رقم الترتيب : .....
رقم التسلسل: .....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الشهيد حمّه لخضر – الوادي–

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد: عفاف سبوعي

مروة دركي

تحت عنوان :

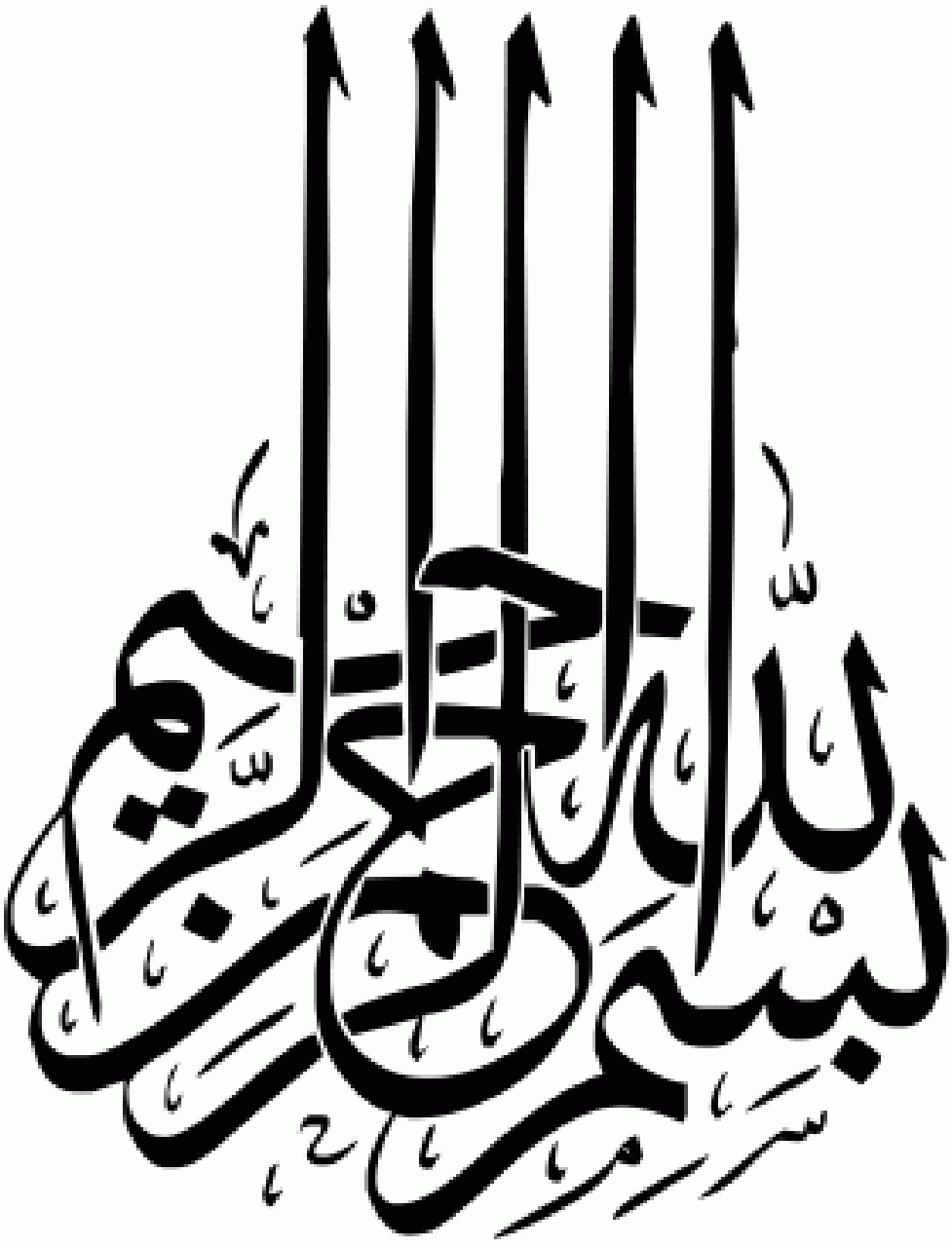
دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية والقلويدية لعشبة العلندة

نوقشت يوم: 2019/06/20

أمام لجنة المناقشة:

محمد زيدان	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر	رئيسا
نور الدين تامة	أستاذ محاضر (ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر	مقررا
نعيمة بن شيخة	أستاذة محاضرة (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر	مناقشا
رشيدة زواري أحمد	أستاذة مساعدة (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر	مناقشا

السنة الجامعية: 2019/2018


بسم الله الرحمن الرحيم

إهـــداء

إلى من أشرقت الأرض بنور وجهه وأرسله الله رحمة للعالمين
سيدنا وحبيبنا محمد صل الله عليه وسلم
إلى من كلله الله بالهيبة و الوقار .. إلى من علمني العطاء بدون انتظار .. إلى من احمل اسمه بكل افتخار .. أرجو من الله أن يمد في عمره ليرى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار
و سيبقى كلماته نجوم اهتدي بها اليوم و في الغد و إلى الأبد .. والدي العزيز "ادم "
إلى من تعجز كلماتي و تنحني هامتي .. إلى شمس حياتي التي لا تغيب .. و اسماها نفسا وادقها وحسا و أرسخها في المكرمات أقدما و ارفعها في الحادثات إعلاما إلى من ربتني
و أنارت دربي و أعانتني بالدعوات ، إلى من كان وجودها سبب أفراحي
و رضاها سر نجاحي .. أمي الغالية" فتيحة "
إلى من لا يمكن للكلمات أن توفي حقه و لا للأرقام أن تحصي فضائله أخي العزيز "محمد فوزي "
إلى شموع الحياة و أمل المستقبل أخواتي :عفاف،سارة ،نور الهدى ،آمنة إيناس .
و إلى ثريا ،حكيمة، صفاء وأزواجهم وأبنائهم
إلى أختي التي لم تلدها امي زوجة اخي "سعاد"
و إلى الروح التي سكنت روحي ابن أخي "محمد البراء"
إلى جدي بشير و جدتي فاطمة أطال الله في عمرهما
إلى أعمامي الأعزاء: بشير ،عزرائيل ،مسعود ، المولدي وأخوالي عبد الغني ،الطاهر وزوجاتهم وأبنائهم .
إلى من تحلو بإخاء و تميزو بالعطاء إلى رياحين الحب و الوفاء صديقاتي : عفاف ،مريم ، يمينة، انتصار،فاطمة الزهراء، رونق، أميرة ،سمية ، بسمة ،منال ،رانيا، إيمان .
إلى كل من نساهم قلمي ولم ينساهم قلبي
إلى كل هؤلاء جميعا اهدي ثمرة جهدي المتواضع .

مـــــروة

إهـــداء

إلى

من أشرقت الأرض بنور وجهه و أرسله الله رحمة للعالمين

سيدنا محمد صل الله عليه وسلم

أهدي ثمرة جهدي ، إلى من تعجز كلماتي و تنحني هامتي لعظيم عطائها ،إلى من كانت نورا في ظلامي ، و فرحا في أحزاني، و قدوة في كياني، إلى أمـــــــــي الغاليـــــــة "يمينـــــــة"، فبفضل الله ثم جهودها وصلت إلى ما أنا فيه الآن .أسال الله أن يمتعها بالصحة والعافية ، و أن يطيل في عمرها في الخير.

الى من علمني الصبر والنجاح و كنت الامل الذي راوده ، فحلم أن يراني في مثل هذا اليوم فتحقق، الى والـــــدي "البشير".

الى شمس حياتي التي لا تغيب ، و اسماها نفسا ، و أدقها حسا، و ارفعها في الحادثات أعلاما و اقرها في المشكلات أحلاما ،نعم الجليس، وخير الأنيس، إلي أمـــــي الثانيـــــة خالتـــــي "العطرة".

إلى من أرى التفاؤل بعيونهم و السعادة في ضحكتهم كل من أخوالي(الصادق، حسين،محمد،فتحي) وأعـــمـــــامـــــي (المولدي والجيلاني)و زوجاتهم و أبنائهم و عمتي هنية.

إلى أخت لأمي لم تلدها جدتي (خالتي فتيحة).

الى زوجة جدي (نورة).

إلى رفقاء دربي في هذه الحياة إلى إخوتي (زياد ومحمد)وأخواتي(خديجة و أنفال).

إلى كل من عائلة سبوعي وسليماني من كبيرها إلى صغيرها.

إلى إخوتي اللواتي لم تلدهن أمي ...إلى من تحلو بالإخاء و تميزوا بالوفاء والعطاء إلى كل ينابيع الصدق الصافي من معهم سعد،و برفقتهم في دروب الحياة الحلوة والحزينة سرت إلى من كانوا معي على طريق النجاح الى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا أضيعهم مروة ويمينة ومنى وزهرة ومريم و اسلام.

عفـــاف

شكر وعرفان

الحمد لله الذي أنار لنا درب العلم والمعرفة وأعاننا على أداء هذا الواجب ووفقنا على انجاز هذا العمل ومكان ليتم إلا بفضله وتوفيقه فأشكره شكرا عظيما يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه وبعد:

نتقدم بالشكر الجزيل إلى والدينا إلى من كللهم الله بالهيبة و الوقار و كانا حافزا لنا على مواصلة دراستنا , لذا نطرز من خيوط الشمس اللامعة حروف شكر ,ومن ماء الذهب عرفان لحرصهم الدائم بالدعاء لنا وتشجيعنا .

يسعدنا في مقامنا هذا أن نتقدم بخالص الشكر الجزيل والعرفان بالجميل والاحترام والتقدير لمن غمرنا بالفضل واختصنا بالنصح وتفضل علينا بقبول الإشراف على مذكرة الماستر أستاذنا وشيخنا الفاضل: الدكتور تامة نور الدين.

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأساتذة: زيدان محمد , بن شيخة نعيمة , ربيعي عبد الكريم طليبة محمد علي , على ما قدموه لنا من نصائح ومساعدات.

كما نتقدم بالشكر الجزيل أساتذتنا أعضاء اللجنة المناقشة الموقرين على ما تكبدوه من عناء في قراءة هذه المذكرة المتواضعة واغنائهم باقتراحاتهم القيمة .

كما لا يفوتنا أن نذكر جميع أفراد المخابر لكليات: العلوم الدقيقة ,العلوم والتكنولوجيا ,العلوم الطبيعية والحياة على ماقدموه لنا من مساعدات ,ونخص بالذكر كنزة , منى , سناء .

كما تتسع دائرة شكرنا إلى: يمينة حرزولي , تريعة صفاء , ايمان شلالبة , بن عمارة حسن شنه جهاد,بسمة واري .

دون أن ننسى أفراد دفعة 2019.

وأخيرا نتقدم بجزيل الشكر و العرفان إلى كل من ساهم في انجاز هذا العمل راجيتا المولى القدير أن نكون من العارفين للناس فضلهم وان يمكننا من رد جميلهم.

وما توفيقنا إلا بالله.

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تثمين المنتجات الطبيعية و دورها كمضادات حيوية بديلة من خلال اختبار الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية وأملاح القلويديات الموجودة في عشبة العلندة .

و تمكنا في هذه الدراسة من تحديد هذه المنتجات وذلك من خلال الكشف والاستخلاص ومن ثم التقـــدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية .

حيث توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن عشبه العلندة لكلا المنطقتين (الحمراية –وزيتن)غنية بمواد الأيض الثانوي و المتمثلة في عديدات الفينول والفلافونيدات وأملاح القلويدات و تم كذلك تحديـــد الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للجذور الحره باستخدام اختبار DPPH و TAC ، حيث تبين أن لجميع المستخلصات لها فعالية مضادة للأكسدة ، حيث كانت اكبر القيم فـــي المستخلصـــات الفينوليـــة لسيقان و أوراق لعشبة العلندة لمنطقة الحمراية لكلا الاختبارين .

و كخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات على أربع ســـلالات بكتيريـــة ممرضة و كانت النتائج ايجابية خاصة في المستخلصات المائية لأملاح القلويديات عند التركيـــز الأعلـــى لسلالتين *Escherichia coli–Staphylococcus aureus* ، حيث كان اكبر قطر تثبيطي لعينة (ساق و أوراق) لمنطقة الحمراية اتجاه البكتيريا *Staphylococcus aureus* قدر ب 17 ملم .

الكلمات المفتاحية : عشبة العلندة ، المنتجات الفعالة (المركبات الفينولية و القلويدية) ، الفعالية البيولوجية (الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا).

Résumé

Résumé:

Notre objectif principal de cette étude est de montrer l'intérêt des produits naturels et leur rôle comme des antibiotiques alternatifs à partir d'un test d'efficacité biologique pour les composés phénoliques et les sels alcaloïdes existants dans la plante *Ephedra alata* .

Nous avons conclu que la plante *Ephedra alata* pour les deux régions (Elhamraya-Ouaziten) est riche en métabolites secondaires présentés sous forme des poly phénols et des flavonoïdes et des sels alcaloïdes .

L'activité anti-oxydante a été effectuée moyennant deux tests différents(test DPPH et TAC). On a constaté que les extraits ont une efficacité anti-oxydante et les plus grandes valeurs enregistrées dans les extraits phénoliques pour(les feuilles et tiges) *Ephedra alata* la région Elhamraya dans les deux tests.

Comme une étape finale, l'activité antibactérienne des extraits a été testé vis-à-vis de quatre bactéries pathogènes, les résultats trouvés sont positifs en particulier dans les extraits "aquatiques "des sels des alcaloïdes lors de "la concentration "maximale chez les deux races (*Staphyloccoucus – Escheria Coli*) pour l'échantillon de la région Elhamraya. L'inhibition est de 17mm (y compris le diamètre du disque) vis-à-vis de *Staphyloccoucus* .

Mots clés: *Ephedra alata* , les Principes actifs (polyphénols, alcaloïdes), l' efficacté biologique (l'activité antioxydant et antibactérienne)

الفهرس

المحتويات

الإهـــداء	
شكـر وعرفـان	
ملخـــص	
فهـرس المحتويات	
قائمــة الجـداول	
قائمــة الأشـكال	
قائمـة الرموز والاختصارات	
مقدمـــة	1
المراجـــع	
الجـــزء النظـــري	
الفصل الأول : عموميات حول عشبة العلندة	
تمهيد	7
I . دراسة عامة حول عشبة العلندة	7
I. 1.التعريف بالعائلة ephedraceae	7
I. 2. دراسة عامة للجنس Ephedra و انتشارها في العالم	8
3.I .الأنواع التابعة للجنس Ephedra	8
4.I. الأسماء الشائعة لعشبة العلندة	9
5.I. التصنيف العلمي لعشبة العلندة	10
I. 6. الوصف المورفولوجي للنبات	10
7.I. التوزيع الجغرافي للنبات	12
8.I. الاستعمالات الطبية لعشبة العلندة	12
9.I. الآثار الجانبية لعشبة العلندة	13
10.I. الاستعمالات الأخرى لعشبة العلندة	13
11.I. المركبات الكيميائية للنبات	14
المراجع	
الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية	
تمهيد	20

II .1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة	20
II .1.1. المنتجات الأولية(metabolites premieres)	20
II .2.1. المنتجات الثانوية (metabolites secondaires)	20
II .2. القلويدات	21
II .1.2. تعريف القلويدات	21
II .2.2. تسمية القلويدات	21
II .3.2. تصنيف القلويدات	22
II .4.2. تواجد وتوزيع القلويدات	22
II .5.2.خصائص القلويدات	23
II .6.2.فوائدها	23
II.1.6.2. فوائد القلويدات للنبات	23
II.2.6.2. فوائد القلويدات للإنسان	23
II .3. الفينولات	24
II .1.3.تعريف المركبات الفينولية	24
II .2.3. مصدر المركبات الفينولية	24
II .3.3. تصنيف المركبات الفينولية	25
II .1.3.3.الفينولات البسيطة Phénols simple (C_6)	26
II .2.3.3. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acidesphénolscarboxyliques	26
II .1.2.3.3.الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C_6- C_1)	26
II .2.2.3.3.أحماض هيدروكسي سيناميك (C_6-C_3)	27
II .3.3.3.الكومارينات	27
II .4.3.3. الستلبينات Stilbènes (C_6 –C_2 –C_6)	28
II .5.3.3. الفلافونيدات	28
II.1.5.3.3. تعريف الفلافونيدات	28
II.2.5.3.3. بنية الفلافونيدات	29
II.3.5.3.3. تصنيف الفلافونويدات	29
II.4.5.3.3 تواجد الفلافونيدات	32
II.5.5.3.3. أهمية الفلافونيدات	32

II.6.3.3.الليغنان Lignane $(C_6 - C_3)_2$	33
II.7.3.3.اللغنين	34
II .4.3.الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية	34
II.5.3. أهمية الفينولات	35
II.1.5.3.أهمية الفينولات بالنسبة للنبات	35
II.2.5.3.الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية	36
الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية	
تمهيد	43
III.1. البكتيريا	43
III.1.1. تعريفها	43
III.2.1. تسمية البكتيريا	43
III.3.1. بنية البكتيريا	44
III.1.3.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية	44
III.4.1. تصنيف البكتيريا	45
III.1.4.1. من حيث توزيع أسواطها	45
III.2.4.1. من حيث الشكل	46
III.3.4.1. من حيث الوسط التي تعيش فيه	46
III.4.4.1. من حيث التغذية	47
III.5.4.1. من حيث طريقة التلوين (GRAM)	47
III.6.4.1. من حيث الأثر على الإنسان	47
III.2. المضادات الحيوية	51
III.1.2. تعريف المضادات الحيوية	51
III.2.2. أنواع المضادات الحيوية	51
III.1.2.2. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية	51
III.2.2.2. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية	51
III.3.2. مصدر المضادات الحيوية	51
III.4.2. تأثير المضادات الحيوية	52

III.1.4.2.العمل على جدار الخارجي للبكتيريا	52
III.2.4.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا	52
III.3.4.2. العمل على تثبيط نمو ADN	52
III.4.4.2. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمى	52
III.5.2.المقاومة البكتيرية	53
III.1.5.2. تعريف المقاومة	53
III.2.5.2. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي	53
III.2.5.2. 1. خواص الجذمة البكتيرية :	53
III.2.2.5.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي	53
III.3.الجذور الحرة و مضادات الأكسدة	54
III.1.3. مقدمة	54
III.2.3.الجذور الحرة	55
III.1.2.3. تعريف الجذور الحرة	55
III.2.2.3. أنواع الجذور الحرة	56
III.1.2.2.3. التقسيم على أساس الاستقرار	56
III.2.3. 1.1.2. الجذور النشطة (غير مستقرة)	556
III.2.3. 2.1.2. الجذور المستقرة(الصامدة)	56
III.3.2.3. أسباب زيادة الجذور الحرة	57
III.3.3. مضادات الأكسدة	57
III.3. 1.3. تعريف مضادات الأكسدة	57
III.3.3. 2.أقسام مضادات الأكسدة	58
III.3.3. 3.آلية عمل مضادات الأكسدة	59
الجـزء التطبيقـي	
الفصل الرابع: الطرق والوسائل	
IV.1. جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي	66
IV.1.1الموقع الجغرافي لمنطقة القطف	66
IV.2.1 مرحلة التجفيف	67

IV.3.1.الحفظ	67
IV.2.الأجهزة والمواد المستعملة	67
IV.1.2.الأجهزة	68
IV.2.2.المواد	70
IV.4.استخلاص المركبات الفينولية	70
IV.1.4. تعريف الاستخلاص	70
IV.1.1.4. استخلاص صلب – سائل	70
IV.2.1.4.استخلاص سائل – سائل	70
IV.2.4. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من عشبة العلندة	71
IV.3.4. طريقة استخلاص المركبات القلويدية من عشبة العلندة	73
IV.5.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات	75
IV.6. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	75
IV.1.6. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية –المرئية	75
IV.1.1.6.مبدأ العمل	75
IV.2.1.6.مكونات الجهاز	76
IV.2.6.التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Vissible	77
IV.1.2.6.المنحنى القياسي لحمض الغاليك	77
IV.2.2.6.التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات	78
IV.3.6.التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة UV-Vissible	79
IV.1.3.6.المنحنى القياسي لحمض الكرستين	79
IV.2.3.6.التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات	80
IV.7.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية	81
IV.1.7.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	81
IV.1.1.7.اختبار DPPH للمستخلصات الفينولية	82
IV.2.1.7. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH	83
IV.2.7.اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية TAC باستعمال موليبدات الألمنيوم	83
IV.1.2.7. المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك	83
IV.2.2.7. اختبار الموليبيدات للمستخلصات	84

8.IV.دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا	85
1.8.IV.جمع السلالات البكتيرية المستهدفة	85
2.8.IV.السلالات البكتيرية المستعملة	85
3.8.IV.طريقة العمل	85
1.3.8.IV. تحضير تركيز المستخلصات	85
2.3.8.IV. تحضير الأقراص	86
3.3.8.IV. تحضير وسط الزرع	86
4.3.8.IV.تحضير المعلق البكتيري	86
5.3.8.IV.وضع الاقراص المشبعة بتراكيز المستخلصات	86
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
1.V.الكشف عن مواد الايض الثانوي في عشبة العلندة E-ALata	91
2.V. مردود الاستخلاص	92
3.V. التقدير الكمي بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible	95
1.3. V.التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-Visible	95
2.3.V. التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-Visible	86
4.V. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	97
1.4.V نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH	79
2.4.V.نتائج الفعالية المضادة للأكسدة الكلية TAC باستعمال موليبيدات الامونيوم	100
5.V. الفعالية المضادة للبكتيريا	102
الخاتمة	108
الملاحق	

قـائمة الجداول

الجـزء النظـري

الفصل الأول : عموميات حول عشبة العلندة		
الجدول (1.I)	التصنيف العلمي لنبات *Ephed alata*	10
الجدول (2.I)	بعض المركبات المفصولة من عشبة العلندة	14
الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية		
الجدول (II.1)	يمثل تصنيف القلويدات	22
الجدول (2.II)	تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها	25
الجدول (II.3)	بعض أنواع الأحماض المشتقة من حمض بنزويك	27
الجدول (4.II)	يوضح بعض الأمثلة عن أحماض السينامك	27
الجدول (5.II)	يوضح بعض أنواع الكومارينات	28
الجدول (6.II)	يوضح بعض أمثلة عن الستلبينات	28
الجدول (7.II)	يوضح بعض أنواع الفلافونات	30
الجدول (8.II)	يوضح بعض أنواع ايزوفلافونات	30
الجدول (9.II)	يوضح بعض أنواع الفلافونولات	30
الجدول (10.II)	يوضح بعض أنواع الفلافانولات	31
الجدول (11. II)	يوضح أنواع الفلافانونات	31
الجدول (12. II)	يوضح أنواع أنثوسيانات	31
الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية		
الجدول (1.III)	يمثل التصنيف العلمي E-coli	48
الجدول (2.III)	يمثل التصنيف العلمي Kl p	49
الجدول (3.III)	يمثل التصنيف العلمي لـ St.a	49
الجدول (4.III)	يمثل التصنيف العلمي:Lis m	50
الجـزء التطبيقي		
الفصل الرابع: الطرق والوسائل		
الجدول(1 .IV)	جدول:نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك	77
جدول (2 .IV)	نتائج الامتصاصية للكرستين بدلالة التركيز	79
جدول (3 .IV)	نتائج الامتصاصية الاسكوربيك بدلالة التركيز	84
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الجدول (1.V)	مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	93
الجدول (2.V)	مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية .	94

الجدول (3.V)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	95
الجدول (4.V)	كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	95
الجدول (5.V)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	96
الجدول (6.V)	كمية الفلافونويدات في المستخلصات العضوية	96
الجدول (7.V)	نسبة التثبيط المئوية للعينة A	97
الجدول (8.V)	نسبة التثبيط المئوية للعينة B	98
الجدول (9.V)	نسبة التثبيط المئوية للعينةC	98
الجدول (10.V)	نسبة التثبيط المئوية للعينةD	98
جدول (11.V)	يوضح نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمسخلصات العضوية	100

	قـائمة الأشكال	
	الجـزء النظري	
	الفصل الأول :دراسة عامة حول عشبة العلندة	
الشكل (1.I)	الانتشار الجغرافي للجنس Ephedra في العالم	8
الشكل (2.I)	بعض أهم الأنواع التابعة للجنس Ephedra	9
الشكل (3.I)	رسم تخطيطي للأزهار المؤنثة	11
الشكل (4.I)	رسم تخطيطي للأزهار المذكرة	11
الشكل (5.I)	صورة موضحة لشكل المورفولوجي للنبات Ephed alata	11
الشكل (6.I)	صورة فوتوغرافية لعشبة العلندة	12
	الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية	
الشكل(1. II)	نموذج بسيط لمركب فينولي	24
الشكل(2. II)	يبين بعض بنى الفينولات البسيطة	26
الشكل(3. II)	الهيكل القاعدي للفلافونويدات	29
الشكل(4. II)	تصنيف الفلافونويدات	29
الشكل(5. II)	أمثلة عن الليغنان	33
الشكل(6. II)	بنية اللغنين	34
الشكل(7. II)	تفاعل أكسدة هيدروكينون	34
الشكل(8. II)	تشكل الكومارينات	35
	الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية	
الشكل(1.III)	تركيب الخلية البكتيرية	44
الشكل (2-III)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـ E.Coli	48
الشكل(3-III)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـKl p	49
الشكل (4-III)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـ St.a	49
الشكل(5-III)	صورة موضحة بالفحص المجهري لـ Lis m	50
الشكل(6-III)	قطر منطقة التثبيط للبكتيريا	54
الشكل(7-III)	صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة	55
الشكل(8-III)	البنيات الرنينية في جزئ DPPH	56
الشكل(9-III)	أنواع مضادات الأكسدة	58
	الجزء التطبيقي	

	الفصل الرابع: الطرق والوسائل	
الشكل(IV.1)	خريطة موقع الحمراية و وزيتن	66
الشكل (IV.2)	عملية التجفيف والطحن	67
الشكل (IV. 3)	مخطط يوضح طريقة استخلاص الفينولات	73
الشكل (IV. 4)	مخطط يوضح طريقة استخلاص الأملاح القلويدية.	74
الشكل (IV. 5)	مكونات جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية	76
الشكل (IV. 6)	صورة المنحنى قياسي	78
الشكل (IV. 7)	المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين	78
الشكل (IV. 8)	المنحنى القياسي لحمض الكرستين	80
الشكل (IV. 9)	المحاليل بعد إضافة ثلاثي الكلوريد الالمنيوم	80
الشكل (IV. 10)	الذي يوضح آلية تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر DPPH	82
الشكل(IV. 11)	صورة توضح بعض مستخلصات بعد إضافة محلول DPPH	82
الشكل(IV. 12)	منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك	84
الشكل(IV. 13)	صورة توضح بعض مستخلصات بعد إضافة محلول المولبيبيدات	85
	الفصل الخامس: النتائج والمناقشة	
الشكل (V.1)	الكشف عن الأملاح القلويدية	91
الشكل (V.2)	الكشف عن الفينولات	91
الشكل (V.3)	الكشف عن الفلافونويدات	92
الشكل (V.4)	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	93
الشكل (V.5)	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية	94
الشكل (V.6)	مخطط يوضح كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	96
الشكل (V.7)	مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات و الفلافونويدات	97
الشكل(V.8)	منحنيات اختبار DPPH للمستخلصات	99
الشكل(V.9)	المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك	99
الشكل (V. 10)	مخطط يوضح نتائج اختبار تقدير الفعالية المضادات للأكسدة الكلية	101

الرمز	بالعربية	بالأجنبية
%	النسبة المئوية	Pourcentage
C^0	درجة مئوية	Degré celsius
A	الامتصاصية	Absorbance
AG	حمض الغاليك	Acide Gallique
AQ	حمض الكرستين	Acide Qurcitine
AA	حمض الاسكوربيك	Acide Ascorbique
UV-vis	طيف الأشعة فوق البنفسجية و المرئية	Spectrophotomètre ultra-violet et visible
DPPH	جذر فينيل بكريل هيدرازيل	-Diphenyl-1-picrylhydrazyl2,2
A_0	الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات	
A_i	الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر+المستخلصات)	
I%	نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر $DPPH^{\cdot}$	Pourcentage de d'inhibitrice du radical DPPH
Ic_{50}	تثبيط نسبة 50% من تركيز الجذور الحرة	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
TAC	مجموع القدرة المضادة للأكسدة	Total antioxidant capacity
BHT	بيوتيل هيدروكسي تولين	Butylated hydroxytoluene
BHA	بيوتيل هيدروكسي الأنيسول	Butylated hydroxyanisole
ADN	حمض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين	Acide Désoxyribonucléique
ROS		Reactive oxygen Species
E- Alata	العلندة	Ephedra Alata

Escherichia coli	اشيريشيا كولي	**E- coli**
Klebsiella pneumoniae	كلبسولابنوموني	**KL p**
Staphylococus aureus	ستافيلوكوكيز أروز	**St a**
Listeria monocytogenes	الليستيريا مولدة للوحيدات	**Lis m**

المقدمة

منذ القدم عرف الإنسان العلاج بالنباتات والأعشاب الطبية ، فهي تلعب دورا رئيسيا فـــي الغـــذاء والدواء، وفي العصر الحديث اعتقد الكثيرون أن الأدوية المصنعة سوف تحـــل محـــل النباتـــات الطبيـــة المستعملة في الطب الشعبي، حيث عرف الإنسان أمراضا لم تكن معروفة أو منتشرة من قبل، بـــل دخـــل عصر الأمراض المزمنة، و يرجع ذلك إلى الاستعمال اللامحدود للمواد الكيميائية فـــي جميـــع مجـــالات الحياة فلوثت بيئة الإنسان وأثرت على صحته ومناعته في مقاومة الأمراض فهي تحمل الكثير من الآثـــار الجانبية .

بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا أن تجعل المواد الفعالة في النباتات الطبية أن تكون نافعة للجسم وإن لم تكن كذلك فهي غير ضارة [1]

قَالَ تَعَالَىٰ: ﴿ أَلَمْ تَرَوْا۟ أَنَّ ٱللَّهَ سَخَّرَ لَكُم مَّا فِى ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَمَا فِى ٱلْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعَمَهُۥ ظَٰهِرَةً وَبَاطِنَةً ۗ .. ﴾ **[لقمان، 20]**

ونظرا لما تزخر به بلادنا من النباتات الطبية لما لها من مساحات واسعة ومناخات عديدة، وهـــذا التنوع المناخي الكبير الأثر البالغ في شدة التنوع النباتي وإعطائها المميزات الخاصة[2] ، ولـــذالك فقـــد ارتأينا في هذا البحث دراسة إحدى النباتات الطبية الصحراوية النامية بمنطقتين مختلفتين بـــوادي ســـوف وهما (منطقتي الحمراية ووزيتن)والتي تعرف علميا باسم *Ephedra alata* والمعروفة باسم شجرة العلندة.

ونهدف من خلال هذه الدراسة الى اختبار المواد الفعالة الموجودة في هذا النبات بتقييم الفعاليـــة المضـــادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الفينولية والقلويدية للنبات، و في هذا الصـــدد طرحنـــا الإشكاليات التالية:

- ما مدى احتوى نبات *Ephedra alata* للمواد الفعالة خصوصا المواد الفينولية والقلويدية ؟
- ما تأثير المنتجات الطبيعية المستخلصة من النبات على نمو السلالات البكتيرية ؟
- هل لهذه المركبات تأثير على كبح الجذور الحرة؟

و قصد الإجابة عن الإشكاليات المطروحة قسمنا بحثنا إلى جزء نظري يحوي ثلاثة فصول:

- ✓ **الفصل الأول:** دراسة عامة حول عشبة العلندة .
- ✓ **الفصل الثاني** :المركبات القلويدية والفينولية .
- ✓ **الفصل الثالث:** الفعالية البيولوجية.

أما الجزء التطبيقي فيحوي فصلين :

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

وفي الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليها .

المراجع

مراجع باللغة العربية:

[1] بلفار آسيا 2018. دراسة القدرة المضادة للاكسدة و للبكتيريا و التآكل للمستخلصات الفينولية لنبات limosniastrum guyonianum (Dur) . مذكرة دكتوراه ل.م.د. تخصص التحاليل الفيزيوكيميائية و فعالية العينات الجزيئية . جامعة قاصدي مرباح. ورقلة .

[2] حلمي ع 1997.النباتات الطبية في الجزائر ، الوكالة الوطنية لحفظ الطبعة.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة عامة حول عشبة العلندة

تمهيد :

عرف الإنسان الأعشاب الطبيعية النافعة والسامة منذ الأزل واستعملها في غذائه ودوائه، بشـكلها الطبيعي أو بشكل مساحيق ، أو مستخلصات مائية أو غيرها ...

و مازال يتوارث ذلك جيلا بعد جيل مستفيدا من النباتات البرية التي تنبـت عفويـا كمـا طـور زراعتها لنفس الغاية .

و من هذا المنطلق يستحسن استعمال هذه النباتات في حياتنا اليومية والتي تمثل اتجاها جديد فـي طريق العلاج بالطب البديل ، لذلك لابد أن نتعرف على فوائد تلك الأعشاب الطبية فـي الغـذاء وعـلاج الأمراض [1] ومن أهم هذه الأعشاب عشبة العلندة.

I. دراسة عامة حول عشبة العلندة :

1.I. التعريف بالعائلة *ephedraceae*:

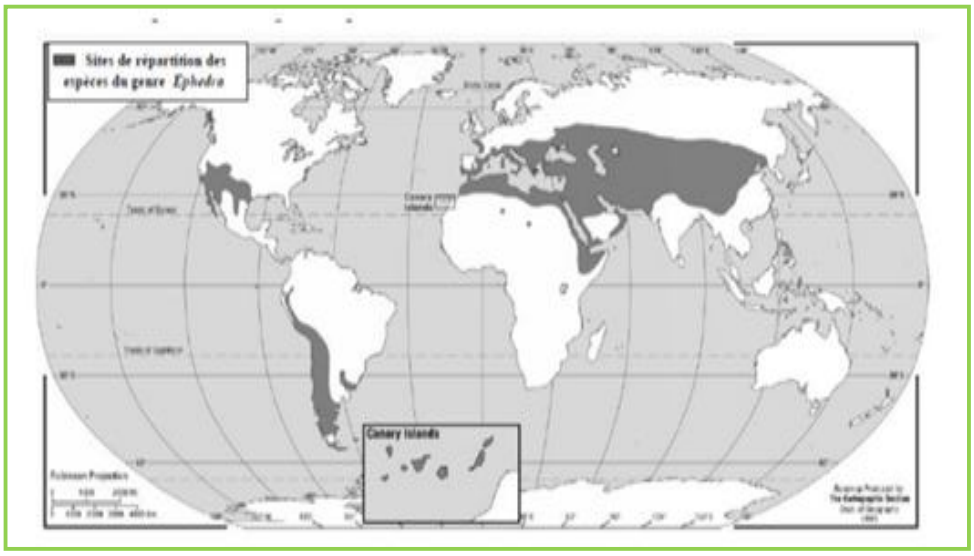
الـ *ephedraceae* هي عائلة من كاسيات البذور تشتمل على نوع واحد *Ephedra* ، استطاعت هذه العشبة البقاء حتى الآن لكونها تأقلمت مع بيئة جد قاسية. [3,2]

هذه النباتات العشبية استطاعت تجاوز 1م من الطول مع رائحة صنوبر قوية وطعم لاذع [4] ، نباتـات العائلة *ephedraceae* تتكون أساسا من شجيرات مقاومة ودائمة ، ونباتات عشبية ذات مدى حياة طويل، وهي تعود إلى نباتات ثنائية المسكن حيث البعض منها أحادي المسكن والتي تظهر بـأوراق متموضـعة حول الساق بطريقة دائرية ، و قابلة للتساقط حيث الأوراق المتقابلة تأخذ شكل حراشف (قشـور)، حيـث الأزهار أحادية الجنس (الزهور الذكرية والأنثوية منفصلة)يمكن لبعض منها أن تكون ثنائيـة المسـكن (في نفس الوقت هي ذكرية وأنثوية). [5]

2.I. دراسة عامة للجنس *Ephedra* و انتشارها في العالم :

يحتوي جنس *Ephedra* على 60 نوع [6]، نباتات متخشبة عيدانية مؤلفة من سلميات مفصلية، أوراقها متقابلة ضامرة إلى غمد قصير [7] ،ينمو فً المناطق الجافة (الرملية أو الصخرية) والمدارية من العالم [8]

حيث نجده في آسيا الوسطى خصوصا شمال الصين و منغوليا والهند. وأجزاء من منطقة البحر المتوسط و أفغانستان ، فضلا عن مناطق أمريكا الشمالية والوسطى .كما تتواجد بعض الأجناس في التندر الروسية وشمال أوروبا خصوصا فرنسا . [9]



الشكل(I-1): الانتشار الجغرافي للجنس *Ephedra* في العالم [10]

3.I . الأنواع التابعة للجنس *Ephedra* :

هناك أنواع نباتًية تصنف تحت جنس *Ephedra* ،حّيث ًيقارب ذلك 60 نوع ومن أشهر هذه الأنواع التًي يُمكن عرضها :

- Ephedra intermedia
- Ephedra major
- Ephedra viridis
- Ephedra distachya
- Ephedra sinica [11]

E –intermedia

E –Viridis

E –sinica

الشكل (I-2) : بعض أهم الأنواع التابعة للجنس *Ephedra* [12،13،14]

I.4. الأسماء الشائعة لعشبة العلندة :

تختلف الأسماء المتداولة للنوع النباتي من منطقة إلى أخرى حيث يأخذ النوع النباتيً *Ephedra alata* عدة أسماء تتمثل في:

الاسم العربي : العلندة

الاسم العلمي : *Ephedra –alata*

الاسم الانجليزي : joint pine ,ephedra leafless [15]

الاسم الفرنسي : alanda [16]

I. 5. التصنيف العلمي لعشبة العلندة

يمكن تمثيل الوضعية التصنيفية لنبات *Ephedra alata* في الجدول التالي: [9]

الجدول (I-01) التصنيف العلمي لنبات *Ephed alata*

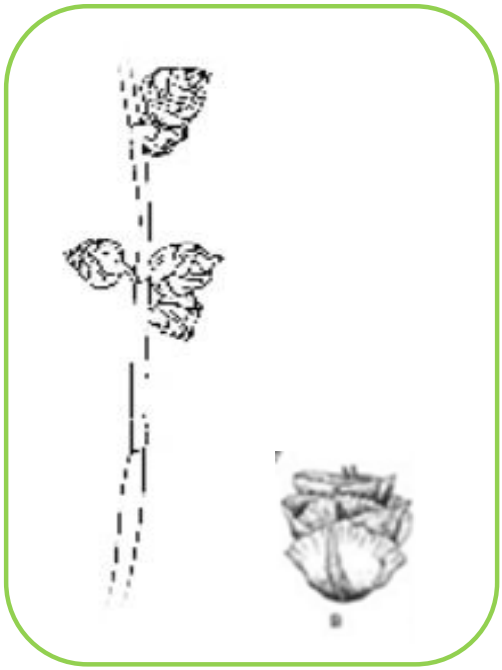
Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Gymnospermes
Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Génère	*Ephédra*
Espèces	*Ephédra alata*

I.6 . الوصف المورفولوجي لعشبة العلندة :

هي شجيرات معمرة عشبية كثيرة الفروع أغصانها مفصلة ، يمكن أن يصل ارتفاعها من1-3 متر،ساقها رقيقة خضراء مصفرة متداخلة طويلة العروق أنبوبية قطرها 1.5 ملم نهايتها حادة على مستوى العقد ،أوراقها مختزلة متحورة إلى حراشف صغيرة [9]،أي مختزلة في أغماد وتكون متقابلة ذات نصل ضامر يكون متصلبا طوله 2-4 ملم ،طرفه رفيع قائم ،قاعدة الغمد منتفخة تحيط بالساق المتورم. [17]

الأزهار تتواجد على شجيرات وحيدة أو ثنائية المسكن أي أن الأزهار الأنثوية محمولة على نبات و الأزهار الذكرية على نبات آخر، كما يمكن أن تكون عقيمة . [18]

أما الأزهار المذكرة تتجمع في نورة كروية عند لمسها تتساقط منها حبيبات الطلع، حيث تكون سنبلية الشكل .أما الأزهار المؤنثة فهي أكبر بقليل من المذكرة ،ذات مظهر غشائي ،ينمو ويزهر في الربيع [19]، وتكون منفردة أو في أزواج ،حيث تتكون الزهرة من غلاف زهري بداخله بويضة واحدة ،كما تنشأ من الزهرة المؤنثة ثمرة شبه كروية أو بيضوية عريضة في شكلها وقطرها 8-10ملم . [20]



الشكل(I-3): رسم تخطيطي للأزهار المؤنثة

الشكل(I-4): رسم تخطيطي للأزهار المذكرة

البذور بيضوية الشكل لونها بني ولها طرف عريض وآخر رفيع السطح مجعد بخطوط طويلـــة طولهـــا حوالي 6 ملم وعرضها عند القاعدة يبلغ 3 ملم تكون خفيفة الوزن وفلقتان واضحتان سهلتا الانفصال.

أما المجموع الجذري يتكون من محور رئيسيً يمتد إلى الأسفل على استقامة الســـاق ويعـــرف بالجـــذر الابتدائي، يتغلغل عموديا في التربة استجابة للجاذبية الأرضية، تتفرع منها جذور ثانوية أو جانبيـــة تمتـــد مائلة إلى الأسفل. [21،20]

الشكل(I-5): صورة موضحة لشكل المورفولوجي للنبات *Ephed alata*

الشكل(I-6): صورة فوتوغرافية لعشبة العلندة

I. 7. التوزيع الجغرافي لعشبة العلندة:

يتوزع نبات *Ephedra alata* بكثرة في الجزء الشمالي من الكرة الأرضية، كما تتواجد في الصحراء الكبرى العربية [17] في شمال إفريقيا حيث لوحظت في المغرب، ليبيا مصر والجزائر [9]،وفي آسيا خصوصا المملكة العربية السعودية والمناطق الاستوائية في أوروبا [22]،كما تتواجد شمال ووسط أمريكا وأمريكا الجنوبية على طول جبال الأنديز من الإكوادور إلى الأرجنتين [11]،أما في الجزائر يكثر تواجد النبات *Ephedra alata* في الصحراء الشمالية الغربية على مستوى الأراضي الرملية تحديدا في المناطق الرملية في الجزء الصحراوي الشرقي و ولاية الوادي [9]

I.8. الاستعمالات الطبية لعشبة العلندة:

تعرف النباتات الطبية على أنها النباتات التي تستخدم لمنع أو عالج أو التخفيف من الأمراض المختلفة، حيث يستخدم أكثر من 35 ألف من النباتات تقريبا في جميع أنحاء العالم لأغراض طبية[23]،ومن بين الخصائص العلاجية لنبات *Ephedra alata* :

نبتة *Ephedra alata* من النباتات ذات الخصائص العلاجية التي وقع استخدامها في الطب الشعبي حيث:

- استعملت في حالة اضطرابات الدورة الدموية

- أمراض الكلى واضطرابات الجهاز الهضمي، أمراض المناعة الذاتية.
- كما تكون مضادة للسرطان حيث أثبتت التجارب أن لها تأثير مباشر وسريع على ســـرطانات الجهـــاز الهضمي خاصة في بدايته وبينت قدرتها على مقاومة الخلايا السرطانية والحد من انتشارها [24]
- كذلك استخدم النبات لعالج الربو واحتقان الأنف، استخدم النبات في الطب الحديث مضادة للفيروســـات وخصوصا فيروس الايدز HIV،أستعمل المستخلص المائي للنبات ضد نمو وإنتاج مركب aflatoxines المسبب لأمراض الفطرية [25]
- يستعمل مركب إلايفدرين في معالجة الربو القصبي المزمن لأنه يرخي العضلات الملساء في القصبات وينبه مركز التنفس في الجملة العصبية المركزية ويعمل على توسيع حدقة العين بالتطبيق الموضعي وذلك بالتأثير على العضلة الشعاعية،ويستعمل في إزالة الاحتقان في الغشاء المخاطًي للأنف [26]
- الأيفدرين يمنع انخفاض ضغط الدم أثناء التخدير الموضعي، حيث يعطي بالحقن العضلي تحت الجلد قبل إجراء التخذير [27]
- كذلك أستخدم الايفيدرين لعالج سلس البول من خلال تحفيز مركب adrenocepter – α لعضالات المثانة

I. 9 .الآثار الجانبية لعشبة العلندة:

في حين أن نبات *Ephedra alata* له أثار جانبية فينبغي عدم استخدامه للمرضى المصـــابين بـــتجلط الدم والسكري وأمراض القلب وارتفاع ضغط الدم ومرض الغدة الدرقية والأمـــراض المزمنـــة ومســـببة للالتهاب الجهاز الهضمي[11]

I.10. الاستعمالات الأخرى لعشبة العلندة:

- إن للنبات *Ephedra alata* استعمالات أخرى كونها مصدر هام للحطب [17]
- وتستخدم النبتة أيضا في الصباغة والدباغة عن طريق طحن الأغصان ووضع المسحوق المتحصل عليه مع المواد المراد صباغتها في ماء مغلي من يوم إلى ثلاثة أيام.
- كما تستخدم لاستهلاك من قبل الحيوانات مثل الإبل والماعز والبقر [28]

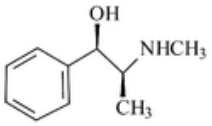
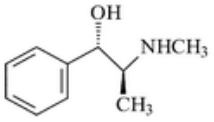
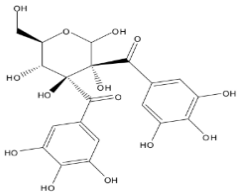
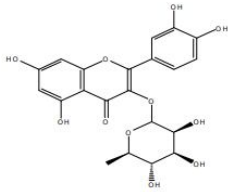
I.11. المركبات الكيميائية للنبات:

يصنع النبات مركبات كيميائية، بفضل عمليات عالية الخصوصية تدعى بعمليات الايض Metabolismes

وتتضمن عمليات البناء Anabolisme وعمليات الهدم Catabolisme ،كما بين كل[30،29] أن الخلايا النباتية تصنع العديد من المركبات مثل الليبيدات والسكريات والبروتينات وتسمى بمركبات الايض الأولي، وبفضل هذه المركبات تنتج مركبات أخرى تعرف بمركبات الأيض الثانوي، هذه المركبات لا تتدخل في الدور المباشر على مستوى الفعالية الأساسية في العضو النباتي، لكنها تقوم بدور هام في النبات من أجل المحافظة على استمراره وبقائه.

بعض المركبات المفصولة من عشبة العلندة:

الجدول (I-02): بعض المركبات المفصولة من عشبة العلندة

المركب	الاسم	المصدر	المرجع
القلويدات			
	(-) – Ephédrine	*E- alata*	[31]
	(+)- Pseudo éphédrine	*E- alata*	[31]
الفلافونيدات			
	2,3 -digalloylglucopyranose	*E- alata*	[32]
	Quercetin 3-rhamnoside	*E- alata*	[33]

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] مدحت سيف نصر1426 ه. بعض النباتات الطبية النامية في مدينة مكة المكرمة ، بحث مقدم إلى ندوة مكة المكرمة عاصمة الثقافة الإسلامية .

[7] الخطيب ا 1971 .التكاثر النباتي في الزمر النباتية .ديوان المطبوعات الجامعية.الساحة المركزية بن عكنون الجزائر.

[15] شركس ع 2014. مجلة الكترونية صادرة عن العمل التمويني.جامعة بيروت.العدد9-01.

[17] حليس يوسف 2007 . الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير .الطبعة الثانية .الوادي . ص182.

[19]حليس يوسف 2005. الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير .الطبعة الأولى .الوادي

[20] ديب م. م 2013 .مجلة بيئتنا . الهيئة العامة للبيئة . الكويت . العدد (146) . ص20.

[21] بوغرارة ر، جديد ر 2015 .دراسة التاثير التضاد الكيميائي لنبات الشيح Artimisia herba-alba و العلندة Ephedra alata على انبات و نمو بعض الحشائش الضارة المتواجدة في حقول القمح . مذكرة ماجستير . جامعة منتوري قسنطينة . الجزائر . ص10.

[26] درمش م.خ ،وهبي ع، المحمد ح، كردوش م، دهان م، اليوسف م 2014. مجلة بحوث سلسة العلوم الزراعية .جامعة حلب.العدد(82).

المراجع باللغة الأجنبية :

[2] Christenhusz, M., Reval,J., Farjon, A., Gardner, M., Mill, R. &Chase, M.W.(2011)

[3] Friedem, W. (1998). The evolution of double fertilization and endosperm, and historical perspective. International Journal of Plant.

[4] Leung, A, et Foster, S. (1996). Encyclopedia of Common Natural Ingredients. John Wiley & Sons: New York.

[5] Savoleinen, V.V., Spichiger, R.E, Figeat, M. & Jeanmonod, D.(2002). Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Troisième édition. Ed. PRESSES POLYTECHNIQUES.

[6] EL FENNOUNI M. 2012.Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'avortement au Maroc. Doctorat. Université Mohammed v, faculté de médecine et de pharmacie Maroc.

[8] TOLLA G.E., PETERSON C.E.? 1979.Comparison of gibberellin A4/A7 and silvernitrate for induction of staminate flowers in gynoecious cucumbers lines, Hort. Science.

[9] OZENDA P, 1991.Flore et vegetation du Sahara . Ed.C.N.R.S, Paris. 662-665p.

[10] CAVENY S., CHARLET D.A., FREITQG H., MAIER-STOLETE M., STARRATT A. N., 2001. New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae).American Journal of Botany.Vol.88(7): 1199-1208p.

[11] ANONYMEI, 2009. Guidance on Safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as ingredients in food supplements. Eurpean. 1-14p. In http://www.efsa. Europa.eu/en/scdocs/doc/1249.pdf

[12] GURLEY B, WANG P, GARDNER S, 1988.Ephedrine-type alkaloid content of nutritional containing Ephedra sinica(Ma-huang) as determined by high performance liquid chromatography. J Pharm Sci.87 (12)

[13] LAIRD R. BLACKWELL., 2002. Wild flowers of the Eastern Sierra and adjacent Mojave Desert and Great Basin, Lone Pine Pres.

[14] PESCHKOVA GA?. 2005. Synopsis of the Siberian Ephedra species (Ephedraceae). Botanicheskii Zhurnal. Moscow& Leningrad.

[16] ABEER H? 2001.Ephedra alata as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. African Journal of Microbiology Research, 5(16)

[18] QUEZEL P., SANTA S.,1963. Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales. Ed. C.N.R.S, Paris., 40p.

[22] AL-QARAWI A.A, ABDALLAH E.F. ET ABEER H, 2011-Ephedra alata biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. African Journal of Microbiology Research, Vol

[23] NEDJMI A? SOUSSOU A? 2014.Caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage. Mémoire master Université kasdi Merbah Ouargla

[24] JAMOUS M.R, SHTAYEB A.M.S, 2008.Traditional Arabic Palestinian Herbal Medicine. Biodiversity and Environmental Reasherch Center (BERC), Til Nablus, 182:35

[25] KEBILI Z ., 2016.Contribution à l' étude de quelques activités biologiques des extraits de Ephedra alatade la région de Ouargla . Mémoire de magister . université kasdi merbah ouargla . 7-8 p.

[27] GOODMAN L.S? 1993.Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York. MacMaillan,

[28] DOBINGNARD A, CHATELAIN, 2011-index synonymique de la flore d'Afrique du nord, conservatoire et jardin botanique ville de Genève, vol.1-5.

[29] GUINERD J, COSSON L? HENRY M? 1980.Abrégé de Photochimie. Ed.Masson, Paris

[30] E. A.Abourashed, A.T.El-Alfy, I.A.Khanand L.Walker.(2003).Ephedra in perspective-a current review. 17:703-712

[31] M. A. M. Nawwar, H. H. Barakat, J. Buddrus and M. Linscheid. (1985). Alkaloidal, Lignan and Phenolic Constituents of Ephedra Alata. 24 (4) :818819

[32] M.A.M.Nawwar, H.I.EL-Sissi and H.H.Barakat.(1984). Flavonoid Constituents of Ephedra Alata. 23 (12) : 2937-2939

[33] MANN J, 1978.Secondary Metabolism (Oxford Chemistry Series). Oxford University Press, 2 edition

الفصل الثاني

المركبات القلويدية والفينولية

تمهيد:

كثر الاهتمام بدراسة النبات الطبية، والاستفادة منها في معالجة الأمـــراض المختلفـــة إذ تحتـــوي النباتات على عدد كبير جدا من المركبات الفعالة طبيا التي تعكس الإمكانيات العلاجية الكبيرة لهذا النبات، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض[1].

II .1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة:

المنتجات الطبيعية الفعالة هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مـــواد أنتجتهـــا الكائنـــات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية، والتي يـــتم فصـــلها مـــن النباتات والكائنات الحية الدقيقة. وهي جزيئات تنتج انطلاقا من عمليات الأيض، ونميز منها قسمين: أيض أولي وأيض ثانوي[2]

II .1.1. المنتجات الأولية(metabolites premieres):

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية و الضرورية لبقاء الخلية و الجسم، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية ، التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون والبروتين. [3]

II .2.1. المنتجات الثانوية (metabolites secondaires):

هناك العديد من المركبات التى تنتج فى النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها. [3]

وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ولها استعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة ، إذ تعتبر مركبات القسم الأول هي المواد البادئة لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي ؛ وهناك ثلاث مواد أولية رئيسية وهي ؛حمض الشيكميك والأسيتات والأحماض الأمنية. [3]

II .2. القلويدات :

II .1.2. تعريف القلويدات :

أقترح مصطلح قلويد لأول مرة سنة 1818م من طرف الباحث Meisser،[4] تعتبر القلويدات أحد أهم المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات الطبي[5]. القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي، تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها، معظم القلويدات يحتوي التركيب البنائي لها على مجموعات الفعالة بها ذرة أكسجين مثل المجموعات الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحوى الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر قد يحتوي النبات أكثر من 100 من القلويدات المختلفة، إلا أن تركيزها لا يتجاوز 10% من الوزن الجاف لنبات[6].

II .2.2. تسمية القلويدات :

نظرا لاختلاف القلويدات في خواصها وتراكيبها الكيميائية وبالتالي اختلاف في استعمالاتها ووظائفها الفسيولوجية فإنه يتعذر معه توفر نظام تسمية موحدة لهذه المركبات الطبيعية، حيث ينتهي اسم القلويدات بالمقطع **ine**.وتتم تسمية القلويدات حسب أحد الطرق التالية:[7]

1. تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الأول للنبات المستخلص منه ومثال ذلك: قلويد **Atropine** المستخلص من أوراق نبات Atropiabelladona.

2. تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الثاني للنبات المستخلص منه ومثال ذلك: قلويدBelladonine المستخلص من أوراق نبات Atropiabelladona.

3. تسمى بعض القلويدات حسب تأثيرها الفسيولوجي (العلاجي) و مثال ذلك: قلويد (مخدر Narcotine = Narcotic) و(مقئ Emetine = Emetic).

4. تسمى بعض القلويدات حسب خواصه الفيزيائية كما في قلوية ماص للرطوبة (Hygroscopic = Hygrine).

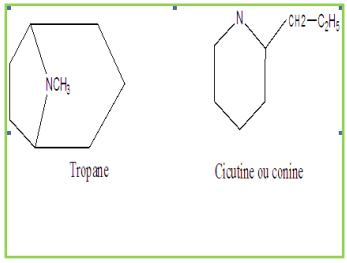
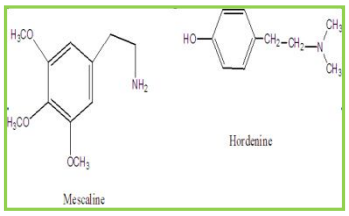
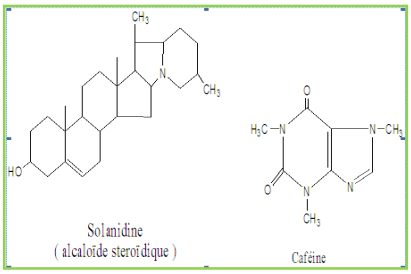
5. تسمى بعض القلويدات حسب اسم مكتشفها مثل قلويد Pelletierine باسم العالم Pelleter.

6. تسمى بعض القلويدات حسب اسم النبات الشائع ومثال ذلك: قلويد Ergometrine المستخلص من جذور فطر ClavicepsPurpura المعروف باسم الشائع له فطر Ergot [7]

II .3.2. تصنيف القلويدات:

يمكن أن نقسمها إلى ثلاثة أقسام : [8]

الجدول (1.II): يمثل تصنيف القلويدات

القلويدات الحقيقية (Les alcaloïdesvrais).	تحتوي على ذرة آزوت داخل الحلقة الكربونية(hétérocylique)،وهي مركبات قاعدية وتتواجد في الحالة الطبيعية كأملاح، وهي تتشكل انطلاقا من أحماض أمينية.	
القلويدات الأولية (Lesprotoalcalaoide)	هي أمينات بسيطة لها ذرة آزوت خارج الحلقة وهي مركبات قاعدية تنتج من أيض الأحماض الأمينية.	
القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) (les pseud-alcalaoide)	لها كل خصائص القلويدات، لكنها ليست مشتقة من أحماض أمينية. هذا القسم يحوي القلويدات الستيرودية والقلويدات البيرينية.	

II .4.2. تواجد وتوزيع القلويدات :

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية [9] ألا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل: الحشرات، الكائنات البحرية الدقيقة، والنباتات الدنيا، هذا ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى، وتوجد القلويدات بكثرة عند مغلفات البذور وخاصة عند ثنائيات الفلقة مقارنة بأحاديات الفلقة. وتتوزع القلويدات في ثنائيات الفلقة. [6]

II .5.2.خصائص القلويدات :

معظم القلويدات صلبة متبلورة، ماعدا القلويدات التي لاتحتوي على عنصر الاكسجين فإنهـــا ســـائلة مثل النيكوتين Nicotine [5،10]،ومعظمها عديمة اللون مثل Coniine والقليل منها ملون مثل Berberine لونه أصفر وMagnophlorine ذو اللون البرتقال ومرة الطعم مثل Ephedrine [9] القلويدات مركبـــات قاعدية تعطي أملاح مع أحماض وذوبانيتها في مختلف المذيبات تتغير بدلالة pH وحسب الحالة القاعديـــة والملحية.

✓ **في الحالة القاعدية** تذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية (الأيثر والكلورفورم) وفي المذيبات العضوية القطبية (الكحولات) ولاتذوب في الماء.

✓ **في الحالة الملحية** لاتذوب في المذيبات العضوية اللاقطبية وتذوب في المذيبات العضوية القطبية وتذوب في الماء . [7]

تتميز القلويدات بالسمية Toxicity العالية لشدة أنشطتها البيولوجية وقوة فعاليتها الفيسيولوجية . [9]

II .6.2.فوائدها :

II.1.6.2. فوائد القلويدات للنبات:

✓ تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها يحميه من الحشرات الضارة.

✓ تأثر بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات للنمو (Plantgrouth regulators) [11]

II.2.6.2. فوائد القلويدات للإنسان :

✓ مسكنة للآلام مثل:Morphime، Hyoscin.

