الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر-الوادي-
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

## مذكرة تخرج مقدمة لنيل شهادة
## ماستر أكاديمي في الكيمياء

**مجال: علوم المادة**

**تخصص: كيمياء عضوية**

**من اعداد الطالبتين:**

**تومي نجاة**

**رحومة كلثوم**

## تحت عنوان:

# الدراسة الكيميائية والفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات اللبين *Euphorbia guyoniana* الذي ينمو في منطقة وادي سوف

**نوقشت يوم: 2026/06/07**

**أمام لجنة المناقشة المكونة من الأساتذة:**

| | | |
|---|---|---|
| خلف عبد الحميد | أستاذ تعليم عالي | رئيسا |
| وهراني محمد رضا | أستاذ تعليم عالي | مناقشا |
| نور الدين تامة | أستاذ تعليم عالي | مشرفـا |
| فوحمة عبير | أستاذة مؤقتة | مساعد مشرف |

**الموسم الجامعي: 2026/2025**

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ

# الإهداء

إلى سيد الخلق وسيد المرسلين، نبينا محمد ﷺ، الذي أضاء للعالم طريق العلم والهداية.

و إلى أمي الفاضلة "**زهرة**"، التي كانت بدعواتها وصبرها مصدر قوة وعون لي طوال مسيرتي الدراسية.

وإلى أبي الكريم "**محمد**"، الذي كان سندًا وداعمًا لي، وغرس في نفسي قيمة الاجتهاد والمثابرة.

وإلى عائلتي الكريمة، عرفانًا لما قدموه من تشجيع ومساندة معنوية كان لها الأثر الكبير في بلوغ هذه المرحلة.

كما أهدي هذا العمل إلى صديقاتي وزميلاتي، دفعة ماستر 2026، تقديرًا لما جمعنا من تعاون وذكريات جميلة خلال سنوات الدراسة.

وإلى كل من ساهم من قريب أو بعيد في إنجاز هذا العمل، أهدي هذا الجهد المتواضع.

نجاة

# الإهداء

الحمد لله الذي وفقني وأعانني على بلوغ هذه المرحلة من مسيرتي العلمية، فله الحمد دائمًا وأبدًا.

إلى والدي العزيز ووالدتي الغالية، حفظكما الله وأدامكما تاجًا فوق رأسي.

إلى زوجي العزيز «**محمد العيد**»، سندي ورفيق دربي، شكرًا لدعمك وتشجيعك الدائم.

إلى زهرات حياتي وفلذات كبدي أبنائي الأحبة: **تقوى، سيدرا، وحسام الدين**، أنتم مصدر أملي وفرحتي.

إلى إخوتي «**فتحي وتجاني**»، وأخواتي «**حكيمة، خديجة، فاطمة الزهراء، عائشة، صارة، ووردة**»،

دمتم سندًا ومحبة.

إلى أساتذتي الأفاضل، وكل الأصدقاء والزملاء الذين ساندوني وشجعوني.

إلى كل هؤلاء، الذين بوجودهم إكتملت فرحتي، وبعونهم تذللت الصعاب، أهديكم ثمرة هذا الجهد المتواضع، فأنتم شركاء هذا النجاح.

كلثوم

# شكر وعرفان

الحمد لله الذي وفقنا لإتمام هذا العمل، وله سبحانه كل الحمد والشكر على نعمه وتوفيقه.

نتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى الأستاذ المشرف البروفيسور **نور الدين تامة** على إشرافه وتوجيهاته القيمة، كما نشكر الدكتور **عبادي عبد الرزاق** لتوليه مهام الإشراف خلال فترة غياب المشرف وتعذر حضوره للمناقشة.

ونخص بالشكر الدكتورة **عبير فوحمة** على دعمها المتواصل ومساعدتها الكبيرة لنا طوال مراحل إنجاز هذه المذكرة.

كما نتقدم بجزيل الشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة الموقرة: **البروفيسور خلف عبد الحميد** رئيسًا، والبروفيسور **وهراني محمد رضا** مناقشًا، على قبولهم مناقشة هذا العمل وإثرائه بملاحظاتهم القيمة.

ولا يفوتنا أن نشكر جميع الأساتذة الذين درسونا طوال سنوات الدراسة، والمهندس **علي طلبية** مسؤول المخبر على نصائحه وتوجيهاته، كما نشكر المخبريات: **كنزة، كريمة، حفيظة، ومنى** على مساعدتهن وتعاونهن.

وفي الأخير، نشكر كل من ساهم من قريب أو بعيد في إنجاز هذا العمل.

**الملخص**

تم تحضير أربعة مستخلصات مختلفة، ثم أجري لها الكشف النوعي ، وأظهرت النتائج احتواءها على الفينولات والفلافونويدات، كما تم استخلاص المركبات الفينولية بطريقة النقع باستعمال مزيج من 70% إيثانول و30% ماء، وتم تقدير مردود المستخلصات المتحصل عليها، حيث بلغ مردود مستخلص الفينولات للساق والأوراق 4.984%، ومستخلص الفينولات للأزهار 11.66%، ومستخلص الفينولات للبن النباتي 3.43%، في حين بلغ مردود مستخلص القلويدات للساق والأوراق 1.34%.

تم كذلك تقدير المحتوى الكلي للفينولات والفلافونويدات، حيث بلغت قيمة المحتوى الكلي للفينولات في مستخلص الفينولات للساق والأوراقmg EAG/g ext 324.45 ، بينما بلغت في مستخلص الفينولات للأزهار mg EAG/g ext 326.48 أما التقدير الكمي للفلافونويدات فقد بلغ mg EQ/g ext 19.32 في مستخلص الفينولات للساق والأوراق، وmgEQ/g ext 21.36 في مستخلص الفينولات للأزهار،

وفي اختبار الفعالية المضادة للأكسدة بإستعمال اختبار DPPH ، أظهر مستخلص الأزهار أفضل فعالية مقارنة بالمستخلصات حيث كانت قيمة $IC_{50}$ تساوي 0.228 mg/ml ،وذلك مقارنة بحمض الأسكوربيك القياسي الذي بلغ 0.033 mg/ml .

أما في إختبار الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام طريقة تمسخ البروتين، فقد سجل مستخلص العصارة اللبنية أفضل فعالية مقارنة بباقي المستخلصات حيث قدرت قيمة $IC_{50}$ ب 0.0903 mg/ml ، مقارنة بدواء الأسبرين الذي بلغت قيمة $IC_{50}$ فيه 0.0589 mg/ml .

أما بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا، فقد أظهرت المستخلصات نشاطا تثبيطيا متفاوتا تجاه السلالات البكتيرية المختبرة، حيث سجلت أعلى حساسية لدى البكتيريا موجبة الغرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام. كما بينت النتائج فعالية معتبرة لبعض المستخلصات، مما يدل على إحتواء النبات على مركبات فعالة ذات خصائص مضادة للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية** :نبات اللبين، الفينولات الكلية، الفلافونويدات الكلية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للبكتيريا.

## Abstract

Four different extracts were prepared and subjected to qualitative phytochemical screening, which revealed the presence of phenolic compounds and flavonoids. Phenolic compounds were extracted by maceration using a solvent mixture of 70% ethanol and 30% water. The extraction yields were 4.984% for the stems and leaves phenolic extract, 11.66% for the flower phenolic extract, and 3.43% for the latex phenolic extract, while the alkaloid extract from stems and leaves showed a yield of 1.34%.

The total phenolic content reached 324.45 mg GAE/g extract in the stems and leaves phenolic extract and 326.48 mg GAE/g extract in the flower phenolic extract. The total flavonoid content was 19.32 mg QE/g extract and 21.36 mg QE/g extract for the stems and leaves and flower phenolic extracts, respectively.

Antioxidant activity evaluated by the DPPH assay showed that the flower extract exhibited the highest activity, with an $IC_{50}$ value of 0.228 mg/mL, compared with 0.033 mg/mL for ascorbic acid. Anti-inflammatory activity assessed by the protein denaturation method revealed that the latex extract was the most active, with an $IC_{50}$ value of 0.0903 mg/mL, compared with 0.0589 mg/mL for aspirin.

The extracts also exhibited varying antibacterial activities against the tested bacterial strains, with Gram-positive bacteria being more susceptible than Gram-negative ones. These findings indicate that the plant contains bioactive compounds with antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties.

**Key words**: Euphorbia guyoniana, Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Antioxidant Activity, Anti-inflammatory Activity, Antibacterial Activity.

## فهرس المحتويات

**الاهداء ..... III**

**الشكر والعرفان..... V**

**الملخص ..... VI**

**فهرس المحتويات..... VIII**

**فهرس الجداول..... XIII**

**فهرس الأشكال..... XIV**

**قائمة الرموز والاختصارات..... XVI**

**الجزء النظري**

**الفصل الأول: الدراسة البيليوغرافية لنبات *Euphorbia guyoniana***

I.1. عائلة الفربيونيات:..... 5

I.1.1. الوصف العام لعائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:..... 5

I.1.2. الخصائص المورفولوجية لعائلة Euphorbiaceae:..... 5

I.1.3. التوزيع الجغرافي لعائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:..... 5

I.1.4. سمية نباتات عائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:..... 5

I.1.5. إستعمالات نباتات عائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:..... 5

I.2. جنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.2.1. الوصف العام لجنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.2.2. الخصائص المورفولوجية لجنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.2.3. التوزيع الجغرافي لجنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.2.4. سمية نباتات جنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.2.5. إستعمالات نباتات جنس الفربيون Euphorbia:..... 6

I.3. نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 7

I.3.1. التصنيف العلمي لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 7

I.3.2. الخصائص المورفولوجية لنبتة *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 7

I.3.3. التوزيع الجغرافي لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 8

I.3.4. سمية نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 9

I.3.5. إستعمالات نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:..... 9

I.4. الدراسات السابقة:..... 9

I.4.1. الدراسات السابقة لجنس الفربيون Euphorbia:..... 9

I.2.4. الدراسات سابقة لنبات Euphorbia guyoniana Boiss. & Reut: ..... 11

**الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي**

II.1. المنتجات الطبيعية:..... 17
II.1.1. منتجات الأيض الأولي (Primary Métabolites): ..... 17
II.1.2. منتجات الأيض الثانوي (Seconday Metabolites):..... 17
II.2 التربينات (Terpènes): ..... 17
II.3. الفينولات(Phénols) : ..... 18
II.3.1. تعريف الفينولات:..... 18
II.3.2. تصنيف الفينولات:..... 18
II.3.2.1. الفينولات البسيطة (Simple phénols):..... 18
II.3.2.2. الفلافونويدات (Flavonoids):..... 19
II.3.2.3. مشتقات أحماض الهيدروكسي سيناميك (Hydroxycinnamic acid derivatives):
..... 20
II.3.2.4. الشالكونات والكومارينات (Chalocones and Coumarins): ..... 21
II.3.2.5. الأحماض الفينولية (phénoliques acides):..... 21
II.3.2.6. التانينات (Tannins):..... 22
II.3.2.7. الستيلبينات (Stilbènes):..... 23
II.3.2.8. اللجنانات والنيو-لجنانات (Lignans and Neolignans):..... 23
II.2. القلويدات (Alcaloïdes):..... 24
II.2. 1. تعريف القلويدات:..... 24
II.2. 2. تصنيف القلويدات:..... 24

**الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية**

III.1. الفعالية المضادة للأكسدة:..... 27
III.1.1. مفهوم الفعالية المضادة للأكسدة: ..... 27
III.1.2. الجذور الحرة:..... 27
III.1.3. مضادات الأكسدة:..... 27
III.1.4.الأنظمة المضادة للأكسدة:..... 27
III.1.5. طرق قياس النشاط المضاد للأكسدة: ..... 27
III.2. الفعالية المضادة للإلتهاب:..... 28
III.2.1. مفهوم الإلتهاب: ..... 28

2.2.III.آليات حدوث الإلتهاب: ..... 28
3.2.III. مفهوم الفعالية المضادة للإلتهاب: ..... 29
4.2.III. مفهوم مضادات الإلتهاب: ..... 29
3.III. الفعالية المضادة للبكتيريا: ..... 29
1.3.III. تعريف البكتيريا: ..... 29
2.3.III. خصائص البكتيريا: ..... 29
3.3.III. دور البكتيريا: ..... 30
4.3.III. بنية البكتيريا: ..... 30
5.3.III. تصنيف البكتيريا: ..... 32
6.3.III. مفهوم الفعالية المضادة للبكتيريا: ..... 33
7.3.III. طرق قياس الفعالية المضادة للبكتيريا: ..... 33
8.3.III. السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة: ..... 33
1.8.3.III. المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus): ..... 33
2.8.3.III. بكتيريا الزائفة الزنجاريةPseudomonas aeruginosa: ..... 34

