رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة علوم البيولوجيا

تخصص: بيولوجيا وتثمين النبات

الموضوع

المساهمة في دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية لنبات صحراوي الأرطى *Calligonum comosum* L'her. النامي في منطقة واد سوف.

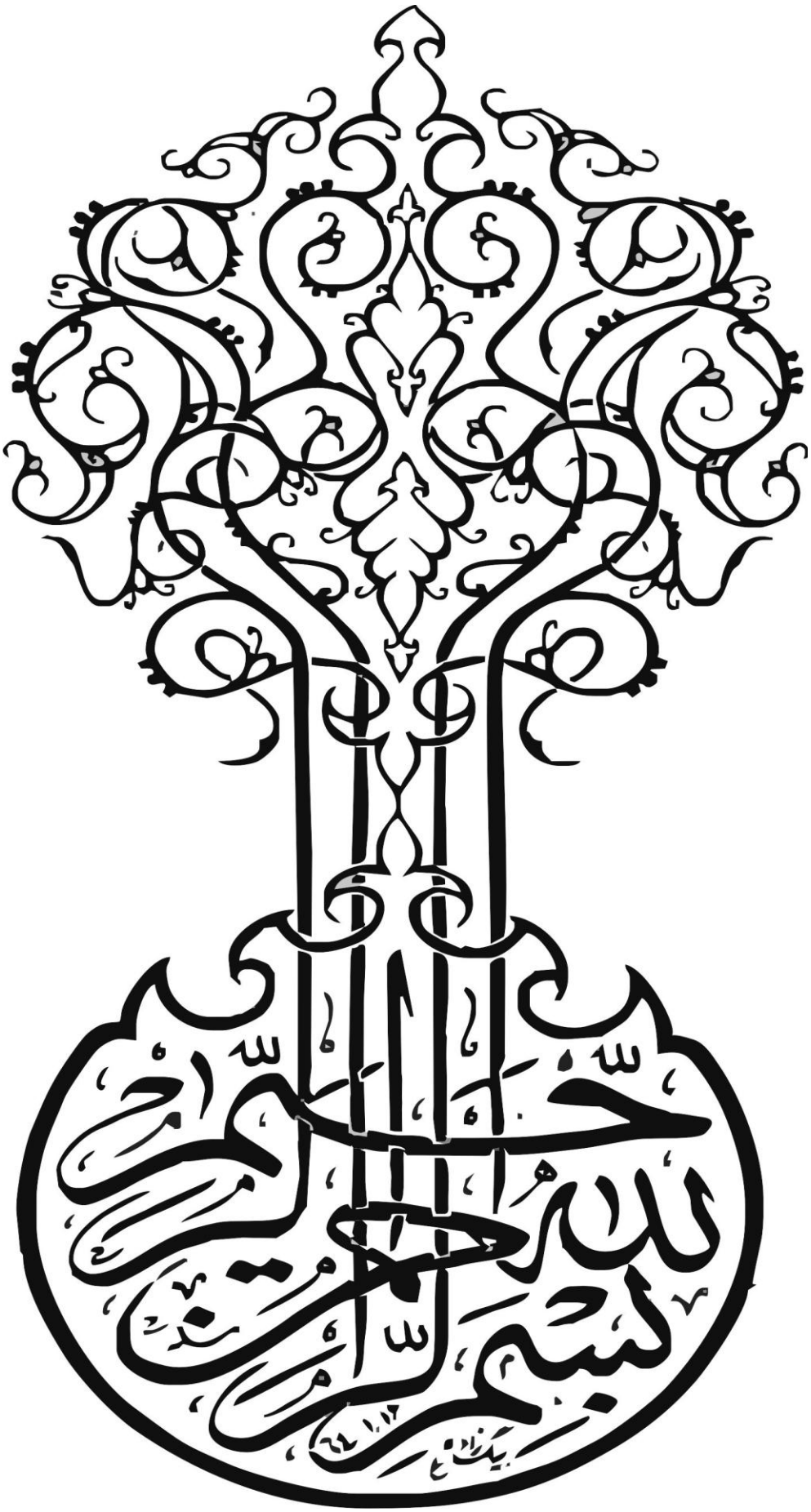
من إعداد:

الحادة عجال و مكي مسعودة

نوقشت يوم السبت 2015/05/30 من طرف لجنة المناقشة:

أحمد الخليفة شمسة	أستاذ مساعد قسم أ	رئيسا	جامعة الوادي
عاطف شويخ	أستاذ مساعد قسم أ	مؤطرا	جامعة الوادي
عبد الرزاق كرام	أستاذ مساعد قسم ب	ممتحنا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2015/2014


بسم الله الرحمن الرحیم

شكـــر وتقديـــر

أتقدم بأسمى عبارات الشكر والامتنان والتقدير إلى من يعجز لساننا عن إيجاد العبارات المناسبة لشكره، إلى من سدد خطايانا وأنار طريقنا، إلى واهبي الحياة، إلى ربي رب العزة جل جلاله.

لكل مبدع انجاز ولكل شكر قصيدة ولكل مقام مقال... ولكل نجاح شكر وتقدير، فجزيل الشكر نهديكم ورب العرش يحميكم:

إلى الأستاذ الفاضل والمحترم **شويخ عاطف** الذي نتقدم له بالشكر الوافر والامتنان غير المنقطع والذي لم يبخل علينا بتوجيهاته ونصائحه القيمة والثمينة طوال مراحل إنجازنا لهذا العمل وكان له الفضل في توفير كل الإمكانيات التي نحتاجها في عملنا هذا.

كما اتوجه بجزيل الشكر والتقدير إلى الأستاذة القديرة **سمامي هادية** على كل النصائح والمساعدات وعلى كل مجهوداتها في توفير كل الاحتياجات والتي أعطتنا من وقتها الكثير والكثير في المخبر لإتمام هذا العمل والتي تعلمنا منها الكثير من مبادئ العمل المخبري جزاها الله خيرا ووفقها في رسالتها إن شاء الله.

كما اتقدم بالشكر الخالص للأستاذ **الربيعي عبد الكريم** على تشجيعاته ومساعدته الطيبة في هذا العمل فله منا كل التقدير والإحترام

كما أتوجه بأعمق وأسمى عبارات الشكر والعرفان إلى كل أساتذتنا الكرام الذين لهم الفضل في وصولنا إلى هذا المستوى من معلمي الابتدائي إلى أساتذة الجامعة.

والشكر إلى كل من ساعدنا من قريب أو بعيد في إنجاز هذا العمل من البداية إلى غاية الانتهاء.

الملخـــــــص

الملخــص:

يهدف هذا العمل إلى الدراسة الفيتوكيميائية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. المنتشر في منطقة واد سوف بالجنوب الشرقي الجزائري، من خلال الكشف الكيميائي والمقارنة بين المستخلصات الميثانولية (MoH) والإيثانولية (EoH) المحضرة بواسطة طريقتي النقع (MM) والأمواج فوق الصوتية (Ul-S).

أسفر الكشف الكيميائي عن وجود كل من الفلافونيدات، الأنثوسيانينات، التانينات الكاتيشية، المركبات المرجعة، الصابونوزيدات، الستيرولات والتربينات الثلاثية وغياب كل من التانينات القاليكية والقلويدات.

قدر مردود (MoH) بـ % 10.78 و % 10.91 لـ (MM) و (Ul-S) على التوالي، أما المستخلصات (EoH) فقدر المردود فيها بـ % 4.61 لـ (MM) و % 6.99 لـ (Ul-S)؛ أما في ما يخص التقدير الكمي لعديدات الفينول فتفوقت المستخلصات (EoH) على المستخلصات (MoH) حيث قدرت كميتها بـ (175.75 ± 64.29 mg AG E/g Matière Sèche) لـ (EoH MM) و(173.24 ± 56.73 mg AG E/g Matière Sèche) لـ (EoH Ul-S)، والقيمتين (1.55 ± 0.32 mg AG E/g Matière Sèche) و(3.28 ± 0.204 mg AG E/g Matière Sèche) لـ (MM) و (Ul-S)على الترتيب؛ في حين أظهرت المستخلصات (EoH) كمية معتبرة من الفلافونيدات قدرت بـ (38.59 ± 1.89 mg QE/g Matière Sèche) و(32.97 ± 7.78 mg QE/g Matière Sèche) و قيما ضئيلة عند المستخلصات (MoH) قدرت بـ (1.19 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche) و(0.51 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche) لـ (MM) و (Ul- S) على التوالي.

من خلال تقدير النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) واختبار تثبيط الجذر الحر DPPH، أظهرت نتائج الاختبار الأول تفوق (EoH MM) بكمية قدرت بـ (596.83 ± 78.24mg AG E/g Extrait) مقارنة بقيمة (EoH Ul-S) والتي بلغت (511.22 ± 75.24 mg AG E/g Extrait)، كما أعطى (MoH) قيم معتبرة للقدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) قدرت بـ (275.41 ± 23.77mg AG E/g Extrait) لـ (MM) وهي قيمة معتبرة مقارنة مع قيمة مستخلص (Ul-S) المقدرة بـ (511.22 ± 75.30mg AG E/g Extrait)، أما فيما يخص إختبار DPPH فكانت قيم IC_{50} للمستخلصات الإيثانولية (6.3 µg/ml) و (7.9 µg/ml) لـ (Ul-S) و(MM) على التوالي، أما قيم IC_{50} المسجلة مع المستخلصين الميثانوليين فقدرت بـ (50 µg/ml) لـ (Ul-S) و (100 µg/ml) مع (MM).

إن نتائج النشاطية ضد البكتيرية أبانت أن السلالتين البكتيريين *E. coli* و*S. aureus* لهما حساسية معتبرة من المستخلصات الأربعة عكس السلالة *P. aeruginosa* والتي أبدت مقاومة مع جل تراكيز المستخلصات المختبرة.

أما عن التحليل النوعي للمستخلصات الكحولية بواسطة HPLC والتي مكنتنا من تحديد بعض المركبات الفينولية على غرار: حمض الأسكوربيك، حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكرستين ، الفانلين والروتين والتي أظهر التحليل الكروماتوغرافي وجود أغلبها في مستخلصات النبات خاصة عند المستخلص (MoH Ul-S).

الكلمات المفتاحية: الأرطى *Calligonum comosum* L'her.، المستخلصات الميثانولية (MoH)، المستخلصات الإيثانولية (EoH)، النقع (MM)، الأمواج فوق الصوتية (Ul-S)، عديدات الفينول، الفلافونيدات، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

Abstract :

Abstract:

The aims of this study are phytochemicals and evolution effects of extaction methods (Maceration: MM and Ulra-Sounds: Ul-S) of different extracts (Methanolic: MoH and Ethanolic: EoH) from Saharian plant *Calligonum comosum* L'her. Growing in Oued Souf region (South-East of Algeria).

The chemical scrining study allowed reveals the presence of Flavonoids, Anthocynes, Tannins Cathechic, Reducing Compounds, Saponosids, Triterpens and Sterol; and the absence of Tannins Gallic and Alkaloids.

The EoH extracts had a high levels of polyphenols (175.75 ± 64.29 mg GAE/g Dried Plant for MM and 173.24 ± 56.73 for Ul-S) when compared to MoH extracts (3.28 ± 2.04 mg GAE/g Dried Plant for MM and 1.55 ± 0.32 for Ul-S).

The values of Flavanoids in extracts EoH (38.59 ± 1.89 mg QE/g Dried Plant) for (MM) and (32.97 ± 7.78 mg QE/g Dried Plant) for (UL-S) this is the highest of the MOH extract (1.19 ± 0.14 mg QE/g Dried Plant) for (MM) and (0.51 ± 0.14 mg QE/g Dried Plant).

The highest scavenging activity of DPPH radical was found for the EoH extract in Ul-S (69.42%) and the EoH MM extract 60%. The MoH extracts MM and Ul-S exhibited the lowest scavenging activities 29.67% and 19.34% respectively.

The ethanolic maceration method (EoH MM extract) had the high antioxidant capacity (596.83 mg GA E/g Dried Extract). Also the EoH Ul-S extract showed higher capacity (511.22 mg GA E/g Dried Extract), when compared to methanol extracts (275.41with MoH MM and 231.59 mg GAE/g Dried Extract with the MoH Ul-S).

The values of IC_{50} clearly indicate superiority of ethanol extracts (6.3 µg /ml for Ul-S and 7.9µg/ml with MM) the methanol extracts (50µg/ml for Ul-S and 100µg/ml with MM).

The antibacterial activity of different extracts of *C. comosum* reveals a high sensitivity of the tested germs except for *E. coli* and *S. aureus*. The *P. aeruginosa* strain is resistant to all concentrations of Four extracts.

The chromatographie cal profile realized by HPLC revealed the presence of same major peaks which Gallic Acid, Ascorbic Acid, Cloroginic Acid, Quercitine, Vanillin, Ruten, Caffeic, is present in all extract, and MoH Ul-S especially.

Key word: *Calligonum comosum* L'her., methanolic extracts (MoH), ethanolic extracts (EoH), maceration (MM), Ulra-Sounds (Ul-S), polyphenols, Flavanoids, Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, HPLC.

Résumé:

Résumé:

Notre travaille vise à faire une étude phytochimique des extraits de *Colligonum comosum* L'her. Qui pousse dans la région d'El-oued (Est Sud d'Alger) ;a partir de screening chimique et la comparaison entre l'extrait méthanoïque (MoH) et éthanoïque (EoH) qui sont préparés par différentes méthodes d'extraction: Macération (MM) et Ultrason (Ul-S).

La screening chimique a mis en évidence la présence: Les Flavonoïdes, Les Anthocyanes, Les Tanins Catechique, Les Composées Réductrices, Les Saponàsides, Les Sterols, Les Triterpènes, et l'absence des Tanins Galliques et Les Alcaloïdes.

Les rendement des extraits (MoH) sont plus élevés:10.78% avec (M) et 10.91% chez (Ul-S) par apport aux extraits (EoH):4.61% et 6.99% avec (MM) et (Ul-S) respectivement.

les teneurs en polyphénols totaux des extraits (EoH) ont été obtenus avec des valeurs (175.75 ± 64.29 mg AG E/g Matière Sèche) et (173.24 ± 56.73 mg AG E/g Matière Sèche) chez (MM) et (Ul-S) respectivement, ces résultats sont plus élevés par apport aux résultats obtenus avec les extraits (MoH): (1.55 ± 0.32 mg AG E/g Matière Sèche) avec (MM) et (3.28 ± 0.204 mg AG E/g Matière Sèche) chez (Ul-S).

les extraits (EoH) donnent des teneurs en Flavonoïdes de l'ordre de (38.59 ± 1.89 mg QE/g Matière Sèche) au (MM) et (32.97 ± 7.78 mg QE/g Matière Sèche) avec (Ul-S) plus important par aport aux teneurs des extraits (MoH): (1.19 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche) et (0.51 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche 1.19 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche) avec (MM) et (Ul-S) respectivement.

Les tests utilisées pour l'estimation de l'activité antioxydant sont: CAT et DPPH; le test CAT donne des bonnes valeurs notamment chez (EoH MM: 596.83 ± 78.24 mg AG E/g Extrait) et (EoH Ul-S: 511.22 ± 75.24 mg AG E/g Extrait), aussi les extraits (MoH) donnent des valeurs importantes (MoH MM: 275.41 ± 23.77 mg AG E/g Extrait) et (MoH Ul-S: 231.59 ± 38.58 mg AG E/g Extrait). Les valeurs d' IC_{50} calculées à l'aide de l'équation linéaire de taux d'inhibions de radical DPPH montrent des valeurs importantes chez (EoH) qui sont (6.3 µg/ml chez Ul-S et 7.9 µg/ml avec MM), mais les valeurs d'IC_{50} des extraits (MoH) sont fibles: (50 µg/ml avec Ul-S et 100 µg/ml chez MM).

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont permis d'affirmer que la sensibilité de *E. coli* et *S. aureus*. Vis-à-vis aux différentes concentration de Quatre extraits testées. Alors une nette résistance est observée avec la souche bactérienne *P. aeruginosa*.

Pour l'analyse qualitative et quantitative des composés polyphénoliques contenant dans nos différents extraits on a utilisé Chromatographie liquide de haute performance (HPLC) qui à mis en évidence la présence de quelques composés phénoliques comme: Acide Ascorbique, Acide Gallique, Acide chlorogenique, Acide caféique, Quercétine, vanilline et Rutine dans toutes les extraits notamment l'extrait (MoH Ul-S).

Mon clé: *Calligonum comosum* L'her., extraits méthanoïques (MoH), extraist éthanoïques (EoH), Macération (MM), Ultra-sons(Ul-S), Polyphénols Totaux, Les Flavonoïdes, L'Activité Antioxydant , L'Activite Antibacterienne, Chromatographie liquide de haute performance (HPLC).

الفهـــــــرس

الفهـــــــــرس

الفهـــــــرس
فهرس الجداول
فهرس الوثائق
فهرس الأشكال
المقدمـــــــــة
الجـــــــزء النظـــــــري
الفصـــل الأول: الإجهادات التأكسدية و الفعالية المضادة الأكسدة (Les Stress Oxydative et Les Activités Antioxydantes)
1- الإجهاد التأكسدي Les Stress Oxydatives.....03
1-1- تعريف الجذور الحرة Les radicaux libres.....03
1-2- أنواع الجذور الحرة.....04
1-2-1- التقسيم على أساس الاستقرار.....04
1-2-2- التقسيم على أساس النوع.....04
1-3- أضرار الجذور الحرة.....06
2 - مضادات الأكسدة Les Antioxydantes.....08
2-1- تعريف مضادات الأكسدة.....08
2-2- أقسام مضادات الأكسدة.....08
2-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية.....08
2-2-1-1- مضادات الأكسدة الأنزيمية.....09
2-2-1-2- مضادات الأكسدة غير الأنزيمية.....11
2-2-2- مضادات الأكسدة الإصطناعية.....13
الفصـــل الثانـــي: الدراسة النباتية للنوع *Calligonum comosum* L'her.
1 -دراسة العائلة (الحماضية) Polygonaceae.....15
1-1 -الخصائص العامة للعائلة.....15

الفهـــــــــرس:

2 -الخصائص العامة للجنس *Calliganum*.....15
3 -الخصائص العامة للنوع *Calligonum comosum* L'her.....16
4 -الوضعية التصنيفية Position systématique.....18
5 -الانتشار الجغرافي لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.....18
5 1 -الانتشار الجغرافي في العالم.....18
5 2 -الانتشار الجغرافي في الجزائر.....19
6- استعمالات النبات.....19
7 -الدراسات السابقة للنوع النباتي.....19
الجـــزء التطبيـــــقي
الفصـــل الأول: المـــــواد والطـــرق
1- المـــواد..... 21
1-1-المادة النباتية..... 21
1-2-الأدوات والوسائل المستعملة..... 21
2 -الطرق المتبعة.....26
2-1- الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي.....26
2-2- طرق الاستخلاص..... 31
2-3- تقدير المركبات الفينولية بالطرق اللونية.....33
2-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.....34
2-5- دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا.....36
2-6- التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).....39
الفصـــــل الثانـي: النتائــج والمناقشـــة
1- النتائـــــــج.....41
1 1 -النتائج المتحصل عليها في الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.....41
1 2 -مردود المستخلصات الكحولية..... 42

الفهـــــــــرس:

1 3 -التقدير الكمي للمركبات الفينولية.....43
1 4 -تقدير الفعالية المضادة للأكسدة..... ..47
1 5 -دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا.....52
1 6 -التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).....59
2 -المناقشـــــة.....70
الخاتمـــــــة
المراجـــــع
الملاحـــــق

فهـــــرس الجـــــداول

الرقم	عنـــــوان الجـــــدول	الصفحة
01	مختلف الأنواع الأوكسيجنية النشطة	05
02	الوضعية التصنيفية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.	18
03	الأدوات، المحاليل، الكواشف والأجهزة المستعملة في الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي عند النبات	22
04	الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة عند الاستخلاص	22
05	المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير المركبات الفينولية	23
06	المحاليل، الأدوات والأجهزة المستعملة في قياس الفعالية المضادة للأكسدة	24
07	الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا	25
08	نتائج الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في نبات الأرطى.*Calligonum comosum* L'her.	41
09	كمية عديدات الفينول للمستخلصات الكحولية بالملغ مكافئ لحمض الغاليك/ غ من المادة الجافة (mg AG E/ g MS).	44
10	التقدير الكمي للفلافونيدات للمستخلصات الكحولية الأربعة.	46
11	بعض المركبات الفينولية للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.	64
12	بعض المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.	65
13	بعض المركبات الفينولية للمستخلص الميثانولي بطريقة االأمواج فوق الصوتية وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.	65
14	بعض المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي بطريقة االأمواج فوق الصوتية وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.	67
15	تراكيز المركبات الفينولية المعروفة للمستخلصات الميثانولية والإيثانولية وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.	68
/	متوسط الأقطار التثبيطية بـ (mm) للسلالات البكتيرية المختبرة للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.	الملحق 04

فهـــــرس الوثائـــــــــق

الرقـــم	عنـــــوان الوثيقـــــــة	الصفحة
01	تأثيرات الإجهاد التأكسدي	06
02	آلية التخلص من $O_2^{\bullet-}$ بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة	10
03	آلية التخلص من الجذور اللبيدية بواسطة Vit. E و Vit. C والجلتاثيون	12
04	بنية المركب BHT	14
05	بنية المركب BHA	14
06	رسم تخطيطي يوضح نبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.	16
07	الشكل العام وأجزاء من نبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.	17
08	الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي	29
09	تابع للكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي	30
10	جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur)	32
11	جهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons)	32
12	المضادين الحيويين (AMC_{30} Amoxyclav) و(AK_{30}) Amikacin المستخدمة في المقارنة الإيجابية للنشاطية المضادة للبكتيريا للنشاطية المضادة للبكتيريا	38
13	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	40
14	تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Escherichia coli* .	53
15	تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa*.	54
16	تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus*.	55
/	جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométer	الملحق 01

الفهـــــــــرس:

/	Cuve de plastique et de quartz	الملحق 01
/	حاضنة Etuve	الملحق 01
/	جهاز Autoclave	الملحق 01

فهـــــــرس الأشكـــــال

الرقـم	عنـــوان الشكـــــــل	الصفحة
01	مردود المستخلصات الميثانولية والإيثانولية لنبات الارطى *Calligonum comosum* L'her.	42
02	المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينولات عند المستخلص الإيثانولي.	43
03	المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينولات عند المستخلص الميثانولي.	43
04	المنحنى القياسي لحمض الكرستين لتقدير الفلافونيدات عند المستخلص الميثانولي	45
05	المنحنى القياسي لحمض الكرستين لتقدير الفلافونيدات عند المستخلص الإيثانولي	45
06	المنحنى القياسي لحمض الغاليك للمستخلص الإيثانولي في إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة.	47
07	المنحنى القياسي لحمض الغاليك للمستخلص الميثانولي في إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة.	47
08	نتائج القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT للمستخلصات الكحولية لنبات الارطى *Calligonum comosum* L'her.	48
09	المنحنى القياسي للـ α-Tocopherol للمستخلص الإيثانولي مع اختبار إقتناص جذر DPPH.	49
10	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك للمستخلص الميثانولي مع اختبار إقتناص جذر DPPH.	49
11	نسبة تثبيط المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى . *Calligonum comosum* L'her للجذر الحر DPPH.	50
12	قيم IC_{50} المثبطة لـ 50% من الجذر الحر DPPH بـ µg/ml للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.	51
13	متوسط الأقطار التثبيطية بـ (mm) للسلالات البكتيرية المختبرة للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى.*Calligonum comosum* L'her.	56
14	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع.	60
15	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع.	61

الفهـــــــــرس:

16	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.	62
17	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.	63
/	المنحنى القياسي للـ α- Tocopherol للمستخلص الإيثانولي لإختبار جذر الـ DPPH.	الملحق 02
/	المنحنى القياسي لـ Acide Ascorbique للمستخلص الميثانولي لإختبار جذر الـ DPPH.	الملحق 02
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من α- Tocophérol	الملحق 03
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي EoH MM	الملحق 03
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي EoH Ul-S	الملحق 03
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من Acide Ascorbique	الملحق 03
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي MoH MM	الملحق 03
/	تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي MoH Ul-S	الملحق 03
/	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع	الملحق 04
/	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع.	الملحق 04
/	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.	الملحق 04
/	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية	الملحق 04

قائمـــــة المختصـــرات

ATCC: American Type Culture Collection.

BHA: Tertiobutyl hydroxy aniside.

BHT: Tertiobutyl hydroxy toluéne.

CAT: Catalse.

DHLA: Dehydrolipoique.

DMSO: Dimethyl sulfoxide.

DPPH: 2,2'Diphenyl-1-picrylhdrazyl.

EoH: Exrait éthanolique.

GP_X: Glutathion peroxidase.

GR: Glutathion reductase.

GSH: Glutathion.

GSSG: Glutathion disulfide.

HPLC: Heigh Performance Liquid Chromatografie.

IC_{50}: Inihibion concentration 50%.

$LOO^{\cdot}$: Radical peroxide.

LOOH: Lipide hydroperoxide.

MM: Macération.

MoH: Extrait méthanolique.

NADH: Nicotinamide adénine dinucléotide.

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NOS: Nitric oxide synthase

$ONOO^-$: Peroxinitrite.

PH_2NO: Biphenyl oxide nitrique.

ROS: Réactive oxygène species.

SOD: Superoxide dismutase.

TP_3M: Triphenyl methyl.

Ul-S: Ultra-sons.

المقدمـــــــــة

المقدمـــــــــــة:

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي وتلقى عناية بالغة في كثير من الدول المنتجة لها.

فالنباتات تحتوي على عدد كبير من المركبات الفعالة التي تعكس الفوائد العلاجية لهذه النباتات، لذلك فإن النباتات الطبية من أهم المواد الإستراتجية في صناعة الدواء وتمثل أساسا هاما في إنتاجه (العابد، 2009).

إن الأدوية عند دخولها للجسم لا يقتصر تأثيرها على الخلايا المصابة فقط، بل تؤثر على عدة أعضاء سليمة ومصابة في آن واحد. ويؤدي هذا التأثير إلى تراكم تلك المواد الصيدلانية وكذلك نواتج إستقلابها داخل الجسم مما يسبب إضطرابات في المسارات الإستقلابية (عمراني، 2013).

كما ترتبط وظائف الجسم بتفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تؤدي إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة ومضادات الأكسدة الطبيعية، فالتوازن بين انتاج هذه الجزيئات والتخلص منها يضمن الحفاظ على الوظائف الفيزيولوجية الطبيعية للجسم (Ozgen *et al*., 2006)، إلا أن الإفراط في إنتاجها يؤدي إلى أضرار على المستوى الجزيئي مسببا ضرر الأنسجة وحدوث العديد من الأمراض، ويمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية أو كأشكال صيدلانية مختلفة (بن سلامة، 2012).

ومن هذا المنطلق اتجه البحث نحو المركبات التي لها القدرة على منع حدوث أو التخفيف من التوتر التأكسدي والمتمثلة في مضادات الأكسدة الطبيعية وغيرها من المركبات الفعالة الموجودة في الأغذية والنباتات الطبية.

ونظرا لما تزخر به بلادنا من النباتات الطبية لما لها من مساحات واسعة ومناخات عديدة، ومما لاشك فيه أن لهذا التنوع المناخي الكبير الأثر البالغ على شدة التنوع النباتي على تركيب النباتات وإعطاءها المميزات الخاصة، ولذلك فقد ارتأينا في هذا البحث إلى دراسة إحدى نباتات الجزائر الطبية الصحراوية النامية بمنطقة وادي سوف والتي تعرف باسم الأرطى .*Calligonum comosum* L'her، والتي تستعمل في الطب التقليدي كعلاج للالتهابات والقرحة المعدية.

وعملنا هذا والذي يهدف إلى دراسة فيتوكيميائية من خلال التحليل النوعي عن طريق HPLC وتأثير نوع المذيب (ايثانول- ميثانول) على المحتوى الكمي من عديدات الفينول، والفعالية المضادة للأكسدة والنشاطية ضد البكتيرية للمستخلصات الكحولية للجزء الهوائي لنبات الأرطى *Calligonum*

comosum L’her. المستخلص بطريقتي الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons) والنقع (Macération) حيث قسمنا البحث إلى جزئين:

جـــزء نظري: يحتوي على فصلين أولهما درسنا فيه الإجهاد التأكسدي والفعالية المضادة للأكسدة.

أما الفصل الثاني فقد تطرقنا فيه لدراسة نوع نبات الأرطى *Calligonum comosum* L’her. والعائلة الحماضية (Polygonaceae).

جـــزء تطبيقي: ويتضمن هو الآخر على فصلين، تطرقنا في فصله الأول بالحديث عن المواد والطرق المستعملة في البحث، أما في فصله الثاني قمنا بتحليل ومناقشة النتائج المتحصل عليها، وختمنا بحثنا بالتوصيات.

الجـــزء النظـــــري

الفصـــل الأول:

الإجهادات التأكسدية و الفعاليــة المضــادة للأكســـدة

(Les Stress Oxydatives et Les Activités Antioxydantes)

1- الإجهاد التأكسدي Les Stress oxydatives:

تنتج الخلايا الجذور الحرة طبيعيا كجزء من المسالك الأيضية، والتي تعدل نشاطيتها بوجود نظام مضاد للأكسدة إنزيمي مثل: catalase وsuperoxide dismutase وglutathion peroxidase، ونظام لا إنزيمي مثل: الفيتامينات E وC والفلافونيدات وغيرها من المواد الطبيعية.

إلا أن حدوث اختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة يؤدي إلى حدوث ما يسمى "بالإجهاد التأكسدي". (MARIA *et al*., 2003 ؛ جيدل، 2009)

وهذا الاختلال يعود إلى عدة أسباب منها: الإنتاج المفرط الداخلي لمولدات الأكسدة أو نتيجة نقص غذائي لمضادات الأكسدة أو نتيجة التعرض إلى عوامل خارجية (التبغ، الكحول، الأدوية، المبيدات العشبية...) (برحال، 2010 ؛ KIRXHVINK *et al*., 2008 ; FLAVIER,1997).

تسبب الجزيئات المؤكسدة أضرار خلوية ونسيجية غالبا غير عكسية (TUNEZ *et al*., 2011).

1-1- تعريف الجذور الحرة Les Radicaux libres:

تتجمع الذرات في الجزيئات بروابط قوية بواسطة الكترونات حلزونية متعاكسة، تكون حاملة لطاقة كافية قادرة على أن تؤدي إلى تخريب هذه الروابط وبهذا تؤدي إلى ظهور وحدات كيميائية تمتلك الكترونات غير مرتبطة على مدارها الخارجي. تسمى هذه الوحدات الكيميائية بالجذور الحرة (MILANE, 2004).

وبهذا يمكن أن نعرف الجذر الحر كما عرفها HALLIWELL et (1984, 1999) GUTTERIDGE "هو أي نوع قادر على التواجد مستقل يحتوي على إلكترون أو عدة إلكترونات غير مرتبطة." فقد تكون مشتقة من الأوكسجين مشكلة بذلك (ROS) أو من النيتروجين مشكلة (NOS). (BINNEFONT *et al*., 2003 ؛ جرموني، 2009). فهي تنتج طبيعيا بكميات صغيرة من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم وبذلك فإنها تكون مراقبة من طرف الجهاز المناعي (VISENTIN *et al*., 2003 ; REDB *et al*., 2005؛ بن مرعاش، 2012؛ عمر، 2010).

حيث تعتبر بيوت الطاقة (الميتوكندريا) داخل الخلية المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الجذور (RAQUIBUL HASAN, 2009 ؛ حوة، 2013).

كما تعمل الجذور الحرة على تخريب الخلايا، الأنسجة والأعضاء حيث تدخل في العديد من الأمراض الحادة والمزمنة (بوبلوطة، 2009) مثل السرطان من خلال تدمير ADN أو إلى أمراض أخرى كأمراض القلب والتهاب المفاصل ....الخ (LAIRON, 2004 ؛ بوالقندول،2011).

1-2- أنواع الجذور الحرة: تقسم الجذور الحرة على أساس الإستقرار والنوع.

1-2-1- التقسيم على أساس الاستقرار:

تنقسم الجذور الحرة من خلال استقرارها إلى نوعين:

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

هي التي لها أعمار قصيرة جدا أي غير مستقرة بالظروف الاعتيادية، لها أوزان جزيئية صغيرة (العابد، 2009)، ويشمل هذا النوع من الجذور الحرة ذرات العناصر من H•، Cl•، N•، F• .

