



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

التخصص: كيمياء عضوية

من إعداد :

قاسمي أماني

غمام نواس صفاء

تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الخام
لنبات الذنون
Cistanche violacea (Desf.) Beck

نوقشت يوم: 2020/...../.....

أمام اللجنة المكونة من :

رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	أستاذ محاضر ب	كراسع عائشة
مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	استاذ محاضر ب	مازري راضية
مؤطرا	جامعة الشهيد حمى لخضر - الوادي	أستاذ مساعد أ	زواري أحمد رشيدة

الموسم الجامعي : 2019 - 2020



الإهداء

إلى المعلم الأول، إلى الحب محمد، صلوات ربي وسلامه عليه

إلى مهجة الفؤاد، سكن الروح، إلى من كلت أنامله ليقدّم لنا لحظة السعادة إلى من كلّه الله بالهبة
و الوقار، إلى من أحمل اسمه بكل افتخار، إلى حبيبي قلبي أبي الغالي " محمد " أطال الله في عمره.
إلى بسمّة الحياة وسر الوجود، إلى التي تستقبلني بابتسامة وتودعني بدعوة، إلى التي صبرت وتعبت
من أجل راحتنا، إلى نبع الحب والحنان أمي الحبيبة " جواحي بوكّة " أسأل الله لها دوام الصحة والعافية .
إلى رمز الصمود وسندي الدائم في هذه الحياة إخوتي الثمانية : ياسين، سامي، التجاني، الحسين،

عبد الرزاق، أيمن، أحمد امين، سيف الدين .

إلى أخواتي اللواتي لم تنجبنهم أمي، نساء إخوتي : بسمّة، حواء، أمال، منال، ابتسام.

إلى ملائكة البيت أبناء إخوتي : فاطمة، جوري، محمد أمير، نورسين، آلاء، محمد العيد (بايا)، يقين،
محمد أصيل.

إلى الذين فارقوا الحياة ولم تفارقنا ذكراهم جدي (التجاني) وجدتي (فاطمة) رحمة الله عليهما، إلى
الذي لازال العين تدمع لفراقه، والقلب مشتاق لرؤيته جدي الغالي (العيد) رحمة الله عليه .

إلى جدتي (عائشة) أطال الله في عمرها، إلى أعمامي و أخوالي، الى عماتي وخالاتي، وكل أهلي
وأحبتي ...

إلى من عشت معهما لحظات الحزن والفرح، الألم والأمل، و بوحدتنا تخطينا كل الصعاب والعقبات،
رفيقنا الدرب صفاء ونصيرة .

إلى صديقتنا العمر، و حبيبتنا القلب حبيب و نجوى

إلى كل صديقاتي: مريم، مروة، مسعودة، بسمّة، صبرينة، شيما، وهبة

إلى من نساهم قلبي ولم ينساهم قلبي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع إليكم جميعا.

أمانني

إهداء

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون) صدق الله العظيم

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة .. إلى نبي الرحمة ونور العالمين .. سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم إلى من تجرع الكأس فارغا ليسقينا قطرة الحب إلى من كلت أنامله ليقدم لنا لحظة السعادة إلى من كلفه الله بالهيبة و الوقار ، إلى من علمني العطاء بدون انتظار ، إلى من أحمل اسمه بكل افتخار إلى القلب الكبير .. أيي الحنون أطال الله في عمره ...

إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي ، إلى من أرضعنا الحب والحنان إلى بسمه الحياة وسر الوجود .. أُمي العزيزة ...

إلى من بوجودهم اكتسبت قوة ومحبة لا حدود لها إلى من عرفت معهم معنى الحياة إلى إخوتي ، وإلى زوجي الغالي الذي دعمني وساعدني في إنجار هذا العمل ...

إلى من سرت سويا معهم في دروب الحياة إلى الذين كانوا عون لي في تحقيق هذا النجاح إلى صديقتي : أماني قاسمي ، نصيرة نغموش نصر ، بشيرة لحماذي ، بسمه واري ، مروة مليك ...

إلى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا سيرة العلم والنجاح ... إلى اساتذتي الكرام

إلى الذين احببناهم واحبونا .. إليكم جميعا شكرا والى شكر.

صفاء

شكر وتقدير

إلهي لا يطيب لي الليل إلا بشكرك، ولا يطيب لي النهار إلا بطاعتك، ولا تطيب لي اللحظات إلا بذكرك، ولا تطيب لي الآخرة إلا بعفوك، و تطيب الجنة إلا برويتك لك الشكر والحمد حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه.

الشكر أولا و أخيرا لله سبحانه وتعالى على امداحه لنا بالقوة والعزيمة لإتمام هذا البحث، وإلى الحبيب المصطفى الذي اخرجنا من ظلمات الجهل إلى أنوار العلم والإيمان صلى الله عليه و سلم

أما بعد :

نتقدم بالشكر الجزيل إلى والدينا الذين كلهم الله بالهيبة والوقار وكانوا حافظ لنا على مواصلة الدراسة، فلو لا حرصهم الدائم بالدعاء لنا وتشجيعاتهم لما وصلنا إلى هذا اليوم .

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة الفاضلة **ذواري أحمد شهيدة** التي لم تبخل علينا بتوجيهاتها ونصائحها طيلة إشرافها على هذا العمل.

كما أننا نتوجه بخالص الشكر والتقدير لأستاذ الدكتور **ريبجي محمد الكريم** والأستاذ **خلعة محمد الحميد** اللذان كان لنا عوناً في التوجيه لهذا العمل.

كما نتقدم بالشكر إلى أعضاء اللجنة الأستاذتين الفاضلتين الأستاذة **كواسع عائشة**، الأستاذة **مارري راضية** على قبولهما مناقشة مذكرتنا و زيادة ثراءها .

كما نتقدم بتحية شكر وتقدير إلى الأستاذة والأخت **الأحمادي بهيرة** التي كانت لنا يد العون في هذا البحث، كما لا ننسى منبريات كلية العلوم الدقيقة **كنزة**، منى على مجهوداتهم وتسهيل العراقيل

في الأخير نشكر جزيل الشكر كل الزملاء و الأصدقاء على ما قدموه لنا من مساعدات، كما لا يفوتنا أن نعبر عن شكرنا وامتناننا لكل الذين مدوا لنا يد المساعدة و التشجيع من قريب أو من بعيد

.....شكرا لكم جميعا.....

الملخص :

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تمييز نبات الذنون النامي بمنطقة واد سوف، وذلك من خلال تقدير محتواه الفينولي والمواد الفعالة وكذا فعاليته البيولوجية.

تمكنا في هذه الدراسة من تحديد هذه المواد الفعالة وذلك من خلال الكشوفات الأولية، وتحديد التقدير الكمي للمركبات الفينولية من خلال دراسات سابقة مقارنة بنبات شبيه له من نفس العائلة الترتوث (*Cistanche tinctorial*)

حيث توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن نبات الذنون لمنطقة واد سوف غنية بالمواد الفعالة من بينها المركبات الفينولية، وتم كذلك تحديد فعاليته البيولوجية من خلال الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام إختبار DPPH و FRAP حيث تبين أن للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون له فعالية مضاد للأكسدة و قدرة إرجاعية.

وكخطوة أخيرة تم تحديد المركبات الفينولية المتواجدة بالمستخلص الميثانولي لنبات الذنون عن طريق التحليل النوعي بإستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

الكلمات المفتاحية: نبات الذنون (*Cistanche violacea (Desf) Beck*)، نبات الترتوث (*Cistanche tinctorial*)، المواد الفعالة المركبات الفينولية، الفعالية المضادة للأكسدة.

Résumé:

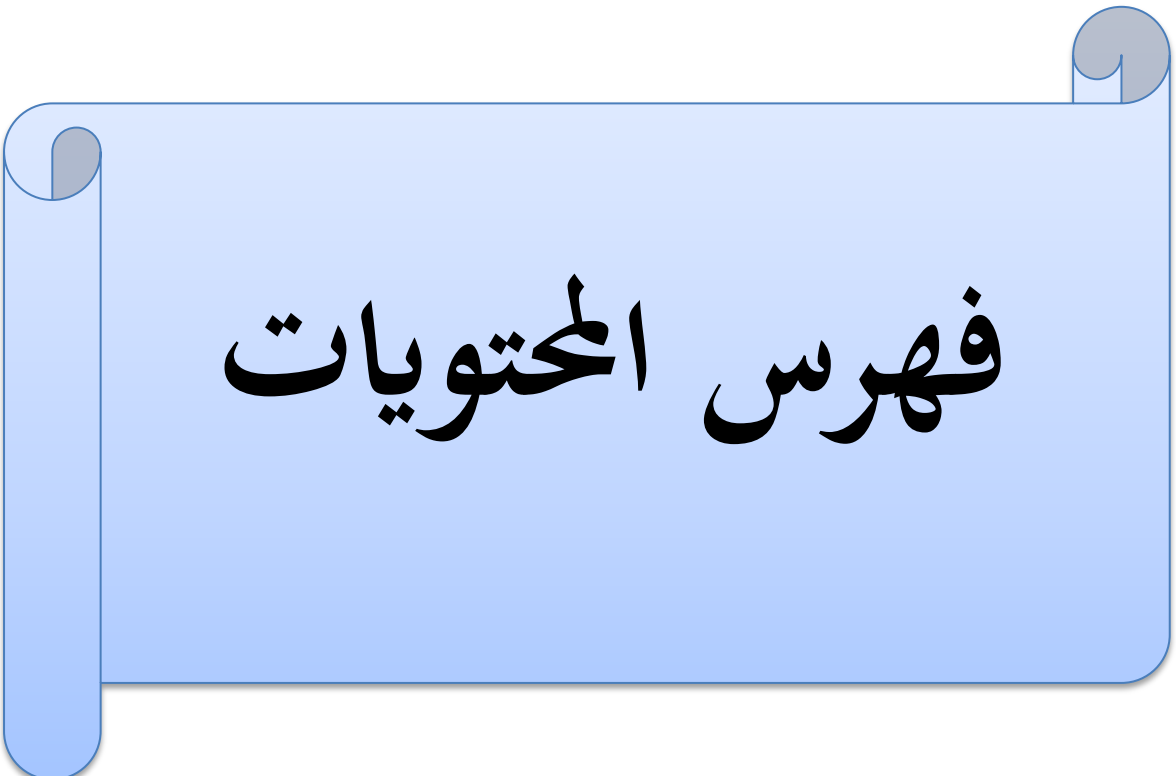
L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la plante *Cistanche violacea* (Desf) Beck qui pousse dans la région d'oued Souf, à travers l'évaluation de son contenu phénolique, de ses substances actives, ainsi que de son activité biologique.

Dans cette étude, nous avons pu identifier ces substances actives grâce à des résultats préliminaires, et quantifier l'estimation quantitative des composés phénoliques grâce à d'autres études de la plante *Cistanche violacea* (Desf) Beck et de sa plante similaire de la même famille *Cistanche tinctoria*.

Alors que, grâce à cette étude, nous avons constaté que la plante *Cistanche violacea* (Desf) Beck de la région d'oued Souf est riche en substances actives, y compris des composés phénoliques, et que son efficacité biologique a été déterminée par l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH et FRAP, où il a été constaté que l'extrait méthanolique de la plante *Cistanche violacea* (Desf) Beck a une efficacité antioxydante.

En dernière étape, les composés phénoliques présents dans l'extrait méthanolique de la *Cistanche violacea* (Desf) Beck ont été déterminés par analyse qualitative en utilisant la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Mots clés: *Cistanche violacea* (Desf) Beck, *Cistanche tinctoria*, les substances actives, les composés phénoliques, l'activité antioxydante,



فهرس المحتويات

المحتويات	
	الإهداء
	شكر و عرفان
	ملخص
I	فهرس المحتويات
V	قائمة الجداول
vi	قائمة الأشكال
viii	قائمة الرموز والاختصارات
1	مقدمة
3	المراجع
الجزء النظري	
الفصل الأول : دراسة نظرية حول نبات الذنون	
6	تمهيد
6	I- دراسة عامة حول نبات الذنون
6	I-1- العائلة الهالوكية
7	I-2- جنس Cistanche
7	I-3- تعريف نبات الذنون
8	I-4- التصنيف العلمي للنبتة
8	I-5- أنواع نبات الذنون
9	I-6- التوزيع الجغرافي
10	I-7- استخدامات نبات الذنون
10	I-7-1- استخداماته العلاجية
10	I-7-2- استخداماته الغذائية
11	المراجع
الفصل الثاني : المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة	
14	تمهيد
14	II-1- المركبات الفينولية
14	II-1-1- تعريف المركبات الفينولية
15	II-1-2- مصدر المركبات الفينولية
15	II-1-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الفينولية
15	II-1-4- أقسام المركبات الفينولية
16	II-1-4-1- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار
16	أ- المركبات الفينولية من الشكل C_6 , C_6-C_1 , C_6-C_2
16	ب- المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3
16	ج- المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_1 , $C_6-C_2-C_3$, C_6-C_6 , ثنائي الفلافونيل
17	II-2-4-1- عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار
17	أ- أحماض بنزويك C_7 وأحماض سيناميك C_9
17	ب- الكومارينات
18	ج- تعريف الفلافونويدات

19	• الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونويدات
19	II-1-4-3- المركبات الفينولية المتواجدة على صورة بوليميرات
20	II-1-5- أهمية المركبات الفينولية والفلافونيدات
20	أ- الفينولات
21	ب- الفلافونويدات
21	II-1-6- الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية
22	II-2- فعالية مضادات الأكسدة
	- تعريف الأكسدة
22	II-2-1- الجذور الحرة
22	• أنواع الجذور الحرة
22	• مصدر الجذور الحرة
23	• متابعة حركية الجذور الحرة
23	• أسباب زيادة الجذور الحرة
23	II-2-2- مضادات الأكسدة
23	• تصنيف مضادات الأكسدة
23	أ- مضادات الأكسدة الطبيعية
23	ب- مضادات الأكسدة الاصطناعية
24	II-2-3- المركبات الفينولية و الجذور الحرة و النشاطية المضادة للأكسدة
24	II-2-4- آلية المركبات الفينولية المضادة للأكسدة
25	المراجع
الجزء العملي	
الفصل الثالث : الطرق والوسائل	
29	III-1- تحضير النبتة
30	III-2- الاجهزة و المواد المستعملة
30	III-3- تعريف الاستخلاص
30	III-3-1- الاستخلاص صلب - سائل
31	III-3-2- الاستخلاص على الساخن
31	III-3-3- طريقة استخلاص لنبات <i>Cistanche violacea</i> (Desf.) Beck
33	III-4- الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة
34	III-4-1- الكشف عن القلويدات (Les alcaloïdes)
34	III-4-2- الكشف عن الفلافونويدات (Les flavonoids)
34	III-4-3- الكشف عن التانينات (Les Tanines)
34	III-4-4- الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية (Stérols et trèterpènesles)
34	III-4-5- الكشف عن الكومارينات (Les coumarines)
34	III-4-6- الكشف عن نترينات (Les nitrites)
35	III-4-7- الصابونيات
35	III-4-8- الكشف عن الفينول (phenolics)

35	III-4-9- الكشف عن الكينون (Quinones)
35	III-4-10- الكشف عن (phytosterolis)
35	III-4-11- الكشف عن (Hydro anthraquinones)
35	III-5-التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية
35	III-5-1- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئيةUV-visible
36	III-5-2- التقدير الكمي للمركبات الفينولية
36	III-5-2-1- المنحنى القياسي لحمض الغاليك:
37	III-5-2-2- طريقة العمل
37	III-5-3- التقدير الكمي للفلافونويدات
37	III-5-3-1- المنحنى القياسي لمحلول الروتين
38	III-5-3-2- طريقة العمل
38	III-6- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة
38	III-6-1- اختبار تثبيط الجذر الحر: (DPPH)
39	III-6-2- تحضير الكاشف
39	III-6-3- طريقة العمل
40	III-6-2- دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة FRAP
40	III-7- كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) :
41	III-7-1- مكونات الجهاز
41	III-7-2- طريقة العمل
41	III-7-3- الشروط التجريبية
44	المراجع
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	
46	IV-1- نتائج الدراسة الفيتو كيميائية
47	IV-1-1- الكشف عن القلويدات LesAlcaloïdes
48	IV-1-2- الكشف عن الفلافونويدات Les Flavonoides
48	IV-1-3- الكشف عن التانينات Les Tanines
49	IV-1-4- الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية Stérols et trèterpènesles
49	IV-1-5- الكشف عن الكومارينات Les coumarines
50	IV-1-6- الكشف عن نترات Les nitrites
50	IV-1-7- الكشف عن الصابونين Les saponines
51	IV-1-8- الكشف عن الفينول phenolics
51	IV-1-9- الكشف عن الكينون Quinones
52	IV-1-10- الكشف عن phytosterolis
52	IV-1-11- الكشف عن Hydroanthraquinones
54	IV-2- المقارنة بين نبات الذنون و الترتوث
54	IV-2-1- الشكل الخارجي
54	IV-2-2- المرودود

55	IV-2-3- التقدير الكمي للفينولات
56	IV-2-4- التقدير الكمي للفلافونويدات
56	IV-2-5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة
56	(أ) اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH
57	(ب) اختبار القدرة الإرجاعية لشوارد الحديد FRAP
58	IV-2-6- التحليل الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنباتي الذنون والترثوث باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)
60	خلاصة
61	المراجع
63	الخاتمة
65	الملاحق

قائمة الجداول	
الجزء النظري	
الفصل الأول : دراسة نظرية حول نبات الذنون	
8	الجدول I-1- التصنيف العلمي لنبات الذنون
الجزء العملي	
الفصل الثالث : الطرق و الوسائل	
30	الجدول III-1- يوضح أهم المواد و الأجهزة المستعملة
41	الجدول III-2- يوضح الشروط اللازمة لفصل المركبات الفينولية في العينات باستخدام جهاز HPLC
42	الجدول III-2- يوضح زمن المكوث لبعض المركبات الفينولية.
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	
53	الجدول IV-1- يوضح نتائج المسح الفيتو كيميائي
55	الجدول IV-2- يمثل نسبة مردود المستخلص الميثانولي لنبات الذنون والترثوث
55	الجدول IV-3- يمثل كمية عديدات الفينول لنبات الذنون والترثوث
56	الجدول IV-4- يمثل كمية الفلافونويدات لنبات الذنون والترثوث
57	الجدول IV-5- يوضح قيم IC50 المثبطة لنسبة 50 % من الجذر DPPH للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون والترثوث
58	الجدول IV-6- يمثل تراكيز المركبات الفينولية المتواجدة في كل من مستخلص الذنون والترثوث