✓ موسعة للقصبات الهوائية مثل: THeophylline.

✓ مرخية للعضلات مثل: Tubocuraine.

✓ رافعة للضغط مثل: Ephedine، أو خافضة للضغط مثل: Reserpine.

✓ موسعة لحدقة العين Atropine أو مضيقة لحدقة العين Pilocapic.

✓ طاردة للديدان Pelletierine.

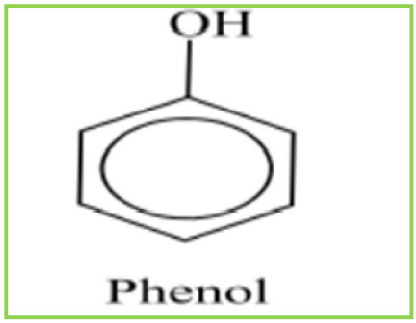
✓ مضادة لسرطان قلويداتVirca.

- ✓ مخدرة موضعية Oocaie.
- ✓ منبهة Caffeie.
- ✓ مدرة للبول Xanthines [11]

II .3. الفينـــولات :

II .1.3.تعريف المركبات الفينولية:

تعتبر المركبات الفينولية من بين أهم المركبات النباتية لنواتج الأيض الثانوي، حيث تشكل حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية، نظرا لكثرة عددها ولتابين الهياكل البنائية لها ، حيث تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة أو أكثر من الهيدروكسيل(OH) أو المرتبطة بأستر، إيثر ، أوجزيئة سكرية ، والاختلاف في عدد الحلقات وعدد الوظائف المرتبطة بها يجعلها تنقسم الى عدة مجاميع تتمثل في: الاحماض الفينولية، الفلافونويدات، التانينات، الكومارينات التي تتواجد في جل النبات [12].



الشكل(II .1): نموذج بسيط لمركب فينولي

II .2.3. مصدر المركبات الفينولية :

تتواجد المركبات الفينولية وبصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار والأوراق وذلك بشكل إيتروزيدات تذوب في الماء وتتمركز في حوصلة الخلية[13]، كما تعتبر الفواكه والخضروات ومن أهم المصادر حيث تحتوي على حوالي نصف الكمية من المركبات الفينولية والكمية الأخرى نجدها في المشروبات مثل عصائر الفاكهة، القهوة، الشاي. [14]

II .3.3. تصنيف المركبات الفينولية :

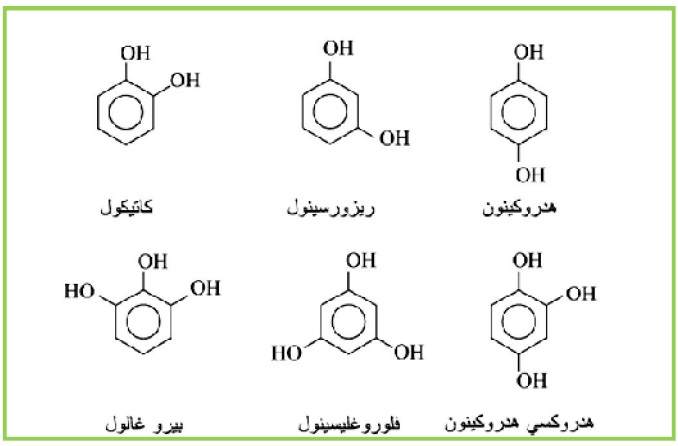
يمكن تصنيف المجموعات الكبيرة والمتنوعة من المركبات الفينولية على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء وحسب البنية و عدد الحلقات الأروماتية و العناصر المرتبطة بها و نلخص عملية التصنيف في جدول(II.1)التالي[15، 16]

الجدول (II.2): تصنيف المركبات الفينولية حسب بنيتها

الهيكل الكربوني الأساسي	الصنف
C_6	**الفينولات البسيطة Phénols simple**
C_6- C_1 C_6- C_3	**الأحماض الفينولية الكربوكسيلية Acidesphénols** • أحماض هيدروكسي بنزويك **Acideshydroxybenzoïque** • أحماض هيدروكسي سيناميك **Acideshydroxycinnamiques**
C_6- C_3	**الكومارينات Coumarines**
C_6- C_3 – C_6	**الستلبينات Stilbènes**
C_6- C_3 – C_6	**الفلافانويدات Flavonoïdes** ▪ الفلافونات **Flavones** ▪ الفلافونولات **Flavonols** ▪ الفلافانولات **Flavanols** ▪ الفلافانونات **Flavanones** ▪ ايزوفلافونات **Isoflavones** ▪ انثوسيانات **Anthocyanes**
$(C_6 – C_3)_2$	**انثوسيانات Anthocyanes**
$(C_6 – C_3)_n$	**اللغنين Lignines**
$(C_6 – C_3– C_6)_n$	**التانينات Tannins** ▪ تانينات قابلة للتحلل **Tannins hydrolysables** ▪ تانينات مكثفة **Tannins condensés**

II .1.3.3.الفينولات البسيطة Phénols simple (C_6) :

وهى التي تحتوي على حلقة بنزين مرتبطة بواحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل.فهي نادرة في الطبيعة باستثناء الهيدروكينون موجود في كثير من العائلات (ورديات، خلنجية). [17]



الشكل(II .2) يبين بعض بنى الفينو لات البسيطة

II .2.3.3. الأحماض الكربوكسيلية الفينولية Acidesphénolscarboxyliques

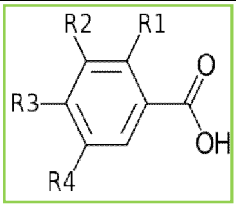
تحتوي الأحماض الكربوكسيلية الفينولية على مجموعة حامضية وهى مجموعة الكربوكسيلCOOH وكذلك واحد أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيلOH وتنقسم إلى مجموعتين :

II .1.2.3.3.الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك (C_6- C_1)

في هذا النوع تكون حلقة الفينول الأروماتية التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل أو أكثر مرتبطة مباشرة بمجموعة الكربوكسيلCOOH أي هيكله الاساسي حمض البنزويك هذه الأحماض هي شائعة جدا سواء في شكل حر او في شكل استرات أو جليكوسيدات. هذه الفئة هي وفيرة في النباتات والأغذية. [18]

ونوضح في **الجدول II.3** الأحماض الأكثر شيوعا

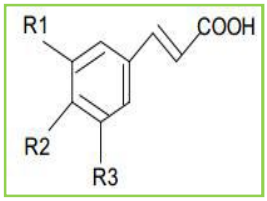
الجدول (II. 3): يوضح بعض أنواع الأحماض المشتقة من حمض البنزويك

الاسم	R4	R3	R2	R1	الهيكلة الاساسية
Acidebenzoique	H	H	H	H	
Acide m-hydroybenzoique	H	H	OH	H	
Acideprotocatechine	H	OH	OH	H	
Acidevanillique	H	OCH_3	OH	H	

II .2.2.3.3.أحماض هيدروكسي سينامك (C_6-C_3) :

في هذا النوع تكون الحلقة الفينولية التي تحتوي على مجموعات الهيدروكسيل مرتبطة بمجموعة الكربوكسيل عن طريق سلسلة أليفاتية غير مشبعة تتكون من 3 كربونات وهيكلها الاساسي حمض السينامك. نادرا ما توجد في شكل حر وغالبا ما تقترن مع سكريات أو البوليولات مثل حمض الكينيك وحمض الكافييك هو الممثل الرئيسي لهذه الفئة يوجد في العديد من النباتات. [19]

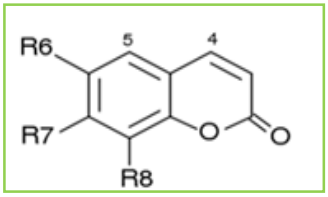
الجدول (II. 4): يوضح بعض الأمثلة عن أحماض

الاسم	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Acidecinnamique	H	H	H	
Acid p-coumarine	H	OH	H	
Acideférulique	H	OH	OH	
Acideférulique	H	OH	OCH_3	

II .3.3.3.الكومارينات:

هي عبارة عن نواة بنزينية وحلقة سداسية بها ذرة اكسجين، [20] حيث اشتق اسم كومـــارين مـــن كلمة (coumarou) وهو اسم نبات (dipteryx willd odorata)من عائلة fabaceae الذي فصل منـــه الكومارين (1820)، وتنتمي هذه الأخيرة إلى مجموعة من مركبات α–benzopyrone. [21]

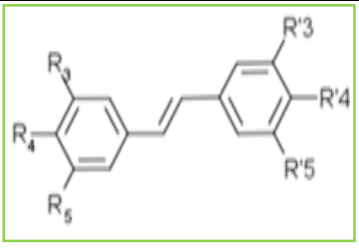
الجدول (II .5): يوضح بعض أنواع الكومارينات

الاســـــــم	R8	R7	R6	الهيكلة الأساسية
Coumarine	H	H	H	
Ombelliférone	H	OH	H	
Scopolétol	H	OH	OH	

II .4.3.3. الستلبينات Stilbènes ($C_6-C_2-C_6$):

هي مركبات تحتوي على حلقتين عطريتين ويربطها رابطة ثنائيه وهيكلها هـــو $C_6-C_2-C_6$ ، وتشكل نظام مترافق، هذه الميزة تعطي لها فعالية عالية نظرا للرنين الإلكتروني في الجزيء كلـــه ومـــن بينها مركب ريسفيراترول resvératrol ؛ وهي تحمي من الأشعة فـــوق البنفســـجية والجـــدول التـــالي يوضح بعض أمثلة عن الستلبينات. [16]

الجدول (II .6): يوضح بعض أمثلة عن الستلبينات

الاسم	R3	R4	R5	R'3	R'4	R'5	الهيكلة الأساسية
Resvératrol	H	OH	H	H	H	OH	
Pinosylvine	H	H	H	OH	H	OH	

II .5.3.3. الفلافونويدات :

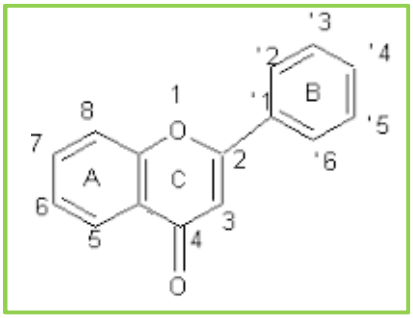
II .1.5.3.3. تعريف الفلافونويدات :

الفلافونويدات هي عبارة عن مركبات طبيعية من نواتج الايض الثانوي ، واسعة الانتشار في المملكة النباتية، إذا تحول النباتات نحو 2% مما تنتجه من الكربون العضوي إلى فلافونويدات (ما يعادل 10^9 طن في العالم الواحد)، وتشتق كلمة فلافونويدات من Flavus التي تعني أصفر في اللاتينية، وهو المصطلح العام لمجموعة كبيرة من المركبات الفينولية التي عرفت لأول مرة من قبل العالم "Albert Szent - gyorgyi" والذي صنفها على أساس أنها فيتامين P. [22]

تمتاز الفلافونيدات بصفة التعدد و التنوع، بالإضافة إلى اختلاف فعالياتها البيولوجية وأثر استهلاكها لدى الإنسان، هذا ما جلب إليها اهتمام الباحثين والمخبريين في مجالات عدة خاصة في الطب، والتغذية.

II.3.3.5.2 بنية الفلافونويدات :

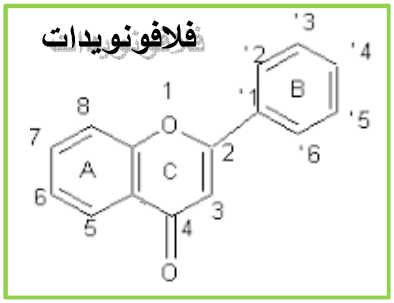
تظهر الفلافونويدات في النباتات ببنى كيميائية مختلفة، إذ تم التعـــرف علـــى أكثـــر مـــن 9000 فلافونويد[23]، جميعها تشترك في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15 ذرة كربون، تتوزع علـــى حلقتـــين عطريتين A و B ترتبطان بسلسلة من ثلاث ذرات كربون، وفي غالب الأحيـــان الجســـر الـــرابط بـــين الحلقتين A و B يتحلق ليكون الحلقة البيرانية C [24] .



الشكل(II .3): الهيكل القاعدي للفلافونيدات

II.3.3.5.3. تصنيف الفلافونويدات :

وهناك عدة فئات للفلافونويدات وتصنف حسب درجة تأكسد نواة البيرون (cyclepyrone)C وحسب موضع ارتباط الحلقة B بالحلقتين C التي هي:

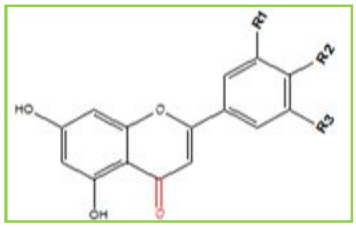


- Flavonols الفلافونولات
- Flavon-3-ols الفلافانولات
- Flavones الفلافونات
- Flavonones الفلافانونات
- Isoflavones ايزوفلافونات
- Anthocyanidins انثوسيانات

الشكل(II .4): تصنيف الفلافونويدات

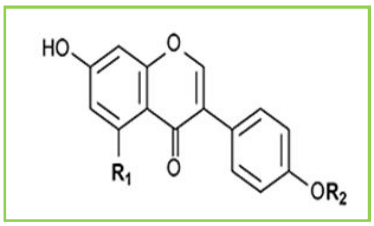
- **الفلافونات Flavones** : تحتوي الحلقة الغير متجانسة Pyrane على مجموعة كربونيل و رابطة غير مشبعة للكربونين C_2-C_3 وارتباط الحلقة B مع الحلقة C انطلاقا من الكربون2 [25]

الجدول (II .7): يوضح بعض أنواع الفلافونات

الاسم	R3	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Apigènine	H	OH	H	
Lutèoline	OH	OH	OH	
Diosmètine	H	OH	OCH_3	

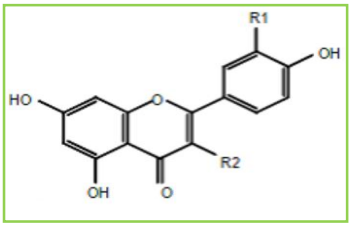
- **ايزوفلافونات Isoflavone** : الاختلاف بينها و بين الفلافونات هو ا ارتباط الحلقة **B** مـــع الحلقـــة **C** انطلاقا من الكربون كما يوضحه الجدول التالي: [26]

الجدول (II .8): يوضح بعض أنواع ايزوفلافونات

الاسم	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Daidzein	OH	H	
Genistein	OH	OH	
Glycitein	OH	OCH_3	

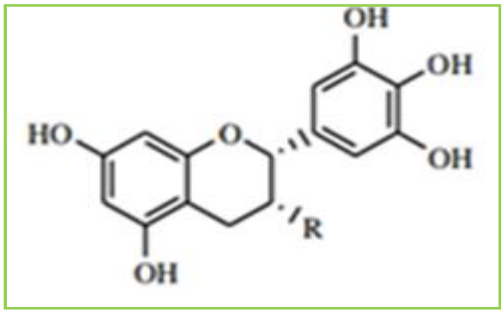
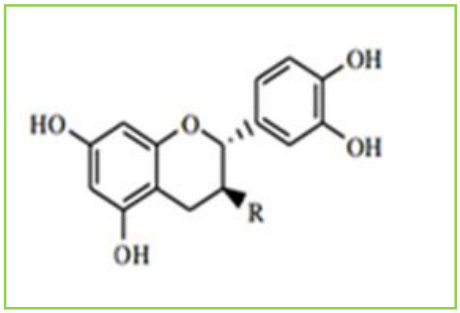
- **الفلافونولات Flavonols** : هيكلها الأساسي مثل الفلافونات بالإضافة إلى مجموعة هيدروكسيل فـــي الموضع 3 ، وهو كما يوضحه الجدول التالي: [25]

الجدول (II .9) : يوضح بعض أنواع الفلافونولات

الاسم	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Daidzein	OH	H	
Genistein	OH	OH	

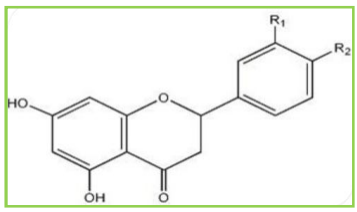
- **الفلافانولاتFlavan 3-ols:** ارتباط الحلقة B يكون فـــي الموضـــع 2 بالإضـــافة إلـــى مجموعـــة هيدروكسيل في الموضع 3 و تكون الرابطة C_2-C_3 مشبعة كما في الجدول التالي: [27]

الجدول (II .10): يوضح بعض أنواع الفلافانولات

	
R : OH épigallocatéchine	**R : OH** catéchine

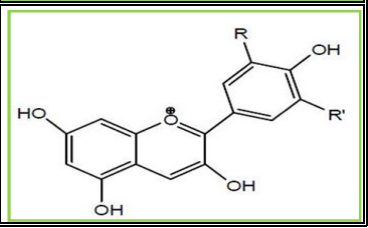
- **الفلافانونات Flavanones :** تتميز الفلافانونات بعدم وجود الرابطـــة المزدوجـــة بـــين C2 و C3 ،ولديه مركز تناظر في C2 [28]

الجدول **(II .11):** يوضح أنواع الفلافانونات

الاسم	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Naringénine	OH	H	
Eriodictyol	OH	OH	
Hésperitine	OCH_3	H	

- **أنثوسيانات Anthocyanes :** في هذه المجموعة تكون الحلقـــة الغيـــر متجانســـة كاتيونيـــة فـــي الموضع1 و هي أصباغ وتوجد في شكل جليكوسيدات مستقرة وقابلة للذوبان في الماء. [29]

الجدول (II .12): يوضح أنواع أنثوسيانات

الاسم	R2	R1	الهيكلة الأساسية
Pélargonidine	OH	H	
Cyanidine	OH	OH	
Péonidine	OH	OCH_3	

4.5.3.3.II تواجد الفلافونويدات :

الفلافونويدات هي عبارة عن صبغات نباتية تتواجد في مختلف أجزاء النبتة (جذور ،أوراق،سيقان، أزهار)، غير أنها تتواجد بتراكيز عالية في القسم الهوائي .توجد معظم الأصناف النباتية خاصة الراقية منها، و هي واسعة الانتشار عند كاسيات البذور ،متوسطة الحضور عند عاريات البذور و شبه منعدمة عند الطحالب ، كما وجدت عند الحزازيات ،كذلك عند نباتات أحادية الفلقة ،وتعتبر كأداة تشخيصية لذوات الفلقتين . وتتواجد بصفة عامة في الخلايا السطحية للأنسجة النباتية، حيث تؤمن لها الحماية من الأشعة فوق البنفسجية المضرة. كما أنها تتواجد منحلة في الفجوات على شكل إيتيروزيدات (أي الفلافونويدات التي تنحل في الماء) أما بقية الفلافونويدات التي تنحل في مذيبات غير قطبية (أي الفلافونويدات عديدة الميتوكسيل) فنجدها في سيتوبلازما الخلية، بالنسبة للأجليكونات فتتوضع على سطح النبات بخاصة الأوراق، حيث تكون ملازمة لمواد هي الأخرى ليبوفيلية وتلاحظ هذه الظاهرة خصوصا عند نباتات المناطق الجافة وشبه الجافة. [30]

لوحظ أنFlavanones وFlavonesغالبا ما تتواجد معا في نفس النبته، Flavanols وAnthocyanesعلى عكسFlavonesوFlavanols فهي عادة لا تظهرمعا في النبات الواحد. [31]

5.5.3.3.II. أهمية الفلافونويدات :

بالنسبة للنبات:

- يتمثل الدور الأساسي للفلافونيدات عند النبات في تلوينها، كذلك تعمل على حمايتها من الأشعة فوق البنفسيجية و الحشرات .
- تستعمل بعض الفلافونيدات مثل الايزوفلافونات كمبيدات الحشرية و كمضادات حيوية .
- اما الفلافونول و الفلافان تتميز بخاصية تثبيط الفطريات . [32]
- بعض الفلافونيدات تحمي النباتات من خلال الطعم المر، الشيء الذي يؤدي بآكلات الأعشاب إلى اختيار نباتات أخرى.

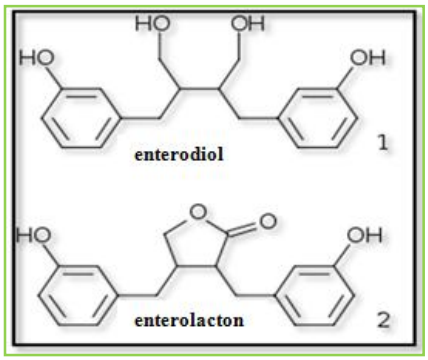
- **بالنسبة للإنسان :**

حيث تم في الوقت الحاضر دراسة الخصائص العلاجية للفلافونويدات، حيث تم التعرف على العديد من الأنشطة العلاجية لها وتتمثل :

- تقوي وتحسن أداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب Cardiovasculaire . [33]
- أثبتت الدراسات المكثفة حول الفلافونويدات متعددة الميتوكسيل أن لها فعالية ضد الخلايا السرطانية، وهذا من خلال تقوية الجهاز المناعي وذلك بمساعدته على مقاومة وتدمير الخلايا السرطانية. [33]
- البعض منها له تأثيرات مضادة للالتهاب . [34]
- تستعمل أيضا كمسكنات ومدرات للبول ومخفضات لنسبة الكوليسترول. [35]
- بالإضافة إلى ذلك كشفت الدراسات على كون الفلافونويدات مضادة لارتفاع ضغط الدم ،للحساسية ،مضاد للتسمم الكبدي ،و ذات فعالية ضد الملا ريا . [36]

II.6.3.3.الليغنان Lignane $(C_6 - C_3)_2$:

و هي مركبات تتكون من ثنائي وحدات فينيل بروبان C_6-C_3 وتنتج طريق تفاعل ديمرة Dimérisation للفينولات المستبدلة والمشتقة من حمض السينامك ، كما يوضحه الشكل التالي : [37]

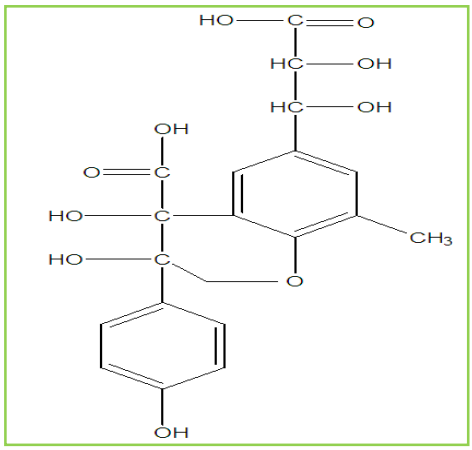


الشكل(II .5): أمثلة عن الليغنان

II.7.3.3.اللغنين:

اللغنين عبارة عن بوليمر معقد ثلاثي الأبعاد مكون من وحدات الفينيل بروبان Phenyl – prorane غير متبلور، ويعمل اللجنين كمادة مغلقة ومحيطة بالميكروفبريل. وهو يوفر الصلابة للجدار الخلوي، كما يمد الخلايا بالحماية ضد التلف الكيميائي. [38]

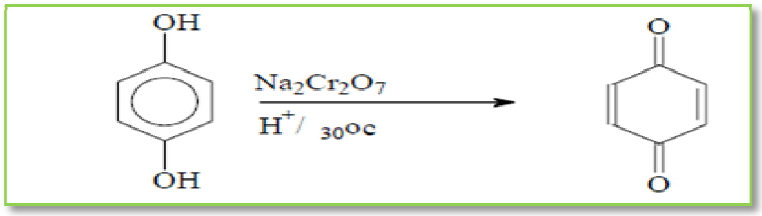
وتُعتبر هذه البوليمرات الحيوية مصادر متجددة لإنتاج الألياف الطبيعية.



الشكل(II .6): بنية اللغنين

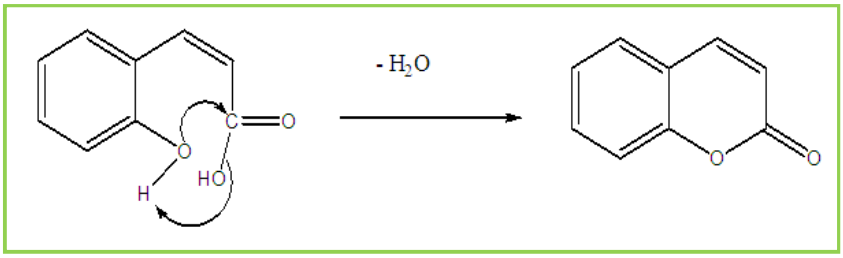
II .4.3.الخواص الفيزيائية والكيميائية للمركبات الفينولية :

- الفينولات تنحل أساسا في المذيبات العضوية القطبية ، وتذوب كذلك في محاليل هيدروكسيد الصـــوديوم وكربونات الصوديوم، بينما الأحماض الفينولية تذوب وتستخلص بمذيبات عضـــوية قطبيـــة فـــي وســـط حمضي مخفف ، كذلك كلا الصيغ المستبدلة (hétérosidiques) للمركبات الفينولية تذوب في الماء. [3]
- أكسدة الفينولات : تتأكسد الفينولات بسهولة،حيث العينات التي تترك معرضة للهواء لبعض من الوقت عادة ما يتغير لونها إلى الداكن كالفواكه ،وذلك بسبب الأكسدة للمركبات الفينولية كما في الشكل التالي:



الشكل(II .7)::تفاعل أكسدة هيدروكينون

▪ عند تأكسد حمض السينامك في الوضع ortho للسلسلة الجانبية تكون حلقة اللاكتـــون، ومـــع نـــزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين ، لذا يعتبر فيزيولوجيا أنشط مـــن الفينـــولات فهـــو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات و الشكل التالي يبين طريقة تشكله [3]



الشكل(II .8): تشكل الكومارينات

▪ أسترة الفينولات : أسترات (RCOOR) تتشكل عن طريق تفاعل حمض كربوكسيلي مـــع مجموعـــة الهيدروكسيل من الكحول، يمكن لمجموعة الهيدروكسيل من المركبات الفينولية المشـــاركة فـــي تشـــكيل أستر [3]

II.5.3. أهمية الفينولات:

II.1.5.3.أهمية الفينولات بالنسبة للنبات:

بالرغم مما تقدمه المركبات المستخلصة من النباتات من فوائد عظيمة للإنسان، فإن دورها للنبات نفسه لم يكن معروفا ، فكثفت 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 الفزيولوجي لمنتجات الأيض الثانوي، فهي تؤمن العيش للنبات في ظروف حياته القاسية. يكمن دور الفينولات في مراقبة نمو تطور النباتات بطريقة مباشرة أو غير مباشرة وذلك بتشكيلها معقدات مع هرمون النمو وقد 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. [39]

II.2.5.3.الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية :

- **الفاعلية المضادة للأكسدة :** تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للأكسدة تعد كمخالب (مفخخة) لتوقف عملية انتشار الجذور الحرة الناجمة عن التلوث ، حيــث أن حمايــة القلــب والأوعيــة الدمويــة بالمركبات الفينولية أصبحت الأكثر رسوخا. يتم امتصاص المركبات الفينولية من خلال الحاجز المعــوي ومن ثم الوصول إلى الأنسجة المستهدفة ، حيث يمكن أن تؤدي إلى وقاية الجسم من تعرضه للأكســدة ، والأمراض المختلفة مثل؛ أمرض القلب والسرطان وأمراض الأعصاب. [40]
- **الفعالية العلاجية:** تملك الفينولات 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 ومضادة للالتهابات ، ومنها مثبط و منها محفز للأنزيمات، مضادة للأورام. تحتوي الفينولات على المجموعات الهيدروكسيلية (OH) فكلما كثر وجودها في المركب زاد فيه نشاطه المضاد (المقاومة للأورام).

أيضا تعمل على التقليل من نفاذية وهشاشة الشعيرات الدموية ، إذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية و الوظيفية للشعيرات الدموية.

المراجع

المراجع باللغة العربية:

[3] تامة نور الدين 2018.الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ،الفينولات و الفلافونويـــدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة و المضاد للميكروبات لنبات الباقل و الحمير التـــي تنمـــو فـــي جنوب شرق الجزائر .مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم ، تخصص كيمياء نباتية .جامعة العربـــي بـــن مهيدي أم البواقي ص20 ، 46 ،47.

[4] حوه إ 2013 .دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة.مـــذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة .قاصدي مرباح. ورقلة. .ص109 .

[5] طه ح 1981. النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها . دار المريخ للنشر. الرياض. ص 63-112

[6] الحازمي ح 1995 .المنتجات الطبيعية . مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية . السعودية . ص 125-120

[7] العابد إبراهيم 2009. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران Traganeum nidatum مذكرة ماجستير. جامعة قصدي . مرباح. ورقلة .ص. 106.

[9] أبوزيد ش 2005 . فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائيـــة والعلاجيـــة . دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع . القاهرة ص. 496.

[10] الحسيني م. ،المهدي ت 1990 .النباتات الطبية زراعتها مكوناتها واستخداماتها العلاجية. مكتبة بن سينا للنشر والتوزيع والتصدير . القاهرة ص. 176 .

[12] زيدان حليمة 2018 .الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام المائي والكحولي لأزهـــار شـــجر الرمـــان الحامض و الحلو L. Punica granatum. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء . تخصص كيميـــاء عضوية .جامعة حمه لخضر الوادي .ص19

[13]- زمالي جعفر (2007). "دراسة فيتوكيميائية وبيولوجيـــة لنبتـــة الصـــحراوية Solanum Nigrum "، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء ، تخصص تحضير عضوي وفيتوكيمياء ، جامعـــة قاصـــدي مرباح، ورقلة.