تقدر أعمار حياة هذه الجذور بالميكروثانية (10^{-6} ثانية) أو أقل حتى تصل إلى البيكروثانية (10^{-12} ثانية) .

1-2-1-2- الجذور المستقرة (الصامدة):

وهي الجذور الحرة لها أعمار حياة طويلة حيث تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو حتى الأيام (الصديق،2011؛ عبد الحسن،2001؛ بوقافلة، 2013) مثل: جذور ثلاثي فينيل ميثيل (TP_3M) وجذور ثنائي فينيل بكريلهايدرازيل (DPPH) وجذور ثنائي فينيل وأكسيد النيتريك (PH_2NO) ومشتقاته. (العابد، 2009).

1-2-2- التقسيم على أساس النوع:

1-2-2-1- الجذور الحرة الأوكسيجينية:

أهمها شق الهيدروكسيل الحر قد يكون أخطرها غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو في مرحلة انتقالية عمرها قصير.

1-2-2-2- الجذور الحرة النيتروجينية:

تشتمل على أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النيتروجين وبيروكسيد النيتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النيتريك وهو الأكثر خطورة (ريدة، 1999).

1-2-2-3- الجذور الحرة الدهنية:

تتميز الدهون بكونها أعلى نسبة اختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأوكسجين والنيتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا لذا تعتبر خطيرة (حوة، 2013).

1-2-2-4- جذور السموم الحرة:

وهي معظم المواد السامة (GOOD'SWILL and KAYODE, 2010).

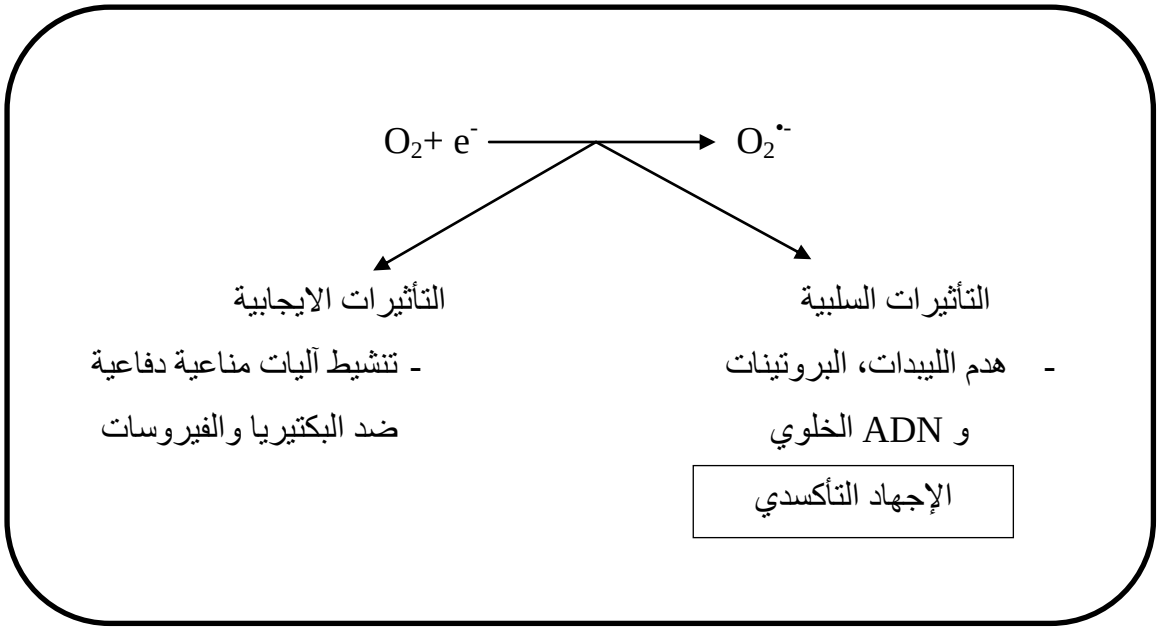
الجدول (01): مختلف الأنواع الأوكسيجنية النشطة (KUNSCH and CHEN, 2007).

الأنواع الأوكسيجينة النشطة		الصيغة الكيميائية
- أنيون السوبير أوكسيد	**Superoxide anion**	$O_2^{\bullet-}$
- جذور الهيدروكسيل	**Hydroxyl radical**	$OH^{\bullet}$
- جذورالهيدروبيروكسيل	**Hydroperoxyl radical**	$HOO^{\bullet}$
- جذور البروكسيل	**Peroxyl radical**	$ROO^{\bullet}$
الهيدروبيروكسيد	**Hydroperoxyde**	ROOH
- جذور الألكوكسيل	**Alkoxyl radical**	$RO^{\bullet}$
- بيروكسيد الهيدروجين	**Hydrogen peroxyde**	H_2O_2
- جذور أكسيد النيتريك	**Oxidenitric radical**	$NO^{\bullet}$
- البيروكسينيتريك	**Peroxinitrite**	$ONOO^-$
- الأبوكلوريث	**Hypochlorite**	CLO^-

1-3- أضرار الجذور الحرة:

تتواجد الأنواع الأوكسيجينية النشطة (ROS) في الجسم بكميات أو تراكيز ضعيفة حيث تقوم بأدوار فيزيولوجية مهمة بحيث تستعمل كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية مثل: توسع الأوعية الدموية أو استعمالها كرسائل عصبية، كما تنتج من أجل الدفاع عن الجسم ضد الأجسام الغريبة، إلا أن الإنتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى الجزيئات الخلوية (FALVAIER, 2003)، وأساسها ثلاث إما ضرر واقع على الحامض النووي والذي يؤدي إلى طفرات تؤدي إلى موت الخلايا أو ضعف المناعة، وإما ضرر واقع على البروتينات ومن ثم تحويل في وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية، وأخيرا ضرر واقع على الدهون و/ أو الأكسدة الفوقية للدهون وهي الأخطر إذ تنتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمرا أطول وانتشار أوسع مسببة عموما خلايا سرطانية، كما يمكن أن تنجم أضرار أخرى كأمراض القلب والأوعية الدموية (GOOD'SWILL and KAYODE, 2010).

والوثيقة (01) تبرز تأثيرات الإجهاد التأكسدي.



الوثيقة (01): تأثيرات الإجهاد التأكسدي (JOANNY, 2005).

1-3-1- أكسدة اللبيدات:

المركبات اللبيدية التي تحتوي على روابط كثيرة غير مشبعة، تتأثر كثيرا بالأوكسجين. ففي وجوده تتهدم اللبيدات وتأخذ رائحة مزعجة؛ هذه الآلية تسمى بفوق أكسدة اللبيدات، هذا التفاعل ينقسم إلى ثلاثة مراحل:

أ- المرحلة الابتدائية:

تحدث هذه المرحلة بتحفيز جذري للرابطة C-H لسلسلة الأحماض الدهنية وتتشكل جذور جد فعالة في وجود الأكسجين وهي جذور بيروكسيلية.

ب- مرحلة الانتشار:

امتداد للمرحلة الأولى، الجذر البيروكسيلي يأخذ هيدروجين من جزيئة أخرى من الأحماض الدهنية وبالتالي تخليق جذر جديد يتحول الحمض الدهني إلى هيدروبيروكسيد.

ج- المرحلة الانتهائية:

تتعرض الهيدروبيروكسيدات الناتجة إلى عدة تحولات، إما ترجع بواسطة إنزيم GPx أو تستمر أكسدتها وتتجزأ إلى ألدهيدات سامة.

تتوقف هذه التفاعلات المتتالية إما بتدخل مركب مضاد للأكسدة والذي يقوم بدور كاسر للسلسلة، أو تفاعل جذرين مع بعض لإنتاج جزيئة مستقرة (HANNEBELL *et al.*, 2004).

2-3-1- أكسدة الـ ADN:

يعتبر الحامض النووي ADN جزيئا حساسا جدا لهجوم الجذور الأكسيجينة (CADET *et al.*, 2002)، حيث تحرض الجذور الحرة على الطفرات، توقف تضاعف الـ ADN، تؤدي إلى أكسدة القواعد المكونة لـADN وتقطع الجسور بين ADN و البروتينات (KRIPPEIT *et al.*, 1994). والألدهيدات الناتجة عن أكسدة اللبيدات تشكل إضافات على القواعد Guanine والهجوم الجذري على البروتينات المتصلة بـ ADN كالهستونات، الإنزيمات وعوامل الاستنساخ والتضاعف وقطع الروابط الموجودة بين القاعدة والسكر (RAHMAN *et al.*, 1999).

1-3-3- أكسدة البروتينات:

إن البروتينات الأكثر عرضة للأكسدة هي تلك الحاملة للوظيفة SH مثل: الإنزيمات الخلوية وبروتينات النقل (FU *et al*., 1998) تفقد البروتينات خصائصها البيولوجية وتصبح أكثر عرضة للتحلل والبروتينات المؤكسدة تصبح كارهة للماء بتثبيط مجموعة الأمين المؤينة أو إظهار المناطق الكارهة للماء المركزية وبذلك تشكل كتلا ترتبط مع اللبيدات لتشكل ما يعرف بـ Lipofuxhins المميزة للأنسجة المسنة (FLAVIER, 2003).

2 - مضادات الأكسدة Les Antioxydantes:

2-1-تعريف مضادات الأكسدة:

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة (برحال، 2010). حيث تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع انتشارها أو هدمها (MIQUEL, 2002؛ بن سلامة، 2012).و توجد مضادات الأكسدة في جسم الكائنات الحية على صورة إنزيمات أو مرافقات إنزيمية Co-enzymes أو مركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل مثلا الجلوتاثيون (KITTERINGHAM *et al*., 2000) كما توجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في الخضروات والفواكه والحبوب ومعظم النباتات الطبية. وقد زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة في السنوات الأخيرة بسبب قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها، كما تقي الجسم من أمراض العصر الشائعة. وتعدد وظائف مضادات الأكسدة لتغطي معظم حاجات جسم الإنسان من الوقاية والشفاء وترميم أنسجته و خلايا جسمه (PIETTA, 2000). كما تحمي ADN من الضرر وتثبط عمل الجذور الحرة. ومع أن آلية عمل مضادات الأكسدة غير واضحة بدقة، إلا أن البحوث العلمية والدراسات الإحصائية أكدت على فاعليتها الوقائية من الأمراض ومقاومتها (CHOWDHURY *et al*., 2006).

2-2- أقسام مضادات الأكسدة:

تنقسم مضادات الأكسدة إلى طبيعية واصطناعية.

2-2-1- مضادات الأكسدة الطبيعية:

وتنقسم إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية.

2-2-1-1- مضادات الأكسدة الأنزيمية:

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة أهمها SOD و CAT وGPx. (DESAI *et al.*, 2010).

2-2-1-1-1- إنزيم فوق أكسيد الديسموتاز Superoxide dismutase:

يعتبر هذا الإنزيم أحد أهم الإنزيمات الفاعلة كمضادات للأكسدة. فهو من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي فهو يقوم بإزالة الجذر $O_2^{\bullet-}$ وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك (FUKAI and USHIO-FUKAI, 2011) كما يوضحه التفاعل التالي:

$$2O_2^{\bullet-} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

ولأنه يعتبر عامل مؤكسد ومختزل في آن واحد، فإن إنزيم SOD يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر ويوجد في كل الأنسجة الهوائية في الميتوكندريا و السيتوزول (VALKO *et al.*, 2006; YEN *et al.*, 2009).

2-2-1-1-2- إنزيم الكاتلاز Catalase:

يتكون إنزيم Catalase (CAT) من أربع تحت وحدات، تحتوي كل تحت وحدة على مجموعة هيم مرتبط بالموقع النشط (ODAJIMA *et al.*, 2010)، حيث يتواجد في الأجسام البيروكسية Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدم ونخاع العظام وأغشية المخاطية والكلى والكبد (DAY, 2009) كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر وهو الأكسيداز oxidase. فبينما يعمل الأكسيداز على تكوين H_2O_2 يقوم الكاتلاز بتحويله إلى ماء وأكسجين حسب التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} 2H_2O + O_2$$

لإنزيم الكاتلاز نشاط البيروكسيداز فهو يمكن أن يستخدم جزيئات H_2O_2 كركيزة مانحة للإلكترون وجزيئات H_2O_2 أخرى كمؤكسد أو مستقبل للإلكترون (JEYAPAUL and JAISWAL, 2000).

3-1-1-2-2- إنزيم Glutathion peroxidase وإنزيم Glutathion reductase:

ينتشر كل من Glutathion peroxidase (GPx) و Glutathion reductase (GR) في العديد من الأنواع الخلوية، حيث يتمركزان في الميتوكندري والسيتوزول، ويعتبر من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة، وذلك لقدرتها على إزاحة عدد من الجذور الهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة الكولسترول والأحماض الدهنية وفق التفاعلات الآتية:

$$H_2O_2 + 2\ GSH \longrightarrow 2\ H_2O + GSSG$$

$$LOO^{\bullet} + 2\ GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$$

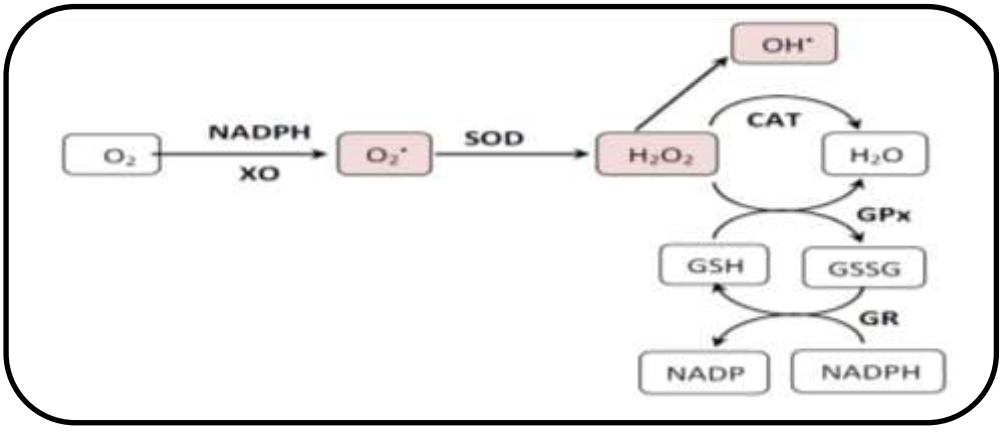
(HERBETTE *et al*., 2007)

يقوم إنزيم GR بإعادة تجديد (γ-GSHglutamyl-cysteinyl-glycine) انطلاقا من GSSG، ويتطلب هذا التفاعل عامل مساعد وهو NADH (بن سلامة، 2012).

4-1-1-2-2- Peroxiredoxins:

تعرف أيضا باسم Thioredoxin peroxidase (PAICENZA *et al*., 2008)، تتوضع أساسا في السيتوزول والميتوكندري، كما تتصل هذه البروتينات بالنواة والأغشية الخلوية (WU *et al*., 2008)، تقوم Peroxiredoxins بتحويل كل من H_2O_2 و$NO^{\bullet}$ و $ONOO^-$ وذلك بفضل نشاطية peroxidase (FLOHE and URSINI, 2008).

والوثيقة (02) توضح آلية التخلص من $O_2^{\bullet -}$ بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة.



الوثيقة (02): آلية التخلص من $O_2^{\bullet -}$ بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة (SHILINA, 2009).

2-2-1-2- مضادات الأكسدة غير الأنزيمية:

2-2-1-2-1- فيتامين Vit (E):

يعتبر Tocopherol– ∝ والمعرف بـ Vit (E) من المركبات المضادة للأكسدة الذائبة في الدهون (TRABER, 2007). كما يعرف بأنه القاطع لسلسلة التفاعلات (Chain-breaking antioxidant) الذي يمنع فوق الأكسدة اللبيدية بواسطة منع انتشار سلسلة تفاعلات الجذور الحرة (SWARAN *et al.*, 2003؛ لطرش، 2011). فهو يقوم باقتناص الجذور البيروكسية في الأغشية الخلوية ولذلك يطلق عليه "كاسح الجذور Radical scavenger" (بوالقندول، 2011). كما يحمي Vit (A) وVit (C) والكاروتين من الأكسدة (الشيمي والميناوي، 1988 ؛ نسرين، 2009).

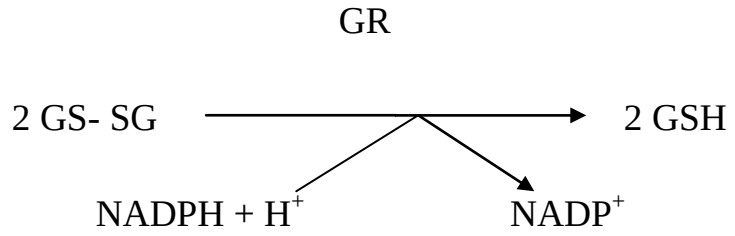
2-2-1-2- 2-2- فيتامين Vit (C):

يسمى كذلك بحمض الأسكوربيك Ascobic acid، وهو مضاد للأكسدة يذوب في الماء (بوالقندول،2011؛ نسرين، 2009) وهو أهم مقتنص للجذور الحرة في الجزء الخارج خلوي.

حيث بفضل نشاطه الخارج خلوي يوفر حماية للغشاء وذلك للتخلص من الجذور الحرة قبل وصولها إلى الغشاء وبالتالي يقيه من الأضرار التأكسدية إضافة إلى دوره كمضاد أكسدة يعمل على تجديد الفيتامين E من صورته الجذرية (Tocopheroxyl) إلى صورته النشطة (Tocopherol– ∝) زيادة إلى دوره كمرافق للفيتامين E (Co-antioxydant) حيث يمكن للفيتامينين التداخل مع بعضهما (لطرش، 2011).

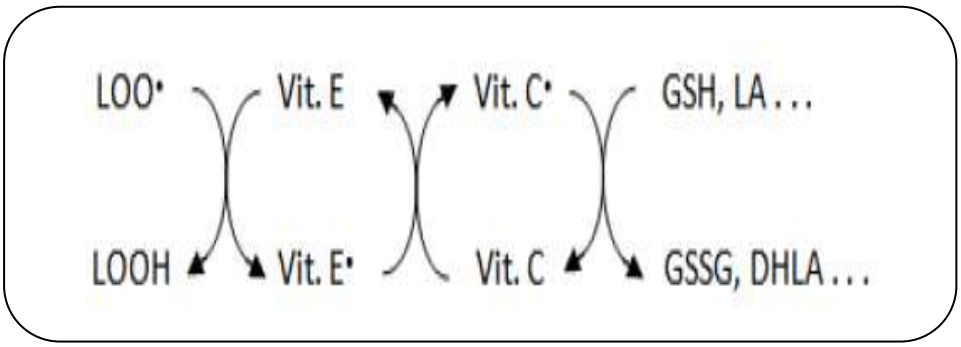
2-2-1-2-3- الجلوتاثيون Glutathione:

وهو بيبتيد قصير مكون من ثلاثة أحماض أمينية: الجلوتاميك Glutamic والسيستيين Cystine و الجلايسين Glycine. يوجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دورا مهما كمضاد للأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية. كما يحفز إختزال البيروكسيداز Peroxidase. يعاد تكوين الجلوتاثيون المختزل (GSH) من الجلوتاثيون المؤكسد 2GS بتحفيز إنزيم Glutathione reductase الذي يعتمد على تواجد NADPH كما يوضحه التفاعل التالي:



هناك العديد من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات Toxic electrophilic xeobiotics التي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى، و إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنها سترتبط مع (ADN) و(ARN) أو بروتينات الخلية، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير، ولهذا فإن للـ GSH دورا هاما كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة (JAESCHKE, 1990).

والوثيقة (03) تجمل آليات التخلص من الجذور اللبيدية بواسطة Vit. E و Vit. C والجلتاثيون.



الوثيقة (03): آلية التخلص من الجذور اللبيدية بواسطة Vit. E و Vit. C والجلتاثيون

(RYAN *et al.*, 2010).

β-Carotine -4-2-1-2-2:

هي واحدة من حوالي 400 من الكاروتينات، وهي عبارة عن صبغة صفراء أو حمراء طبيعية تتواجد في بعض الأطعمة النباتية وتتحول داخل الجسم إلى فيتامين A (بشرى، 2003؛ ALLARD *et al.*,1994) فهي تقوم بحماية فعالة للهيكل الخلوي ضد الجذور الحرة وهي قادرة على التقاط الأوكسجين الحر (BEAUDEUX and DOMINIQUE, 2005 ; BOUMAZA, 2009).

إن وجود عدد من الروابط المزدوجة داخل الهيكل الخلوي يقوم بدور مضاد للأكسدة فهو يعمل على الحماية والتصدي للأشعة فوق البنفسجية (UV) (BIESALSKI *et al.*, 1996).

2-2-1-2-5- المركبات الفينولية المشتقة من النبات:

عديدات الفينولات هي مركبات من نواتج الأيض الثانوي، ذات أوزان جزيئية مرتفعة. تتوزع على نطاق واسع في المملكة النباتية (HASLAM, 1993). فالهيكل الأساسي الذي يميزها وجود حلقة أو عدة حلقات عطرية التي ترتبط مباشرة بجذر أو عدة جذور هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظائف أخرى (HARBORNE, 1994).

عديدات الفينولات عبارة عن مضادات الأكسدة الأكثر تواجدا في الأغذية. فهي تمتلك خاصية مضادة للأكسدة قادرة على كبح الجذور الحرة المتولدة بإستمرار من قبل العضوية أو خارجها كعوامل بيئية (التبغ، التلوث، العدوى...) (BELKHIRI, 2009).

ووفقا للباحثين فإن الفواكه والخضروات تقوم بدور وقائي كبير ضد الأمراض الحديثة (الأمراض القلبية الوعائية، السكري وغيرها) (EDEAS, 2006).

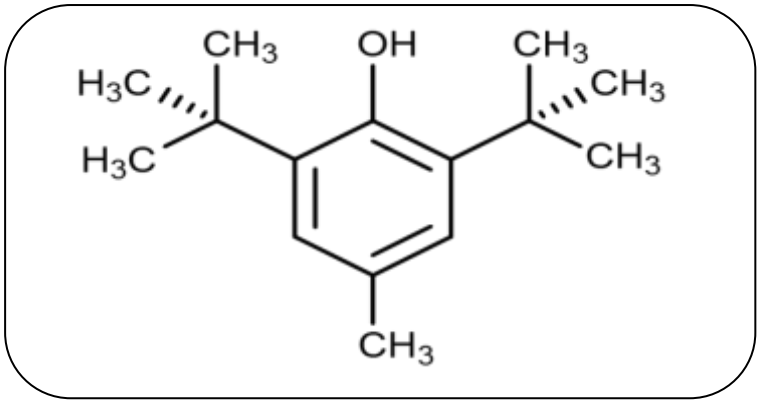
فالأحماض الفينولية و التانينات (الدباغ) والفلافونيدات تحتل المرتبة الأولى من عديدات الفينولات والتي تقوم بذلك الدور الوقائي (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

2-2-2- مضادات الأكسدة الاصطناعية:

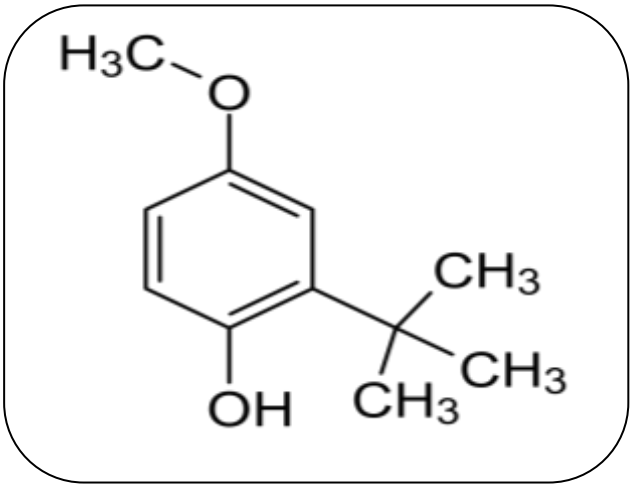
هي مضادات أكسدة تحضر وتستعمل تجاريا لحفظ المنتجات الطبيعية وكذا في الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية (وائل، 2008؛ حوة، 2013) من أمثلتها:

- Butyl hydroxy anisole (BHA) الوثيقة (04)
- Butyl hdroxy toluene (BHT) الوثيقة (05)
- Gallate propylée (PG)
- Tetra- bulhydroquinon (TBHQ)

هذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية لأنها فعالة وقليلة التكلفة بالمقارنة بمضادات الأكسدة الطبيعية (بن عاشورة، 2007 ؛ WANGLL *et al*., 2003).



الوثيقة (04): بنية مركب BHT (حوة، 2013).



الوثيقة (05): بنية مركب BHA (وائل، 2008).

الفصـــل الثاني:

الدراســـة النباتيـــة للنوع *Calligonum comosum* L'her.

1- دراسة العائلة (الحماضية) Polygonaceae:

تسمى أيضا بالعائلة الحماضية وتضم هذه العائلة 46 جنس و 1100 نوع، تنتشر على نطاق واسع، تتواجد في العديد من مناطق العالم خاصة المناطق المعتدلة من نصف الكرة الشمالي، من أهم أجناسها *Eriogonum* والذي يضم 240 نوع، وجنس *Rumex* الذي يضم 200 نوع، وجنس *Polygonum* الذي يضم 170 نوع وجنس *Calligonum* الذي يضم 80 نوع (BOTINEAU, 2010 ; MESSAILI, 1995).

1-1- الخصائص العامة للعائلة:

تتبع هذه العائلة للرتبة Polygonales وهي الفصيلة الوحيدة في هذه الرتبة، من خصائصها العامة مايلي:

- أوراقها متبادلة، بسيطة ومختزلة جدا وهي عبارة عن حراشف صغيرة تخرج من عقد السيقان الحديثة.
- نباتاتها وحيدة أو عديدة الإثمار، في الغالب ثنائية الجنس.
- الغلاف الزهري بسيط تبلي، مكون من 03- 06 تبلات ملتحمة أو منفصلة.
- الطلع مكون من 04 - 16 سداة.
- المتاع مكون من 02 - 03 كرابل ملتحمة والمبيض وحيد المسكن، والبويضة مستقيمة.
- الثمار عبارة عن أكنات (akéne) ثلاثية البذور سويدائية نشوية (MESSAILI, 1995 ; QUEZEL et SANTA, 1963).

2- الخصائص العامة للجنس *Calliganum*:

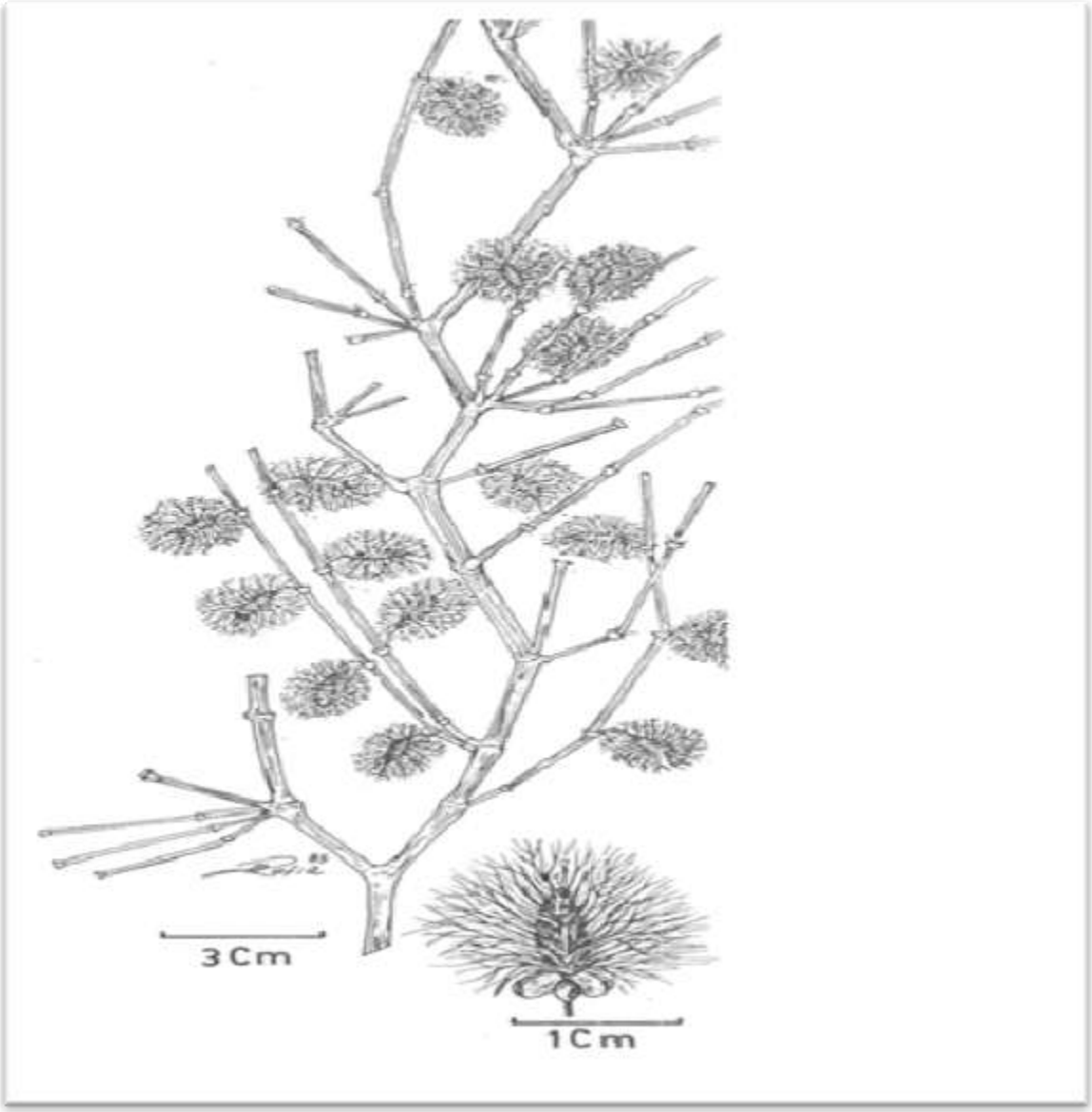
يتميز جنس *Calliganum* بالخصائص التالية:

- نباتات معمرة ثنائية الجنس.
- الغلاف زهري بسيط مكون من تبلات، المبيض والثمرة رباعية الشكل.
- الأسدية من 12 إلى 14 سداة.
- الأزهار صغيرة، إبطية ليفية في أغماد.

(QUEZEL et SANTA, 1963 ; MAIRE et QUEZEL, 1961)

3- الخصائص العامة للنوع .*Calligonum comosum* L'her:

- شجيرات طولها من 02 إلى 03 متر أو أكثر(الوثيقة 06)، جد متشعبة من القاعدة.
- الثمار مغطاة بالكامل بشعيرات بنية محمرة متوضعة على مجموعتين متقابلتين من الثمرة (الوثيقة 06 -07) حوافها متقاربة وبارزة، المقطع الطولي للثمرة تظهر فيه الثمرة على شكل صليب.
- تتساقط الأغصان الخضراء لهذه الشجيرات (الوثيقة 06-07) في فصلي الخريف والشتاء ولا تبقى سوى الأغصان الخشبية، وعند الربيع تظهر الأفرع الخضراء التي تنمو وتتفرع، ويزهر النبات في أواخر الربيع (QUEZEL et SANTA, 1963؛ حليس، 2007).



الوثيقة (06): رسم تخطيطي يوضح نبات الأرطى.*Calligonum comosum* L'her

(QUEZEL et SANTA, 1963)

الوثيقة (07): الشكل العام ومختلف أجزاء نبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

4- الوضعية التصنيفية Position Systématique: الجدول (02).

الجدول (02): الوضعية التصنيفية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

(QUZEL et SANTA, 1963)

Règne	Végétal	المملكـــة
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes	**الشعبـــة**
Sous Embranchement	Angiospermes	**تحت الشعبة**
Classe	Dicotylédons ou Eudicots	**الطائفـــة**
Ordre	Polygonales	**الرتبـــة**
Famille	Polygonaceae	**العائلـــة**
Genre	*Calligonum*	**الجنـــس**
Espèce	*Calligonum comosum* L'her.	**النـــوع**
Nom Vernaenlaires	Larta, Lartaya	**الإسم الشائع**

5- الانتشار الجغرافي لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. :

5-1- الانتشار الجغرافي في العالم:

لوحظ نبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. بكثرة في القسم الشمالي من الكرة الأرضية، فهي تتواجد في كل الصحراء العربية (OZENDA, 1977)، كما لوحظ انتشارها أيضا في كل من الجزائر (حليس، 2007) وفي المناطق الجافة من تونس (HEMMAMI *et al.*, 2011) وفي مصر (BADRIA *et al.*, 2007) وشمال وشرق وجنوب المملكة العربية السعودية (ALKHALIFA, 2013).