قائمة الأشكال	
الجزء النظري	
الفصل الأول : دراسة نظرية حول نبات الذنون	
7	الشكل I-1: صورة فوتوغرافية لنبات الذنون
9	الشكل I-2: يوضح الموقع الجغرافي لمنطقة أخذ النبات المدروس (منطقة الجديدة الجنوبية بلدية سيدي عون ولاية الوادي)
الفصل الثاني : المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة	
14	الشكل II-1: يمثل نموذج بسيط لمركب فينولي
16	الشكل II-2: بعض المركبات الفينولية من الشكل C6, C6-C1, C6-C2
16	الشكل II-3: بعض المركبات الفينولية من الشكل C6-C4, C6-C3
16	الشكل II-4: بعض المركبات الفينولية من الشكل C6-C2-C6, C6- C1-C6 ، ثنائي الفلافونيل
17	الشكل II-5: نماذج لأحماض البنزويك
17	الشكل II-6: نماذج لأحماض السيناميك
17	الشكل II-7: تشكل الكومارينات
18	الشكل II-8: بعض نماذج الكومارينات
18	الشكل II-9: الهيكل الأساسي للفلافونويد
19	الشكل II-10-أ: وحدة التتينات المترابطة
19	الشكل II-10-ب: وحدة التتينات المتحللة
20	الشكل II-10-ج: جزيئة ليقنين
الجزء العملي	
الفصل الثالث : الطرق والوسائل	
29	الشكل III-1: يوضح مراحل تحضير العينة
31	الشكل III-2: يوضح عملية الترشيح للعينة .
32	الشكل III-3: مراحل استخلاص لنبات Cistanche violacea (Desf.) Beck
33	الشكل III-4: تحضير العينة
35	الشكل III-5: رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز المطيافية الأشعة UV-visible.
36	الشكل III-6: يمثل المنحنى القياسي لحمض الغاليك.
37	الشكل III-7: يمثل تشكيل المعقد.
38	الشكل III-8: يمثل المنحنى القياسي للروتين.
39	الشكل III-9: يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة مع الجذر الثابت . DPPH
41	الشكل III-10: يمثل مكونات جهاز HPLC
الفصل الرابع : الطرق والمناقشة	
47	الشكل IV-1: يوضح نتائج الكشف عن القلويدات
48	الشكل IV-2: يوضح نتائج الكشف عن الفلافونويدات بالكاشف القاعدي NaOH
48	الشكل IV-3: يوضح نتائج الكشف عن التانينات بكاشف FeCl3
49	الشكل IV-4: يوضح نتائج الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية بكاشف Liebermann
49	الشكل IV-5: يوضح نتائج الكشف عن الكومارينات
50	الشكل IV-6: يوضح نتائج الكشف عن النترينات
50	الشكل IV-7: يوضح نتائج الكشف عن الصابونين

51	الشكل IV-8- يوضح نتائج الكشف عن الفينول
51	الشكل IV-9- يوضح نتائج الكشف عن الكينون
52	الشكل IV-10- يوضح نتائج الكشف عن phytosterolis
52	الشكل IV-11- يوضح نتائج الكشف عن Hydroanthraquinones
54	الشكل IV-12- نبات الذنون
54	الشكل IV-13- نبات الترتوث
55	الشكل IV-14- يوضح نسب مردود المستخلص الميثانولي للنبتين
55	الشكل IV-15- يوضح التقدير الكمي لعديدات الفينول لنبات الذنون والترتوث في المستخلص الميثانولي الخام
56	الشكل IV-16- يوضح التقدير الكمي للفلافونويدات لنبات الذنون والترتوث في المستخلص الميثانولي الخام
57	الشكل IV-17- يوضح قيم IC50 المثبطة لنسبة 50 % من الجذر DPPH للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون والترتوث
58	الشكل IV-18- قيم الامتصاصية للمستخلص الميثانولي لنباتي الذنون والترتوث لاختبار FRAP
59	الشكل IV-19- المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون
59	الشكل IV-20- المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنبات الترتوث

R% : المردود

HPLC : كروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء

UV-visible : مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية

I % : النسبة المئوية للتثبيط

A₀ : الإمتصاصية الضوئية للجذر الخالية من العينة.

A_i : الإمتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + العينة).

DPPH : (2,2'-diphenyl- 1 –picrylhydrazy)

IC₅₀ : تركيز المستخلص الازم لتثبيط 50% من الجذر الحر DPPH

The Ferric Reducing Antioxidant Power : FRAP

% : النسبة المئوية

nanometer : nm

gramme : g

milligramme : mg

millilitre : ml

مقدمة عامة

مقدمة:

منذ أن خلق الله الإنسان و أوجده على هذه الأرض، أوجد معه أسباب فوائده كما أوجد أسباب بقاءه، فخلق فيه الآفات والأمراض وخلق معها أسباب علاجها. وكما جعل النباتات غذاء لا يستغنى عنه في الحياة، جعل فيها أيضا الدواء الشافي للأمراض. ووهب الله للحيوان الذي لا يعقل غريزة الإهتمام إلى نوع النبات الذي يلائمه ويحفظ وجوده، وترك للإنسان العاقل أن يهتدي لما يناسبه من النباتات بالبحث والتجربة بفضل العقل الذي خصه به من بين سائر الحيوانات.[1]

ولا أحد ينكر أفضال الصناعة الدوائية في إنقاذ البشرية من ويلات الأوبئة وآلام الآفات المرضية، فلكيت بذلك رواجاً وتوهجاً، وبالرغم من أن هذه الصناعة تطلعنا بكل جديد مع التطورات الصناعية، إلا أنها باتت تشكل هاجساً يؤرق البشرية لما لازمها من آثار جانبية ومضاعفات علاجية إثر الفعل التراكمي مما جعل منظمات الصحة الدولية (OMS) تنادي بالتعامل العقلاني والحذر، بل وتعالى الصيحات للإصطلاح مع الطبيعة والعودة إلى المنتجات الطبيعية ومشتقاتها التي تشكل 50% من العقاقير المتداولة إكلينيكياً، [2] فقد عرف الإنسان منذ فجر التاريخ الأعشاب و فوائدها العلاجية المختلفة، فمن خلال المشاهدة والتجربة والبحث عبر آلاف السنين إزدادت المعارف عن النباتات الطبية وخصائصها العلاجية، قد برع الصينيون والمصريون القدماء في علم التداوي بالأعشاب حيث إستخدموا العديد من هذه الأعشاب في علاج الكثير من الأمراض بالإضافة إلى إستخدامها في التحنيط و كذلك الزينة والتجميل. [3][4]

تحتوي النباتات الطبية على عدد كبير من المركبات الفعالة التي تعكس الإمكانات العلاجية لهذه النباتات فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض، كما يخلو إستعمال هذه العقاقير من الآثار الجانبية الضارة التي تصاحب الأدوية المصنعة أحيانا ومن العوامل الأخرى التي أدت إلى تنامي إستخدام النباتات الطبية والمنتجات الطبيعية الأخرى ظهور أمراض جديدة مصحوبة بتعقيدات شديدة لم يتم إيجاد علاج مناسب لها حتى الآن. [5]

إن شساعة القطر الجزائري وموقعه الجغرافي وتعدد مناخاته قد جعله مكانا مناسباً لنمو العديد من الأنواع والأصناف النباتية المختلفة وهذا ما دفع بالباحثين لدراساتها وتحليلها كيميائياً. [6]

كما يتميز المظهر العام لمنطقة وادي سوف بغطاء نباتي مفتوح وقليل الكثافة، فمن ناحية التنوع في عدد النباتات البرية محدود ولا يتعدى 120 نوع نباتي بري، حيث تحتل هذه النباتات مكانة مهمة لدى سكان المنطقة في حياتهم اليومية فمن النباتات ما تستعمل في الغذاء ومنها ما يستعمل في الرعي وجزء منها يستعمل في الصيدلة والتداوي كنباتات طبية. [7]

لهذا اخترنا أن نركز دراستنا حول تثمين إحدى النباتات الصحراوية النامية بمنطقة وادي سوف التي اشتهرت باستخدامها في المجال الطبي والغذائي، حيث وقع اختيارنا على نبات الذنون

(*Cistanche violacea*) نظرا لإستخدامه الواسع قديما، وقصد التعريف بفوائده والمركبات الفعالة فيه وكذا تقدير الفعالية لبيولوجية والمحتوى الفينولي.

ومن أجل إنجاز هذا البحث تم تقسيم العمل إلى جزئين رئيسيين:

*الجزء الأول نظري والذي ينقسم إلى فصلين أيضا، حيث يشمل الفصل الأول الدراسة التصنيفية للنبات المدروس، أما الفصل الثاني فتمحور حول دراسة المركبات الفينولية ومضادات الأكسدة وخصائص كل منها.

*الجزء الثاني فتمحور حول الدراسة التطبيقية التي تنقسم إلى فصلين أيضا، حيث تم في الفصل الأول تحديد منطقة أخذ العينة النباتية وسرد طرق العمل المتبعة، أما بالنسبة إلى الفصل الثاني فقد تم فيه وضع النتائج التي حصلنا عليها ومناقشتها بالإضافة إلى مقارنتها بدراسة سابقة، لنختم بعدها بحثنا بخلاصة عامة حول هذه الدراسة.

المراجع

المراجع بالعربية :

- [1] أحمد شمس الدين، التداوي بالأعشاب والنباتات قديما وحديثا، الطبعة الأولى، دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان، (2000)، ص1.
- [5] عبد الرحيم بن سلامة، النشاطات المضادة و المثبطة للإنزيم المؤكسد للكرانثين لمستخلصات أوراق. *Hertiacheirifolia L*، مذكرة ماجستير في البيو كيمياء، جامعة فرحات عباس، سطيف، (2012).
- [6] باز مسعود، إستخلاص، فصل وتحديد بنيات منتج الأيض الثانوي عند نبات جنس *Centaurea*: *C.Sphaerocephala.l*، مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري، قسنطينة، (2006).
- [7] حليس ي، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير، مطبعة الوليد، الوادي، (2007)، ص 24 و124.

المراجع بالفرنسية :

- [2] Velazquez E, Tournier H A, Mordujovich P, De Bushiazso G, Schinella G R, Antioxidant activity of paragan plant extracts, *Fitoterapia*, 74, (2003) P 91-97.
- [3] Maarouf A M, Récouverte des plantes médicinales, *Expérience du Qatar*, (2002).
- [4] Ibrahim S S, Abdallah E, Abdelkareem M S, *médicinales aromatique et toxiques du monde arabe*, Ed OADA, Egypte, (1988).

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة نظرية حول نبات الذنون

Cistanche tinctoria (Desf.) Beck

تمهيد:

عرف الإنسان الأعشاب الطبيعية النافعة والسامة منذ الأزل واستعملها في غذائه و دوائه، بشكلها الطبيعي أو بشكل مساحيق، أو مستخلصات مائية أو غيرها ... ومازال يتوارث ذلك جيلا بعد جيل مستفيدا من النباتات البرية التي تنبت عفويا كما طور زراعتها لنفس الغاية.

ومن هذا المنطلق يستحسن استعمال هذه النباتات في حياتنا اليومية والتي تمثل اتجاها جديدا في طريق العلاج بالطب البديل، لذلك لابد أن نتعرف على فوائد تلك الأعشاب الطبية في الغذاء وعلاج الأمراض. [1] ومن أهم هذه الأعشاب عشبة الذنون.

I. دراسة عامة حول عشبة الذنون:**1.I. العائلة الهالوكية (Orobanchaceae)**

تنتمي العائلة الهالوكية أو الجعفلية (الخانقية) إلى رتبة الشفويات (Lamiales)، [2] تضم 60 جنس و 1700 نوع موزعة في جميع مناطق العالم، و أكثر شيوعا في المناطق المعتدلة في نصف الكرة الأرضية الشمالي، [3] تعتبر جميع نباتاتها أعشاب حولية ثنائية الحول أو معمرة تمتاز بأنها متطفلة على جذور النبات وبعضها تكون خالية من الكلوروفيل، [4] تخترق جذور النبات المضيف بواسطة ممصة واحدة كبيرة (في نوع holoparasites) وهي نباتات خالية تماما من صبغات التمثيل الضوئي) أو عدة ممصات صغيرة (في نوع hémiparasites) وهي نباتات تحتوي على الكلوروفيل وقادرة على التمثيل الضوئي [5].

حيث تتميز هذه النباتات [4]:

*أوراقها: حرشفية

*أزهار: منفردة تخرج من آباط الأوراق و يوجد على عنق الزهرة قنابان، والزهرة خنثى وحيدة التناظر سفلية.

*الكأس: مكون من 2-5 سبلات ملتحمة من الأسفل و قد يكون مشقوقا من الجانب، و في بعض الأنواع نجد السبلتين الأماميتين قد اتحدتا مع الجانبين أما السبلة الخلفية فغير موجودة.

*الطلع: يتكون من 4 أسدية [6] فوق بتلة والسداة الخلفية غائبة أو عقيمة وقد يلتصق كل إثنين معا وتتفتح طوليا.

*التويج: مكون من 5 بتلات ملتحمة أنبوبية [7] أو قمعية، وقد تكون على هيئة الشفتين وتتركب الشفة العليا من بتلتين أما الشفة السفلى فمن ثلاث بتلات والبتلات مترابطة في البرعم الزهري.

*المتاع: مكون من كربلتان ملتحمتان، و قلم واحد، و ميسم مفصص إلى فصين نادرا، و يوجد مسكن واحد، يحوي بويضات عديدة على مشيمات جدارية، تتفرع فتظهر كأنها أربع مشيمات.

2.I. جنس Cistanche:

يوجد في الجزائر 09 أجناس تابعة لعائلة Orobanchaceae التي نذكر من بينها جنس *Cistanche*، و يعتبر الجنس الأكثر أهمية في العائلة، حيث يضم حوالي 22 نوع معروفا في العالم، كما يظهر جنس *Cistanche* مقاومة قوية للظروف البيئية القاسية لذا ينتشر بكثرة في المناطق القاحلة وشبه القاحلة، و نذكر من أهم الأنواع التابع له *Cistanche tubulosa*، و هو نبات شائع في الصحراء الوسطى، و *Cistanche tinctoria*، و هو نوع يعيش في الصحراء الوسطى، و النوع *Cistanche violacea* (Desf.) Beck و هو نبات مستوطن في شمال إفريقيا [8][9].

3.I. تعريف نبات الذنون:

وهي كلمة عربية أصلية أطلقها العرب على النبات منذ القدم، وهي نباتات متطفلة معمرة، وهي طفيليات تعتمد كلياً على النباتات المضيفة (holoparasites). لا تحتوي على اليخضور، ذات أوراق ضامرة يعيش متطفلاً على جذور النباتات المثبتة للرمل، خاصة نباتات العائلة الرمرامية (Cgenopodiceae)، كما يحتوي على سيقان ممتلئة، سميكة و أسطوانية، يتراوح طولها بين 15 و 35 سم غالباً و قطرها من 20-30 ملم و يتكون من تويج بنفسجي مصفر و الأسدية ملتحمة مع التويج في المنتصف، و تزهر في الفترة ما بين جانفي و أفريل [8] [10].



الشكل. 1.I: صورة فوتوغرافية لنبات الذنون

4.I: التصنيف العلمي للنبتة:

الجدول 1.I: التصنيف العلمي لنبات الذنون *Cistanche violacea* (Desf.) Beck [11]

الفئة التصنيفية	التصنيف العلمي	Groupes de classification
المملكة	<i>Plantea</i>	Regne
الشعبة	<i>Spermatophytes</i>	Embranchement
تحت الشعبة	<i>Angiospermes</i>	Sous embranchement
القسم	<i>Eudicots</i>	Classe
تحت القسم	<i>Astèridèes</i>	Sous classe
الرتبة	<i>Lamiales</i>	Ordre
العائلة	<i>Orbanchaceae</i>	Famille

* الأسماء العلمية الأخرى:

**Phelipaea violacea* Desf . [6]

**Orobancha phelipaea* Willd .

**Orbanche violacea* (Desf.) Beck.

5.I: أنواع الذنون *Cistanche violacea* (Desf.) Beck

للذنون عدة أنواع منها [10]:

- الذنون الأصفر أو الهالك الريحي (الإسم العلمي: *Cistanche phelypaea* أو *Cistanche lutea*)
- الذنون الأفغاني (الإسم العلمي: *Cistanche afghanica*)
- الذنون الأنبوبي (الإسم العلمي: *Cistanche tubulosa*)
- الذنون البنفسجي (الإسم العلمي: *Cistanche violacea*)
- الذنون الصحراوي (الإسم العلمي: *Cistanche deserticola*)
- الذنون الصيني (الإسم العلمي: *Cistanche sinensis*)
- الذنون المغربي (الإسم العلمي: *Cistanche mongolica*)
- الذنون المغولي (الاسم العلمي: *Cistanche mongolica*)

I-6- توزيعه الجغرافي:

نبات ينمو في التربة الرملية والمالحة، ينتشر غالبا في النصف الشمالي للكرة الأرضية في الأراضي القاحلة و الصحراوية، حيث نجده بكثرة في المناطق الصحراوية لشمال إفريقيا [10][12] .

أما العينة التي تمت دراستها فتم أخذها من منطقة الجديدة الجنوبية ببلدية سيدي عون ولاية الوادي.



الشكل I-2- يوضح الموقع الجغرافي لمنطقة أخذ النبات المدروس (منطقة الجديدة الجنوبية ببلدية سيدي عون ولاية

الوادي) (Google Earth)

7.I. استخدامات نبات الذنون (*Cistanche violacea (Desf.) Beck*):**1.7.I : استخداماته العلاجية :**

يستخدم الجزء الهوائي للنبات في التخفيف من أعراض مرض السكري، وعلاج اضطرابات المعدة والإسهال، كما يستخدم الجزء الأرضي كمنشط جنسي ومعالج للعقم، أيضا تستعمل مركباته الفعالة كمضادات للالتهاب، خاصة التهاب المفاصل [8] [12].

2.7.I : استخداماته الغذائية:

كان يستخدم الجزء الأرضي منذ القديم كدقيق أو بهارات في إعداد الطعام، كما يستعمل أيضا كخضار [10] [12].

