بعيد عن هذا المجال في الكيمياء العضوية .[15]

IV–8–1:تعريف :

تعني كلمة *Infra* تحت وهذا يعني أننا في منطقة الاشعة تحت الحمراء والتي ترددها أقل من تردد الأشعة الحمراء في الطيف الكهرومغناطيسي المرئي, يقع طيف الاشعة تحت الحمراء بين الطيف المرئي و طيف أشعة المايكرويف.

تغطي الاشعة تحت الحمراء منطقة واسعة من الطيف الكهرومغناطيسي، يؤدي امتصاص الاشعة تحت الحمراء الي حركة اهتزازية للذرات المكونة للجزيء.

IV-8-2:مكونات الجهاز:



الشكل IV-21: رسم تخطيطي يوضح مكونات جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء *IR*.

IV-9:الفحص الكيميائي النباتي (*screening*):

المواد الكيميائية النباتية هي المركبات الكيميائية التي تنتجها النباتات. يتم إنتاجها نتيجة التمثيل الغذائي الأولي والثانوي في النباتات. عادة ما تعتبر هذه المواد الكيميائية النباتية كمركبات بحثية بسبب النشاط البيولوجي للمركبات التي لا تزال قيد الدراسة العلمية والتجريبية تجاه الآثار الصحية.

لذلك تم إجراء التحليل الكيميائي النباتي لمستخلص عشبة مريم *Artemisia absinthium* باستخدام طريقة البروتوكول القياسية.

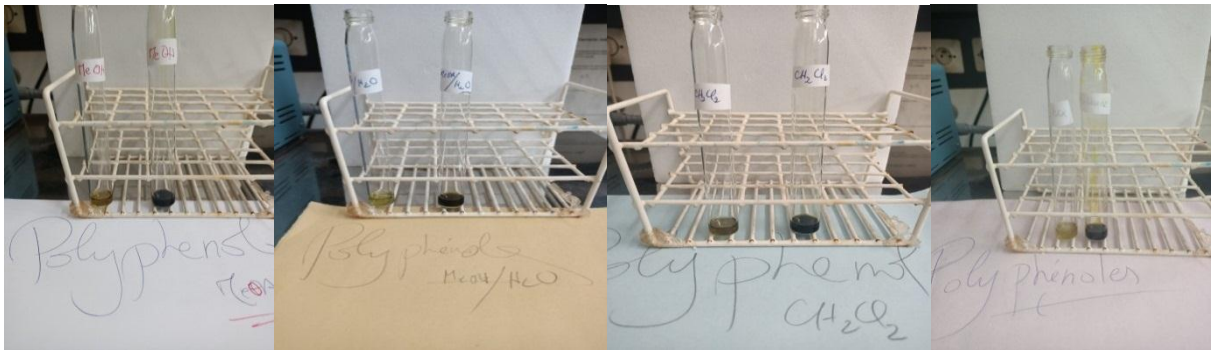
IV-9-1:تعريف :

هي تحليلات نوعية تجعل من الممكن تحديد المجموعات الكيميائية المختلفة الواردة في عضو النبات. هذه تفاعلات فيزيائية كيميائية تجعل من الممكن تعريفها وجود أو عدم وجود مستقبلات ثانوية: قلويدات ، فلافونويدات ، صابونيات ، تانينات ، الستيرولات...

IV–9–2:التحاليل المطبقة :

IV–9–2–1:تحليل عديدات الفينول *(polyphénol)*:

نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 2 مل من كل مستخلص (مستخلص ميثانول , مستخلص ميثانول و ماء , مستخلص الهيكسان , مستخلص ديكلوروميثان) و نضيف من 2 الى 3 قطرات من محلول $FeCl_3$ 5 %, لنتحصل على اللون الأزرق الداكن أو الأخضر أكثر قتامة أو أقل.



الشكل IV–22: المحاليل بعد اضافة $FeCl_3$ 5%

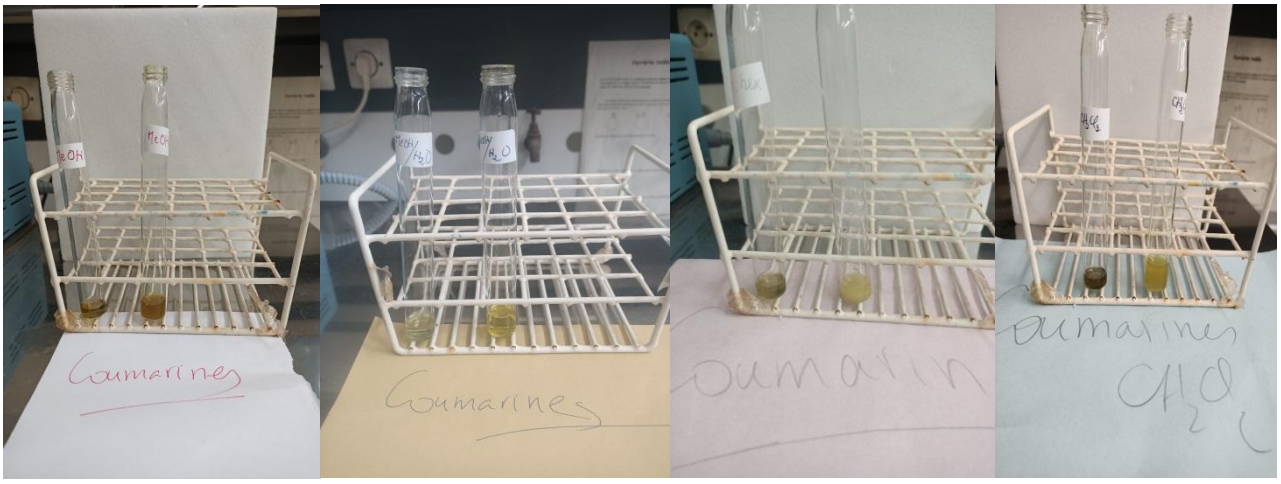
IV–9–2–2:تحليل الفلافونويدات *Les flavonoïdes*:

نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 2 مل من كل مستخلص و نضيف 1 مل من HCl و 5 ملغ من Mg لمدة 1 الى 2 دقيقة , لنتحصل على اللون أحمر أو برتقالي أو أرجواني .

الشكل IV–23: المحاليل بعد اضافة HCl وMg .

IV–9–2–3:تحليل الكومارينات *Les coumarines*:

نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 1 مل من كل مستخلص و نضيف 1 او 2 قطرات من NH_4OH 20% نضع نقطتين على ورق الترشيح ونفحصه تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية , اللون الضوئي (*Fluorescence*) يدل على وجود الكومارينات.



الشكل IV–24: المحاليل بعد اضافة NH_4OH.

IV–9–2–4:تحليل التانينات *Les tanins*:

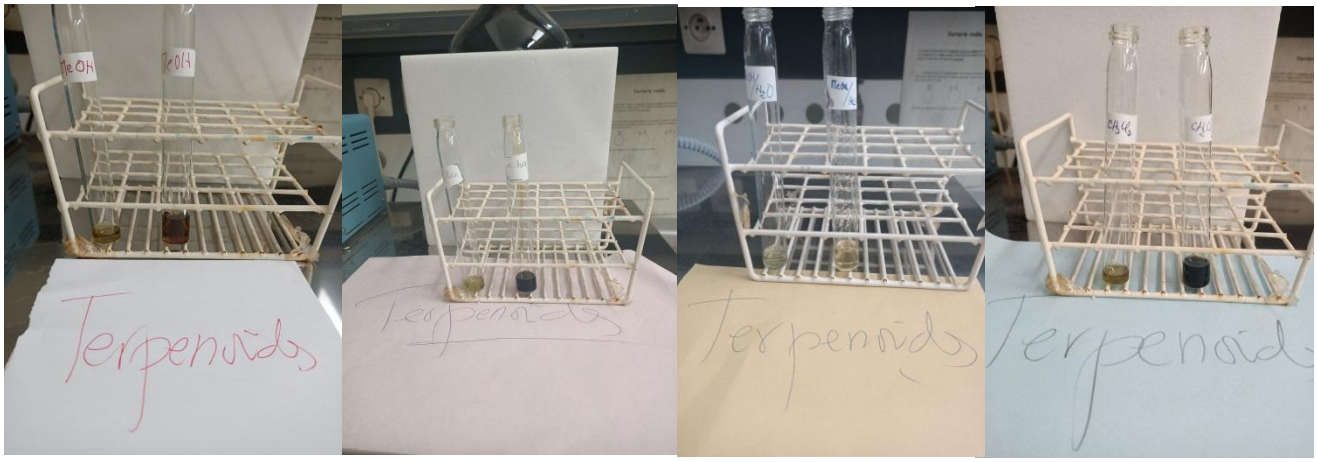
نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 1 مل من كل مستخلص و نضيف 1 او 2 قطرات من $FeCl_3$ 1% لنتحصل على اللون أزرق مخضر أو مسود .

الشكل IV–25: المحاليل بعد اضافة $FeCl_3$ 1%

:

IV-9-2-5:تحليل التربينات و الستيرولات *Stérols et terpènes*

نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 2 مل من كل مستخلص و نضيف 2 مل من $CHCl_3$ 1 مل من *Anhydride acétique* و قطرتين من H_2SO_4 , نتحصل على اللون أزرق أو أرجواني.



الشكل IV-26: المحاليل بعد الاضافة .

IV-9-2-6:تحليل القلويدات *Les alcaloïdes*:

نأخذ اربع انابيب اختبار و نضع في كل انبوب 2 مل من كل مستخلص و نضيف عليه الكاشف *Réactif de Dragendorff* نتحصل على راسب ذو اللون البرتقالي .

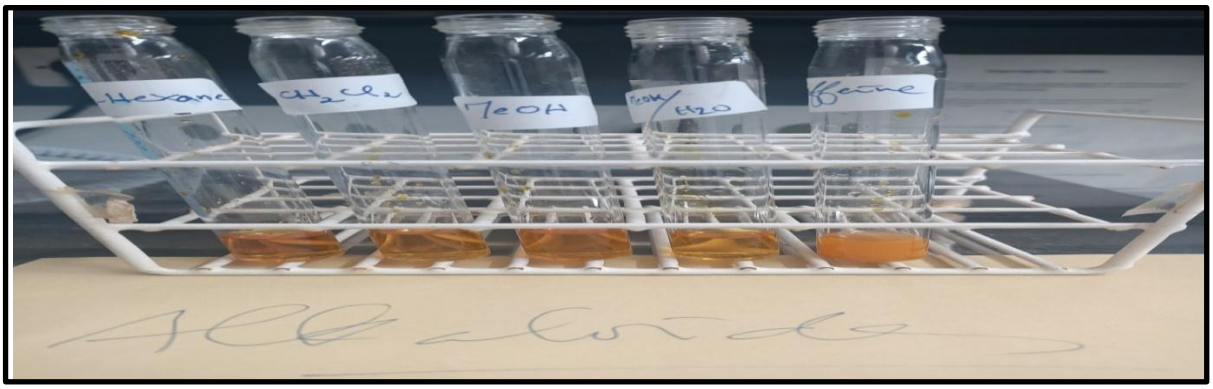
تحضير *Réactif de Dragendorff* :

يتكون هذا الكاشف من:

المحلول (A): يتكون من (8.5 غ) من نترات البزموث مع (40 مل) ماء مقطر يضاف للمزيج 10 مل حمض الخليك.