**الجزء العملي**

**الفصل الرابع: الوسائل والطرق المستعملة**

1.IV. جني العينات: ..... 38
2.IV. تجفيف العينات: ..... 38
3.IV. المواد والأدوات والأجهزة الستعملة: ..... 39
4.IV. الكشف الكيميائي للمستخلصات: ..... 40
1.4.IV. الكشف عن الفينولات والفلافونويدات: ..... 40
1.1.4.IV. الكشف عن الفينولات: ..... 40
2.1.4.IV. الكشف عن الفلافونويدات: ..... 40
5.IV. إستخلاص المنتجات الفعالة: ..... 40
1.5.IV. تعريف الإستخلاص: ..... 40
2.5.IV. الإستخلاص (صلب-سائل): ..... 40
3.5.IV. إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *Euphorbia guyoniana*: ..... 41
4.5.IV. إستخلاص أملاح القلويدات من نبات *Euphorbia guyoniana*: ..... 43
5.5.IV. تقدير مردود الإستخلاص: ..... 46
6.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة الأشعة UV-Visible: ..... 46

1.6.IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك Acide Gallique:..... 46
2.6.IV. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:..... 46
7.IV. التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدية TFC:..... 47
1.7.IV. المنحنى القياسي للكرستين Quercetine:..... 47
2.7.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:..... 47
8.IV. الفعالية البيولوجية للمستخلصات:..... 48
1.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإستخدام DPPH•:..... 48
1.1.8.IV. تعريف إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•:..... 48
2.1.8.IV. تحضير محلول ال DPPH:..... 48
3.1.8.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:..... 48
4.1.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ب DPPH• للمستخلصات:..... 49
5.1.8.IV. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH•:..... 49
2.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام إختبار تمسخ البروتين:..... 49
1.2.8.IV. تعريف إختبار الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام إختبار تمسخ البروتين:..... 49
2.2.8.IV. المنحنى القياسي للأسبرين:..... 49
3.2.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب باستخدام طريقة تمسخ البروتين:..... 50
4.2.8.IV. حساب نسبة تثبيط تمسخ البروتين:..... 50
3.8.IV. الفعالية المضادة للبكتيريا:..... 50
1.3.8.IV. طريقة العمل:..... 50

**الفصل الخامس: النتائج والمناقشة**

1.V. نتائج الكشف الكيميائي:..... 53
2.V. مردود الإستخلاص:..... 55
3.V. التقدير الكمي للمستخلصات:..... 56
1.3.V. التقدير الكمي للمركبات الفينولية TPC بواسطة UV-Vis:..... 56
2.3.V. التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدية TFC بواسطة UV-Vis:..... 59
4.V. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:..... 62
5.V. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام طريقة تمسخ البروتين:..... 66
6.V. تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:..... 69

**الخلاصة العامة:..... 75**
**قائمة المراجع..... 77**

الملاحق..... 91

## فهرس الجداول


الجدول (1.I): التصنيف العلمي لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut . ..... 7

الجدول (1.II): البنية الكيميائية الأساسية لأصناف الفلافونويدات ..... 20

الجدول(1.IV): المواد والأدوات والأجهزة المستعملة:..... 39

الجدول (1.V): مردود الإستخلاص للمستخلصات المدروسة..... 55

الجدول (2.V): يمثل نتائج الإمتصاصية A لحمض الغاليك بدلالة التركيزC..... 56

الجدول (3.V): قيم الإمتصاصية وتركيز وكمية الفينولات الكلية للمستخلصات..... 57

الجدول (4.V): يمثل نتائج الإمتصاصية A للكرستين بدلالة التركيزC..... 60

التقدير الكمي للفلافونويدات TFC:..... 60

الجدول (5.V): قيم الإمتصاصية وتركيز وكمية الفلافونويدات الكلية للمستخلصات..... 60

الجدول (6.V): نتائج الإمتصاصية لحمض الأسكوربيك..... 62

الجدول (7.V): نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات..... 62

الجدول (8.V): قيم $IC_{50}$ لتثبيط الجذر الحر DPPH• للمستخلصات وحمض الأسكوربيك. ..... 65

الجدول (9.V) : نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات E1 ..... 66

الجدول(10.V): قيم $IC_{50}$ لتثبيط تمسخ البروتين للمستخلصات والأسبرين.....69

الجدول (11.V): معدلات أقطار التثبيط للبكتيريا في مستخلص E1..... 70

الجدول (12.V): معدلات أقطار التثبيط للبكتيريا في مستخلص E2..... 72

## فهرس الأشكال


الشكل (1.I): صورة ملتقطة توضح الجزء الهوائي لنبات *E. guyoniana* ..... 8

الشكل (2.I): صورة توضح زهرة نبات *E. guyoniana* ..... 8

الشكل(3.I): صورة توضح التوزيع الجغرافي لنبات *E. guyoniana* ..... 9

الشكل (1.II): الهيكل الأساسي لوحدة الإيزوبرين..... 18

الشكل (2.II): الهيكل الأساسي للفينولات البسيطة..... 19

الشكل (3.II): الهيكل الأساسي للفلافونويدات..... 19

الشكل (4.II): الهيكل الأساسي لمشتقات أحماض الهيدروكسي سينناميك..... 21

الشكل (5.II): الهيكل الأساسي لوحدة الشالكونات..... 21

الشكل (6.II): الهيكل الأساسي لوحدة الكومارين..... 21

الشكل (7.II): الهيكل الأساسي لأحماض الهيدروكسي بنزويك..... 22

الشكل (8.II): الهيكل الأساسي للتانينات القابلة للتحلل..... 22

الشكل (9.II): الهيكل الأساسي للتانينات المكثفة..... 23

الشكل (10.II): الهيكل الأساسي للستيلبينات ..... 23

الشكل (11.II): الهيكل الأساسي للجنانات والنيولجنانات..... 24

الشكل (12.II): مخطط تصنيف المركبات القلويدية ..... 25

الشكل (1.III): صورة تمثل التركيب النموذجي للخلية البكتيرية ..... 31

الشكل (2.III): مخطط تصنيف البكتيريا..... 32

الشكل (3.III): بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ..... 34

الشكل(4.III): بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*..... 35

الشكل (1.IV): مراحل إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *E. guyoniana*..... 42

الشكل (2.IV): مخطط يوضح مراحل إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *E.guyoniana*..... 43

الشكل (3.IV): مراحل إستخلاص أملاح القلويدات لنبات *E.guyoniana*..... 45

الشكل (4.IV): مخطط يوضح مراحل إستخلاص أملاح القلويدات لنبات *E.guyoniana*..... 45

الشكل (5.IV): آلية تشكيل المعقد الأصفر ..... 47

الشكل (6.IV): آلية إختزال الجذر الحر DPPH• بواسطة مضادات الأكسدة ..... 48

الشكل (7.IV): صور توضح طريقة العمل لتقدير الفعالية المضادة للبكتيريا..... 51

الشكل (1. V): نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفينولات في المستخلص E1..... 53

الشكل (2. V): نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفلافونويدات في المستخلص E1..... 53

الشكل (3. V): نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفينولات في المستخلص E2..... 54

الشكل (V .4): نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفلافونويدات في المستخلص E2 ..... 54
الشكل (V .5): أعمدة بيانية تمثيل قيم مردود المستخلصات المدروسة لنبات *E. guyoniana* ..... 55
الشكل (V .6): المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلصات..... 57
الشكل (V .7): أعمدة بيانية تمثل التقدير الكمي للفينولات الموجودة في المستخلصين E1و E2 ..... 59
الشكل (V .8): المنحنى العياري القياسي للكرستين لتقدير الفلافونويدات في المستخلصين E1و E2 .. 59
الشكل (V .9): أعمدة بيانية تمثل التقدير الكمي للفلافونويدات الموجودة في المستخلصين E1وE2.... 61
الشكل (V .10): المنحنى القياسي لنسبة تثبيط الجذر الحر •DPPH لحمض الأسكوربيك..... 62
الشكل (V .11): منحنى تثبيط الجذر الحر ·DPPH بدلالة تركيز المستخلص E1..... 63
الشكل (V .12): منحنى تثبيط الجذر الحر ·DPPH بدلالة تركيز المستخلص E2..... 64
الشكل (V .13): منحنى تثبيط الجذر الحر ·DPPH بدلالة تركيز المستخلص E3..... 64
الشكل (V .14): أعمدة بيانية تمثل قيم $IC_{50}$ للمستخلصات ..... 66
الشكل (V .15): منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلصE1..... 67
الشكل (V .16): منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E2..... 67
الشكل (V .17): منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E3..... 68
الشكل (V .18): منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E4 ..... 68
الشكل (V .19): أعمدة بيانية تمثل قيم $IC_{50}$ للمستخلصات ..... 69
الشكل (V .20): صورة تمثل نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص E1..... 70
الشكل (V .21): صورة تمثل نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص E2..... 72

## قائمة الرموز والاختصارات

| الرمز | بالعربية | بالإنجليزية |
|---|---|---|
| *E. guyoniana* | يوفوربيا غيونيانا | *Euphorbia guyoniana* |
| E1 | مستخلص الفينولات للساق والأوراق | Extrait phénolique des tiges et feuilles |
| E2 | مستخلص الفينولات للأزهار | Extrait phénolique des fleurs |
| E3 | مستخلص الفينولات للعصارة اللبنية | Extrait phénolique du latex |
| E4 | مستخلص القلويدات للساق والأوراق | Extrait alcaloïdique des tiges et feuilles |
| AG | حمض الغاليك | Acide Gallique |
| Q | الكيرسيتين | Quercétine |
| AA | حمض الأسكوربيك | Acide Ascorbique |
| UV-Visible | طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية | Spectrophotomètre ultraviolet et visible |
| DPPH | 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل | 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl |
| I% | نسبة التثبيط | Pourcentage d'inhibition |
| $IC_{50}$ | التركيز الازم لتثبيط 50٪ من الجذور الحرة | Concentration inhibitrice à 50% des radicaux libres |
| St. a | المكورات العنقودية الذهبية | *Staphylococcus aureus* |
| Ps. A | الزائفة الزنجارية | *Pseudomonas aeruginosa* |
| TPC | التقدير الكمي للفينولات | Quantification of Total Phenolics |
| TFC | التقدير الكمي للفلافونويدات | Quantification of Total Flavonoids |

| | | |
|---|---|---|
| Reactive Oxygen Species | أنواع الأكسيجينية التفاعلية | ROS |
| Reactive Nitrogen Species | أنواع النيتروجين التفاعلية | RNS |

# المقدمة العامة

**المقدمة العامة:**

تعد النباتات الطبية من أهم المصادر الطبيعية التي اعتمد عليها الإنسان منذ القدم في علاج العديد من الأمراض[1]، حيث استخدمت في الطب التقليدي والشعبي قبل تطور الصناعات الدوائية الحديثة، ولا تزال تحتل مكانة هامة في المجال الصحي والبحث العلمي بفضل غناها بالمركبات الفعالة ذات التأثيرات البيولوجية المختلفة [2,1].

وقد ازداد الإهتمام بالنباتات الطبية والعطرية في السنوات الأخيرة نتيجة التوجه نحو استعمال المنتجات الطبيعية الأكثر توافقا مع جسم الإنسان مقارنة ببعض المركبات الكيميائية المصنعة، إضافة إلى دورها الكبير في اكتشاف وتطوير العديد من الأدوية الحديثة [2] .

تحتوي النباتات على طيف واسع من المنتجات الثانوية كالفلافونويدات، القلويدات، التربينات، التانينات، والصابونينات، وهي مركبات مسؤولة عن العديد من الفعاليات البيولوجية كالنشاط المضاد للأكسدة، والمضاد للبكتيريا، والمضاد للإلتهابات، إضافة إلى فعاليات علاجية أخرى [3,1].

ويعتمد استغلال النباتات الطبية على مراحل عديدة أساسية تبدأ بجمع المادة النباتية وتجفيفها ثم استخلاص المركبات الفعالة بإستعمال تقنيات مختلفة تعتمد على طبيعة المادة النباتية ونوع المركبات المراد عزلها، وتُعد عملية الاستخلاص من أهم الخطوات التي تسمح بالحصول على مستخلصات غنية بالمواد الفعالة القابلة للدراسة والتحليل[4] .