ومن شبيهات نبات الذنون وجدنا ما يعرف بنبات الترتوث *Cistanche tinctoria (Desf.) Beck* حيث اختلفت التسمية في منطقة واد سوف لاقتربه من نبات الذنون من ناحية الشكل وطريقة العيش، لكن عرف بالترتوث قديما، و يسمى أيضا طرطوس وفطر مالت و طرثوث، و ينتمي نبات الترتوث إلى جنس *Cistanche Hoffm.Et Link* الذي يضم حوالي 22 نوع والمنتمي إلى الفصيلة الهالوكية *Orobanchaceae*، ينمو في المناطق الرملية مرتفعة الملوحة على الشواطئ وجوانب الطرقات.

يتميز الترتوث بأنه لحمي طري، لونه مصفر إلى بني، إرتفاعه من 20 إلى 60 سم. الساق قائمة، بسيطة، ثخينة. الأوراق دائمة، متتالية شبيهة بالميزان، حيث يتراوح طولها من 2 إلى 5 سم. عرضها من 1 إلى 2 سم. الجزء المزهر يغطي نصف إرتفاع النبات القائم، النورة عنقودية، الأزهار تتجمع في عناقيد كثيفة طولها من 2 إلى 4 سم. القنابات بيضاوية إلى رمحية الشكل، طولها من 1 إلى 2 سم. كأس الزهرة خماسي بفصوص متحدة من الأسفل، منفرج الفصوص، بطول 1-2 سم وعرض 1 سم. التويج جرسى مائل أو قمعي الشكل، غالبا بلون أصفر و الفصوص بلون أرجواني، طوله 2-4 سم، عرضه 1-2 سم. و يزهر في الفترة الممتدة بين شهري جانفي ومارس [13] [14] [15].

المراجع

المراجع بالعربية :

- [1] مدحت سيف نصر، بعض النباتات الطبية النامية في مدينة مكة المكرمة، بحث مقدم إلى ندوة مكة المكرمة عاصمة الثقافة الإسلامية، السعودية، (1426 هـ).
- [4] سعد ش إ، النباتات الزهرية: نشأتها، تطورها، تصنيفها، دار الفكر العربي، القاهرة، مصر، (1994)، ص: 312-592.
- [9] خالد الشنطة ن، *Cistanche phytochemical and Antioxicdant Investigation of violacea (Desf.) Beck*، مذكرة ماجستير، كلية الصيدلة، جامعة طرابلس، ليبيا، (2010)، ص: 1.
- [10] حليس ي، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتية الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير، مطبعة الوليد، الوادي، (2007)، ص: 24 و 124.
- [13] بابا عيسى ف، بابا عيسى ج، جمعة م خ، موسوعة النباتات المفيدة، توزيع مكتبة ابن النفيس، دمشق، سوريا، (2002)، ص: 277.
- [14] ابن البيطار، الجامع لمفردات الأدوية و الأغذية، الطبعة الثالثة، دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان، (1992)، ص: 136.
- [15] كريم م ف، الدخيل ع ا ج، راو ك ن، النباتات المحتملة للملوحة في دولة الإمارات العربية المتحدة، المركز الدولي للزراعة الملحية، دبي، الإمارات العربية المتحدة، (2013)، ص: 172.

المراجع بالفرنسية:

- [2] Musselman L J, The biology of striga orobanche and other root-parasitic weeds, Annual Reviews Phytopathol, 18, (1980), P89-463.
- [3] Botineau M, Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs Edition TEC et DOC, Paris, France, (2010), P385-1051.
- [5] Lie D K, Flora of china 18, Missouri Botanical Garden, Illinois, USA, (1998), P:229-243.
- [6] Foley M, J Y, Orobanchaceae of the Arabian Peninsula, Anales jardin botanico de Madrid, 58(2), (2004), P231-237.
- [7] Wen-Bin Y, Pan-Hui H, De-Zhu L, Wang H, Incongruence between Nuclear and Chloroplast DNA phylogenies in pedicularis Section Cection Cyathophora (Orobanchaceae), Plos, Republic of China, 8(9), (2013), P1-2.

[8] Bougandoura N A, Brigida D, Souad A, Monica S, Mekkioua R, Fiorentino A, Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract, Published by Elsevier B.V, 249(190), (2016), P252.

[11] Zedam A E, Etude de la flore endémique de la zone humide de Chott El Hodna Inventaire –Préevation, Thèse de doctorat Biologie Végétal, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie, (2015), P104.

[12] Bouchouka E, Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes, Thèse de doctorat phytochimie, Faculte des sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, (2016), P20-21 et 30-31 et 50-57.

الفصل الثاني

مركبات الفينولية و المضادات

الأكسدة

تمهيد :

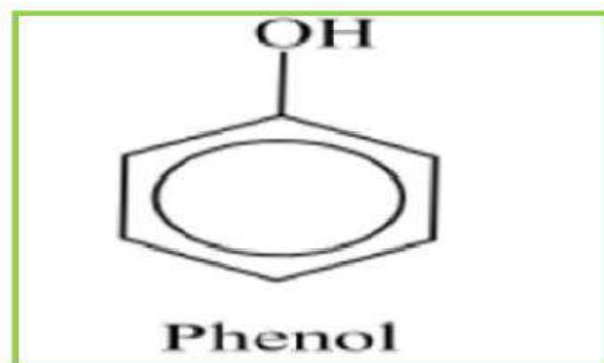
المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية ذات أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات داخل النبات [1]، حيث تركز إهتمام الباحثون في السنوات الأخيرة على المركبات الطبيعية التي تتميز بصفات علاجية واقتصادية مهمة ومن بينها المركبات الفينولية، إذ استغلت هذه المركبات بصفة واسعة في مجال العلاج النباتي وفي بعض الاختصاصات الأخرى نظرا لخواصها العلاجية المتعددة [2]. ولعل أهم فعالية تميزت بها هذه المركبات ولققت انتباه الباحثين هي الفعالية المضادة للأكسدة.

II -1- المركبات الفينولية:**II-1-1- تعريف المركبات الفينولية:**

تشكل المركبات الفينولية المستخلصة من النباتات حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها ولتباين هياكلها، الأمر الذي يستدعي دراستها في مراجع متخصصة على هيئة مجموعات وفقا لهذه الهياكل.

والعنصر الأساسي المميز لها هو وجود حلقة بنزينية واحدة على الأقل، حاملة لمجموعة هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى (إيثر، أستر، سكر) غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية، إذ أن هناك منتجات أيضا ثنائية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة، مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة، وعليه ليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا ينبغي تعريفه كالاتي:

مشتق غير آزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى تكون حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيمييك أو عديد الأسيتات [3].



الشكل II-1: يمثل نموذج بسيط لمركب فينولي

II-1-2- مصدر المركبات الفينولية:

تتواجد المركبات الفينولية و بصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار و الأوراق و ذلك بشكل إيتروزيديات تذوب في الماء وتتركز في حوصلة الخلية [4]، كما تعتبر الفواكه والخضروات من أهم المصادر حيث تتراوح ما بين 100 و 150 ملغ/ غ في بعض الفواكه مثل التفاح، العنب، الكرز، المشروبات مثل: الشاي، القهوة، النبيذ، بينما توجد بصورة أقل في الخضر والحبوب، حيث تحتوي الخضر ما بين 25 و 100 ملغ/ غ [5][6].

II-1-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للأحماض الفينولية :

- الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية، و تذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصوديوم و كربونات الصوديوم.
- الأحماض الفينولية تذوب و تستخلص بمذيبات عضوية قطبية في وسط حمضي مخفف، كذلك كل الصيغ المستبدلة (*hétérosidiques*) للمركبات الفينولية تذوب في الماء.
- كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة خاصة في الأوساط القلوية، حيث أن أحماض السيناميك تعطي تراكيب تظهر تحت تأثير الأشعة فوق البنفسجية.
- عندما يتأكسد حمض السيناميك في الوضع أرثو (ortho) للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط من الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات.

II-1-4- أقسام المركبات الفينولية:

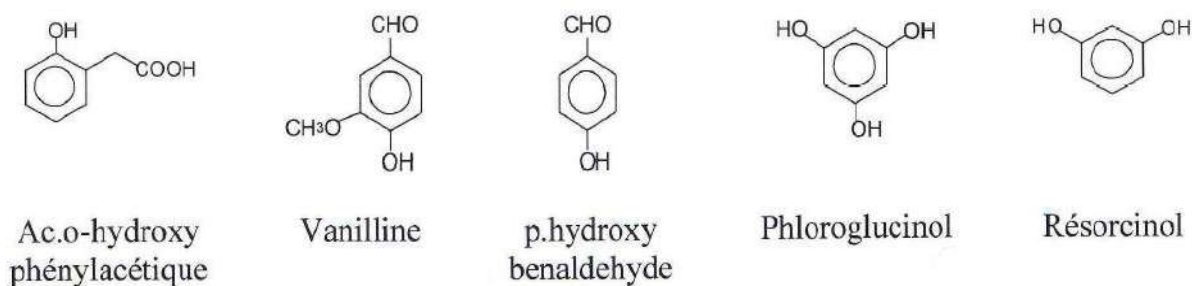
يمكن تقسيم المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيدها إلى :

- عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار
- عائلة المركبات الفينولية النباتية كثيرة الانتشار
- المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات [3].

1-4-1-II- عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار:

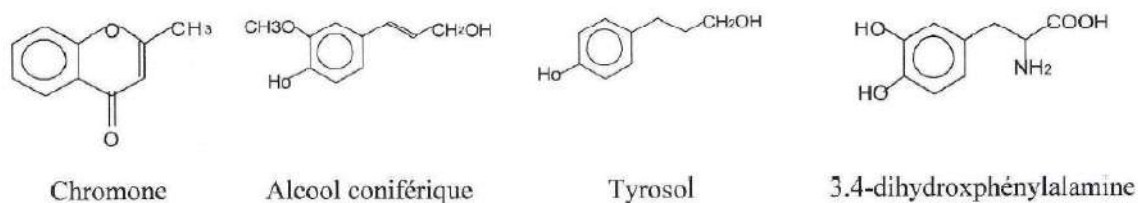
أ- المركبات الفينولية من الشكل C_6 , C_6-C_1 , C_6-C_2 :

وهي مركبات ذات هياكل بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، و تعد في معظم الأحيان مكونات للزيوت الطيارة وهي في الغالب عبارة عن كحولات، ألدهيدات أو كيتونات.



الشكل II-2: بعض المركبات الفينولية من الشكل C_6 , C_6-C_1 , C_6-C_2

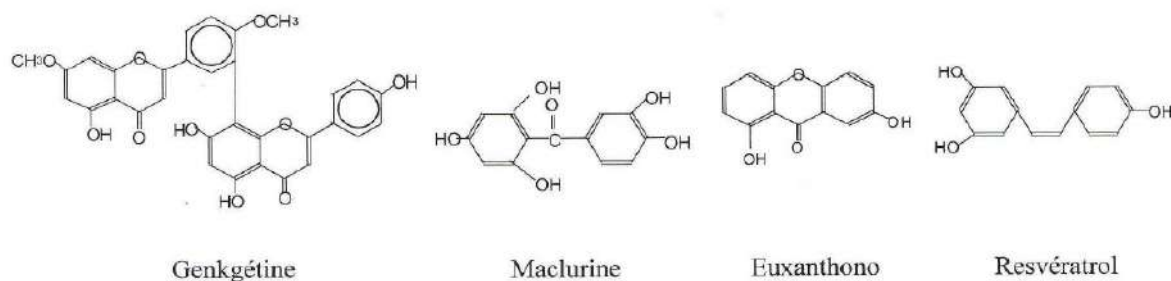
ب- المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3 : بعض الهياكل موضحة في الشكل الموالي:



الشكل II-3: بعض المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_4 , C_6-C_3

ج- المركبات الفينولية من الشكل $C_6-C_2-C_6$, $C_6-C_1-C_6$ ، ثنائي الفلافونيل:

بعض منها في الشكل التالي :

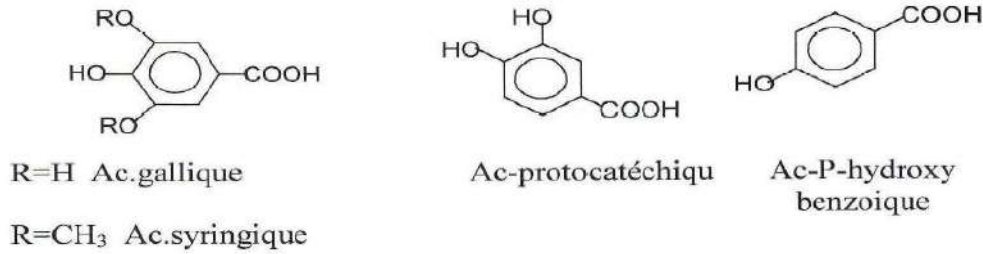


الشكل II-4: بعض المركبات الفينولية من الشكل $C_6-C_2-C_6$, $C_6-C_1-C_6$ ، ثنائي الفلافونيل

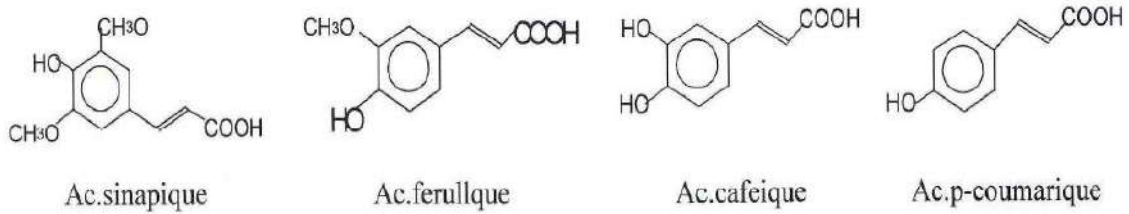
II-1-4-2- عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار:

أ- أحماض بنزويك C_7 وأحماض سيناميك C_9 : الشكلين المواليين يوضحان مختلف أقسام

هذه المركبات



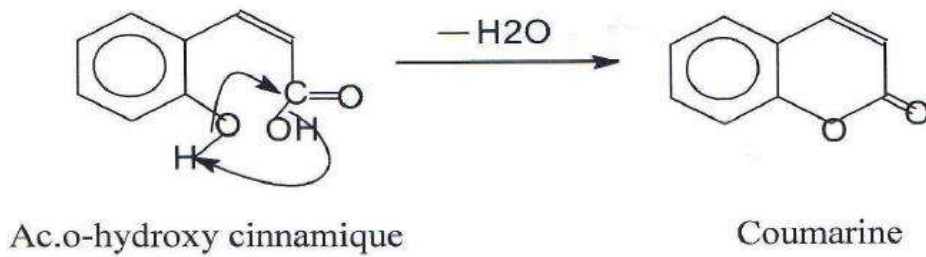
الشكل II-5: نماذج لأحماض البنزويك



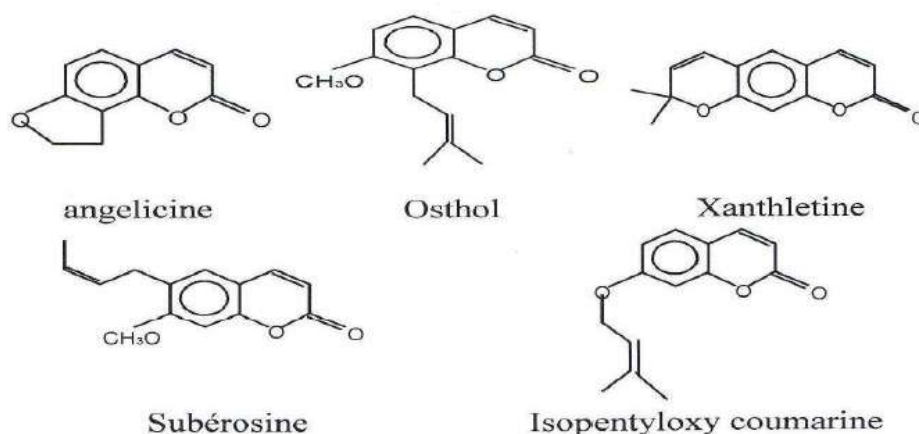
الشكل II-6: نماذج لأحماض السيناميك

ب- الكومارينات: تتشكل حلقتين سداسيتين إحداها عطرية والأخرى مغايرة ذات البنية C_6-C_3

، شكلها العام وكيف تتكون وبعض الأمثلة موضحة في الشكلين التاليين:



الشكل II-7: تشكل الكومارينات

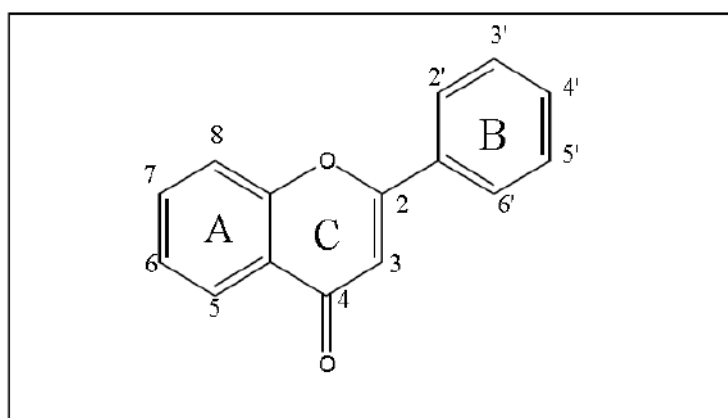


الشكل II-8: بعض نماذج الكومارينات

ج- تعريف الفلافونويدات:

كلمة الفلافونويدات مشتقة من اللفظ اللاتيني (Flavous) التي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات ملونة تنتشر في معظم الأصناف النباتية (إلا أن وجودها قليل في الطحالب، السرخس) خاصة عند كاسيات البذور تتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي من النبات على شكل مركبات ذات أساس سكري (وجود السكر في الجزيئة يكسبها القدرة على الإذابة في الماء) أو على شكل مركبات حرة في الفجوات والسيتوبلازما والأغشية الليلية، تم استخراج أكثر من 4000 فلافونويد طبيعي.