المحلول (B): يتكون من (8 غ) من يوديت البوتاسيوم مذابة في (20 مل) ماء مقطر.

و عند الكشف عن القلويدات تخلط (5 مل) من الجزء (A) مع (5 مل) من الجزء الثاني (B) مضافا إليها (20 مل) من حمض الخليك مع (100 مل) ماء مقطر و يحفظ الخليط في زجاجة داكنة اللون .



الشكل IV–27: المحاليل بعد اضافة كاشف *Dragendorff*.

IV–9–2–7:تحليل الصابونيات ***Les saponosides***:

نضع في كل انوب اختبار 5 مل من كل مستخلص و نقوم بالخلص حتى نتحصل على رغوة صابونية ثابتة .

IV–10:دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا:

نعتمد في هذا الاختبار على طريقة الانتشار، وهي أبسط طريقة وتعتمد على وضع أقراص مشبعة بالمضادات الحيوية على طبق وزرع البكتيريا بالتساوي على وسط صلب من الجيلوز أهم هذه الاوساط (*Muller Hinton*)، بعد 24 ساعة في طبق بتري، تم قياس قطر الدائرة مشبك حول طبق، كلما زاد قطره، زادت قدرة المضاد الحيوي على قتل أو إيقاف نمو البكتيريا.

الجدول IV–9: أنواع البكتيريا المدروسة.

البكتيريا المدروسة	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	**Gram négatif**
Staphylococcus aureus ATCC 25923	**Gram positive**
Klebsiella pneumoniae ATCC/13886	**Gram négatif**

الجدول IV–10: انواع المضادات الحيوية المستخدمة.

لمضاد الحيوي	التركيز(µg /disk)
COT	**25**
CIP	**5**
CZ	**30**
CFM	**5**

IV–10–1:تحضير التخفيفات المختلفة لكل مستخلص:

نقوم بتحضير مجموعة من التراكيز المختلفة من كلتا مستخلصين، تمت بإذابة (5/ 10/ 15) ملغ من مستخلصين (الميثانولي والمزيج ميثانول والماء) في 1مل من *DMSO*من أجل الحصول على تراكيز قياسية التالية (5/ 10/ 15) ملغ/مل.

اختبار الفاعلية ضد البكتيريا للمستخلصات بطريقة اختبار الحساسية بالأقراص (الانتشار)

لتقدير النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص، استخدمنا طريقة الانتشار في الأقراص، أسهل طريقة للقيام بذلك هي وضع أقراص مليئة بالمضادات الحيوية على طبق بتري مزروع بشكل متساوي بكتيريا.

IV–10–2:تنمية مزارع بكتيريا حديثة:

تمت تنشيط سلالات البكتيريا التي سوف نستخدمها في هاته الدراسة وحيث تم وضعها تحت درجة حرارة °37لمدة 24ساعة هذا بعد ان اجريا عليها التالي: أخذ مسحة من العازلات البكتيرية *anse platine* وتنميتها في وسط زراعي مغذي *gélose nutritive* وحضنها في *Etuve*.

IV–10–2–1:طريقة العمل:

في البداية تتم أولا تعقيم كل الادوات اللازمة في جهاز التعقيم والتنظيف الجيد لمكان العمل وأيضا من موقد البنزن، هذا العمل مبني على طريقة الانتشار.

- **تحضير أوساط الزرع**
  - التعقيم الجيد لوسط *Muller-Hinton (MH)* في *Autoclave*.

- يتم سكب من الوسط (*MH*)في علبة بتري الى النصف تقريبا ونتركها تتجمد على سطح طاولة المخبر.
- نترك التفاعل يتم بجانب موقد حراري من اجل تعقيم الوسط.

- **تحضير الأقراص**

بالمقص تقص اوراق الترشيح الي أقراص، بعدها يتم وضعها في أنبوب اختبار للتعقيم في درجة حرارة عالية ونشبع الاقراص بالمستخلص المحضر.

- **تحضير المعلق البكتيري**

نقوم بأخذ مستعمر لكل سلالة بكتيرية (البكتيريا تكون منشطة مسبقا) بواسطة ماصة باستور معقمة، بعدها يتم وضعها في أنبوب اختبار يحتوي على ماء فيزيولوجي وترج قليلا الى ان نتحصل على معلق متجانس وعكر.

- **وضع الأقراص المشبعة**

بعد ان تم تحضير الأوساط الزراعية وزراعة السلالات البكتيرية الثلاثة، تم وضع أقراص المضادات الحيوية والأقراص الورقية المشبعة بالمستخلصات الاثنان المحضرة بتركيز معروف سابقا.

كل من البكتيريات الثلاثة على وحدها داخل الاطباق المحضرة سابقا، بعد ذلك نترك الاطباق لمدة 30دقيقة قرب الموقد الحراري كما قلنا سابقا لتعقيم وتفادي وجود أي معرقلات التفاعل في الجو ومن ثم وضعة في حاضنة مقلوبة في درجة حرارة 37°لمدة24ساعة، وبعد انتهاء مدة الحضن يتم قياس قطر منطقة التثبيط.

الشكل IV–28: صورة توضع اختبار الفعالية للبكتيريا .

المراجع العربية:

1– ربيعي عبد الكريم, "المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية," مذكرة ماجستير في الكيمياء, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, 2010 .

2– ح. زيدان, "الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام المائي و الكحولي لأزهار شجرة الرمان الحامض و الحلو Punica granatum.L" مذكرة ماستر أكادمي في كيمياء عضوية جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي 2018

3– م. فاتح. زيدي, "المساهمة في د ا رسة الفيتوكيميائية لنبات Deverra scoparia)البسباس البري(الزيوت – الطيارة والليبيدات," مذكرة ماستر اكاديمي, جامعة قاصدي مرباح ورقلة, 2012

9– م. دركي، ع. سبوعي, "دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية و القلويدية لعشبة العلندة," مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي في الكيمياء، تخصص كيمياء عضوية, جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي, 2019

16– لبيب علي سعيد نعمان, دراسة فيتوكيميائية لنبات Thymelaea microphylla!!Coss. et Dur وتثمين الفعالية البيولوجية. مذكرة تخرج شهادة ماستر , جامعة منتوري قسنطينة , 2010

19– أ. حوة, "دراسة فعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوة والفعالية ضد الاكسدة," مذكرة ماجستير في الكيمياء, جامعة قاصدي مرباح, ورقلة 2013.

20– أ. العابد, "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران," مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية, جامعة جامعة قاصدي مرباح, ورقلة 2009 .

المراجع الفرنسية :

4– N. H. Boukri, "Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout," Thème Master Academique, Université Kasdi Merbah Ouargla, 2014.

5– S. Asadi. e. al, "In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran:A comparative study".

6– A. Hamdi, "Etude phytochimique et activité biologique de la plante Limoniastr um guyonianum.," PHYSICO-CHIMIE MOLECULAIRE, 2012.

7– 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.

8– 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.

10– 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.

11– C. C. Chang, Yang, M. H., Wen, H. M., &Chern, J. C, "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods," Journal of food and drug analysis, vol. 10(3 ,) 2002 .

12– V. Bondet, Brand-Williams, W., &Berset, C, " Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. ," LWT-Food Science and Technology, vol. 30(6), pp. 609-615, 1997.

13– T. L. A. Rebiai, M. L. Belfar, "In vitro evaluation of antioxidant capacity of Algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays," Int J Pharmacol, vol. 7, pp. 113-118, 2011.

14– D.T. Sawyer, Oxygen Chemistry, Oxford University Press, Oxford, p. 27, 1991.

15– Umadevi Kumba Janarthanan *, Vanitha Varadharajan, Vijayalakshmi KrishnamurthyPHYSICOCHEMICAL EVALUATION, PHYTOCHEMICAL SCREENING AND CHROMATOGRAPHIC FINGERPRINT PROFILE OF AEGLE MARMELOS (L.) LEAF EXTRACTSDepartment of Biochemistry, Bharathi women's college, Chennai, Tamilnadu, India. 2012

17– S. Lloyd R., Joseph J., Kirkland ., John W., Dolan, "Introduction to modern liquid chromatography, Printed in the Untied States of America " ISBN 978-0-470-16754-0(cloth),pp:1-2, 2010.

18– F. C. Guerin V., Carrt, "L'antibiogramme: principes méthodologie, Intérêt et limites," Journées nationales GVT-INRA, pp. 5-12, 1999.

الفصل الخامس : النتائج و المناقشة

V-1: مردود الاستخلاص

تم حساب مردودية المستخلصات وذلك انطلاقا من الكتلة الناتجة من عملية الاستخلاص وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة لكل المستخلصات باستخدام العلاقة التالية:

$$R\% = (mf/mi) * 100$$

حيث:

R%: المردودية الانتاجية للمستخلصات ب%.

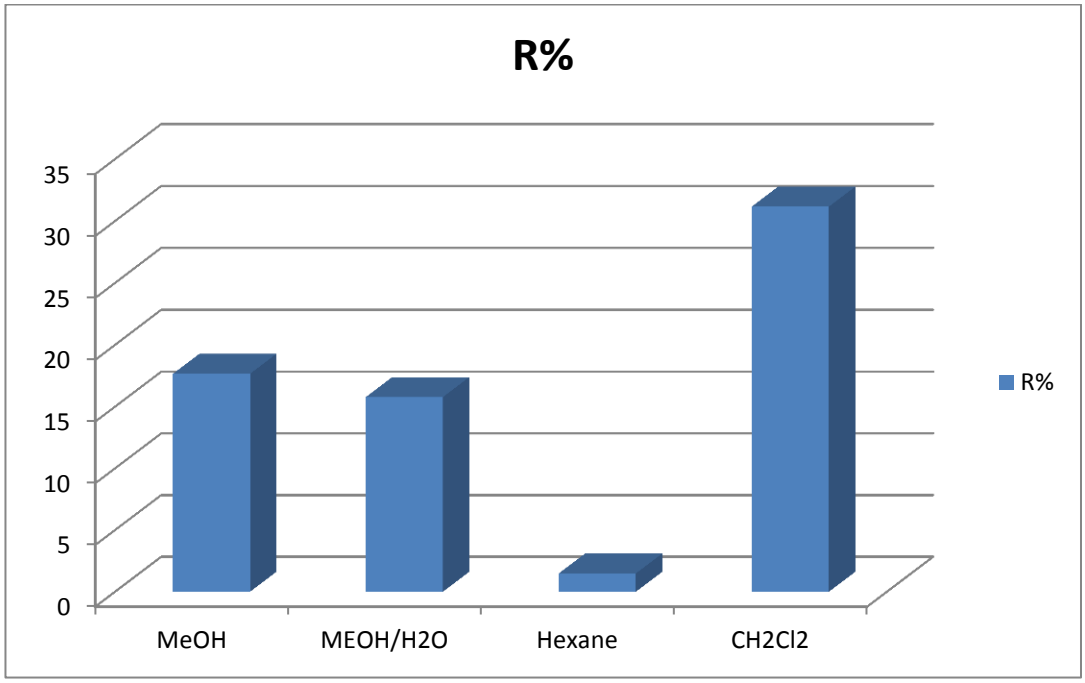
m_i: الكتلة الابتدائية.

m_f: الكتلة النهائية.