كما ساهم التطور الكبير في مجالات الكيمياء النباتية وتقنيات التحليل الحديثة في التعرف على التركيب الكيميائي للنباتات وتقييم خصائصها البيولوجية والدوائية بدقة أكبر، ممّا فتح المجال أمام إستغلالها في الصناعات الصيدلانية والتجميلية والغذائية [5] .

وإنطلاقا من الأهمية المتزايدة للنباتات الطبية، تهدف هذه الدراسة إلى إستخلاص المركبات الفعالة من نبات *Euphorbia guyoniana* وتقييم بعض خصائصه البيولوجية، قصد تثمين موارده الطبيعية وإبراز قيمته العلاجية المحتملة، وعلى هذا الأساس قسمنا دراستنا إلى جزئين :

**- جزء نظري وجزء عملي**

**- الجزء النظري**: يتضمن ثلاث فصول :

**الفصل الأول:** فيه دراسة عامة عن عائلة Euphorbiaceae وجنس Euphorbia ونوع *Euphorbia guyoniana* ، تحدثنا عن وصفهم العام وخصائصهم المورفولوجية وتوزيعهم الجغرافي

واستعمالاتهم ومدى سميتهم وبعض الدراسات السابقة عن جنس Euphorbia ونبتة *Euphorbia guyoniana*.

**الفصل الثاني**: تضمّن معلومات حول المنتجات الطبيعية، مع التركيز بصفة خاصة على نواتج الأيض الثانوي، والمتمثلة في التربينات والفينولات والقلويدات.

**الفصل الثالث**: تضمّن مختلف الأنشطة البيولوجية المدروسة للنبتة، والمتمثلة في الفعالية المضادة للأكسدة، والفعالية المضادة للإلتهاب، والفعالية المضادة للبكتيريا.

**الجزء العملي**: تمثل هذا الجزء في إجراء دراسة تطبيقية شملت في البداية الكشف الأولي عن وجود المركبات الفينولية والفلافونويدية في النبات المدروس، ثم تحضير المستخلصات الفينولية والمستخلص القلويدي باستعمال طرق استخلاص مناسبة، كما تضمن التقدير الكمي لكل من المركبات الفينولية الكلية والفلافونويدات باستعمال طريقة UV-Vis، إضافة إلى تقييم بعض الأنشطة البيولوجية لهذه المستخلصات، والمتمثلة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام طريقة DPPH، والفعالية المضادة للإلتهاب باستخدام طريقة تمسخ البروتين، إضافة إلى الفعالية المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة الإنتشار بالأقراص

# الجزء النظري

# الفصل الأول: الدراسة البيليوغرافية لنبات *Euphorbia guyoniana*

## I.1. عائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:

### I.1.1. الوصف العام لعائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:

تعد عائلة الفربيونيات رابع أكبر فصيلة من النباتات المزهرة، إذ تضم خمس تحت عائلات [6]، وقد اختلف الباحثون في تقدير عدد أجناسها وأنواعها، حيث تتراوح التقديرات بين 266 و317 جنسا، ومن 7000 إلى 8700 نوعا، ويعكس هذا الاختلاف التحديثات المستمرة في التصنيف النباتي. تتمثل نباتاتها في أشجار وشجيرات وأعشاب، كما تتميز بثرائها الكيميائي وتنوع أنشطتها البيولوجية [6-11].

### I.1.2. الخصائص المورفولوجية لعائلة Euphorbiaceae:

تكون أوراقها متبادلة أو متقابلة أحيانا، بسيطة أو مركبة [9]، وعروقها كفية أو ريشية [10]. أزهارها صغيرة ووحيدة الجنس [7-11]، ومتناظرة شعاعيا [10]، أما غلافها الزهري فقد يكون متطورا أو مختزلا أو غائبا [12]، وغالبا ما تتجمع الأزهار في عناقيد [9]. تكون النورة محدودة عادة ومحتشدة ولها أشكال متعددة [7]، أما ثمارها فهي ثلاثية الفصوص [11]، وتحتوي بذورها عادة على هالة زيتية أو غلاف مميز [8]، وتكون الثمار على شكل كبسولات متشققة [10]. كما تحتوي أغلب أنواعها على عصارة لبنية [10][9][12].

### I.1.3. التوزيع الجغرافي لعائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:

تنتشر نباتات عائلة الفربيونيات بكثرة في مناطق العرق [13]، والصحاري والغابات المطيرة، كما تتواجد في المناطق المعتدلة والاستوائية [8][14][15] وشبه الاستوائية [10]، ويزرع بعضها غالبا في المناخ المعتدل [16]، كما تستعمل بعض أنواعها لأغراض الزينة [17].

### I.1.4. سمية نباتات عائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:

تسبب نباتات عائلة الفربيونيات التهابات جلدية [17][18]، كما يمكن أن تؤدي إلى التسمم عند ملامستها أو ابتلاعها أو امتصاصها، وقد سُجلت أعراض تسمم لدى الحيوانات الرعوية نتيجة تناولها لهذه النباتات [19]. وتختلف درجة السمية حسب النوع، إذ يكون اللب في بعض الأنواع ساما وحارقا جدا، بينما تكون بعض الأنواع الأخرى أقل سمية [11].

### I.1.5. إستعمالات نباتات عائلة الفربيونيات Euphorbiaceae:

تستعمل نباتات عائلة الفربيونيات في الطب الشعبي والمحلي، إذ تدخل في بعض الوصفات العلاجية المتوارثة بين السكان [8]، كما تستخدم في إنتاج المطاط [6][7][11]. وتزرع بعض أنواعها لأغراض الزينة بفضل شكلها المميز وقدرتها على التكيف مع مختلف الظروف البيئية [8]، إضافة إلى كونها مصدرا للشمع النباتي [11].

## I.2. جنس الفربيون Euphorbia:

### I.2.1. الوصف العام لجنس الفربيون Euphorbia:

تعود تسمية Euphorbia إلى الجراح Euphorbus الذي كان يعمل لدى الملك يوبا الثاني [11]، ويعد جنس الفربيون Euphorbia من أكبر الأجناس النباتية التابعة لعائلة الفربيونيات Euphorbiaceae [20]، حيث يصنف كثالث أكبر جنس من النباتات المزهرة [21]. ويضم ما بين 2000 و2420 نوعا [11][22][23]، ويعود هذا الاختلاف إلى التحديثات المستمرة في التصنيف النباتي وإكتشاف أنواع جديدة، إذ لا يزال علماء النبات يعملون على إعادة تنظيم وتصنيف هذا الجنس [6].

### I.2.2. الخصائص المورفولوجية لجنس الفربيون Euphorbia:

تتنوع نباتات جنس الفربيون Euphorbia من نباتات منبطحة على سطح الأرض إلى أشجار طويلة كثيرة التفرع [14][24]، وتتميز بعض أنواعها بأشكال كروية تساعد على تقليل فقدان الماء، في حين تكون أنواع أخرى مدفونة جزئيا في التربة للحماية من الحرارة [20]. كما تتدرج ألوانها من الأخضر الداكن أو الفضي المزرق إلى الأخضر الفاتح [23]، وتكون أزهارها مختزلة جدا، أما ثمارها فهي علبة، والبذور قد تكون مزودة أوغير مزودة بكارنكول (caruncle) وغالبا ما تكون مزخرفة [11]، ويعد وجود العصارة اللبنية السامة من أهم خصائص هذا الجنس، وغيابها يدل غالبا على أن النبات لا ينتمي إليه [23].

### I.2.3. التوزيع الجغرافي لجنس الفربيون Euphorbia:

يوجد تنوع كبير في أماكن انتشاره إذ ينتشر في المناطق الدافئة [12][22][25]، ويتواجد بكثرة في المناطق الإستوائية وشبه الإستوائية ، خاصة في إفريقيا ومدغشقر ، وأغلبها يتحمل ظروفا قاسية وتتميز بقدرتها على الإنتشارو التجذر بسهولة [20].

### I.2.4. سمية نباتات جنس الفربيون Euphorbia:

تعد العصارة اللبنية (اللب) التي تحتويها نباتات هذا الجنس سامة ومهيجة للجلد [17][18][25] ويمكن أن تؤدي أيضا إلى ظهور بثور جلدية تستمر لعدة أيام، ويزداد تأثيرها عند التعرض لأشعة الشمس، كما تزداد الحساسية مع التكرار [23].

### I.2.5. إستعمالات نباتات جنس الفربيون Euphorbia:

يحظى جنس الفربيون بأهمية كبيرة في مجالي علم العقاقير (Pharmacognosy) والكيمياء النباتية (Phytochemistry)، حيث يستخدم في البحث عن مركبات جديدة ذات نشاط بيولوجي [24]، كما يدخل في الطب الشعبي والمحلي نظرا لغناه بالمركبات الفينولية والتربينات [25]، ويستعمل تقليديا في علاج الإلتهابات [22][26]. إضافة إلى ذلك، يعد هذا الجنس نموذجا مهما لدراسة التكيف النباتي مع البيئات القاسية، إذ يمتلك آليات بقاء تساعده على تحمل الظروف الصعبة [20].

## I.3. نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:

### I.3.1. التصنيف العلمي لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:

يمكن توضيح التصنيف النباتي لـ *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut في الجدول (I.1)

**الجدول (I.1)**: التصنيف العلمي لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut [27].

| المملكة (kingdom) | Plantae (النبات) |
|---|---|
| القسم Division | Tracheophyta |
| الشعبية (Subphylum) | Spermatophytina |
| الطائفة (Class) | Magnoliopsida |
| الرتبة (Order) | Malpighiales |
| الفصيلة (Family) | Euphorbiaceae |
| الجنس (Genus) | Euphorbia |
| النوع (Species) | *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut. |

### I.3.2. الخصائص المورفولوجية لنبتة *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:

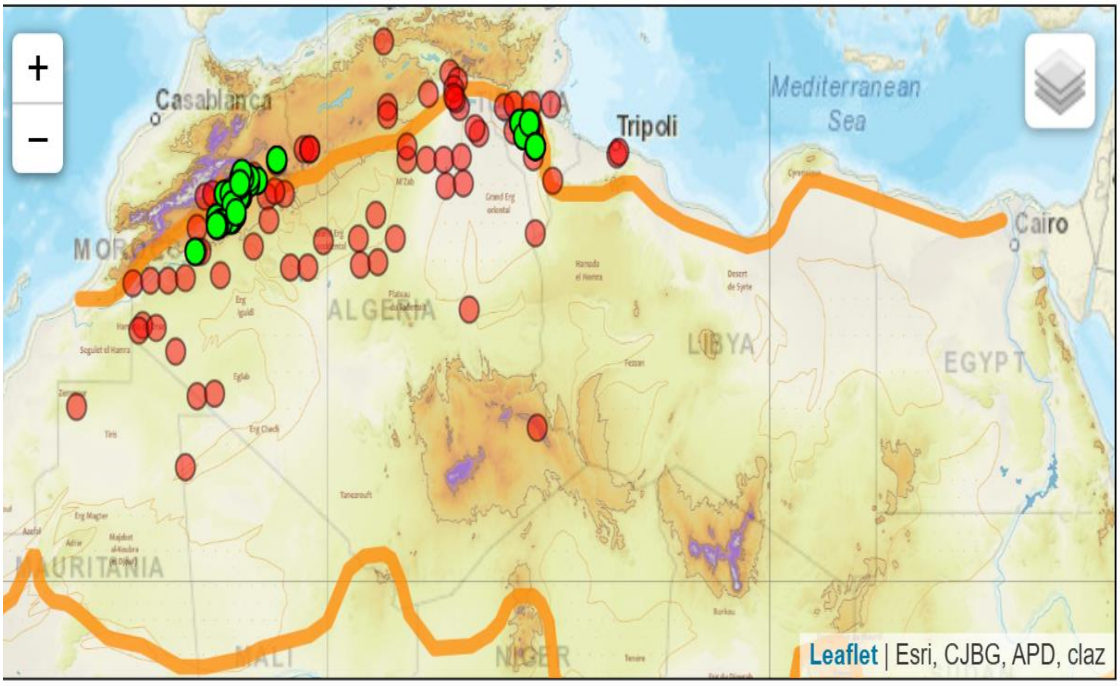
يصنف نبات *E. guyoniana* ضمن النباتات المعمرة، إذ يمكن أن يصل إرتفاعه إلى حوالي متر واحد، ويتميز بسيقان قائمة كثيرة التفرع وأوراق ضيقة الشكل [14][26][28]. تتميز أزهاره بصغر حجمها ولونها الأصفر، تكون متجمعة ضمن نورات كأسية تُعرف باسم السياثيا (cyathia) تحيط بها تراكيب غلافية ملونة غالبا ما تكون صفراء اللون [29]، بذوره مزودة بكارنكول (Caruncle)، ذات أربع إلى خمسة أضلاع سميكة [14]، يبدأ النبات بالإزهار خلال شهري يناير وفبراير، وتفرز سيقانه مادة لبنية عند تعرضها للكسر أو قطف أزهاره [26].