والفلافونويدات هي مركبات ملونة عموما ذات كتل جزيئية منخفضة تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتي عطريتين A و B مرتبطتين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أكسجين من الصيغة C₆-C₃-C₆ كما هو موضح في الشكل الموالي [3]:



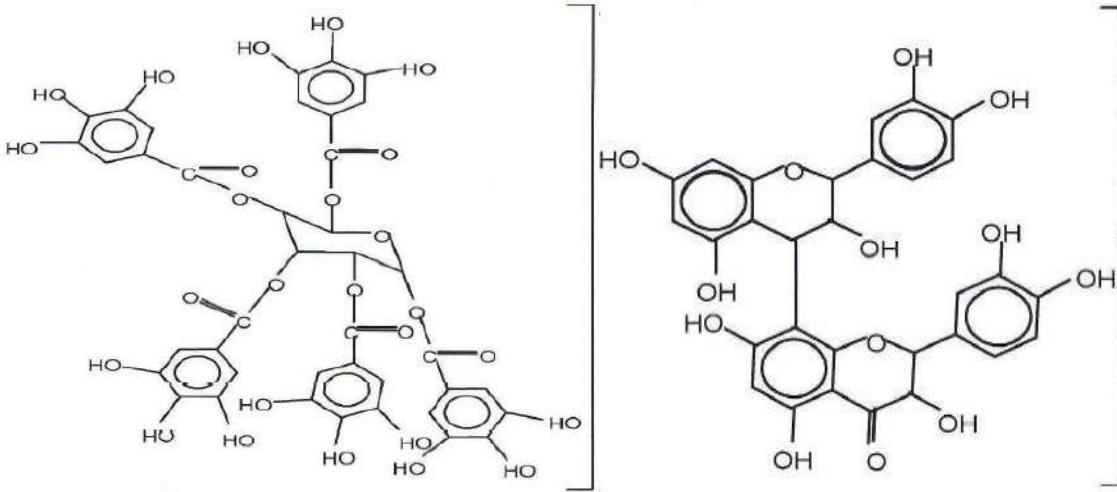
الشكل II-9: الهيكل الأساسي للفلافونويد

• الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفلافونويدات:

- الفلافونويدات مركبات ملونة، وهي تتواجد في جميع أجزاء النباتات الراقية حيث تتواجد بكثرة في الجزء الهوائي وخاصة الأوراق و الأزهار إذ تسبب تلوين هذه الأخيرة.
- تعتبر الفلافونويدات مركبات ذات صفة حامضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية، و تتصف الفلافونويدات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات هيدروكسيل حرة أو سكر بالصفة القطبية، و بالتالي فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل: الميثانول، الإيثانول، الأسيتون و الماء.
- المركبات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات و الفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجاميع الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر [2] [7].

II-1-4-3- المركبات الفينولية المتواجدة على صورة بوليميرات:

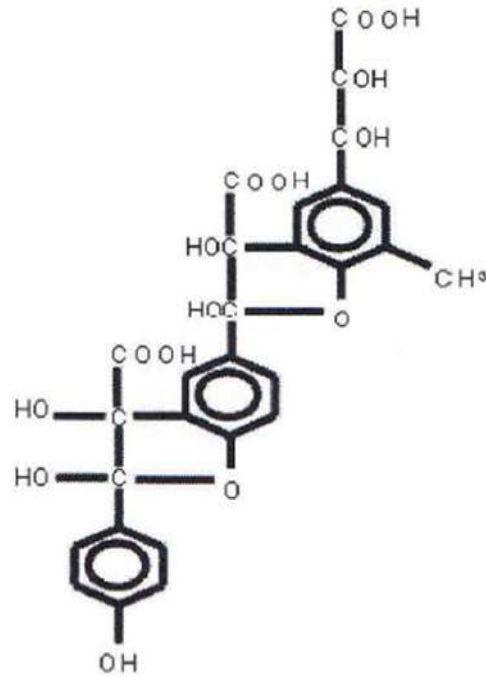
- **التانينات:** هي مركبات ذات بنى معقدة وزنها الجزيئي من 500 إلى 3000 وحدة، تستعمل في الدباغة طعمها غير مستساغ ترسب القلويدات والبروتينات وهي نوعان:
- **التانينات المتحللة:** وهي عبارة عن شق سكري مرتبط بوحدات من حمض غاليك وتذوب في الماء.
- **التانينات المتراكمة:** لا تذوب في الماء تملك البنية العامة للفلافونيدات [3].



الشكل II-10-ب: وحدة التانينات المتحللة

الشكل II-10-أ: وحدة التانينات المتراكمة

- **ليقتين:** هي بوليمرات ذات بنية منتظمة كارهة بشدة للماء مكونة من أساس من وحدات فنيل بروبان C6-C3، وهي كذلك شق غير سكري قليلة التواجد في الخضر والفواكه [3].



الشكل II-10-ج: جزيئة ليقنين

II-1-5- أهمية المركبات الفينولية والفلافونيدات:

أ- الفينولات:

بالرغم مما تقدمه المركبات المستخلصة من النباتات من فوائد عظيمة للإنسان، فإن دورها للنبات نفسه لم يكن معروفا، فكتفت الأبحاث على زراعة الأنسجة النباتية داخليا (التجارب التي تحدث على النبات وهو يقوم بجميع وظائفه *in vivo*) وخارجيا (التجارب التي تتم داخل أنابيب الاختبار *in vitro*) أدت إلى معرفة الدور الفيزيولوجي لمنتجات الأيض الثانوي، فهي تؤمن العيش للنبات في ظروف حياته القاسية. يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو و تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة و ذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو و قد لوحظ أيضا أن الفينولات تلعب دورا في وقاية النباتات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات أو مضادات حيوية، فبعض النباتات تفرز مركبات فينولية على مستوى الأوراق والجذور كمواد سامة ضد نمو النباتات الطفيلية [8].

بالإضافة إلى أنها تملك خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية عامة وعلى الإنسان خاصة فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للإلتهابات، منها مثبطة ومنها محفز للإنزيمات و مضادة للأورام [3].

كما أن لها أهمية كبيرة في الصناعات الغذائية حيث تستعمل كمضادات للتأكسد ومثبطات للإنزيمات. كما يتم استعمالها في صناعة مواد التجميل حيث تحمي البشرة من الأشعة فوق البنفسجية [3].

ب- الفلافونويدات:

- للفلافونويدات وظائف وأدوار عديدة عند النبات منها الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية (UV) وضد الأكسدة.
- الدفاع ضد مسببات الأمراض.
- التحكم في نشاط الهرمونات المسؤولة عن النمو مثل الأوكسينات.
- أهميتها في تلوين الأزهار و الفواكه، ففي الأزهار تكون مسؤولة عن إعطاء اللون المميز الذي يكون بمثابة العامل المساعد على جلب مختلف ملقحات النبات.
- لها تأثيرات مضادة للفطريات و للميكروبات والحشرات [9].

II-1-6- الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية :

تملك المركبات الفينولية خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة لما لها من تأثيرات على الكائنات الحية، فهي تحمي الأوعية الدموية، مضادة للإلتهابات منها مثبطه ومنها محفز للإنزيمات، مضادة للأورام، تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية (OH) فكلما كثر وجودها في المركب زادت في نشاطه المضاد (المقاومة للأورام)، تعد قناصات (مفخخة) للجذور الحرة فهي تمنح الهيدروجين ليقف عملية انتشار الجذور [3].

بالإضافة إلى خصائصها المضادة للأكسدة تعمل بعض الفلافونويدات كعوامل ممخلبة للمعادن (metal-chelating) وبالتالي تثبط تفاعل (fenton) الذي يعتبر مصدر مهم لإنتاج الجذور الأوكسجينية النشطة. أيضا تعمل على التقليل من نفاذية وهشاشة الشعيرات الدموية، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية والوظيفية للشعيرات الدموية.

وكذلك فإن لها دورا مضادا للإلتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابوليزم حمض الأراشيدونيك. كما أن الفلافونويدات تلعب دورا في تثبيط تطور السرطان، حيث تعمل على تنظيم التكاثر الخلوي من خلال تثبيطها لطرق التنبيه الداخل خلوي، كما تعمل على تحريض الموت المبرمج للخلايا السرطانية [10].

عموما الفلافونويدات هي مركبات غير سامة و متقبلة لدى الإنسان، إن كمية 1 غ من المركبات الفلافونيدية المختلطة كافية من الناحية الصيدلانية لتفي إحتياجات الأنسجة من هذه المواد وعدم الوقوع في الأمراض [11].

II-2- فعالية مضادات الأكسدة :**- تعريف الأكسدة :**

عندما تتلاقى الرطوبة مع الحديد فإنه يخضع لعملية كيميائية تسمى الأكسدة و التي ينتج عنها قشرة حمراء المعروفة بإسم الصدأ. عملية الأكسدة هذه التي تجعل المعدن يصدأ تعمل بنفس الطريقة داخل أجسامنا و تعرف الأكسدة بأنها تفاعل مادة ما مع الأكسجين أين يفقد حينها O_2 إلكترونات أثناء تفاعلاته مع الجزيئات الأخرى حيث تصبح هذه الجزيئات نشطة جدا و طلبة تسمى بالجذور الحرة [12].

II-2-1- الجذور الحرة:

الجذور الحرة هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة أو موجبة، تحتوي في تركيبها الإلكتروني على إلكترون منفرد (غير متزاوج) أو أكثر، ويكون معظمها شديد الفعالية (تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة إقتناص ما ينقصها من الإلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي، تتولد هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسيطة شديدة الفعالية وتنتهي بنهايتها، وتتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات التسلسلية والتفاعلات المتعاقبة وبعض التفاعلات الأخرى مثل البلمرة والتفاعلات الضوئية وتلك المحثة بتسليط الأشعة الكهرومغناطيسية والدقائق الإشعاعية الأخرى [3].

• أنواع الجذور الحرة:

الجذور الحرة أنواع منها تلك التي تحتوي على إلكترون منفرد واحد ومتعادلة الشحنة مثل: ذرات الهيدروجين، النيتروجين، الفلور، الكلور، البروم، اليود، جذور الميثيل (CH_3)، الإيثيل (C_2H_5)، الفينيل (C_6H_5)، الهيدروكسيل (OH) و البيروكسيد (HOO) ومنها التي تحتوي على إلكترونين منفردين أو أكثر (غير مزدوجة) ومتعادلة الشحنة مثل ذرة الأكسجين، جذور (NH) وجذور الميثيلين (CH_2) حيث تدعى هذه الجذور بالجذور الثنائية وتكون هذه الجذور أشد فعالية وأقل عمرا من جذور النوع السابق، أما الجذور الحرة الموجبة و سالبة الشحنة فهي جذور شديدة الفعالية وذات أعمار قصيرة جدا [3].

• مصدر الجذور الحرة:

للجذور الحرة عدة مصادر كالمركبات البترولية والمواد الملونة والحافظة، إضافة إلى المواد المنظفة والكحول وكذلك شوارد المعادن الثقيلة والقطران في التبغ [13].

• متابعة حركية الجذور الحرة:

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة، القصيرة منها لا يمكن متابعة حركية تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل أطياف تجزئ الكتلة وأطياف رنين البرم الإلكتروني، أما الجذور المستقرة نسبياً فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها في الطرق التقليدية مثل قياس التغير بالتوصيلة الكهربائية بوحدة الزمن، أو التغير بالتركيز المولاري بوحدة الزمن، أو التغير بحجم الغاز عن طريق التصحيح بالحامض أو القاعدة. ولكن أدق هذه الطرق هي قياس تغير كثافة الضوء الممتص بوحدة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (UV-V) [3].

• أسباب زيادة الجذور الحرة:

- استهلاك كميات كبيرة من الأكسجين.
- يزيد تشكل الجذور الحرة بإزدياد سرعة الاستقلاب كما يحدث في حالة التوتر والشدة.
- يزيد بزيادة عوامل التلوث البيئي المختلفة التي يتم تحطيمها في الجسم لتتحول إلى جذور حرة يزيد بالتدخين ولأسباب عديدة [13].

II-2-2- مضادات الأكسدة:

تعريف: هي مجموعة من العناصر والمركبات الموجودة بصورة طبيعية في معظم الخضروات والفاكهة ومعظم الأعشاب الطبية، حيث جرى التعرف على تركيب وآلية عمل عدد قليل منها، وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الأولى كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة وعليه فإن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر تفاعل السلسلة للأكسدة الذاتية وذلك بالتفاعل مع جذور الهيدروبيروكسيدات، ويمكن تقسيم مضادات الأكسدة إلى قسمين طبيعية ومصنعة [3].

• تصنيف مضادات الأكسدة:

أ- مضادات الأكسدة الطبيعية:

المقصود بها هو ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالأينزيمات والفيتامينات مثل الفيتامين C والفيتامين E، الزنك والسيلينيوم [14].

ب- مضادات الأكسدة الاصطناعية:

وهي العناصر التي يجب إضافتها للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد وذلك لتأكسدها قبل غيرها، وتستخدم في صناعة المطاط والمشتقات البترولية [15].

II-2-3- المركبات الفينولية والجذور الحرة والنشاطية المضادة للأكسدة:

إن أهم مميزات المركبات الفينولية هو نشاطها المضاد للأكسدة و الناتج أساسا عن خاصيتها القابلة للأكسدة و الإرجاع، و بذلك فهي تعمل على الوقاية من الإجهاد التأكسدي الناتج عن الجذور الحرة [16].

II-2-4- آلية المركبات الفينولية المضادة للأكسدة:

إن النشاط المضاد للأكسدة يرجع للفاعليات التالية:

- الاقتناص المباشر للجذور الحرة.
- استخلاص الأيونات المعدنية المسؤولة عن إنتاج الجذور الحرة.
- تثبيط الإنزيمات المولدة للجذور الحرة.
- تنشيط وتجديد الأنظمة المضادة للأكسدة [17].

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية:

- [1] العابد إبراهيم، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).
- [2] باز مسعود، استخلاص فصل وتحديد بنيات الأيض الثانوي عند نبات جنس *C.Sphaerocephala* *L.Centaurea*، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية تخصص كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة (2006).
- [3] ربيعي عبد الكريم، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير تخصص كيمياء تحليلية و مراقبة المحيط جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).
- [4] زمالي جعفر، دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنباتة الصحراوي *Solanum Nigrum*، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، تخصص تحضير عضوية وفيتوكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2007).
- [7] ميثاق الجبر، بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات *Cathaedulis* من العائلة ونبات *Celastraceae* البوليكاريا *pulicaria jaubert* من العائلة (Asteraceae) و تقييم الفعالية البيولوجية، مذكرة دكتوراء علوم في الكيمياء العضوية فرع كيمياء النباتات، جامعة منتوري قسنطينة (2010).
- [9] بسمة شمسة، دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات *Zygophyllum album L*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم طبيعية و الحياة، جامعة الوادي (2015).
- [10] عمران أمال، دور فيتامين E .C ومستخلص البوتانولي لنباتي *Suaveolens Rhantherium* و *Chrysanthemum fontanes* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء *Sodium Valproate* لدى الفئران الحوامل دراس *In vitro* و *In vivo*، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراء العلوم و بيولوجيا و فيسيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة (2013).
- [12] برحال جمعة، فصل وتحديد منتوجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريزيدية (Resedaceae)، رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم تخصص كيمياء عضوية شعبة كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة (2017).

- [13] الأحماضي بشيرة، التقدير الكمي، الكيفي للمركبات الفينولية ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة والصد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculents*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية ، جامعة حمة لخضر الوادي (2017).
- [14] حوة إبراهيم، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة ، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2013).
- [15] بن عشورة. ص ، الفعالية المضادة للأكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ل *deverrascoaria* ، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2007).
- [16] زيدان محمد، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان *Punica granatum L* ، رسالة مضررة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم تخصص علوم الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2018).
- [17] بن مرعاش ع، دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة للنبذة *Convolvulus supinus Coss. Karal.* (Convolvulaceae)، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة منتوري قسنطينة (2012).

المراجع باللغة الأجنبية:

- [5] Ben hammoun, Activité antioxydante des extraite des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'ouest et du Sud-Ouest Algérien, Thèse doctorat, Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen, (2012), P:174.
- [6] Abd Elghafour M, radiolithes gamma des flavonoïdes . Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools formation de depsides, Thèse de doctorat, université Mostaganem, (2003).
- [8] Maillard, M. N., Thèse Doctorat, E.N.S.IA., Paris, (1996), 148p.
- [11] Jean B., pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, 3eme édition Technique, Et Documentions, paris, (1999).

الجزء العملي

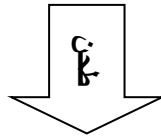
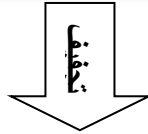


الفصل الثالث

الطرق والوسائل

1.III. تحضير العينة:

تم جمع الجزء الهوائي لنبات الذنون من منطقة الجديدة الغربية التابعة لبلدية سيدي عون بولاية الوادي يوم 10 مارس 2018، بهدف دراسة المحتوى الفينولي والفعالية البيولوجية لهذا النبات الطفيلي الصحراوي، حيث تمت عملية التجفيف للعينات بعد القطف في الظل تحت درجة حرارة الغرفة والضغط الجوي العادي على قطعة قماش مع قلبها من حين لآخر وعدم تعريضها لأشعة الشمس، تنتهي مدة التجفيف بعد أن نتأكد من الجفاف التام للنبتة لتخزن بعد الطحن في علبة محكمة الغلق في مكان بارد وجاف.



الشكل. 1.III. يوضح مراحل تحضير العينة

2.III. الاجهزة و المواد المستعملة:

الجدول 1.III. يوضح اهم المواد و الاجهزة المستعملة

الاجهزة المستعملة	المواد المستعملة
- ميزان الكتروني حساس - مخلوط مغناطيسي - جهاز التبخير الدواران - فرن تسخين - بشير (1000 مل) - أنابيب اختبار (5مل، 10 مل، 25 مل) - سحاحة (10 مل، 25 مل) - ايرلينة ماير (50 مل) - حامل انابيب اختبار - ورق ترشيح - مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية - جهاز كروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC)	- ميثانول (CH_3OH) - هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) - ثلاثي كلور الحديد (FeCl_3) - حمض الكبريت (H_2SO_4) - يوديد البوتاسيوم (KI) - اليود (I_2) - برمنغنات البوتاسيوم (KMnO_4) - لاماءات اسيتيك - كبريتات النحاس (CuSO_4) - هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) - كاشف الفولين - حمض الغاليك - كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%) - ثلاثي كلوريد الالمنيوم - DPPH ذو نقاوة (99 %)

3.III. تعريف الاستخلاص :

هو عزل مركب أو عائلة من المركبات باستعمال المذيبات العضوية، وان كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطلق عليه إستخلاص سائل-سائل، و أما إذا كانت المادة المراد فصلها صلبة فنطلق عليه استخلاص صلب-سائل، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة و الضغط و كيفية إستعمال المذيب [1].

1.3.III. الإستخلاص صلب _ سائل:

الإستخلاص على البارد (النقع): تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب، بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1 / المذيب 3) في الظروف العادية (ضغط و درجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لآخر، تترك مدة زمنية معينة خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب تتبعها عملية الترشيح ونستعمل طريقة النقع لمواد التي تتأثر و تتفكك بالحرارة [1،2].