وكانت نسبة المردودية الانتاجية لكل مستخلص كما هي موضحة في الجدول أدناه.

الجدول V-1: كمية المردود (%) لمستخلصات النباتية.

كتلة العينة	المستخلص	الكتلة المتحصل عليها غ	المردود (%)
40غ	المستخلص الميثانولي	7.064غ	17.66
	المستخلص مزيج (ميثانول ماء)	6.31 غ	15.775
50غ	المستخلص الهيكسان	0.74 غ	1.48
	المستخلص ديكلوروميثان	15.58 غ	31.16



الشكل V-1: أعمدة بيانية تمثل مردود(%) المستخلصات المستعملة في الدراسة.

من خلال الجدول V -1 والشكل V-1 نلاحظ أن مردود المستخلص الميثانولي كان ذو قيمة معتبرة حيث بلغ 17.66 % بالنسبة للمستخلص مزيج (ميثانول ماء) الذي قدر بنسبة 15.775 % ,و كذلك بالنسبة لمستخلص الهيكسان كان ذو قسمة صغيرة جدا مقارنة بمستخلص ديكلوروميثان . و هذا الاختلاف يرجع إلى نوع المذيب، وأيضا إلى الجزء النباتي المدروس و كتلة العينة المأخوذة حيث استخدم في هذه الدراسة الاجزاء الهوائية من هذه النبتة .

V-2: الفحص الكيميائي النباتي (*screening*):

ايجابي+ : غني بالمواد الفعالة .

سلبي – : غير غني بالمواد الفعالة .

من خلال الجدول يتبين لنا ان نبات شجرة مريم Artemisia absinthium غني بالمواد الفعالة فيحتوي على عديدات الفينول و التانينات و الفلافونويدات و الكومارينات و تربينات و خالي تماما من القلويدات و الصابونيات

جدول V-2 : نتائج الفحص الكيميائي النباتي

المستخلصات	المستخلص Hexane	المستخلص CH2Cl2	المستخلص MeOH	المستخلص MeOH : H2O
Polyphénols	+	+	+	+
Flavonoïdes	–	–	+	+
Tanins	+	+	+	+
Coumarines	–	+	–	+
Terpenoides	+	+	–	–
Alcaloïdes	–	–	–	–
Saponosides	–	–	–	–

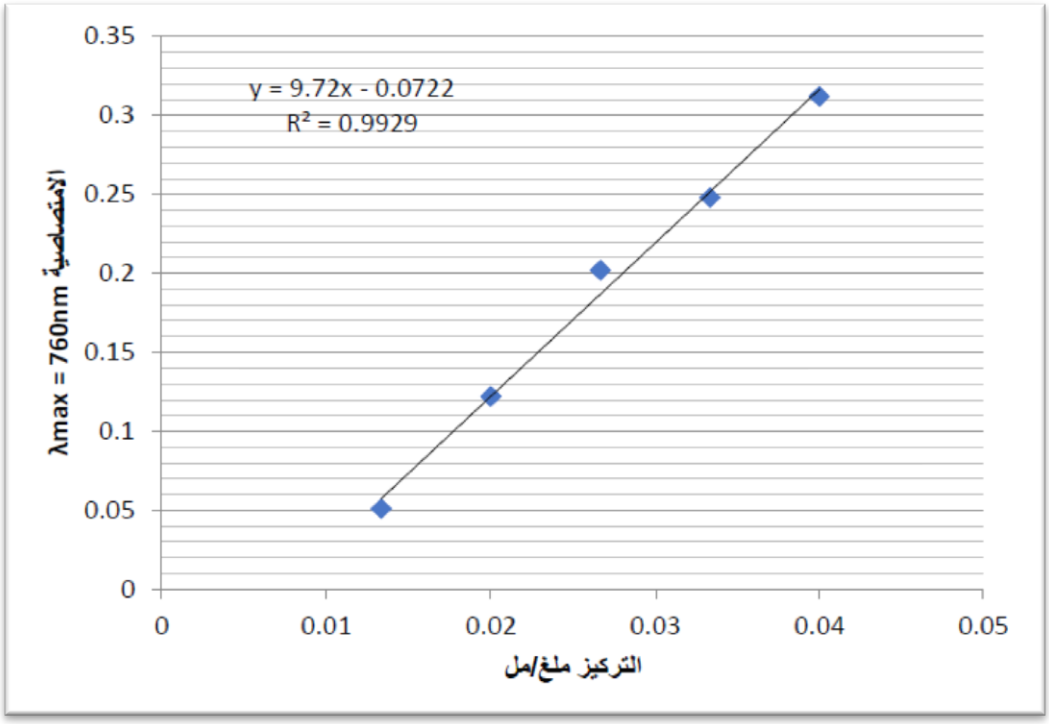
V-3: تقدير المركبات الفينولية والفلافونويدية للمستخلصات

V-3-1: التقدير الكمي للفينولات ب واسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-visible :

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة المدونة في الجدول أدناه:

الجدول V-3: نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك.

التركيز(ملغ/مل)	0.0133	0.02	0.026	0.033	0.04
الامتصاصية A	0.051	0.122	0.202	0.248	0.312

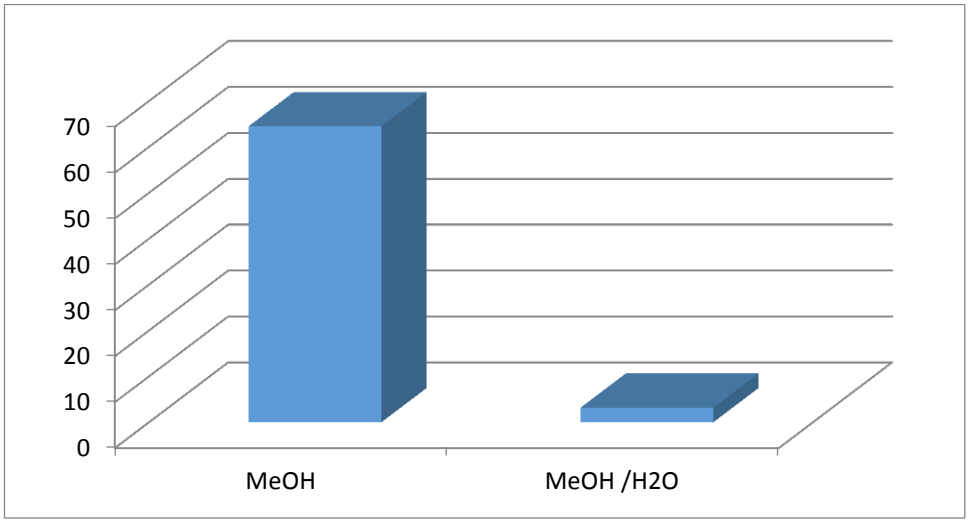


الشكل V–2: المنحنى القياسي لحمض الغاليك(*Ac,gallic*).

باستعمال المنحنى العياري لحمض الغاليك الموضح في الشكل V –2 تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير المركبات الفينولية للمستخلصات المدروسة كما هو موضح في الجدول V–3:

جدول V–4: كمية الفينولات الكلية في مستخلصات النبتة المدروسة (ملغ/غ).

مستخلصات النبتة المدروسة	كمية المركبات الفينولية (mg EAG/g)
المستخلص الميثانولي	64.50 ±0.028mg/g
المستخلص مزيج (ميثانول ماء)	3.18 ±0.08mg/g



الشكل V–3: أعمدة بيانية تمثل كمية عديدات الفينول بالملغ مكافئ لحمض الغاليك / غ من وزن المستخلص.

من خلال النتائج المدرجة في الشكل V –3 والتي تمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص لوحظ أن كمية المركبات الفينولية للمستخلصات المدروسة كانت متفاوتة اذ قدرت قيمتها بين mg/g 0.028± 64.50 و mg/g0.08± 3.18

من خلال التمثيل البياني بالأعمدة، بلغت كمية المركبات الفينولية أعلى قيمة لها في المستخلص الميثانولي التي قدرت بـ mg/g0.028± 64.50 و في المستخلص المزيج ميثانول ماء سجلت أدنى قيمة للمركبات الفينولية التي قدرت ب 3.18 ±0.08mg/g

نجد من خلال النتائج ان كمية الفينولات في الميثانول ضمت اكبر كمية من المستخلص ميثانول ماء و هذا راجع الى نوع المذيب و قطبيته نسبة الذوبانية , اي ان الميثانول لديه القدرة الاكبر لإذابة الفينولات المتواجدة في النبتة .

كانت كمية الفينولات المتحصل عليها عالية , و هذا راجع الى وقت جمع النبتة , فالفينولات تعمل بطريقة فعالة في تحمل النبتة بمختلف الاجهادات ضد الجفاف و ضوء الاشعة فوق البنفسجية UV و هذا ما يفسر بإنتاجها لكميات اكثر حتى تتكيف مع البيئة الصحراوية المزروعة فيها .

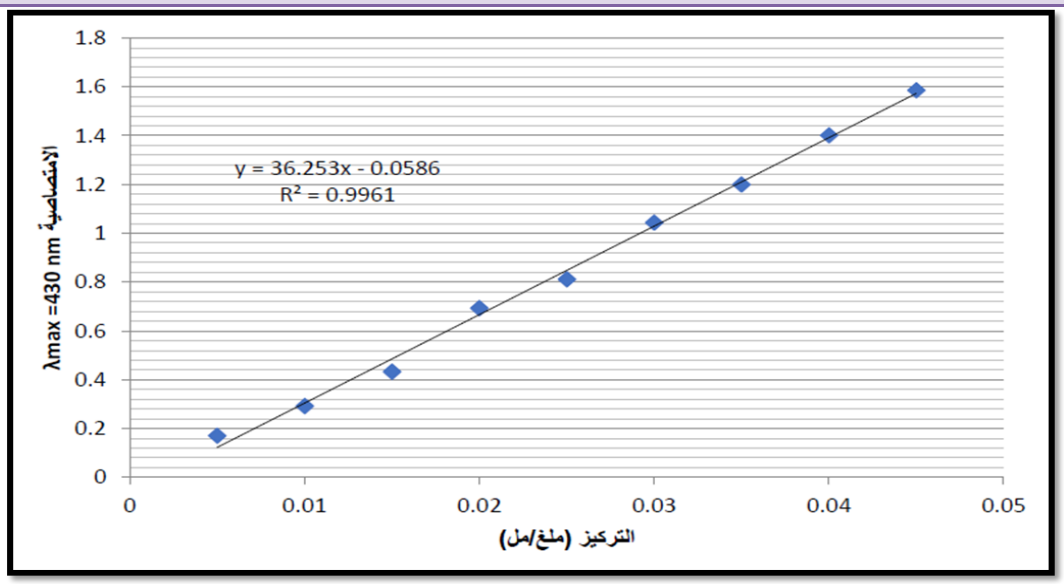
مقارنة بنتائج التقدير الكمي للفينولات للنبة الطبيعية نجد انه كانت النسبة في المزيج ميثانول ماء اعلى بكثير من المستخلص ميثانولي عكس النتائج المتحصل عليها من النبتة المدروسة التي زرعت في منطقة الصحراوية و هذا راجع الى اختلاف في درجة الحرارة للمنطقتين اي ان النبتة تتأثر بالعوامل الاقليمية.