[22]-آيت كاكي فريد 2011. فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي و دراسة الفعالية البيولوجيـــة المضـــادة للبكتيريا لمســـتخلص خـــلات الاثيـــل لنبتـــة Origanum vulgare L. Sbsp. Glandulosum (Dest) letswaart, مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير ،تخصص كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة .ص11

[30] تبوب عمر 2010. فصل وتحديد منتجات الايض الفلافونيـــدي لنبـــات Mentha arvensis مـــذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير.تخصص تحاليل فيزيوكيميائية وكيمياء عضوية ، جامعة منتوري قســـنطينة .ص 4

[32] صحراوي صباح 2018 . مساهمة في تحسين ظروف الاستخلاص المركبات الفينولية مـــن نباتـــات الطبية لمنطقة الوادي لنبات الخبيز Malva Sylvestris، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر فـــي الكيميـــاء . تخصص كيمياء عضوية .جامعة حمه لخضر الوادي .ص24

[36] مزراق عبد الرحمان 2010. فصل وتحديـــد نـــواتج الايـــض لنبتـــة ononis angustissima (fabaceae) لطور خلات الايثيل مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستير. تخصص تحاليـــل فيزيوكيميائيـــة وكيمياء عضوية ، جامعة منتوري قسنطينة .ص 25

المراجع باللغة بالأجنبية :

[1] GUILLAUME G., MACH-CHIEU (1987) - Pharmacopée et médecine traditionnelle chinoise – plantes chinoises, plantes occidentales. Edition présence.. 701 pages .pages 617 et 618

[2] HHURABLEILLE M., (1980)- Abrégé De Matiére Médicale , Pharmacognosie, tom 1 Généralisés. Mongraphies. Masson,P:10-18,261-266

[8] A. Hoggui ., (2008) " Etude de l'activité antibactérienne de quelque plante sahariennes", Mémoire de Magister, Université de Ouargla, p4,5,8,16,19,23,24,34,36,37,39

[11] Said Rahal ., (2009)"Chimie des produits naturels et des etres vivants", Alger ,p 63-78.

[14] BENHAMMOU N., (2012)- 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, P: 174.

[15] P. Sarni-Manchado ., V. Cheynier (2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc , 398 p. (ISBN 2-7430-0805-9)

[16] Bruneton, J. (2009), Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, p.1120, 1288 ISBN 978-2-7430-1188-8)

[17] Laraoui ., H. (2007). "Etude Phyotchimique L'Extrait Chloroformique de Bupleurum Atlanticum "Docteur de l'université Louis pasteur (Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna).

[18] Lee, Hur, H.J., Lee, C. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. J. Agric. Food Chem. p53, 1990-1995

[19] Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S., et Hansen. (2000). Content of phenolic acids dehydrodimersin 17 rye (Secale Cereale L.) varieties, J.Agric. Food Chem. p48, 2000, 2837

[20] Jean Bruneton ., (1999) pharmacognnosie phytochimie planates médicinales, 3eme edition Technique.et Documention, paris.

[21] D.A.Sliha ., (2010) "etude quantitative des composesphenoliques des extraiats de trois varietes de datte (phoenx dactylifera1.)et evaluation in vitro de leur activite biologique." Mémoire pour 1 obtentiom de diplôme de magister en biologie universite el-hadj lakhdar,Batna .

[23] Williams, CA., Grayer, RJ.,(2004). Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep, 21, 539-573.678

[24] Harborne, J.B.,(1988). The flavonoids, Advances in research since 1980 Chapman & Hall". London 678

[25] Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., inganusong, R., Chen, S.S.(2004). Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. Food Hum. Nutr, 59: 113-122.

[26] Naught MC, Alan D; Wilkinson, Andrew; IUPAC(1997), "IUPAC Compendium of Chemical Terminology", Flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) (2 ed.), Oxford: Blackwell Scientific, doi:10.1351/goldbook.F02424

[27] Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol.Therapeut. p96, 67– 202

[28] Edenharder, R., Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. Mutat. Res. p540, 1–18.

[29] P. Sarni-Manchado., V. Cheynier(2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, p. 398 (ISBN 2-7430-0805-9).

[31] Merken, H.M., Beecher, G.R.,(2000). Measurement of food flavonoids by highperformance liquid chromatography: Journal of agricultural and food chemistry a review. 48(3), 577-599.

[33] Ferraro, G. E. , (1983). Acta farm. Bonaerense, 2, 97-103

[34] Middleton, E. J. R., Kandaswamir, C. (1992). Biochem. Pharmacol. 43,1167

[35] Bruneton,. J. (1997). Pharmacognosie et phytochimie des plantes medicinales, eds Technique et documentation, Paris, 3éme edition, Lavoisier

[37] Umezawa., T. (2003). Diversity in lignan biosynthesis. Phytochem. Rev. 2(3): 371-390

[38] J.Bennett. , (29 January 2015).Plant biology :Seeing the wood and the trees , nature international ,p571

[39] Maillard, M. N., (1996). Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. 148p

[40] Halliwell, B.(1994) « Free radicals and antioxidants : a personal view» Nutr. Rev. 52: 253-265

الفصل الثالث

الفعـاليــة البيـولـوجيـــة

III- الفاعلية المضادة للبكتيريا:

تمهيد:

الميكروب هو وصف للكائنات المجهريّة الدقيقة التي لا يمكن ملاحظتها إلا بالمجهر فهـي تشـمل الفيروسات والبكتيريا والفطريات والطحالب، فقد كان للمجهر الأثر الكبير في اكتشافها فهي موجودة فـي كل مكان حولنا في التربة وفي الهواء وفي الأغذية وداخل وخارج أجسامنا حيث أن الكائنات الدقيقة تعتبر أكثر عددا من الكائنات الحية إذ ما قورنت بالكائنات الأخرى، حيث أن أول من اكتشف البكتيريـا العـالم الكيميائي الفرنسي لويس باستور (Louis Pasteur) في عام 1859م، فقد اكتشـف البكتيريـا الهوائيـة واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، واكتشف أيضا طعومها، حيث ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهريّة المتواجدة في السوائل.

أما العالم الألماني روبرت كوخ (Robert Koch) فقد عمل على اكتشـاف علاقـة البكتيريـا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتريا. حيث ارتبط اسم البكتيريا مع الأمراض المسببة لهـا إلا أن العلوم الحديثة أثبتت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في الصناعات الغذائية والدوائيـة والـتخلص مـن المواد العضوية وغير العضوية. [1]

1.III. البكتيريا:

1.1.III. تعريفها:

البكتيريا كائنات دقيقة مجهريّة أحادية الخلية بدائية النواة(procaryote) واسعة الانتشار لها حـوالي 2000 نوع حيث تتواجد بكثرة في الطبيعة وتختلف أشكالها منها كروية أو عصوية، حلزونيـة يتـراوح طولها بين الميكرومتر الواحد إلى بضعة أعشار الميكرومتر.

وتستطيع البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة مـن ارتفـاع درجـة الحرارة أو انخفاضها، تغير درجة الملوحة وغير ذلك من الظروف البيئية القاسية. [3،2]

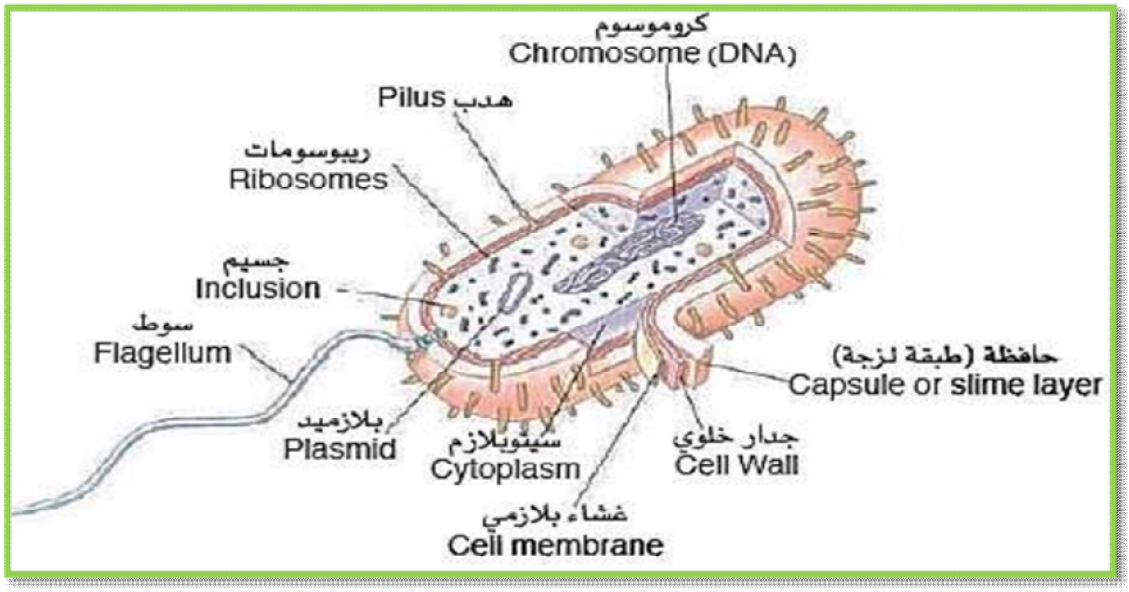
2.1.III. تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية binominal بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلـى الجـنس genre والمقطع الثاني إلى نوع espace وقد يحمل اسـم الجـنس شـكل البكتيريـا كمـا هـو الحـال فـي streptocoque staphylocoque أو اسم المكتشف مثل Escheriche.coli. [4]

أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى المرض كما هـو الحـال (Cholerae) و(VibrioCholerae) أو مكان عزلها كما هو الحال فـي E.coli تعـزل فـي une-cole أو قـد يحمـل صـفات اللـون مثـل staphylocoque aureus(أي الذهبية).

III.3.1. بنية البكتيريا:

تتكون الخلية البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجـود فـي جميـع أنـواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة. تضم المكونات الأساسية كـل مـن الجـدار الخلوي والغشاء البلازمي والسيتوبلازم، النواة البدائية، وما يحتويه من مادة وراثية وريبوسـومات، أمـا المكونات غير أساسية فتشمل الأسواط والعلبة أو الكبسولة و الأهداب ،الجراثيم الداخلية.[5]



الشكل(1.III): تركيب الخلية البكتيرية

III.3.3.1. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية :

- **الجدار الخلوي Paroi Cellulaire:**

جدار خلوي سميك وصلب وهو الذي يعطيها شكلها الثابت و يحميها من الهجوم الخـارجي ،كمـا يتركب الجدار من مادتين هما الكربوهيدات و البيبتيدات .

- **الغشاء البلازمي Plasma membrane:**

غشاء رقيق له نفاذية اختيارية يحيط بسيتوبلازم الخلية ويقع تحت الجدار الخلوي ويبلغ سمكه 7.5 نانومتر . يتكون الغشاء البلازمي من الدهون المفسفرة و البروتينات .

- **السيتوبلازم Cytoplasm:**

سيتوبلازم الخلايا البكتيرية له تركيب بسيط حيث تحتـــوي علـــى الريبوســـومات Riposomes و المادة الوراثية البكتيرية Bacterial genome، والسيتوبلازم عبارة عن سائل غروي يتكون مـــن المـــاء بنسبة 75إلى 80% ،وبروتينات ،ودهون ، وكربوهيدرات ، ومركبات غير عضوية .

كما تتكون السيتوبلازم من ثلاثة أجزاء هي :

- ✓ المنطقة الحبيبية Granular region.
- ✓ المنطقة الصبغية Pigmented region.
- ✓ المنطقة السيتوبلازمية السائلة Fluid cytoplasmic region.

- **نواة بدائية Nucleoide:**

هي المادة التي تحمل الوراثة لتواجدها في المنطقة النووية في السيتوبلازم في بدائيات النواة غيـــر محاطة بغشاء نووي، وهي عبارة عن جزيء طويل مفرد من الـــ ADN في صورة حلقية يرتبط ارتبـــاط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسمى بالكروسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية علـــى كرموســـوم واحد.

III.4.1. تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير: [6]

III.4.1.1. من حيث توزيع أسواطها: فيمكن تقسيمها إلى:

- بكتيريا وحيدة السوط.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد.
- بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل الخلية.

III.4.1.2. من حيث الشكل:

- البكتيريا العصوية (Bacilli): التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.
- البكتيريا الكروية (Cocci): التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة .
- البكتيريا الحلزونية (Spiral):التي تأخذ الشكل الحلزوني.
- البكتيريا الواوية (Vibrio): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية.

III.4.1.3. من حيث الوسط التي تعيش فيه: فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع:

- بكتيريا هوائـــية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .
- بكتيريا لا هوائية إجبارية (Anaerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط ، فـــي غيـــاب الهـــواء الجوي.
- بكتيريا لا هوائية اختيارية (Anaerobic Facultative) : وهي البكتيريا التـــي يمكنهـــا العـــيش والنمو ، في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه.

III.4.4.1. من حيث التغذية : فيمكن تقسيمها إلى نوعين :

- بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.
- بكتيريا عضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون مـن تحليـل المـواد الذائبـة كالسكر.

III.5.4.1. من حيث طريقة التلوين (GRAM):

يمكن توضيح الاختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين ، حسب تقنية **(GRAM)** نسـبة للعـالم **J.GRAM** المكتشفة سنة 1884م ، واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

- بكتيريا (gram positive) : ويرمز لها بالرمز +GRAM عند تلوينها تمـتص اللـون وتظهـر أرجوانية.
- بكتيريا (gram négative) : ويرمز لها بالرمز -GRAM تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) ، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram négative) . [7]

III.6.4.1. من حيث الأثر على الإنسان : يمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع: [8]

- **بكتيريا نافعة (Beneficial Bacteria):**

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة ، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعـاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام ، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم، مثل الفيتامينـات ويعمـل علـى تدمير البكتيريا الضارة. وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، ويلعب دوراً هامـا فـي غـذاء النبات، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أوليّ، يسـتطيع مـن خلاله النبات أن يكوّن البروتين ، كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتهـا، وكـذا المواد العضوية المعقدة وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبـات والحيـوان. ولا يقتصـر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنـواع البكتيريـا النافعـة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا نتاج عمل البكتيريا النافعة.

- **البكتيريا الانتهازية(Opportunistic Bacteria):**

هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسـبب عديداً من الأمراض، وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين .

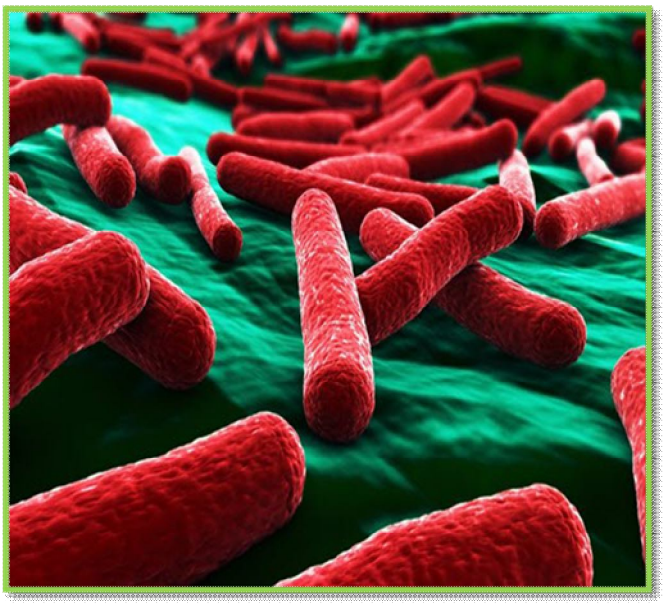
- **البكتيريا الضارة (Pathogenic Bacteria):**

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة ، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض؛ السل والكوليرا والتيفويد والسعال الديكي والزهري ،والسيلان . ومن بين البكتيريات الضارة و المسببة للأمراض:

✓ **إشيريشيا كولي Escherichiacoli** : هي بكتيريا ذات -Gram ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى

الجدول(1.III): يمثل التصنيف العلمي E.Coli

	التصنيف العلمي
المملكة	Bacteria
التصنيف	Proteobacteria
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
النوع	*Escherichia*
الصنف	*Escherichiacoli*



الشكل (2.III): صورة موضحة بالفحص المجهري لـ E.Coli

هي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، وأبعادها من 1إلى 3 ميكرومتر، هوائية ولاهوائية وتنمو بسرعة في وسط عادي ، تكون متحركة على شكل عصيات مسببة للمرض ، ومن بـين الأمراض التي تسببها : الإسهال الطفيلي ، التهاب السحايا وتسمم الدم.[9]

✓ **كلبسولابنوموني Klebsiella pneumoniae** :هي بكتيريا ذات Gram- والتي تنتمي إلى

الجدول(2.III): يمثل التصنيف العلمي Kl p

التصنيف العلمي	
المملكة	Bacteria
التصنيف	Proteobacteria
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
النوع	*Klebsiella*
الصنف	*Klebsiella pneumonia*

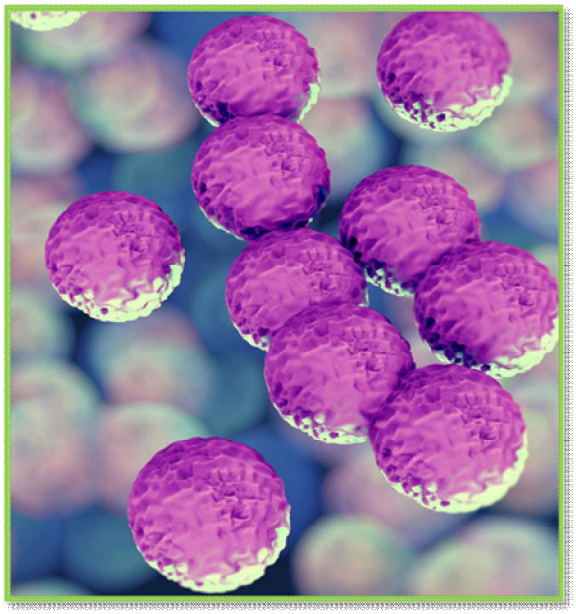
الشكل(3.III):صورة موضحة بالفحص المجهري لـــ Kl p

وتتواجد في الجهاز التنفسي والمثانة البولية للإنسان وهي من البكتيريات الانتهازية ، حيث تتسبب في الأمراضالتنفسية و البولية مثل ؛ (التهاب الرئة ، الضيق التنفسي ....) وتسبب أيضا تعفن الدم بين الصدمات. [10]

✓ **ستافيلوكوكيز أروز *Staphylococcus aureus*** : هي بكتيريا ذات + Gram تنتمي إلى

الجدول(3.III): يمثل التصنيف العلمي لـــ St a

التصنيف العلمي	
المملكة	Bacteria
التصنيف	Firmicutes
القسم	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Staphylococcaceae
النوع	*Staphylococcus*
الصنف	*Staphylococcus aureus*



الشكل (4.III): صورة موضحة بالفحص المجهري لـــ St a

هي بكتيريا لاهوائية اختيارية ، تتواجد لدى الإنسان ، تكون كروية الشكل، كما أنهـا عديمـة الحركـة وتكون على شكل عناقيد ، وتسبب تسمم الغذاء ، التهابات جلدية خطيرة ،أمـراض السـحايا والتهابـات الرئيتين ، تسمم الدم.[11،9]

✓ **اللستيريا مولدة للوحيـدات*Listeria monocytogenes*** : هي بكتيريا ذات +Gram ، و الليسـتيريا سميت على اسم مكتشفها جوزيف ليستر.

الجدول (4.III): يمثل التصنيف العلمي:Lis m

التصنيف العلمي	
المملكة	Bacteria
التصنيف	Firmicutes
القسم	Bacilli
الرتبة	Bacillales
العائلة	Bacillaceae
النوع	*Listeria*
الصنف	*Listeria monocytogenes*

الشكل(5.III): صورة موضحة بالفحص المجهري لـ Lis m

هذا هو النوع الوحيد من جنس الليستيريا الممرضة للإنسان، مما تسبب داء الليستريات . وهي على شكل عصية صغيرة، لاهوائية اختيارية تستطيع العيش بوجود الأكسجين أو بغيابـه. تتواجـد فـي كـل مكان (التربة والنباتات والمياه).

ووفقا لبعض الدراسات فإن من 1-10٪ من البشر هم حاملين أصحاء للبكتيريـا *monocytogenes* المتواجدة في أمعـائهم [12]والبكتيريـا عنـد تناولهـا فـي أي طعـام يمكـن أن تمـر مـن خـلال جدار الأمعاء وتحدث أعراض مختلفة مثل الأنفلونزا ، وخاصة في النساء الحوامل ، وفي الجنين والطفـل

(التهاب السحايا حديثي الولادة على وجه الخصوص أو الإجهاض أو infantiseptica تورمـات ناتجـة عن تلوث بالمشيمة). [13]

III.2. المضادات الحيوية :

III.2.1. تعريف المضادات الحيوية :

وهي عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تتكون نتيجة للتفاعلات الايضية لـبعض الأحيـاء الدقيقـة، والتي تكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، فهي تستطيع إيقـاف وتثبيط نموها وتكاثرها وتسمى البكتيريوستاتيك. وتستعمل المضادات الحيوية حاليـا كنـوع مـن المـواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثير من الأمراض الميكروبية . [1]

III.2.2. أنواع المضادات الحيوية :

تنقسم المضادات الحيوية إلى قسمين: [14]

III.2.2.1. مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها وهو يساعد على القضاء عليها.

III.2.2.2. مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية:

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو التسبب في انتفاخ خليتها وانفجارهـا، أو حتـى يمنـع تركيب البروتين داخل الخلية.

III.2.3. مصدر المضادات الحيوية:

تلعب الكائنات المجهرية دورا مميزا في إنتاج المضادات الحيوية فأكثر من 85% مـن المضـادات الحيويـة التـي تـم التعـرف عليهـا تكونهـا الميكروبـات فحـوالي 60% تنـتج مـن الاكتينوميستات Actinomycétes (وهي جنس بكتيري له شكل خيطي مثـل الفطريـات) و 10% مـن البكتيريا و10% الفطريات، والباقي من الكائنات الأخرى. [15]

III.4.2. تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضـــادات الحيـــوية على قتل الميـــكروب ، أو كبح الميكروبات ، وقد يكون مفعول المضـــاد على الغلاف الخـــارجي للميكروب(Paroi cellulaire)، أو الغلاف الداخـــــلي(Cellulaire Membrane)، أو يعمل على مستوى الخلية لإيقاف تصنيع البروتين(Synthése Protéines)

III.4.2.1.العمل على جدار الخارجي للبكتيريا :

المضاد الحيـــوي يوقـــف تركيـــب الجـــدار بتثبـــيط transpeptidase هـــذا مـــا يمنـــع مـــن تركيـــب peptidoglycane . وهذا يوقف نموها وعملها . [16]

III.4.2.2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا :

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية)، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا، هذا ما يسمح بتدميرها. [16]

III.4.2.3. العمل على تثبيط نمو ADN :

من بين الأسباب التي تسببها المضادات الحيويـــة اضـــطراب عمـــل **ADN** ممـــا يمنـــع الخليـــة مـــن الانقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذالك.

III.4.2.4. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمى:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندســـة Apidoprotine لهـــذا الغشـــاء وتحللهـــا ممـــا يـــؤدي إلى فقد الستيوبلازم الكروموزومي [17].

III.5.2.المقاومة البكتيرية:

III.1.5.2. تعريف المقاومة:

ظهرت المقاومة البكتيريا مباشرة بعد بداية استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية، وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء، لأنها في تطور مستمر ونقول عن البكتيريا أنها مقاومـــة إذ كانـــت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة المضاد الحيوي تفوق النسبة المعتادة [18] وهي نوعان:

- مقاومة طبيعة.
- مقاومة مكتسبة .

III.2.5.2. طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

III.2.5.2. 1. خواص الجذمة البكتيرية :

تعتبر الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه،أي كلما ارتفع التركيز قلـــت المقاومـــة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

III.2.5.2.2. كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي : ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الانتشار .

- **طريقة الانتشار (Méthode de diffusion) :**

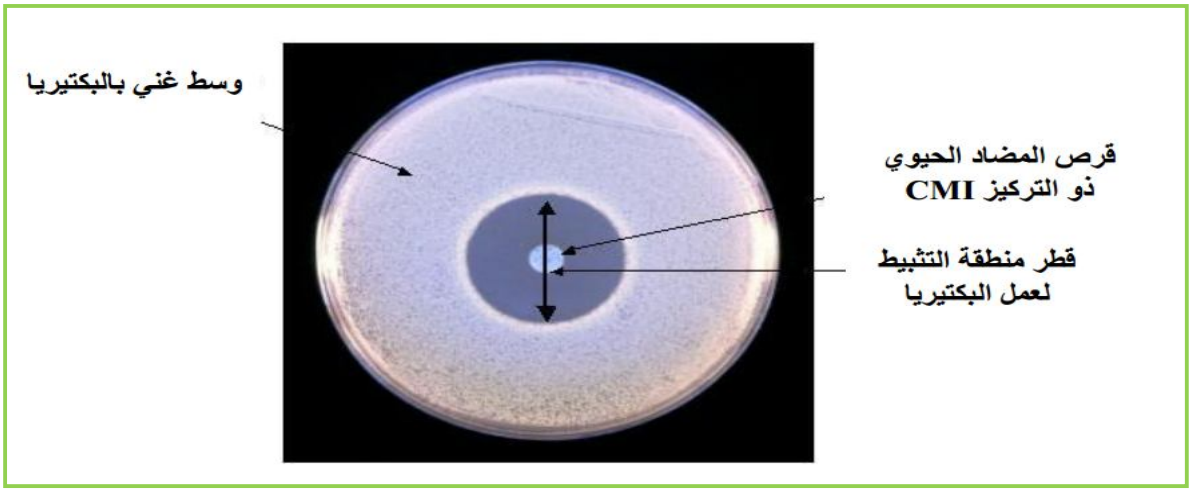
من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهـــي تقـــدير جرعـــة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على إحداث هذا التأثير ، نلجأ إلـــى طريقـــة **Antibiogramme** عـــن طريق الانتشار على وسط صلب، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحـــدد مـــن المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا) وتوضع في أحـــواض بتريـــة علـــى الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر المكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مـــع الطـــرق الأخرى ، وبالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضـــاد الحيـــوي ويمكن القول أن: [19]

✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.

✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين9و 14 ملم ..

✓ البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر ما بين15و 20 ملم .

البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم [20]



الشكل(6.III): قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

3.III. الجذور الحرة و مضادات الأكسدة :

1.3.III. مقدمـــــة :

إن الأغشية الخلوية والبروتينات والدهون للجسم تتعرض للهجوم بواسطة الجذور الحـــرة وعلـــى مدى سبعين سنة اعتيادية من عمر الإنسان، فإن الجسم يولـــد مـــا يعـــادل حـــوالي ســـبعة عشـــر طنـــاً (17.000كيلوجرام) من الجذور الحرة . لذا فإن جسم الإنسان يحتاج إلى دفاعات فعالة مضادة للأكســـدة في كل الأوقات، لذا فإن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو مهمة لصحة وحياة الإنســـان ومع ذلك ، فإننا لا يمكن أن نعيش بدون الجذور الحرة، فالجسم يستخدمها لتحطيم الجراثيم ، بالإضافة إلى استخدامها لإنتاج الطاقة، لذلك تقوم مضادات الأكسدة الغذائية بالمساعدة على إعادة التوازن[21] .

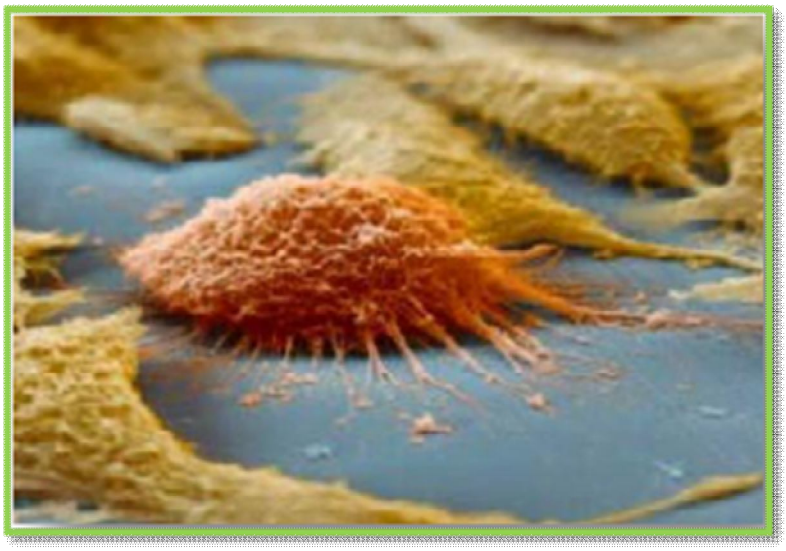
III. 3. 2.الجــذور الحــرة:

III. 3. 2. 1.تعريف الجذور الحرة:

للجذور الحرة دورا كبير في الآليات الجزيئية للعديد من الأمراض، كونها تتولد بشكل طبيعي فـــي جسم الإنسان ويزداد تشكلها بفعل عدة عوامل داخلية وخارجية. وعلى ذلك يتركز الاهتمام علـــى دراســـة مضادات الأكسدة(Les antioxydant) داخلية وخارجية المنشأ لأنها النظام الذي يحمي العضـــوية مـــن أضرار الجذور الحرة[22].

فتعرف الجذور الحرة بأنها وحدات كيميائية (ذرات أو جزيئات) تمتلك إلكترونا أو أكثر حـــرا فـــي مدارها الخارجي. ما يجعلها غير مستقرة ، وتتفاعل بسرعة مع مركبات أخـــرى محاولـــة اقتنـــاص مـــا ينقصها من الكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي.