**الشكل (1.I):** صورة ملتقطة توضح الجزء الهوائي لنبات *E. guyoniana*

**الشكل (2.I):** صورة توضح زهرة نبات *E. guyoniana* [28].

### I.3.3. التوزيع الجغرافي لنبات ***Euphorbia guyoniana*** **Boiss & Reut:**

ينمو بشكل منفرد أو في مجموعات صغيرة على التربة والكثبان الرملية [14] [26] وينمو بشكل أساسي في الصحراء الشمالية لقارة إفريقيا [21] [24].




**الشكل(3.I):** صورة توضح التوزيع الجغرافي لنبات *E. guyoniana* [26]

### 4.3.I. سمية نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:

نظرًا لإنتماء نبات *E.guyoniana* إلى عائلة Euphorbiaceae وجنس Euphorbia، فإنه يعد من النباتات السامة، إذ قد يسبب تهيجا وإلتهابات جلدية، كما يعرف بتأثيره المهيج للجلد والعين [18][19]، وقد أظهرت مركبات التربينات الثنائية المسماة ب Guyonianins E وF نشاطا ساما خلويا ضد خلايا HK293 ب $IC_{50}$ بين 35 µmol إلى 100 µmol، فهذا يعني أن التربينات الثنائية لها صلة كبيرة بالسمية والأنشطة البيولوجية [30].

### 5.3.I. إستعمالات نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss & Reut:

يستعمل في الطب الشعبي الجزائري، نظرًا لخصائصه العلاجية المتعددة لعلاج لدغات العقارب السامة كما يعرف أيضا بفعاليته ضد الثآليل الجلدية [31]، كما يستعمل لعلاج لدغات الأفاعي [32]، ويمتلك الكثير من الخصائص البيولوجية، أهمها الفعالية المضادة للأكسدة الفعالية المضادة للبكتيريا والفعالية المضادة للإلتهاب [32][33]، وقد أظهرت عدة دراسات عزل العديد من المركبات الفعالة المسؤولة عن هذه الخصائص البيولوجية [32].

## 4.I. الدراسات السابقة:

### 1.4.I. الدراسات السابقة لجنس الفربيون Euphorbia:

تُظهر الدراسات السابقة إهتماما متزايدا بالكشف عن المكونات الكيميائية الثانوية لنباتات جنس Euphorbia، نظرا لأهميتها البيولوجية والطبية.

- فقد بينت دراسة حديثة لـ Jayalakshmi وآخرين (2021)، الأهمية الدوائية لنبات *Euphorbia cotinifolia* وذلك بتحليل مكوناته الكيميائية وتقييم نشاطه المضاد للبكتيريا، حيث تم إستخلاص المركبات الثانوية بإستخدام مذيبات متدرجة القطبية، حيث أظهر التحليل الفيتوكيميائي وجود التربينويدات والفلافونويدات والتانينات والستروليلات، كما تم عزل مركب ثنائي تربين جديد وتحديد بنيته بإستخدام تقنيات التحليل الطيفي، كما أظهرت المستخلصات خاصة مستخلص أسيتات الايثيل ومستخلص الميثانول، نشاطا مثبطا ضد عدة سلالات بكتيرية مثل *Escherichia coli* و*Staphylococcus aureus*، وخلصت الدراسة إلى أن هذا النشاط يرتبط بوجود المركبات الفينولية وثنائي التربينويدات، مما يدعم القيمة الدوائية لنباتات جنس Euphorbia [34].

- أكدت دراسة Elagdi وآخرين (2023) الفعالية البيولوجية لنوعي *Euphorbia resinifera* و*Euphorbia echinus*، من خلال تقدير محتواهما من المركبات الفينولية وتقييم نشاطهما المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا، حيث أظهرت النتائج أن المستخلصات الميثانولية غنية بالفينولات والفلافونويدات، وسجلت قدرة عالية على تثبيط الجذورالحرة، كما بينت الإختبارات البكتيرية نشاطا مثبطا واضحا ضد البكتيريا موجبة الغرام مثل *Staphylococcus aureus*، في حين لم يظهر تأثير ملحوظ على *Escherichia coli*، وخلصت الدراسة إلى وجود علاقة إرتباط بين المحتوى الفينولي والأنشطة البيولوجية المسجلة، ممّا يدعم الاستخدام التقليدي لهذه الأنواع في الطب الشعبي[35].

- أظهرت دراسة Benjamaa وآخرين (2024) الفعالية البيولوجية لمستخلصات نوعي *Euphorbia resinifera* و*Euphorbia echinus*، من خلال تقييم محتواها من المركبات الفينولية ونشاطها المضاد للأكسدة والإلتهاب والبكتيريا، حيث أظهرت النتائج أن مستخلصات *E.resinifera* ، إحتوت على تركيزات أعلى من الفينولات والفلافونويدات مقارنة بالنوع الآخر، وسجلت نشاطا قويا في اختبارات DPPH وABTS وFRAP، كما بينت التجارب الحيوانية قدرة المستخلصات على تقليل الإلتهاب، إضافة إلى نشاط مثبط ملحوظ ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* وتشير الدراسة إلى أن هذه الأنشطة ترتبط أساسا بإرتفاع محتوى المركبات الفينولية، مما يعزز القيمة الدوائية لنباتات جنس Euphorbia [36] .

- أشارت دراسة Jaouadi وآخرون (2022) إلى أن نبات *Euphorbia helioscopia*، يتميز بغناه بالمركبات الفينولية والفلافونويدات التي تختلف كميتها بإختلاف الأجزاء النباتية، حيث سُجلت أعلى نسبة من الفينولات في الأوراق وأعلى محتوى من الفلافونويدات في الأزهار، وكذلك بينت النتائج أن المستخلصات المائية لهذه النبتة تمتلك نشاطا مضادا للأكسدة ملحوظا، خاصة في الأوراق، إضافة إلى فعالية مبيد للحشرات ضد Tribolium castaneum، كما أظهرت المستخلصات الزهرية قدرة أعلى

في إحداث السمية، وهذا ما يعزز من أهمية هذا الجنس كمصدر طبيعي لمركبات ذات تطبيقات دوائية وزراعية [37].

- أظهرت دراسة Waheed وآخرون (2025)، أن مستخلصات أوراق *Euphorbia Hitra* تحتوي على مجموعة من المركبات الثانوية مثل الفينولات والفلافونويدات والصابونيات والستيرويدات، مع تفوق المستخلص الميثانولي في محتواه من المركبات الفينولية، كما بينت النتائج إمتلاك هذا المستخلص نشاطًا مضادًا للأكسدة مرتفعا، حيث بلغت نسبة تثبيط الجذور الحرة 84.7% عند تركيز 100 µg/mL إضافة إلى ذلك أظهرت الدراسة فعالية مضادة لمرض السكري من خلال تثبيط إنزيم glucose-6-phosphatase بنسبة ملحوظة وهذا ما يشير إلى إمكانية إستخدام هذا النبات كمصدر طبيعي لمركبات علاجية واعدة [38].
- قام Wadankar وآخرون (2022) بإجراء تحليل فيتو كيميائي لنباتي *Euphorbia heterophylla* و*Euphorbia rothiana* ، وذلك بإستعمال مستخلصات مائية وعضوية (الأسيتون والميثانول) وأظهرت النتائج وجود مركبات فينولية وتانينات وغليكوزيدات في جميع المستخلصات، إضافة إلى الفلافونويدات التي تم الكشف عنها خصوصا في المستخلصات المائية والميثانولية، بينما لوحظ غياب الأحماض الأمينية في معظم الحالات، كما بينت الدراسة أن وجود التربينات كان محدودا وظهر فقط في سيقان *Euphorbia heterophylla*، وتشير هذه النتائج إلى أن اختيار المذيب يلعب دورا حاسما في كفاءة استخلاص المركبات الحيوية، كما تؤكد على غنى هذا الجنس النباتي بمركبات ثانوية ذات أهمية دوائية جيدة [39].

### I.2.4. الدراسات سابقة لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut:

أظهرت الدراسات السابقة اهتماما متزايدا بالكشف عن المكونات الكيميائية الثانوية ودراسة الفعالية البيولوجية لنبات *E. guyoniana*.

- ففي دراسة قام بها Otmani وآخرون في(2022)، تم فيها دراسة التحليل الكيميائي النباتي والتأثير الأليلوباثي لمستخلص أوراق نبات *E. guyoniana*، حيث تم استخلاص المركبات باستخدام محلول مائي-ميثانولي ثم إجراء الفحص الكيميائي النوعي والكمّي، أظهرت النتائج وجود عدة مركبات ثانوية مثل الفلافونويدات، الانثوسيانينات، الفينولات، التانينات، الصابونينات، الستيرويدات، السابونينات، الكينونات الحرة، الستيرولات والتربينات، كما بيّنت الدراسة أن مستخلص الأوراق يمتلك تأثيرا أليلوباثيا واضحا، أدى إلى تثبيط إنبات ونمو بعض النباتات العشبية، خاصة عند التراكيز المرتفعة، ويرجع هذا التأثير إلى المركبات الفينولية والمواد الأليلوباثية التي تؤثر على العمليات الفسيولوجية للنبات مثل امتصاص العناصروانقسام الخلايا، وأشارت الدراسة إلى إمكانية إستخدام النبات كمبيد أعشاب حيوي طبيعي [29].

- قام Issaadi وآخرون (2025) بدراسة هدفت إلى تحسين استخلاص المركبات الفينولية من نبات *E.guyoniana*، باستخدام تقنية الاستخلاص بالموجات الصوتية الدقيقة (MAE) ، حيث أظهرت النتائج أن الظروف المثلى للاستخلاص (25 دقيقة، 40.57% إيثانول، 450 واط، ونسبة 1:17.5) سمحت بالحصول على محتوى مرتفع جدًا من الفينولات (377.22 mg GAE/g) والفلافونويدات ( 184.40mg QE/g)، كما بيّن المستخلص نشاطًا مضادًا للإلتهاب قويا في التجارب الحيوية بنسبة تثبيط بلغت 79.37%، متفوقًا على دواء ibuprofen، إضافة إلى ذلك، تم تحديد عدة مركبات فينولية لأول مرة في هذا النبات مثل hydroxycinnamates ومشتقات quercetin وkaempferol، ممّا يبرز أهميته الكيميائية والدوائية [33].

- في دراسة لـ Mohamed-Elamir F. Hegazy وآخرين (2010)، تم تحليل المكونات الكيميائية للأجزاء الهوائية لنبات *E. guyoniana*، حيث أدى الفصل الكروماتوغرافي لمستخلص ثنائي كلورو الميثان/الميثانول إلى عزل مركبين جديدين من diterpenes الجاتروفان وإسمهما guyonianins E وF، بالإضافة إلى مركب معروف سابقا. وتم تحديد البنية الكيميائية لهذه المركبات باستخدام تقنيات طيفية متقدمة شملت NMR بتقنيات DEPT و COSY وHMQC وHMBC وNOESY، إضافة إلى مطيافية الكتلة عالية الدقة HRMS. كما أظهرت المركبات المعزولة نشاطا سميا خلويا تجاه خلايا HEK293 بقيم $IC_{50}$ تراوحت بين 35 µg/mL و100 µg/mL ، مما يشير إلى الأهمية البيولوجية لمركبات الجاتروفان في هذا النبات[40].

- تناولت دراسة Smara وآخرين (2014) تحليل المركبات الفلافونويدية في نبات *E.* guyoniana، حيث هدفت إلى عزل وتحديد هذه المركبات بإستخدام تقنيات تحليل كيميائي متقدمة، اعتمد الباحثون على إستخلاص المكونات الفعالة من النبات ثم توصيفها بنيويا، ممّا أتاح الكشف عن وجود فلافونويدات ذات أهمية بيولوجية. وأظهرت النتائج أن هذه المركبات قد تساهم في الخصائص الدوائية للنبات، خاصة من حيث نشاطها المضاد للأكسدة. وتؤكد هذه الدراسة على القيمة العلمية والكيميائية لهذا النوع النباتي، مما يدعم إمكانية توظيفه في مجالات البحث الصيدلاني وتطوير المنتجات الطبيعية [41].