III.2.3 الإستخلاص على الساخن:

هذه الطريقة سريعة نسبيا عن سابقتها، حيث يتم غمس المادة الخام في المذيب مع التسخين، ونستعمل هذه الطريقة للمواد التي لا يمكن إستخلاصها إلا تحت درجة حرارة عالية ولا تتأثر بإرتفاعها [2،1].

III.3.3. طريقة استخلاص لنبات الذنون (*Cistanche violacea* (Desf.) Beck):

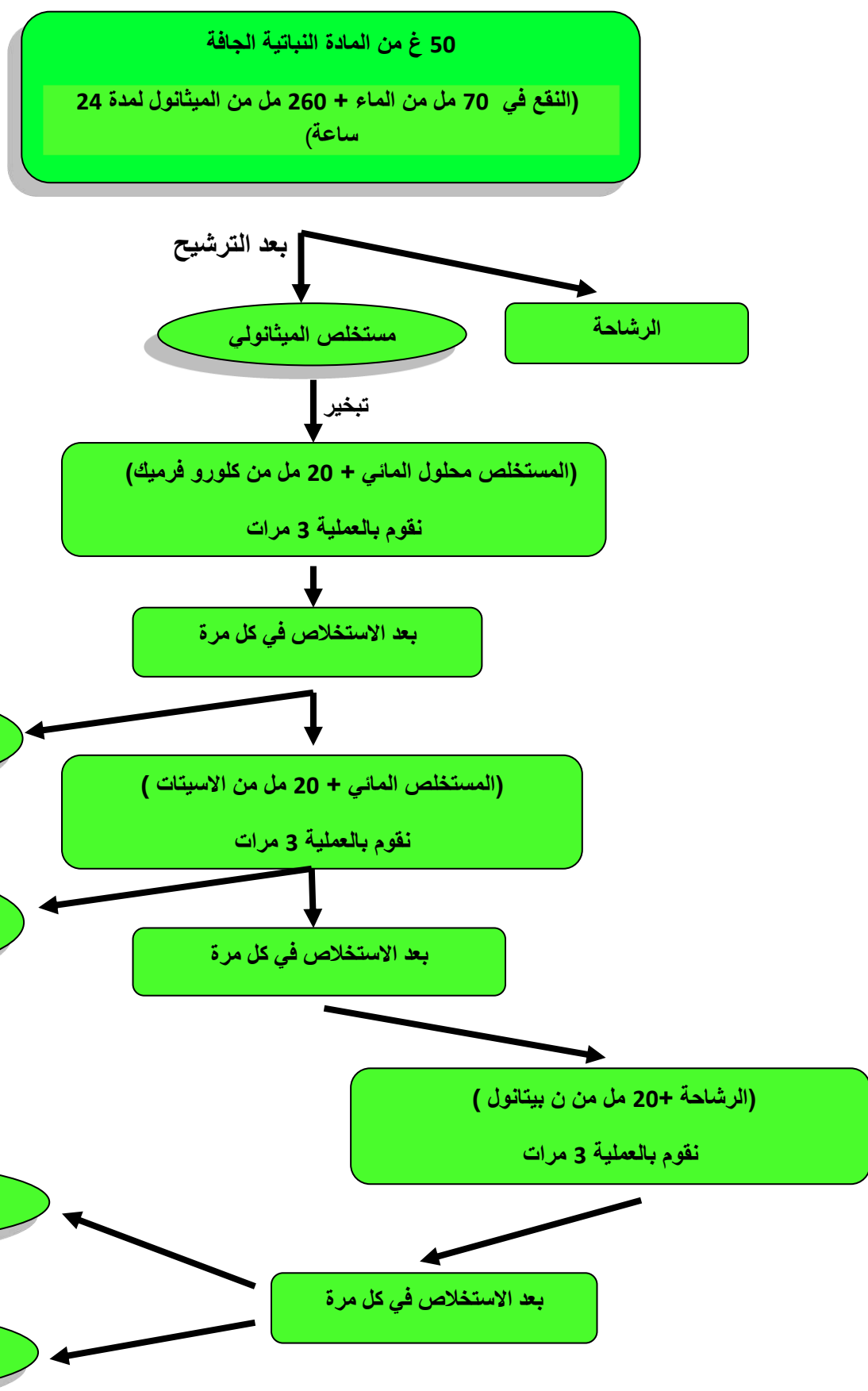
نأخذ وزنا قدره 50 غ من نبات الذنون ونقوم بنقعه في حجم قدره 260 مل من الميثانول مع 70 مل من الماء المقطر في بيشر (1000مل) نقوم بتغطيته مع التحريك ونتركه مدة 24 سا في درجة حرارة الغرفة بعدها نرشح المزيج فنحصل على الرشاحة نكرر العملية ثلاث مرات ونجمع المستخلصات الثلاث ونقوم بتبخير المستخلص الذائب في الماء لنحصل على المستخلص الميثانولي و المتبقي نضيف له حجما قدره 20 مل من الكلوروفورم ونستخلص المحلول ونكرر العملية ثلاث مرات لنحصل على مستخلص الكلوروفورم، نعيد نفس الخطوات بمذيبات مختلفة (مع خلات الفينولات و n-بيتانول) و يبقى المستخلص المائي في النهاية، لنحصل في النهاية على المستخلصات الخمس:

- مستخلص ميثانولي .
- مستخلص الكلوروفورمي .
- مستخلص خلات الفينولات .
- مستخلص بيتانولي .
- مستخلص مائي .

نقوم بفصل المذيب عن المستخلص النباتي بإستعمال جهاز التبخير الدوراني عند درجة تبخر المذيب المستعمل في كل مستخلص، لنحصل على المادة الخام تكون على شكل مادة لزجة أو جافة تماما.



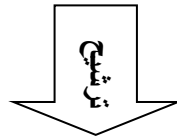
الشكل III.2. يوضح عملية الترشيح للعينة

الشكل. III.3. مراحل استخلاص لنبات الذنون. *Cistanche violacea* (Desf.) Beck.

4.III. الدراسة الفيتو كيميائية لنبات الذنون *Cistanche violacea* (Desf.)

Beck

قمنا بتحضير 3 ارلينات ذات سعة 100مل، تحوي كل منها 3 غ من مسحوق النبتة، وتتقع في 50مل من مذيب (الإرلينة 1 بها 100% ماء مقطر، الإرلينة 2 بها 100% ميثانول، الإرلينة 3 بها 20% ماء + 80% الميثانول) ونغطيها ونتركها لمدة ساعتين، ثم نرشح وتستعمل للمسح الفيتو كيميائي.



الشكل III. 4. تحضير العينة

1.4.III. الكشف عن القلويدات (Les alcaloïdes):**1.1.4.III. اختبار Wagner:**

نأخذ 1 ملل من كل مستخلص توضع في أنابيب اختبار و نضيف له قطرات من كاشف Wagner (5 غ من KI و 1.27 غ من I_2 تذاب في 100 مل من الماء المقطر)، تشكل راسب بني محمر دليل على وجود القلويدات [3].

2.4.III. الكشف عن الفلافونويدات (Les flavonoides):**1.2.4.III. اختبار الكشف القاعدي NaOH :**

نأخذ 1 ملل من كل مستخلص توضع في أنابيب اختبار و نضيف له قطرات من القاعدة NaOH (0.1M) ونتركه لمدة 3 دقائق، تغير لون المستخلص الى اللون الأصفر دليل على وجود الفلافونويدات [3].

3.4.III. الكشف عن التانينات (Les Tanines):**1.3.4.III. اختبار $FeCl_3$:**

نأخذ 1 مل من كل مستخلص (0.5 من المستخلص و 0.5 من الماء المقطر) توضع في أنابيب اختبار ونضيف له قطرات من محلول كلوريد الحديد ($FeCl_3$)، ظهور اللون البني المخضر دليل على وجود التانينات [3].

4.4.III. الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية (Stérols et trèterpènes):**1. 4.4.III. اختبار Liebermann- Burchard:**

نأخذ 1 مل من كل مستخلص و نضعه في أنابيب اختبار و نضيف له قطرات من لاماءات الأسيتيك، ثم قطرات من حمض الكبريت (H_2SO_4) المركز بحذر، ظهور حلقة حمراء دليل على وجود التربينات الثلاثية، و ظهور اللون الأخضر دليل على وجود الستيرويدات [3].

5.4.III. الكشف عن الكومارينات (Les coumarines):

نأخذ 2 مل من كل مستخلص ونضعه في أنابيب اختبار و نضيف له 3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10% NaOH)، ظهور اللون الأصفر دليل على وجود الكومارينات [3].

6.4.III. الكشف عن نترينات (Les nitrites):

نقوم بتحضير محلول $KMnO_4$ (1 ملغ من $KMnO_4$ + 1 مل من H_2SO_4) و نضيف القليل من كل مستخلص بحذر، تغير لون المحلول دليل على وجود النترينات [3].

7.4.III. الصابونيات:

إضافة 2 مل من المستخلص مع 2 مل من الماء المقطر ورجة لمدة 30 ثانية، نلاحظ وجود رغوة لمدة دقيقة [4].

8.4.III. الكشف عن الفينول (phénole):

نأخذ 0.5 مل من مستخلص ونضيف له 2 مل من $FeCl_3$ ، ظهور اللون الأزرق أو الأخضر [4].

9.4.III. الكشف عن الكينون (Quinones):

نأخذ 1 مل من المستخلص ونضيف له قطرات من حمض الكبريت 10% ظهور راسب أصفر [4].

10.4.III. الكشف عن (phytostérols):

نأخذ قطرات (من 2 إلى 9 من المستخلص) ونضيف له 1 مل ماء مقطر و 1 مل $CHCl_3$ و 0.5 مل من حمض كبريت مركز ظهور طبقة حمراء [4].

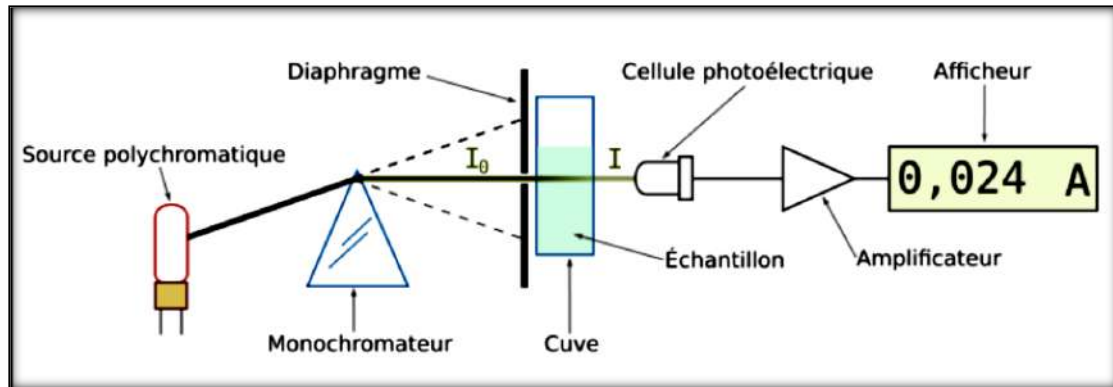
11.4.III. الكشف عن (Hydro anthraquinones):

نأخذ 1 مل من مستخلص ونضيف له قطرات من 10% KOH ظهور اللون الأحمر [4].

5.III. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية:**1.5.III. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية UV-visible:**

تعد هذه التقنية من أقدم الطرق للتحليل الكيفي و الكمي و الأكثر إستعمالا، تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات، ومن أهم طرق التقدير الكمي طريقة قياس الإمتصاصية (الكثافة الضوئية) للمحاليل، حيث مجال طولها الموجي محصور بين 400- 800 نانومتر.

يتكون هذا الجهاز من قسمين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد و مقياس الكثافة الضوئية، حيث يتم وضع العينة المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب يسمح بمرور الضوء، و بالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنه بالإمتصاصية [5،6].



الشكل 5.III. رسم تخطيطي يوضح مبدأ عمل جهاز المطيافية الأشعة UV-visible [6].

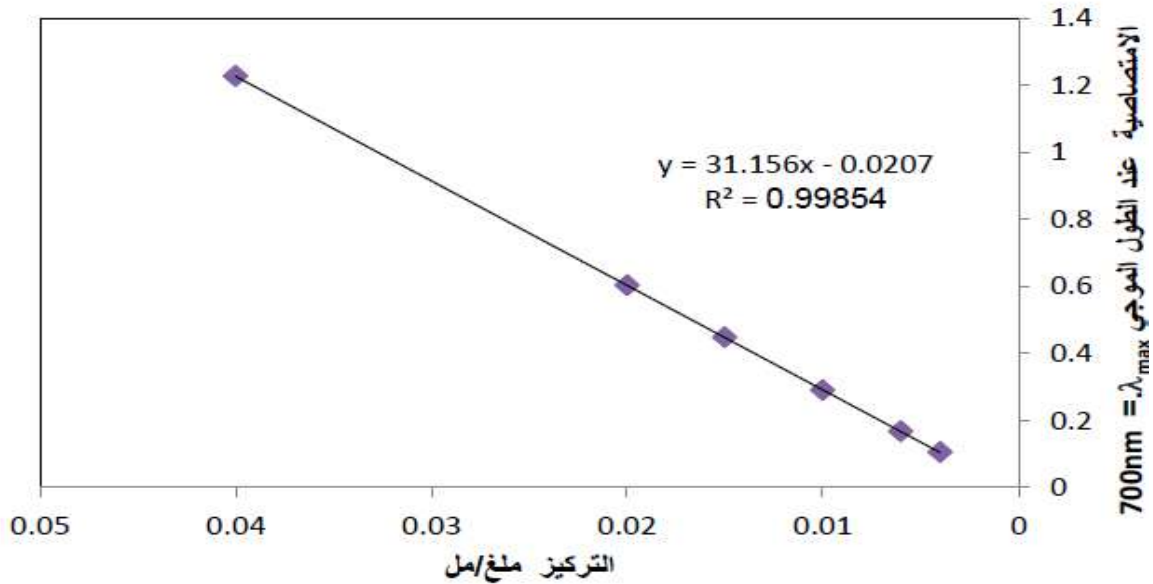
تقدر كمية الفينولات بطريقة singleton Rossi باستخدام كاشف الفولين (Réactif de folin-ciocalteu)، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستيني ($H_3P_{12}O_{40}$) و حمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يرجع إلى أكسيد التنغستين (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

ويتم تقدير كميتها بواسطة جهاز UV-VISIBLE باستخدام حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجي $\lambda_{max} = 700nm$ [7].

1.2.5.III. المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

نقوم بتحضير محاليل ممددة من حمض الغاليك تتراوح تراكيزها ما بين 0.3 و 0.03 ملغ/مل في أنابيب اختبار، ثم نأخذ من كل محلول 1 مل و نضيف له 1 مل من كاشف الفولين (الممددة 10 مرات) ثم نضيف لها 0.2 من محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2CO_3)، ونضع المحاليل في الظلام لمدة 40 دقيقة.

تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لكل تركيز بجهاز بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة $\lambda_{max} = 700nm$ [8].



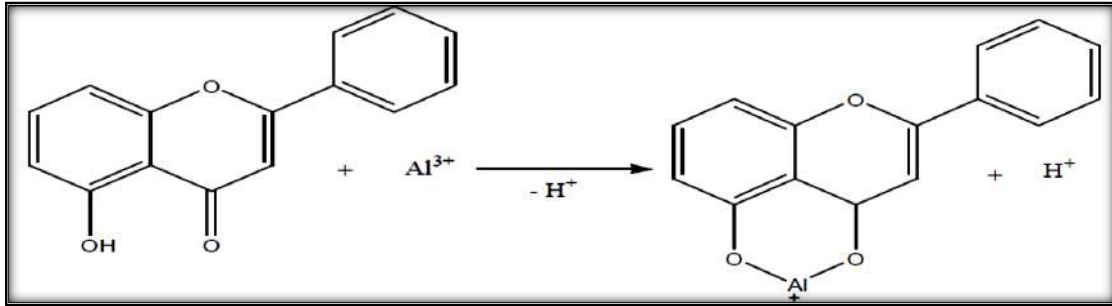
الشكل 6.III. يمثل المنحنى القياسي لحمض الغاليك [8].

2.2.5.III. طريقة العمل:

نحضر من المستخلص ذو تركيز 0.1 مغ/مل نأخذ منه 1 مل منه و نضيف له 1 مل من كاشف الفولين (Réactif de folin-ciocalteu) ونتركه مدة 5 دقائق في الظلام ثم نضيف له 0.2 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5% Na_2CO_3)، و نتركه في الظلام لمدة 40 دقيقة نتحصل على اللون الأزرق، ثم نقرأ الإمتصاصية عند طول موجي $\lambda_{\max} = 700\text{nm}$.

3.5.III. التقدير الكمي للفلافونويدات:

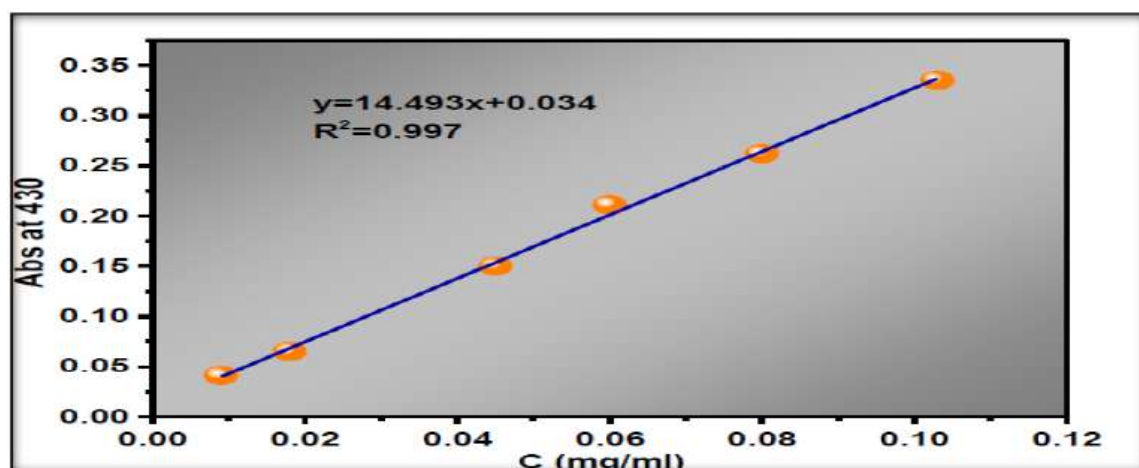
يعتمد في التقدير الفلافونيدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم AlCl_3 مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل والهيدروكسي الموقع 4 و 5 كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي أورثوهيدروكسي، ذو معامل إمتصاص عال، ويمتص عند طول موجي $\lambda_{\max} = 410\text{nm}$. ونستعمل في هذه التجربة فلافانويد الروتين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي و يتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز باستعمال الروتين كمحلول قياسي عند طول موجي $\lambda_{\max} = 410\text{nm}$ [9].