V-3-2: التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز مطيافية الأشعة UV-visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة المدونة في الجدول V-5 الموضح أدناه:

جدول V-5 : نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لمركب الروتين .

التركيز(ملغ/مل)	0.005	0.01	0.015	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045
الامتصاصية A	0.17	0.292	0.433	0.693	0.811	1.044	1.2	1.401	1.586

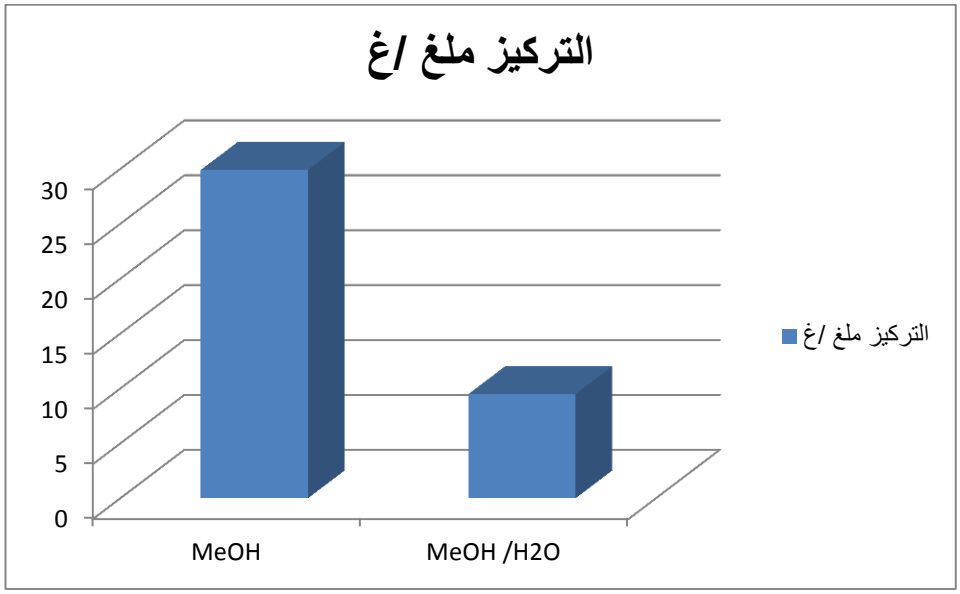


الشكل V-4 :المنحنى القياسي للروتين*(Rutine)*

باستعمال المنحنى العياري لمركب الروتين الموضح في الشكل تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير المركبات الفلافونيدية للمستخلصات المدروسة كما هو موضح في الجدول V-5 :

جدول V–6 : كمية الفلافونويدات الكلية في مستخلصات النبتة المدروسة (ملغ/غ).

مستخلصات النبتة المدروسة	كمية المركبات الفلافونيدية (mg ER/g)
المستخلص الميثانولي	0,76 ± 27,021
المستخلص مزيج (ميثانول ماء)	0,11±10,052



الشكل V–5: أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونويدات بالملغ مكافئ لمركب الروتين / غ من وزن المستخلص.

من خلال النتائج المدرجة في الشكل V–4 والتي تمثل التقدير الكمي للفلافونويدات بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من وزن المستخلص لوحظ أن كمية الفلافونويدات للمستخلصات المدروسة كانت متفاوتة اذ قدرت قيمتها بين mg/g27,021±0,76 و 10,052 ±mg/g0,11 .

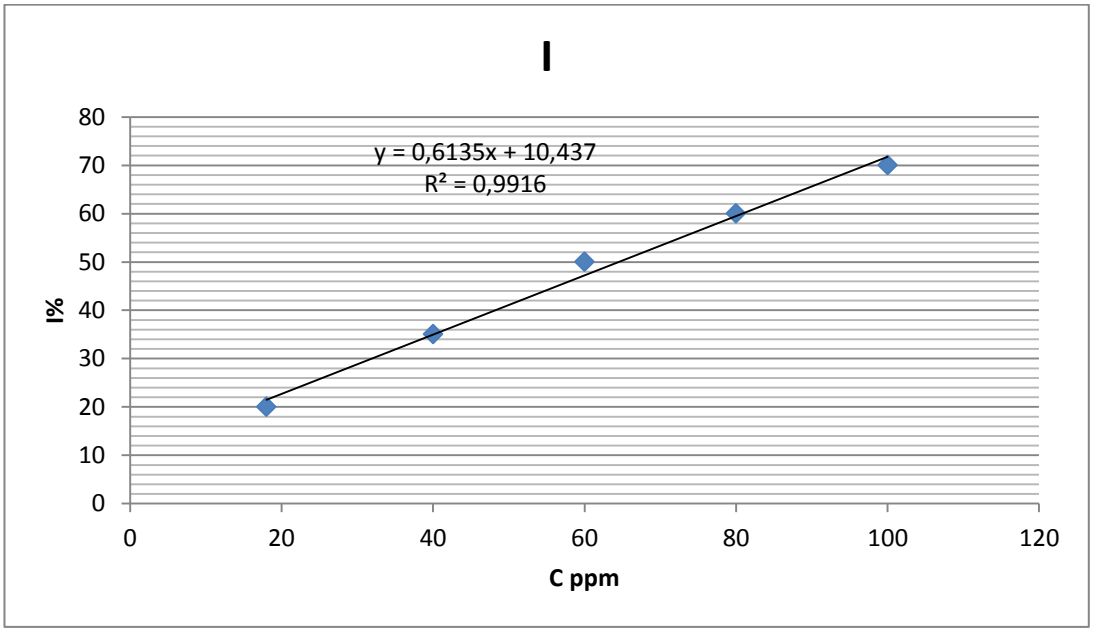
من خلال التمثيل البياني بالأعمدة، بلغت كمية المركبات الفلافونيدية أعلى قيمة لها في المستخلص الميثانولي التي قدرت ب 0,76±27,021 ملغ/غ و في المستخلص المزيج ميثانول ماء سجلت أدنى قيمة للمركبات الفلافونيدية التي قدرت ب 0,11±10,052 ملغ / غ.

مقارنة بنتائج التقدير الكمي للفلافونويدات للنبة الطبيعية نجد ان كانت النسبة في المزيج ميثانول اعلى بكثير من المستخلص ميثانول ماء نفس النتائج المتحصل عليها من النبتة المدروسة التي زرعت في منطقة

V-4: التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية:

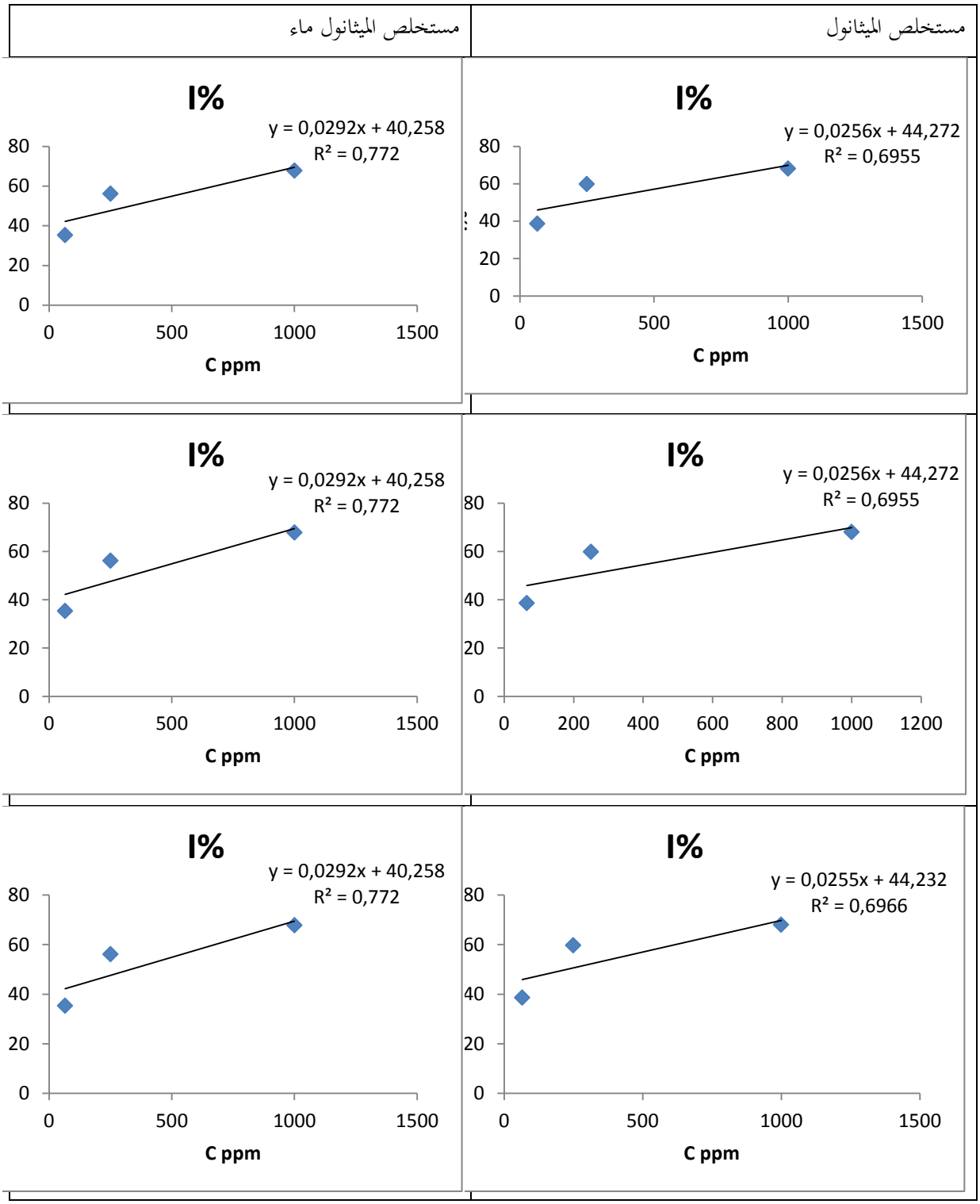
V-4-1: نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH:

تم تقدير نشاطية المستخلصات النباتية المضادة لجذر DPPH ومقارنتها بنشاطية حمض الأسكوربيك باعتباره مركبا قياسيا، وذلك بحساب IC50 بعد رسم المنحنى البياني للنشاطية المضادة للأكسدة بدلالة التركيز، ومنه نستخرج المعادلة وقيمة R^2، ويتم تعويض قيمة Y ب 50 واستخراج قيمةX وهي التي تمثل I50.