- دراسة Kemassi وآخرين (2015)، اعتمدت على تقييم الفعالية اليرقية للمستخلص المائي لنبات *E.guyoniana* ضد يرقات البعوض Culex pipiens، حيث هدفت إلى تحديد مدى سمّية هذا المستخلص، واعتماده كبديل حيوي للمبيدات الكيميائية، إعتمدت الدراسة على منهج تجريبي تمثل في تعريض يرقات الطور الثالث لتراكيز مختلفة من المستخلص، ومتابعة نسب الوفيات عبر الزمن، مع حساب مؤشرات السمية مثل $CE_{50}$ و$CE_{90}$، وأظهرت النتائج فعالية عالية للمستخلص، حيث بلغت نسبة الوفيات% 100عند التراكيز المرتفعة، بينما سجلت نسب معتبرة حتى عند التراكيز المنخفضة،

مع قيم منخفضة للجرعات الفعالة، ممّا يدل على قوة تأثيره، وتؤكد هذه النتائج الإمكانات الكبيرة لهذا النبات كمصدر طبيعي قوي في مكافحة الحشرات [42].

- تناولت دراسة Lila وآخرون (2022) تأثير المستخلص المائي لنبات *E. guyoniana* على ذبابة Drosophila melanogaster، حيث أظهرت النتائج فعالية سامة تعتمد على التركيز و زمن التعرض، مع تسجيل نسب وفيات مرتفعة وصلت إلى أكثر من 95% ، كما تبين أن المستخلص يؤثر سلبا على تطور الحشرة، إذ يمنع جزءا من اليرقات من بلوغ الطور البالغ، وكذلك لوحظ اضطراب في السلوك الجنسي، ممّا يعكس تأثيرا بيولوجيا واسعا لهذا النبات، وتؤكد الدراسة إمكانية استخدامه كمبيد حيوي صديق للبيئة [43].

- تناولت دراسة Boumaza وآخرون (2018)، تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص المائي لنبات *Euphorbia guyoniana*، حيث أظهرت النتائج احتواءه على مركبات فلافونويدية نشطة مسؤولة عن الفعالية الحيوية، وقد بيّن المستخلص تأثيرا مثبطا واضحا على البكتيريا، خاصة *Staphylococcus aureus* و*Enterococcus faecalis* اللتين أظهرتا حساسية عالية، في حين كانت *Escherichia coli* أقل تأثرا، كما أظهرت النتائج أن فعالية المستخلص قد تفوقت في بعض الحالات على بعض المضادات الحيوية، وتبين هذه المعطيات أهمية هذا النبات كمصدر طبيعي واعد لمكافحة البكتيريا الممرضة [44].

- تناولت دراسة Nasrine وآخرون (2013) التأثير الأليلوبيثي للمستخلص المائي لنبات *Euphorbia guyoniana* على إنبات ونمو بعض النباتات، حيث أظهرت النتائج تأثيرا تثبيطيا واضحا يزداد بزيادة التركيز، فقد تم تسجيل تثبيط شبه كلي لإنبات ونمو نبات *Bromus tectorum*، عند أعلى تركيز، ممّا يدل على حساسيته العالية، في حين كان تأثير المستخلص أقل على *Melilotus indica* و *Triticum aestivum*، كما بيّنت الدراسة انخفاضا ملحوظا في طول الجذير والريشة مع ارتفاع التركيز، وتؤكد هذه النتائج الإمكانية الكبيرة لاستخدام هذا النبات كمبيد أعشاب طبيعي فعال[45].

- قام Herouini وأخرون (2015)، بدراسة النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصاته المائية لنبات *Euphorbia guyoniana*، المأخوذة من أوراقه وجذوره في منطقة وادي سبسب بالصحراء الجزائرية، وقد تم اختبار هذه المستخلصات على عدة سلالات بكتيرية وفطرية، باستخدام تقنية الانتشار في الوسط الهلامي، وأظهرت النتائج أن للنبات نشاطا مضادا للبكتيريا لكنه ضعيف نسبيا، حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 6mm و8.5mm لمعظم السلالات، مع تسجيل أعلى قيمة ضد المكورات العنقودية الذهبية، كما بينت الدراسة أن الفعالية المضادة للفطريات كانت محدودة أو شبه منعدمة، ممّا يشير إلى أن التأثير البيولوجي لهذا النبات يعتمد على نوع المستخلص وتركيزه، وتؤكد

هذه النتائج أن هذا النوع الصحراوي يمتلك فعاليات بيولوجية، لكنها تحتاج إلى مزيد من الدراسات لتعزيز فعاليته واستخدامه في التطبيقات الطبية [46].

- أجريت دراسة حديثة في مذكرة ماستر Ali Radja و Bettayeb Imane سنة (2021)، على نبات *Euphorbia guyoniana*، بهدف تقييم أنشطته البيولوجية المختلفة، حيث تم تحضير عدة مستخلصات (الميثانول، الكلوروفورم، وثنائي كلوروميثان) من الأجزاء الهوائية للنبات، باستخدام تقنية الاستخلاص صلب-سائل، وقد أظهر التحليل الكيميائي النباتي غنى المستخلص الميثانولي بالمركبات الفينولية والفلافونويدات والتربينات وتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختباري DPPH وABTS ، حيث أظهر المستخلص الميثانولي فعالية قوية بقيم $IC_{50}$ معتبرة مقارنة بالمركب القياسي،كما أظهرت المستخلصات نشاطا مضادا للبكتيريا بدرجة متوسطة تجاه عدة سلالات جرثومية، وتبرز هذه النتائج الأهمية البيولوجية لهذا النبات الصحراوي، خاصة من حيث غناه بالمنتجات الثانوية وفعاليته المضادة للأكسدة، مما يدعم استخدامه في الطب التقليدي [47].

- في إطار مذكرة ماستر أخرى لـ Elorfi Abderrahmane وSaadallah Majeda (2022) هدفت الدراسة إلى تقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلصات نبات Euphorbia guyoniana، حيث تم تحضير مستخلصات من الأجزاء النباتية ودراسة فعاليتها، باستخدام اختبارات عديدة مضادة للأكسدة مثل DPPH وABTS وCUPRAC وFRAP، بالإضافة إلى تقييم النشاط الإنزيمي. وقد أظهرت النتائج أن المستخلصات تمتلك نشاطا مضادا للأكسدة جيدا، في حين كان النشاط الإنزيمي ضعيفا نسبيا، كما بيّنت الدراسة وجود تأثير مثبط على نمو بعض الفطريات وعلى إنبات البذور، مع تسجيل درجة سمية معتدلة، مما يدل على احتواء النبات على مركبات فعالة بيولوجيا تدعم استخدامه في التطبيقات الصيدلانية والتقليدية [48].

- أجرت khaaoula Segueni وآخرون (2025) دراسة لتقييم القدرة العلاجية للاتكس المستخلص من نبات Euphorbia guyoniana، من خلال تحليل تركيبه الكيميائي ودراسة أنشطته البيولوجية. أظهرت النتائج احتواء العصارة اللبنية على مستويات معتدلة من المركبات الفينولية والفلافونويدات والتانينات، مع تحديد خمسة مركبات فينولية باستخدام تقنية HPLC. كما بيّنت الاختبارات امتلاكه نشاطا مضادا للأكسدة قويا، حيث تفوق في اختبار DPPH على حمض الأسكوربيك، في حين كان أداؤه متوسطا في اختبار FRAP. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت العصارة اللبنية نشاطا مضادا للالتهابات مماثلا لحمض الأسيتيل ساليسيليك، ونشاطا مضادا للبكتيريا ضد Listeria innocua، وعلى المستوى التطبيقي، بينت التجارب الحيوانية على جرذان ويستار أن المراهم المحتوية على العصارة اللبنية تساهم في تسريع التئام الجروح، من خلال تقليل مدة إعادة الظهارة إلى 12–16 يوماً وزيادة معدل انكماش

الجرح. وتشير هذه النتائج إلى أن العصارة اللبنية لهذا النبات يُعد مصدراً واعداً لمركبات طبيعية فعالة في تعزيز التئام الجروح بفضل خصائصه المضادة للأكسدة والالتهاب والبكتيريا [49].

# الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي

## II.1. المنتجات الطبيعية:

هي مركبات كيميائية تنتجها الكائنات الحية مثل النباتات، البكتيريا، الفطريات والكائنات البحرية، ناتجة عن العمليات الحيوية داخل الكائن الحي [50][51]، وهي فعالة حيويا وتستعمل في الأدوية، الاغذية، العطور وغيرها [51][52]، لها نشاطات بيولوجية مختلفة منها الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للإلتهاب والمضادة للبكتيريا والفيروسات والمضادة للسكري [52] وهي نوعان:

### II.1.1. منتجات الأيض الأولي (Primary Métabolites):

هي مركبات ضرورية لنمو الكائن الحي وبقائه وتكاثره، فبدونها لا يعيش الكائن الحي، تدخل في العمليات الحيوية [50] [51][53] وتشمل ما يلي:

-**الكربوهيدرات(carbohydrates):** وهي مركبات عضوية تتكون من الكربون والهيدروجين والأكسجين، وهي مصدر سريع للطاقة.

- **الليبيدات (Lipids):** هي مركبات غير ذائبة في الماء والمذيبات العضوية، وظيفتها تخزين الطاقة على المدى الطويل وتكوين أغشية للخلايا.

- **البروتينات (proteins):** تتكون من سلاسل الأحماض الأمينية، وظيفتها بناء الأنسجة والخلايا، وتنظيم الوظائف الحيوية.

- **الفيتامينات (Vitamines):** هي مركبات عضوية ضرورية للكائن الحي، لا تعد مصدر للطاقة لكنها تنظم التفاعلات الحيوية [53].

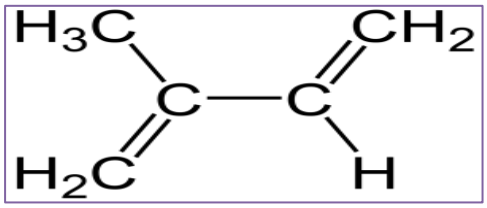
### II.1.2. منتجات الأيض الثانوي (Seconday Metabolites):

هي مركبات ينتجها الكائن الحي، وتنتج بكميات قليلة لكنها ليست ضرورية لنموه وتطوره وتكاثره، إنما تساعده على الدفاع ضد الحشرات، مقاومة الميكروبات الحماية من الأشعة التفاعل مع البيئة[50] [51] تتميز بتنوعها البنيوي، ونشاطها الحيوي العالي [54]، وتصنف إلى ثلاث فئات رئيسية وهي التربينات الفينولات والقلويدات[50][51][54]

## II.2. التربينات (Terpènes):

هي مجموعة كبيرة جدا من المركبات الطبيعية [54] [53]، وهي مركبات هيدروكربونية تتكون أساسا من وحدات الإيزوبرين ($C_5H_8$) التي تمثل الوحدة الأساسية البنائية لها [53] وتتميز بتنوع كبير فهي يمكن أن تكون خطية أو حلقية، تتواجد في النباتات العطرية، فالزيوت العطرية هي عبارة عن تربينات

أحادية وتربينات نصف ثلاثية، ودورها إعطاء الروائح والنكهات للنبات وحمايته والتفاعل مع البيئة [53][54]




**الشكل (1.II):** الهيكل الأساسي لوحدة الإيزوبرين

## 3.II. الفينولات(Phénols) :

### 1.3.II. تعريف الفينولات:

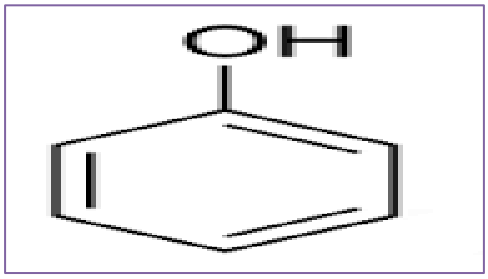
هي مركبات عطرية تحتوي على مجموعة هيدروكسيل OH واحدة أو أكثر مرتبطة بحلقة بنزن [55][56][51][53]، وهي مركبات واسعة الإنتشار مشتقة من المسارات الحيوية للنبات[54] ، تختلف الفينولات عن الكحولات في إرتباط المجموعة OH حيث في الفينولات ترتبط بذرة كربون مهجنة $SP^2$ بينما في الكحولات تكون مرتبطة بذرة كربون مهجنة $SP^3$ [55] ، خصائصها الحمضية ضعيفة مقارنة بالأحماض الكربوكسيلية، وأملاح الفينولات قابلة للذوبان في الماء لكنها غيرقابلة للذوبان في المذيبات العضوية، بينما الفينولات قليلة الذوبان في الماء وتذوب في المذيبات العضوية، بالإضافة إلى ذلك تشارك الفينولات في تفاعلات كيميائية عديدة مثل تكوين الإسترات وتفاعلات الإستبدال الكهربي العطري وكذلك تتميز الفينولات بخاصية التوتوميرية[56] ، وتمتلك خاصية التبرع بالإلكترونات وتكوين روابط هيدروجينية وذلك يفسر فعاليتها كمضادات للأكسدة، وتحظى الفينولات بإهتمام كبير بسبب أنشطتها البيولوجية المتعددة، ولها تطبيقات واسعة في مجالات متعددة مثل الصناعات الغذائية والدوائية والزراعية والتجميلية والمواد الحيوية [57] .