الشكل. III.7. يمثل تشكيل المعقد. [9]

1.3.5.III. المنحنى القياسي لمحلول الروتين

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الروتين محصورة بين (0.02-0.1 ملغ/مل)، نأخذ من كل تركيز 1 مل ونضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم AlCl_3 ذو التركيز 2% ثم نتركها لمدة 15 دقيقة في الظلام، بعدها نقوم بقراءة الإمتصاصية عند طول موجي $\lambda_{\max} = 410\text{nm}$ [10]. من قيم الإمتصاصية لمحاليل الروتين قمنا برسم المنحنى القياسي بدلالة التركيز.



الشكل III.8. يمثل المنحنى القياسي للروتين [10]

2.3.5.III. طريقة العمل:

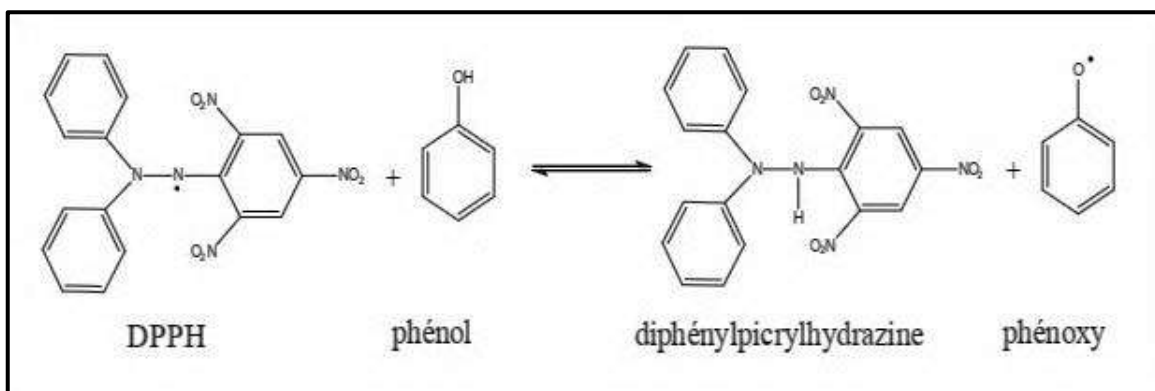
نحضر تركيز معلوم من المستخلص الميثانولي، ثم نأخذ منه 1 مل ونضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز 2%، ثم نتركها لمدة 15 دقيقة في الظلام، نتحصل على اللون الأصفر ثم نقوم بقراءة الإمتصاصية عند طول موجي قدره $\lambda_{max} = 430nm$.

6.III. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة:

وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: إختبار (DPPH)، أو إختبار (FRAP)، أو إختبار (ABTS) أو إختبار (LMWA) أو إختبار (TRAP) أو إختبار القدرة الإرجاعية (PR)، وهذه الطرق تعتمد على التلوين و نزعه في طول موجي معين [11].

1.6.III. إختبار تثبيط الجذر الحر (DPPH):

يسمح هذا الإختبار بتقييم قدرة المستخلصات على أسر والتقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية، وذلك باستعمال الجذر الحر الثابت DPPH الذي يعتبر من أهم الإختبارات المعتمدة في تقييم الدور المانع للأكسدة، حيث يتم إرجاع جذر الـ DPPH باقتناصه لذرة هيدروجين من الجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين (الجزيئات المضادة للأكسدة) إلى مركب DPPH-H، ويصاحب ذلك تغير في اللون من البنفسجي إلى الأصفر وهذا حسب التفاعل التالي [11].



الشكل 9.III. يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للأوكسدة مع الجذر الثابت DPPH [11]

هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذور الحرة حيث يترك 30 دقيقة مباشرة مع مستخلصات المضادة للجذور مع العلم أن الجذر DPPH مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور ليتحول إلى DPPH-H مع نقصان الامتصاصية عند طول موجي $\lambda_{\max} = 517\text{nm}$.

و تحسب نسبة التثبيط المئوية وفق العلاقة التالية:

$$I\% = [(A_0 - A_i) / A_0] \times 100$$

حيث :

A_0 = الامتصاصية الضوئية للجذر الخالية من العينة.

A_i = الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + العينة).

و بعد رسم المنحنى نحسب IC_{50} (تركيز المحلول لتثبيط 50% من جذور DPPH).

2.6.III. تحضير الكاشف:

نقوم بتحضير محلول DPPH بإذابة 1 ملغ من ثنائي فينيل هيدرازيل في 50 مل من الميثانول فننتحصل على محلول بنفسجي داكن.

3.6.III. طريقة العمل :

نحضر عدة تراكيز مختلفة من مستخلصات المخففة في الإيثانول و نأخذ من كل تركيز 1مل و نضيف له 1مل من (DPPH) نجانس المحلول ونتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم القراءة عند طول موجي $\lambda_{\max} = 517\text{nm}$.

2.6.III. دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بطريقة FRAP:

يتم تقدير القدرة المضادة للأكسدة (القدرة الإرجاعية) للمستخلصات بطريقة (FRAP) Ferric (reducing ability of plasma) حسب طريقة Benzine و Strain (1996) المعدلة من طرف pulido وآخرون (2000)، حيث تسمح هذه التقنية بتقدير القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة بالمعقد الحديدي أيون TPTZ حيث يمتص Fe^{+2} فيشكل اللون الأزرق البحري الشديد حيث تركز على قياس التغيرات التي تحدث في الامتصاصية عند طول موجي 593 نانو متر، و استخدام حمض الأسكوربيك كمركب قياسي . [12،11]

تحضير محلول FRAP :

يتم تحضير محلول FRAP من ثلاث محاليل مختلفة :

* **محلول Tompon:** وهو عبارة عن مزيج من أسيتات الصوديوم (0.1 N) مع حمض الخل (N 0.1) الأس الهيدروجيني للمزيج pH= 3.6

* **محلول TPTZ :** نقوم بإذابة 0.031 غرام من TPTZ في 10 مل من حمض الكلوريد (0.04M)

* **محلول كلوريد الحديد الثلاثي ذو تركيز (20 mM) :** نأخذ 25 مل من محلول Tompon و 2.5 مل من محلول TPTZ مع 2.5 مل من كلوريد الحديد الثلاثي فنحصل على محلول لفراب [13].

* طريقة العمل :

نقوم بتحضير تركيز قدره 0.9 ملغ /مل من كل مستخلص، و نأخذ من كل تركيز 0.1 مل في أنابيب و نضيف له 0.9 مل من الكاشف FRAP ونتركه لمدة نصف ساعة في الظلام فننتحصل على اللون البنفسجي، ثم تقرأ الإمتصاصية بعد أربع دقائق عند طول موجي 593 نانو متر.

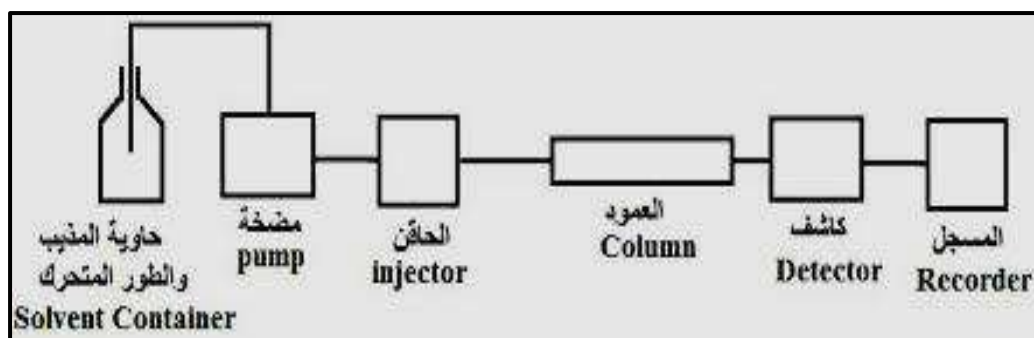
7.III.كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

تطورت الكروماتوغرافيا السائلة إلى ما يعرف الآن بكروماتوغرافيا السائلة ذو الكفاءة العالية، التي تعتبر واحدة من أهم طرق الفصل و التحليل مقارنة بطرق الفصل الأخرى لما تتميز به من دقة و سرعة.

يقوم جهاز HPLC بفصل مكونات عينة و تقديرها كميًا، و يتم الفصل عن طريق توزيع العينات ما بين طورين أحدهما طور متحرك سائل و الآخر طور ثابت سائل أو صلب، يكون الطور الثابت في عمود طوله 2 سم و قطره 4 ملم [14-15].

1.7.III. مكونات الجهاز

الحاقن-مضخة- العمود- الكاشف-المسجلة



الشكل.10.III. يمثل مكونات جهاز HPLC [14]

2.7.III. طريقة العمل:

نأخذ وزن قدره 10 غرام من المستخلص الخام و نقوم بإذابته في 5 مل من ميثانول، نتحصل على تركيز قدره 2 ملغ/مل و نقوم بترشيحه بورق ترشيح ثم نعيد عملية الترشيح باستخدام ورق ترشيح خاصة لتصبح العينة جاهزة للحقن في جهاز HPLC [16].

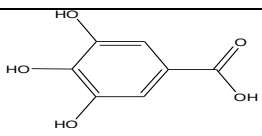
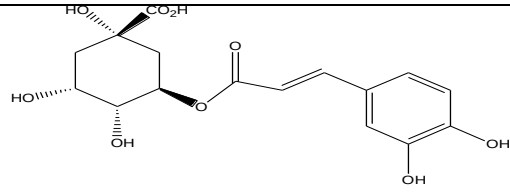
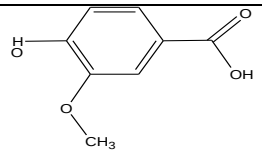
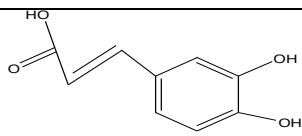
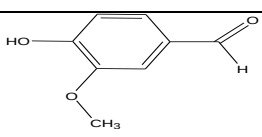
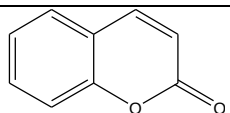
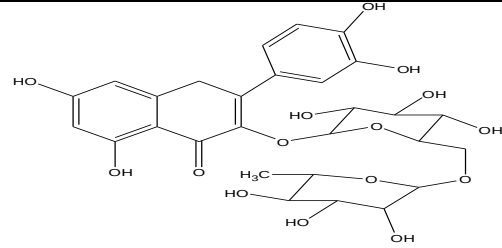
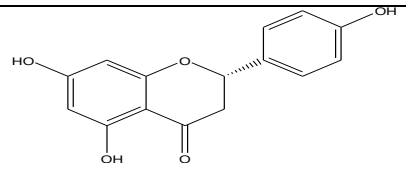
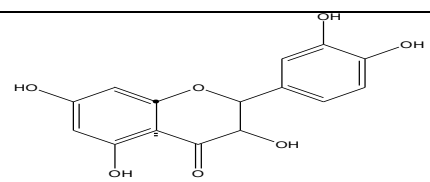
3.7.III. الشروط التجريبية:

لضمان فصل المركبات من المستخلص المراد تحديد مركباته يجب إتباع شروط محددة تخص الجهاز ومكوناته و في الجدول 1.3.7.III و الجدول 2.3.7.III تظهر الشروط اللازمة لفصل المركبات الفينولية إستنادا لزمان المكوث للفينولات المرجعية، و التي تكون مسجلة في ذاكرة الجهاز.

الجدول.2. III. يوضح الشروط اللازمة لفصل المركبات الفينولية في العينات باستخدام جهاز HPLC

الشروط	العامل
الطور المعكوس RP-HPLC	النظام
(25cm×46mm)C18	العمود
20μl	حجم الحقن
1 ml/min	معدل الحقن
$\lambda=268\text{nm}$	طول الموجة
50min	الزمن
25°C	درجة الحرارة
(A): (acetonitrile) (B): (0.2% acide acétique)	الطور المتحرك

الجدول.3.III . يوضح زمن المكوث لبعض المركبات الفينولية.

زمن المكوث المرجعي (min)	المركبات الفينولية المرجعية	الصيغة الكيميائية
5.23	حمض الغاليك	
13.392	حمض الكلوروجينيك	
15.531	حمض الفانيليك	
16.277	حمض الكافيك	
21.46	الفانيلين	
23.95	حمض ب-كومارين	
28.37	الروتين	
34.788	النرجين	
45.047	كرستين	

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية:

[11] ربيعي عبد الكريم، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، (2010).

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] Shohami E, Gati I, Biet-Yannai E, Trombovler V, Kohen R, Neuratrauma J, (1999).

[2] Chevion S, Chevion M, Chock P B, Beecher G R, Jornale of Medicinal Food, (1999).

[3] Archana P, Samatha T, Mahitha B, Ramaswamy N, Phytochemical screening from leaf and seed extracts of *Sennaalata L. Roxb-an* Preliminary Ethnomedicinal plant, Journal of pharmaceutical and biological research, 3, (1996), PP 82-85.

[4] Shivani, Ruchika, Alak P, Vinod K G, International Journal of Biotech Trends and Technology, 10(1), (2020), p31-38.

[5] Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F, In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. Food Chemical and Toxicology (2010).

[6] Hamdi A, Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*, Physico-chimie moleculaire, Université Kasdi Merbah, Ouargla, (2012).

[7] Yogita C, Rekha S, Singhal, "Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bio actives from arecanut (*Areca catechu L*) and optimization study using response surface methodology," Innovative Food Science and Emerging Technologies, 17, (2013), p106-113.

- [8] Vadivel V, Cheong J N, H K, Antioxidant and type II diabetes related enzyme inhibition properties of methanolic extract of an underutilized food legume, *Canavalia ensiformis* (L.) DC: Effect of traditional processing methods, LWT - Food Science and Technology; 47, (2012), p255-260.
- [9] Mbaebie B O, Edeoga H O, Afolayan A J, "Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotialatifolia Jacq*", Asian Pacific Journal of Tropical Biomédecine, (2012), p118-124.
- [10] Lagnika L, Etude photochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises", Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, (2005), p249.
- [12] Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, et al, Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays, J Nutr, 133, (2003), p2812-2819.
- [13] Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L and Byrne DH Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, Journal of Food Composition and Analysis 19, (2006), p669-675.
- [14] Iris F, Benzie E, and Strain J J, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of " Antioxidant Power ", The FRAP Assay, (1996).
- [15] Lloyd R, Snyder, Joseph J, kirkland, John W, Dolan, Introduction to modern liquid chromatography, Printed in the United States of America, ISBN 978-0-470-16754-0 (cloth), (2010), p 1-2.
- [16] Dalmeyda V, David C, Fougion J M, Arnaud B, et Genty C, Chromatographie en phase liquide (CHROMLIQ).



الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

لقد كان الهدف من دراستنا تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لنبات الذنون *Cistanche violacea (Desf.) Beck*، ونظرا للظروف الراهنة التي يمر بها العالم (تفشي فيروس كورونا) وتوقف جميع الأنشطة البيداغوجية لم نستطع إتمام هذه الدراسة، حيث قمنا بعملية الإستخلاص وبعض الكشفات الأولية فقط. لكن أردنا التكملة في فكرة تثمين نبات الذنون، و من أجل ذلك أجرينا مقارنة بين دراسة سابقة لنبات الذنون ودراسة سابقة لنبات شبيه له من نفس العائلة و هو الترنوث *Cistanche (tinctorial)*.

1.IV. نتائج الدراسة الفيتو كيميائية:

إعتمدت نتائجنا في هاته الدراسة على التغيرات اللونية الملاحظة بالعين المجردة في كل إختبار وقد تم ترقيم أنابيب الإختبار في الصور الملتقطة من الرقم 01 الى الرقم 03 على الترتيب التالي:

01- 100% ماء مقطر

02- 100% ميثانول

03- 20% ماء + 80% الميثانول

1.1.IV. الكشف عن القلويدات (Les alcaloïdes)

• إختبار Wagner



بعد إضافة الكاشف



قبل إضافة الكاشف

الشكل. 1.IV. يمثل نتائج الكشف عن القلويدات

2.1.IV. الكشف عن الفلافونويدات (Les flavonoides)

• الكشف القاعدي NaOH



بعد إضافة الكاشف



قبل إضافة الكاشف

الشكل. 2.IV. يوضح نتائج الكشف عن الفلافونويدات بالكاشف القاعدي NaOH

3.1.IV. الكشف عن التانينات (Les tanines)

• اختبار $FeCl_3$



بعد إضافة الكاشف



قبل إضافة الكاشف

الشكل. 3. IV. يوضح نتائج الكشف عن التانينات بكاشف $FeCl_3$

4.1.IV. الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية (Stérols et trèterpènesles)

• إختبار Liebermann- Burchard



بعد إضافة الكاشف



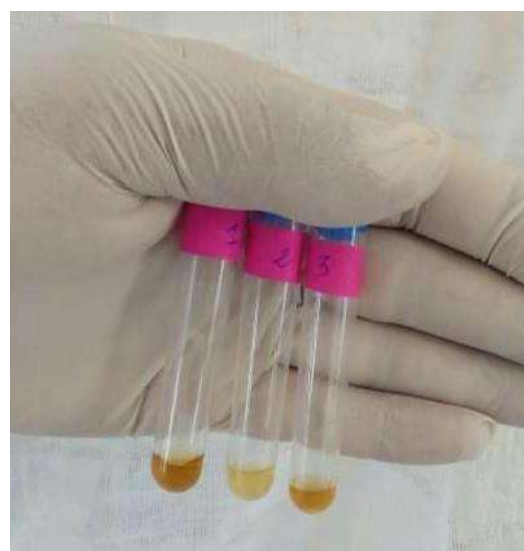
قبل إضافة الكاشف

الشكل. 4.IV. يوضح نتائج الكشف عن الستيرويدات و التربينات الثلاثية بكاشف Liebermann

5.1.IV. الكشف عن الكومارينات (Les coumarines)