2-5- الانتشار الجغرافي في الجزائر:

ينمو نبات الأرطى .*Calligonum comosum* L'her في المناطق الصحراوية خاصة في الشمال الشرقي من الصحراء الجزائرية كمنطقة واد سوف (حليس، 2007).

6- استعمالات النبات:

يستعمل نبات الأرطى .*Calligonum comosum* L'her في الطب التقليدي الشعبي لما له من أهمية طبية بالغة حيث يستخدم كعلاج للآلام البطن والقرحة المعدية وكمضاد للالتهابات (ABDALAH *et al*., 2014)

ولاحتواء نبات الأرطى على الفلافونيدات والتانينات فلها تأثير مسكن وتساعد على التئام الجروح وتطهيرها والقضاء على بعض الجراثيم (PINCEMAIL *et al*., 1986).

ولأنها تعتبر من النباتات الصحراوية الرعوية فإنها تستهلكها الحيوانات الثديية الكبيرة مثل الماعز والغنم والجمال...الخ حيث توفر الظل للحيوانات الصحراوية وتعمل على تثبيت الكثبان الرملية كما أنها تعتبر إحدى مصادر الحطب الهامة في المناطق الصحراوية (حليس، 2007).

7-الدراسات السابقة للنوع النباتي:

لنبات الأرطى .*Calligonum comosum* L'her أهمية بالغة رغم قلة الدراسات المخبرية عليها ولكونها تعتبر نبات صحراوي وطبي فلها فوائد عديدة، وفي ما يلي أهم الدراسات المتعلقة بهذا النبات حيث:

1- قام كل من ABDALAH وزملاؤه (2014) بدراسة حول التأثير المضاد للآلام وللإلتهابات للمستخلص الميثانولي لنبات الأرطى عند الجرذان والفئران وقد أظهر من خلال نتائجه أن لنبات الأرطى تأثير وقائي ضد آلام المعدة والالتهابات كما أنه خافض للحرارة.

2- أجرى BADRIA وزملاؤه (2007) دراسة حول تقييم سمية الخلايا لبعض مركبات نبات الأرطى .*Calligonum comosum* L'her النامية في مصر حيث تم عزل ثمانية مركبات من بينها Dehydrodicatechin A والذي كان ذو أفضل سمية للخلايا والنشاط المضاد للأكسدة مقارنة بالمركبات الأخرى كـ Rhamnopyranoside وIsoquercitrin.

3- قام HEMMAMI وزملاؤه (2011) بدراسة النشاطية المضادة للميكروبات للمستخلصات المائية، الميثانولية والعضوية من الأنسجة النباتية المختلفة لنبات الأرطى المقطوفة من المناطق القاحلة في تونس حيث أثبت أن للمستخلصات العضوية لنبات *C. comosum* لها القدرة على تثبيط نمو السلالة البكتيرية *Listeria ivanovii*.

4- كشفت ALKHALIFA (2013) بعد دراستها لتأثير المستخلص الإيثانولي لأجزاء مختلفة من نبات الأرطى .*Calligonum comosum* L'her والتي تم جلبها من المملكة السعودية العربية على أربعة سلالات بكتيرية (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginos, Bacillus subtilis,*) *Staphylococcus aureus*) حيث توصلت إلى أن لمستخلصات النبات القدرة المعتبرة المضادة للسلالات البكتيرية المختبرة.

الجـــزء التطبيـــقي

الفصـــل الأول:

المـــــواد والطرق

1-المواد:

1-1- المادة النباتية:

1-1-1- الجزء المستعمل:

تم جمع الجزء الهوائي للنبات في بداية شهر أكتوبر 2014 من منطقة تغزوت (6º47'45,7"E) (33º28'14,5"N) الواقعة ضمن منطقة واد سوف والتابعة إقليميا لولاية الوادي.

1-1-2- تجفيف العينة النباتية:

بعد عملية الجني تأتي عملية التنقية والتجفيف حيث نختار سيقان سليمة كاملة النضج، نقوم بغسلها بالماء البارد حتى نتخلص من الغبار وبعض العوالق ثم نقوم بنزع الأجزاء الخشنة، نقوم بتقسيمها إلى أجزاء صغيرة حتى تسهل عملية التجفيف، ثم نقوم بتوزيعها على قطعة قماش قطنية بيضاء وعلى شكل طبقة رقيقة لتسهل التقليب بمعدل مرتين في اليوم ويجب أن نراعي عدم تعرض النبات لأشعة الشمس وتنتهي عملية التجفيف عند التأكد من خلو النبات من الماء.

بعد التجفيف نقوم بطحن المادة الجافة بواسطة آلة طحن كهربائية لنحصل على مسحوق النبتة. يتم حفظ المسحوق في قارورات زجاجية عاتمة محكمة الغلق.

1-2- الأدوات والوسائل المستعملة:

1-2-1- الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي:

خلال الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبات استخدمنا الأدوات، الأجهزة، المحاليل والكواشف المدرجة في الجدول (03).

الجدول (03): الأدوات، المحاليل، الكواشف والأجهزة المستعملة في الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي عند النبات.

الأدوات	المحاليـــل والكواشف	الأجهـــزة
- المادة النباتية - بيشر - قمع - ورق ترشيح - انابيب إختبار - Pipette - Spatule - Eprouvettes graduées	- إيثانول - ماء مقطر(H_2O) - كاشف فهلنج - ثلاثي كلور الحديد ($FeCl_3$) - الأمونياك - كاشف Wagner - ايثر - الكلوروفورم - برادة المغنزيوم (Mg) - Acide chlorhydrique (HCl) - Anhydride acétique - Acide sulfurique (H_2SO_4)	- ميزان حساس - صفيحة مسخنة - مبرد

1-2-2- المواد المستعملة وقت الاستخلاص:

أثناء عملية الاستخلاص تم استعمال الأدوات، المحاليل والأجهزة الموضحة في الجدول (04).

الجدول (04): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة عند الاستخلاص.

الأدوات	المحاليـــل	الأجهـــزة
- المادة النباتية - بيشر - ورق ترشيح - قمع - Spatule - Parafilm - Ballon - Erlenmeyer	- إيثانول - ميثانول	- ميزان حساس - جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur) - جهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons)

1-2-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية:

من خلال تقدير المركبات الفينولية استعملنا المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المبينة في الجدول (05).

الجدول (05): المحاليل الكيميائية، الأدوات والأجهزة المستعملة في تقدير المركبات الفينولية.

	المحاليـــــل	الأدوات	الأجهـــزة
التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)	- إيثانول - ميثانول - حمض الغاليك - كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) (7,5 %) - Folin-ciocalteau (10%).	- المستخلصات الكحولية - أنابيب إختبار - بيشر - حامل أنابيب إختبار - Micropipette - Spatule - Les cuves	- ميزان حساس - جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre)
التقدير الكمي للفلافونيدات (FV)	- إيثانول - ميثانول - كرستين - Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (2%)		

1-2-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة استخدمنا المحاليل، الأدوات والأجهزة المدرجة في الجدول (06)

الجدول (06): المحاليل، الأدوات والأجهزة المستعملة في قياس الفعالية المضادة للأكسدة.

	المحاليـــــل	الأدوات	الأجهـــزة
اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)	- إيثانول - ميثانول - حمض الغاليك - Acide Sulfurique (H_2SO_4) (0,6 M) - Phosphate de sodium (28 mM) - Molybdate d'ammonuim (4 mM)	- المستخلصات الكحولية - انابيب إختبار - بيشر - حامل أنابيب إختبار - ورق الألمنيوم - Micropipette - Spatule - Les cuves	- ميزان حساس - جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophoto-métre)
اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	- إيثانول - ميثانول - α-Tocopherol. - حمض الأسكوربيك. - DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (0.1mM).		

1-2-5- النشاطية البيولوجية المضادة لأنواع بكتيرية ممرضة:

أثناء اختبار نشاطية المستخلصات الايثانولية والميثانولية على الأنواع البكتيرية المختبرة استخدمنا الأدوات، المحاليل و الأجهزة الموضحة في الجدول (07).

الجدول (07): الأدوات، المحاليل والأجهزة المستعملة في الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا.

الأدوات	المحاليـــل	الأجهـــزة
- المستخلصات الكحولية - أنابيب إختبار - Micropipette - Pipette pasteur - حامل أنابيب إختبار - أطباق بيتري - ماسح قطني - القدم القنوية	- وسط الزرع (Muller Hinton) - DMSO - ماء فيزيولوجي معقم	- ميزان حساس - موقد بنزن - حاضنة - Autoclave

2- الطرق المتبعة:

2-1- الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي:

2-1-1- الكشف عن الفلافونيدات (Les Flavonoïdes):

نقوم بغلي 10 g من المادة النباتية الجافة في 60 ml من الإيثانول وتوضع في حلقة مغلقة بواسطة المبرد لمدة ساعة، ثم نقوم بتصفية المزيج ونأخذ 5 ml من المزيج المصفى ونضيف له 1 ml من حمض كلور الماء (HCl) و 0.5 g من برادة المغنزيوم (Mg) ويترك المزيج لمدة 03 دقائق.

إن ظهور اللون الوردي أو الأحمر دليل على وجود الفلافونيدات في العينة النباتية (DEBRAYB *et al*., 1971; PARIS et MOYSE, 1969).

2-1-2- الكشف عن المركبات المرجعة (Les Composés Réducteurs):

نأخذ 1 ml من المستخلص الكحولي السابق مع 2 ml من الماء المقطر (H_2O) ونعامله بعدة قطرات من كاشف Fehling.

بعد التسخين، إذا ظهر راسب أحمر أجوري فذلك دليل على وجود المركبات المرجعة في العينة النباتية (TREASE et EVANS, 1987).

2-1-3- الكشف وتحديد نوع التانينات (Les Tanins Cathéchiques ou Galliques):

نقوم بأخذ 1 ml من المحلول الكحولي المحضر سابقا ونضيف له 2 ml من الماء المقطر (H_2O) ومن 2 إلى 3 قطرات من محلول ثلاثي كلور الحديد ($FeCl_3$).

إن ظهور اللون الأزرق المخضر دليل على وجود التانينات الكاتيشيكية (Les Tanins Cathéchiques). أما ظهور اللون الأزرق المسود فيدل على وجود التانينات الغاليكية (Les Tanins Galliques) (TREASE et EVANS, 1987).

2-1-4- الكشف عن الأنثوسيانينات (Les Anthocyanes):

نقوم بتحضير مستحلب النبات وذلك بغلي 100 ml من الماء المقطر وبعد الغليان ينزع عن المصدر الحراري ويضاف له 5 g من المادة النباتية الجافة ويترك لمدة 15 دقيقة، ثم يصفى.

نأخذ 2 ml من المحلول المصفى ونضيف له 2 ml من حمض كلور الماء (HCl) (2N) وبعض القطرات من الأمونياك (NH_3).

عند ظهور اللون الوردي أو الأحمر فذلك دليل على وجود الأنثوسيانينات (DEBRAYB *et al*., 1971; PARIS et MOYSE, 1969).

2-1-5- الكشف عن القلويدات (Les Alcaloïdes) :

نقوم بتحضير منقوع النبات بوضع 10 g من المادة النباتية الجافة في 50 ml من H_2SO_4 المخفف 10 مرات (1V/10V) لمدة 24 ساعة في الظلام، بعدها يرشح المستخلص ونأخذ منه 1 ml ثم نعامله ببعض القطرات (2-3 إلى قطرات) من كاشف Wagner.

عند ظهور راسب بني فذلك دلالة على وجود القلويدات (PARIS et MOYSE, 1969).

2-1-6- الكشف عن الستيرولات والتربينات الثلاثية (Les Stérols et Triterpènes):

ينقع 5g من المادة النباتية الجافة في 10 ml من الإيثر لمدة 24 ساعة في الظلام، يرشح المستخلص ويوضع في أنبوب، يعرض لمصدر حراري حتى يجف المستخلص ثم يعامل بـ 0.5 ml من Anhydride acétique و 0.5 ml من الكلوروفورم وقليل من Acide sulfurique.

عند ظهور حلقة حمراء بنية أو بنفسجية دلالة على وجود الستيرولات والتربينات (TREASE et EVANS, 1987).

2-1-7- الكشف عن الصابونوزيدات (Les Saponosides):

حسب BEN KHERARA (2010) قدرنا معامل الرغوة والذي يدل على غنى وفقر النبات من الصابونوزيدات وذلك بتحضير مغلي النبات وذلك بوضع 2 g من المادة النباتية الجافة مع 100 ml من الماء المقطر فوق صفيحة مسخنة لمدة 30 دقيقة، بعد الغليان نقوم بترقيم 10 أنابيب اختبار من 1 إلى 10 ثم نخفف المحلول الأصلي من % 10 إلى % 100 بالترتيب في الأنابيب بحيث يكون في الأنبوب 1 التركيز% 10 والأنبوب رقم 10 التركيز% 100.

نقوم برج سريع لجميع الأنابيب في نفس الوقت وبشكل أفقي لمدة 15 ثانية، ثم نقوم بإختيار الأنبوب الذي يكون فيه إرتفاع الرغوة أقرب إلى 1 cm.

ثم نقوم بحساب معامل الرغوة وذلك وفق القانون التالي:

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm) dans le X tube } \times 5}{0{,}0\ x}$$

بحيث:

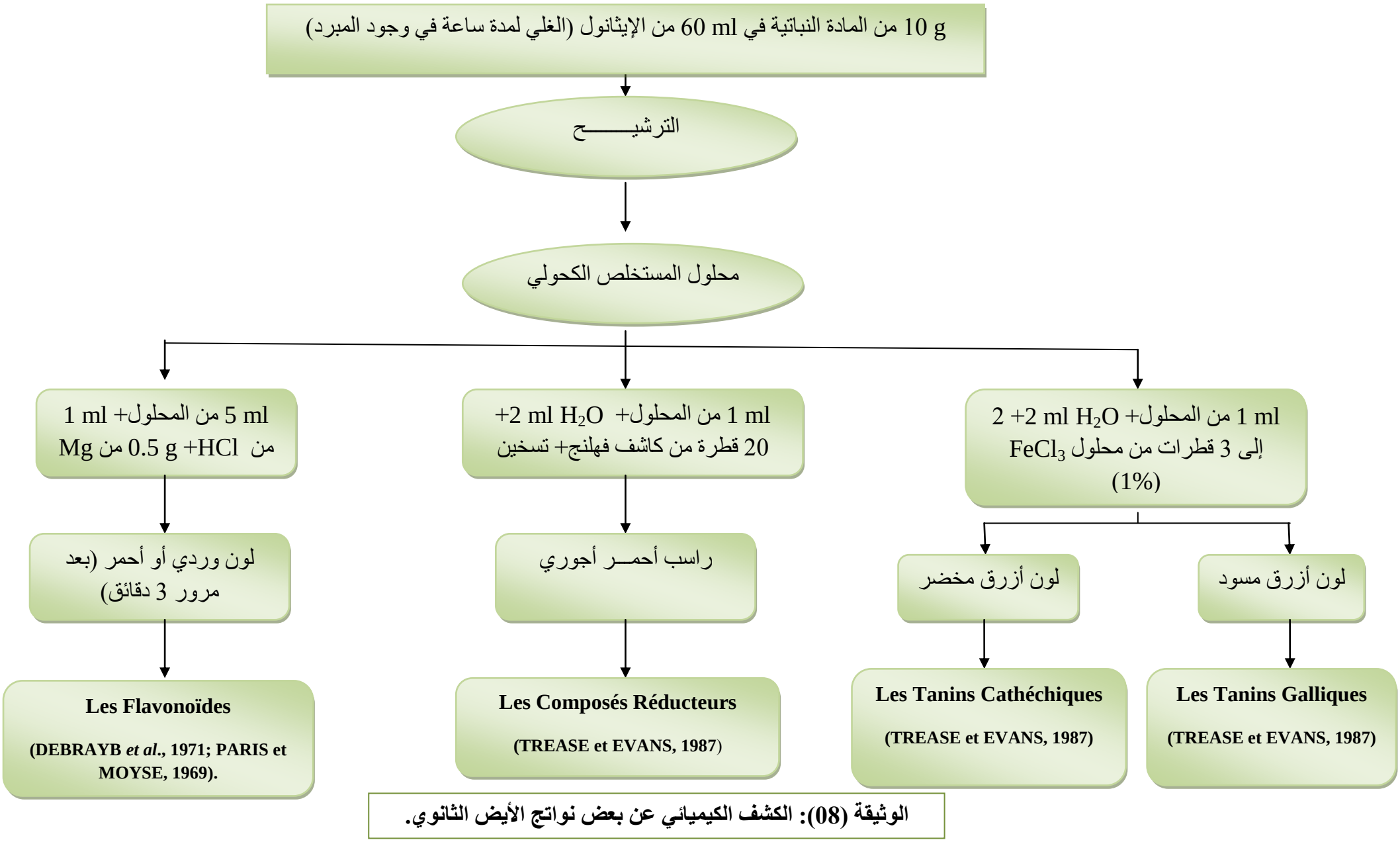
I : معامل الرغوة

Hauteur de mousse (en cm) dans le tube : 1cm ارتفاع الرغوة في الأنبوب الأقرب إلى

X : 1cm رقم الأنبوب الذي تكون الرغوة فيه الأقرب إلى

وبعد حساب معامل الرغوة نقول بأن النبات فقير من الصابونوزيدات إذا كان معامل الرغوة أقل من 100 ونقول أنه غني بالصابونوزيدات إذا كان معامل الرغوة أكبر من 100.

والوثائق (08) و(09) تلخص مراحل الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي عند النبات.



الوثيقة (08): الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي.

تحضير منقوع النبات: نقع 5 g من المادة النباتية في 10 ml من الإيثر (مدة 24 ساعة)

↓

الترشيح + التسخين حتى جفاف المحلول في أنبوب الاختبار

↓

0.5 ml Anhydride المتبقي+ acétique و 0.5 ml من الكلوروفورم+ قليل من Acide Sulfurique

↓

حلقة حمراء بنية أو بنفسجية

↓

Les Stérols et Triterpénes

(TREASE et EVANS, 1987)

تحضير منقوع النبات: 10 g من المادة النباتية في 50 ml من H_2SO_4 المخفف عشر مرات (مدة 24 ساعة)

↓

الترشيـــــــح

↓

1 ml من المحلول+ 2-3 قطرات من كاشف Wagner

↓

راســـب بني

↓

Les Alcaloïdes

(PARIS et MOYSE, 1969)

مغلي النبات: 2 g من المادة النباتية الجاف مع 100 ml من الماء المقطر (لمدة 30 دقيقة)

↓

الترشيـــــــح

↓

تعديل الحجم إلى 100 ml ثم تحضير سلسلة من التخفيفات (10 محاليل) من% 10 إلى 100%

↓

حساب معامل الرغوة بالعلاقة التالية:

I=Hauteur de mousse(en cm) dans le X tube ×5/ 0.0x

I<100 : pauvre ; I>100 : riche

↓

Les Saponosides

(BEN KHERARA, 2010)

تحضير مستحلب النبات:5 g من المادة النباتية في 100 ml من الماء المقطر المغلي (لمدة 15 دقيقة)

↓

الترشيـــــــح

↓

2 ml من المحلول+ 2 ml (2N) HCl+ بعض القطرات من الأمونياك

↓

لون وردي أو أحمـــر

↓

Les Anthocyanes

(DEBRAYB *et al.*, 1971; PARIS et MOYSE, 1969)

الوثيقة (09): تابع للكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي.

2-2- طرق الاستخلاص:

إن عدم وجود رائحة عطرية خلو النبات من الزيوت الطيارة وغناه وتنوعه بالمركبات الفينولية، قمنا في بحثنا هذا بإستخدام الإيثانول والميثانول للإستخلاص لغرض المقارنة بين المذيبين، وذلك بإستخدام طريقتين للإستخلاص هما:

- **الاستخلاص بالنقع (صلب- سائل) (Macération):**

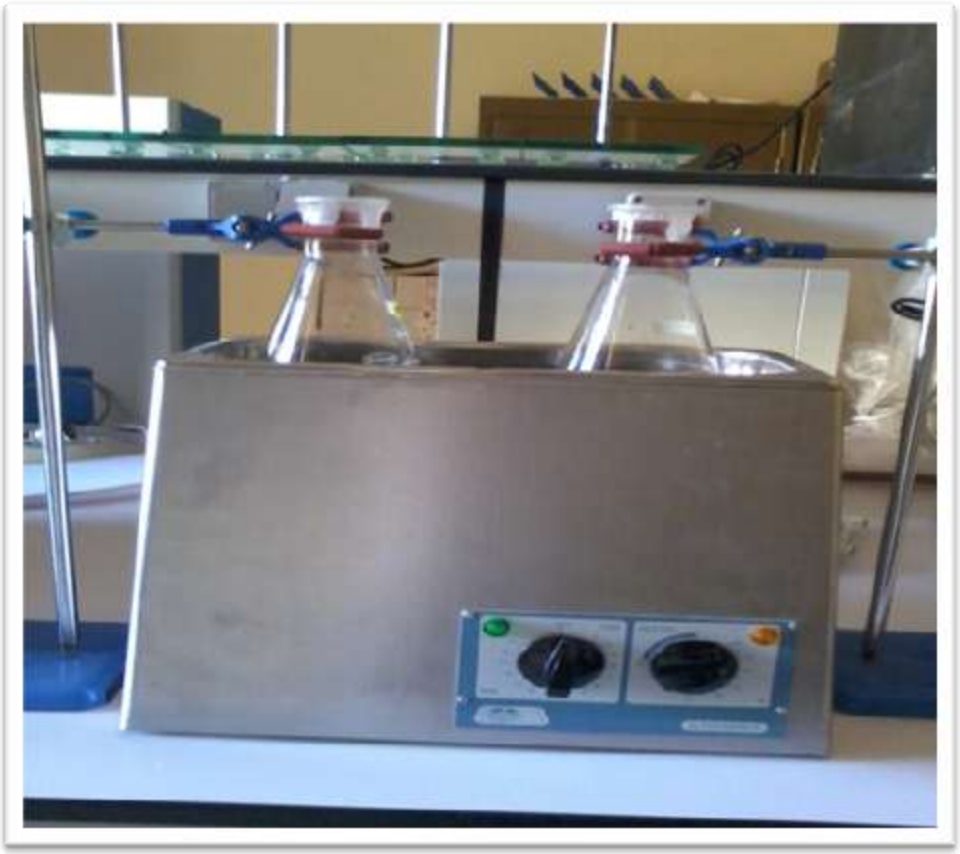
حسب MATKOWSKI et PIOTROWSKI (2006) نقوم بنقع 50 g من المادة الجافة في 500 ml من المذيب (ايثانول أو ميثانول)، يترك المزيج مدة 24 ساعة، يرشح المزيج وينقل إلى جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur (الوثيقة 10) في درجة حرارة 55 ºC للتخلص من المذيب والحصول على المستخلص الجاف، حيث يقدر المردود بالعلاقة التالية:

المردود = (وزن المستخلص/ وزن المادة النباتية الإبتدائية الجافة) × 100

- **الاستخلاص في حوض الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons):**

نأخذ وزن قدره 20 g من مسحوق النبات ونضعه في 200 ml من المذيب (ايثانول أو ميثانول)، يوضع المزيج في حوض الأمواج فوق الصوتية (الوثيقة 11) لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 30 ºC، ثم نقوم بعملية الترشيح وتبخير المذيب في جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur) ويقدر المردود كما في العلاقة السابقة (KHOSRAVI *et al*., 2013).

الوثيقة (10): جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur).



الوثيقة (11): جهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons).

2-3- تقدير المركبات الفينولية بالطرق اللونية:

2-3-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول Dosage des Polyphénols Totaux (PPT):

تم تقدير المركبات الفينولية الكلية بطريقة Singleton-Rossi بمساعدة كاشف Folin-ciocalteau، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنعستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبديك ($H_3PMO_{12}O_4$) والذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنعستين (W_8O_{23}) والموليبدن (MO_8O_3) ذات اللون الأزرق.

المركبات الفينولية تقدر كميا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre) حيث نستعمل حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجة $\lambda = 760$ nm (IVANA *et al.*, 2011) ولأجل التقدير الكمي للمركبات الفينولية نتبع الخطوات التالية:

نحضر محاليل ممددة من حمض الغاليك في الميثانول والإيثانول ذو تراكيز معلومة (0.02-0.07 mg/ml) لأجل التقدير الكمي لعديدات الفينول عند المستخلصين الإيثانوليين ومن (0.002-0.01 mg/ml) للتقدير الكمي لعديدات الفينول عند المستخلصين الميثانوليين.

حيث تم تقدير عديدات الفينول الكلية حسب SINGLETON and ROSSI (1965) باستعمال كاشف Folin-ciocalteau، حيث نمزج 0.2 ml من سلسلة تراكيز المستخلصات الإيثانولية أو الميثانولية مع 1 ml من محلول Folin-ciocalteau المخفف 10 مرات، نضيف بعد ذلك للمزيج 0.8 ml من كربونات الصوديوم (7.5%) ثم ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة.

تقاس شدة امتصاص المزيج الناتج عند طول موجة 760 nm. و يتم التعبير عن الناتج بالملغ مكافئ من حمض الغاليك لكل غرام من المادة الجاف (mg AG E/g Matière Sèche)عن طريق رسم منحنى المعايرة لتراكيز لحمض الغاليك المذاب في الميثانول والإيثانول.

2-3-2- التقدير الكمي للفلافونيدات Dosage des Flavonoïde (FV):

تمثل الفلافونيدات مجموعة كبيرة من المركبات الفينولية، ويمكن تقدير الفلافونيدات كميا بواسطة التفاعل مع $AlCl_3$ وتشكيل معقد ذو لون أصفر مع الفلافونيدات.

تقدر المركبات الفلافونيدية كميا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre) عند طول موجة 420 nm. ولأجل التقدير الكمي للمركبات الفلافونيدية نستعمل المنحنى القياسي للكرستين (ZHISHEN *et al*., 1999).

حسب ORDONEZ وزملاؤه (2006) نحضر محاليل ممددة للكرستين في الميثانول و الإيثانول ذو تراكيز معلومة (0.1 mg/ml -0.03) عند تقدير محتوى الفلافونيدات مع المستخلصين الميثانوليين ومن (0.1 mg/ml-0.025) لأجل تقدير محتوى الفلافونيدات عند المستخلصين الإيثانوليين.

حيث يتم تقدير محتوى الفلافونيدات بمزج 0.5 ml من المستخلصات المذابة في الإيثانول والميثانول ويضاف لها 0.5 ml من $AlCl_3$ ذو تركيز 02%، ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة وبعيدا عن الضوء. تقاس شدة امتصاص المزيج عند طول موجة 420 nm حيث يتم التعبير عن الناتج بعدد الملغرامات المكافئة للكرستين لكل غرام من المادة الجافة (mg QE/g Matière Sèche) وذلك من خلال المعادلة الخطية لمنحنى المعايرة للكرستين المحضر في الإيثانول والميثانول.

2-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

تم إختبار الفعالية المضادة للأكسدة بواسطة اختبارين هما:

2-4-1- اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT أو إختبار إقتناص جذر (Phospho-molybdate):

اختبار الفوسفومولبيدات (PPM) هو بديل لاختبار $DPPH^{\bullet}$، خلال هذا الاختبار يتم تحويل الهيدروجين والإلكترون من المركب المرجع المتواجد في المستخلص النباتي المضاد للأكسدة إلى المعقد المؤكسد (PPM)، يعتمد هذا النقل على pH الوسط وهيكل المركب المضاد للأكسدة، ويتحقق من خلال تشكيل معقد أخضر في وسط حامضي (BERCHE *et al*., 1988).

ولأجل قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT نستعمل المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

تم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلص باستعمال طريقة الفوسفوموليبدات المقترحة من طرف (ARDESTANI and YAZDANPARAST, 2007) وذلك بمزج 0.1 ml من المستخلص الإيثانولي و الميثانولي مع 1 ml من محلول فوسفوموليبدات والمكون من مزيج من المحاليل:

0.6 M Acide Sulfurique + 28 mM Phosphate de sodium + 4 mM molybdate) d'ammonuim)، ثم يوضع المزيج في حمام مائي على درجة حرارة 95 ºC لمدة 90 دقيقة، بعد التبريد تقاس شدة الامتصاص عند طول الموجة 695 nm. تم اعداد منحنى قياسي لحمض الغاليك ذو تراكيز معلومة (0.03 -0.3 mg/ml) عند تقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي و (0.01-0.1 mg/ml) عند تقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي ويتم التعبير عن النتائج بالملغ مكافئ من حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص (mg AG E/g Extrait).

2-4-2- اختبار تثبيط الجذر الحر $^{\bullet}$DPPH :

اختبار DPPH هو اختبار مضاد للجذور الحرة يعتمد على تثبيط الجذور الحرة $^{\bullet}$ DPPH وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات لذرة الهيدروجين حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذر $^{\bullet}$DPPH لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المستخلصات من تثبيط الجذور (DZIRI *et al*., 2012).

ولأجل تحديد نسبة تثبيط الجذر الحر $^{\bullet}$DPPH نستعمل المنحنيين القياسيين لـ α-Tocopherol للمستخلص الإيثانولي وحمض الأسكوربيك Acide Ascorbique للمستخلص الميثانولي.

حسب BRAND وزملاؤه (1995) يؤخذ 0.5 ml من تراكيز مختلفة من المستخلص الإيثانولي والميثانولي ويضاف إليه 1 ml من محلول DPPH ذو التركيز (0.1mM: أي 4mg/100 ml methanol)، وتحضن الأنابيب في الظلام لمدة 15 دقيقة، يتم تسجيل قراءات الكثافة الضوئية للتراكيز المختلفة في جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre) عند طول موجة 515 nm.

تم حساب نسبة تثبيط جذر $^{\bullet}$DPPH للتراكيز المختلفة للمستخلصات الكحولية وذلك انطلاقا من المنحنيين القياسيين لـ α - Tocopherol ذو تراكيز (0.00001-0.0001 mg/ml) وحمض الأسكوربيك ذو تراكيز (0.002-0.01mg/ml) وفق المعادلة التالية:

$$I\ \% = [(A_c - A_s)/A_c]\ x100.$$

حيث أن:

A_c: الكثافة الضوئية للعينة الكاشف.

A_s: الكثافة الضوئية للـ α - Tocopherol و Acide Ascorbique.

2-4-3- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لجذر $DPPH^{\bullet}$:

يعرف مقدار IC_{50} على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط (كبح) 50 % من جذر $DPPH^{\bullet}$، والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط (I %) بدلالة تراكيز المستخلصات الكحولية (DZIRI *et al*., 2012).

2-5- دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا:

2-5-1- السلالات البكتيرية المستعملة:

خلال هذه الدراسة تم استعمال ثلاث أنواع بكتيرية تم جلبها من معهد باستور بالجزائر العاصمة وهي:

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Pseudomonas aerogenosa* ATCC 27853.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

ويمتاز كل نوع بكتيري بعدة خصائص نذكر منها مايلي:

1- *Escherichia coli*:

تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae ، وهي بكتيريا عصوية، سالبة الغرام، ذات أبعاد من 1 إلى 3 µm، توجد عادة في أمعاء الثدييات بما في ذلك الإنسان معظمها ليس مسببا للأمراض وتلعب دورا هاما في الأمعاء، كما يمكن أن تسبب الإلتهابات المعوية، التهابات الأعضاء التناسلية أو البولية وكذا الإسهال الحاد.

تتكاثر بسرعة كبيرة للغاية عند درجة حرارة الجسم 37 ºC وتشكل سلاسل وتتحرك بواسطة الأسواط.

دلت الدراسات أنه يمكن لـ *Escherichia coli* اختراق الخلايا البطانية المكونة للحاجز الدموي الدماغي في الأطفال حديثي الولادة عبر الأوعية الدموية الدقيقة متسببة التهاب السحايا (حوة، 2013).