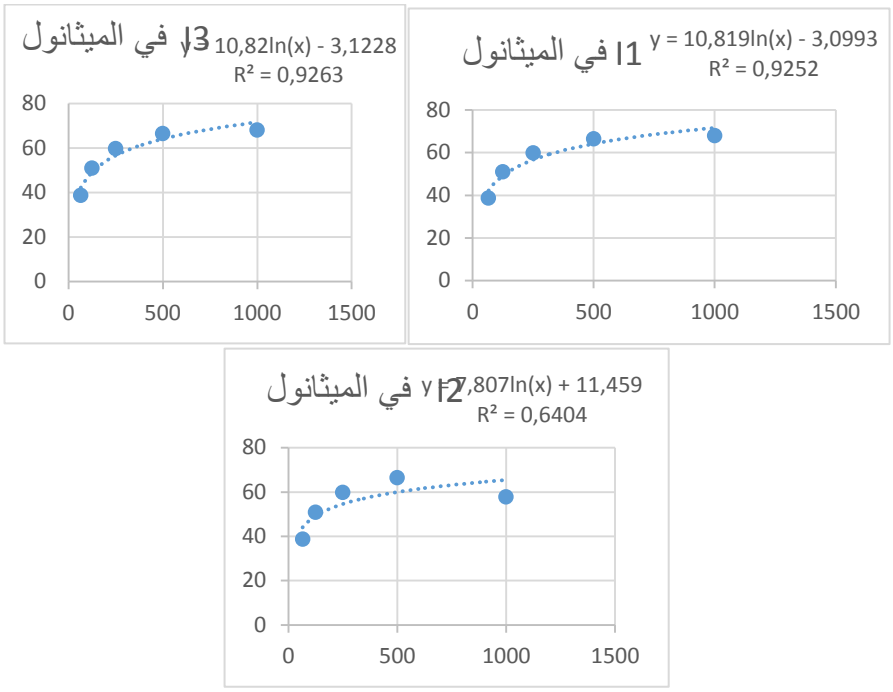


الشكلV-6: المنحنى القياسي لاختبار ال DPPH لحمض الأسكوربيك.

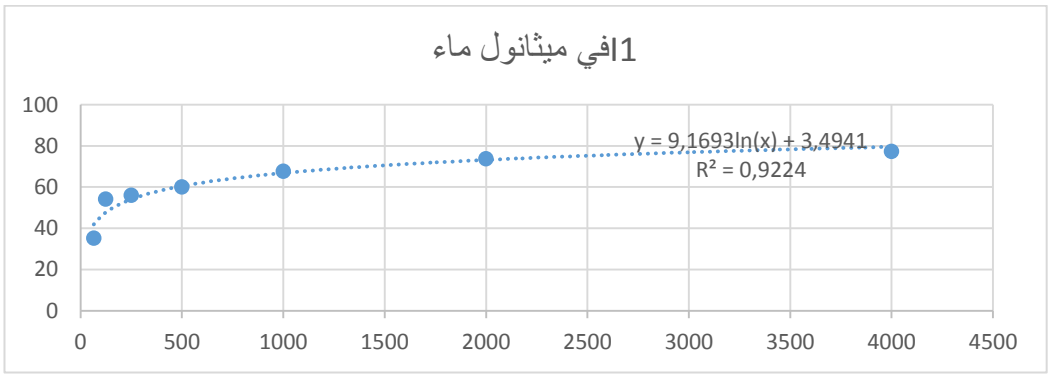
منحنيات *DPPH*:



الشكل V-7: منحنيات اختبار DPPH للعينات المدروسة.



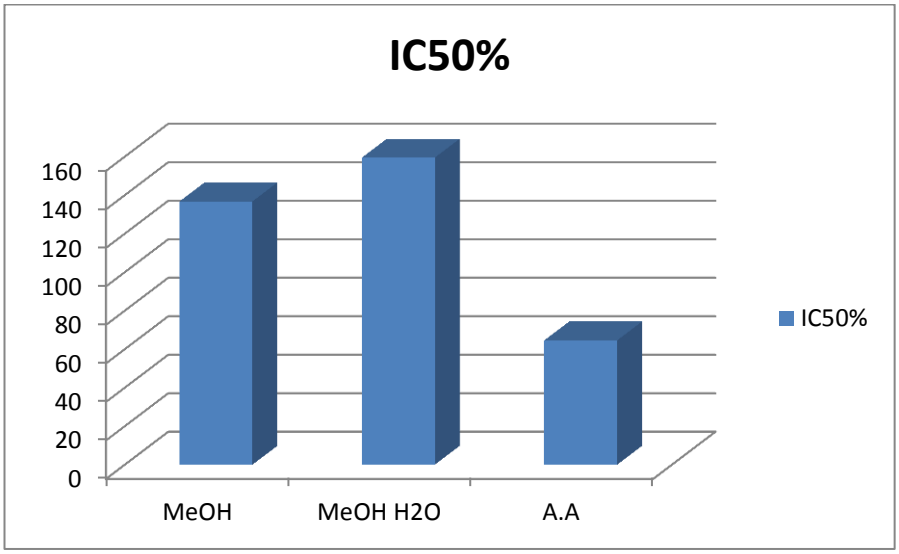
الشكل V–8: منحنيات اختبار DPPH للمستخلص الميثانولي



الشكل V–9: منحنيات اختبار DPPH للمستخلص ميثانول ماء

جدول V–7: يمثل نتائج قيم IC50 للعينات المدروسة.

العينة	المستخلص الميثانولي	المستخلص مزيج (ميثانول ماء)	حمض الأسكوربيك
50IC (**µg/ml**)	136,75 ± 1,81	159,479 ± 00	64,56148947



الشكل V–10: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار DPPH للعينات المدروسة.

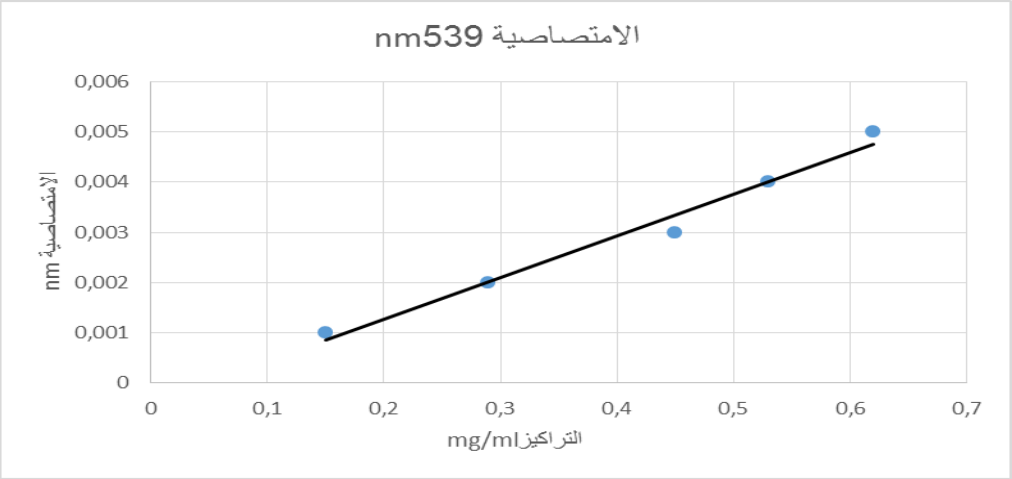
من خلال قيم IC 50المثبطة للجذر الحر DPPH في المستخلص ميثانول لنبتة *(Artemisia absinthium)* المتمثلة في الشكلV –8 ، نجد أن المستخلص ميثانول أبدى – أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر *DPPH*˙ اذ قدرت قيمة IC50 1,81±136,75 علما أن التركيز الأقل لها تعني التأثير التثبيطي الافضل , و نجد ان وصلت نسبة التثبيط IC50 في المستخلص الميثانول ماء قدرت ب 00±159,479 , نلاحظ ان هناك تناسب طردي بين كمية الفينولات و الفلافونويدات و نسب القدرة التثبيطية للجذور الحرة *DPPH* , فقد اظهرت في المستخلص الميثانولي الذي يحتوي على اكبر نسبة من الفينولات و الفلافونويدات اعلى نسبة لثبيط الجذر الحر *DPPH* .

من المعلوم ان الفعالية ضد الجذور الحرة تعزى في المقام الاول في المركبات الفينولية و الفلافونيدية . [1]

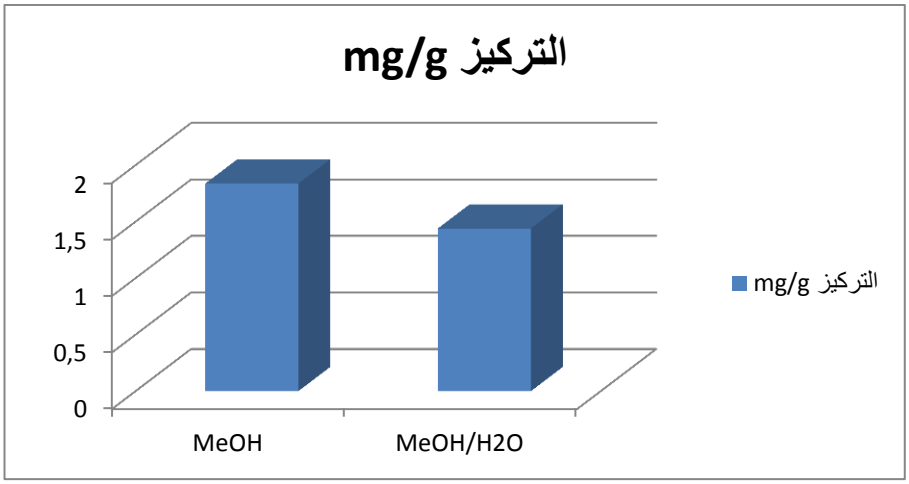
اثبت العديد من الباحثين ان القدرة التثبيطية للمركبات النباتية على جذر *DPPH* لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية , وتعتمد كفاءة هذه المركبات الفينولية كمضادات أكسدة على عدد المجموعات الهيدروكسيل المرتبطة في الحلقة العطرية. [2] و كذلك بمحتواها من الفلافونيدات .

أن عدد مجموعات الهيدروكسيل و موقع تموضعها له دور كبير في التأثير التثبيطي , إذ أن وجود مجموعة هيدروكسيل في C3 و بنية ال *ortho-hydroxyle* يعطي أفضل فعل تثبيطي على جذر *DPPH* وهذا ما اظهرته مجموعة من الدراسات حول التأثير التثبيطي ل 13 فلافونويد على جذر *DPPH* [3] .

V-4-2: نتائج اختبار *FRAP*:



الشكل V-11: المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك.