بعد إضافة الكاشف



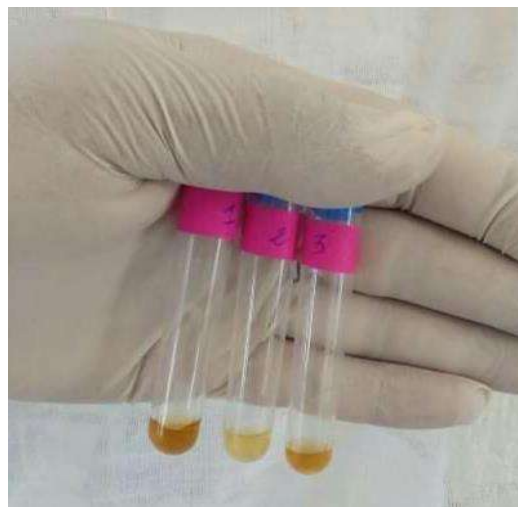
قبل إضافة الكاشف

الشكل. 5.IV. يوضح نتائج الكشف عن الكومارينات

6.1.IV. الكشف عن نترات (Les nitrites)



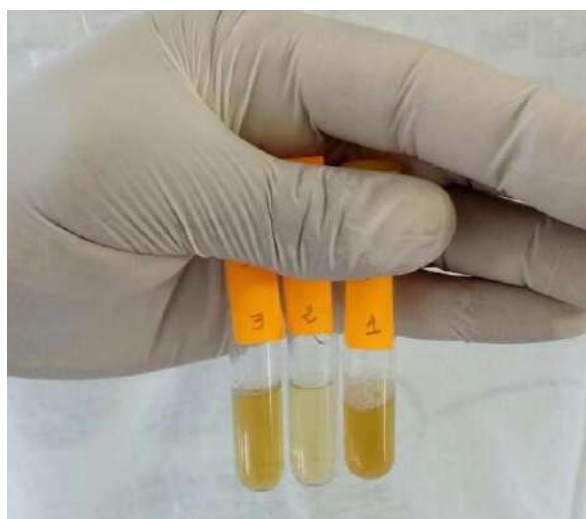
بعد إضافة الكاشف



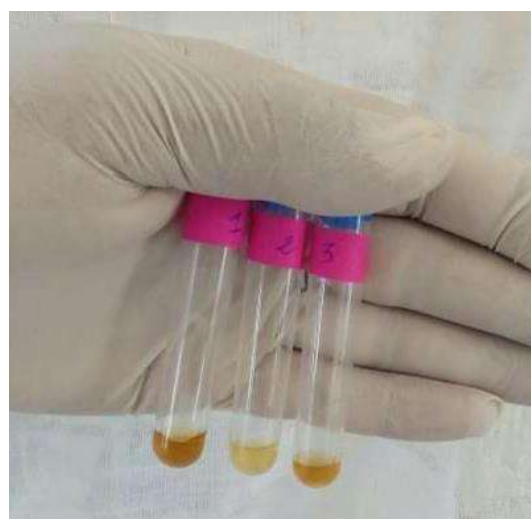
قبل إضافة الكاشف

الشكل. IV. 6. يوضح نتائج الكشف عن النترات

7. 1. IV. الكشف عن الصابونين (Les saponines)



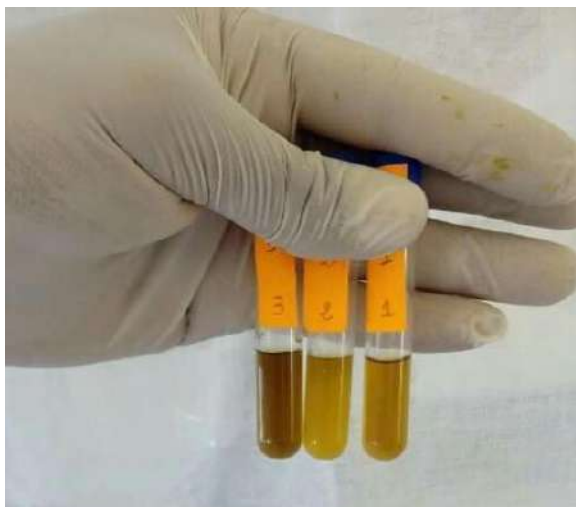
بعد إضافة الكاشف



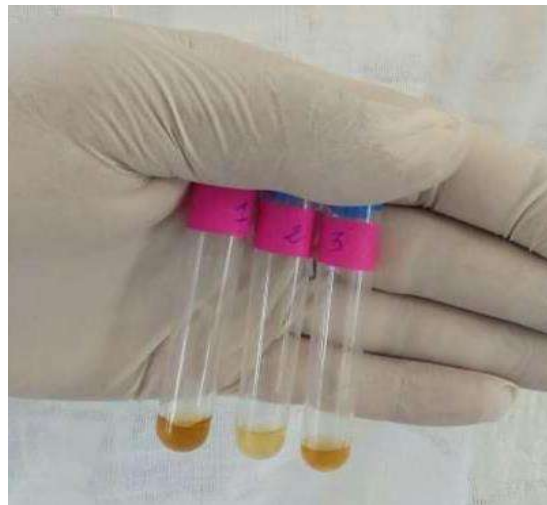
قبل إضافة الكاشف

الشكل. IV. 7. يوضح نتائج الكشف عن الصابونين

8.1.IV. الكشف عن الفينول (phénols)



بعد إضافة الكاشف



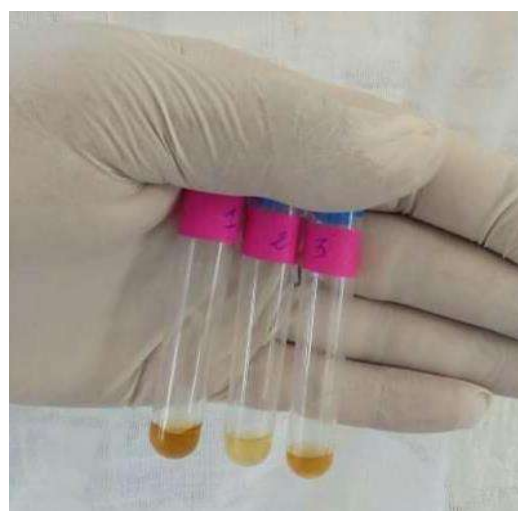
قبل إضافة الكاشف

الشكل IV. 8. يوضح نتائج الكشف عن الفينول

9.1.IV. الكشف عن الكينون (Quinones)



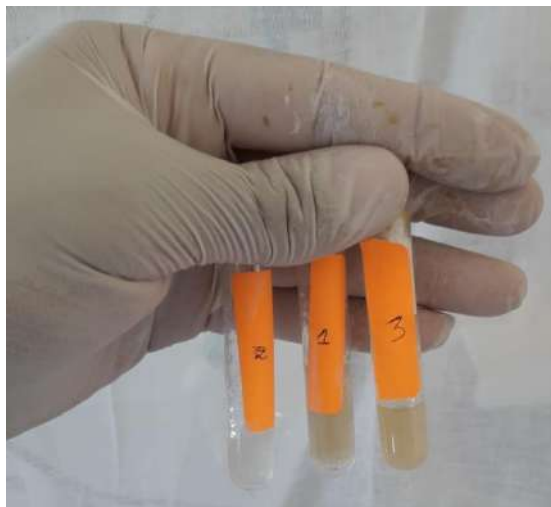
بعد إضافة الكاشف



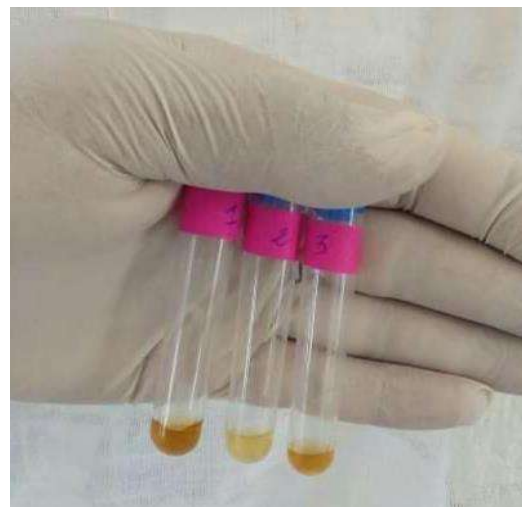
قبل إضافة الكاشف

الشكل IV. 9. يوضح نتائج الكشف عن الكينون

10.1.IV. الكشف عن phytosterolis



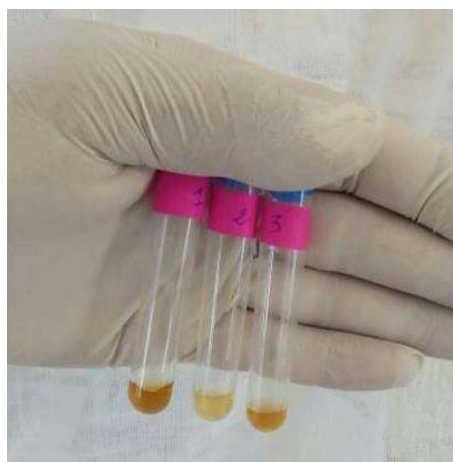
بعد إضافة الكاشف



قبل إضافة الكاشف

الشكل 10.IV. يوضح نتائج الكشف عن phytosterolis

11.1.IV. الكشف عن Hydroanthraquinones



قبل إضافة الكاشف



بعد إضافة الكاشف

الشكل 11. IV. يوضح نتائج الكشف عن Hydroanthraquinones

الجدول 1.IV. يوضح نتائج المسح الفيتو كيميائي

النتائج الأبيض الثانوي	الكاشف	المستخلص 01 100% ماء مقطر	المستخلص 02 100% ميثانول	المستخلص 03 2 ماء + 80 ميثانول
القلويدات	Wagner	-	-	-
الفلافونويدات	NaOH	+	++	+
التنينات	FeCl ₃	+	++	+++
الستيرويدات و التربينات الثلاثية	Liebermann- Burchard	-	++	++
الكوماريات	NaOH.10%	++	+++	++
النترينات	KMnO H ₂ SO ₄	++	+++	++
الصابونين	ماء مقطر	+++	-	++
الفينولات	Fe Cl ₃	++	+	+++
الكينون	H ₂ SO ₄ 10%	+	++	+
Phytosterolis	ماء مقطر CHCl ₃ +H ₂ SO ₄	-	-	-
Hydroanthra quinones	KOH 10%	-	-	-

ملاحظة: (-) : غياب المادة الفعالة، (+) : وجود المادة الفعالة بكمية قليلة، (++) : وجود

المادة الفعالة بكمية متوسطة، (+++) : وجود المادة الفعالة بوفرة كبيرة.

من خلال الجدول يتبين لنا أن نبات الذنون يحتوي على مواد فعالة و ذلك بعد الكشف الكيميائي

عن المركبات التالية:

الفلافونويدات حيث ظهرت بكمية أكثر في المستخلص الميثانولي من المائي، كما أنها غنية بالتينينات و الكومارينات و نيترينات، بالإضافة إلى وجود التربينات الثلاثية و ذلك لظهور حلقات حمراء (في المستخلص % 100 ميثانول و المستخلص % 20 ماء و % 80 ميثانول و أعطى نتيجة سلبية في المستخلص % 100 ماء) و عدم وجود راسب أخضر دلالة على عدم وجود ستيرويات، و ظهور رغوة عند المستخلص الذي يحتوي على الماء عند إضافة ماء مقطر مع الرج دلالة على وجود صابونيات، كما أنها غنية بالفينولات و الكينونات وهذا بإعطاء نتيجة إجابيه عند الكشف. كما أنها أعطت نتيجة سلبية عند الكشف على القلويدات و Phytosterolis و Hydroanthra quinones.

2.IV. المقارنة بين نبات الذنون و نبات الترتوث:

1.2.IV. الشكل الخارجي :



الشكل 13.IV. نبات الترتوث



الشكل 12.IV. نبات الذنون

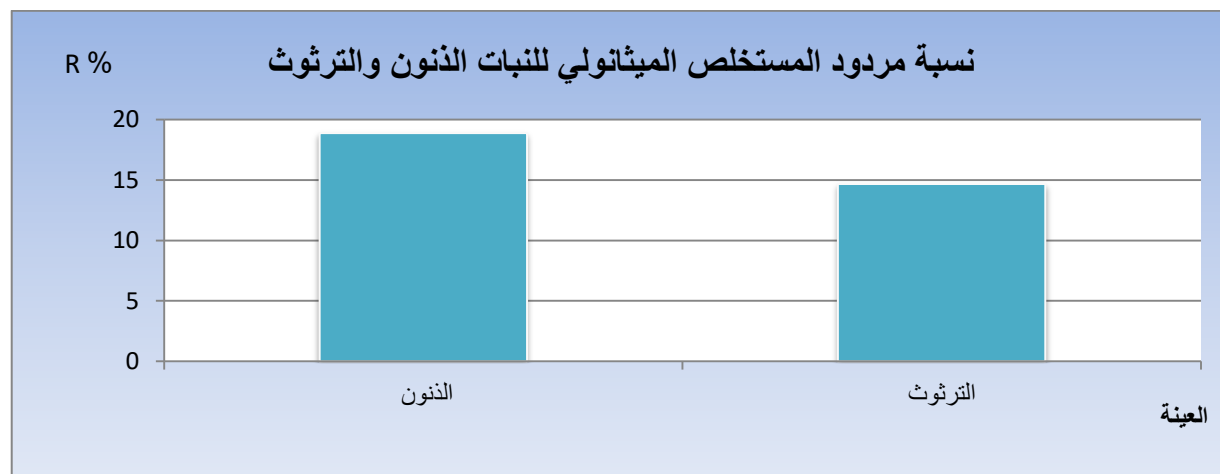
نلاحظ تشابه كبير من ناحية الشكل فهما يختلفان في اللون فقط كما أن لهما نفس طريقة العيش.

2.2. IV. المردود:

تم إستخلاص كل من نبات الذنون و الترتوث في محلول ميثانولي في نفس الظروف حيث قدرت قيمة مردود الإستخلاص لكل نبتة ب :

جدول IV. 2. يمثل نسبة مردود المستخلص الميثانولي لنبات الذنون والترثوث [1][2]

النبتة	الذنون	الترثوث
المردود %	18.89	14.68



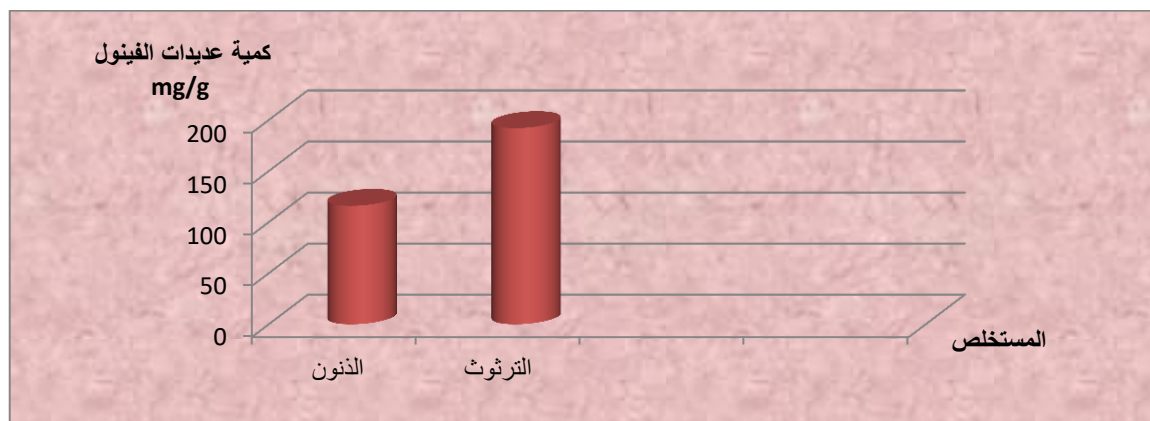
الشكل IV. 14. يوضح نسب مردود المستخلص الميثانولي للنبتين

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ احتواء النبتتين على كمية معتبرة من المستخلص الخام . حيث أبدت النتائج المردودية للمستخلص الخام تباين بين نتائج النبتتين في المستخلص الميثانولي.

IV. 3.2. التقدير الكمي للفينولات:

جدول IV. 3. يمثل كمية عديدات الفينول لنبات الذنون والترثوث [1][2]

النبتة	الذنون	الترثوث
كمية عديدات الفينول mg/g	116	192.11



الشكل IV. 15. يوضح التقدير الكمي لعديدات الفينول لنبات الذنون والترثوث في المستخلص الميثانولي الخام

نلاحظ أن كل من نبات الذنون والترثوث يحتويان على كمية كبيرة من الفينولات، حيث أن نبات الترثوث يحتوي على كمية أكبر (192.11mg/g) من نبات الذنون (116mg/g).

IV . 4.2. التقدير الكمي للفلافونويدات:

جدول 4.IV. يمثل كمية الفلافونويدات لنبات الذنون والترثوث [1][2]

العينات المدروسة	مستخلص نبات الذنون	مستخلص نبات الترثوث
كمية الفلافونويدات	11.891	18.36



الشكل 16.IV. يوضح التقدير الكمي للفلافونويدات لنبات الذنون والترثوث في المستخلص الميثانولي الخام

نلاحظ أن كل من نبات الذنون والترثوث يحتويان على كمية معتبرة من الفلافونويدات.