2- *Pseudomonas aerogenosa*:

تنتمي إلى عائلة Entereobactereaceae، و هي نوع من البكتيريا سالبة الغرام، متحركة بأهداب، وأحيانا تمتلك سوط واحد للحركة، هوائية، تمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات، تسبب التهابات في المجاري البولية و في الجروح و على مستوى الجهاز الهضمي، وتعيش في التربة والظروف الرطبة، وقد نجد بعضها في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان (LYCZAK *et al.*, 2000; HIDRON *et al.*, 2008).

3- *Staphylococcus aureus*:

تنتمي إلى العائلة Staphylococcacea (LOWY, 1998 ; COREY, 2009)، فهي نوع من البكتيريا موجبة الغرام تنتمي إلى جنس المكورات العنقودية، ترتبط في مجموعات على شكل عنقود العنب، قطرها حوالي 1 µm، غير متحركة، هوائية أو لاهوائية.

تعد من البكتيريا المسببة للكثير من الأمراض عند الإنسان، إذ يمكن أن تسبب التهابات الجلد وإلتهاب الأذن الوسطى، كما أنها تؤدي إلى تسمم الدم، وهي أيضا مسؤولة عن العدوى في المستشفيات، والتسمم الغذائي (عبد الباري وعادل جبار، 2011).

2-5-2- المضادات الحيوية المستعلمة للمقارنة الإيجابية بينها وبين المستخلصات:

من خلال اختبار نشاطية المستخلصين الميثانوليين والإيثانوليين لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على الأنواع البكتيرية الثلاثة تم استعمال مضادين حيويين بقصد المقارنة بين الفعالية البيولوجية للمستخلصات الميثانولية والإيثانولية مع هذين المضادين (الوثيقة 12) وهي:

1- **Amoxyclav AMC_{30}:** 30 µg /disc.

2- **Amikacin AK_{30} :** 30 µg/disc.

الوثيقة (12): المضادين الحيويين Amoxyclav (AMC_{30}) , و Amikacin (AK_{30}) المستخدمة في المقارنة الإيجابية للنشاطية ضد البكتيريا.

2-5-3- تحضير أوساط الزرع:

نقوم بتعقيم منطقة العمل أولا ثم يتم تحضير أطباق بتري (9 cm) ونسكب بها وسط الزرع (Mueller Hinton) الذي تم إذابته وتعقيمه في الاتوكلاف في درجة حرارة 121°C ويكون العمل كله قرب موقد بنزن (Bec Bensène) من أجل خلق وسط معقم، تترك الأطباق لتبرد وتتجمد (حوة، 2013).

2-5-4- تحضير المعلق البكتيري:

لتحضير معلق بكتيري نقوم بأخذ مستعمرة من كل سلالة بكتيرية نقية بواسطة ماصة باستور معقمة، أين توضع في أنبوب اختبار الذي يحتوي على الماء الفيزيولوجي وترج قليلا حتى نتحصل على معلق عكر(العابد، 2009).

2-5-5- زراعة البكتيريا:

لزراعة البكتيريا نغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به على كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا بشكل خطوط متلاصقة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير طبق بيتري بزاوية 60° في كل مرة (حوة، 2013).

2-5-6- وضع الأقراص:

بعد تحضير الأوساط الزراعية وزراعة البكتيريا، نقوم بوضع أقراص المضادات الحيوية كل واحد في المكان الخاص به داخل الأطباق المحضرة سابقا، ونضع أربعة أقراص فارغة معقمة وبواسطة Micropipette نضع في كل قرص 0.01 ml من التراكيز المختلفة:

C_1= 0.5 mg/ml, C_2= 1 mg/ml, C_3= 2 mg/ml من المستخلصين الإيثانوليين والميثانوليين المخففة في DMSO (HARRAR, 2012) والقرص الرابع يوضع به 0.01 ml من DMSO لغرض المقارنة الإيجابية، توضع علب بتري بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37 ºC لمدة 24 ساعة.

بعد انتهاء مدة الحضن نقوم بإخراج علب بتري لقياس الأقطار التثبيطية بـ (mm) للمستخلصين الايثانوليين والميثانوليين والمضادين الحيويين بواسطة القدم القنوية.

2-6- التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

للتعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات الكحولية استخدمنا جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)، وهي طريقة تستعمل للتعرف من خلالها على المواد الطبيعية غير الطيارة التي تتأثر كثيرا بالحرارة وتمثل 75% من المركبات الكيميائية، ومن هنا تأتي أهمية استعمال هذه التقنية الحديثة (FOLLEY *et al*., 1991).

حيث تعتبر HPLC وسيلة بسيطة لعزل وتحديد مختلف المركبات من خليط وكذلك أحسن طريقة لفصل الخلائط المعقدة في وقت قصير (COMBIER *et al*., 1974).

استخدم الطور المتحرك والمؤلف من المزيج التالي: الماء/ الأسيتونتريل/ حمض الخل أما بالنسبة للطورالثابت فيكون مكونا من جزيئات دقيقة جدا، قد يصل قطر الواحدة منها 5 µm، توجد في عمود مغلق. نقوم بحقن 20 µl من تراكيز المستخلصات الكحولية وتحت الضغط، وبعد فصل المكونات، يتم الكشف عنها في مخرج العمود، بواسطة جهاز يقوم بمعالجة كل المعطيات (AUDIGIE *et al*., 1995).

وأجزاء الجهاز الممثل في الوثيقة (13) هي:

1- **المضخة:** هي نظام يتكون من مضختين، مضخة LC 20 AL ,LC 20 AL من أجل نقل الطور المتحرك إلى الضغط العالي.

2- **الحاقن:** وهو لحقن العينات المراد تحليلها ويقدر حجم الحقن بـ 20 µL.

3- **العمود:** يبلغ طوله 125 mm وقطره الداخلي 4.6 mm، يحتوي على مرحلة ثابتة غير قطبية، هذا الأخير يتكون من السيليس الذي يستعمل كدعامة ثابتة لفصل العديد من المركبات الطبيعية.

4- **الكاشف:** هو كاشف أحادي اللون :UV SPD 20 A طوله الموجي متغير (190-400 nm) للكشف عن مختلف المركبات التي تحتويها العينة.

5- **الفرن:** CTO 20A (XIANG *et al*., 2006).

الوثيقة (13): الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

الفصـــل الثانـي:

النتائـــــج

و المناقشـــــــــة

1- النتائج:

1-1- النتائج المتحصل عليها عند الكشف الكيميائي عن مركبات الأيض الثانوي لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.:

بعد الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبات تحصلنا على النتائج المدرجة في الجدول (08).

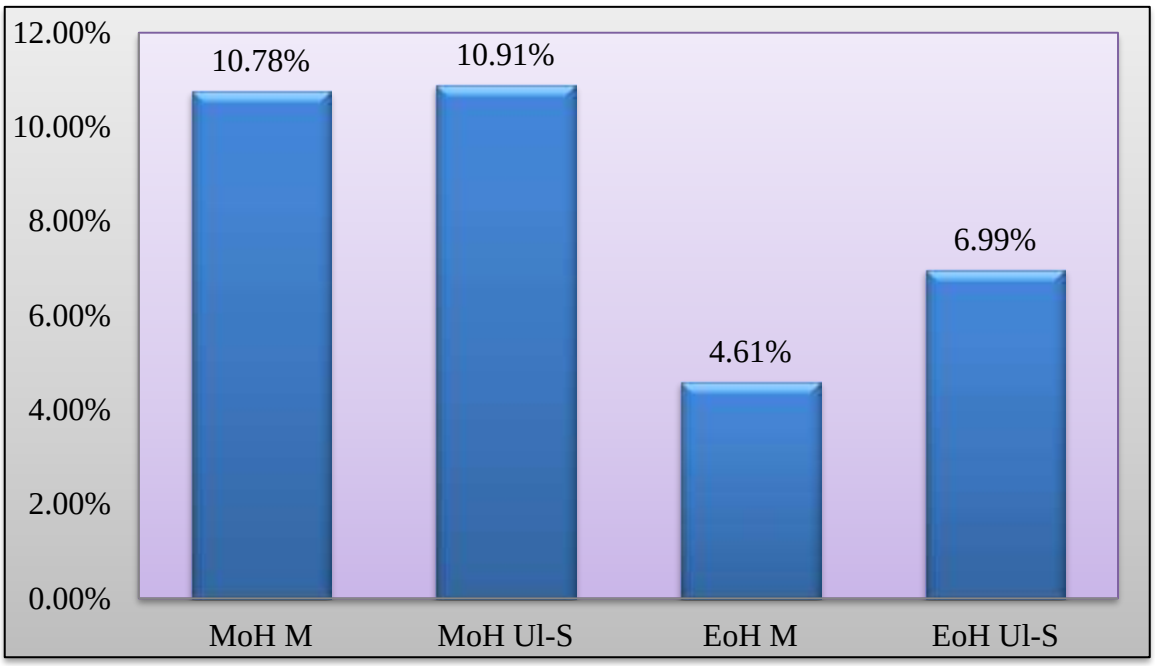
جدول (08): نتائج الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في نبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

(+) وجود المركب (-) غياب المركب

مواد الأيض الثانوي	الملاحظة	النتائج
الفلافونيدات (Les Flavonoïdes)	ظهور اللون الوردي	+
المركبات المرجعة (Les Composés Réducteur)	ظهور راسب أحمر أجوري	+
التانينات القاليكية (Les Tanins Gallique)	عدم ظهور لون أزرق مسود	-
التانينات الكاتيشية (Les Tanins Cathéchique)	ظهور لون أزرق مخضر	+
الأنتوسيانين (Les Anthocynes)	ظهور لون وردي	+
القلويدات (les alcaloïdes)	عدم ظهور راسب بني	-
الستيرولات والتربينات الثلاثية (Les Stérols Et Triterpènes)	ظهور حلقة بنفسجية	+
الصابونوزيدات (Les Saponosides)	ظهور رغوة في كل الأنابيب بأحجام مختلفة والانبوب رقم 02 هو الأقرب لـ 1 cm حيث بلغ إرتفاع الرغوة فيه 0.9 cm	معامل الرغوة: I= 225 النبات غني بالصابونوزيدات

2-1- مردود المستخلصات الكحولية:

تم تقدير مردود المستخلصات الإيثانولية والميثانولية بـ (%) وذلك بطريقتي النقع والأمواج فوق الصوتية وفق الشكل (01).



الشكل (01): مردود المستخلصات الميثانولية والإيثانولية لنبات الارطى *Calligonum comosum* L'her.

(MoH) المستخلص الميثانولي، (EoH) المستخلص الإيثانولي، (MM) الإستخلاص بطريقة النقع، (Ul-S) الإستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

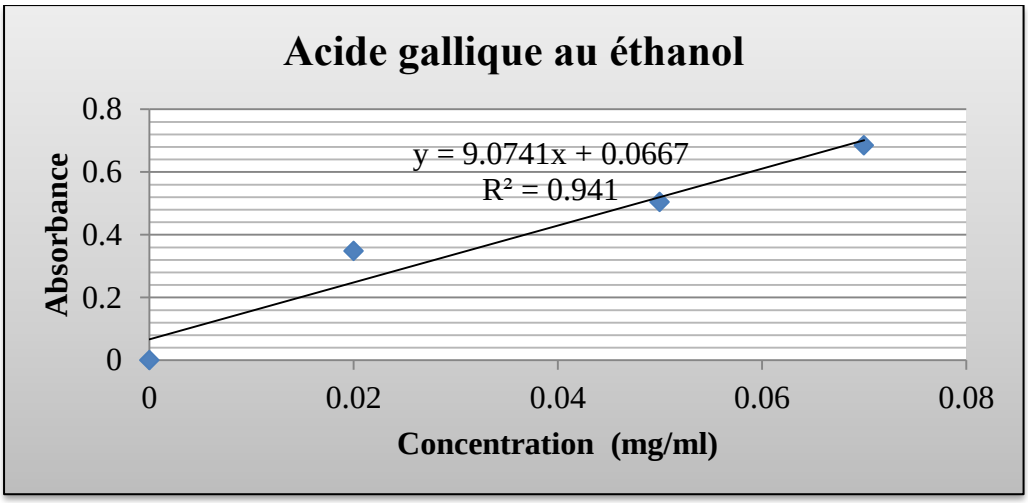
من خلال النتائج المتحصل عليها في الشكل (01) نلاحظ ما يلي:

- نسبة المردود المقدرة في المستخلص الميثانولي بطريقة النقع أعلى منه في المستخلص الإيثانولي بنفس طريقة الإستخلاص.
- أعطى المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية نسبة مردود أقل من المستخلص الميثانولي بالأمواج فوق الصوتية.
- تفوق طريقة الأمواج فوق الصوتية في نسبة المردود على طريقة النقع في كلا المذيبين (الميثانولي والإيثانولي).

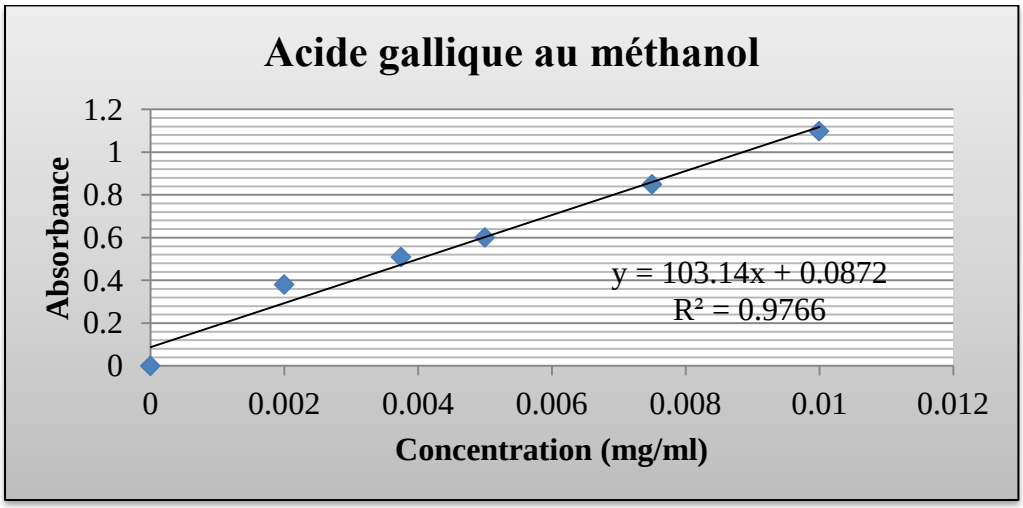
1-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

1-3-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT):

باستخدام طريقة Singleton and Rossi واستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الإيثانول (الشكل 02) والميثانول (الشكل 03)، يُعبر عن المحتوى الكمي لعديدات الفينول للمستخلصات الإيثانولية والميثانولية بـالملغ مكافئ من حمض الغاليك/غ من المادة الجافة كما هو موضح في الجدول (09).



الشكل (02): المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينولات عند المستخلص الإيثانولي.



الشكل (03): المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينولات عند المستخلص الميثانولي.

الجدول (09): كمية عديدات الفينول للمستخلصات الكحولية بالملغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المادة الجافة (mg AG E/g Matière sèche).

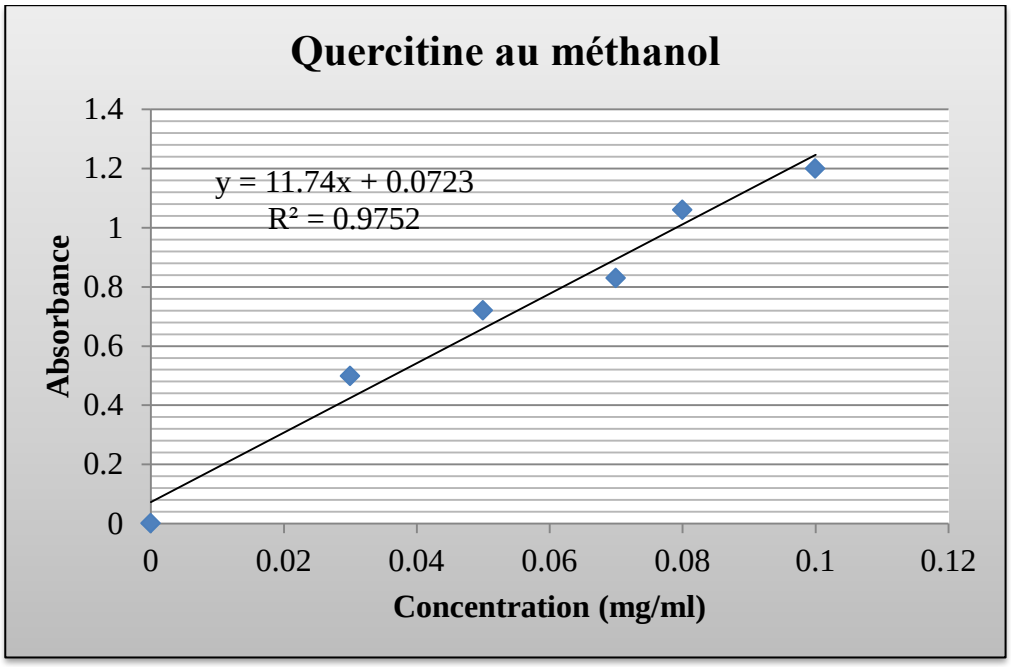
مستخلصات نبات الأرطى *C.comosum* L'her.	MoH MM	MoH Ul-S	EoH MM	EoH Ul-S
كمية عديدات الفينول	3.28 ± 0.204	1.55 ± 0.32	175.75 ± 64.29	173.24 ± 56.73

من خلال النتائج المدرجة في الجدول (09) فإن:

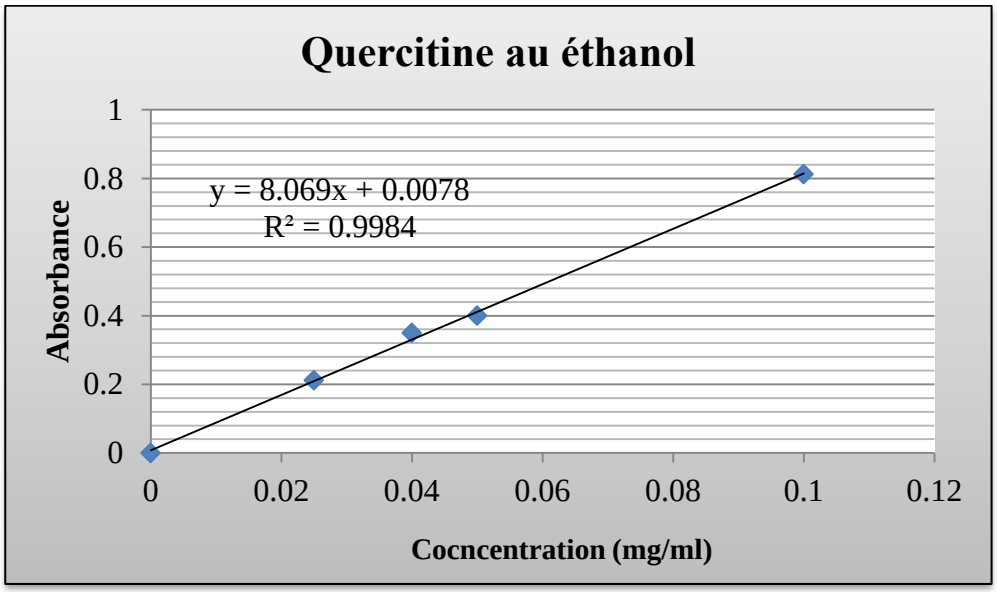
- كمية عديدات الفينول في المستخلصات الإيثانولية تفوقت بنسب جد عالية مقارنة بكميتها في المستخلصات الميثانولية.
- كمية المركبات الفينولية للمستخلصين الميثانوليين بطريقتي النقع والأمواج فوق الصوتية كانت متقاربة إذ قدرت قيمتها بـ 3.28 ± 0.204 mg AG E/g Matière sèche و 1.55 ± 0.32 mg AG E/g Matière sèche على التوالي، أما بالنسبة للمستخلصين الإيثانوليين فهي كذلك متقاربة إذ قدرت بـ 175.75 ± 64.29 mg AG E/g Matière sèche بطريقة النقع و mg AG E/g Matière sèche 173.24 ± 56.73 بطريقة الأمواج فوق الصوتية.
- تفوق طريقة الإستخلاص بالنقع في المحتوى الكمي لعديدات الفينول عن طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية في كلا المذيبين.

1- 3-2- التقدير الكمي للفلافونيدات (FV):

تم التقدير الكمي للفلافونيدات للمستخلصات الكحولية باستخدام كاشف $AlCl_3$ واستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرستين في الميثانول بالنسبة للمستخلصات الميثانولية (الشكل 04)، والإيثانول بالنسبة للمستخلصات الإيثانولية (الشكل05)، حيث يتم التعبير عن النتائج والمدرجة في الجدول (10) بالملغ مكافئ للكرستين في الغرام من المادة النباتية الجافة.



الشكل (04): المنحنى القياسي للكرستين لتقدير الفلافونيدات عند المستخلص الميثانولي.



الشكل (05): المنحنى القياسي للكرستين لتقدير الفلافونيدات عند المستخلص الإيثانولي.

الجدول (10): التقدير الكمي للفلافونويدات للمستخلصات الكحولية الأربعة.

مستخلصات نبات الأرطى *C. comosum* L'her.	MoH MM	MoH Ul-S	EoH MM	EoH Ul-S
كمية الفلافونيدات بالملغ مكافئ من الكرسيتين/غ من المادة الجافة (mg QE/g Matière sèche).	1.19 ± 0.14	0.51 ± 0.14	38.59 ± 1.89	32.97 ± 7.78

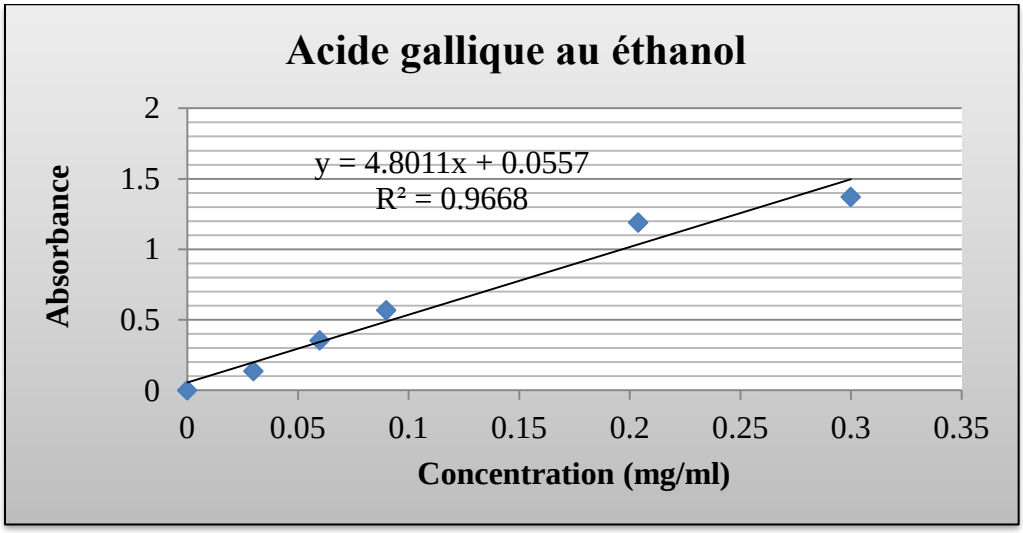
من خلال النتائج المتحصل عليها من التقدير الكمي للفلافونيدات للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *C.comosum* L'her والمدرجة في الجدول (10) فإن:

- كمية الفلافونيدات في المستخلصات الإيثانولية تفوقت بنسب جد عالية عن نظيرتها في المستخلصات الميثانولية.
- كمية الفلافونويدات للمستخلصين الميثانوليين بطريقتي النقع والأمواج فوق الصوتية كانت متقاربة إذ قدرت قيمتها بـ 1.19 ± 0.14 mg QE/g Matière sèche و 0.51 ± 0.14 mg QE/g Matière sèche على التوالي.
- أظهرا المستخلصين الإيثانوليين قيما متقاربة من الفلافونويدات قدرت بـ 38.59 ± 1.89 mg QE/g Matière sèche لمستخلص طريقة النقع و 32.97 ± 7.78 mg QE/g Matière sèche لمستخلص طريقة الأمواج فوق الصوتية.
- كما تفوقت طريقة الإستخلاص بالنقع في المحتوى الكمي للفلافونيدات عن طريقة الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية مع كلا المذيبين.

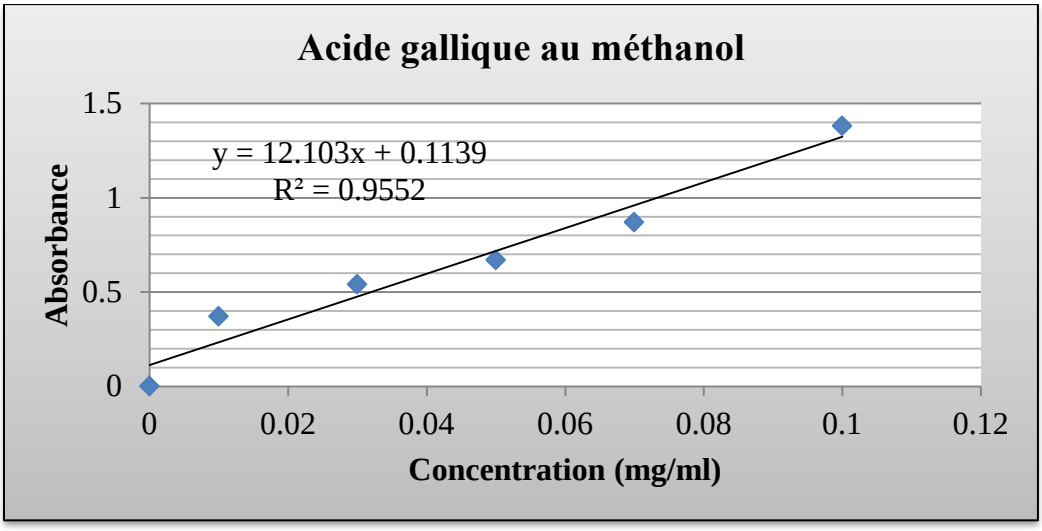
1-4- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

1-4-1- اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT):

من خلال اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة بطريقة الفوسفوموليبدات واستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الإيثانول (الشكل 06) والميثانول (الشكل 07).

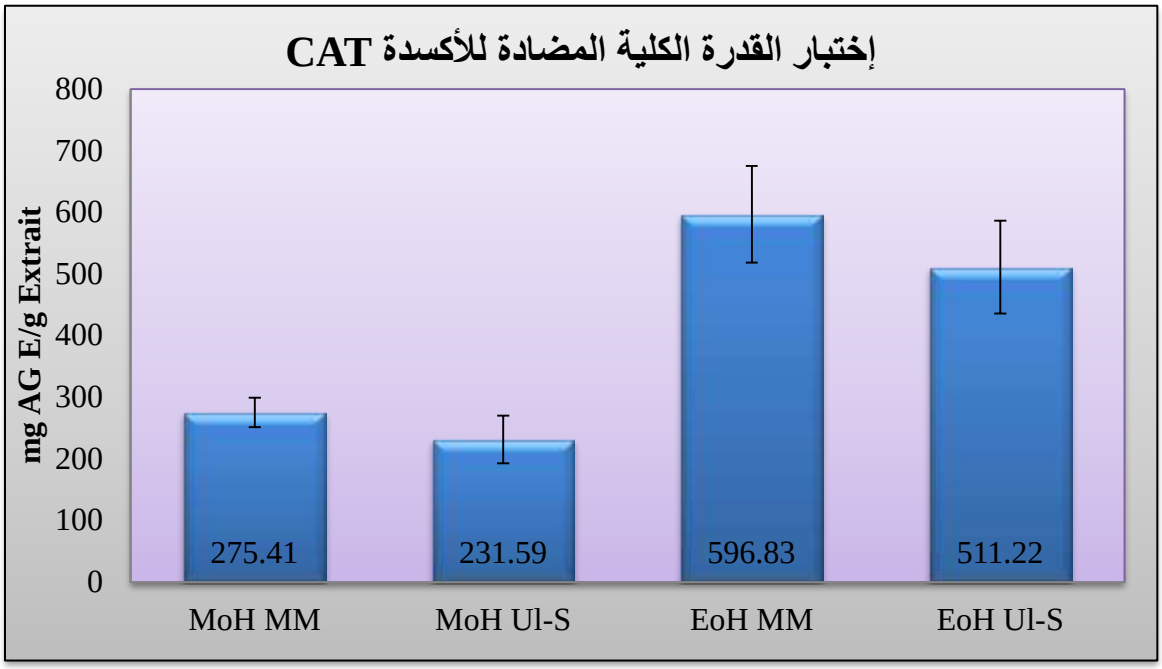


الشكل (06): المنحنى القياسي لحمض الغاليك للمستخلص الإيثانولي في إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة.



الشكل (07): المنحنى القياسي لحمض الغاليك للمستخلص الميثانولي في إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة.

يتم التعبير عن القدرة الكلية المضادة للأكسدة بالملغ مكافئ لحمض الغاليك على الغرام من المستخلص الجاف والنتائج موضحة في الشكل (08).



الشكل (08): نتائج القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT للمستخلصات الكحولية لنبات الارطى *Calligonum comosum* L'her. (MoH) المستخلص الميثانولي، (EoH) المستخلص الإيثانولي ، (MM) الإستخلاص بطريقة النقع، (Ul-S) الإستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

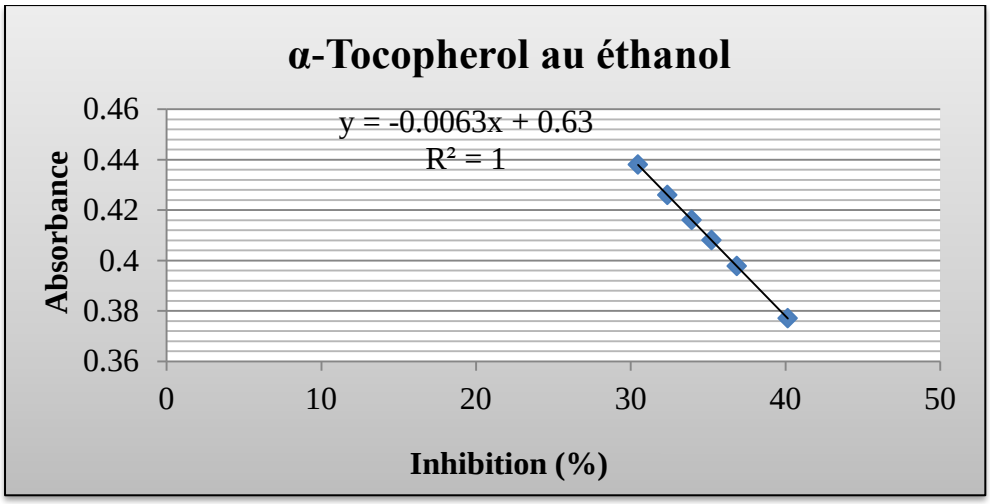
من خلال نتائج الشكل (08) نستنتج أن:

- المستخلصات الإيثانولية أعطت قيما للقدرة الكلية المضادة للأكسدة أعلى من المستخلصات الميثانولية.
- كما أن قيم القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) بالنسبة للمستخلص الميثانولي 275.41 ± 23.77 mg AG E/g Extrait عن طريق النقع تعد متقاربة مع قيمة القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية 231.59 ± 38.58 mg AG E/g Extrait .
- تفوق المستخلص الإيثانولي عن طريق النقع بقيمة قدرت بـ 596.83 ± 78.24 mg AG E/g Extrait مقارنة بقيمة المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية بكمية قدرت بـ 511.22 ± 75.30 mg AG E/g Extrait.

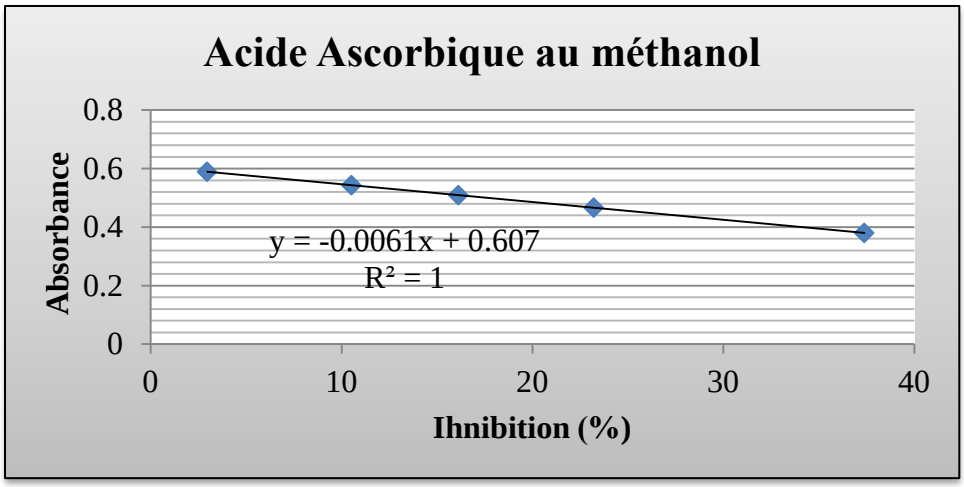
- تفوق طريقة الإستخلاص بالنقع في إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة عن طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية في كلا المستخلصين الكحوليين.