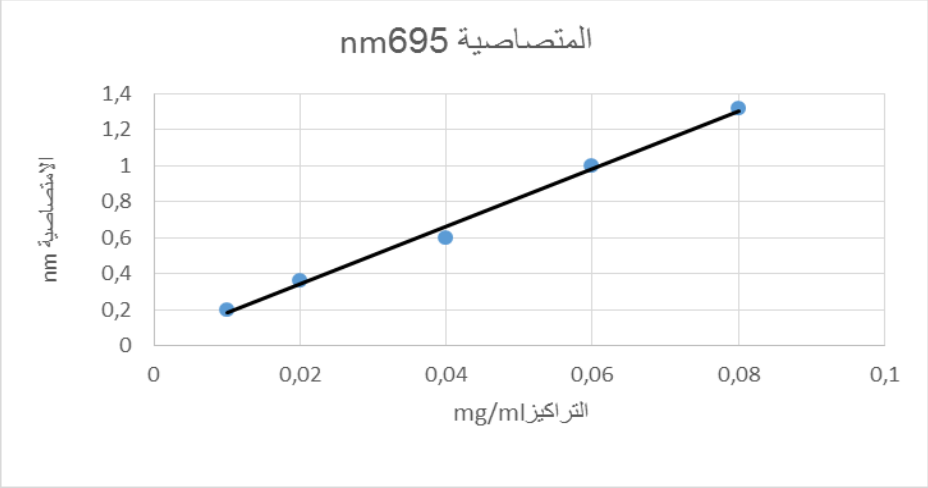


الشكل V-12: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار *FRAP* للعينات المدروسة.

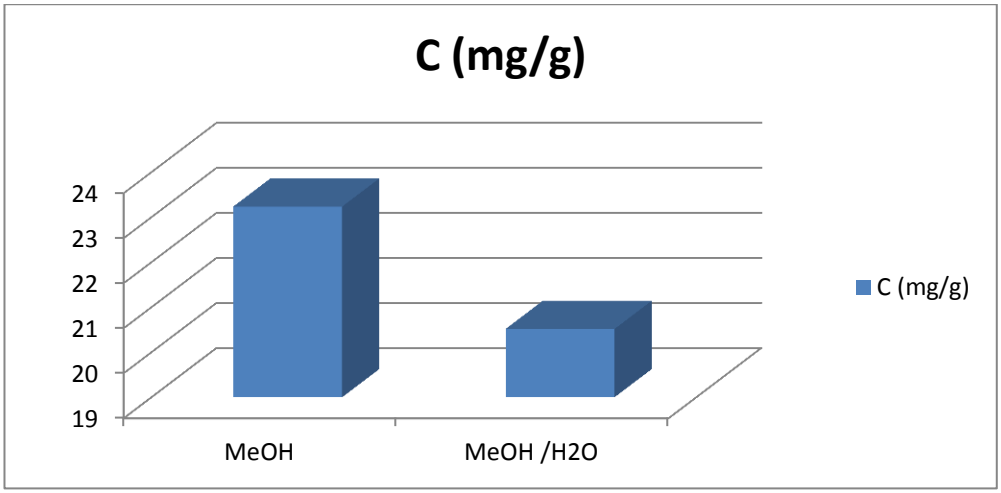
ترتكز تقنية Frap على التغيرات التي تحدث في الامتصاصية بسبب ظهور اللون الأزرق الناتج عن إرجاع مضادات الأكسدة لمركب Fe+3-TPTZ الى Fe+2-TPTZ في وسط حمضي , وذلك لان الكثير من المركبات تعتمد في اليتها المضادة للأكسدة على القدرة الارجاعية لمختلف الجذور الحر, قمنا بدراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة*FRAP* لتقدير هذه القدرة عند مستخلصات نبتة *(Artemisia absinthium)* . [4]

من خلال النتائج النهائية المتمثلة في الشكل V-10 نلاحظ ان المستخلص الميثانولي ذات فعالية عالية قدرت ب 1,837203596 ± 0,0871ملغ/مل مقارنة بالمستخلص ميثانول ماء كانت ذات فعالية ضعيفة قدرت ب 1,440139196 ± 0,0414ملغ/مل .

V-4-3: نتائج اختبار موليبدات الفوسفات ***phosphomolybdenum***:



الشكل V-13: المنحنى القياسي لحمض الغاليك.



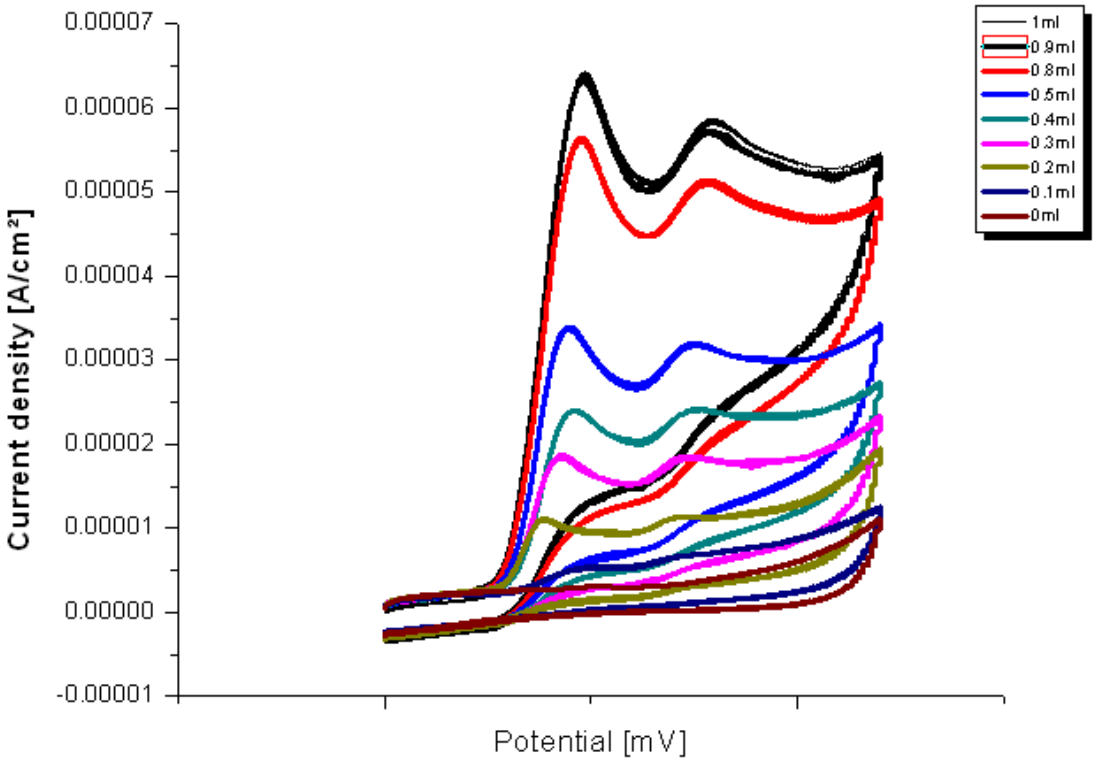
الشكل V-14: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار موليبدات الفوسفات للعينات المدروسة.

يتضح من خلال النتائج المتحصل عليها أن هناك علاقة طردية بين محتوى المستخلصات من المركبات الفينولية والفلافونويدية والقدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصين , حيث نلاحظ من خلال النتائج المتحصل عليها باختبار موليبدات الفوسفات لتقدير نسبة او كمية المضادات للأكسدة في الشكل V-12

انه في المستخلص الميثانولي كانت اكبر بكثير حيث قدرت ب 23,234 ± 0,168ملغ/ مل مقارنة بمستخلص الميثانول ماء التي قدرت ب 20,516 ± 0,10ملغ/مل .

V-5 : نتائج التقدير الاجمالي للقدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية:

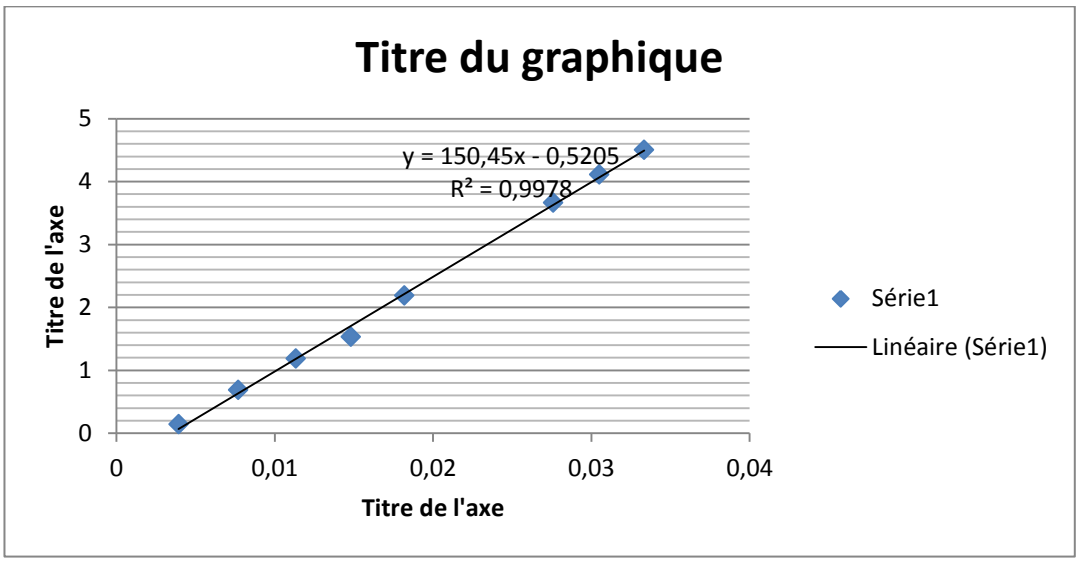
حددنا الفعالية المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات النبتة، بالنسبة لحمض الغاليك وذلك برسم منحنى لهذا الفينول المرجعي:



الشكل V-15: المنحنى الفولتامتري الحلقي لحمض الغاليك في وسط موقي pH=4 [-200 – 1200] مسرى العمل هو الكربون الزجاجي, سرعة المسح $100mv\ .s^{-1}$, درجة حرارة 25

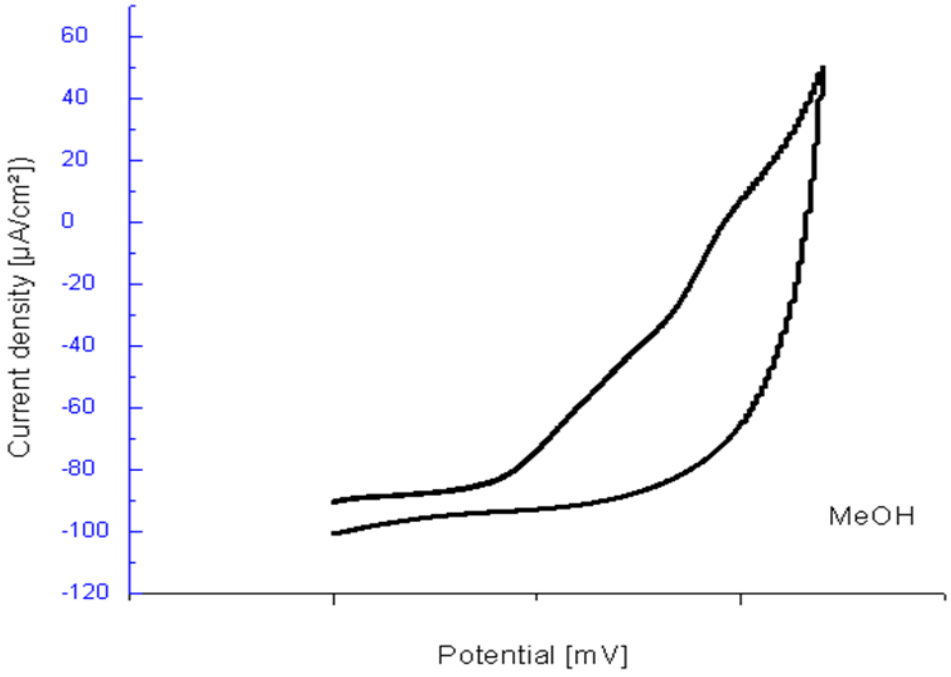
الجدول V–8: قيم كثافة شدة التيار بدلالة تركيز حمض الغاليك.