### 2.3.II. تصنيف الفينولات:

تصنف الفينولات حسب تركيبها الكيميائي ومن أهم أصنافها ما يلي:

#### 1.2.3.II. الفينولات البسيطة (Simple phénols):

تعتبر من أبسط أنواع المركبات الفينولية فهي أحادية الفينول أي تتكون من حلقة بنزن واحدة مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل(OH) واحدة أوأكثر، تلعب دورا مهما في التفاعلات الحيوية خاصة الإستمرارالإنزيمي [57].

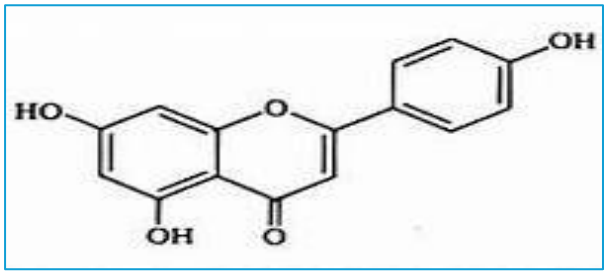


**الشكل (2.II):** الهيكل الأساسي للفينولات البسيطة

### 2.2.3.II. الفلافونويدات (Flavonoids):

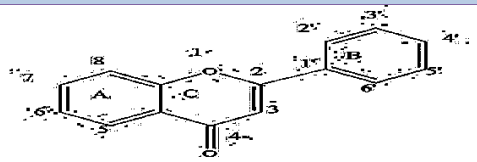
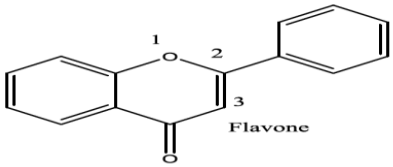
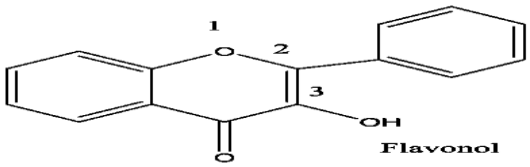
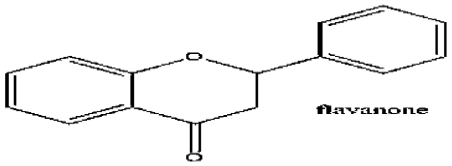
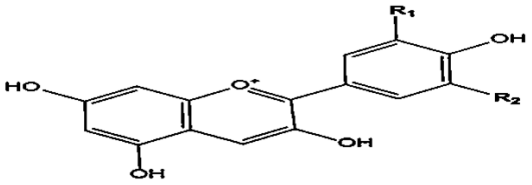
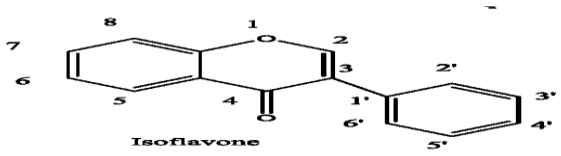
تمتلك هيكلا أساسيا من نوع ثنائي الفينيل بروبان(C6-C3-C6) حيث ترتبط حلقتا بنزن عبر جسر مركزي مكون من ثلاث ذرات كربون، تعتبر الفلافونويدات المسؤولة عن تكوين ألوان الأزهار[54] [57]،وهي متواجدة في جميع أجزاء النبات حيث تعد من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية[49]، وتعتبرالمكونات الرئيسية للحمضيات، ولها دور مهم في تفاعل النبات مع البيئة مثل الحماية من الأشعة فوق البنفسجية ومقاومة الأمراض مثل ارتفاع ضغط الدم والسرطان وتحسن صحة القلب وكذلك الأمعاء [52].

والأنواع الأكثر شيوعا في الطبيعة تشمل مايلي: فلافونات (Flavones)، فلافونولات (Flavonols)، فلافانونات (Flavanones)، فلافانولات (Flavanols)، إيزوفلافونولات (Isoflavonols)، الأنثوسيانات (Anthocyanes) [54] [57].



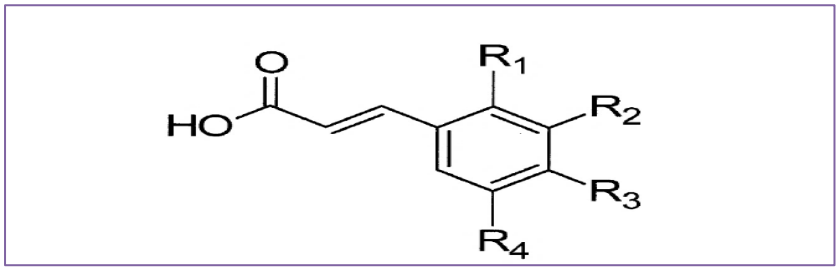

**الشكل (3.II):** الهيكل الأساسي للفلافونويدات

**الجدول (1.II):** البنية الكيميائية الأساسية لأصناف الفلافونويدات[54][57].

| نوع الفلافونويد | صيغته الكيميائية |
|---|---|
| **Flavonoid** |  |
| **Flavones** |  |
| **Flavonols** |  |
| **Flavanones** |  |
| **Anthocyanidins** |  |
| **Isoflavones** |  |

### II.3.2.3. مشتقات أحماض الهيدروكسي سينامك (Hydroxycinnamic acid derivatives):

بنيتها من الشكل(C6-C3)، وهي مركبات مشتقة من حمض p-coumaic أو حمض caffic أو ferulic، بينما يعد حمض sinapic أقل شيوعا، تتواجد في الغذاء على شكل مركبات مرتبطة وتوجد غالبا كأسترات [57].

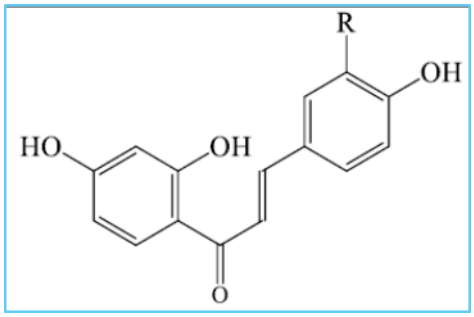



**الشكل (4.II):** الهيكل الأساسي لمشتقات أحماض الهيدروكسي سينامك

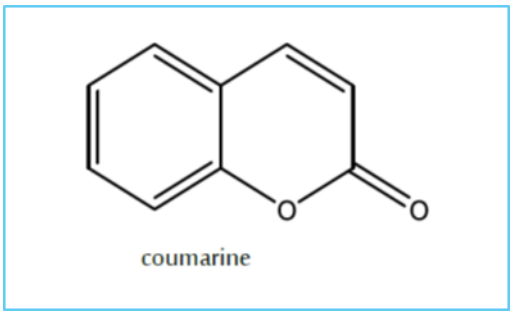
### 4.2.3.II. الشالكونات والكومارينات (Chalocones and Coumarins):

تعتبر الشالكونات مركبات وسيطة في تكوين الفلافونويدات، توجد هذه المركبات في عدة أغذية مثل التفاح، الطماطم، الإجاص، الفراولة والقمح وبعض المشروبات بكميات قليلة، وفي بعض النباتات، تُعدّ الشالكونات مسؤولة عن اللون الأصفر للأزهار[57].

وتعتبر الكومارينات من المركبات الدفاعية النباتية، حيث تتراكم بكميات كبيرة في أنسجة النبات نتيجة هجوم الممرضات أو التعرض للإجهادات غير الحيوية [58]، وتشتق من حمض السينامك عبر عملية تحلّق (Cyclization) للسلسلة الجانبية لحمض (o- كوماريك)، توجد هذه المواد في الطبيعة غالبا على شكل غليكوزيدات، مثل الأمبليفيرون (umbelliferone)، الإسكوليتين (esculetin) والسكوبوليتين (scopoletin)، وتوجد أساسًا في زيت الزيتون، الشوفان والتوابل [57].




**الشكل (5.II):** الهيكل الأساسي لوحدة الشالكونات

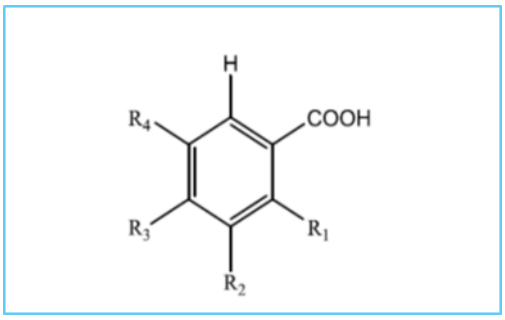



**الشكل (6.II):** الهيكل الأساسي لوحدة الكومارين

### 5.2.3.II. الأحماض الفينولية (phénoliques acides):

هي مركبات واسعة الانتشار، تتواجد في صورتين حرة ومرتبطة تتكون من حلقة عطرية (بنزن) ومجموعة هيدروكسيل (OH) ومجموعة كربوكسيل (COOH) وتنقسم إلى قسمين أحماض هيدروكسي

بنزويك (C6-C1) وأحماض هيدروكسي سناميك(C6-C3)، تدخل في الدفاع النباتي والتفاعلات الأيضية، تمتلك نشاط مضاد للأكسدة وتساهم في إعطاء اللّون والطعم لبعض الأطعمة [57][59].

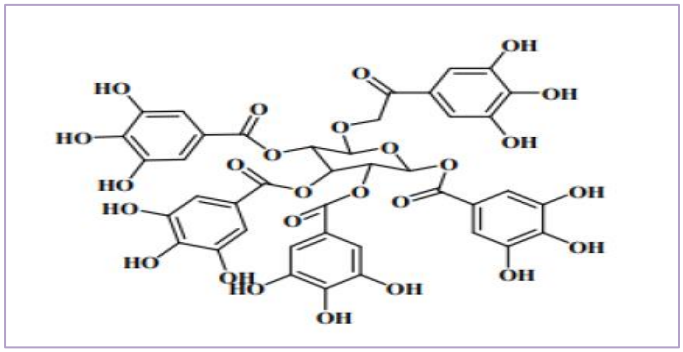



**الشكل (7.II):** الهيكل الأساسي لأحماض الهيدروكسي بنزويك

### 6.2.3.II. التانينات (Tannins):

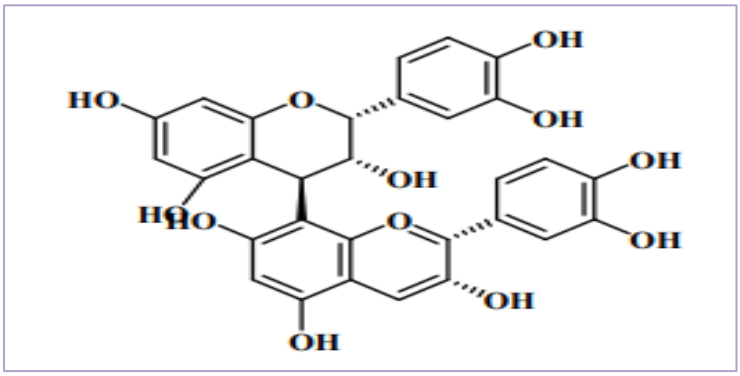
تسمى العفصات تصنع عبر مسار حمض الشيكميك [59]، التانينات هي مجموعة من المركبات الفينولية المنتشرة على نطاق واسع في: الحبوب، البقوليات، والعديد من الفواكه والخضروات، وتملك هذه المركبات أنشطة بيولوجية متعددة، مثل:النشاط المضاد للميكروبات، والمضاد للطفيليات، والمضاد للفيروسات، والمضاد للأكسدة و الإلتهابات و منشطة للمناعة [57][59] وتُصنّف التانينات حسب تركيبها الكيميائي إلى نوعين رئيسيين، التانينات القابلة للتحلل والتانينات المكثفة:

- **العفصات (التانينات) القابلة للتحلل (HTs):** تحتوي على جلوكوز مرتبط بأحماض فينولية مثل حمض الغاليك أوالإيلاجيك، وتتحلل بسهولة بالماء أو الأحماض والإنزيمات لتعطي سكريات وأحماض فينولية[57].