1-2-4- اختبار تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$:

لتحديد نسبة تثبيط المستخلصات الكحولية للجذر الحر الـ $DPPH^{\bullet}$ ، استعملنا معادلة المنحنيين القياسيين لـ α-Tocopherol و الـ Acide Ascorbique للمستخلص الإيثانولي (الشكل 09) والميثانولي (الشكل 10) على التوالي، والنتائج مدونة في الشكل (11).

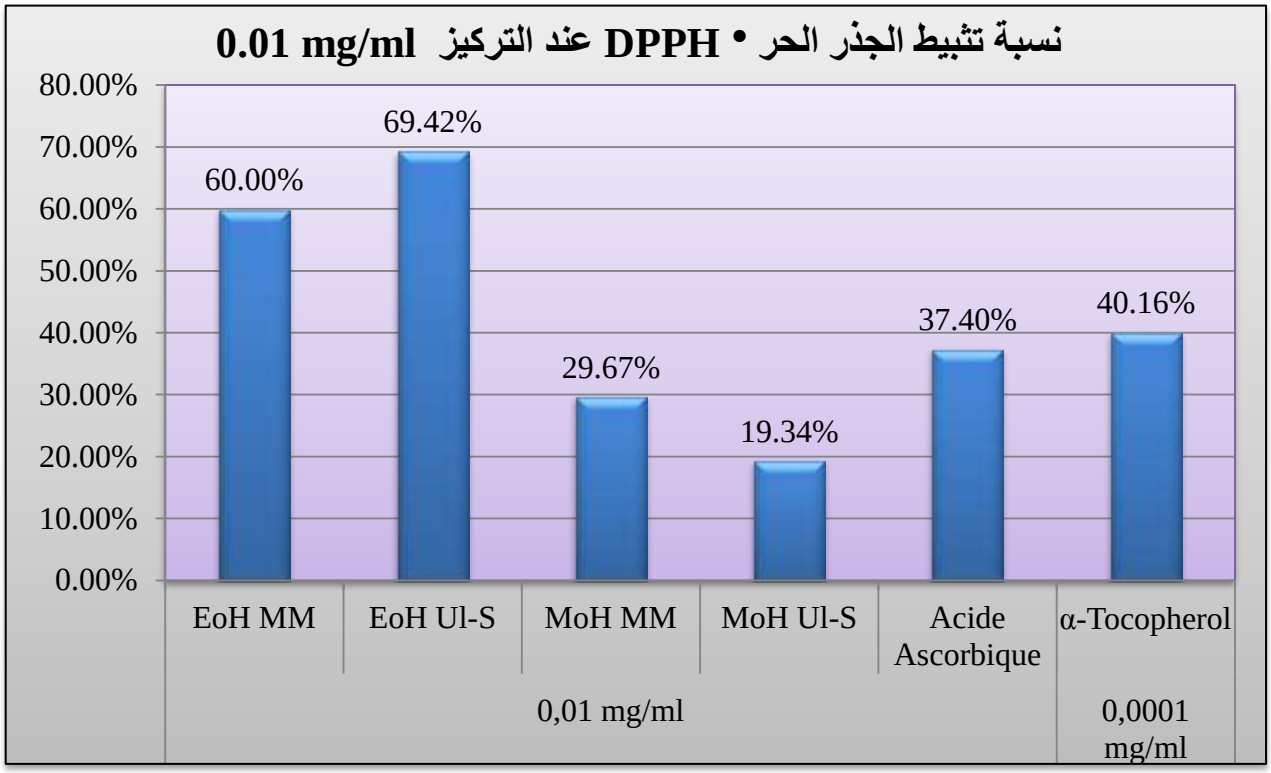


الشكل (09): المنحنى القياسي للـ α-Tocopherol للمستخلص الإيثانولي مع إختبار إقتناص جذر الـ $DPPH^{\bullet}$.



الشكل (10): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك للمستخلص الميثانولي مع إختبار إقتناص جذر الـ $DPPH^{\bullet}$.

بعد تقدير شدة الإمتصاص للتركيز 0.01 mg/ml للمستخلصات الكحولية الأربعة والمركبات القياسية α-Tocopherol وAcide Ascorbique تمكنا من تحديد نسبة تثبيط جذر DPPH عند هذا التركيز من خلال المعادلة الخطية لـ α-Tocopherol بالنسبة للمستخلص الإيثانولي و الـ Acide Ascorbique للمستخلصات الميثانولية (الشكل 11).



الشكل (11): نسبة تثبيط المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her . للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$.

من خلال مقارنة نسبة تثبيط جذر $DPPH^{\bullet}$ عند التركيز (0.01 mg/ml) للمستخلصات الكحولية لاحظنا مايلي:

- نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ من طرف المستخلصين الإيثانوليين أعلى من نسبة التثبيط في المستخلصين الميثانوليين.
- قدرت نسبة تثبيط لجذر $DPPH^{\bullet}$ مع حمض الأسكوربيك بـ 37.40% و29.67% مع المستخلص الميثانولي بطريقة النقع و19.34% مع المستخلص الميثانولي بالأمواج فوق الصوتية.
- بلغت نسبة تثبيط للجذر الحر مع α- Tocopherol عند التركيز 0.0001 mg/ml القيمة

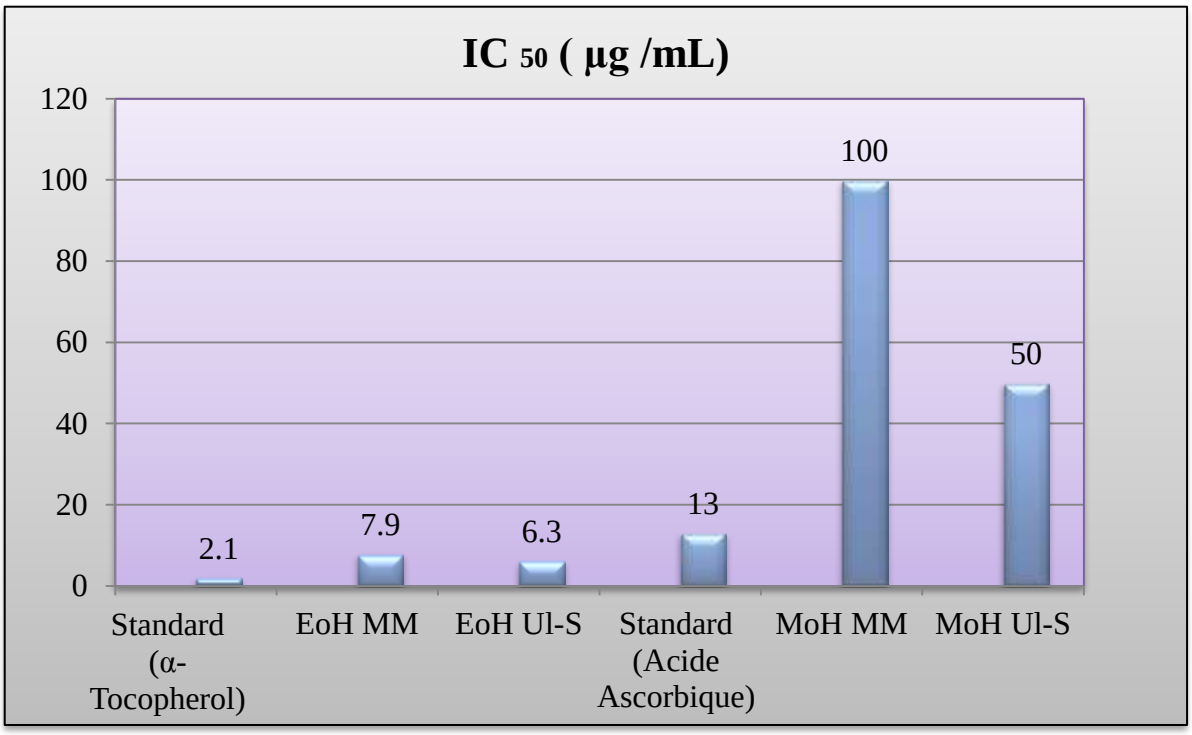
40.16% في حين بلغت نسبة 60% عند التركيز 0.01% مع المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع ونسبة 69.42% مع المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية عند نفس التركيز.

- تفوقت المستخلصات الإيثانولية على المستخلصات الميثانولية وحمض الأسكوربيك في نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$.

- في طريقة الأمواج فوق الصوتية بلغت نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ في المستخلص الميثانولي 19.34% والتي تعتبر كأدنى قيمة مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

1-4-3- تحديد مقدار IC_{50} المثبطة لـ % 50 من جذر $DPPH^{\bullet}$:

بعد تقدير نسبة تثبيط للجذر الحر الـ $DPPH^{\bullet}$ تمكنا من حساب التركيز المثبط لـ **50%** من الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ (IC_{50}) كما هو موضح في الشكل (12).



الشكل (12): قيم IC_{50} المثبطة لـ 50% من الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بـ µg/ml للمستخلصات الكحولية و المركبات القياسية α-Tocopherol و Acide Ascorbique لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

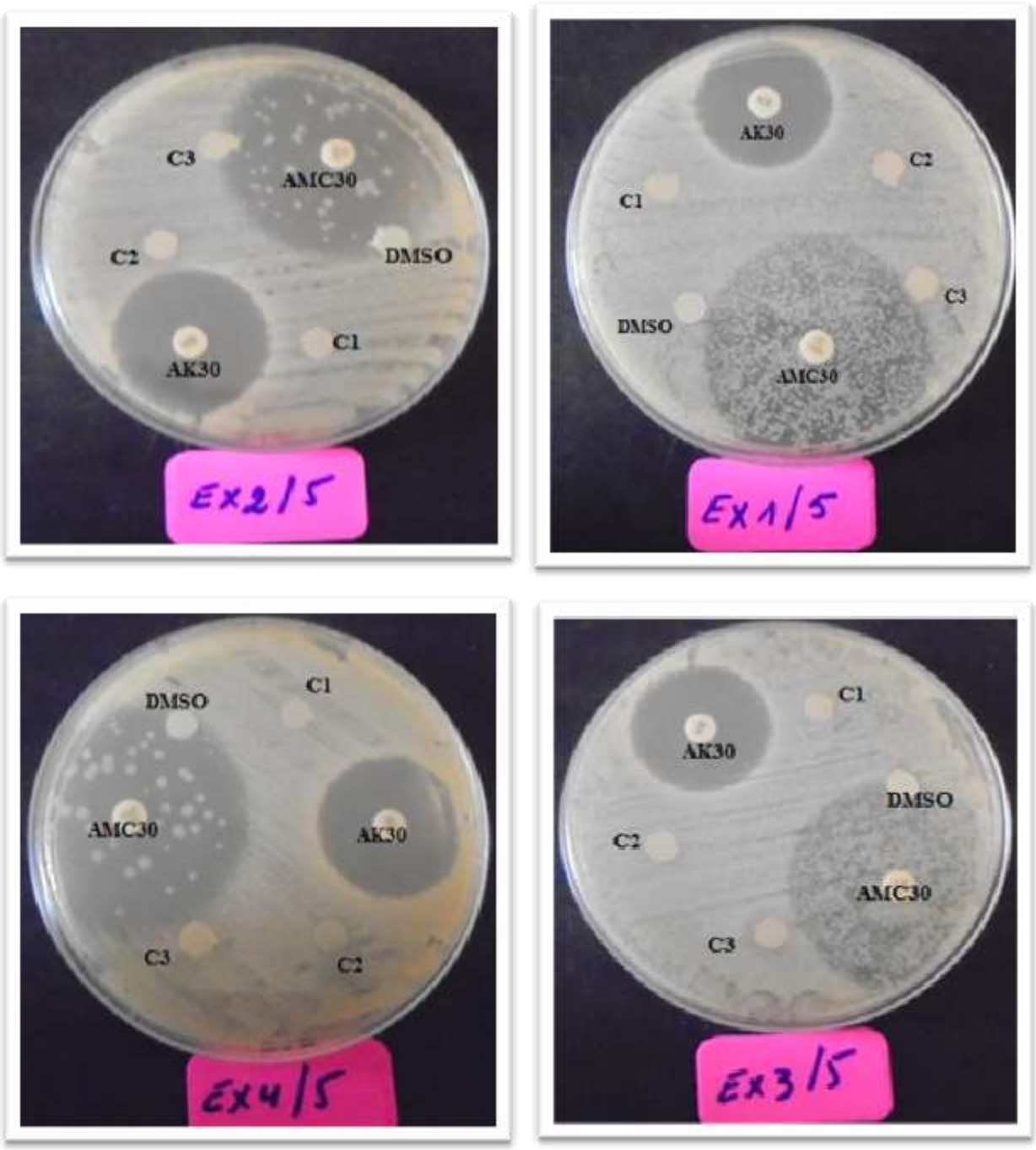
(MoH) المستخلص الميثانولي، (EoH) المستخلص الإيثانولي، (MM) الإستخلاص بطريقة النقع، (Ul-S) الإستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

من خلال قيم IC_{50} المثبطة لـ 50% من جذر $DPPH^{\bullet}$ والممثلة في الشكل (12):

- أبدت المستخلصات الايثانولية قيم معتبرة من IC_{50} مقارنة مع قيم المستخلصات الميثانولية.
- لاحظنا تفوق كبير في قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك Vit (C) (13 µg/ml)على قيمة IC_{50} للمستخلصات الميثانولية في حين أبدت المستخلصات الإيثانولية قيم IC_{50} أحسن من قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك.
- أبدى المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية أكبر فعالية في تثبيط جذر $DPPH^{\bullet}$ إذ قدرت قيمة (IC_{50}) بـ 6.3 µg/ml، بينما قدرت قيمة (IC_{50}) للمستخلص عن طريق النقع بـ (7.9 µg/ml)، وتبقى هذه القيم غير فعالة مقارنة بقيمة (IC_{50}) لـ α-Tocopherol والبالغة 2.1 µg/ml.
- تفوق الاستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية في قيم IC_{50} المثبطة للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ عن الاستخلاص بطريقة النقع في كلا المستخلصين الكحوليين.

1-5- دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا:

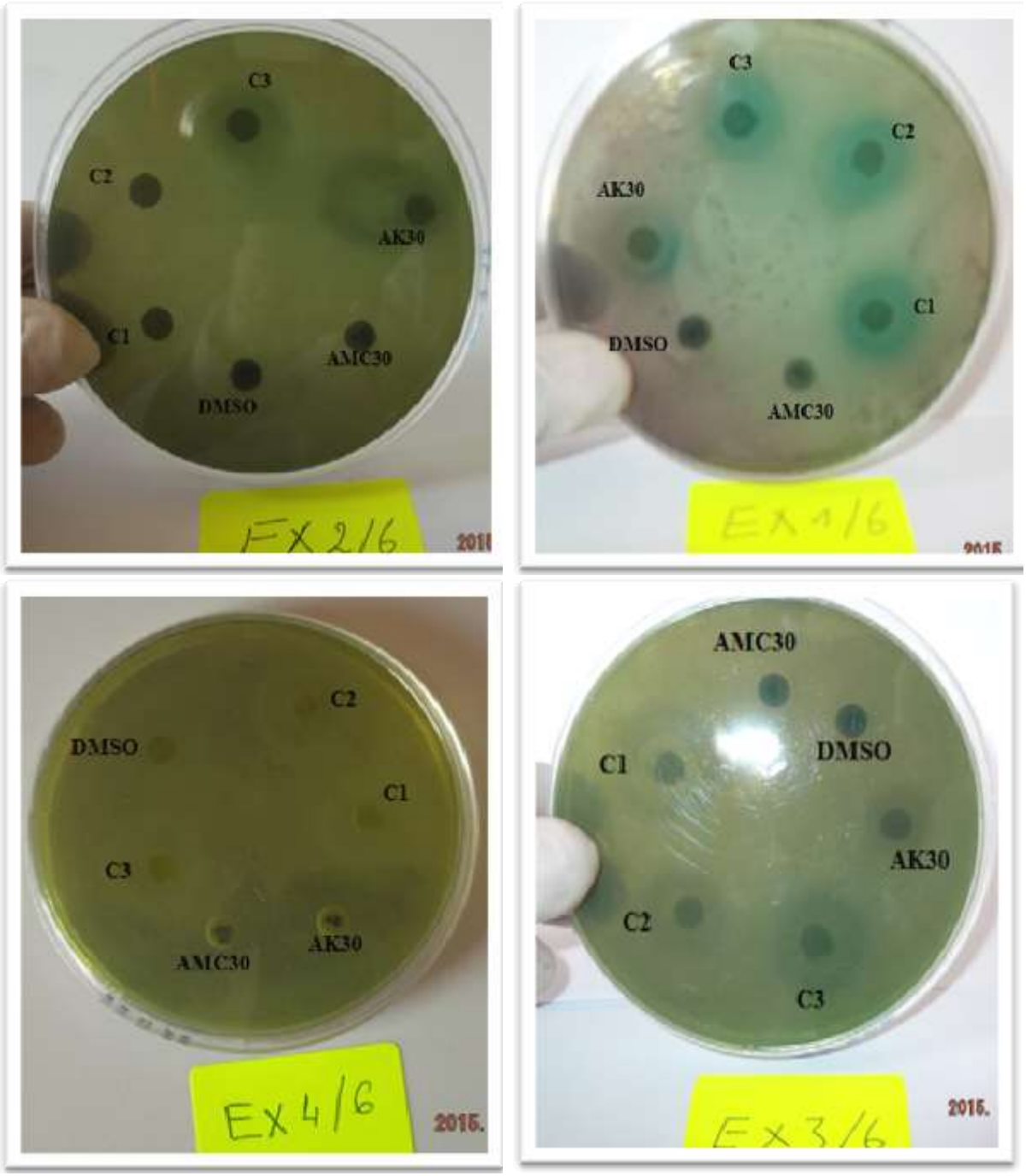
من خلال دراسة النشاطية البيولوجية للمستخلصات الكحولية وبعض المضادات الحيوية المضادة لبعض الأنواع البكتيرية الممرضة تحصلنا على النتائج المرفقة في الموضحة في الوثائق (14-15-16) والشكل (13).



الوثيقة (14): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Escherichia coli* .

(EX1): المستخلص الميثانولي بطريقة النقع؛ (EX2): المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع؛ (EX3): المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية؛ (EX4): المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

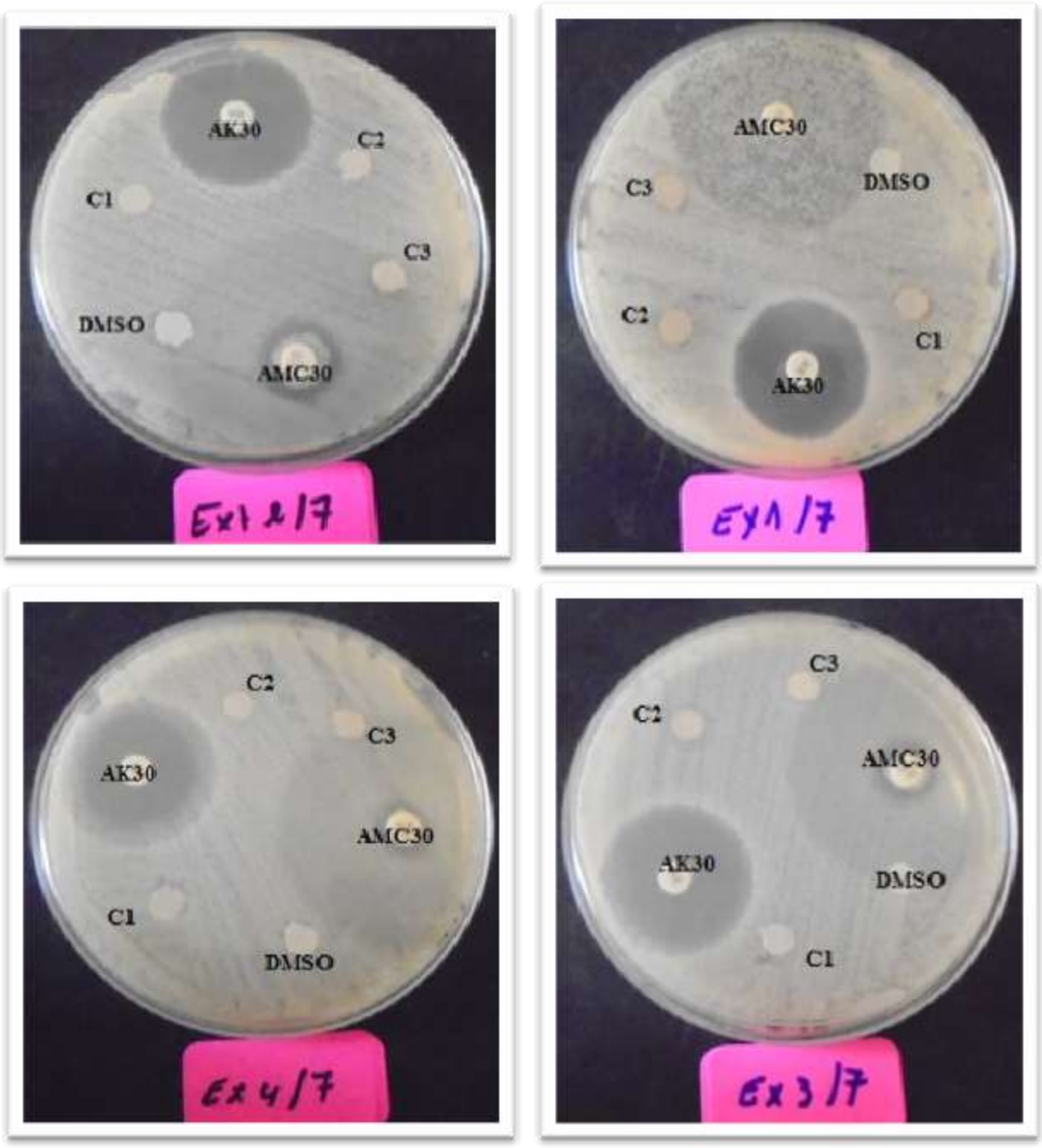
Escherichia coli (5)



الوثيقة (15): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa*.

(EX1):المستخلص الميثانولي بطريقة النقع؛ (EX2): المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع؛ (EX3): المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية؛ (EX4): المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

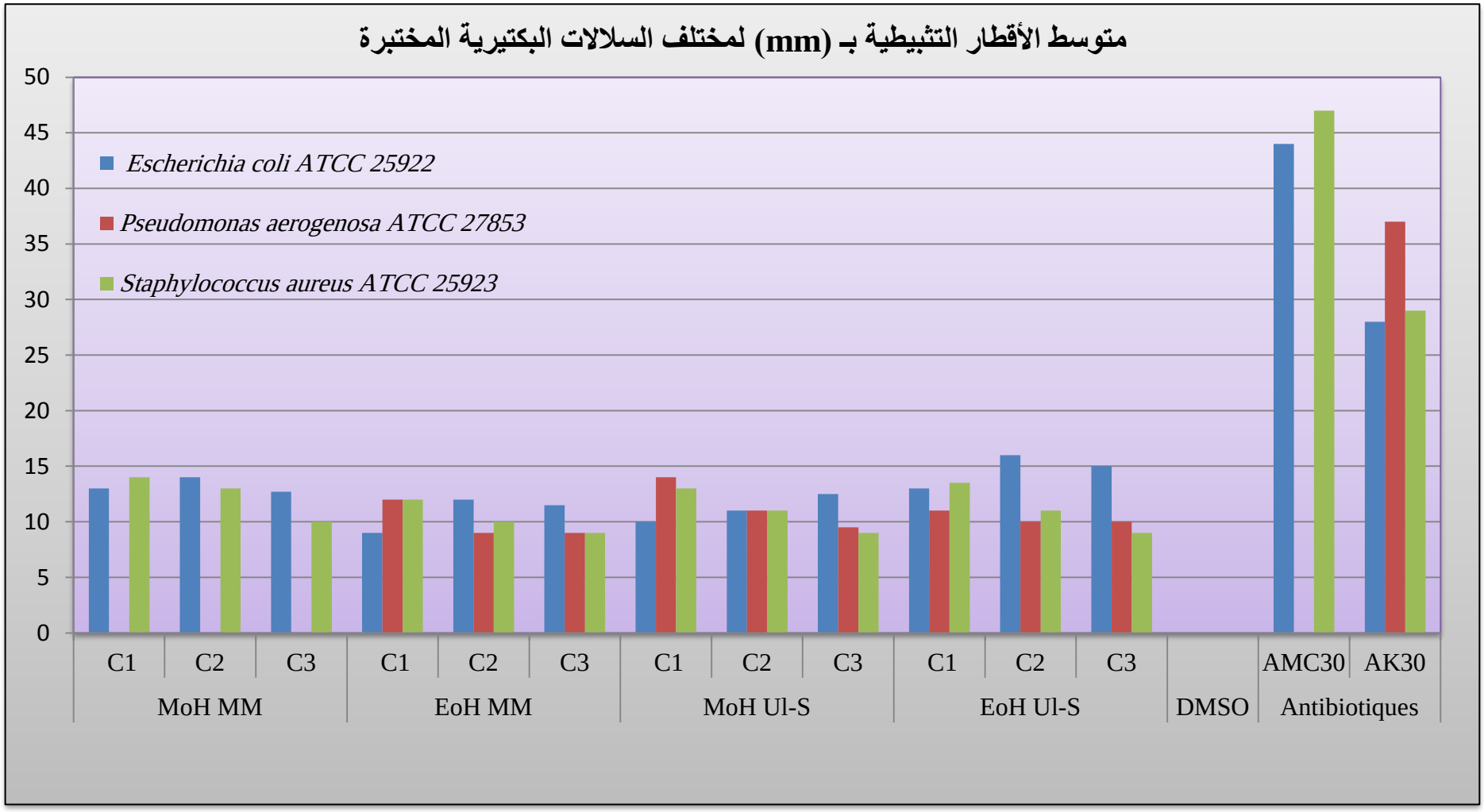
Pseudomonas aerogenosa (6)



الوثيقة (16): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. على السلالة البكتيرية *Staphylococcus aureus*.

(EX1): المستخلص الميثانولي بطريقة النقع؛ (EX2): المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع؛ (EX3): المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية؛ (EX4): المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

(7) *Staphylococcus aureus*.



الشكل (13): متوسط الأقطار التثبيطية بـ (mm) للسلالات البكتيرية المختبرة للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

من خلال النتائج المدرجة في الشكل (13) والوثائق المرفقة (14-15-16) لاحظنا أن:

- **مع السلالة البكتيرية *E-coli*:**

أظهر المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية أحسن أقطار تثبيطية، حيث سجل أعلى قطر تثبيطي 16 mm عند التركيز 1 mg/ml وتراوحت باقي الأقطار التثبيطية بين (13-15 mm) ويليه المستخلص الميثانولي بطريقة النقع والذي تراوحت أقطاره بين (12.7-14 mm) بينما أظهرت السلالة حساسية متوسطة للمستخلص الميثانولي بطريقة الامواج فوق الصوتية والمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع، كما أظهرت السلالة حساسية شديدة للمضادين الحيويين AMC_{30}, AK_{30}, بأقطار تثبيطية 36 mm, 28 mm, على التوالي.

- **السلالة *Pseudomonas aerogenosa*:**

أظهرت السلالة مقاومة شديدة للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع في مختلف التراكيز والمضاد الحيوي AMC_{30}، بينما أبدت حساسية معتبرة للمضاد الحيوي AK_{30} (37 mm) وللمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية إذ تراوحت أقطار التثبيط بين (9.5-14 mm) أما مع المستخلصين الإيثانوليين فأظهرت حساسية متوسطة لهما.

- **السلالة *Staphlococcus aureus*:**

أظهرت السلالة حساسية متوسطة مع التركيز 0.5 mg/ml لكل المستخلصات، بينما التركيزين 1 mg/ml و 2 mg/ml فقد أبدت لهما السلالة حساسية معتبرة تراوحت بين (10-14 mm). أما المضادين الحيويين AMC_{30}, AK_{30}، فقد أظهرت السلالة حساسية شديدة تجاههما إذ كانت الأقطار التثبيطية: 29 mm و47 mm على التوالي.

من وجهة نظر أخرى يمكننا المقارنة بين المستخلصات الأربعة واالتراكيز الثلاثة كالآتي:

- **المستخلص الميثانولي بطريقة النقع:**

أبدت السلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa* مقاومة شديدة لهذا المستخلص حيث لم يتم تسجيل أي أقطار تثبيطية، في حين أظهرت كل من: السلالة *E-coli* حساسية معتبرة مع هذا المستخلص 14 mm عند التركيزين 1 mg/ml و2 mg/ml، أما مع السلالة *Staphlococcus aureus* فقد بلغ أعلى قطر تثبيطي 14 mm عند التركيز 2 mg/ml.

- **المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع:**

أظهرت كل السلالات حساسية متوسطة لهذا المستخلص حيث بلغ أعلى قطر تثبيطي (12 mm) عند التركيز 2 mg/ml مع كل السلالات المختبرة، كما بلغ أدنى قطر تثبيطي 9 mm عند التركيز 0.5 mg/ml مع السلالات الثلاثة المختبرة.

- **المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية:**

أظهر التركيز 2 mg/ml أحسن أقطار تثبيطية 12.5 mm, 13mm, 14 mm للسلالات *Pseudomonas aerogenosa* , *Staphlococcus aureus* و *E- coli* على التوالي، أما أقل قطر تثبيط فقدر بـ 11 mm مع التركيز 0.5 mg/ml مع جميع السلالات البكتيرية المختبرة.

- **المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية:**

أظهرت السلالة *E-coli* مع هذا المستخلص حساسية معتبرة عند التركيز 1 mg/ml بقطر تثبيطي 16 mm و 15 mm عند التركيز 2 mg/ml، كما قدر أعلى قطر تثبيط بـ 13.5 mm مع السلالة *Staphlococcus aureus* عند التركيز 2 mg/ml و11 mm مع السلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa* مع نفس التركيز.

أما عن طرق الإستخلاص فيمكننا ان نستنتج مايلي:

- **المستخلصات بطريقة النقع:**

أظهرت السلالة *E- coli* مع المستخلص الإيثانولي عند التركيز 1 mg/ml أكبر حساسية حيث بلغ طول القطر التثبيطي 16 mm، في حين أظهرت السلالة *E- coli* و*Staphlococcus aureus* حساسية أقل مع المستخلص الميثانولي.

- **المستخلصات بطريقة الأمواج فوق الصوتية:**

أبدت السلالة *Pseudomonas aerogenosa* مع المستخلص الميثانولي حساسية معتبرة إذ بلغ القطر التثبيطي لها 14 mm، أما المستخلص الإيثانولي فان أعلى قطر تثبيطي سجل مع ذات السلالة قدر بـ 11 mm.