C(mg/ml)	I(µA/cm2)
I(uA)	C(mg/ml)
0.14224	**0.00392**
0.68502	**0.00769**
1.1823	**0.01132**
1.5323	**0.01481**
2.1854	**0.01818**

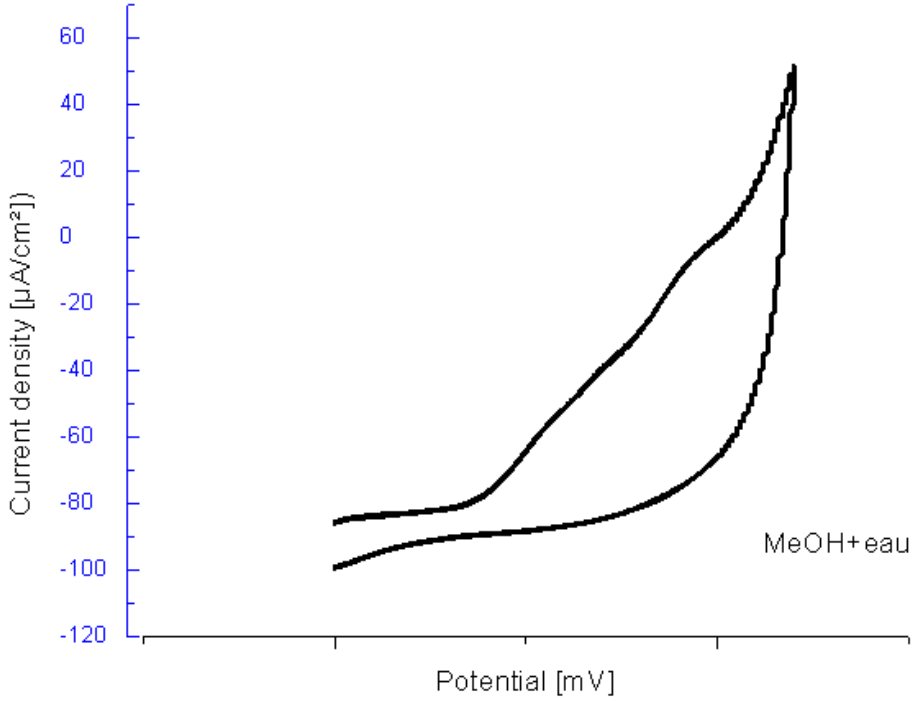


الشكل V–16: المنحنى العياري لحمض الغاليك.

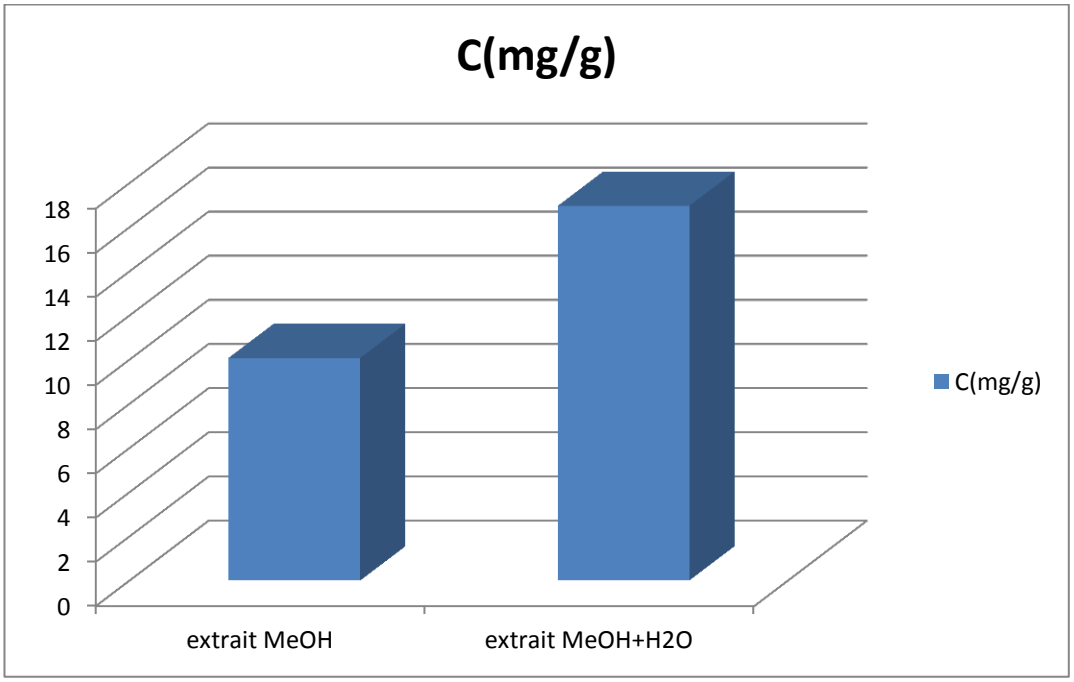
المنحنيات الفولطامترية الحلقية للمستخلصات في وسط موقي pH=4 كالتالي :



الشكل V-17: المنحنى الفولتامتري الحلقي لمستخلص الميثانولي لنبتة المدروسة.



الشكل V-18: المنحنى الفولتامتري الحلقي لمستخلص ميثانول-ماء لنبتة المدروسة.

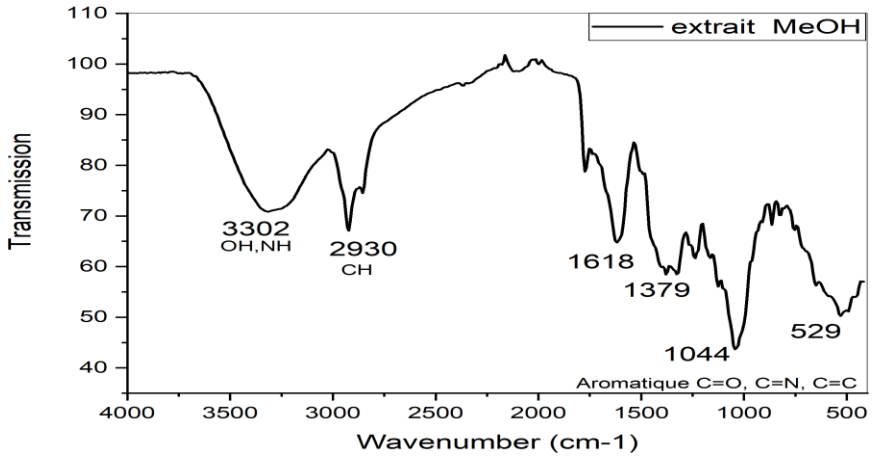


الشكل V–19: مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الفولطامتري الحلقي للعينات المدروسة.

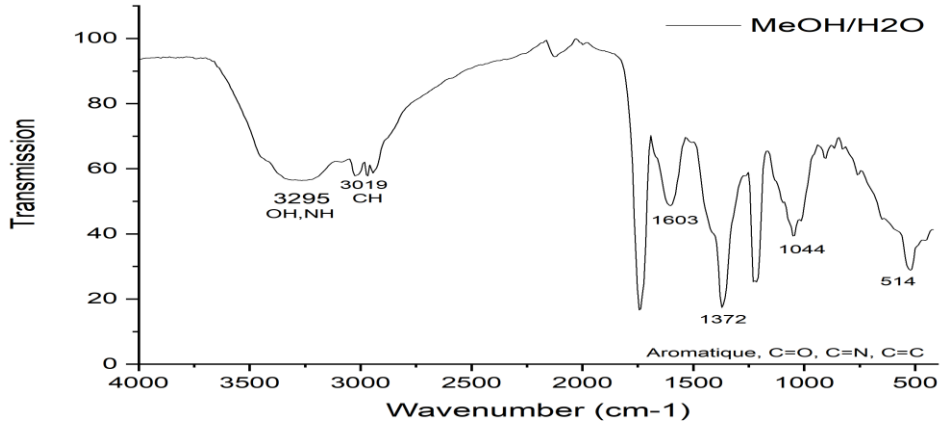
نلاحظ من البيان والمنحنيات الفولتامتري الحلقي للمستخلصات أن تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية عند PH=4, في المستخلص ميثانولي أعطت اقل قيمة لكثافة شدة التيار ب 0.76 I(uA)وأقل كمية للمضادة الأكسدة قدرت ب 10.07394483 ملغ/غ , حيث سجل المستخلص الميثانول ماء أعلى قيمة قدرت ب 0.9289 I(uA) وكمية للمضادة الأكسدة قدرت ب: 16.96576936ملغ/غ , لوحظ ان كمية المضادات الاكسدة للنبة الطبيعية سجلت اعلى قيمة في المستخلص المزيج ميثانول ماء مثل نتائج المتحصل عليها للنبتة المدروسة و هذا لوجود مكونات تذوب في الماء فقط.

V–6: نتائج مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR:

عملنا على تحديد الروابط الكيميائية في المستخلصات النبتة من خلال مواقع اهتزازها في طيف الاشعة تحت الحمراء بواسطة جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء حيث انجزت هاته الدراسة في مخبر كلية العلوم الدقيقة جامعة حمة لخضر الوادي كما هو موضع الشكلين التاليين :



الشكل V-20: طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص الميثانول .



الشكل V-21: طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص ميثانول ماء .

لقد تم تشخيص مواقع الحزم في طيف الاشعة تحت الحمراء للنبتة المدروسة في الشكلين V- 13 و V-14 : حيث أظهر حزمة امتصاص عريضة ضعيفة عند 3302و 3295 تعود الى وظيفة الهيدروكسيل (OH) , كما نلاحظ أيضا وجود حزمة امتصاص في منطقة 2930 و 3019 تدل على وجود (CH) , كذلك أظهرت العينة وجود حزم ذو شدة منخفضة عند (1618و1603) و (1379و 1372) و 1044 و (529و 514) 1049.6 وجود حزمة امتصاصية ذو شدة قوية ويدل ذلك على وجود (C=N) (C=O) (C=C) (*Aromatic*) .