وعادة ما تهاجم الجذور الحرة أقرب جزيء ثابت إليها آخذة إلكتروناته التي تحتاجهـــا، وفـــي هـــذه الحالة تتحول الجزيئات المهاجمة بدورها والتي فقدت إلكترونا إلى جذور حرة تبحث عن الاستقرار، بادئة سلسلة من التفاعلات تتفاقم لتهاجم غشاء الخلية الحية ومكوناتها حتى تصل جزيء الـــ ADN [23]



الشكل(7.III): صورة موضحة بالفحص المجهري للجذور الحرة

III.2.3.2. أنواع الجذور الحرة:

III.2.2.3.1. التقسيم على أساس الاستقرار: [24]

III.2.2.2.3.1. الجذور النشطة (غير مستقرة):

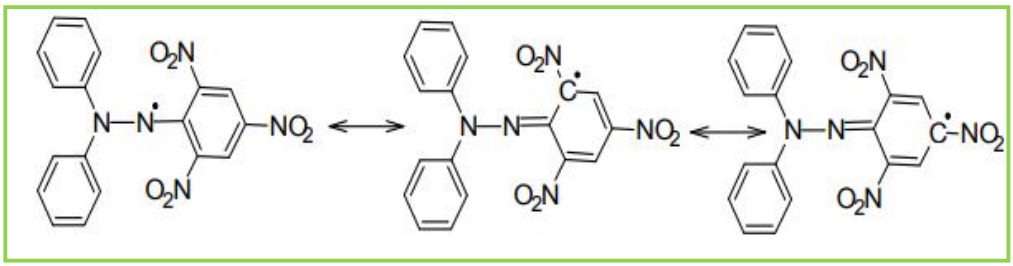
وهي التي لها أعمار قصيرة قد تصل أحيانا أعمارها حدود البيكو ثانية ولها عـــادة أوزان جزيئيـــة صغيرة من أمثلتها جذر CH_3، I−2، HO−، NO−، F−، H−، Cl−.

III.2.2.2.3.2. الجذور المستقرة(الصامدة):

وتكون لها أعمار طويلة تقدر بالثواني ويمكن أن تصل إلى أيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثـــي ميثيـــل أمين وجذر ثنائي فينيل لبكريلهيدرازين (DPPH).

- **الجذر DPPH:**

يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام وذلك لوجود الحلقات الاروماتية والتي تحمل أشكالا رنينية متعـــددة وهذا يعني عدم تمركز الالكترونات بوقع واحد وDPPH هو إختصار 1،1− ثنائي فينيل لبكريلهيـــدرازيل وهو مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يشبه لونه لون محلول $KMnO_4$ويعطي لون برتقالي مصفر عند استقراره[24]



الشكل(8.III): البنيات الرنينيـــة في جزئ DPPH

III.3.2.3. أسباب زيادة الجذور الحرة: [25]

- يزيد تشكل الجذور الحرة بازدياد سرعة الاستقلاب كما يحدث في حالة التوتر والشدة.
- يزيد بزيادة عوامل التلوث البيئي المختلفة التي يتم تحطيمها في الجسم لتتحول إلى جذور حرة.
- استهلاك كميات كبيرة من الأكسجين وزيادة الإجهاد خلال التمارين الرياضية العنيفة من إنتاجها.
- التدخين وجميع أنواعه وكذلك أشعة الشمس والأشعة X من إنتاج الجذور الحرة.
- كثرة استهلاك الدهون والسكريات.

III.3.3. مضادات الأكسدة:

III.3.1.3. تعريف مضادات الأكسدة:

كثيرا ما نسمع مصطلح "المواد مضادة الأكسدة "، ولكن الكثير منا لا يعلم بالضبط ما هـي المـواد المضادة للأكسدة أو السبب في أنها مهمة، وللحفاظ على توازن الارجاعي الداخلي للجسم على مجموعـة معقدة من أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة تعمل على الحد من التأثيرات السلبية للجذور الحرة [26]

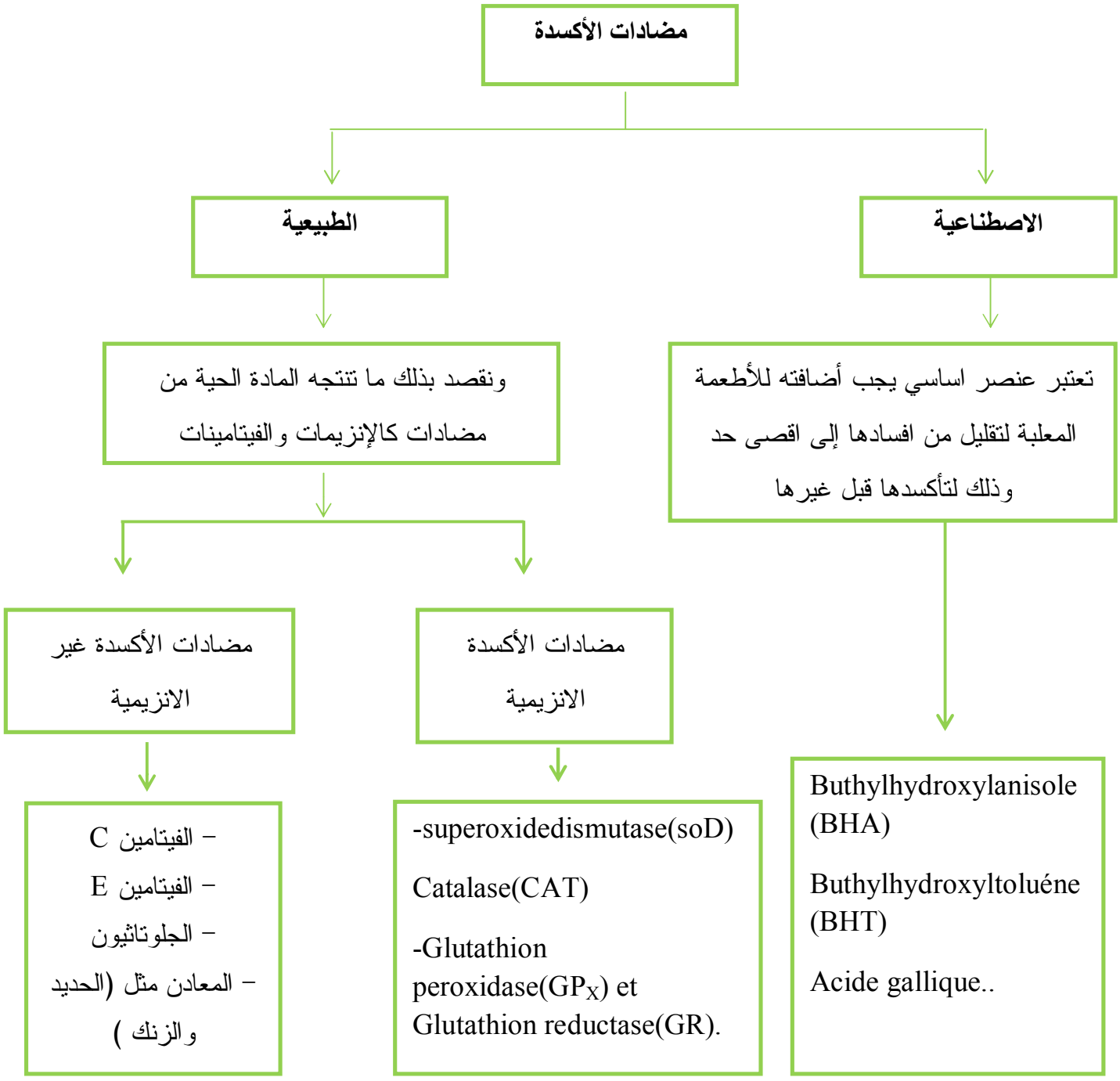
حيث يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضـرار التأكسـدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من الجذور الحرة، وعلى الحمايـة بعـدة طـرق أمـا بـالتثبيط المباشـر لإنتاجROS أو منع انتشارها أو هدمها[27]، كما تعمل مضادات الأكسـدة بالدرجـة الأولـى كمانحـات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة، أو أنها تتحد مع الجذور وتحوله إلى مركب مسـتقر كمـا هـو موضح في الآلية التالية[28]

$$ROO^{\cdot} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH$$

$$AH^{\cdot} + AH \longrightarrow A + AH_2$$

III.3.3. 2.أقسام مضادات الأكسدة:

إن الدور الأساسي للمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتقسم مضادات الأكسدة من حيث مصدرها إلى طبيعية ومصنعة كالتالي: [29]

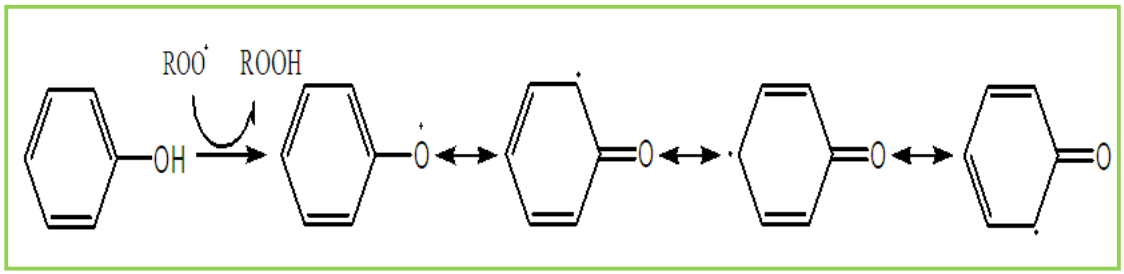


الشكل (9.III): أنــواع مضــادات الأكسدة

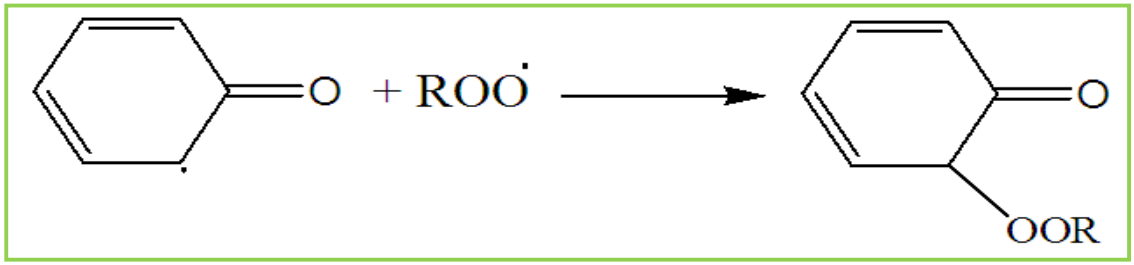
III.3.3.3.آليـــة عمل مضـــادات الأكسدة :

تعمل مضادات الأكسدة الأوليـــة على إعـــاقة و قطـــــع تفـــــاعلات الانتشـــار و بالتالي تبطئ عمليـــة الأكسدة، وتعود لتتسارع عند نفاذه، ويعد متعددات الفينول من أهم مضادات الأكسدة و خاصة تلـــك التـــي تحمل زمرتي هيدروكسيل أو زمرة هيدروكسيل ومستبدل في المواقع أورتو أو بارا، وهي فعالة بالتراكيز المنخفضة و بالدسم الحيوانية أكثر من الدسم النباتية .

تتميز جذور المواد الدسمة بتفاعلية عالية و تدخل بسرعة في التفاعلات الانتشار من خلال ســـحب الهيدروجين أو بتفاعل مع الأكسجين .حيث تقوم المركبات الفينولية بـــدور المســـتقبلات للجـــذور الحـــرة المتشكلة في مرحلة البدء و ذلك من خلال التنازل عن $H^{\cdot}$ ليشكل جذر الفينوكسيل المستقر بسبب صـــيغه الطنينية التالية [30]



وتتفاعل المضادات الأكسدة الفينولية مع الهيدروبيروكسيدات كالتالي:



المراجع

المراجع باللغة العربية:

[1] زيدان محمد 2018 .دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و البكتيريا لمستخلصات الرمان Punica granatum L . مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه في العلوم .تخصص علوم الكيمياء .جامعة قاصدي مرباح – ورقلة .

[2] محمد عبد المحسن معارج1995. وراثة الأحياء الدقيقة.

[5] د.رافت حسن عبد الوهاب ،د.فضاء ادعيج العون2018.تصنيف عالم نبات والأحياء الدقيقة ،شركة دار العلم للنشر و التوزيع ،الكويت .

[9] تامة نور الدين 2007 .تحضير ودراسة التفاعلية الكيميائية لمشتقات الألكيليدين بيتونوليد وفعاليتها البيولوجية .،مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير ،تخصص تحضير عضوي و فيتوكيمياء ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

[11] عباس عبود الدليمي 2011. تأثير مستخلص نبات المسواك في بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من امراض اللثة ، كلية التربية جامعة ديالي الرازي .

[15] عبد الوهاب ،محمد.ع .ح، د.محمد .ص.م .مبارك، د.سعد.ع.ر.م 1996.الميكروبيولوجيا التطبيقية، الطبعة الأولى ، المكتبة الأكاديمية.

[17] د عادل نوفل 1981.كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري)، جامعة دمشق.

[22] بن مرعاش عباس 2012 . دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للاكسدة لنبتة Convolvulus supinus .Coss. Kral (convolvalaceae) مذكرة ماجستير. قسنطينة جامعة منتوري .

[24] حوة ابراهيم2013.دراسة الفاعلية لبيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية الفعالية ضد الاكسدة مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

[25] اللبي الزهرة ودردوري سارة 2016. التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات ودراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبات العبيثاء Bassia muricata L مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر ،تخصص بيولوجيا وتثمين نبات ،بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي .

[29] زيدان حليمة 2018 .الفعالية البيولوجية لمستخلص الخام المائي والكحـــولي لأزهـــار شـــجر الرمـــان الحامض و الحلو Punica granatum. L .مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر في الكيمياء . تخصص كيميـــاء عضوية .جامعة حمه لخضر الوادي .

[30] تامة نور الدين 2018. الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ،الفينولات و الفلافونويـــدات، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة و المضاد للميكروبات لنبات الباقل و الحمير التـــي تنمـــو فـــي جنوب شرق الجزائر .مذكرة تخرج لنيل شهادة دكتوراه علوم ، تخصص كيمياء نباتية .جامعة العربـــي بـــن مهيدي أم البواقي .

المراجع باللغة الأجنبية

[3] Frankland, E; Dupper , B .F .J . Chem. Soc. (1864).

[4]J.P.Euzeby:Abrégé de Bacteriologie Générale Médicale,à l'usage desétudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas

[6]Courvalin .P.(1992). Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes. ASM News . 58:368-375 .

[7]Jorgensen . J.H., Ferraro .M. J.(1998). Antimicrobial susceptibility testing : general principles and contemporary practices. Clin. Infect. Dis . 26: 973-980 .

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

[12] Ellin Doyle (2011) , « Virulence characteristics of Listeria mnocytogenes » , Food Research Institut, University of Wisconsin-Madison

[14]Corvaglia A.R.(2006). Role résidus d'antibiotique dans environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas, Acinetobacter et Legionella. Thése de doctorat l'Université de Genéve

[16]Riti Sha ran Sanjay Chhibber, (2011) Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan et al . BMC Infectious Diseases, 11:204.

[18] J. Seignalet. (2005) Alimentation et Spondylarthrite. Polyarthrite rumatoide et bactéries intestinales .

[19] Baurer .A , W ., Kirry . W.M.M.,Sherries.J.C.A., Turch .M (1966) . Antibiotic susceptiblity testing by a standardized single disk method.-Amer. J. Clin. Pathol., 45:493-496.

[20]Poncea. G;Fritzr; Del Vallc.et Rouras I(2003). Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie.

[21] C.Enrique, P.Lester (2002). « Handbook of Antioxidants», 2eme ed, New York Basel.Marcel Dekker, Inc.

[23] -Y.MOULAY. (2012) Investigation phytochimique de l'Acacia arabica aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi Merbah, , 5-8 p.

[26]. E. de Rijke P.Out, (2006) W.M.A. Niessen, F.Ariese, C .Gooijer, U.A.Th. Brinkman,J. Chromatogr. A 1112 31–63.

[27] God'swill Nduka Anyasor, Kayode Olusola Ogunwen (2010) . mo, 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,.

[28] Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteur de radicaux libres; étude et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur, Strasbourg I. 22-36

المواقع الالكترونية:

[10] https://en.wikipedia.org/wiki/klebsiella-pneumoniae(15/06/2015).

[13] https://en.wikipedia.org/wiki/Listeria -monocytogenes (25/06/2015).

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع
الطرق والوسائل

1.IV. جمع النبات قبل المسح الفيتو كيميائي :

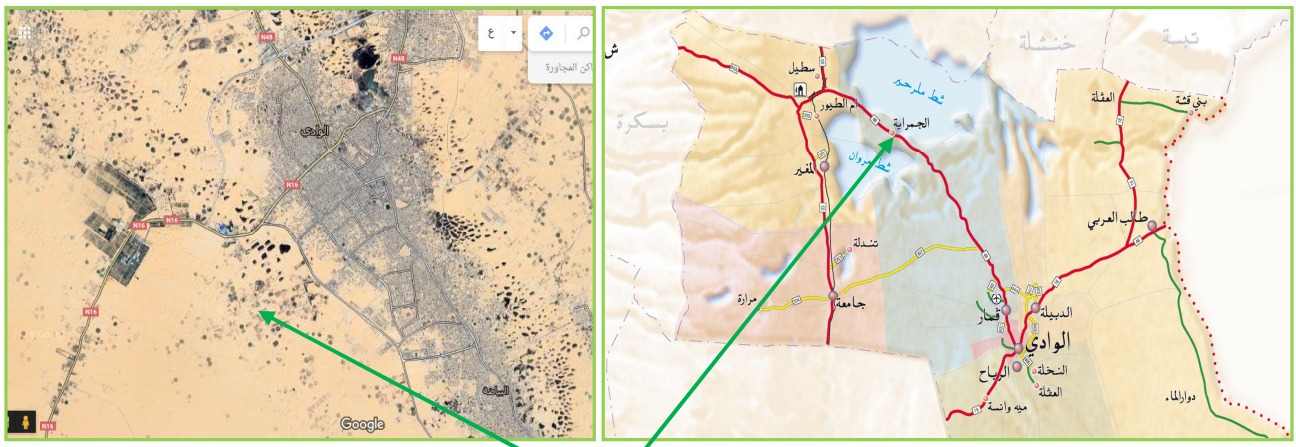
مـــدخل :

يعتبر المسح الفيتو كيميائي من أقدم الدراسات في مجال الكيمياء النباتية ، والفائدة من عملية المسح الفيتو كيميائي البحث على المنتجات الطبيعية في مختلف أعضاء النبات قبل إجراء الفصل الكمي، ولذلك يعتبر دراسة كيميائية بحتة، لكن استغلت حديثا إلى جانب أدوات وطرق الفصل مثل **HPLC** ، **UV**، في تعزيز عمليات تصنيف النباتات المنتمية لنفس الفصائل النباتية .

قبل الشروع في عملية المسح الفيتو كيميائي لأي نبات يجب التطرق لبعض الأساسيات كموعد القطـــف و مراحله ثم التجفيف و من بعد ذلك تبدأ عملية الكشف عن المنتجات الفعالة المتواجدة فيها. [1]

1.1.IV الموقع الجغرافي لمنطقة القطف:

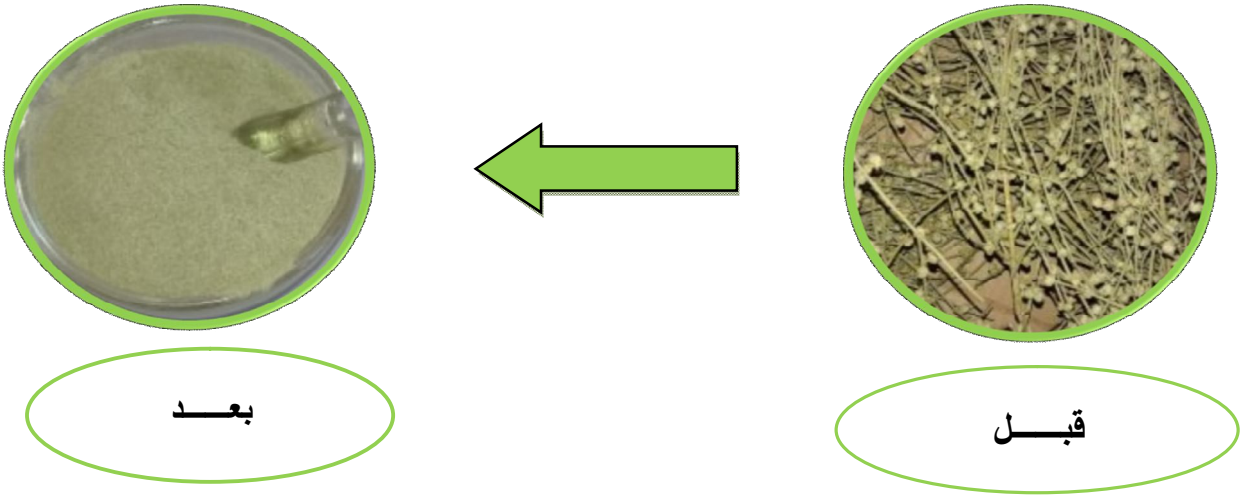
تعتبر عملية القطف من أهم خطوات عملية استخلاص المواد الكيمائية الفعالة، حيـــث تـــم قطـــف الأجزاء الهوائية(السيقان و الأزهار) في شهر مارس، وهو موعد إزهار النباتـــات الصـــحراوية(عشـــبة العلندة) والتي تنمو بولاية وادي سوف(تحديدا بمنطقتي الحمراية و وزيتن) التي تقع بـــين الإحـــداثيات الجغرافية التالية ، خط عرض 33.37° و خط طول 6.848 ^{0}.



الشكل(1.IV): خريطة موقع الحمراية و وزيتن

2.1.IV .مرحلة التجفيف:

قبـــل الشروع في عملية التـــجفيف تجزأ مخـــتلف أعضاء النبـــات الكل على حـــدا (الســـيقان ، الأزهار) و تغسل بالماء المقطر ثم تنقى من الطفيليات، ويتم تقسيمها إلى أجزاء صـــغيرة لكـــي تســـهل عملية التجفيف، ثم ننشرها في الظل على قطعة من القماش أو الورق مع تقليبها من حين لآخر وبعد التأكد من جفافها يتم طحنها،حيث تدوم مدة التجفيف لأسبوعين أو ثلاث أسابيع. [2،1]



الشكل (2.IV): عملية التجفيف و الطحن

3.1.IV.الحفظ :

بعد سحق العينات في الهاون يتم حفظها في أوعية زجاجية محكمة الغلق ، ويجب التأكد من عدم تعفن النبات.

2.IV.الأجهزة والمواد المستعملة

1.2.IV.الأجهزة :

- جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية –المرئية (spectrophotomètre UV-Visible).
- جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).
- مخلاط مغناطيسي .
- ميزان الكتروني حساس .
- حاضنة

- معقمة (Autouclave)
- مضخة

2.2.IV.المواد :

- حمض الغاليك (A.G)
- حمض الكبريت (H2SO4 ; 2%)
- حمض كلور الماء (HCL;1%,2%,10%)
- هيدروكسيد الامونيوم (NH4OH)
- محلول الكرستين
- محلول ثلاثي كلوريد الالمنيوم (AlCl3 ; 2%)
- محلول كربونات الصوديوم (Na2CO3 ; 7.5%)
- كاشف فولين (Folin)
- كاشف ماير (Mayer)
- كاشف واجن (wagner)
- هكسان (hexane)
- اثير البترولي (R-O-R')
- كلوروفورم (CHCL3)
- ميثانول (MeOH)
- ايثانول 80% (eau:EtOH/20:80).

المستخلصات المدروسة :

- مستخلص فينولات (ساق وأوراق) لعشبة العلندة لمنطقة الحمراية (A)
- مستخلص فينولات الأزهار لعشبة العلندة لمنطقة الحمراية (B)
- مستخلص فينولات (ساق وأوراق) لعشبة العلندة لمنطقة وزيتن (C)
- مستخلص فينولات الأزهار لعشبة العلندة لمنطقة وزيتن (D)
- مستخلص القلويدات (ساق وأوراق) لعشبة العلندة لمنطقة الحمراية (E)
- مستخلص القلويدات (ساق وأوراق) لعشبة العلندة لمنطقة وزيتن (F)

IV.3.الكشف عن المواد الايض الثانوي لعشبة العلندة :

IV.3.1الكشف عن أملاح القلويدات:

نأخذ 1غ من المسحوق الجاف(ساق و اوراق) ونضيف لها 10 مل من الايثـــانول ،نـــرج لمـــدة ساعة ثم نرشح . نبخر 2مل من محلول الايثـــانول ، نضـــيف للراســـب 5 مـــل مـــن حمـــض الكلـــور (HCL%10) نسخن قليلا ونرشح ،المحلول الناتج نضيف له قطرات من هيدروكســـيد الامونيـــوم حتـــى يصبح المحلول قاعدي (PH= 9).

نستخلص المحلول بثنائي ايثيل ايثر ثم نبخر الطور العضوي (المذيب) ، ونضيف للراســـب قليـــل من حمض الكلور (HCl % 2) ثم نضيف قطرات مـــن كاشـــف مـــاير (Mayer) أوكاشـــف واجـــن (Wagner)، ان ظهور الراسب يدل على وجود القلويدات. [3]

IV.3.2.الكشف عن الفينولات :

بإضافة قطرات من محلول كلوريد الحديد إلى المحلول الفينولي فيتحول إلى لون بنفسجي. [4]

IV.3.3.الكشف عن الفلافونويدات :

نأخذ 2 غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونضعها في 30 مل من حمـــض الكلـــور (1HCl%) ثم تترك لمدة 24 ساعة ، نقوم بعملية الترشيح ونجري الاختبارات التالية :

نأخذ 5مل من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الامونيوم حتى القاعدية ، نلاحظ ظهور اللـــون الأصـــفر الفاتح دليل على وجود الفلافونويدات. [5]

4.IV.استخلاص المركبات الفينولية :

1.4.IV. تعريف الاستخلاص :

هي تقنية تعمل على فصل الأنواع الكيميائية المتواجدة في الطور الأول الذي يمكن أن يكون سائل أو صلب ،وانتقالها إلى الطور الثاني والذي عادة ما يكون سائل مثل :المذيبات .

إذا كانت المادة المراد فصلها سائلة نطلق عليه استخلاص سائل – سائل ،أما إذا كانت صلبة فيطلـق عليه باستخلاص صلب– سائل ،ولهذا الأخير عدة عوامل منها درجة الحرارة ،الضغط، وكيفية اسـتعمال المذيب [6].

1.1.4.IV. استخلاص صلب – سائل:

- **الاستخلاص على البارد (النقع) :**

وتعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب ،بحيـث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1/المذيب 3) في الظـروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة) مع التحريك من حين لأخر تترك مدة زمنية معينـة،خلالهـا يـتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجـافة إلى المذيب، تتبعها عملية الترشيح .نستعمل طريقة النقع للمـواد التي تتاثر وتتفكـك بالحرارة [7].

2.1.4.IV.استخلاص سائل – سائل

يتمثل مبدأ هذه الطريقة على توزيع مذاب معين بين مذيبين بنسبة لذوبانية في كل منهما .

الحالة الأكثر استعمالا هي عندما يكون احد المذيبين هو الماء ، وهذه الطريقة تستعمل في المخبـر أكثـر منها في حالة الصناعة .

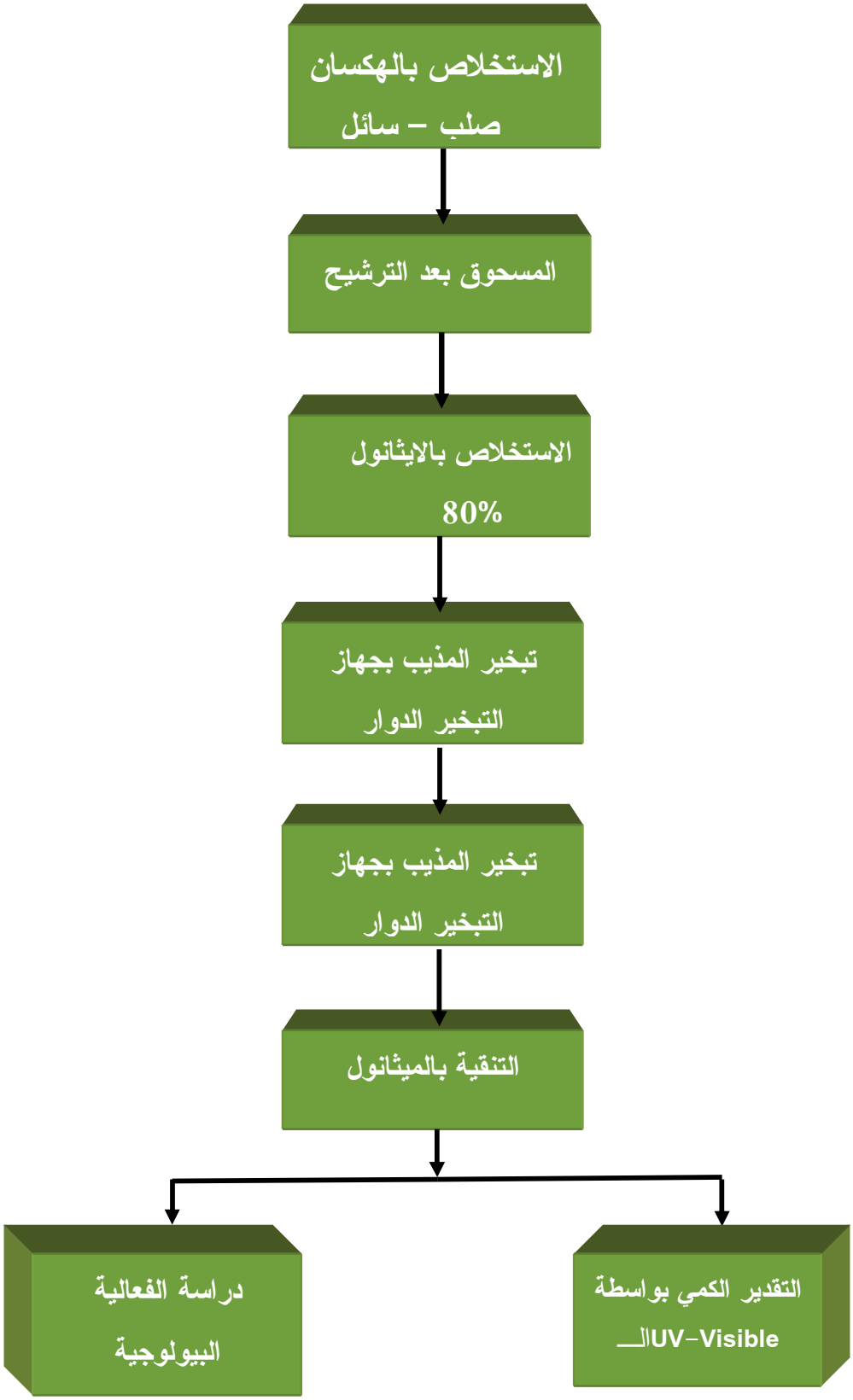
ويمكن لنا التأثير بعدة عوامل هي :

- اختيار المذيب العضوي .
- الـ pH (حمضية المحلول).
- تشبع الوسط المائي أو عدم تشبعه [8].