IV . 5.2. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

(أ) اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH:

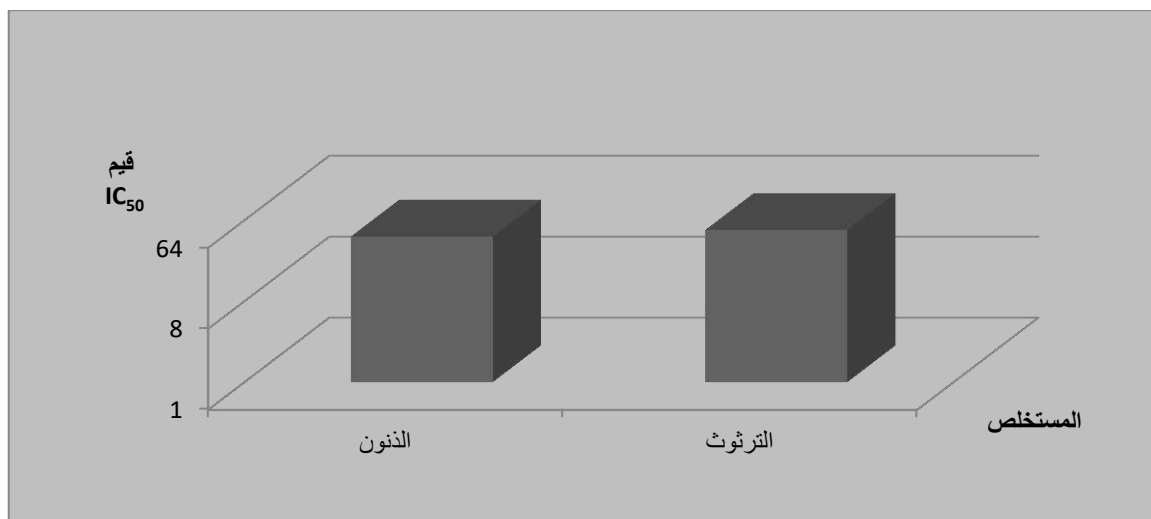
من خلال تطبيق اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH* حصلنا على النتائج الموضحة في الجدول

التالي:

جدول 5.IV. يوضح قيم IC50 المثبطة لنسبة 50 % من الجذر DPPH* للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون

والترثوث [1][2]

العينات المدروسة	مستخلص نبات الذنون	مستخلص نبات الترثوث
التركيز µg/ml	42.13	49.94

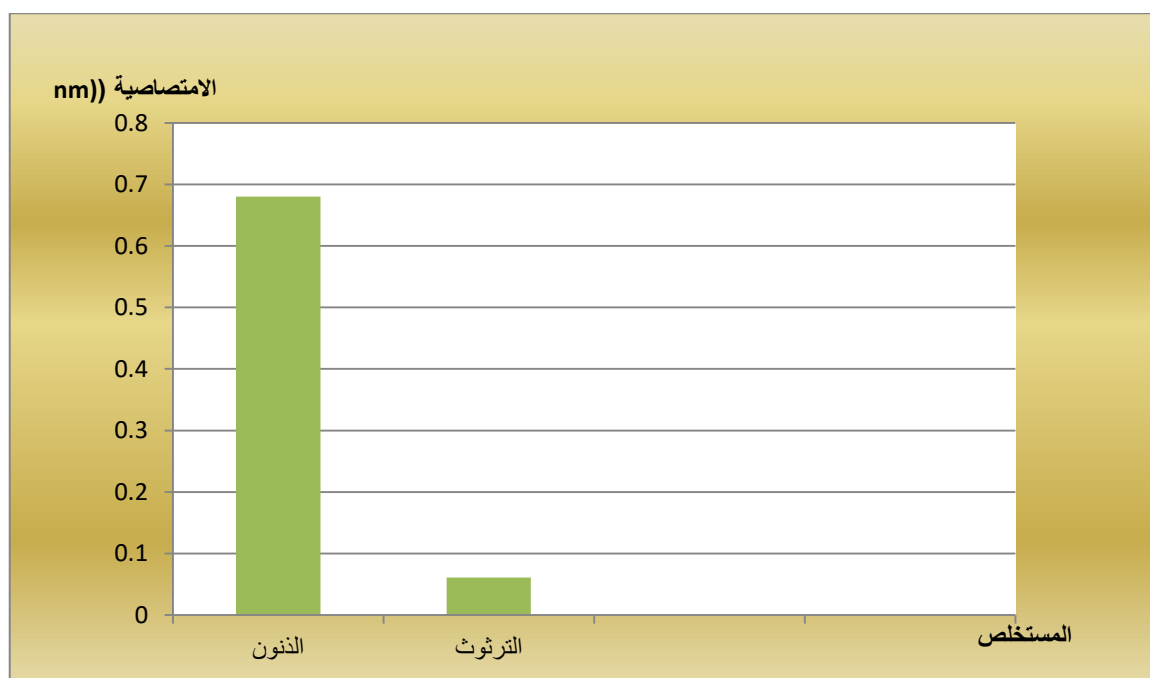


الشكل IV. 17. يوضح قيم IC_{50} المثبطة لنسبة 50 % من الجذر DPPH للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون والترثوث

من خلال الشكل أعلاه نلاحظ تقارب في قيم IC_{50} المثبطة للجذر الحر DPPH لكل من المستخلص الميثانولي للترثوث ($49.94 \mu\text{g/ml}$) و المستخلص الميثانولي لنبات الذنون ($42.13 \mu\text{g/ml}$)، وبما أن قيمة IC_{50} الأقل لها التأثير التثبيطي الأفضل هذا يعني أن المستخلص الميثانولي لنبات الذنون أبدى أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر DPPH .

ب) اختبار القدرة الإرجاعية لشوارد الحديد FRAP:

من خلال تطبيق اختبار القدرة الإرجاعية لشوارد الحديد FRAP تحصلنا على النتائج التالية:



الشكل IV. 18. قيم الامتصاصية للمستخلص الميثانولي لنباتي الذنون والترثوث لاختبار FRAP [1][2]

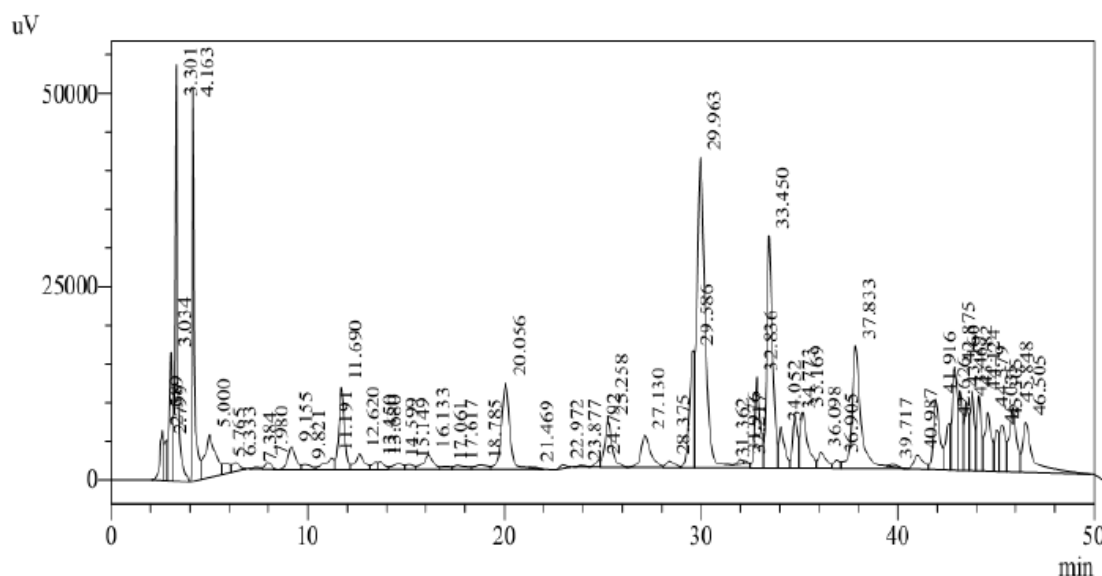
نلاحظ تفاوت في قيم الإمتصاصية لكل من نبات الذنون والترثوث، حيث قدرت الامتصاصية ب (0.68 nm) لمستخلص نبات الذنون و(0.061 nm) لمستخلص نبات الترثوث، أي أن لنبات الذنون قدرة إرجاعية أكبر بكثير من نبات الترثوث.

6.2.IV. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنباتي الذنون والترثوث باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

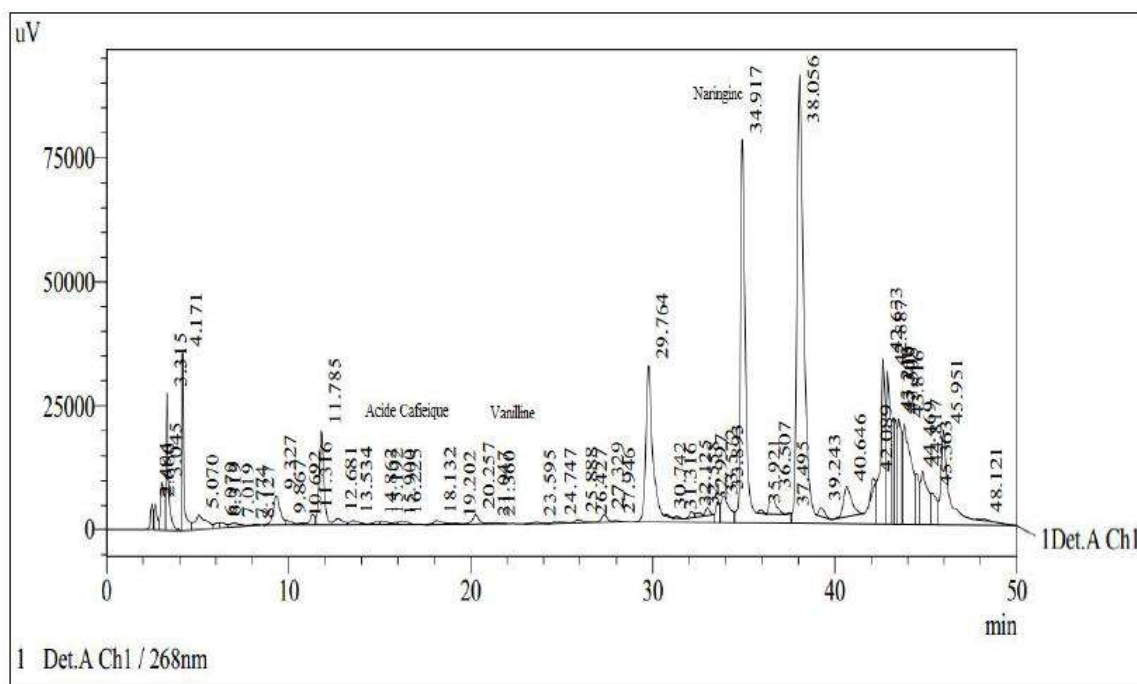
الجدول 6.IV. يمثل تراكيز المركبات الفينولية المتواجدة في كل من مستخلص الذنون والترثوث. [1][2]

اسم المركب	الذنون	الترثوث
حمض الكافيك	/	0.059
حمض البيوكومارين	0.020	/
الفانيلين	0.010	/
حمض كلوروجينيك	0.189	/
الروتين	0.195	/
الرنجين	1.227	16.662
الكرستين	0.341	/

بينت النتائج المدرجة في الجدول أعلاه وجود تباين واضح في قيم تراكيز المركبات المعروفة، حيث نلاحظ أن نبات الذنون ظهر عنده أعلى عدد من المركبات الفينولية من نبات الترثوث. و هذا ما يفسر القدرة الإرجاعية الكبيرة لنبات الذنون مقارنة بنبات الترثوث.



الشكل 19.IV. المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون [1]



الشكل IV. 20. المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الميثانولي لنبات الترتوث [2]

خلاصة :

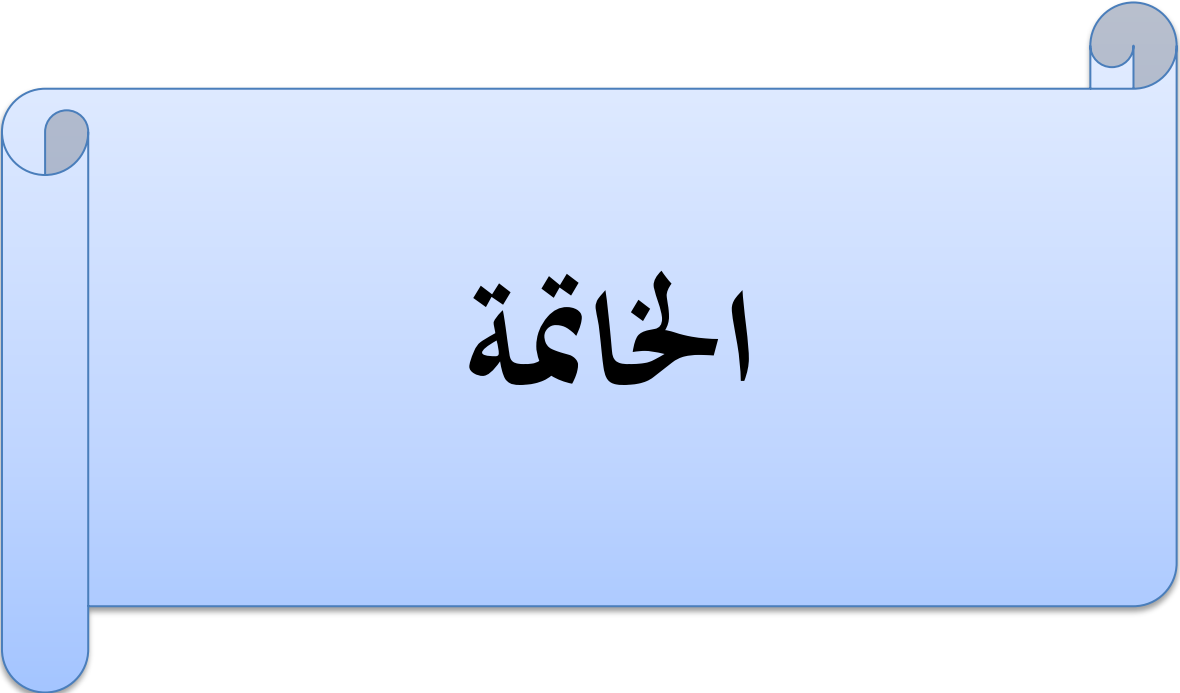
من خلال النتائج المتبينة من دراسة سابقة لنبات الذنون وجد أنه يحتوي على كمية معتبرة من المستخلص الخام الميثانولي، كما أنه يحتوي على كمية كبيرة من الفينولات والفلافونويدات من خلال التقدير الكمي لهما.

بالإضافة إلى وجود فعالية مضادة للأوكسدة من خلال إختبار DPPH و وجود قدرة إرجاعية لشوارد الحديد.

كما بين التحليل النوعي بإستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء للمستخلص الميثانولي لنبات الذنون أن المستخلص يحوي العديد من المركبات الفينولية وهذا يتوافق مع إختبار الفعالية المضادة للأوكسدة، بالمقارنة مع نبات الترتوث الذي يشبهه وهما من نفس العائلة.

قائمة المراجع

- [1] بن لاشهب العطرة، حوامد مبروكة، مساهمة في دراسة فيتو كيميائية و النشاطية المضادة للأكسدة لنبات الذنون *Cistanche violacea (Desf.) Beck.* مذكرة لنيل شهادة تخرج ماستر أكاديمي، تخصص التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي، (2019).
- [2] شرادة نزار، عوادي محمد الأخضر، دراسة العلاقة الفيتوكيميائية بين نباتي الأرضى *Calligonum comosum L'her* العائل والترثوث *Cistanche tinctoria* المتطفل النامين في منطقة واد سوف، مذكرة لنيل شهادة تخرج ماستر أكاديمي، تخصص التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات، جامعة حمه لخضر، الوادي، (2019).



الخاتمة

مسايرة لتطورات العلم الحديث ومستجداته في السنوات الأخيرة وبغرض تثمين النباتات الصحراوية النامية بمنطقتنا والتعريف بفوائدها واستخداماتها العلاجية ولتغاضي الباحثين عن مثل هكذا مواضيع، أردنا في هذا البحث المساهمة و لو بالقليل بالتعريف بأحد هذه النباتات، حيث تم إجراء دراسة فيتو كيميائية لتحديد المحتوى الفينولي والفعالية البيولوجية لنبات الذنون (*Cistanche violacea (Desf.) Beck*) النامي بمنطقتنا منطقة واد سوف، إذ قمنا بأخذ الجزء الهوائي لإجراء الدراسة.

وللتعرف على محتوى المواد الفعالة قمنا ببعض الكشفات الأولية والتي أظهرت أن النبتة تحتوى على الفلافونويدات والنترينات والتربينات الثلاثية والكومارينات والتانينات والصابونيات والكيونات وهذا دليل على أنها نبتة غنية بالمواد الفعالة، وقمنا بعملية الإستخلاص لبعض المركبات الفعالة بطريقة النقع.

ولكن وبسبب الظروف الراهنة وانتشار فيروس كورونا توقفت الأنشطة البيداغوجية و لم نستطع إكمال الدراسة المقرر لها، فقمنا بمقارنة نتائج سابقة لنبات الذنون ونبات شبيه له من نفس العائلة وهو نبات الترتوث (*Cistanche tinctoria*)، حيث كانت أهم النتائج التي تم مقارنتها على النحو التالي:

قيمة المردود للمستخلص الميثانولي الخام لنبات الذنون فقد قدرت ب 18.89 % و ب 14.68 % لنبات الترتوث وهي كمية معتبرة.

أما بالنسبة للتحليل الكمي للفينولات والفلافونويدات فقدت قيمة الفينولات ب 116 ملغ/غ لنبات الذنون و 192.11 ملغ/غ لنبات الترتوث و قيمة الفلافونويدات ب 11.891 و 18.36 ملغ/غ لكل من نبات الذنون والترتوث على الترتيب.

وبغية دراسة النشاطية البيولوجية تطرقنا لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة وذلك بالإعتماد على:

اختبار الجذر الحر DPPH حيث أظهرت قيم IC_{50} المتحصل عليها أن مستخلص نبات الذنون أبدى أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر DPPH مقارنة بمستخلص نبات الترتوث إذ قدرت قيم IC_{50} ب (42.13 $\mu g/ml$) بالنسبة لنبات الذنون و (49.94 $\mu g/ml$) لنبات الترتوث.

أما اختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP فقد أظهرت النتائج أن مستخلص نبات الذنون أعطى أكبر قدرة إرجاعية مقارنة بمستخلص نبات الترتوث.

كما قمنا بالتعرف على بعض المركبات الفينولية في المستخلصات المدروسة، وذلك عن طريق التحليل النوعي بواسطة جهاز HPLC والذي كشف عن وجود العديد من المركبات الكيميائية، تم التعرف على بعض المركبات: حمض البيوكومارين، الفانيلين، حمض كلوروجنيك، الروتين، النرجنين،

الكرستين بالنسبة لنبات الذنون، وسجل أقل عدد من المركبات الفينولية لنبات الترتوث حيث ظهر حمض الكافيك والرجنين وغياب باقي المركبات الأخرى.

وفي الأخير نتمنى أن تكون هذه الدراسة منطلق دراسات أوسع حول هذا النبات الصحراوي الذي لازالت فوائده محل بحث لحد الآن وقيمه تنتظر من الباحثين التعريف بها، وتحديد والتعرف على بقية المركبات الفعالة ودور كل منها، كما يمكن إدراج النبات من المكملات الغذائية كونه غني بالبروتينات. وكتوصيات مستقبلية نأمل بالتوسع والتعمق أكثر في الدراسة، كدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لنبات الذنون كونه نبات غني جدا بالمواد الفعالة.

الملاحق

الملحق 01:



صور لنبات الذنون المدروس النامي بمنطقة واد سوف (الجزء العلوي والسفلي)



صورة لنوع من انواع الذنون النامي بولاية سكيكدة

الملحق 02 :



المنطقة (البيئة) التي ينمو بها نبات الذنون (الجديدة الجنوبية بلدية سيدي عون)

الملحق 03 :



جهاز الميزان الحساس



عملية الترشيح بواسطة المضخة