بسبب غياب المركبات الفينولية و الفلافانويدية التي تحتوي على الروابط الثلاثية في النبتة المزروعة في تقرت .

V-7: الفعالية البيولوجية:

لقد تم هذا العمل في مخبر التحاليل الطبية المجد بالشط, لقد تم هذا على مرحلتين هما الزرع والحضن.

حيث تم الزرع ومن ثم قمنا بعملية الحضن لمدة 24 ساعة .

نتائج الفعالية البيولوجية لمستخلصات النبتة المدروسة عند تراكيز 5 ملغ/مل و 10 ملغ/مل و 15 ملغ/ مل كما هي موضحة في الجدول التالي:

جدول V-9 : نتائج الفعالية البيولوجية لمستخلصات النبتة المدروسة.

العينة / البكتيريا	المستخلص الميثانولي			المستخلص ميثانول ماء		
	5ملغ/مل	10ملغ/مل	15ملغ/مل	5ملغ/مل	10ملغ/مل	15ملغ/مل
Escherichia coli	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm
Staphylococcus aureus	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm
Klebsiella pneumoniae	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm	00mm

الشكل V-22: نتائج بكتيريا لمستخلصات النبتة المدروسة.

من خلال نتائج المتحصل عليها نلاحظ أن البكتيريا تمتلك مقاومة ضد مستخلصات النبتة المدروسة.

المراجع العربية

1. زيدان محمد , دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان , جامعة قاصدي مرباح ورقلة , 2018.
2. ع. أ. بن سلامة, "النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للك ا زنثين لمستخلصات أو ا رق Hertia cheirifolia L . . ," مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيو كيمياء, . جامعة فرحات عباس .سطيف. الجزائر. 90 ص, 2012 .
3. حمودي فاطمة . محتوى المركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات طبي Artemisia absinthium .مذكرة لنيل شهادة الماستر , جامعة حمة لخضر الوادي . 2021.

المراجع الفرنسية

4. J. J. Strain. I. F. Benzie, "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"," the FRAP assay. Anal Biochem, vol. 239, pp. 70-76, 1996.
5. Jasna M Canadanovic-Brunet,∗ Sonja M Djilas, Gordana S Cetkovic and Vesna T Tumbas Free-radical scavenging activity of wormwood(Artemisia absinthium L) extracts University of Novi Sad, Faculty of Technology, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia and Montenegro(2005).

الخاتمة

خاتمة

منذ فجر التاريخ، استعمل الانسان النبات لعدة أغراض منها معالجة مختلف الامراض التي تصيبه. وبالرغم من تطور الطب الحديث الا ان التداوي بالأعشاب اخذ في تطور أيضا، حيث لحد الان لاتزال النباتات مصدر للعلاج الطبي في دول العالم وبالخصوص الثالث في غياب نظام الطب الحديث.

تعتبر الجزائر من الدول التي تتميز برقعتها الجغرافية الكبيرة ومناخها المتعدد وتربتها المتنوعة والخصبة مما جعل لما الصدارة في زراعة الأعشاب والتداوي بها.

تم التطرق في هذه المذكرة الى دراسة الجزء الهوائي لشجرة مريم المزروعة في ولاية تقرت بالجزائر وهي ليس بمكانها الأصلي انما زرعت فيه، حيث تم استخلاص منها المركبات الفينولية والفلافونويديه وتقيم فاعليتها البيولوجية كقدرتها على نثبيط الجذور الحرة (مصادر الاكسدة).

حيث أنجزت هذه الدراسة بمختبر كلية العلوم الدقيقة ومخبر كلية العلوم الدقيقة قسم الكيمياء جامعة منتوري بقسنطينة كانت اول خطوات الدراسة هي الاستخلاص حيث تم الاستخلاص بأربعة محاليل المستخلص الأول ميثانولي, الثاني ميثانول ماء (2/8) الثالث هيكسان و الرابع ديكلورو ميثان و تم الاستخلاص بطريقتين : الطريقة الكلاسيكية بالنقع و الاستخلاص بجهاز الموجات فوق الصوتية للحصول على مردود الاستخلاص على التوالي:17.66% ,15.77 %, 1.48% و31.16% .

بغيت تثمين هاته المادة تم الفحص الكيميائي*(screening)* لنبات شجرة مريم *(Artemisia absinthium)* من اجل الكشف عن المواد الفعالة كعديدات الفينول و التانينات و الفلافونويدات و الكومارينات و تربينات و القلويدات و الصابونيات...

والدارسة التقديرية للفينولات و الفلافونويدات وكذا فاعليتها المضادة للأكسدة بالطريقة الطيفية فتحصلنا على النتائج التالية:

بالنسبة ل الفحص الكيميائي*(screening)* لنبات تبينا انها غني بالمواد الفعالة تحتوي على عديدات الفينول و التانينات و الفلافونويدات و الكومارينات و تربينات و خالي تماما من القلويدات و الصابونيات , اما عن تقدير كمية الفينولات فنمت بواسطة طريقة *Singleton Rossi* وذلك باستعمال كاشف الفولين *(Folin ciocalteu)*، وجدنا أن أعلى مقدار لها في المستخلص الميثانولي قدرت ب 498.64±0.027 mg

EAG/g، كذلك تم تقدير كمية الفلافونويدات باستعمال طريقة (*Woisky and salation*) ، وجدنا أن اعلى قيمة في المستخلص الميثانولي قدرت بـ27.21±0.76 µg EAG/g اما عن الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات تم ذلك بطريقتين: الطريقة الطيفية والطريقة الكهروكيميائية, حيث اعتمدت الطريقة الطيفية على تقدير النشاطية المثبطة للجذور الحرة باستعمال ، وقد بينت النتائج أن المستخلص الميثانولي كانت له فعالية أعلى في اختبار DPPH مقارنة بالمستخلص الميثانول ماء ، وأما في اختبارFRAP و موليبدات الفوسفات وجدنا أن المستخلص الميثانولي أعطي فعالية أعلى مقارنة بالمستخلص المزيج ميثانول والماء و حمض الأسكوربيك بالنسبة لFRAP , أما بالنسبة للطريقة الكهروكيميائية المتمثلة في طريقة الفولتامتري الحلقي, وقد كانت النتائج جيدة حيث توصلنا الي أن المستخلص ميثانول ماء يمتلك القدرة على تثبيط الجذور الحرة. وبدارسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتة وذلك عن طريق ثلاث سلالات بكتيرية، (*E .Coli* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae*) حيث تبين لنا أن البكتيريا تمتلك مقاومة ضد مستخلصات النبتة المدروسة.

ختمنا دارستنا هاته بمقارنة نتائج لشجرة مريم المحصودة من منطقة تقرت ولاية تقرت الجزائر مع شجرة مريم الموجود بشكل البري في منطقة سدراته ولاية سوق اهراس الجزائر أي مقارنة تأثير المناخ و البيئة المحيطة و كذلك التضاريس على المواد الفعالية في النبتة، من خلال هذه نتائج نوصي البحثين بالمزيد من البحوث طبية وبيولوجية وصيدلانية المختلفة و دارست تأثير المناخ على المواد الفعالية في النباتات لغرض تثمين نبتة شجرة مريم، وكيفية استعمله في العلاج والوقاية من العديد من الامراض المستعصية التي اثبتت البحوث الطبية الحديثة المساهمة في شجرة مريم كعلاج لها.

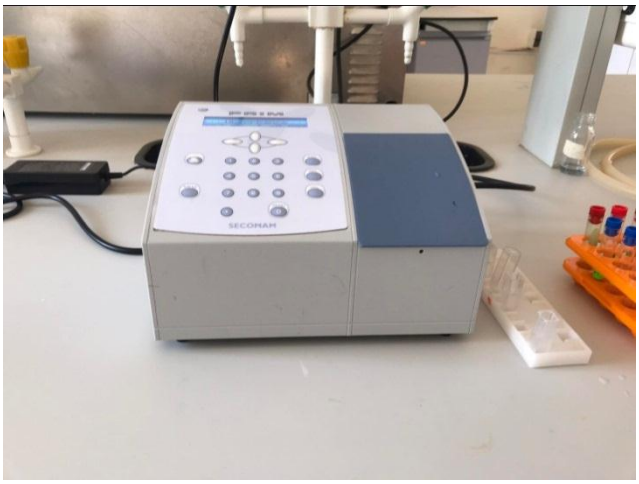
الملاحق

الملحق A:صور الاجهزة المستعملة

جهاز المبخر الدوراني Rota vapeur

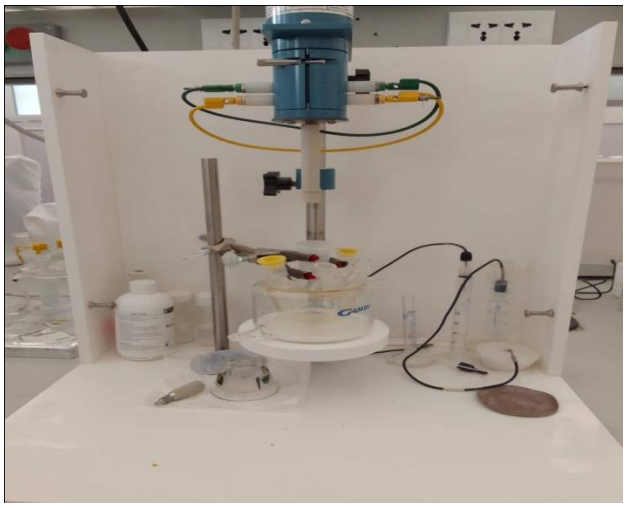
جهاز الموجات الفوق الصوتية Ultrason

جهاز Bain marie



جهاز الاشعة الفوق البنفسجية المرئية

جهاز الترشيح



جهاز فولطامتري الحلقي

جهاز مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR

الملحق B: ترددات أهم الروابط في مطيافية الاشعة تحت الحمراء IR:

TABLE 14.2 IMPORTANT SIGNALS IN IR SPECTROSCOPY

STRUCTURAL UNIT	FREQUENCY (cm^{-1})	STRUCTURAL UNIT	FREQUENCY (cm^{-1})
USEFUL SIGNALS IN THE DIAGNOSTIC REGION			
Single Bonds (X— H)		Double Bonds	
—O—H	3200–3600	Cl, C=O	1750–1850
O, —O—H	2200–3600	RO, C=O, R	1700–1750
N—H	3350–3500	HO, C=O, R	1700–1750
≡C—H	~3300	R, C=O, R	1680–1750
C—H	3000–3100	H_2N, C=O, R	1650–1700
C—H	2850–3000	C=C	1600–1700
O, C—H	2750–2850		1450–1600 1650–2000
Triple Bonds			
C≡C	2100–2200		
C≡N	2200–2300		

Discussed in Chapter 20

Discussed in Chapter 17