2.4.IV. طريقة استخلاص المركبات الفينولية من عشبة العلندة:

نأخذ وزن قدره 50غ من مسحوق كل عينة من عينات عشبة العلندة ونقوم بنقعها في حجم قـــدره 150 مل من الهكسان ، نقوم بالتحريك لمدة ساعة واحدة ونتركه مدة24 سا في درجة حـــرارة الغرفـــة ، نضيف الى المسحوق بعد الترشيح150 مل من الايثانول 80% بعد التحريك تترك24 سا ، ، ثـــم نقـــوم بعملية الترشيح ، نكرر عملية الاستخلاص بالايثانول مرتين على الاقل وذلك لفصل افضـــل. ثـــم نجمـــع الأطوار المفصولة ويعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur) نقـــوم بتنقية المستخلص الخام بإضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخير علـــى المســـتخلص الخام [9]. ثم يتم وزن هذه المستخلصات لنتحصل على مردود الاستخلاص.

والمخطط التالي يلخص خطوات العمل :



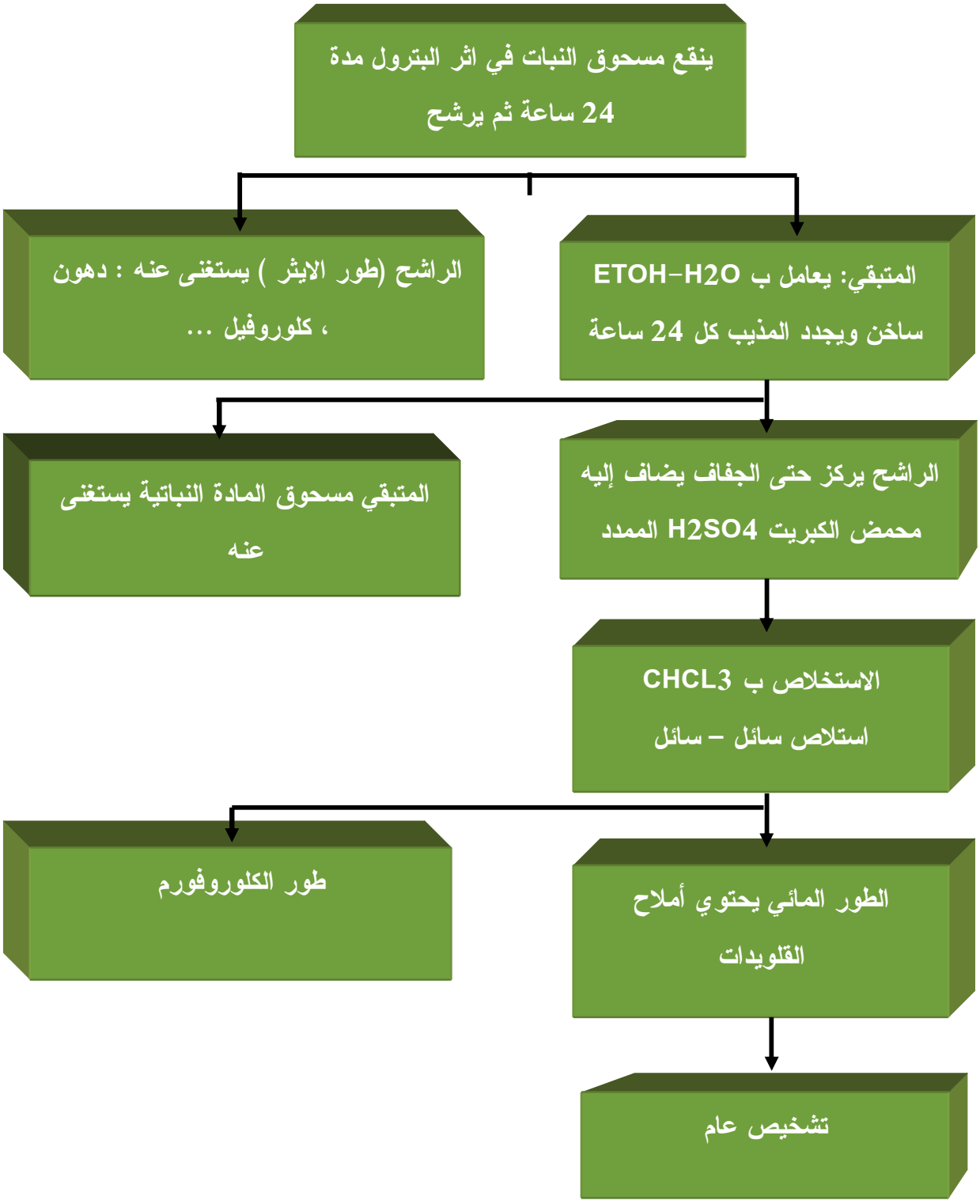
الشكل(IV. 3): مخطط يوضح طريقة استخلاص الفينولات

IV.3.4. طريقة استخلاص المركبات القلويدية من عشبة العلندة:

نأخذ وزن قدره 50 غ من مسحوق كل عينة ونقوم بعملية النقع في حجم قـدره 100 مـل مـن الايثر البترولي بعد ذلك نقوم بعملية التحريك لمدة ساعة . نترك المزيج لمدة 24 ساعة أخرى في درجة حرارة الغرفة ، بعد ذلك نقوم بالترشيح ونضيف للمسحوق 100مل من الايثـانول 80% بعـد التحريـك يترك ل 24سا ، ومن ثم نقوم بعملية الترشيح ، نكرر عملية الاستخلاص بالايثانول لأكثر مـن مـرة . الأطوار المفصولة نقوم بجمعها ويعاد تركيزها (تبخيـر المـذيب) بواسـطة جهـاز التبخيـر الـدوار (Rotavapeur) حتى الجفاف ثم يضاف للراسب 10مل من حمض الكبريت H_2SO_4 الممدد 2% ، ثـم نقوم بعملية الاستخلاص بواسطة الكلوروفورم $CHCl_3$ (استخلاص سائل – سائل) فنتحصل على طورين طور مائي وطور عضوي. [10]

الطور المائي يحوي على الأملاح القلويدية نقوم بتبخير الماء منه لنتحصل فـي الأخيـر علـى الأمـلاح القلويدية

و المخطط التالي يوضح



الشكل(IV. 4):مخطط يوضح طريقة استخلاص الأملاح القلويدية.

5.IV.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات :

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

$$R=m_f/m_i x100$$

- m_f: الكتلة النهائية .
- m_i:الكتلة الابتدائية .
- R%:المردودية الإنتاجية للمستخلصات ب%[11].

6.IV. التقدير الكمي بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية :

1.6.IV. مطيافية الأشعة فوق البنفسجية –المرئية :

هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالا في التحليل الكمي و الكيفي ، و من أهم الوسائل التي تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات ، تشمل على منطقة الضوء المرئي ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية، ومـــن أهـــم الطرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية (الكثافة الضوئية للمحاليل حيث مجالها الكهرومغناطيســـي (طول الموجي) ما بين 400–700 نانومتر [12].

1.1.6.IV.مبدأ العمل:

يتكون جهاز الطيف الذري من قســمين رئيســيين همــا المصــدر الضــوئي لأي طــول مــوجي محدد,ومقياس كثافة الضوء، حيث وضع السائل المراد قياس تركيز العناصر الموجودة بداخله في حامــل العينة (cuvette)، ثم وضع العينة بين المصدر الضوئي و الكاشف ،وعند تعــرض الكاشــف الضــوئي للضوء فانه يتولد على اقطابه اشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل الســائل ،حيــث تعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول و بالتالي يمكن حســاب التركيــز بالاعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد[13].

قانون لامبرت بير

$$A=\log I_0 / I$$

حيث :

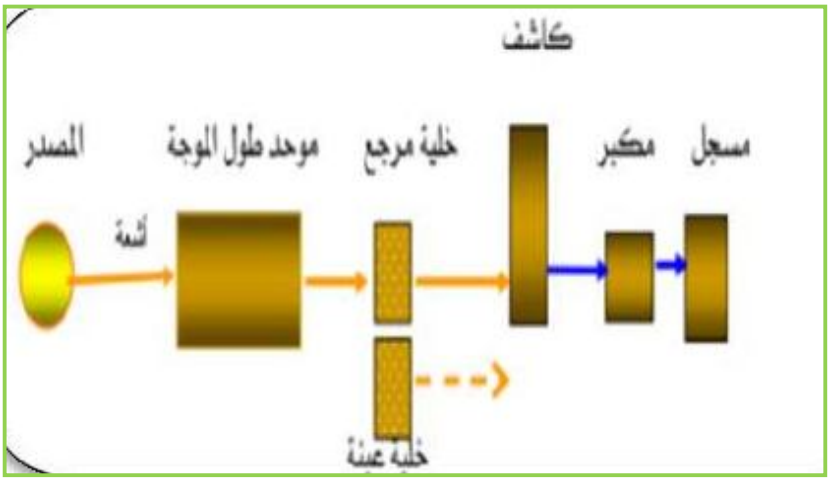
I_0: شدة الضوء الوارد

I: شدة الضوء الصادر

2.1.6.IV.مكونات الجهاز :

توجد مجموعة مختلفة من الأجهزة والتي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتوميتر والاسبكتروفوتوميتر وهذه الأجهزة تتكون أساسا من أربعة أجزاء رئيسية وهي:

- المصدر (source)
- وحدة التحكم في الأطوال الموحية (monochromator)
- وحدة العينات (cells)
- الكاشف أو المقدر (detector)



الشكل(IV. 5): مكونات جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

2.6.IV.التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-Vissible:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكليـــة باســـتخدام الطريقـــة اللونيـــة Singleton Rossi (1965) باستعمال كاشف الفولين(Folin ciocalteu)،حيث ان هذا الكاشف يتكون من حمـــض فوسفوتنغســـتينيك ($H_3P_{13}W_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكســـيد التغنستين (WO_3) والموليبيدين (MoO_3)، ذات اللون الأزرق ، يتم تقدير المركبـــات الفينوليـــة كميـــا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية وباستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصـــيته الضـــوئية عند طول موجي 765nm [14].

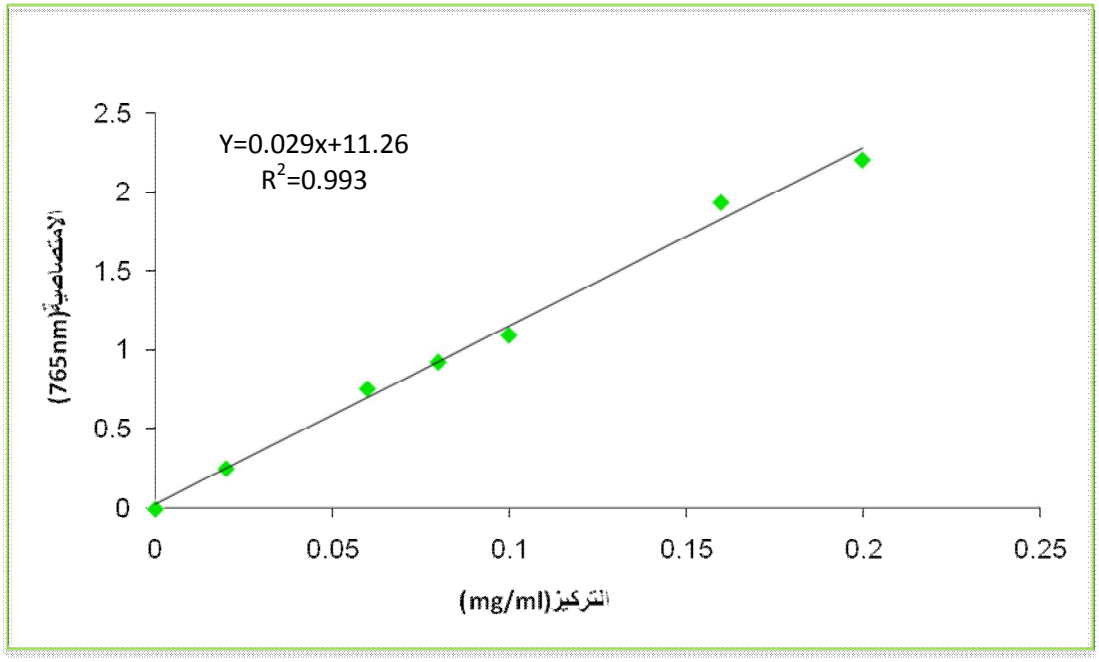
1.2.6.IV.المنحنى القياسي لحمض الغاليك :

نقوم بتحضير محاليل ممدة لحمض الغاليك تراكيزه تتراوح مابين(0.02- 0.2) ملغ/مـــل فـــي أنابيب اختبار، ثم نأخذ 0.2مل من المحاليل الممدة ونضيف لهـــا 1مـــل كاشـــف (Folin ciocalteu) المدد10مرات ،ثم نضيف 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2Co_3، ونضع المحاليـــل في الظلام لمدة 30دقيقة عند درجة حرارة الغرفة ، بعدها تقـــاس الامتصاصـــية عنـــد طـــول مـــوجي λ =765 nm

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الغاليك جدول **(V. 1)** نرسم منحنى القياسي الكثافة الضـــوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز(C) A=f

الجدول(V. 1): جدول:نتائج الامتصاصية بدلالة التركيز لحمض الغاليك

التركيز	0	0.02	0.05	0.08	0.1	0.16	0.2
الامتصاصية	0	0.253	0.762	0.931	1.099	1.94	2.21



الشكل (IV. 6) : صورة المنحنى القياسي لحمض الغاليك

IV.2.2.6.التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات :

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 0.8 ملغ/مل ، نأخذ من كل تركيـــز 0.2 مـــل ونضيف له 1مل من كاشف الفولين (Reactif de folin –cicalteai) ونتركه مدة 5 دقائق في الظـــلام ثم نضيف له 0.8 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) Na_2Co_3 ،ونتركه فـــي الظـــلام لمـــدة نصف ساعة نتحصل على اللون الأزرق ،ثم تقرا الامتصاصية عند طول موجي λ =760 nm .

الشكل(IV. 7): المحاليل بعد إضافة كاشف الفولين

IV.3.6.التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة UV-Vissible:

يتم تحديد كمية الفلافونويدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الألمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا على طريقة Woisky et salation مع بعض التعديلات الطفيفة ،ويمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل OH الموجودة في الحلقات البنزينية للفلافونويدات، وتكوين معقد ذو لون الأصفر مع الفلافونويدات .

ونستعمل في هذه التجربة فلافانويد الكرستين كأساس مرجعي قياسي لرسم المنحنى القياسي ويتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة جهاز المطيافية الضوئية باستعمال كرستين كمحلول قياسي عند طول موجي λ =420 nm [15] .

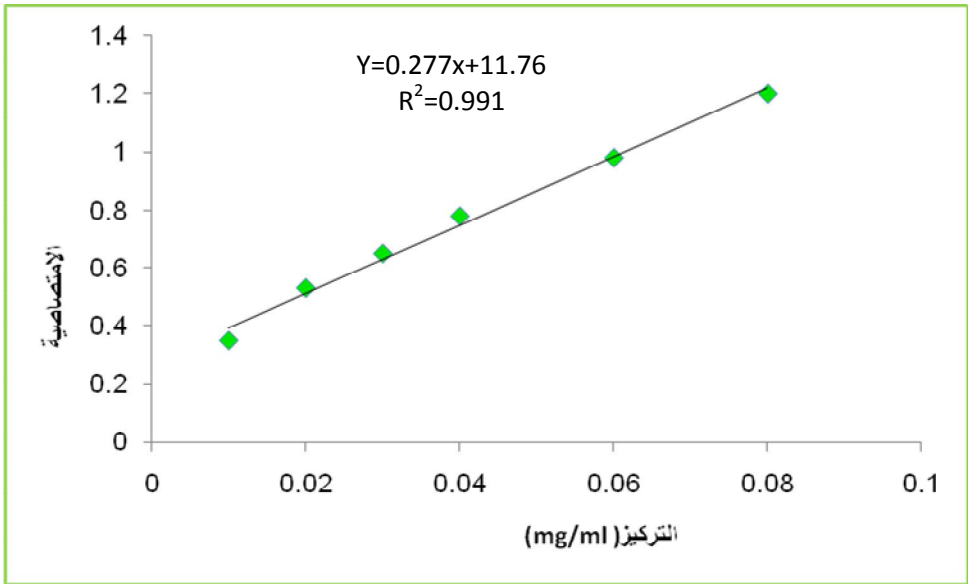
IV.1.3.6.المنحنى القياسي لحمض الكرستين :

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الكرستين محصورة بين (0.01-0.06) ملغ /مل ،نأخذ من كل تركيز 1 مل و نضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز2% ثم نتركها لمدة 30 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة المخبر،ثم تحسب الامتصاصية بواسطة جهاز UV عند طول موجي λ = 420nm

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الكرستين جدول **(IV. 2)** نرسم منحنى القياسي الكثافة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز (C) A=f.

جدول (IV. 2):نتائج الامتصاصية للكرستين بدلالة التركيز

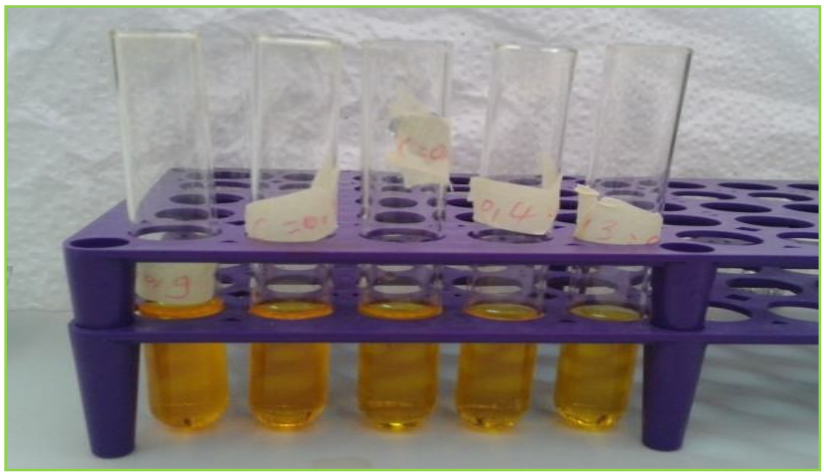
التركيزملغ/مل	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06
الامتصاصيةA	0.39	0.53	0.64	0.79	0.98



الشكل(IV. 8): المنحنى القياسي لحمض الكرستين

2.3.6.IV.التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

نحضر من كل مستخلص تركيز قدره0.4 ملغ/مل ، و نأخذ من كل تركيز 1مل في أنبوب اختبار و نضيف له 1 مل من محلول ثلاثي كلوريـــد الألمنيـــوم($AlCl_3$) ذو التركيـــز2 %، ثـــم نتركهـــا لمـــدة 30دقيقة في الظلام نتحصل على اللون الأصفر ، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند طول مـــوجي nm $\lambda = 420$.



الشكل(IV. 9): المحاليل بعد اظافة ثلاثي الكلوريد الالمنيوم

7.IV.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية :

وهي قياس لقدرة المركب أو المستخلص في تثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة ، حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منهـــا : اختبـــار (DPPH) ، أو اختبـــار (ABTS) ، أو اختبار (FRAP) واختبار القدرة الارجاعية هذه الطرق تعتمد علـــى التلـــوين ونـــزع التلـــوين وتقـــدير الامتصاصية عند طول موجي معين. [16]

و في هذه الدراسة تم اختبارين مختلفين لقياس قدرة التثبيط وهما :

TAC و DPPH

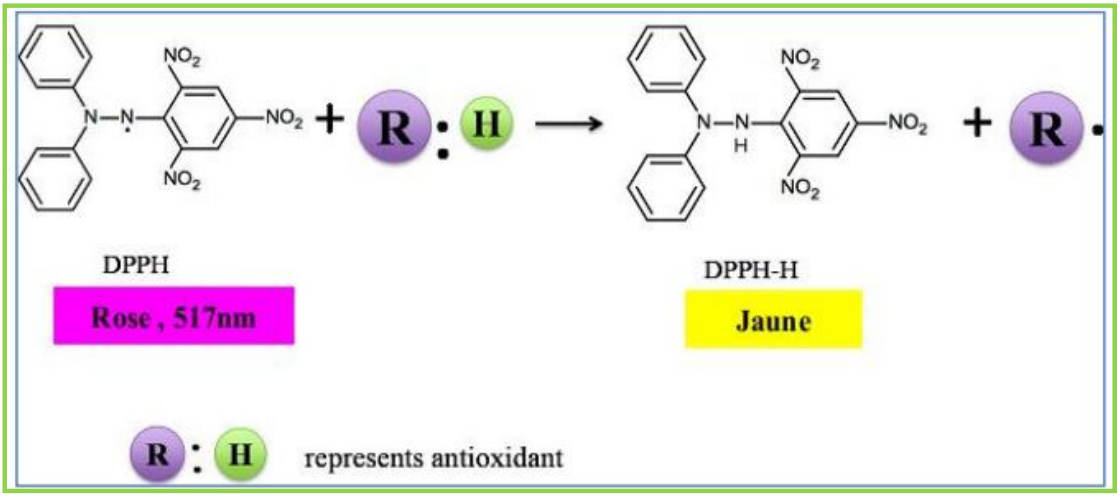
1.7.IV.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

جذر $DPPH^{\bullet}$ مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود حيث يمتلك هذا الجـــذر خاصـــية الاســـتقرار لعدت أيام و هو يمتص عند طول الموجة 517nm.و اختبار DPPH هو اختبار مضاد الجذور الحـــره سبق تعريفه منذ 50 سنة ماضية من طرف BLOIS سنة 1958.

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ و ذلك اعتمادا على قابليـــة إعطـــاء المستخلصـــات (مضادات الأكسدة) لذرة هيدروجين ،حيث يمكن تتبع عملية إرجاع $DPPH^{\bullet}$ لونيـــا باســـتعمال جهـــاز الطيف اللوني و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية ، هذا الانخفاض في الامتصاصـــية يمكننـــا من معرفة قدرة و كفاءة المستخلصات من تثبيط الجذر بعد مدة زمنيـــة قـــدرها 30 دقيقـــة فـــي وجـــود المستخلص المضاد للأكسدة . و تحدد القدرة المضادة للأكسدة بتحديد معامل جديد هو IC_{50} . [13]

- تعريف المقدار IC_{50}: يعرف على انه تركيز المستخلص (مضاد الأكسدة) اللازم لتثبيط 50% مـــن جذر $DPPH^{\cdot}$. [16]

وفي ما يلي الشكل (IV. 10) الذي يوضح آلية تثبيط العامل المضاد لأكسدة جذر DPPH·



الشكل(IV. 10):الذي يوضح الية تثبيط العامل المضاد للاكسدة لجذر DPPH

IV.1.1.7. اختبار DPPH للمستخلصات الفينولية :

يتم تحضير محلول DPPH في الميثانول ،وذلك بأخذ كتلة قـدرها 2 ملغ من DPPH مذابة في 50مل من الميثانول فنتحصل على محلول بنفسجي داكن . ثم نقوم بتحضـير محاليـل مخففـة بتراكيـز مختلفة من المستخلصات، نأخذ من كل تركيز 1 مل ثم نضيف له1 مل من DPPH· في انابيب زجاجية ، نجانس المحلول ، ونتركه لمدة 30 دقيقة في الظلام، بعدها تتم قـراءة الامتصاصية في جهاز UV-Vis عند طـول الموجة الأعظمي λ max =517nm .

نجري نفس العملية على حمض الاسكوربيك وذلك قصد مقارنة فعالية المستخلصات بالمركبات المضادة للجذور الحرة و للاكسدة . [17]

الشكل(IV. 11):صورة توضح بعض مستخلصات بعد إضافة محلول DPPH

2.1.7.IV. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH:

وتحسب نسبة التثبيط المئوية لمختلف التراكيز للمستخلصات وفق العلاقة التالية :

$$IC\ \% = \frac{At_{\ 0} - At_{\ 30}}{At_{\ 0}} \times 100$$

At_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

At_{30}: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر+المستخلصات) بعد مرور 30 دقيقة .

I% : نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر $DPPH^{\cdot}$.

2.7.IV.اختبار فعالية مضادات الأكسدة الكلية TAC باستعمال موليبدات الأمونيوم:

يتم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستعمال طريقة الفوسفوموليبدات phosphomolybdenum حسب ARDESTANI et YAZDANPARAST ،وهي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الارجاعية لمضادات الأكسدة غير الأنزيمية ،تعتمد على إرجاع الموليبيدات(MoO_4^{-2}) Molybdate إلى Molybden (Mo) وهده الأخيرة تتميز بلون أخضر فاتح ويتكون من:

- molybdate d"ammonium :4Mm
- acide sulfurique :0.6M
- phosphate de sodium :28Mm

إن إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة تقدر كميا بواسطة جهـــاز UV–Visible حيـــث يســـتعمل حمـــض الاسكوربيك كفينول مرجعي عند طول موجي**695 nm** . [18]

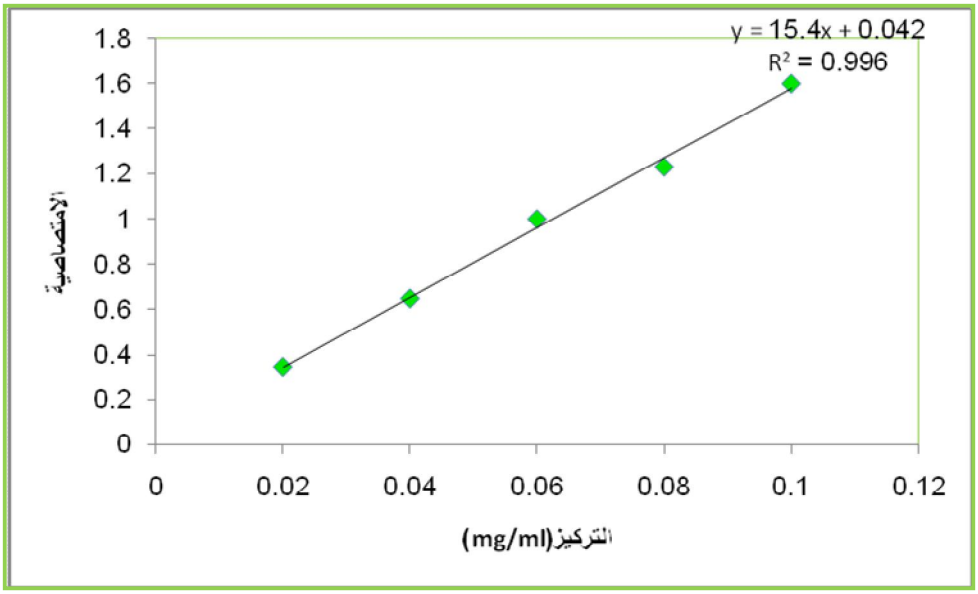
1.2.7.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك :

نقوم بتحضيرعدة تراكيز مخففـــة من حمض الاسكوربيك محصورة بين(0.02–0.1) مغ/مل ،ناخذ من كل تركيز 0.1 مل ونضيف له 1 مل من الكاشف ونتركه لمدة ساعة في حمام مائـــي درجـــة حرارتـــه 95 C^0 فنتحصل على اللون الأخضر،نتركها تبرد ثم تقرا الامتصاصية عند طول موجيλ = 695 nm .

انطلاقا من قيم الامتصاصية لمحاليل حمض الأسكوربيك **جدول (IV. 3)** نرسم منحنى القياســـي الكثافـــة الضوئية (الامتصاصية) بدلالة التركيز (C) A=f

جدول (IV. 3) :نتائج الامتصاصية الأسكوربيك بدلالة التركيز

التركيز	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
الامتصاصية	0.35	0.65	1	1.23	1.6



الشكل(IV. 12) : منحنى قياسي لحمض الأسكوربيك

IV.2.2.7. اختبار المولبيدات للمستخلصات :

نحضر من كل مستخلص تركيز قدره 0.3 ملغ /مل ، ونأخذ من كل تركيز 0.1 مل في أنابيب اختبار ونضيف له 1 مل من الكاشف ونتركه لمدة ساعة في حمام مائي درجته C^0 95، فنتحصل على اللون الأخضر ، ونتركها تبرد ثم تقرا الامتصاصية تحت طول موجيλ =695 nm .