من خلال ما سبق يمكن ان نستنتج مايلي:

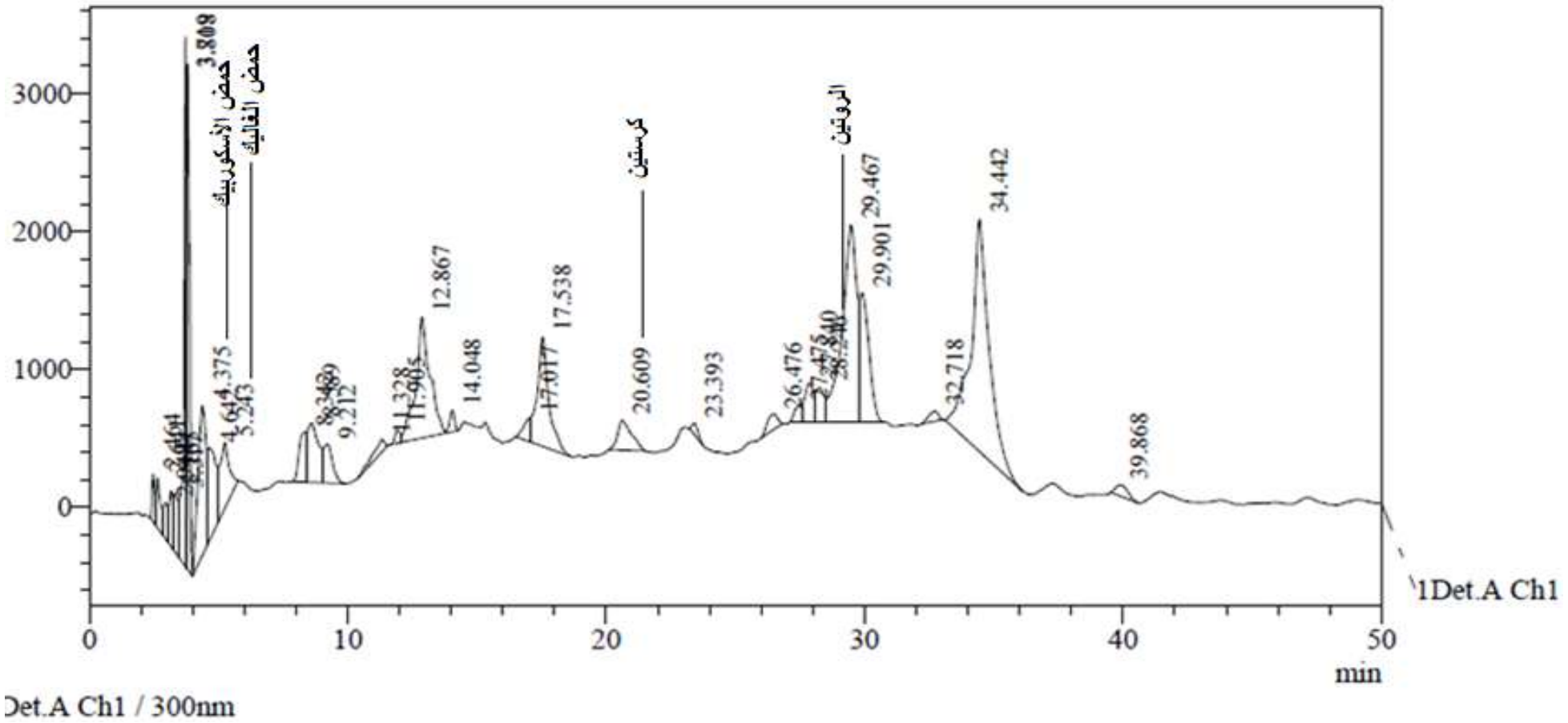
الإستخلاص بطريقة الامواج فوق الصوتية أحسن من حيث الأثر التثبيطي لنمو السلالات البكتيرية المختبرة مقارنة بالإستخلاص عن طريق النقع.

إن المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص كان له الأثر الواضح في النشاطية المضادة للبكتيريا حيث أن المستخلصات الإيثانولية أبدت أقطار تثبيطية معتبرة مقارنة بالأقطار التثبيطية المسجلة مع المستخلصات الميثانولية.

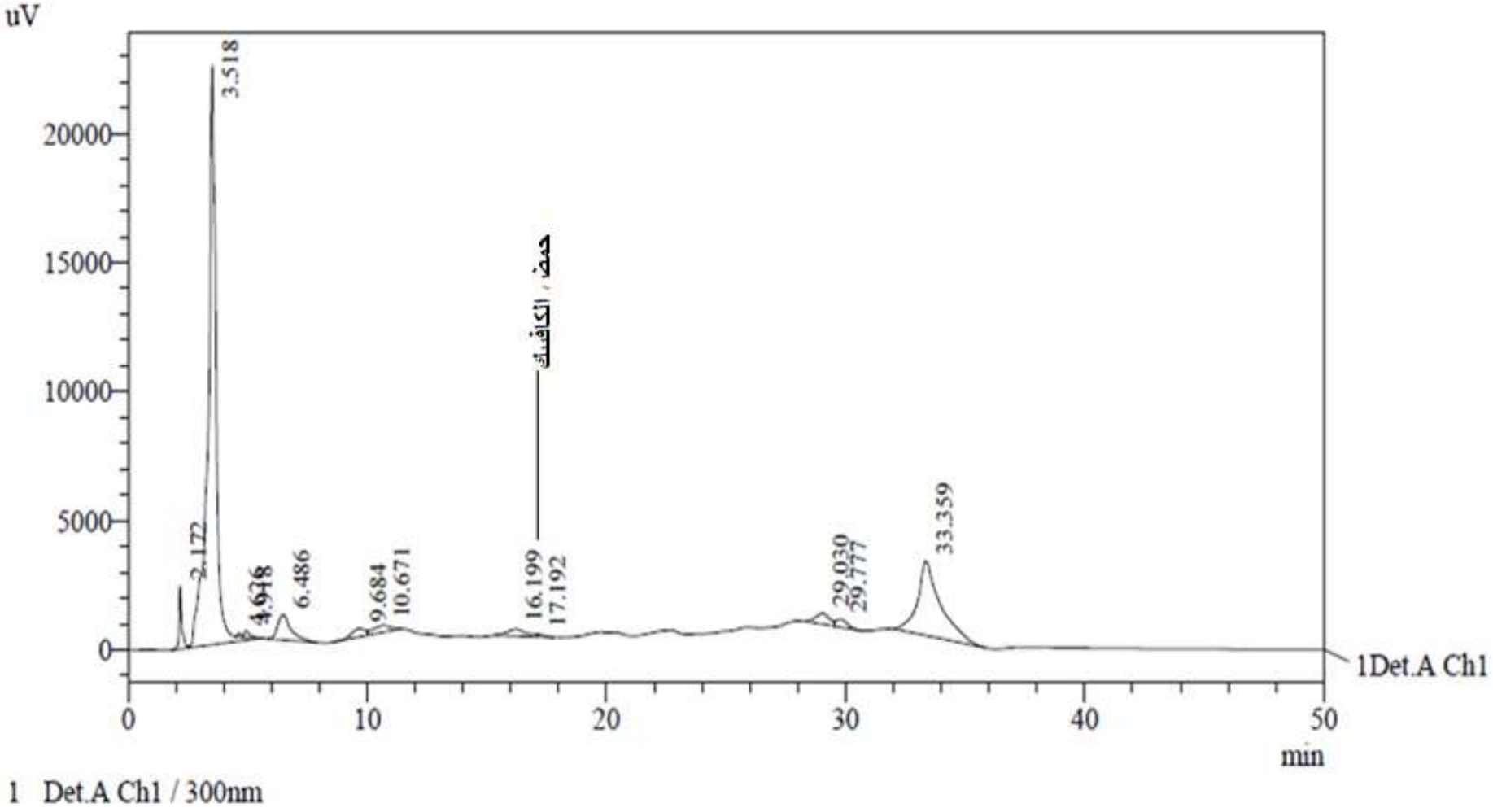
تعد نتائجنا متوافقة مع القيم المتحصل عليها من طرف ALKHALIFAH (2013) والتي قامت بتقدير النشاطية المضادة لنفس السلالات البكتيرية المختبرة مع المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع لأجزاء مختلفة (الأوراق- السيقان والجذور) لنبات الأرطا *Calligonum comosum* L'her. النامية في المملكة العربية السعودية حيث تراوحت الأقطار التثبيطية بين (12.5 mm و 17.5).

1-6- التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات الكحولية عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

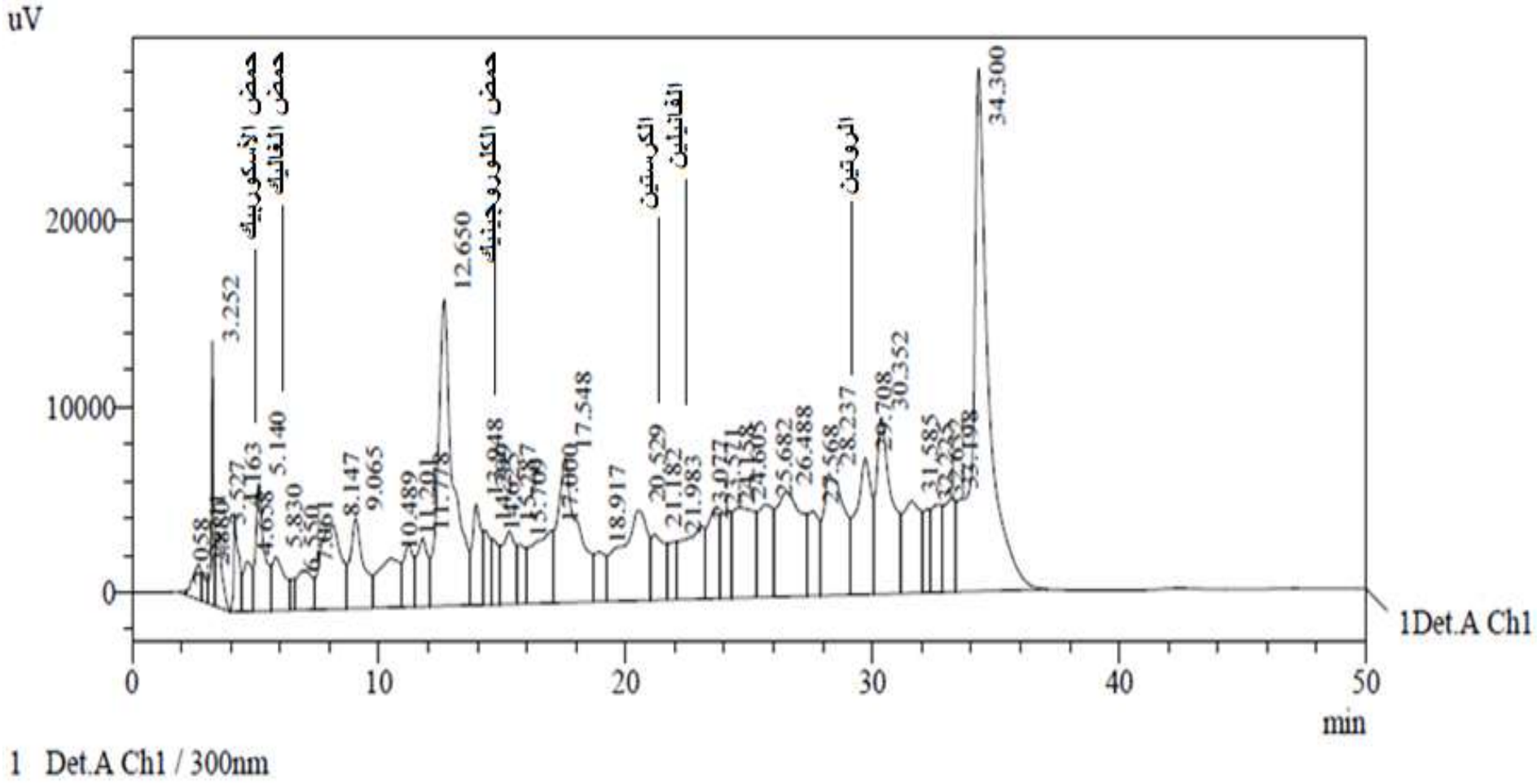
من خلال المنحنيات الكروماتوغرافية المدرجة في الأشكال (14-15-16-17) المتحصل عليها من التحليل النوعي للمستخلصات الكحولية لنبات *Calligonum comosum* L'her. بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الآداء HPLC أظهرت بعض المستخلصات احتوائها على عدة مركبات فينولية كما هو موضح في الجداول (11-12-13-14-15).



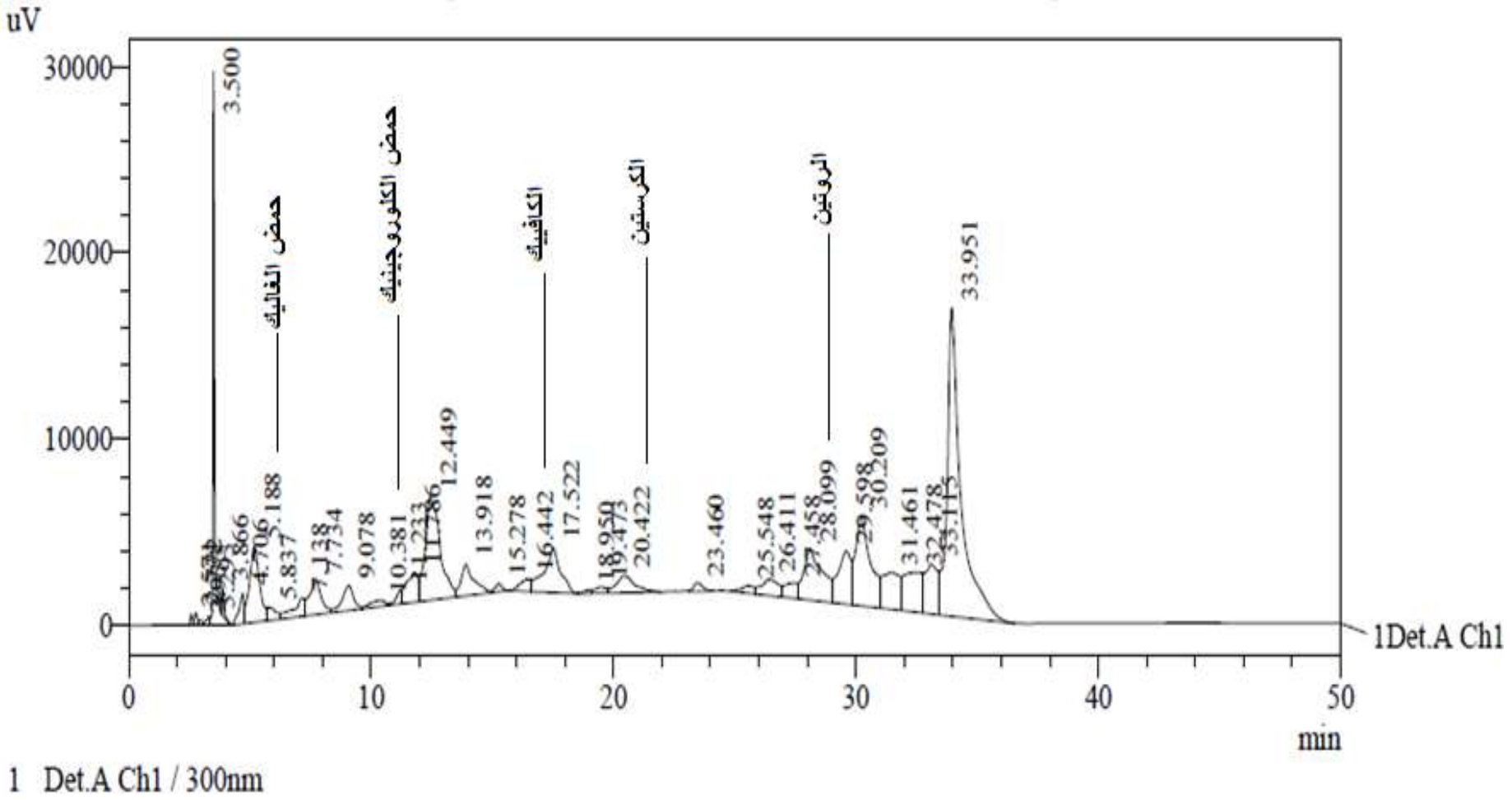
الشكل (14): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع.



الشكل (15): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع.



الشكل (16): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.



الشكل (17): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

الجدول (11): بعض المركبات الفينولية للمستخلص الميثانولي بطريقة النقع وتراكيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area٪	Height٪	اسماء المركبات	تركيز المركب بـ µg/mg d'extrait
1	2.464	2483	345	0.608	1.721	غير معروف	/
2	2.641	4257	360	1.043	1.795	غير معروف	/
3	2.944	2811	261	0.689	1.304	غير معروف	/
4	3.163	4504	404	1.104	2.018	غير معروف	/
5	3.317	5120	423	1.255	2.113	غير معروف	/
6	3.719	27213	3835	6.668	19.142	غير معروف	/
7	3.808	24439	3664	5.988	18.287	غير معروف	/
8	4.375	23342	1086	5.719	5.419	حمض الأسكوربيك	105.037
9	4.642	14171	675	3.472	3.371	غير معروف	/
10	5.243	12203	477	2.990	2.382	حمض الغاليك	0.822
11	8.342	6965	363	1.707	1.813	غير معروف	/
12	8.589	12673	430	3.105	2.146	غير معروف	/
13	9.212	7124	282	1.746	1.410	غير معروف	/
14	11.328	3027	90	0.742	0.449	غير معروف	/
15	11.905	1343	99	0.329	0.492	غير معروف	/
16	12.867	33548	877	8.220	4.377	غير معروف	/
17	14.048	2028	155	0.497	0.775	غير معروف	/
18	17.017	2965	168	0.727	0.838	غير معروف	/
19	17.538	24596	792	6.027	3.953	غير معروف	/
20	20.609	8005	216	1.962	1.080	كرستين	19.775
21	23.393	1334	76	0.327	0.378	غير معروف	/
22	26.476	3218	114	0.788	0.567	غير معروف	/
23	27.475	2499	119	0.612	0.593	غير معروف	/
24	27.840	6158	279	1.509	1.390	غير معروف	/
25	28.246	6061	251	1.485	1.251	الروتين	0.295
26	29.467	55336	1428	13.559	7.127	غير معروف	/
27	29.901	23914	934	5.860	4.662	غير معروف	/
28	32.718	1877	74	0.460	0.368	غير معروف	/
29	34.442	82213	1681	20.145	8.389	غير معروف	/
30	39.868	2682	78	0.657	0.389	غير معروف	/
Total		408110	20035	100.00	100.00		

الجدول (12): بعض المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي بطريقة النقع وتركيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area٪	Height٪	أسماء المركبات	تركيز المركب بـ µg/mg d'extrait
1	2.172	18653	2452	2.186	7.957	غير معروف	/
2	3.518	526239	22447	61.667	72.827	غير معروف	/
3	4.626	1537	147	0.180	0.478	غير معروف	/
4	4.918	4002	253	0.469	0.820	غير معروف	/
5	6.486	38094	983	4.464	3.191	غير معروف	/
6	9.684	12811	313	1.501	1.016	غير معروف	/
7	10.671	14026	258	1.644	0.836	غير معروف	/
8	16.199	14879	260	1.744	0.844	حمض الكافييك	0.205
9	17.192	2069	90	0.242	0.292	غير معروف	/
10	29.030	16975	425	1.989	1.379	غير معروف	/
11	29.777	10136	302	1.188	0.980	غير معروف	/
12	33.359	193933	2892	22.726	9.382	غير معروف	/
Total		853355	30822	100.00	100.00		

الجدول (13): بعض المركبات الفينولية للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية وتركيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area٪	Height٪	أسماء المركبات	تركيز المركب بـ µg/mg d'extrait
1	2.58	1662	125	0.019	0.055	غير معروف	/
2	2.711	44878	1934	0.518	0.845	غير معروف	/
3	2.880	18009	1539	0.208	0.672	غير معروف	/
4	3.252	83271	14205	0.961	6.206	غير معروف	/
5	3.527	66726	4068	0.770	1.777	غير معروف	/
6	4.163	72134	5279	0.833	2.306	حمض الأسكوربيك	33.555
7	4.658	64459	2674	0.744	1.168	غير معروف	/
8	5.140	169853	6897	1.961	3.013	حمض الغاليك	0.7498
9	5.830	106063	2886	1.224	1.261	غير معروف	/
10	6.550	20170	1698	0.233	0.742	غير معروف	/
11	7.061	89487	2089	1.033	0.913	غير معروف	/

12	8.147	265235	4540	3.062	1.984	غير معروف	/
13	9.065	182115	4848	2.102	2.118	غير معروف	/
14	10.489	162634	2642	1.877	1.154	غير معروف	/
15	11.201	91994	3459	1.62	1.511	غير معروف	/
16	11.778	115215	3669	1.330	1.603	غير معروف	/
17	12.650	701680	16502	8.099	7.210	غير معروف	/
18	13.948	135163	5419	1.560	2.368	حمض الكلوروجينيك	0.6158
19	14.299	79717	4007	0.920	1.750	غير معروف	/
20	14.625	65448	3514	0.755	1.535	غير معروف	/
21	15.287	148299	3926	1.712	1.715	غير معروف	/
22	15.709	67022	3202	0.774	1.399	غير معروف	/
23	17.000	226367	3887	2.613	1.698	غير معروف	/
24	17.548	445449	7803	5.142	3.409	غير معروف	/
25	18.917	82849	2671	0.956	1.167	غير معروف	/
26	20.529	375508	4858	4.334	2.122	كرستين	69.0401
27	21.182	132409	3518	1.528	1.537	الفانيلين	1.1616
28	21.983	67641	3101	0.781	1.355	غير معروف	/
29	23.077	238649	3882	2.755	1.696	غير معروف	/
30	23.571	150180	4621	1.733	2.019	غير معروف	/
31	24.158	133544	4655	1.541	2.034	غير معروف	/
32	24.605	285218	4874	3.292	2.129	غير معروف	/
33	25.682	214357	4984	2.474	2.177	غير معروف	/
34	26.488	400617	5636	4.624	2.462	غير معروف	/
35	27.568	139544	4537	1.611	1.982	غير معروف	/
36	28.237	387964	6546	4.478	2.860	الروتين	1.6134
37	29.708	315964	7318	3.647	3.197	غير معروف	/
38	30.352	420375	9506	4.852	4.153	غير معروف	/
39	31.585	242476	4945	2.799	2.161	غير معروف	/
40	32.225	77842	4471	0.898	1.953	غير معروف	/
41	32.632	139485	4730	1.610	2.067	غير معروف	/
42	33.198	163267	5087	1.885	2.223	غير معروف	/
43	34.300	1272621	28146	14.689	12.296	غير معروف	/
Total		8663558	228899	100.000	100.000		

الجدول (14): بعض المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية وتركيز البعض منها بـ µg/mg d'extrait.

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area٪	Height٪	أسماء المركبات	تركيز المركب بـ µg/mg d'extrait
1	2.471	3870	588	0.152	0.62	غير معروف	/
2	2.772	5588	659	0.219	0.695	غير معروف	/
3	2.933	2321	258	0.091	0.272	غير معروف	/
4	3.293	4774	467	0.187	0.493	غير معروف	/
5	3.500	143704	29722	5.627	31.351	غير معروف	/
6	3.866	8017	1481	0.314	1.563	غير معروف	/
7	4.706	23147	1632	0.906	1.721	غير معروف	/
8	5.188	116892	4085	4.577	4.309	حمض الغاليك	0.5256
9	5.837	17370	687	0.680	0.724	غير معروف	/
10	7.138	31218	997	1.222	1.052	غير معروف	/
11	7.734	62512	1764	2.448	1.861	غير معروف	/
12	9.078	43649	1321	1.709	1.394	غير معروف	/
13	10.381	15049	329	0.589	0.347	حمض الكلوروجينيك	0.1605
14	11.233	11684	777	0.458	0.82	غير معروف	/
15	11.786	51810	1592	2.029	1.679	غير معروف	/
16	12.449	235255	5556	9.212	5.861	غير معروف	/
17	13.918	61971	1677	2.427	1.769	غير معروف	/
18	15.278	8516	411	0.333	0.434	غير معروف	/
19	16.442	19668	639	0.770	0.674	الكافييك	0.0271
20	17.522	112442	2403	4.403	2.535	غير معروف	/
21	18.950	3829	181	0.150	0.191	غير معروف	/
22	19.473	10369	340	0.406	0.359	غير معروف	/
23	20.422	48361	913	1.894	0.963	كرستين	9.3417
24	23.460	11551	446	0.452	0.491	غير معروف	/
25	25.548	14194	391	0.556	0.413	غير معروف	/
26	26.411	43145	866	1.689	0.913	غير معروف	/
27	27.458	29747	829	1.165	0.874	غير معروف	/
28	28.099	147119	2767	5.761	2.919	الروتين	0.6145
29	29.598	105978	2844	4.150	3	غير معروف	/
30	30.209	206219	4828	8.075	5.092	غير معروف	/
31	31.461	97317	1998	3.811	2.108	غير معروف	/
32	32.478	108983	2143	4.267	2.26	غير معروف	/

33	33.115	97522	2654	3.819	2.799	غير معروف	/
34	33.951	650026	16539	25.453	17.446	غير معروف	/
Total		2553818	94803	100.000	100.000		

والجدول (15) يلخص تراكيز المركبات الفينولية المعلومة في مختلف المستخلصات الكحولية الأربعة.

جدول (15): تراكيز المركبات الفينولية المعروفة للمستخلصات الميثانولية والإيثانولية بـ µg/mg d'extrait.

	MoH MM	EoH MM	MoH Ul-S	EoH Ul-S
حمض الاسكوربيك	105.037	0	33.555	0
حمض الغاليك	0.822	0	0.7498	0.5256
حمض الكلوروجينيك	0	0	0.3445	0.1605
حمض الكافييك	0	0.205	0	0.0271
كريسيتين	19.775	0	69.0401	9.3417
الفانيلين	0	0	0.1616	0
الروتين	0.295	0	1.6134	0.6145

من خلال النتائج المتحصل عليها من التحليل النوعي للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC والممثلة في المنحنيات الكروماتوغرافية، استطعنا معرفة عدد المركبات لكل مستخلص والممثلة بالقمة (peak)عن طريق مقارنتها بزمن الاستبقاء (الإحتباس أو الظهور) القمة (peak) للمركبات القياسية، ومن هنا نستطيع أن نقارن بين كل مستخلص ونوعية المركبات المعروفة له وتركيزها في المستخلص، مع العلم بأن عدد المركبات الفينولية القياسية لهذه التجربة 07 مركبات وهي حمض الأسكوربيك، حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكرستين، الفانيلين والروتين؛ والنتائج كالآتي:

أعطى المستخلص الميثانولي بطريقة النقع 30 مركب فينولي بنسب متفاوتة من بينهم 04 مركبات معروفة وهي حمض الأسكوربيك، حمض الغاليك، الكرستين و الروتين بتراكيز 0.295 µg/mg d'extrait 19.775 µg/mg d'extrait; 0.822 µg/mg d'extrait; 105.037 µg/mg d'extrait; على التوالي؛ أما المستخلص الإيثانولي بنفس طريقة الإستخلاص فأظهر التحليل النوعي له

وجود 12 مركب فينولي المعروف منها مركب واحد وهو حمض الكافييك بتركيز 0.205 µg/mg d'extrait، وهو المستخلص الأقل من حيث عدد المركبات الفينولية مقارنة بالمستخلصات الأربعة الأخرى، في حين أسفر المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية عن ظهور 43 مركب فينولي من بينهم 06 مركبات معروفة وهي على التوالي حمض الأسكوربيك بتركيز 33.555 µg/mg d'extrait، حمض الغاليك 0.7498 µg/mg d'extrait، حمض الكلوروجينيك 0.615 µg/mg d'extrait، الكرستين 69.0401 µg/mg d'extrait و الفانيلين 1.1616 µg/mg d'extrait، وهو المستخلص الأكثر من حيث عدد المركبات الفينولية المعروفة منها وغير المعروفة. أما عن التحليل النوعي للمستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية فسجلنا 34 قمة (peak) ممثلة لـ 34 مركب فينولي المعلوم منها: حمض الغاليك وحمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكرستين والروتين بتركيز 0.5256 µg/mg d'extrait، 0.1605 µg/mg d'extrait، 0.0271 µg/mg d'extrait، 9.3417 µg/mg d'extrait و 0.6145 µg/mg d'extrait على التوالي.

- ظهور حمض الأسكوربيك في المستخلصات الميثانولية فقط بتركيز 105.037 µg/mg d'extrait لمستخلص طريقة النقع وتركيز 33.555 µg/mg d'extrait لمستخلص الأمواج فوق الصوتية.

- ظهور حمض الكافييك في المستخلصات الإيثانولية فقط بتركيز 0.205 µg/mg d'extrait في المستخلص بطريقة النقع و0.0271 µg/mg d'extrait في المستخلص بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

- ظهور حمض الكلوروجينيك في كلا المستخلصين بطريقة الأمواج فوق الصوتية بتراكيز 0.3445 µg/mg d'extrait للمستخلص الميثانولي و 0.1605 µg/mg d'extrait للمستخلص الإيثانولي.

- أما في ما يخص حمض الغاليك، كرستين والروتين فقد سجل ظهورهم في كل المستخلصات ماعدا في المستخلص الإيثانولي بطريقة النقع، في حين أبدت هذه المركبات تراكيز أعلى في المستخلصات الميثانولية بطريقة الأمواج فوق الصوتية، ماعدا حمض الغاليك فقد أعطى تركيز متقارب مع مستخلص بطريقة النقع لنفس المذيب (الميثانولي).

2- المناقشة:

- تعتبر الفلافونيدات من المركبات التي تلعب دور دفاعيا، فوجودها في النبات يمكن أن يفسر بأنها نوع من أنواع مضادات الأكسدة (كانسات الجذور الحرة OH) (PINCEMAIL *et al*., 1986)، وهي مواد تقي النبات من البكتيريا (GRYGLESKI *et al*., 1987)، وتمتلك أيضا خاصية مضادة للفيروسات والميكروبات (SHIJLEM, 2007; JEFFREY and CHRISTINE, 1992).
  - يزيد انتاج الفلافونيدات من طرف النبات لمقاومة الإجهاد الحراري والمائي المعرض له، حيث أن الإجهاد هو المسؤول عن انتشار الجذور الحرة OH (PINCEMAIL *et al*., 1986).
- يفسر وجود المركبات المرجعة لكونها عبارة عن سكريات بسيطة ينتجها النبات أثناء عمليات الأيض الأولي، والتي يستخدمها في عمليات البناء وفي عمليات الأيض الثانوي (هيكل وعمر، 1993).
  - إن وجود السكريات البسيطة المرجعة ترتبط مباشرة بتكوين الغليكوزيدات وتحللها، فوجودها إذا في النبات هو نتيجة لوجود الغليكوزيدات كما أنها تعتبر مواد مخزنة يستعملها النبات في مراحل نموه (هيكل وعمر، 1993).
- للتانينات دور هام في النبات فهي تتواجد عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق والسيقان (منصور، 2006). وتعتبر كمضادات للأكسدة في النبات لأنها ضمن مجموعة عديدات الفينول (FULLER, 2004).
  - تلعب التانينات دور مواد فينولية مطهرة، تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة وتحافظ على حياته، ونظرا لكون نبات الأرطى من النباتات المعمرة والتي تنمو في الظروف البيئية الصعبة فتواجدها ضروري لحماية النبات (شويخ، 2004).
  - لها خاصية جذب الأوكسجين لإحتوائها على الفينول وبالتالي لها وظيفة تنفسية لزيادة قدرة النبات للحصول على الأوكسجين (VERMERRIS and NICHOLSON, 2008؛ حجاوي وآخرون، 2009؛ معيوف وآخرون، 2012).
- يفسر وجود الأنتوسيانينات في النبات بكونها:
  - تعتبر من مضادات للأكسدة لأنها من عديدات الفينول (PINCEMAIL *et al*., 1986).
  - لها دور في مقاومة الإجهادات البيئية، كما تعتبر مواد منفرة للحيوانات الرعوية حيث تعطي اللون المحمر للنبات، كما تلعب دور حماية النبات خاصة من البكتيريا موجبة الغرام (KANOUN, 2010; CHYNIER *and al*., 1998).

- تؤدي دور في جذب الحشرات لنشر حبوب الطلع لتلقيح الأزهار، وبالتالي فهي ذات قيمة كبيرة في تطور العلاقة المشتركة بين النبات والحيوان وذلك من خلال اللون الذي يعطيه النبات.

(GOULD, 2009; HARBONE, 1973)

- يفسر غياب القلويدات في نبات الأرطى الرعوي بكونها مواد سامة ضارة بالحيوانات آكلات الأعشاب. (أبو زيد، 1986؛ المريقي، 2005)
- وجود الستيرولات والتربينات الثلاثية يفسر على أن النبات ينتج هذه المادة لتوفر الأنسجة الخاصة كالخلايا الغدية والقنوات الزيتية (BABA AMER, 2013).
- ربما يعود وجود الصابونوزيدات في النبات إلى المرحلة العمرية للنبات (الخضرية) لكونها مواد مرة الطعم تعمل على طرد الحيوانات آكلات الأعشاب لإستمرار مراحل النمو (علاوي، 2003).
- من خلال النتائج المتحصل عليها من جهة النظر الكمية، فإنه من المهم أن نؤكد أن نوع المذيب وطريقة وشروط الإستخلاص (البارد - الساخن) تلعب دورا في تحديد مردود المستخلص (NAJJAA *et al*., 2011 ; LEE *et al*., 2003).
- يرجع سبب هذا الاختلاف في كمية عديدات الفينولات بين المستخلصات الكحولية بطريقتي الأمواج فوق الصوتية والنقع إلى:

طبيعة المركبات الفينولية (CALI *et al*., 2004) من جهة؛ وإلى التركيب الكيميائي للمركبات الفينولية للعينات (HAYOUNI *et al*., 2007)، إذ أن الاستخلاص عن طريق النقع هي الطريقة الوحيدة المستعملة لاستخراج الجزيئات الهشة (BEN AMOR, 2008).