**الشكل (8.II):** الهيكل الأساسي للتانينات القابلة للتحلل

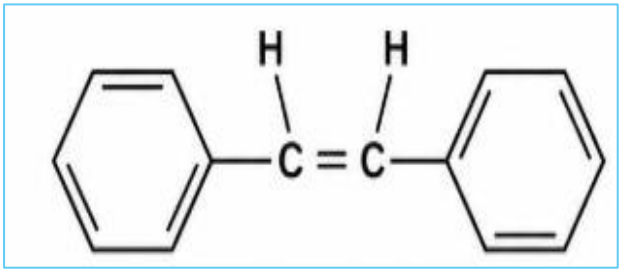
- **العفصات (التانينات) المكثفة (Pas):** بوليمرات من الفلافونويدات (مثل الكاتيشين والإبيكاتيشين)، ولا تتحلل بسهولة [57].




**الشكل (9.II):** الهيكل الأساسي للتانينات المكثفة

### 7.2.3.II. الستيلبينات (Stilbènes):

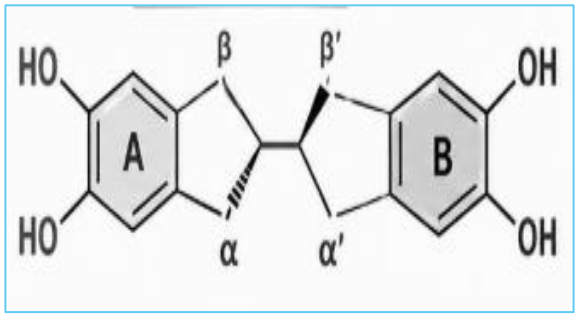
الستيلبينات هي مركبات تمتلك هيكلا كربونيا من نوع (C6–C2–C6)، يتكون من حلقتين عطريتين مرتبطتين بجسر إيثيلين، وينتج عن هذا التركيب تنوع كبير في الستيلبينات بسبب اختلاف عدد وموقع مجموعات الهيدروكسيل، وأنواع الاستبدال، والتماكب (cis-trans)، وتكون قليل الوحدات [59]، وتتواجد في مجموعة واسعة من المصادرالغذائية مثل العنب والتوت والفول السوداني وبعض النباتات الطبية [57][59]، يحدث التخليق الحيوي لها نتيجة نشاط إنزيم ستيلبين سينثاز(stilbene synthas)، الذي يحفز تكاثف جزيء واحد من p-coumaroyl-CoA (الناتج من مسار حمض الشيكيميك) مع ثلاثة جزيئات من malonyl-CoA (المشتقة من Acétyl-CoA)[59].




**الشكل (10.II):** الهيكل الأساسي للستيلبينات

### 8.2.3.II. اللجنانات والنيو-لجنانات (Lignans and Neolignans):

هي مركبات نباتية مشتقة من الإزدواج التأكسدي يتكون من وحدتين من الفينيل بروبان ($C_6$-$C_3$) [57][59]، ،إذا إرتبطت الوحدتان عند الكربون 8 و8′ تسمى لجنانات، وإذا لم يرتبطا تُسمى (نيو-لجنانات)، أما إذا إرتبطتا بواسطة أكسجين فتسمى (أوكسي-نيو-لجنانات)، وتنقسم اللجنانات إلى 8 مجموعات رئيسية، لكن النيو-لجنانات أكثر تنوعا مع 15 نوعا فرعيا، إضافة إلى أنواع ثانوية مثل اللجنانات الأوليغوميرية الهجينة والنيولجنانات[59]، من أنشطتها البيولوجية أنها مضادة للأكسدة، مضادة للأورام، مضادة للإلتهاب ومضادة للبكتيريا[57]، تنتشر في النباتات وفي الأطعمة مثل المكسرات، البذور، الحبوب، الخضروات، الفواكه، القهوة، الشاي، النبيذ، الثوم [57][59].




**الشكل (11.II):** الهيكل الأساسي للجنانات والنيولجنانات

## 2.II. القلويدات (Alcaloïdes):

### 2.II. 1. تعريف القلويدات:

هي مركبات عضوية طبيعية تحتوي على ذرة نيتروجين أو أكثر ، وتكون ذات طبيعة قاعدية (قلوية)، لهذا سميت بذلك الاسم، وتشتق حيويا من الأحماض الأمينية، تتواجد على شكل قواعد حرة وأملاح مع الأحماض[52] [59] [60]، يمكن أن تتواجد في الفطريات، الحشرات، الكائنات البحرية، الحيوانات...، لها طعم مر وتمتلك نشاطا بيولوجيا ودوائيا قويا حيث تستخدم في الطب الحديث والتقليدي [52][53] [59] [60]من أمثلتها الشائعة: المورفين وهو مسكن للألم، الكينين وهو مضاد للملاريا، فينكريستين الذي هو مضاد للسرطان[61].

### 2.II. 2. تصنيف القلويدات:

تصنف القلويدات وفق عدة معايير منها ما يلي:

- **التصنيف حسب البنية الكيميائية للمركب:** أي تصنف حسب الحلقة الغير متجانسة، فكل نوع من الحلقات عبارة عن عائلة يحتوي العديد من المركبات، وأهم هذه العائلات ما يلي: Pyrrolidine , , Peridine pyrrolre, Tropane, purine, Indole, Quinoleine, Piperidine, Isoquinoleine [54] Steroidal, Imidazol, Pyrrolizidine, Aporphine, Quinolizidine, Indolizidine [61] [60]

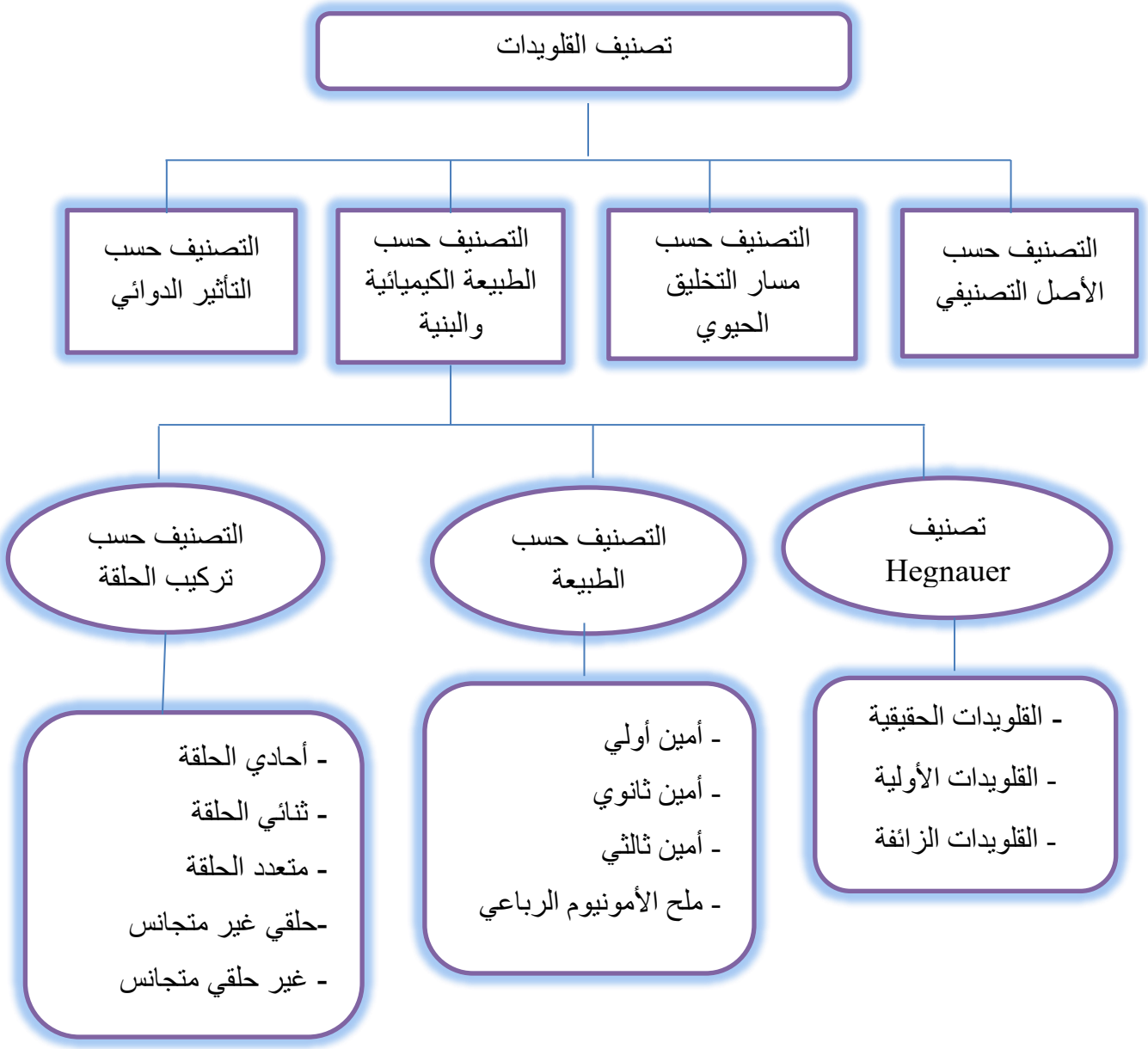
- **التصنيف حسب التخليق الحيوي:** يوجد قلويدات مشتقة من أحماض آمينيه عطرية ويوجد قلويدات مشتقة من أحماض آمينيه ألفاتيه وقلويدات غير بروتينية أي لا تكون مباشرة من أحماض آمينيه بل تأتي من مسارات أيضية مشابهة لباقي المنتجات الثانوية الأخرى.

- **الأصل التصنيفي (حسب المصدر النباتي):** أي تصنف حسب العائلة أو الجنس النباتي، فالتصنيف في هذه الحالة يعتمد على المصدر الذي استخرج منه القلويد.

- **حسب التأثير الدوائي:** أي تصنف حسب تأثيرها على الجسم (مسكنة، منبهة، مضادة للتشنج، منشطة للقلب).

- **حسب الطبيعة الكيميائية والهيكلية:** فيه ثلاث أقسام وهي القلويدات الحقيقية التي تحتوي على نيتروجين في الحلقة الأصلية، والقلويدات الأولية التي تحتوي على نيتروجين خارج الحلقة، والقلويدات الكاذبة التي تكون مشتقة من مسار آخر غير بروتيني.

- **حسب الطبيعة الكيميائية والهيكلية:** تنقسم القلويدات إلى ثلاثة أقسام رئيسية وهي القلويدات الحقيقية التي تحتوي على ذرة نيتروجين داخل الحلقة الأساسية، والقلويدات الأولية التي تحتوي على النيتروجين خارج الحلقة، إضافة إلى القلويدات الكاذبة التي تنشأ من مسارات تخليق حيوي غير بروتينية [61]




**الشكل (12.II):** مخطط تصنيف المركبات القلويدية [61].

# الفصل الثالث: الفعالية البيولوجية

## III.1. الفعالية المضادة للأكسدة:

### III.1.1. مفهوم الفعالية المضادة للأكسدة:

هي قدرة الأنظمة البيولوجية الخلوية الإنزيمية وغير الإنزيمية على التحكم في أنواع الأكسجين لتفاعلية RSO، ومنع تراكمها إلى مستويات سامة [62][63][64][65]، وهذه النشاطية تكون بإزالة الجذور الحرة، وتنظيم دقيق للإشارات الخلوية المرتبطة بالأكسدة [64].

### III.1.2. الجذور الحرة:

هي جزيئات غير مستقرة لاحتوائها على إلكترون غير مزدوج، ممّا يجعلها شديدة التفاعل مع مكونات الخلية كالبروتينات والدهون وADN، تتكون داخل الجسم خلال العمليات الحيوية أو بفعل عوامل خارجية مثل التلوث والتدخين والإشعاع [62][63][64]، تنقسم إلى ROS و RNS، وتساهم في حدوث عدة أمراض مثل أمراض القلب والسكري والأمراض العصبية [65].