الشكل(IV. 12): صورة توضح بعض مستخلصات بعد اضافة محلول المولبيبدات

IV.8.دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا

تهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات على البكتيريا من خلال اختبارات عياريـــه وصـــيدلية وكذلك الطبية

IV.8.1.جمع السلالات البكتيرية المستهدفة :

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخابر كلية العلوم الطبيعية و الحياة و المجد والمرجان .

IV.8.2.السلالات البكتيرية المستعملة :

- ✓ *Escherichia coli* (ATCC25922)
- ✓ *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603)
- ✓ *Staphylococcus aureu* (ATCC9027)
- ✓ *Listeria monocytogenes* (ALIP74915)

IV.8.3.طريقة العمل :

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة و التنظيف الجيد لمكـــان العمـــل بالقرب من موقد بنزن سنتبع في هذا العمل طريقة الانتشار كما في الخطوات التالية :

IV.8.3.1. تحضير تركيز المستخلصات :

تم تحضير ثلاث تراكيز لكل مستخلص (0.1، 1 ، 10) ملغ/مل ، حيث أذيبـــت المستخلصـــات الفينولية في مذيب DMSO ، أما الأملاح القلويدية فقد أذيبت في ماء مقطر .

IV.8.3.2. تحضير الأقراص :

تم قص ورق الترشيح Whatman إلى أقراص بقطر6 ملم، ثم وضعت هذه الأقـــراص فـــي أنبـــوب اختبار زجاجي يحتوي على 10 مل ماء مقطر ومن ثم وضعت في جهاز المعقمـــة (Autoclave) لمـــدة 20 دقيقة على درجة حرارة $120\ C^0$ ، بعدها تم التخلص من الماء ثم نقلت الأقراص إلى الحاضنة حتى تجف

IV.8.3.3. تحضير وسط الزرع :

يتم تحضير أوساط الزرع بتسخين محلول الغلوكوزي Muller Hinton في حمام مائي درجة حرارتـــه 85 °C،بعدها تسكب بكميات محددة في علب بتري معقمة بسمك 5 ملم، ونتركها تبرد حتـــى تتجـــانس وتتماسك ،ثم تجف في الفرن لإزالة الرطوبة المتبقية [19]

IV.8.3.4.تحضير المعلق البكتيري :

باستخدام العود القطني نأخذ الجذمة البكتيرية ، ونضعها في أنبوب اختبار يحوي على 3 مل مـــن المـــاء الفيزيولوجي المعقم نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بوجود موقد بنزين لتجنب إتلاف الوسط مـــن البكتيريا ،ثم نزرع نوع بكتيري في علبة بتري حيث يتم المسح بالعود القطني وتوزيـــع البكتيريـــا علـــى مستوى السطح بشكل منتظم .

IV.8.3.5.وضع الأقراص المشبعة بتراكيز المستخلصات :

- **بالنسبة للمستخلصات الفينولية**

نضع ثلاث أقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا للمستخلصات الفينولية A وB C D داخـــل علـــب بيتري وذلك بواسطة ملقط (Pince)

معقم توضع الأقراص بعيدة عن حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية ، ثم نقلب العلـــب (مـــن اجـــل التخلص من بقايا الماء) وندخلها الحاضنة تحت درجة حرارة $37\ C^0$ ولمدة يوم كامل.

- **بالنسبة للمستخلصات القلويدية**

نضع ثلاث أقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا بالمستخلصين القلويديين E و F داخل علب بيتـــري وذلك بواسطة ملقط (pince) معقم توضع الأقراص بعيدة ع حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية ، ثـــم نقلب العلب وندخلها الحاضنة تحت درجة حرارة $37\ C^0$ ولمدة يوم كامل.

أنظر الملحق(3).

المراجع

المراجع باللغة العربية :

[1] الدكتور الشحات نصر أبو زيد (2007).الطب التكميلي بالعلاج الشعبي للنباتات الطبيـــة و العطريـــة. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع–القاهرة، ص7،8

[2] م.س.هيكل ، عبد الرزاق عمر(1993) ." النباتات الطبية والعطرية ، كيمياؤها ، انتاجها ، فوائـــدها "، منشأة المعارف للنشر ، الطبعة الثانية ، الاسكندرية ، ص 130–134.

[3] ش.أبو زيد(2005) ." فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجيـــة ، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع ، القاهرة ، ص496.

[6] الأحمادي بشيرة 2017.التقدير الكمي ،الكيفي للمركبات الفينولية و دراسة الفعالية المضادة للأكســـدة و الضد بكتيرية لمستخلصات ثمار نبات القناوية Abelmoxhus exulentus ، مذكرة ماستر .الوادي ،جامعـــة حمه لخضر

[9] سوسن علي حميد الحلفي ، أم البشر حميد جـــابر الموســـوي(2011). الفعاليـــة المضـــادة للأكســـدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه ، مجلة أبحاث البصرة ، العلميات .

[13] ربيعي عبد الكريم2010 . المساهمة في دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصـــات بروبـــوليس ، جنوب الجزائر بالطرق الكميائية والكهرو كميائية ، مذكرة ماجيستير في الكمياء التحليلية ، جامعة قاصـــدي مرباح ، ورقلة

[16] مصطفى بوقوادة (2008).دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات و الفينولات في بعض أنواع التمر المحلى، مذكرة تخرج لنيل شهادة المجاستير ، تخصص التحضير العضوي و الفيتوكيمياء ، جامعة قاصـــدي مربـــاح ورقلة.

[17] حرزولي يمينة 2018 . دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات العضوية لنبات Moltikia Ciliata ، مذكرة تخرج لشهادة ماستر في الكيمياء ، تخصص كيمياء عضوية و تحليلية ، جامعـــة حمـــه لخضـــر ، الوادي .

[19] علاوي مسعودة. الدراسة الفيتوكيميائية و التقييم الميكروبيولوجي لنبتتـــين مـــن الفصـــيلة الرمراميـــة تستعملان في طب التقليدي الصحراوي.

المراجع باللغة الأجنبية :

[4]A.Mahmoud ,M.Nawwar,A.Sahar M.Hussein,I.Merfort, (1994). Spectral analysis of polyphenols from punicq granatum,phytochemistry,p793-798

[5] K.Benzahi," (2001) Contributon àl'ètude des flavonoides dans la Plante cynodon Dacÿlon-L <<chiendent>>", mèmoides de Magistèi. Universitè de Ouargla ,P15-17

[7] chevion S .,chevion M ,choch P.B., Beecher G.R , ,(1999) Jornale of Medicinal food

[8] R. Ikan,Natural produit, a laboratory guide, (1987) acadèmic press, london,(1969).[14] A.S. Abd Elchakour,"chemie organique moderne et pratique ",Université du Roi Abd Elaziz,Djeddah,p132

[10] Said Rahal, (2009)."Chimie des produits naturels et des etres vivants",Alger,p 63-78.

[11] Boukrin H., .(2014) Contribution à létude phytochimique des extraits bruts des épices Contenus dans le mélange Ras-el hanout. Théme Master Academique. Université kasdi Merbah ourgla.P99

[12] Asadi S, Ahmadiani A, Ali Esmaeili A, Sonboli A, Ansari N, ,(2010). In Vitro Antioxidant activities and an inverstigation of neuroprotection by six sabiria species from Iran: Acomparative study Food chemical and Toxicology.

[14] Ivana. K, Milena .N, 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 ,

[15] 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

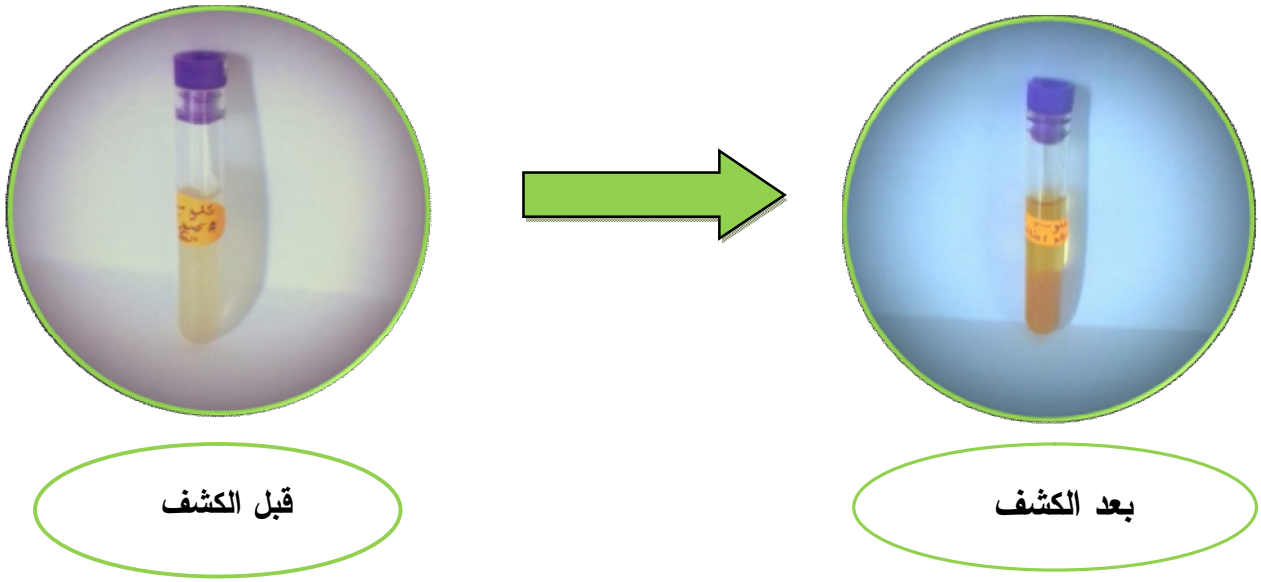
[18] Bidisha, Mallick et All. (2016). Evaluation of Antioxidative Potential of Field Grown and Tissue Culture Derived Mentha piperita L.Plants. International Journal of Current Microbiology and applied Sciences. 5(3),

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1.V. الكشف عن مواد الايض الثانوي في عشبة العلندة *E-ALata* :

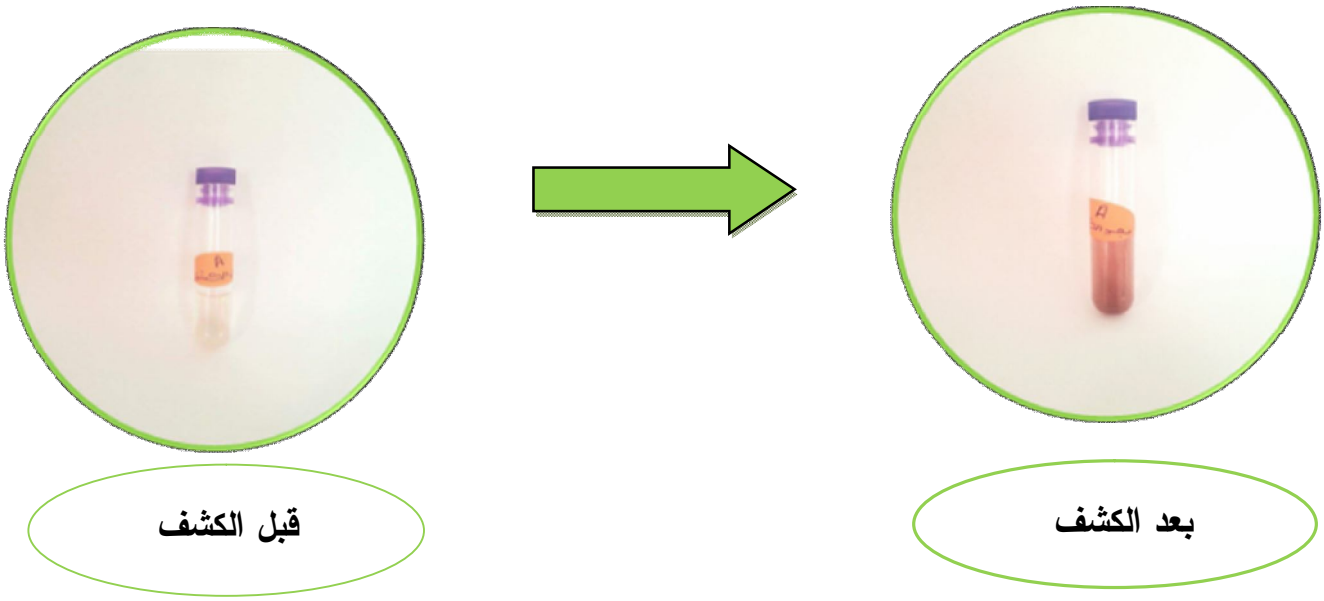
الكشف عن الأملاح القلويدية:



الشكل (1.V): الكشف عن الأملاح

نلاحظ ظهور راسب و هذا دليل على وجود القلويدات

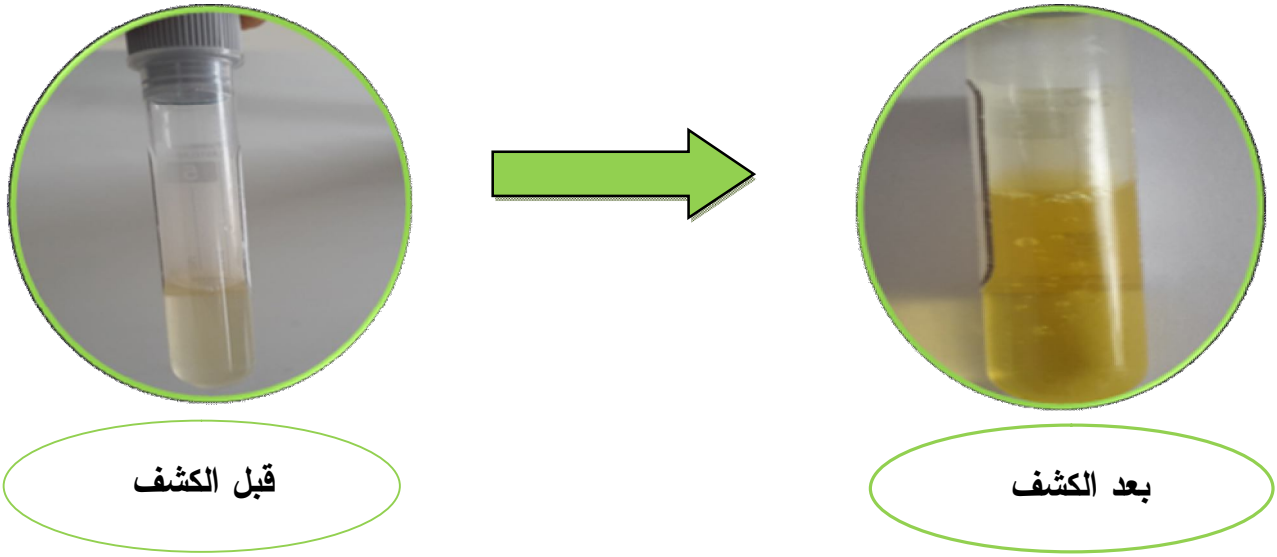
الكشف عن الفينولات:



الشكل(2.V): الكشف عن الفينولات

نلاحظ ظهور اللون البنفسجي و هذا دليل على وجود الفينولات .

الكشف عن الفلافونويدات:



الشكل(3.V): الكشف عن الفلافونويدات

نلاحظ ظهور اللون الأصفر و هذا دليل على وجود الفلافونويدات.

2.V. مردود الاستخلاص:

- ✓ مستخلص الفينولي لساق و أوراق عشبة العلندة لمنطقة الحمراية **A**
- ✓ مستخلص الفينولي لأزهار عشبة العلندة لمنطقة الحمراية **B**
- ✓ مستخلص الفينولي لساق و أوراق عشبة العلندة لمنطقة وزيتن **C**
- ✓ مستخلص الفينولي لأزهار عشبة العلندة لمنطقة وزيتن **D**
- ✓ مستخلص القلويدي لساق و أوراق عشبة العلندة لمنطقة وزيتن **E**
- ✓ مستخلص القلويدي لساق و أوراق عشبة العلندة لمنطقة الحمراية **F**

R%: المردود %

$$R\% = m_f / m_i$$

m_f: الكتلة النهائية

$m_ı$: الكتلة الابتدائية

بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول (1.V)

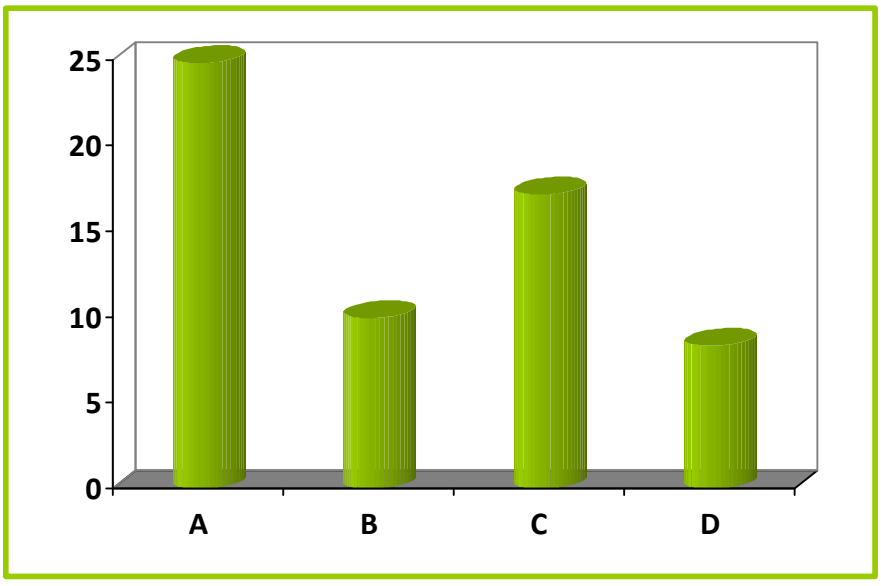
❖ **مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية**

الجدول(1.V): مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية

العينة	A	B	C	D
الكتلة الاولية	50	50	50	25
الكتلة النهائية	12.4113	4.9684	8.5782	2.08
المردود%	24.82	9.94	17.1564	8.32

من خلال النتائج المبينة في الجدول (1.V) نجد ان مردود الاستخلاص بالنسبة للعينتي A و C اكبر من مردود العينتي B و D هذا ما يدل على ان محتوى المركبات الفينولية في المستخلصين A و C اكبر من المستخلصين B و D وعلى العموم فان مردود الاستخلاص كبير ، وهذا يدل على غناء النبات بالمركبات الفينولية .

مردود الاستخلاص للعينات A و B و C و D موضحة في **الشكل (4.V):**



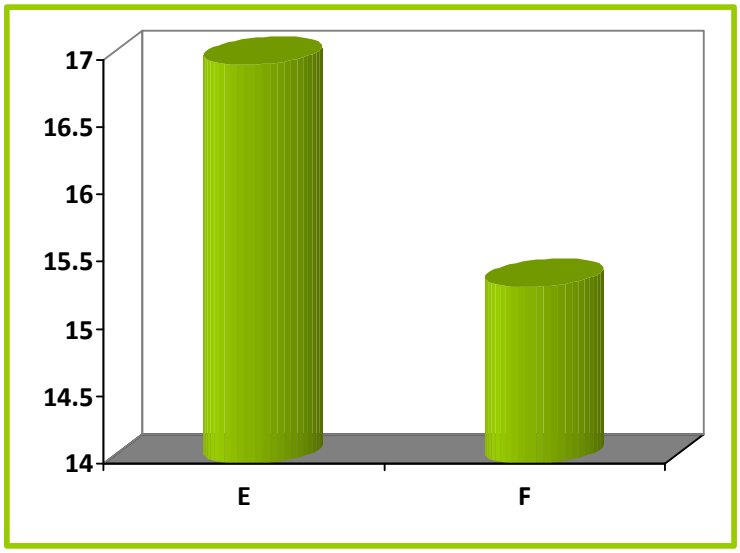
الشكل (4.V): مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية

❖ **مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية .**

الجدول (2.V):مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية .

العينة	E	F
الكتلة الأولية	50	50
الكتلة النهائية	8.4849	7.6596
المردود %	16.96	15.31

من خلال النتائج المبينة في الجدول(V-2) نجد أن مردود الاستخلاص للعينةE قدرت ب 16.96 وللعينة F مقدره ب 15.31 هذا ما يدل على وجود الأملاح القلويدية بنسب كبيرة في العينتينE و F . حيث يعتبر هذا المردود جد معتبر



الشكل (5.V): مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية

V.3. التقدير الكمي بواسطة جهاز المطيافية الأشعة UV-Visible :

V .1.3. التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز UV-Visible :

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (V.3):

الجدول (V.3): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	A	B	C	D
التركيز (mg/ml)	0.8	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية	0.94	0.58	0.61	0.55

نستخدم علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك لنجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات ،حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل1 غ من المستخلص لكل عينة .

النتائج مدونة في الجدول (V.4):

$$Y= 11.268X+0.0298$$

الجدول (V.4): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات

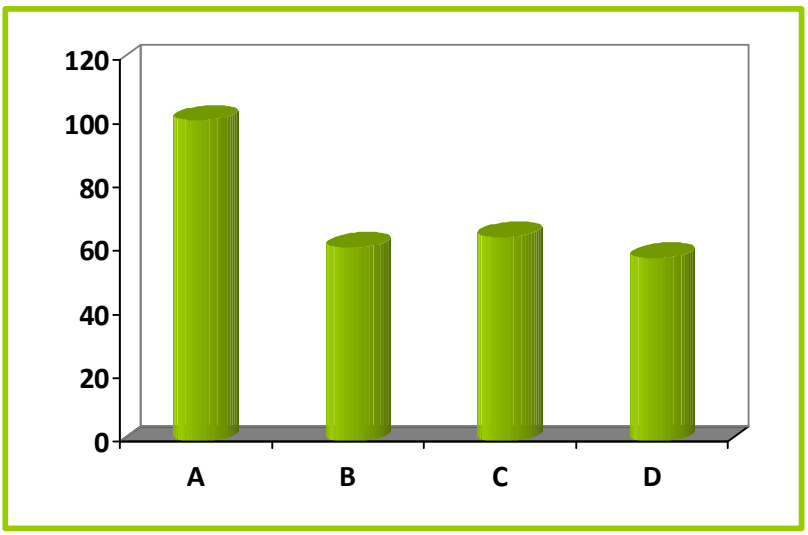
العينة	A	B	C	D
الكمية mgEAG/g	100.97	61.03	64.36	57.70

النتائج و المناقشة:

يوضح الجدول السابق وجود تباين في كمية المركبات الفينولية في مختلف المستخلصات الفينولية ، حيث تروح مقدارها بين mg EAG/g (100.97-57.70)

حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 100.97 mgEAG/g في مستخلص العينة A،وهي تمثل اعلي نسبة في المستخلصات الفيولية، 61.03 mg EAG/g بالنسبة للعينة B،بينما بلغت الكمية في العينة C 64.36 mg EAG/g، حيث قدرت اقل قيمة للعينة D بـ 57.70 mg EAG/g، وهذه القيم تتناسب طرديا مع قيم مردود الاستخلاص (كل مازاد المردود زادت كمية المركبات الفينولية الموجودة في العينة)

والشكل (6.V) يوضح فرق في كميات المركبات الفينولية بين المستخلصات :



الشكل (6.V):مخطط يوضح كمية الفينولات الكلية في المستخلصات .

2.3.V.التقدير الكمي للفلافونويدات بواسطة جهاز UV-Visible :

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول (5.V):

الجدول (5.V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	A	B	C	D
التركيز	0.4	0.4	0.4	0.4
الامتصاصية	0.46	0.36	0.49	0.30

بنفس الطريقة السابقة باستخدام علاقة المنحنى القياسي للكرستين نجد تركيز الفلافونويدات في المستخلصات، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 1 غ من المستخلص لكل عينة.

ونتائج الحساب مدونة في الجدول (6.V).

$$Y=11.85X+0.286$$

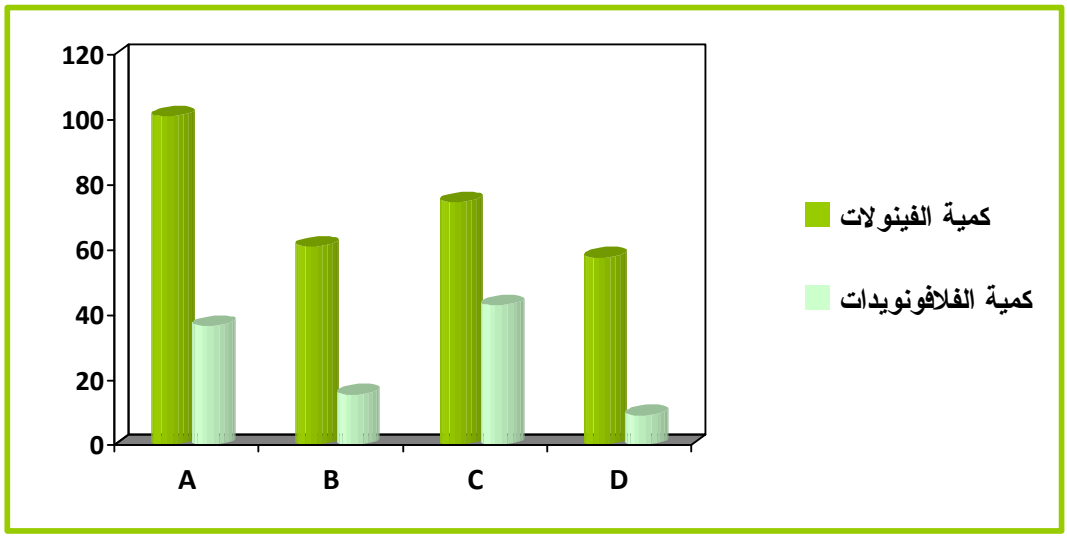
الجدول (6.V): كمية الفلافونويدات في المستخلصات

العينة	A	B	C	D
الكمية mgEQ/g	36.70	15.61	43.03	9.28

- **النتائج والمناقشة:**

من خلال نتائج الجدول السابق نجد أن كمية الفلافونويدات المتواجدة في العينة C أعلـــى نســـبيا من العينات الأخرى ، حيث قدرت بـــ 43.03 mgEQ/g بينما في العينة A قـــدرت بـــــ mg EQ/g 36.70 ،وفي العينة B قدرت بـــ mg EQ/g 15.61،بينما قدرت اقل قيمة فـــي العينـــة D بـــــ mg EQ/g 9.29، وبما أن الفلافونويدات أكثر الفينولات انتشارا فهي تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينـــولات المستخلصة من هذه العينات.