- إن النتائج المتحصل من التقدير الكمي للفلافونيدات تؤكد أن نوع المذيب وطريقة وشروط الإستخلاص تلعب دورا هاما في كمية الفلافونيدات كما أكد ذلك كل من NAJJAA ورفقاؤه (2011) و LEE وزملاؤه (2003).
- إن الزيادة الحاصلة في الفعالية المضادة للأكسدة ترجع إلى بنية ونوعية المركبات الفينولية وتركيز وكمية هذه المركبات داخل الأنسجة النباتية (RICE-EVANS *et al*., 1997).
- كما يفسر الفرق في النشاط المضاد للأكسدة بين العينات باختلاف السلوك في إعطاء البروتون والإلكترون (MILIAUSKAS *et al*., 2004).
- يمكن أن يعود الاختلاف في النشاطية المضادة للبكتيريا إلى نوعية وكمية المركبات المستخلصة وذلك باختلاف طرق الاستخلاص والمذيبات المستخدمة (IVANA, 2011).

- تحتوي النباتات على العديد من المركبات التي لها تأثير على النشاطية المضادة للبكتيريا ومن أهمها المركبات الفينولية والفلافونيدات والتربينات الثلاثية. (ROJAS *et al*., 1992).
- يفسر تأثير النشاطية المضادة للبكتيريا بامتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفينولية وتفاعلها مع الإنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية (DHAOUADI *et al*., 2010).
- إن الاختلاف في الحساسية مع تراكيز المستخلصات بين السلالات البكتيرية موجبة الغرام وسالبة الغرام يعود للاختلاف في بنية وتركيبة وطبيعة جدار الخلية البكتيرية بين النوعين (LAMBERT, 2002) وفي وجود Lipopolysaccharides التي يحتويها الغشاء الخارجي للبكتيريا سالبة الغرام (DZIRI, 2012).
- النشاطية البكتيرية المسجلة للمستخلصات الكحولية يمكن أن تفسر بما أقترحه GHAZANFAE (1994) و(2000) KAMIL وزملاءه بعلاقة المركبات العضوية في المستخلصات على غرار anthroquinones وflavanoides والتي تم إثبات وجودهما في النبات من طرف الباحثين السابقين.

• من خلال النتائج المتحصل عليها من التحليل النوعي للمستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC والممثلة بمنحنيات كروماتوغرافية نستنتج أن:

- من خلال النتائج المتحصل عليها للمركبين الفينوليين حمض الأسكوربيك وحمض الكافييك يمكن أن يعود ظهورهما إلى خصائص المذيبين (الميثانولي بالنسبة لحمض الأسكوربيك والإيثانولي بالنسبة لحمض الكافييك) أما من جهة النظر إلى التراكيز فإن طريقة النقع أعطت تراكيز أعلى لهذه المركبات.

- إن ظهور مركب الفانيلين في المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية فقط، يرجع ذلك إلى خصائص المذيب وطريقة الإستخلاص على حد سواء.

- قد يعود ظهور حمض الكلوروجينيك في كلا المستخلصين بطريقة الأمواج فوق الصوتية إلى طريقة الإستخلاص (الأمواج فوق الصوتية).

- إن ظهور المركبات: حمض الغاليك، الكرستين والروتين في بعض المستخلصات دون غيرها قد يرجع إلى طريقة الإستخلاص ونوع المذيب على حد سواء.

من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح أن هناك تناسب طردي بين محتوى المستخلصات من عديدات الفينول والفلافونيدات والتأثير التثبيطي للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)،

فقد أظهر المستخلص الإيثانولي المحتوي على كمية كبيرة من عديدات الفينول والفلافونيدات أعلى تأثير إزاحي لجذر الـ $DPPH^{\bullet}$ وأكبر قيم للقدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT، حيث تقوم الفلافنويدات بالتأثير المضاد للأكسدة بمنح الإلكترونات للجذور الحرة لتشكيل مركبات أكثر استقرار وأقل فعالية وذلك لإحتوائها على مجاميع الهيدروكسيل (AMIE *et al*., 2003)، بالإضافة إلى النشاطية المضادة للأكسدة فإن للفلافونيدات خصائص أخرى مضادة للبكتيريا، الفيروسات، السرطانات، الحساسية وضد الإلتهابات. (DI CORLO *et al*., 1991 ;HAVSTENN., 1983).

الخاتمـــــــــة

الخاتمـــــــــة:

يهدف عملنا هذا إلى المساهمة في دراسة فيتوكيميائية من خلال تأثير طريقة الاستخلاص (النقع، الأمواج فوق الصوتية) على المحتوى الكمي من عديدات الفينول والفعالية المضادة للأكسدة ودراسة النشاطية البكتيرية للمستخلص الإيثانولي والميثانولي لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her.

قبل الشروع في عمليات الإستخلاص وتقدير النشاطية البيولوجية قمنا بالكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبات من خلال عمليات التلوين والترسيب والتي أسفرت عن وجود كل من الفلافونيدات، الأنثوسيانين، التانينات الكاتيشية، المركبات المرجعة، الصابونوزيدات، الستيرولات والتربينات الثلاثية وغياب كل من التانينات القاليكية والقلويدات.

بعد الكشف الكيميائي قمنا بإستخلاص المواد الفعالة من النبات بإستعمال مذيبين مختلفين(الميثانول والإيثانول) بطريقتي النقع والأمواج فوق الصوتية تمكنا من خلال ذلك من تقدير مردود المستخلصات الكحولية حيث أعطى المستخلص الميثانولي مردود معتبر مقارنة بالمستخلص الايثانولي وأما بالنسبة لطرق الإستخلاص فقد تفوقت طريقة الأمواج فوق الصوتية في نسبة المردود على طريقة النقع في كلا المذيبين (الميثانول والإيثانول).

ولغرض المقارنة بين المستخلصات الأربعة (EoH MM, EoH Ul-S, MoH MM, MoH Ul-S) قمنا:

أولا بالتقدير الكمي لمتعددات الفينول بإتباع طريقة Singleton and Rossi وإستخدام كاشف Folin حيث أعطت المستخلصات الإيثانولية قيم جد عالية من عديدات الفينول

(175.75 ± 64.29 mg AG E/g Matière Sèche و 173.24 ± 56.73 mg AG E/g Matière Sèche) مقارنة بالمستخلصات الميثانولية (3.28 ± 0.204 mg AG E/g Matière Sèche و1.55 ± 0.32 mg AG E/g Matière Sèche)، مع تفوق طريقة الإستخلاص بالنقع في كمية عديدات الفينول على طريقة الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية مع كلتا المذيبين؛ كما تمكنا من التقدير الكمي للفلافونيدات بإستخدام $AlCl_3$ حيث بينت النتائج أن المستخلصات الإيثانولية تحتوي على قيم مرتفعة من كمية الفلافونيدات والتي قدرت بـ (38.59 ± 1.89 mg QE/g Matière Sèche) و (32.97 ± 7.78 mg QE/g Matière Sèche) مقارنة مع المستخلصات الميثانولية التي بلغت قيمتها

(1.19 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche) و (0.51 ± 0.14 mg QE/g Matière Sèche)، ومن خلال المقارنة بين طرق الإستخلاص فقد تفوقت طريقة الإستخلاص بالنقع عن طريقة الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية في كلا المذيبين في التقدير الكمي للفلافونيدات.

ثانيا قمنا بتقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الكحولية باستعمال اختباري: القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) عن طريق جذر الفوسفومولوبيدات إذ بينت النتائج مع هذا الاختبار أن المستخلصات الإيثانولية أعطت قيما للقدرة الكلية المضادة للأكسدة أعلى من المستخلصات الميثانولية (596.83 ± 78.24 mg AG E/g Extrait، 511.22 ± 75.30 mg AG E/g Extrait) و (275.41 ± 23.77 mg AG E/g Extrait، 231.59 ± 38.58 mg AG E/g Extrait) على التوالي، كما سجلنا من خلال المقارنة بين طريقتي الإستخلاص تفوق طريقة الإستخلاص بالنقع عن طريقة الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية مرة أخرى في القدرة الكلية المضادة للأكسدة.

أما الإختبار الثاني المضاد للأكسدة والذي أجري عن طريق إختبار إقتناص الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ فأظهر أن للمستخلصات الإيثانولية تأثير تثبيطي معتبر للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ مقارنة بالمستخلصات الميثانولية عند التركيز (0.01 mg/ml) حيث بلغت أقصى نسب تثبيط الجذر الحر القيم (69.42 %، 60.00 %) لطريقة الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية وطريقة النقع على التوالي.

ثالثا بدراسة النشاطية ضد البكتيرية للمستخلصات الكحولية على ثلاث سلالات بكتيرية

(*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aerogenosa*) باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص، حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلصات الكحولية لنبات الأرطى *Calligonum comosum* L'her. له فعالية بيولوجية معتبرة اتجاه السلالتين البكتيريين *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* مقارنة بالسلالة البكتيرية *Pseudomonas aerogenosa*، وذلك من خلال تسجيل أقطار تثبيط معتبرة

(11 mm- 13.5 mm- 16 mm) على الترتيب، كما أبدى المستخلص الإيثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية أحسن أقطار تثبيط مقارنة مع باقي المستخلصات الأخرى.

رابعا وللتعرف على بعض المركبات الفينولية في المستخلصات الإيثانولية والميثانولية للنبات قمنا بالتحليل النوعي للمستخلصات بإستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) حيث سجلنا وجود بعض المركبات على غرار حمض الأسكوربيك، حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكريسيتين، الفانيلين والروتين وبتراكيز معتبرة خاصة عند المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

الخاتمـــــــة:

وفي الأخير ومن خلال استقراء النتائج المتحصل عليها التي تؤهل النبات ليكون من النباتات الطبية علاوة على كونه نبات رعوي بامتياز، إذ نوصي أولا بالحفاظ على الأوساط الطبيعية للنبات، وثانيا نوصي في المستقبل القريب بالدراسة التحليلية الكمية والنوعية للمركبات الفعالة في النبات من خلال التعرف على تركيبها الجزيئي وتتبع مسارات تكوينها داخل أعضاء وأنسجة النبات.

المـــراجـــع

- **المذكـــــــرات:**

1. برحال ج.، 2010- فصل وتحديد المنتوجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريزيدية (Resedaceae).مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 200 ص.

2. بن سلامة ع.ر.، 2012- النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق .*Hertia cheirifolial* L . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 90 ص.

3. بن عاشورة ص.ب.، 2007- الفاعلية المضادة للأكسدة للزيوت الطيارة والمركبات الفينولية. مذكرة ماجستير في الهندسة الكيميائية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 100 ص.

4. بن مرعاش ع.، 2012- دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة *Convolvulus supinus* Coss.et Kral.(Convolvulaceae). مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية ، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 136ص.

5. بوالقندول ر.، 2011- الدور الوقائي لبعض المستخلصات الفلافونيدية ضد الالتهاب الكبدي المحرض بالباراسيتامول لدى الجرذان. مذكرة ماجستير في فيزيولوجيا أمراض الخلية، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 93 ص.

6. بوبلوطة ح.، 2009- النشاط المضاد للتأكسد وامكانية وقاية المستخلصين الميثانوليين لنبتتي *Matricaria pubecens* و *Centaurea incana* على السمية الكبدية. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في علم التسمم الخلوي والجزيئي، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 194ص.

7. بوقافلة ر.، 2013- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia inermis* لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر في الكيمياء التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 78 ص.

8. جرموني م.،2009- النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium* . مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 95 ص.

9. جيدل ص.، 2009- تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستعملة تقليديا في علاج اظطرابات الجهاز الهضمي وارتفاع ضغط الدم. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 101 ص.

10. حوة إ.، 2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية وفيزيوكيمياء الجزيئات، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 109 ص.

11. شويخ ع.، 2004- تعداد النباتات الطبية في ولايتي أم البواقي والوادي. مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا في بيولوجيا النبات، المركز الجامعي أم البواقي، الجزائر، ص: 10- 40.

12. الصديق ق.، 2011- دراسة كهروكيميائية لفينولات نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر في الكيمياء التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 78ص.

13. العابد إ.، 2009- دراسة الفعالية المضاد للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum* مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، 106ص.

14. علاوي م.، 2003- مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث *Haloxyonscoparium* . مذكرة لنيل شهادة الماجستيرفي الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة ورقلة، الجزائر، ص: 6-11.

15. عمر ل.، 2010- دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح *Artemisia herba alba* Asoo. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في تثمين الموارد النباتية، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 90 ص.

16. عمراني أ.، 2013- دور فيتامين C, E والمستخلص البوتانولي لنباتي *Rhantherium suaveolens* و *Chrysanthemum fontanesii* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium valproate لدى الفئران الحوامل، دراسة In vivo و In vitro. مذكرة لنيل شهادة دكتورة العلوم في بيولوجيا وفيزيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة، الجزائر، 149 ص.

17. لطرش ع.،2011- دراسة الدور الوقائي لكل من فيتامين (E) وبعض المستخلصات النباتية اتجاه سمية مبيد كلوروبيريفوس. مذكرة لنيل شهادة ماجستير في فيزيولوجيا أمراض الخلية، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 125 ص.

18. معيوف أ. نسالي م. يحياوي م.، 2012- الأهمية العلاجية للزيوت الطيارة في النباتات الطبية العطرية. مذكرة لنيل شهادة استاذ التعليم الثانوي، المدرسة العليا للأساتذة القبة، الجزائر، ص: 26- 53.

19. نسرين ب.ع.، 2009- العلاقة بين محتوى الأغذية من مضادات الأكسدة والحالة الصحية للحوامل. مذكرة لنيل شهادة ماجستير في التغذية العامة، جامعة أم القرى مكة، السعودية، 177 ص.

المراجـــــــــع:

● الكتـــــب:

1. أبو زيد ش.، 1986- النباتات و الأعشاب الطبية. مكتبة مدبولي، دار البحار، القاهرة، ص: 122-137.

2. حجاوي غ. المسيمي ح. قاسم ر.، 2009- علم العقاقير والنباتات الطبية. دار الثقافة للنشر والتوزيع، بيروت، لبنان، ص: 126-129، 253-257.

3. حليس ي.، 2007- الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار الوليد - الوادي، الجزائر، 248 ص.

4. الشيمي ن. المنياوي م.، 1988- أسس التغذية وتقييم الحالة الغذائية. الطبعة الأولى، دار البيان العربي للطباعة والنشر، جدة، المملكة العربية السعودي، ص: 72- 236.

5. عبد الحسن س.، 2001- كيمياء الجذور الحرة. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة. عمان، الأردن، 192 ص.

6. المريقي أ.، 2005- كيمياء نباتات البساتين. جامعة الإسكندرية ،مصر، ص: 107- 106.

7. منصور ح.، 2006- النباتات الطبية العلمية وصفها مكوناتها طرق استعمالها وزراعته. جامعة الزقازيق، القاهرة، مصر، ص: 355-365، 367-370.

8. هيكل م. عمر ع.، 1993- النباتات الطبية والعطرية (كيمياؤها- انتاجها- فوائدها). الطبعة الثانية، دار منشأة المعارف، الإسكندرية، مصر، ص: 13-16، 90-99، 239-510.

9. وائل غ. م.، 2008- أسس الكيمياء العضوية. دار الكتب الوطنية، بنغازي، ليبيا، 296 ص.

المراجـــــــــع:

- **المقـــــالات:**

1. بشرى ب.، 2003- التغذية والصحة الادارة العامة للتغذية بوزارة الصحة السعودية. مجلة منظمة الصحة العالمية، المجلد (2)، العدد (1).

2. ريدة أ. س.، 1999- الجذور الحرة. جملة مضادات المؤكسدات وداء التهاب المفاصل الرثياني، مجلة جامعة دمشق المجلد (15) العدد (2).

3. عبد الباري ن.م. و عادل جبار ي.م.م.، 2011- عزل وتشخيص جرثومة *Staphylococcus aureus* من الأشخاص المصابين بأمراض معوية وتنفسية في محافظة المثنى وفحص المقاومة الميكروبية اتجاه المضادات الحيوية. مجلة أوروك للأبحاث العلمية المجلد (4) العدد (1).

● Les Mémoires:

1. BABA AMER Z., 2013- Chemical constituents of flora of Algeria chemical constituentes of *Pergularia tomentosa* L. Memoire doctorat science in chemistry, University Kasdi Merbah, Ouargla, Agerie, 131 p.

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

3. BEN AMOR B., 2008- Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée DIC. Thèse de doctorat en Génie des Procédés Industriels. Université de la Rochelle. France. pp. 187.

4. BEN KHERARA S., 2010- Activite bactericide des huiles essentielle et des flavonoides esoles d'une plante medicinale du nord-est, Algerian :la souge officinale L, Mémoire Magistère, faculte des science université Badji-Mokhtar ,Annaba, Algérie, p:106.

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

6. HARRAR A.E.N., 2012- Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Memoire Magister en biochimie et physiologie expérimentale, Université Farhat Abbas-Sétif, Algérie, 95 p.

7. KANOUN K., 2010- Contribution à l'étude phytochimique et activite antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L.(Rayhane) de la region de themcem (Honaine) .Mémoire Magister en substance naturelles, activités biologiques et synthése ,Université Aboubeker Belkaid Tlemcen , Algérie, 86 p.

8. MILANE H., 2004- La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; étude s et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat . Université Louis Pasteur Strasbourg, France, 268 p.

● Les Livres:

1. AUDIGIE C.L., DUPON G. et ZONSGAIN F. 1995- Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2 ème éd., Doin, Paris, France, p 44.

2. BEAUDEUX J.L. and DOMINIQUE B.R., 2005- Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques .Edition médicales. Internationales, Paris, France, 550 p.

3. BERCHE P., GAILLARD J.L., SIMONET M., 1988- Bactériologie, les bactéries des infections humaines. Ed Flammarion Médecine-Sciences, Paris, France, 660 p.

4. BOIZOT N., CHARPENTIER J.P., 2006- Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques. INRA, Alger, Algérie, 79-82.

5. BOTINEAU M., 2010- Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Editions TEC et DOC, Paris, France, 397 p.

6. COMBIER H., JAY M., VOIRIN B., LEBRETON P., 1974- Influence des -6 (et/ ou) des -8 substitution sur la comportement spectrométrique et chromatographique des flavonoides Assemblée du (Groupe polyphénols). Lyon, France.

7. COREY R.G., 2009- *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infection: Definition and Treatment. Duke University Medical Center. Durham, North Carolina, USA, 259 p.

8. DEBRAYB M., JACQUEMIN H., RAZAFINDRAMBO R., 1971- Travaux et documents de l'Orstom. Paris, France, N°8.

9. EDEAS M., 2006- Les antioxydants. Nanterre France.

10. FOLLEY J.P. and CROWN J.A. 1991- Supercritical fluid chromatography for the analysis of natural products. Recent advances in phytochemistry, Editon, Helen A., Stattford, USA, Vol 25, 113 p.

11. GHAZANFAR S.A., 1994- Medicinal and aromatic plants Arabia and Iran. Ed, CRC Press UK, Vol 2, 173 p.

12. GOULD K., 2009- Anthocyanine biosynthesis and function and application. Springer, NEW York, USA, 325p.

13. GRYGLEWSKI R.J., KORBUT R and SWIES J.,1987- Biochemie. Pharmcol. 36-317.

14. HALLIWELL B. and GUTTERIDGE J.M.C., 1999- Free radical in biology and medicine, 3rd Edition. Oxford University Press, New York, USA, 325p.

15. HARBORNE J.B., 1973- Phytochemical méthode. Chapman et hall, London, UK, 295p.

16. HARBORNE J.B., 1994- Phenolic. In: Natural procuccts: their chemistry and biological significance. Eds Mann J., Davidson R.S., Hobbs J B., London, UK, chap.6, p: 361-388.

17. HASLAM E., 1993- Polyphenol comlexation. In "polyphenolic phenomena" .Ed. scalbert A. INRA (Paris), France, p: 23-31.

18. JEFFREY B H. and CHRISTINE A W., 1992- Advances in flavonoid research since1992 .Elsevies science LTD. Japon, Vol 55: 481-504 p.

19. KUNSCH C. and CHEN X., 2007- Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular diseases. In: Antioxidants cardiovascular disease. Ed . Bourassa. M.G and Tardif .J.C, 103-130 p.

20. MAIRE R. QUEZEL P., 1961- Flore de l'afrique du nord, Editions paul lechevalier, Paris, France, 328 p.

21. MESSAILI B., 1995- Botanique systématique des spermaphytes. Office des puplications universitaire, Alger, Algérie, 89 p.

22. OZENDA P., 1977- Flore de sahara .CNRS , 2éme Édition, Paris, France, 622 p.

23. PARIS R. et MOYSE H., 1969- Précis de matière médicinale. Ed :Masson, Paris, France,Pp 148.

24. QUEZEL P. et SENTA S., 1963- Nouvelle flore de l'algerie et des régions désertique méridinales. Tome 2, CNRS, Paris, France, 1168 p.

25. SHIJLEM E., 2007- Genetic engineeriny of flavonoid biosynthesis in tomato.MVA2-DARE, Amstesdam, 161p.

26. TREASE E. et EVANS W.C ., 1987- Pharmacognosie, Billiaire Tindall, 13th Edition London, UK, 61-62 p.

27. VERMERRIS W. and NICHOLSON R., 2008- Phenolic compound biochemistry. Spinger science + Business Media, Florida, USA, 267p.

● Les Articles:

1. ABDALLAH H.M.I., ASAAD G.F, ARBID M.S., ABDEL-SATTAR E.A., 2014- Anti-inflammatory, Antinociceptive, Antipyretic and Gastroprotective Effects of *Calligonum comosum* in Rats and Mice. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 6 (2): 26-33

2. ALKHALIFAH D.H.M., 2013- In-vitro antibacterial activity of ethanol extract of *Calligonum comosum* plant against four human pathogens in saudi Arabia. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciencesi*. 3 (4): 170 -175.

3. ALLARD J., ROYALL D., KURIAN R., MUGGLI R., JEEJEE BHOY K., 1994- Effects of β-carotene antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican supplementation on lipid peroxidation in humans, *Amj Clim Nutr*. 59: 884 – 90.

4. AMIÉ D., DAVIDOVIE-AMI D., BESLO D., TRINAJSTIÉ N., 2003- Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croat Chem Acta*. 76 (1): 55-61.

5. ARDESTANI A. and YAZDANPARAST R., 2007- Nhibitory efects of ethyl acetate extract of *Teucrium polium* on in vitro protein glycoxidation. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 2402-2411.

6. BADRIA F.A., AMEEN M., AKL R.M, 2007- Evaluation of Cytotoxic Compounds from *Calligonum comosum* L. Growing in Egypt. *Z Naturforsch*. 62: 656-660.

7. BIESALSKI H.K., HEMMES C., HOPFENMALLER W., SCHMID C., GOLLNICK H.P., 1996- Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of β-carotene, *Free Radio Res*. 24: 215-224.

8. BINNEFONT-ROUSSELOT D., THEROND P., DELATTRE J., 2003- Radicaux libres et anti-oxydants. *Curr*. *Med*. *Chem*. 9, 195–217.

9. BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 28: 25-30.

10. CADET T.J., BELLON S., BERGER M., BOURDAT A.G., DOUKI T., DUARTE V., FRELON S., GASPARUTTO D., MULLER E., RAVANAT J.I., SALVAIGO S., 2002- Recent aspects of oxidative DAN damage: guanine lisions, measurement and substrate specificity of DNA repairglycosylase. *biolchem*. 383: 1-93.

11. CALI Y.Z., LUO Q., SUN M. and CORKE H. 2004- Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*. 74: 2157-2184.

12. CHOWDHURY A., SANTRA A., BHATTACHARJEE K., GHATAK S., SAHA D.R., DHALI G.K., 2006- Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice. *J Hepatol*. 45(1): 117-126 .

13. CHYNIER W. and SOUQUET J.M. and SOUQUET J.M. and FUNLCRAND H and SARNI P. and MOUTOUNET M., 1998- Stabilisation tannins- anthocyanes donnees generals. CRC, USA. 145 p.

14. DAY B.J., 2009- Catalase and glutathione peroxidase mimics. *Biochem Pharmacol*. 77: 285-296.

15. DESAI P.B., MANJUNATH S., KADI S., CHETANA K. and VANISHREE J., 2010- Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in rheumatoid arthritis: a case control study. *Eur Rev Med PharmacolSci*. 14: 959-967.

16. DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJON E., VILANOVA E., HAMDAOUI M. and FATTOUCH S., 2010- Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem*. 59: 402-406.

17. DI CARLO G., MASCOLO N., IZZO A.A., CAPASSO F., 1991- Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci*. 65: 337-353.

18. DZIRI S., HASSEN I., FATNASSI S., MRABET Y., CASABIANCA H., HANCHI B., HOSNI K., 2012- Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. odoratissimum). *Journal of Functional Foods*. 4: 423- 432.

19.FlAVIER A., 1997- Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin*. 55, 9-16.

20.FLAVIER A., 2003- Le stress oxidant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.

21. FLOHE L. and URSINI F., 2008- Peroxidase: a term of many meanings. *Antioxid Redox Signal*. 10: 1485-1490.

22. FU S., DAVIES M.J., STOCKER R., DEAN R.T., 1998- Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque. *Biochem J*. 333: 519-525.

23. FUKAI T. and USHIO-FUKAI M., 2011- Superoxide Dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal*. 15: 1583-1606.

24. FULLER M.F., 2004-The encyclopedia of form animal nutrition .CABI publishing, London, UK, 581p.

25. GOD'SWILL N.A., KAYODE O.O., 2010- Comparative Antioxidant Phytochemical and Proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of *Vernonia amygdalina* and *Talinum triangulare, Pakistan Journal of Nutrition*. 9 (3): 259-264.

26. HALLIWELL B. and GUTTERIDGE J.M.C. 1984- Oxygen toxicity, oxygen radicals transition metals and disease. *Biochem. J*. 219 : 1-14.

27. HANNEBELLE T., SAHPAZ S. and BAILLEUL F., 2004- Polyphénols végétaux, sources utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.*1: 3-6.

28. HAVSTEEN B., 1983- The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology*. *Therapeutics*. 96: 167- 202.

29. HAYOUNI E., ABEDRABBA M., BOUIX M., HAMDI M., 2007- The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. 105(3): 1126-1134.

30. HEMMAMI R., FARHAT I., ZOUHIR A., FADHILA S., 2011- Detection and Extraction of Anti-listerial Compounds From *Calligonum comosum*, a Medicinal Plant From Arid Regions of Tunisia. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 8(3): 322-327.

31. HERBETTE S., ROECKEL-DREVET P. and DREVET J. R., 2007- Seleno-independent glutathione peroxidases.more than simple antioxidant scavengers. *FEBS J*. 274: 2163-2180.

32. HIDRON A.I., EDWARDS J.R., PATEL J., HORAN T.C., SIEVERT D.M., POLLOCK D.A., FRIDKIN S.K., 2008- National Healthcare Safety Network Team & Participating National Healthcare Safety Network Facilities . NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 29: 996–1011.

33. IVANA K., MILENA N., and MIODRAG L., 2011- Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different

extraction techniques. *Biotechnology and bioengineering chinese journal of chemical engineering*. 19 (3): 504-511.

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

35. JEYAPAUL J. and JAISWAL A.K., 2000- Nrf2 and c-J un regulation of antioxidant response element (ARE)-mediated expression and induction of gamma glutamylcysteine synthetase heavy subunit gene, *Biochem*. *Pharmacol*. 59, 1433– 1439.

36. JOANNY M.B.F., 2005- la superoxyde dismutase ,puissant antioxydant natural, disponible par voie orale .*Phytothérapie*. 3 :118-121.

37. KAMIL M., JAYARAJ A.F., AHMAD F., GUNASEKHAR C., SAMUEL S., HABIBALLAH M., CHAN K., 2000- Pharmacognostic and phytochemical standardisation of *Calligonum comosum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 52: 262 p.

38. KHOSRAVI M., SEYED A.M., KARIMI M., SHARAYIE P., ARMIN M., 2013- Comparison of ultrasound assisted and Kelavenger extraction methods on efficiency and antioxidant properties of Fennel's oil essence and its optimization by response surface methodology. *Intl J Agri Crop Sci*. 5(21): 2521-2528.

39. KIRSCHVINK N., MOFFARTS B. and LEKEUX P., 2008- The oxidant/antioxidant equilibrium in horses . *V* et *J*. 177: 178-191.

40. KITTERINGHAM N.R., POWELL H., CLEMENT Y.N., DODD C.C., TETTEY J.N., PIRMOHAMED M., SMITH D.A., MCLELLAN L.I. and KEVIN PARK B., 2000- Hepatocellular response to chemical stress in CD-1 mice: induction of early genes and gamma-glutamylcysteine synthetase, *Hepatology*. 32, 321–333.

41. KRIPPEIT-DREWS P., LANG F., HAUSSINGER D. et DREWS G., 1994- H_2O_2 induced hyperpolarization of pancreatic B-cells .*Pflugers Arch*. 426: 552-554.

42. LAIRON D., 2004- Biodisponibilité et effets biologiques des antioxidants de nature polyphenolique .*Association mediterranéinne de phytothérapie et plantes médicinales*. 1-7.

43. LAMBERT P.A, 2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 92: 46 – 54.

44. LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J. and LEE C.Y., 2003- Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7292-7295.

45. LOWY F.D., 1998- *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 339: 520–32.

46. LYCZAK J.B., CANNON C.L. and PIER G.B., 2000- Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbiol Infect*. 2: 1051–1060.

47. MARIA L., URSO PRISCILLA M., CLARKSO N., 2003- Oxidative stress, exercice and antioxidant supplementation. *Toxicology*. 189: 41-54.

48. MATKOWSKI A., PIOTROWSKA P., 2006- Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77(5): 346-353.

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

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

51. NAJJAA H., NEFFATI M., ZOUARI S., AMMAR E., 2011- Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Comptes Rendus de Chimie*. 10: 820-826.

52. ODAJIMA N., BETSUYAKU T., NAGAI K., MORIYAMA C., WANG D.H., TAKIGAWA T., OGINO K. and NISHIMURA M., 2010- The role of catalase in pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 11: 183.

53. ORDONEZ A.A.L., GOMEZ J.D., VATTUONE M.A., ISLA M.I., 2006- Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq). *Food Chem*. 97:452-458.

54. OZGEN U., MAVI A., TERZI Z., YILDIRIM A., COSKUN M., HOUGHTON P.J., 2006- Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. *Pharm Biol*. 44: 107-112.

55. PIACENZA L., PELUFFO G., ALVAREZ M.N., Kelly J.M., WILKINSON S.R. and RADI R., 2008- Peroxiredoxins play a major role in protecting *Trypanosoma cruzi* against macrophage- and endogenously-derived peroxynitrite. *Biochem J*. 410: 359-368.

56. PIETTA P.G., 2000- Flavonoids as antioxidants.*J.Nat.Prod*. 63 (7), 1035-1042.

57. PINCEMAIL J., DEBBY C., LION Y., BRAQUET P., HANS P., DRIEU K and GOUTIER R., 1986- Stud. Org. Chem 23, p: 423.

58. RAHMAN A., NOUROOZ J., MOLLER W., 1999- Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS Lett*. 448: 120-122.

59. RAQUIBUL HASAN S.M., 2009- DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants, *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(11): 875-879.

60. REDB N.I., LEGOFF L.K., HADAISOUNI L., 2005- Stress oxidatif cérébral : les astrocytes sont' ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glatamate ? Implication sur la survie neuronale. *Ann. Fr. Anesth. Réanim*. 24, 502-509.

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

62. ROJAS A., HERNANDEZ L., PEREDA-MIRANDA R., and MATA R., 1992- Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. 35: 275-283.