المقارنة بين الفينولات والفلافونويدات في المستخلصات موضحة في الشكل (V-7):



الشكل (V.7): مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات و الفلافونويدات

V.4. تقديـــر الفعاليـــة المضادة للأكسدة :

V.4.1. نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH :

حيث ندون قيم نسبة التثبيط المئوية للعينات التالية:

الجدول (V.7): نسبة التثبيط المئوية للعينة A

التركيز	0.08	0.1	0.3	0.6
الامتصاصية	0.029	0.27	0.18	0.052
I%	44.23	46.59	65.2	90

الجدول (8.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة B

التركيز	0.1	0.2	0.4	0.5	1
الامتصاصية	0.29	0.27	0.22	0.16	0.05
I%	45	49.3	58.1	69.3	90.2

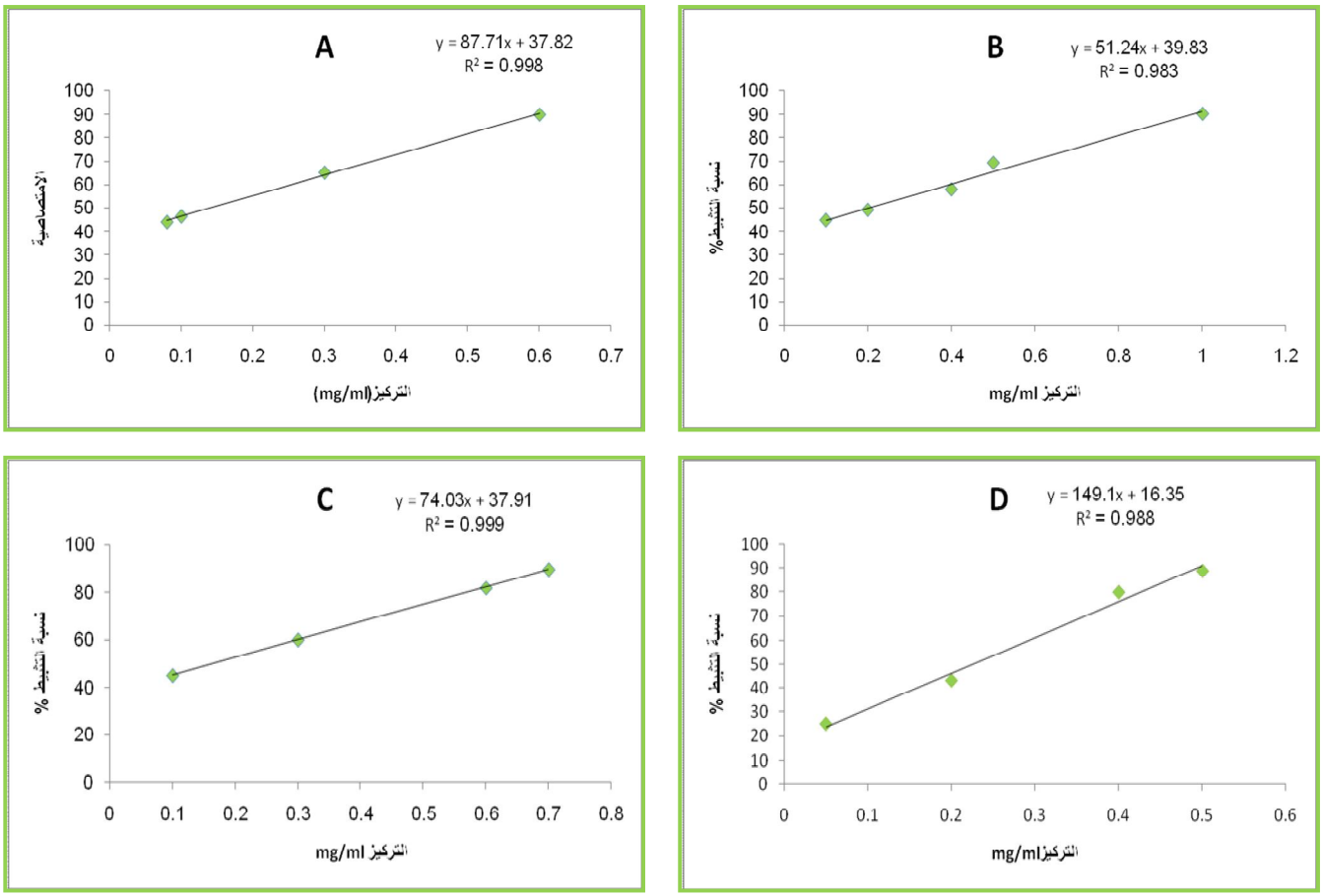
الجدول (9.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة C

التركيز	0.1	0.3	0.6	0.7
الامتصاصية	0.28	0.2	0.093	0.052
I%	45.3	60.2	82.1	89.9

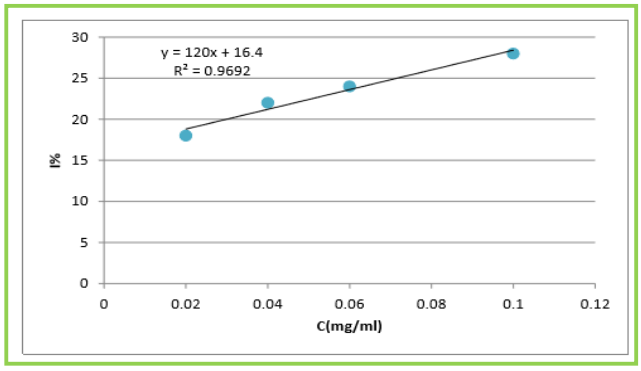
الجدول (10.V): نسبة التثبيط المئوية للعينة D

التركيز	0.05	0.2	0.4	0.5
الامتصاصية	0.39	0.29	0.1	0.05
I%	25	43.1	80	88.9

ندون النتائج المتحصل عليها في الجداول السابقة بمنحنيات تمثل نسبة التثبيط % بدلالة التركيز



الشكل(V .8): منحنيات اختبار DPPH للمستخلصات



الشكل(V .9):المنحنى المرجعي لحمض الأسكوربيك

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل المستخلصات نتحصل على التراكيز المناسبة للقضاء على 50%من الجذور الحرة من طرف المستخلصات الفينولية IC_{50} وحمض الاسكوربيك والتي دونت في الجدول **(11.V)** التالي:

جدول(11.V): يوضح نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات

العينة	A A	A	B	C	D
IC_{50} (mg/ml)	0.28	0.138	0.19	0.163	0.225

■ **النتائج و المناقشة:**

أظهرت المستخلصات الفينولية للنباتات القدرة على إعطاء الهيدروجين حيث أبدت هذه الأخيـرة قدرة على كبح جذر DPPH من خلال قيمة IC_{50} ،والقيمة الأقل تعني الفعالية المضادة للأكسدة الأكبـر للعينة.

من خلال نتائج الجدول (**11.V**) يمكن القول ان المستخلص للعينة A يملك اكبر فعالية مضادة للاكسدة بقيمة تقدرب (mg/mL) 0.138 بينما اقل فعالية مضادة للأكسدة كانـت للعينـة D قـدرت ب (mg/mL) 0.225 .

عند مقارنة النتائج المتحصل عليها مع حمض الاسكوربيك والـذي يسـتعمل كمـادة مضـادة للأكسدة، يمكن القول أن كل المستخلصات أعطت فعالية مضادة للأكسدة اكبر من المركـب المرجعـي وهذا راجع إلى كمية الفينولات المتواجدة في النباتات بكميات معتبرة .

V . 2.4. نتائج الفعالية المضادة للأكسدة الكلية TAC باستعمال موليبيدات الأمونيوم:

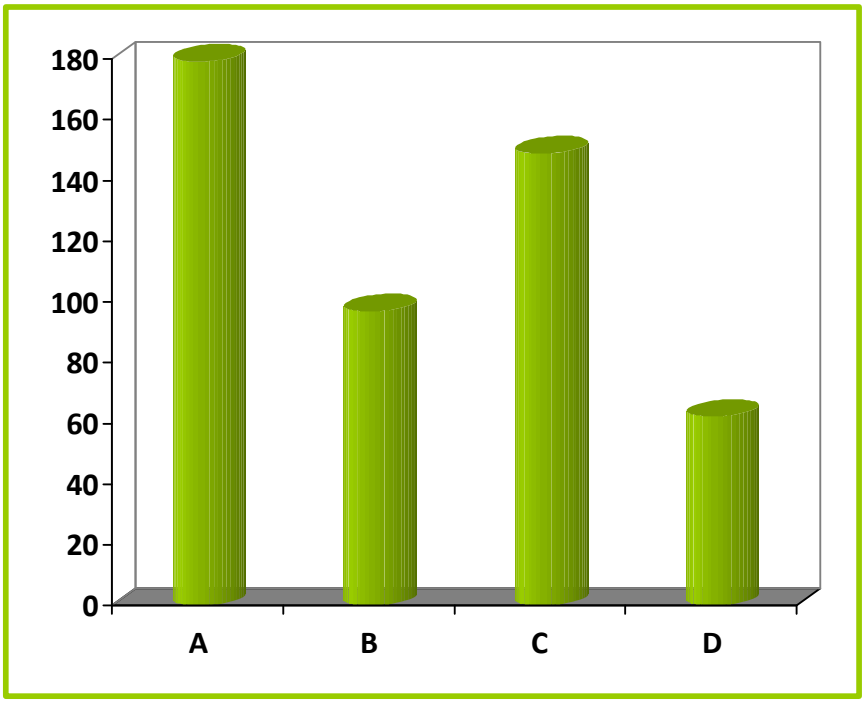
– من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة و بحسابات رياضية ، و من علاقـة المنحنـى القياسـي لحمض الاسكوربيك تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية **TAC** للمستخلصات ، ومنه يمكن حسـاب الكمية المكافئة ل 1غ من المستخلص ، من خلال المعادلة:

$$Y=15.4X+0.042$$

الجدول(V.12) الآتي يوضح قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية لمكافئة غرامي:

جدول (V.12):تقدير إجمالي لفعالية مضادات الأكسدة الكلية TAC باستعمال موليبيدات الأمونيوم

العينة	A	B	C	D
التركيز	0.3	0.3	0.3	0.3
الامتصاصية	0.87	0.49	0.73	0.33
قيم اختبار النشاطيةTAC	179.22	96.96	148.91	62.337



الشكل (V .10): مخطط يوضح نتائج اختبار تقدير الفعالية المضادات للأكسدة الكلية

- **النتائج و المناقشة:**

يتضح من خلال النتائج المدونة في الجدول(**13.V**) والتي تعبر عــن اختبــار تقيــيم النشــاطية المضادة للأكسدة الكلية بعدد الملغرمات الموافقة لحمض الاسكوربيك لكل غرام من المستخلص ،حيــث سجلت اكبر قيمتين في المستخلصــين A و D قــدرت ب 179.22 mg/g و 148.91 mg/gعلــى التوالي. أما مستخلص العينة C ب 96.96 mg/g ، بينما سجلت اقل قيمة في المســتخلص D بـــ 62.337 mg/g .

وعند المقارنة بين فعالية المستخلصات يتضح لنا أن هناك علاقة طردية بين محتوى المستخلصات الفينولية والقدرة الكلية المضادة للأكسدة.

V.5. الفعالية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية الزرع والحضن لمدة 24ساعة ،نقوم بقياس أقطار التثبيط للمستخلصات حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة.

الجدول(13.V): تراكيز المستخلصات الفينولية المحضرة للدراسة

العينات	التركيز	0.1	1	10
المستخلصات الفينولية	مستخلص ساق وأوراق لمنطقة الحمراية A	A1	A2	A3
	مستخلص الأزهار لمنطقة الحمراية B	B1	B2	B3
	مستخلص ساق وأوراق لمنطقة وزيتن C	C1	C2	C3
	مستخلص الأزهار لمنطقة وزيتن D	D1	D2	D3
المستخلصات القلويدية	مستخلص ساق وأوراق لمنطقة الحمراية E	E1	E2	E3
	مستخلص ساق وأوراق لمنطقة وزيتن F	F1	F2	F3

■ لمعرفة مدى حساسية البكتيريا للمستخلصات نتبع الطريقة التالية :

✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8 ملم.

✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين9و 14 ملم .

✓ البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر ما بين15و 20 ملم .

✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم

- **بكتيريا *Escherichia coli***

قيم اقطار التثبيط بالنسبة البكتيريا *Escherichia coli* موضحة في الجدول **(14.V)**

الجدول (14.V): أقطار التثبيط للبكتريا *Escherichia coli* الناتجة عن تراكيز مختلفة

العينة	A			B			C			D			E			F		
التركيز	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3	F1	F2	F3
قطر التثبيط	-	8	10	8	8	9	7	8	9	-	-	10	-	9	16	-	11	15

النتائج و المناقشة:

أظهرت نتائج البكتيريا *Escherichia coli* :

بالنسبة للمستخلصات الفينولية:

- ضعيفة الحساسية (مقاومة) اتجاه تراكيز العينات (C2،C1،B2،B1،A2) حيث سجل قطـــر تثبـــيط لتركيز C1 ب7 ملم بينما بقية التراكيز B2،B1،A2، C2 قدر قطر تثبيط ب8 ملم
- متوسطة الحساسية اتجاه تراكيز العينات (D3،C3،B3، A3)، حيث سجل قطر تثبيط التركيـــز B3 و C3 ب9 ملم بينما تراكيز العينتين D3، A3 اعطى قطر تثبيط قدرب 10 ملم

بالنسبة للمستخلصات القلويدية:

- متوسطة الحساسية اتجاه التراكيزE2 ، F2 حيث سجلت أقطار التثبيط على التوالي ب 9 و11 ملم
- ذو حساسية معتبرة اتجاه التراكيز E3 ، F3 حيث أعطى قطر التثبيط عنـــد هـــذه التراكيـــز ب 16 و15 ملم على الترتيب .

- **بكتيريا *Klebsiella pneumoniae***

قيم أقطار التثبيط بالنسبة البكتيريا *Klebsiella pneumoniae* موضحة في الجدول **(15.V)**

الجدول (15.V): أقطار التثبيط للبكتريا *Klebsiella pneumoniae* الناتجة عن تراكيز مختلفة

العينة	A			B			C			D			E			F		
التركيز	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3	F1	F2	F3
قطر التثبيط	-	8	10	9	12	14	-	8	10	-	-	-	-	8	11	-	-	9

النتائج و المناقشة:

أظهرت نتائج البكتيريا ***Klebsiella pneumoniae***

بالنسبة للمركبات الفينولية:

- ضعيفة الحساسية (مقاومة) اتجاه تراكيز العينات(C2،A2) حيث قدر قطر تثبيط ب8 ملم
- متوسطة الحساسية اتجاه تراكيـــز العينـــات (C3،B3 ، B2،B1، A3) حيـــث ســـجل قطـــر تثبـــيط لتركيزالعينتين C3،A3 ب10ملم و B1 ب9 ملـــم بينمـــا قطـــر تثبـــيط لتركيـــز العينتـــين B3،B2 ب12و14ملم على التوالي.

بالنسبة للمستخلصات القلويدية:

- ضعيفة الحساسية اتجاه تراكيز العينات E2 حيث سجل قطر تثبيط لهذه التراكيز ب 8.

متوسطة الحساسية اتجاه تراكيز العينتي E3 و F3 حيث قدّر قطر التثبيط بـــ 11 و9 ملم على التوالي

- **بكتيريا *Staphylococcus aureu***

قيم أقطار التثبيط بالنسبة البكتيريا *Staphylococcus aureu* موضحة في الجدول **(16.V)**

الجدول (16.V): أقطار التثبيط للبكتيريا*Staphylococcus aureus* الناتجة عن تراكيز مختلفة

العينة	A			B			C			D			E			F		
التركيز	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3	F1	F2	F3
قطر التثبيط	-	8	10	-	-	-	-	8	10	-	-	-	-	10	17	-	10	15

النتائج و المناقشة :

أظهرت نتائج البكتيريا *Staphylococcus aureus*

بالنسبة للمركبات الفينولية:

- ضعيفة الحساسية اتجاه تركيز العينتين(C2،A2)حيث قدر قطر التثبيط ب8ملم .
- متوسطة الحساسية اتجاه تراكيز العينتين(C3، A3)حيث اعطى قطر تثبيط مقدر ب10ملم .

بالنسبة للمستخلصات القلويدية :

- متوسطة الحساسية اتجاه التراكيز E2 و F2 حيث قطر قطر الثبيط ب 10ملم .
- ذو حساسية اتجاه التراكيز E3 و F3 حيث قدر قطر التثبيط ب 17 و15 ملم على التوالي .

- **بكتيريا *Listeria monocytogenes***

قيم أقطار التثبيط بالنسبة البكتيريا *Listeria monocytogenes* موضحة في الجدول **(17.V)**

الجدول (17.V): أقطار التثبيط للبكتريا *Listeria monocytogenes* الناتجة عن تراكيز مختلفة

العينة	A			B			C			D			E			F		
التركيز	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3	F1	F2	F3
قطر التثبيط	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	8

النتائج و المناقشة:

أظهرت نتائج البكتيريا *Listeria monocytogenes*

بالنسبة للمستخلصات الفينولية :

- أظهرت النتائج أن بكتيريا *Listeria monocytogenes* ذو مقاومة طبيعية اتجاه جميع تراكيز المستخلصات المدروسة

بالنسبة للمستخلصات القلويدية :

- ضعيفة الحساسية اتجاه تركيز العينة F3 حيث قدر قطر تثبيطه ب8 ملم .
- متوسطة الحساسية اتجاه تركيز العينة E3 حيث أعطى قطر تثبيط قدره 9 ملم

نتائج عامة للفعالية المضادة للبكتيريا:

بالنسبة للمركبات الفينولية :

من خلال هذه النتائج يمكن القول أن العينات Aو B و C و D أعطت فعالية مضادة للبكتيريا متوسطة الحساسية خاصة من نوع G^- فكلما زاد التركيز زاد قطر التثبيط .و الأثر المضاد للبكتيريا كان واضحا عند بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* حيث سجلت أعلى قطر تثبيطي لدى العينة B عند التركيز B3 المقدره بـ14 ملم .

بالنسبة للمركبات القلويدية :

من خلال هذه النتائج يمكن القول أن العينات Eو F أعطت فعالية مضادة للبكتيريا ذو حساسية معتبرة في كلا النوعين G^- و G^+ فكلما زاد التركيز زاد قطر التثبيط. و الأثر المضاد للبكتيريا كان واضحا عند*Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* ، حيث سجلت أعلى قطر تثبيطي لدى تراكيز العينة F3 المقدره بـ17 ملم اتجاه بكتيريا *Staphylococcus aureus* .

الخاتمة

الخاتمة

كمواصلة للأبحاث السابقة في مجال التداوي بالنباتات الطبية واكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها هاته النباتات كعشبة العلندة حيث اعتمدنا في بحثنا هذا على دراسة المستخلصات الفينولية والقلويدية ودراسة فعاليتها البيولوجية من خلال الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا .

ومن خلال الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي أظهرت احتواء العشبة على : الفينولات ، الفلافونويدات ، الأملاح القلويدية ومن ثم تطرقنا لاستخلاص هذه المنتجات ، حيث تمكنا من تقدير مردود المستخلصات الفينولية و القلويدية ، فكانت نتائج المردود جد معتبره .

ومن ثم قمنا بالدراسة الكمية والبيولوجية ومقارنة فعالية المستخلصات للمنطقتين حيث سجلنا مايلي :

- التقدير الكمي لعديدات الفينول باستعمال كاشف Folin-Ciocalteu حيث كانت كميات الفينولات أكبر في السيقان والأوراق من الأزهار لكلا المنطقتين ، وكانت كمية الفينولات الأكبر في سيقان وأوراق منطقة الحمراية حيث قدرت بـــــــ : 100.97 mgEAG/g .
- التقدير الكمي للفلافونويدات باستخدام كاشف Chlorure d'Aluminium قد أعطت نتائج مختلفة حيث أن كمية الفلافونويدات الأفضل كانت موجودة في عينة (ساق وأوراق)منطقة وزيتن حيث قدرت بـــــــ : 43.03 mgEQ/g .
- أعطت دراسة الفعالية المضادة للاكسدة بالنسبة لإختبار DPPH عند IC_{50}% كانت اكبر لجميع العينات مقارنة بحمض الاسكوربيك ،حيث كانت أفضل قيمة لعينة (ساق أوراق) لمنطقة الحمراية وقدرت ب0.138 mg/ml بينما كانت قيمة حمض الاسكوربيك 0.28 mg/ml
- كما قمنا أيضا بدراسة الفعالية المضادة للأكسدة لاختبار TAC للمستخلصات الفينولية ، حيث توصلنا إلى أن جميع المستخلصات تملك فعالية مضادة للأكسدة ، حيث كانت اكبر قيمة لنشاطية المضادة للأكسدة الكلية لعينة (ساق–أوراق) لمنطقة الحمراية وقدرت ب: 179.22mg/g

- تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات ضد أربعة سلالات بكتيرية ممرضة ؛

Escherichia Coli ، Klebsiella pneumoniae ، Staphyloccoucus، monocytogenes Listeria

وبإتباع طريقة الانتشار كانت النتائج ايجابية خاصة مع المستخلصات المائية للأملاح القلويدية في كلا المنطقتين اتجاه السلالتين (*Escherichia Coli*، *Staphyloccoucus*) حيث سجلت أعلى أقطار تثبيط عند أعلى تركيز ب 16 و 15ملم لكلا المستخلصين لعينة (ساق و اوراق) لمنطقتي الحمراية و وزيتن على التوالي ، اتجاه السلالة البكتيرية *Escherichia Coli*. بينما اعطت عينة (ساق و اوراق) لمنطقة الحمراية اعلى قطر تثبيط عند أعلى تركيز اتجاه بكتيريا *Staphyloccoucus* حيث قدر ب 17ملم ، بينما كانت النتائج من ضعيفة إلـــى متوسطة الحساسية مع المستخلصات الفينوليـــة ضد السلالات البكتيريـــة المختارة .

وكخلاصة لما قدمناه في هذا البحث يمكن القول أن عشبة العلندة لمنطقة الحمراية أفضل من منطقة وزيتن وهذا يعود لاختلاف نوعية التربة .

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها من مستخلصات عشبة العلندة يمكن تثمينها وتأهيلها لتكون ضمن أكثر النباتات الطبية المستعملة في العلاج ، ولزيادة آفاق هذا البحث نرجو التعمق و التعرف أكثر في الدراسة الكمية والنوعية من خلال فصل مختلف مكونات و التعرف عليها بإجراء الفصل الكروماتوغرافي باستعمال مختلف الأجهزة ومن ثم دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات .

الملاحق

الملحق 01: الأجهزة المستعملة

حـــــاضنـــــــــة

جهـــــاز التبخيـــــــر

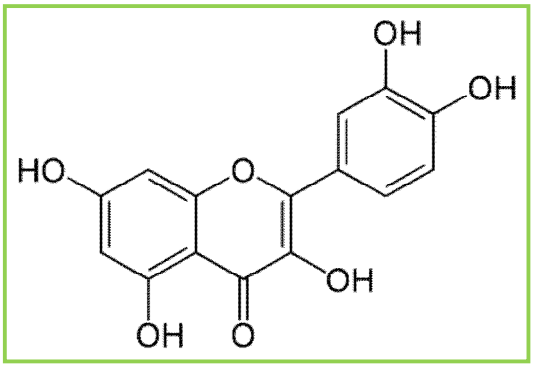
معـــــقمـــــــــة

جهـــــاز UV-visible

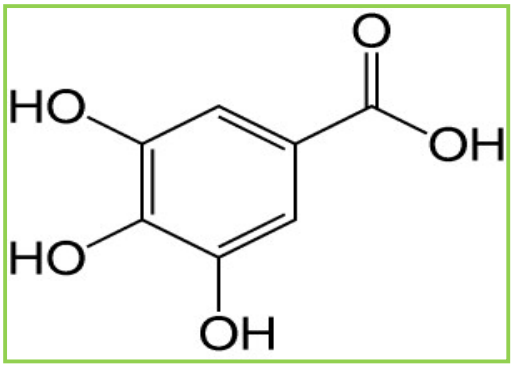
ميـــــــــزان حســـــاس

حمـــــــــام مائـــــي

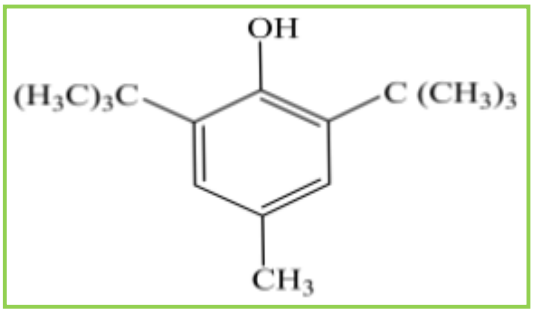
الملحق 02: الصيغ الكميائية



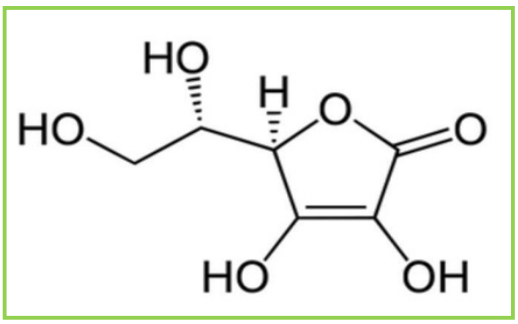
بنية حمض الكريستين



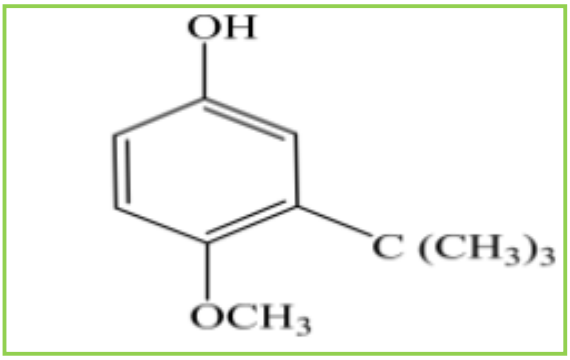
بنية حمض الغاليك



بنية مضاد الأكسدة الاصطناعي BHT

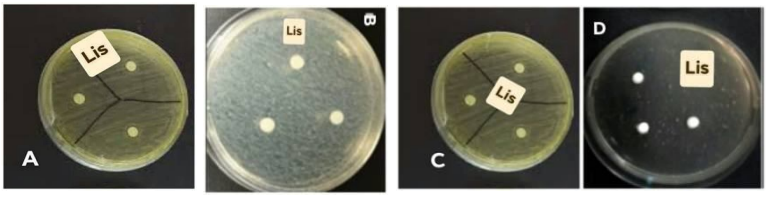


بنية حمض الاسكوربيك

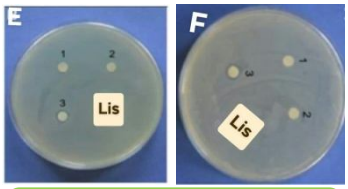


بنية مضاد الأكسدة الاصطناعي BHA

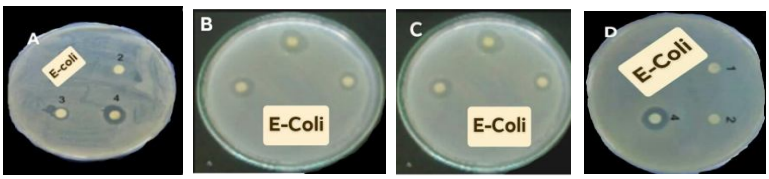
ملحق 03 : نتائج دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا



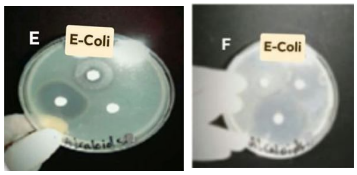
مستخلصات فينولية



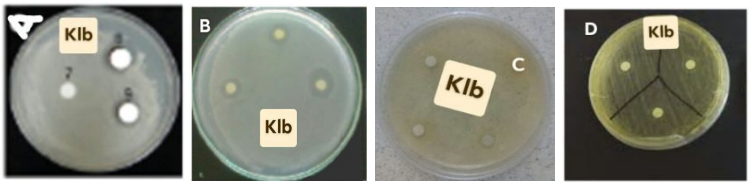
مستخلصات قلويدية



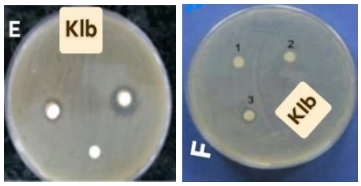
مستخلصات فينولية



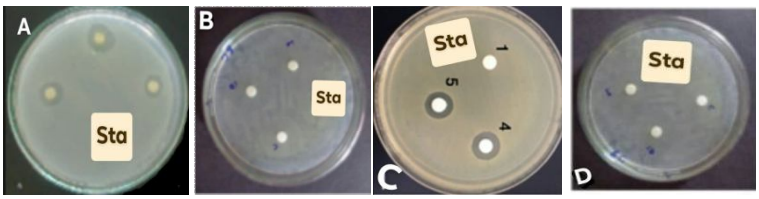
مستخلصات قلويدية



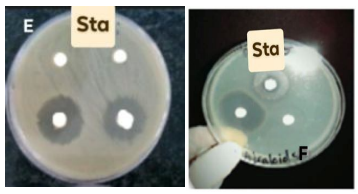
مستخلصات فينولية



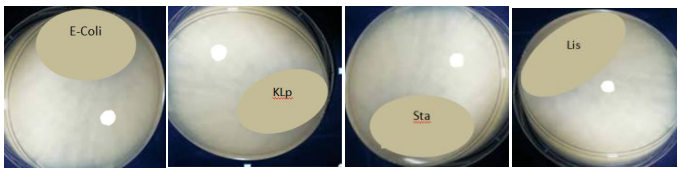
مستخلصات قلويدية



مستخلصات فينولية



مستخلصات قلويدية



أقراص مشبعة بمذيب DMSO

الملخص :

إن الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تثمين المنتجات الطبيعية و دورها كمضادات حيوية بديلة من خـــلال اختبـــار الفعاليـــة البيولوجية للمركبات الفينولية وأملاح القلويديات الموجودة في عشبة العلندة .

و تمكنا في هذه الدراسة من تحديد هذه المنتجات وذلك من خلال الكشف والاستخلاص ومن ثم التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية .

حيث توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن عشبه العلندة لكلا المنطقتين (الحمراية –وزيتن)غنية بمـــواد الأيـــض الثـــانوي و المتمثلة في عديدات الفينول والفلافونيدات وأملاح القلويدات و تم كذلك تحديد الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للجذور الحره باستخدام اختبار DPPH و TAC ، حيث تبين أن لجميع المستخلصات لها فعالية مضادة للأكسدة ، حيث كانت اكبر القيم في المستخلصات الفينولية لسيقان و أوراق لعشبة العلندة لمنطقة الحمراية لكلا الاختبارين .

و كخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات على أربع سلالات بكتيرية ممرضة و كانت النتائج ايجابية خاصة في المستخلصات المائية لأملاح القلويديات عند التركيز الأعلـــى لســـلالتين *Escherichia coli*–*Staphylococcus aureus* ، حيث كان اكبر قطر تثبيطي لعينة (ساق و أوراق) لمنطقة الحمراية اتجاه البكتيريا *Staphylococcus aureus* قدر ب 17 ملم .

الكلمات المفتاحية : عشبة العلندة ، المنتجات الفعالة (المركبات الفينولية و القلويدية) ، الفعالية البيولوجية (الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا).

Résumé :

Notre objectif principal de cette étude est de montrer l'intérêt des produits naturels et leur rôle comme des antibiotiques alternatifs à partir d'un test d'efficacité biologique pour les composés phénoliques et les sels alcaloïdes existants dans la plante *Ephedra alata* .

Nous avons conclu que la plante *Ephedra alata* pour les deux régions (Elhamraya-Ouaziten) est riche en métabolites secondaires présentés sous forme des poly phénols et des flavonoïdes et des sels alcaloïdes .

L'activité anti-oxydante a été effectuée moyennant deux tests différents(test DPPH et TAC). On a constaté que les extraits ont une efficacité anti-oxydante et les plus grandes valeurs enregistrées dans les extraits phénoliques pour(les feuilles et tiges) *Ephedra alata* la région Elhamraya dans les deux tests.

Comme une étape finale, l'activité antibactérienne des extraits a été testé vis-à-vis de quatre bactéries pathogènes, les résultats trouvés sont positifs en particulier dans les extraits "aquatiques "des sels des alcaloïdes lors de "la concentration "maximale chez les deux races (*Staphyloccoucus* – *Escheria Coli*) pour l'échantillon de la région Elhamraya. L'inhibition est de 17mm (y compris le diamètre du disque) vis-à-vis de *Staphyloccoucus* .

Mots clés: *Ephedra alata* , les Principes actifs (polyphénols, alcaloïdes), l' efficacté biologique (l'activité antioxydant et antibactérienne)