63. RYAN M.J., DUDASH H.J., DOCHERTY M., GERONILLA K.B., BAKER B.A., HAFF G.G., CUTLIP R.G. and ALWAY S.E., 2010- Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp Gerontol*. 45: 882-895.

64. SHILINA N.M., 2009- Mechanisms of the antioxidant defense in children. *Vopr Pitan*. 78: 11-17.

65. SINGLETON V.L, ROSSI J.A., 1965- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 16 (3): 144-158.

66. SWARAN J.S.F., MANISHA P., ASHISH M., 2003- Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chemico-Biological Interactions*. 145: 267-280.

67. TRABER M.G., 2007- Heart disease and single-vitamin supplementation. *Am J Clin Nutr*. 85 (11): 293-299.

68. TUNEZ I., SANCHEZ-LOPEZ F., AGUERA E., FERNANDEZ R., SANCHEZ F. and TASSET I., 2011- Important role of oxidative stress biomarkers in Huntington's disease. *J Med Chem*. 54: 5602-6.

69. VALKO M., RHODES C.J., MONCOL J., IZAKOVIC M., MAZUR M., 2006- Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological interactions*. 160: 1- 40.

70. VISENTIN V., PREVOT D., MARTI L. and CARPENE C., 2003- Inhibition of rat fat cell lipolysis .by mono amine oxidase and semicarbazide – sensitive amine oxidase substrates .*Eur*. J. *Pharmcol*. 466 (3): 235-243.

71. WANGLL J., HUNGYENI L.H.J., WU1 M., 2003- Antioxidant effect of Methanol Extracts from lotus plumule and Blosson (Nelumbo nucifera Gertn). *Journal of food and Drug Analysis*. 11: 60-66.

72. WU N., ZU Y., FU Y., KONG Y., ZHAO J., LI X., LI J., WINK M. and EFFERTH T., 2008- Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of extracts and main polyphenolic compounds obtained from *Geranium sibiricum* L. *J Agric Food Chem*. 58: 4737-4743.

73. XIANG Y., LIU Y. and LEE M.L., 2006- Ultrahigh pressure liquid chromatography using elevated temperature. *Journal of Chromatography*. 1104 (1-2): 198-202.

74. YEN K., PATEL H.B., LUBLIN A.L. and MOBBS C.V., 2009- SOD isoforms play no role in lifespan in adlib or dietary restricted conditions, but mutational inactivation of SOD-1 reduces life extension by cold. *Mech Ageing Dev*. 130: 173-178.

75. ZHISHEN J., MENGCHENG T., JIANMING W., 1999- The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*. 64 (4): 555- 559.

الملحـــــق 01

- معلومات عن جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur):

BUCHI Laortechnik AG	BUCHI Laortechnik AG
CH-9230Flawil1/Switzeriand	CH-9230Flawil1/Switzeriand
Type : B-491	Type : R-210
SN: 1000047946	SN : 1000048012
Voit: 220-240VAC	Voit : 100-240VAC
Frequency: 50/60Hz	Frequ: 50/60Hz
Power : 1700W	Power: 60W

- **معلومات عن جهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons).**

J.P.SELECTA, s. a.
Fuse (A): 5
A: 3.1 W: 720.
V: 230 Hz: 50/60.
Cod : 3000838

- **معلومات عن (HPLC) المستخدم في التحليل النوعي للمركبات الفينولية:**

Un chromatographe liquide haute performance HPLC (SHIMADZU type HPLC-RP-C18)
Four: CTO 20A
Pompe: LC 20AL, LC20A

الوثيقة: جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre).

الوثيقة: Cuves de plastique et de Quartz.

UV spectrophotomètre (UV-800 SHIMADZU)

الوثيقة: حاضنة (Etuve)

- **معلومات الجهاز:**

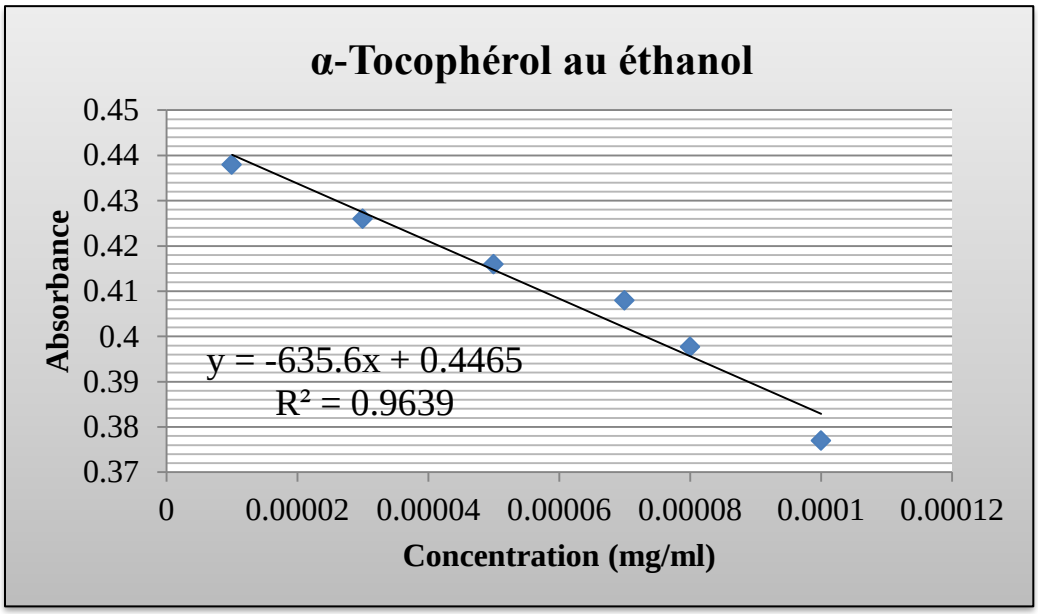
- Mommert - Beschickung – loadig - Modell 100- 800

الوثيقة: جهاز Autoclave.

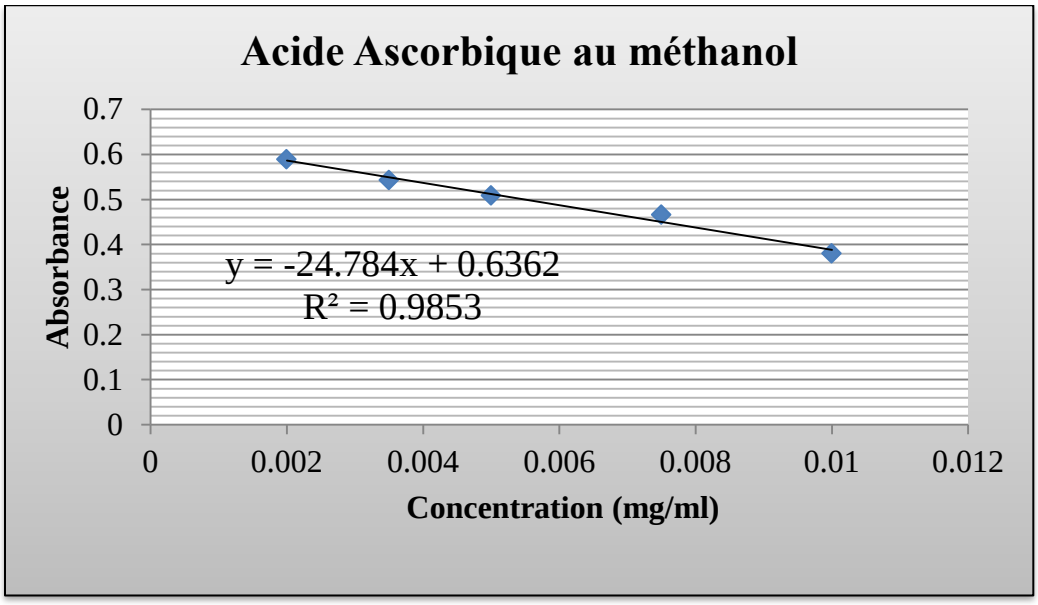
- **معلومات الجهاز:**

- Pbinternational			
- ANNO	2010	- SERIAL	N. 030004
- WATT	1300	- MOD	TIMO
- VOLT	220	- HZ	50/60

الملحـــــــق 02

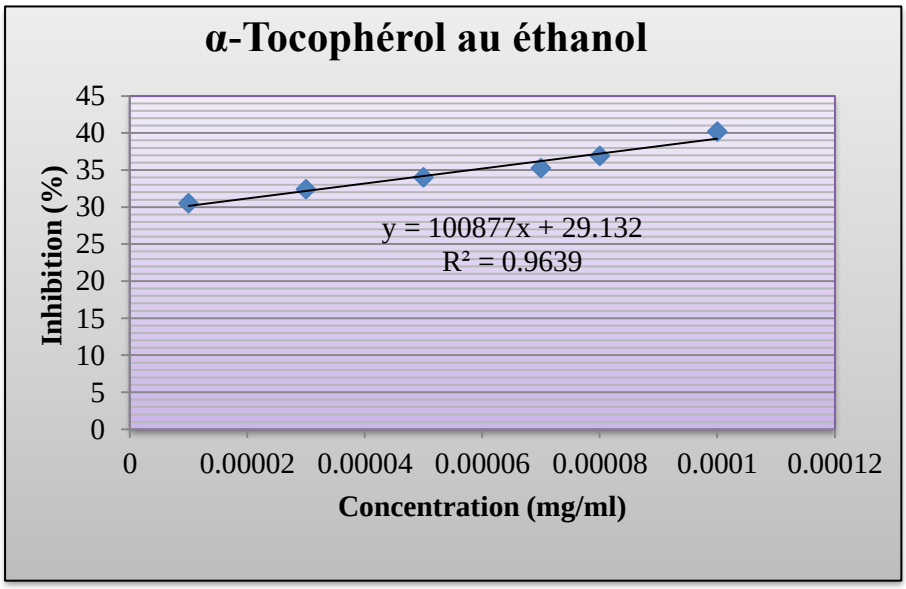


الوثيقة: المنحنى القياسي لـ α-Tocophérol في المستخلص الإيثانولي لإختبار جذر $DPPH^{\bullet}$.

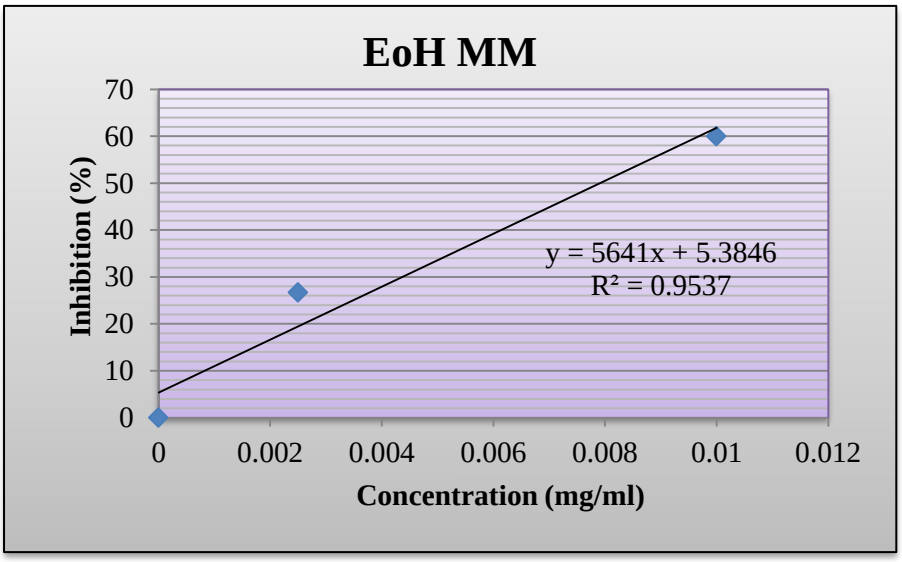


الوثيقة: المنحنى القياسي لـ Acide Ascorbique في المستخلص الميثانولي لإختبار جذر $DPPH^{\bullet}$.

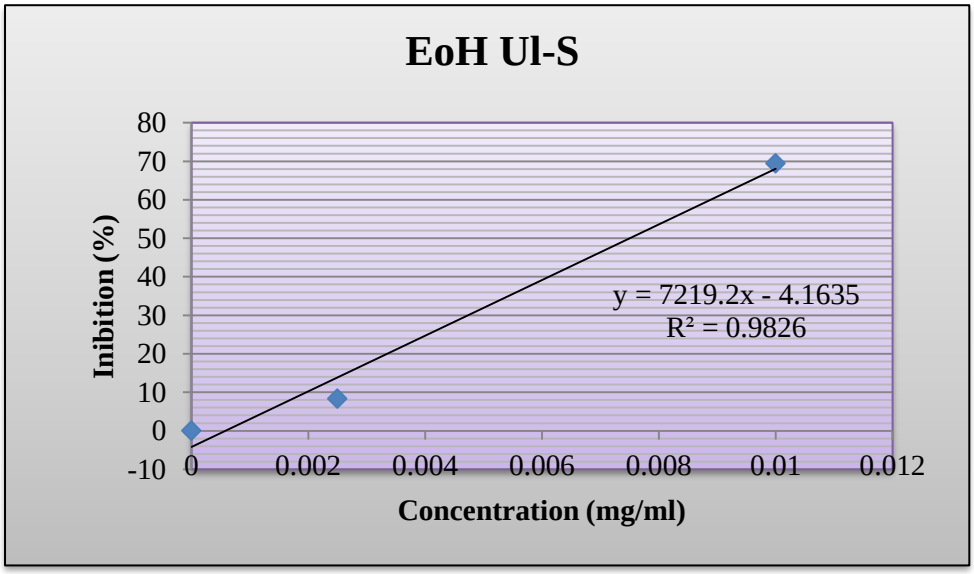
الملحـــــــق 03



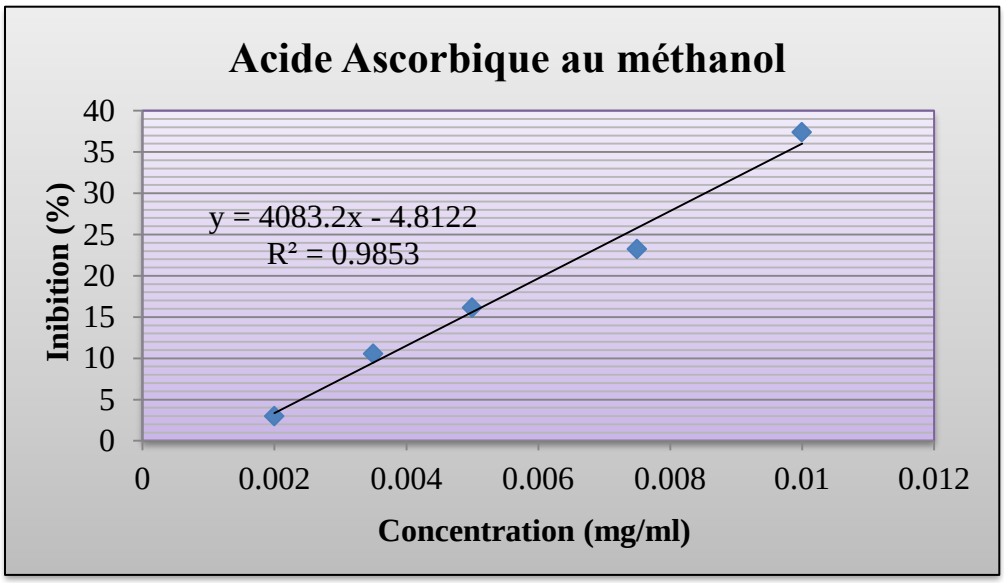
الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من α-Tocophérol



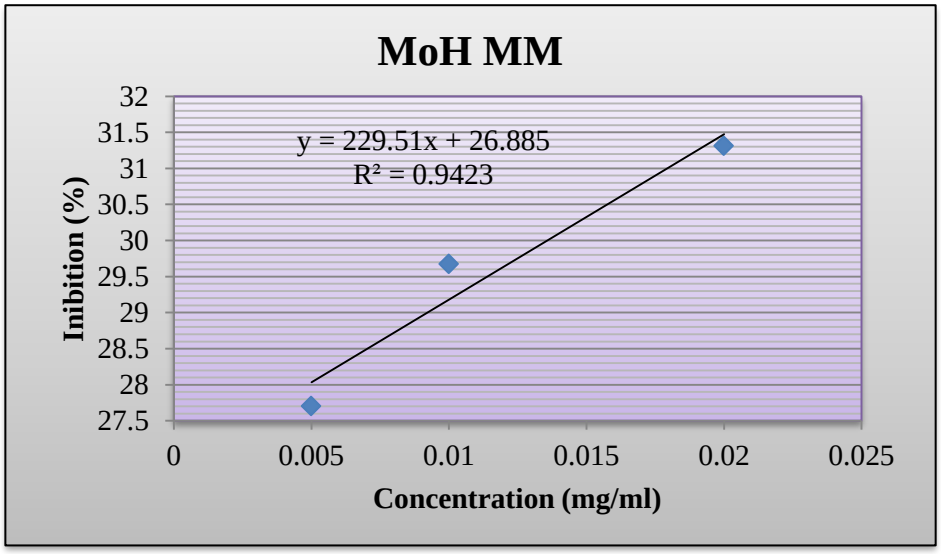
الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي EoH MM



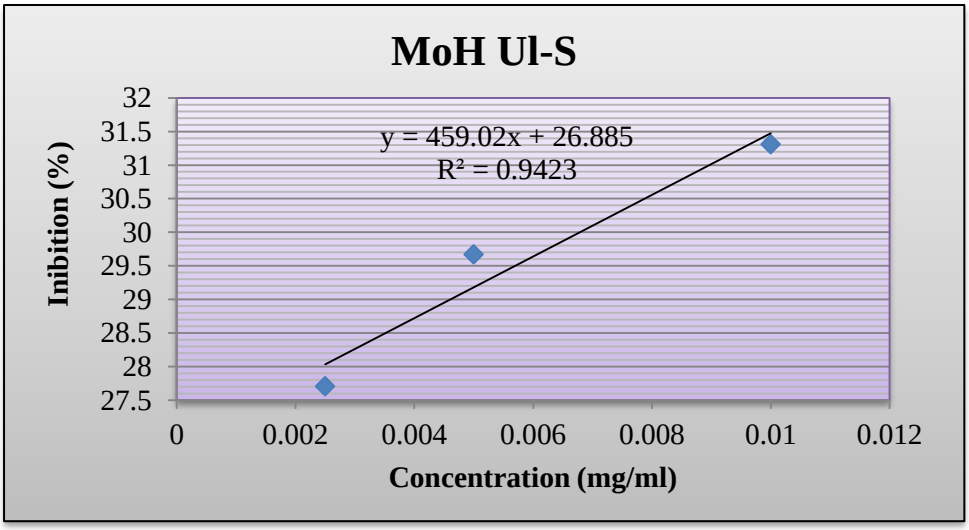
الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي EoH Ul-S



الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر DPPH• لتراكيز مختلفة من Acide Ascorbique



الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر $DPPH^{\bullet}$ لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي MoH MM



الشكل: تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لجذر $DPPH^{\bullet}$ لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي MoH Ul-S

Université HAMMA Lakhder El Oeud
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie cellulaire et moléculaire

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El-Oued

SNBS

1er Séminaire National BIOLOGIE ET SANTE

16-17 Mars 2015

Attestation de participation

Le Président du 1er séminaire national « biologie et santé » atteste que Mr, Mme, Melle ADJAL El Hadda a présenté une communication affichée intitulée :CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EFFLUENCE DE DIFFERENTES METHODES D'EXTRACTION SUR LA QUANTIFICATION DES COMPOSES PHENOLIQUES ET L'ACTIVITE ANTIOXYDANT DES EXTRAITS METHANOÏQUES DE Calligonum comosum L'her.

Co auteur: MEKKI Messaouda, CHOUIKH Atef, HEMMAMI Hadia

Président du séminaire

Présidente du comité d'organisation

Université HAMMA Lakhder El Oeud
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie cellulaire et moléculaire

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El-Oued

1er Séminaire National BIOLOGIE ET SANTE

16-17 Mars 2015

Attestation de participation

Le Président du 1er séminaire national « biologie et santé » atteste que Mr, Mme, Melle **MEKKI Messaouda** a présenté une communication affichée intitulée :**EFFECTS OF EXTRACTION METHOD ON THE PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT FROM PLANT MEDICINAL SAHARIAN *Calligonum comosum L'her.***

Co auteur: ADJAL El Hadda CHOUIKH Atef HEMMAMI Hadia

Président du séminaire

Présidente du comité d'organisation

ISSN: 0976-3031

Available Online at http://www.recentscientific.com

International Journal of Recent Scientific Research
Vol. 6, Issue, 4, pp.3534-3536, April, 2015

International Journal of Recent Scientific Research

RESEARCH ARTICLE

EFFECTS OF EXTRACTION METHODS ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS OF CALLIGONUM COMOSUM L'HER. GROWING IN SAHARA ALGERIAN

Chouikh A[1,2,*], Mekki M[1] and Adjal, EH[1]

[1]Department of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University of El Oued, BP 789 El-Oued (39000) Algeria

[2]Laboratory Development and Control of Hospital Pharmaceutical Preparations. Medical Science Faculty, University of Badji Mokhtar- Annaba, LP 205 Ezzafrania, Annaba (23000) Algeria

ARTICLE INFO

Article History:

Received 5th, March, 2015
Received in revised form 12th, March, 2015
Accepted 6th, April, 2015
Published online 28th, April, 2015

Key words:

Calligonum comosum L'her., maceration (MM), Ultra-sound (UM), crude ethanolic (EOH) extract and crude methanolic (MOH) extract.

ABSTRACT

The aims of this study are evaluated the *in-vitro* antibacterial activity of the crude ethanolic (EOH) and methanolic (MOH) extracts of *Calligonum comosum* L'her. extracted by Maceration (MM) and Ultra-sound (UM) methods on three strains bacteria's: Two Gram negative (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and One Gram positive (S*taphylococcus aureus* ATCC 25923). The activity of different extracts of C. comosum reveals a high sensitivity of the tested germs except for *E. coli* especially with: EOH UM and MOH MM, also showed very expressive inhibition diameters (44 - 28 mm) with three antibiotics tested (AMC30, AK30, AM10), and showed medium resistance with different concentrations of the EOH MM and MOH UM.

P. aeruginosa is very sensitive to high concentrations of the antibiotic AK30 (37mm) and MOH UM (9.5 mm with concentration 0.5mg/ml and 14 mm with concentration 2mg/ml). As against this strain is resisted the two antibiotics AM10, AMC30 and the different concentration of MOH MM this is probably due to the possibility of the absent chemicals compounds in this extract.

The most important antibacterial effect is observed with *S. aureus* to all concentrations of Four extracts and Three antibiotics tested.

Copyright © Chouikh A *et al.,* This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

INTRODUCTION

Calligonum comosum L'her . (Polygonaceae)., is a small leafless shrub, under the local names "ghardaq", "rusah" or "arta" (Muschler, 1912) a shrub distributed throughout Arabia and growing in sandy deserts (Halis, 2007), is used by the local healers to treat stomach ailments (Liu *et al*., 2001); has reputation in folklore medicine as a stimulant and astringent " (Muschler, 1912), the stems and leaves are chewed for curing toothache (Liu *et al*., 2001). dehydrodicatechin A compound isolated from this plant showed the best cytotoxic and antioxidant activity. (Badria *et al*., 2007). Besides, anthraquinones of *Calligonum* showed high antimicrobial potential (Zaki *et al*., 1984); Chemical analysis showed that anthraquinones and flanovonids are the common chemical constituents in this plant (Ghazanfar, 1994; Kamil *et al*., 2000). the ethanolic extract of *Calligonum comosum* treat infected animals with fasciolosis and improved their health condition (Degheidy *et al*., 2013). The aims of this study are evaluated the *in-vitro* antibacterial activity of the crude ethanolic and methanolic extracts of *Calligonum comosum* extracted by maceration and ultra-sound methods on two Gram negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and one Gram positive bacteria (S*taphylococcus aureus* ATCC 25923).

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Calligonum comosum L'her. was assembled in October 2014 in Oued Souf region (East South Algerian). The plant is then dried, crushed and stored in glass flasks to protect from light and moisture.

Preparation of extracts

We prepared the extracts in Methanolic and Ethanolic in two extraction methods:

Maceration

50g of plant material with 500 ml of solvents for 24 h, after filtration, the macerated are evaporated to dryness in Rota-

Corresponding author:* **Chouikh A
Development of Biology, Faculty of Natural Science and Life, University of El Oued, BP 789 El-Oued (39000) Algeria

vapor Type Buchi R-200 at 55 ° C with methanol and 60°C with ethanol (Rebaya *et al*., 2015)

Extraction with ultra-sound

According (Khosravi *et al.,* 2013) with slight modification, 200 ml of solvents is added to 20 g of plant material then take mixtures to ultra-sound Type JP SELECTA (3.1A; 720 W) under the conditions: 30°C for 30 min the extracts are evaporated in Rota-vapor.

Source of pathogens and cultures medium

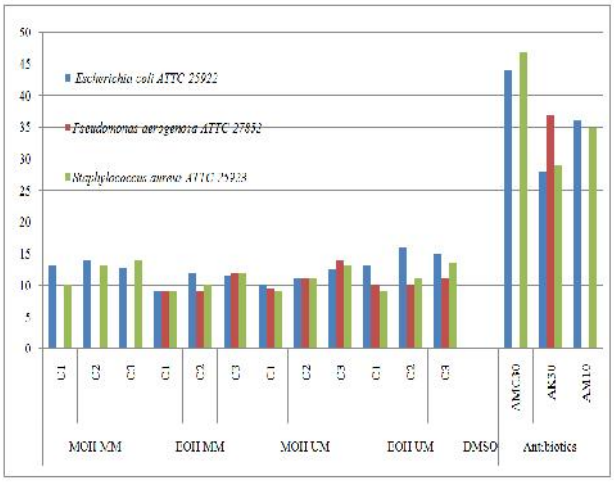
Three pathogenic bacteria: two Gram negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and one Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Were provided from the Pasteur Institute, Algiers. Nutrient agar Mueller Hinton was used as a growth medium for investigated microorganisms in this study.

Antibacterial activity

The antibacterial activity of extracts and antibiotics (AMC_{30}: AMOXYCLAV 30µg/disk, AK_{30}: AMIKACIN 30µg/disk and AM_{10}: AMPICILLIN 10 µg/disk) was determined by agar diffusion method cited by (Treki *et al.,* 2009). Sterile disks (6 mm diameter) impregnated with 10 µl of different concentrations of extract (C_1: 0.5mg/ml; C_2: 1mg/ml and C_3: 2mg/ml this concentrations were easing by DMSO) are then deposited on the agar surface previously seeded with bacterial suspension (10^6 CFU/ml) in exponential growth phase. The Petri dishes were incubated at 37° C for 24 h. The inhibition of microbial growth and Minimum inhibitory concentration (MIC) is determined by measuring the inhibition diameter (mm) of each bacterium (Andrews, 2001).

RESULTS

The results of the anti bacterial activity of extract *Calligonum comosum* L'her. are summarized in Graph 1.



Graph 1 Zone of inhibition in (mm) of different concentrations of extracts of *Calligonum comosum* L'her.

The comparison of the activities of different extracts of *C. comosum* reveals a high sensitivity of the tested germs except for *E. coli* especially with: EOH UM and MOH MM, also showed very expressive inhibition diameters (44 - 28 mm) with three antibiotics tested (AMC_{30}, AK_{30} and AM_{10}); also which showed medium resistance with different concentrations of the extract EOH MM and MOH UM.

P. aeruginosa germ is very sensitive to high concentrations of the antibiotic AK_{30} (37mm) and MOH UM (9.5 mm with concentration 0.5mg/ml, 14 mm with concentration 2mg/ml. As against this strain is resisted the two antibiotics tested AM_{10}, AMC_{30} and the different concentration of MOH MM. Clearly not noticed effect of this strain in MOH MM, this is probably due to the possibility of the absent chemical compounds in this extract.

The most important antibacterial effect is observed with *S. aureus* to all concentrations of Four extracts and Three antibiotics tested.

Our results are consistent with those obtained by (Alkhalifah 2013) who were able to show that ethanolic extracted from the same plant in their countries (SAUDI ARABIA) have good antimicrobial activity against gram-positive bacteria (*S. aureus* with inhibition zone 13 mm), and two strains gram negative (*E. coli* and *P. aeruginosa* with inhibitions zones 17.5 and 20.5 mm respectively).

With regard to the minimal inhibitory concentration (MIC) (Table 1) of plant extracts against the bacterial strains it was fixed with all strains (≤ 0.5 mg/ml). Except for the extract methanol extracted by maceration (> 2mg/ml).

Ours values of (MIC) are best of the values obtained by (Alkhalifah 2013) that the MIC of leaves extract was between 3.13 and 6.5 mg/ml, while that of stem extract was 3.13 mg/ml and that for the root extract was in the range between 6.5 and 12.5 mg/ml.

Table 1 Minimal inhibitory concentration (MIC) in mg /ml of the different extracts of *Calligonum comosum* L'her . plant against Strains bacteria's tested.

Strains bacteria's	***Escherichia coli* ATTC 25922**	***Pseudomonas aerogenosa* ATTC 27853**	***Staphylococcus aureus* ATTC 25923**
MOH MM	≤ 0.5	> 2	≤ 0.5
EOH MM	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
MOH UM	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
EOH UM	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5

DISCUSSION

This results of present investigation clearly indicated that the antibacterial activity vary with methods extraction and the solvents used.

The observed differences in sensitivity the different concentration of extracts between Gram-positive and Gram-negative bacteria can probably be attributed to the structural and compositional variations in the nature of the cell wall between the two groups (Lambert, 2002).

This inhibitory effect of *Calligonum comosum* extracts might between: Ghazanfar (1994) and Kamil *et al* (2000) be due to the action of special organic compounds such as anthroquinones and flavonoids as reported in previous studies for the chemical composition of *Calligonum comosum* L'her.

References

Alkhalifah DHM, (2013). In-vitro antibacterial activity of ethanol extract of *calligonum comosum* plant against four human pathogens in saudi Arabia. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciencesi*, 3 (4): 170 -175.

Andrews JM, (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (1): 5 – 16.

Badria FA, Ameen M, Akl RM, (2007). Evaluation of Cytotoxic Compounds from *Calligonum comosum* L. Growing in Egypt. Z Naturforsch, 62: 656-660.

Degheidy NS, Sharaf EM, Fathi SM, (2013). Field Evaluation of Anthelmentic Efficacy of *Calligonum comosum* against Fasciolosis in Sheep at Taif KSA. Global Veterinaria, 11(4): 377-384.

Ghazanfar SA, Ed. Handbook of Arabian Medicinal Plants, CRC Press:173, (1994).

Halis Y, Ed. Plant Encyclopedia in area Oued Souf: desert plants common in the Big East race, El Walid: 62-63, (2007).

Kamil M, Jayaraj AF, Ahmad F, Gunasekhar C, Samuel S, Habiballah M, Chan K, (2000). Pharmacognostic and phytochemical standardisation of *Calligonum comosum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52 (Suppl): 262 p.

Khosravi M, Mortazavi SA, Karimi M, Sharayie P, Armin M, (2013). Comparison of ultrasound assisted and Kelavenger extraction methods on efficiency and antioxidant properties of Fennel's oil essence and its optimization by response surface methodology. *Intl J Agri Crop Sci*, 5(21): 2521-2528.

Lambert PA, (2002). Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 46 – 54.

Liu XM, Zakaria MNM, Islam MW, Radhakrishnan R, Ismail A, Chen HB, Chan K, Al-Attas A, (2001). Anti-inflammatory and anti-ulcer activity of *Calligonum comosum* in rats. Fitoterapia, 72: 487-491.

Muschler R, Ed. A Manual Flora of Egypt, R. Friedlaender & Sohn: 1312p, (1912).

Rebaya A, Belghith SI, Baghdikian B, Leddet VM, Mabrouki F, Olivier E, Cherif Jk, Ayadi MT, (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *J App Pharm Sci*, 5(1):52-57.

Treki AS, Merghem R, Dehimat L, (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: Thymus hirtus. Sciences and Technologie, 29: 25-29.

Zaki D, Abd-El-Aziz M, El-Gengeihy S, Morsi N, (1984). Antimicrobial potentialities of some Egyptian desert plants. Herba Hung, 23: 73-84.

How to cite this article:

Chouikh A *et al*., Effects of Extraction Methods on Antibacterial Activity of Different Extracts of Calligonum Comosum L'her. Growing In Sahara Algerian. *International Journal of Recent Scientific Research Vol. 6, Issue, 4, pp.3534-3536, April, 2015*

****