### III.1.3. مضادات الأكسدة:

هي مركبات نشطة بيولوجيا تعمل على تثبيت وإزالة الجذور الحرة، وبالتالي حماية الخلايا من التلف [64][67][68]، كما أنها تقوم بتثبيط تفاعلات الأكسدة الضارة أو الحّد من تكوّنها، ودورها لا يقتصر فقط على اصطياد الجذور الحرة، بل يشمل أيضا تنظيم المسارات الخلوية [64][67]، ويوجد نوعان من مضادات الأكسدة وهما مضادات أكسدة داخلية (Endogenous) مثل الإنزيمات الدفاعية ومضادات أكسدة خارجية (Exogenous) تُكتسب من الغذاء، مثل الفيتامين C، الفيتامين E، الكاروتينات، والمركبات الفينولية النباتية. والمصادر النباتية الطبيعية تُعد من أهم المصادر الغنية بمضادات الأكسدة الفعالة [66].

### III.1.4.الأنظمة المضادة للأكسدة:

تنقسم إلى أنظمة إنزيمية (مثل SOD وCatalase وGlutathione peroxidase) تعمل على تحويل الجذور الحرة إلى مركبات أقل ضررًا، وأنظمة غير إنزيمية (كالجلوتاثيون، الفيتامينات C وE، والبوليفينولات) تعمل كمانحات للإلكترونات أو كاسرات لسلسلة الأكسدة [65].

### III.1.5. طرق قياس النشاط المضاد للأكسدة:

يعتمد على نوع التفاعل (إلكترون أو هيدروجين)، لذلك يوجد عدة طرق منها: طرق نقل الإلكترون حيث تقيس قدرة مضاد الأكسدة على إعطاء إلكترون مثل DPPH، FRAP، حيث يظهر التغير عادة كلون يمكن قياسه بجهاز الطيف، ويوجد كذلك طرق نقل ذرة الهيدروجين حيث تعتمد على تثبيط تفاعلات الجذور الحرة مع الزمن، ويوجد طرق متعددة الانظمة، ولاتوجد طريقة واحدة تعطي الحقيقة المطلقة للنشاط المضاد الأكسدة لأن كل طريقة تقيس جانبا مختلفا وتتأثر النتائج بالمذيب والوسط ودرجة الحموضة [68].

✓ **الفعالية المضادة للأكسدة ب DPPH:**

ال DPPH هو جذر حر اسمه العلمي 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل، وتعتمد هذه الطريقة على تفاعل الجذر الحر DPPH المستقر مع الجذور الحرة أو مع ذرات الهيدروجين، مما يؤدي إلى تحوّله إلى شكل مختزل غير ممتص للضوء المرئي، ويتم قياس نشاط مضادات الأكسدة من خلال انخفاض الامتصاص عند 517nm [69][70]، وتستخدم هذه الطريقة أساسا لتقييم قدرة المركبات على منح الهيدروجين والتخلص من الجذور الحرة، لكنها أقل فعالية في كشف الجذور المتكونة خلال تحلل مركبات أخرى ،بسبب طبيعة التفاعل المحدودة زمنيا، وبصفة عامة يمكن تمثيل تفاعلات الاختزال العامة بين DPPH والمواد المضافة (AH) كما يلي [69].

$$DPPH^{\bullet} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow DPPH\text{-}R^{\bullet}$$

## III.2. الفعالية المضادة للإلتهاب:

### III.2.1. مفهوم الإلتهاب:

الإلتهاب هو استجابة دفاعية طبيعية عند التعرض لعدوى أو ضرر، يهدف إلى حماية الجسم وإصلاح الأنسجة عبر تنشيط الجهاز المناعي، لكن اختلاله أو حتى استمراره يؤدي إلى إلتهاب مزمن يسبب تلف الأنسجة ويساهم في أمراض عديدة [71][72]. تسعى العلاجات إلى تقليل هذا الإلتهاب بإستخدام أدوية أو إستراتيجيات تستهدف مسارات جزيئية أو تعديل الميكروبيوم [71].

### III.2.2. آليات حدوث الإلتهاب:

- **مرحلة التعرف (Recognition):** تتعرف خلايا المناعة على الميكروبات أو على تلف الخلايا عبر مستقبلات خاصة ممّا يؤدي إلى تنشيط الاستجابة الإلتهابية.

- **مرحلة التنشيط وإطلاق الوسطاء (Activation & Mediator Release):** تقوم الخلايا المناعية بإفراز وسائط إلتهابية مثل السيتوكينات والكيموكينات لتضخيم الاستجابة.

- **مرحلة التغيرات الوعائية (Vascular Changes):** تحدث توسعات في الأوعية وزيادة في النفاذية ممّا يسبب الإحمرار والحرارة والتورم.

- **مرحلة تجنيد الخلايا الالتهابية (Leukocyte Recruitment):** تنتقل كريات الدم البيضاء إلى موقع الإلتهاب عبر الإلتصاق والعبور الكيميائي نحو النسيج المصاب.

- **مرحلة القضاء على المسبب (Elimination):** تقوم الخلايا المناعية بابتلاع الميكروبات وإفراز مواد قاتلة مثل ROS والإنزيمات لإنهاء العامل المسبب.

- **مرحلة إنهاء الالتهاب (*Résolution*):** تتوقف الإستجابة الإلتهابية ويتم التخلص من الخلايا الميتة ويبدأ إصلاح النسيج، وقد يتحول إلى إلتهاب مزمن إذا فشلت العملية [73].

### III.3.2. مفهوم الفعالية المضادة للإلتهاب:

الفعالية المضادّة للإلتهاب هي قدرة مادة ما على تقليل أو تثبيط الإستجابة الإلتهابية في الجسم، عبر التأثير في مساراتها الجزيئية والخلوية [73][74][75]، ويتم ذلك من خلال خفض إنتاج الوسائط الإلتهابية مثل السيتوكينات، أو تثبيط تنشيط الخلايا المناعية أو تعطيل مسارات الإشارة التي تضخم الإلتهاب، كما تشمل هذه الفعالية تعزيز آليات إنهاء الإلتهاب ممّا يساعد على إعادة التوازن ومنع تحوّله إلى إلتهاب مزمن [73].

### III.4.2. مفهوم مضادات الإلتهاب:

هي عبارة عن مواد علاجية تعمل على التدخل في مراحل مختلفة من العملية الإلتهابية بهدف الحد منها [73][75]، فهذه المواد تقوم بتثبيط إنتاج الوسائط الإلتهابية أو منع تجنيد وتنشيط الخلايا المناعية أو تعطيل الإشارات الجزيئية المسؤولة عن إستمرار الإلتهاب، وبذلك تساهم هذه المضادات في تقليل الأعراض الإلتهابية وتسريع الشفاء [73].

## III.3. الفعالية المضادة للبكتيريا:

### III.1.3. تعريف البكتيريا:

هي كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية من بدائيات النوى، لا تمتلك نواة حقيقية، وتتميز ببنية بسيطة تحتوي على مادة وراثية حرة في السيتوبلازما وجدار خلوي يمنحها الشكل والحماية، تعيش في بيئات مختلفة وقد تكون نافعة أو ممرضة وتلعب أدوارا حيوية رغم بساطة تركيبها [76-81]، وتمت دراستها وتطوير علم الجراثيم منذ اكتشافها على يد ليفين هوك ثم لاحقًا باستور وكوخ [81][82].

### III.2.3. خصائص البكتيريا:

تتميز بكونها غالبًا أحادية الصيغة الصبغية وذلك يجعل الطفرات تظهر بسرعة، وتمتلك تنوعا جينيا عاليا عبر تبادل المادة الوراثية مثل البلازميدات مما يساعدها على التكيف ومقاومة المضادات الحيوية، كما أنها صغيرة جدا ذات نسبة سطح إلى حجم كبيرة تسهل امتصاص المواد والتفاعل مع البيئة، وتتنوع أشكالها [76][81] [82]، وتعيش في بيئات مختلفة حتى القاسية، وقد تتحرك بالأسواط أو تكوّن أغلفة واقية للبقاء [80].

### III.3.3. دور البكتيريا:

تلعب البكتيريا دورا أساسيا في التوازن البيئي عبر تحلل المواد العضوية وإعادة تدوير العناصرالغذائية ممّا يدعم خصوبة التربة ونمو النباتات [77] [78]، كما تدخل في علاقات تكافلية مفيدة مثل بكتيريا الأمعاء التي تساعد في الهضم وإنتاج الفيتامينات، وتستعمل صناعيا وبيوتكنولوجيا في إنتاج المضادات الحيوية والإنزيمات والأغذية المخمرة ومعالجة التلوث، لكنها قد تكون كذلك ممرضة تسبب أمراضا للإنسان والحيوان والنبات، لذلك لها دور مزدوج بين الفائدة والضرر [77].

### III.4.3. بنية البكتيريا:

- **الجدار الخلوي:** طبقة صلبة تحيط بالبكتيريا، يتكون من الببتيد وغليكان، ويكون سميكا في موجبة الغرام ورقيقا مع غشاء خارجي في سالبة الغرام، يساهم في الحماية والإمراضية.

- **الغشاء الخلوي:** يوجد أسفل الجدار، ويتكون من طبقة دهنية مع بروتينات، ينظم دخول وخروج المواد بنفاذية اختيارية، ويساهم في إنتاج الطاقة (ATP) والتنفس الخلوي.

- **السيتوبلازم:** مادة هلامية داخل الخلية تحتوي على إنزيمات وبروتينات وأيونات، يحتوي على الكروموسومات والمادة الوراثية، وتتم فيه التفاعلات الحيوية.

- **الكروموسوم (النيوكليوتيد):** ADN دائري يوجد في منطقة غير محاطة بغشاء نووي، يحمل الجينات المسؤولة عن نشاط الخلية.

- **الريبوزومات:** مسؤولة عن تصنيع البروتين، مكونة من RNA وبروتين حجمها S70، وهي هدف لبعض المضادات الحيوية.

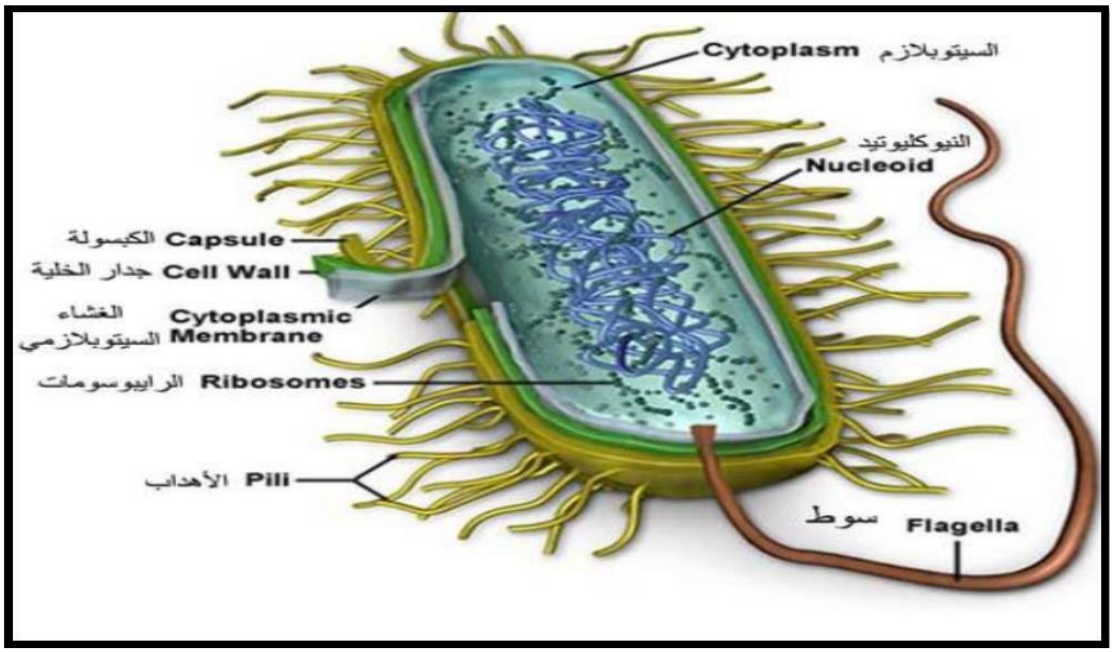
- **الكبسولة:** طبقة خارجية لزجة تحيط ببعض البكتيريا، تتكون غالبا من سكريات، تحمي من البلعمة وتساعد على الإلتصاق وتزيد من الضراوة.

- **الأسواط:** زوائد طويلة تساعد على حركة البكتيريا، بحيث تختلف في العدد والتوزيع.

- **الأهداب (الشعيرات):** زوائد قصيرة تساعد على الإلتصاق بالخلايا، يوجد منها نوع جنسي ينقل المادة الوراثية بين البكتيريا.

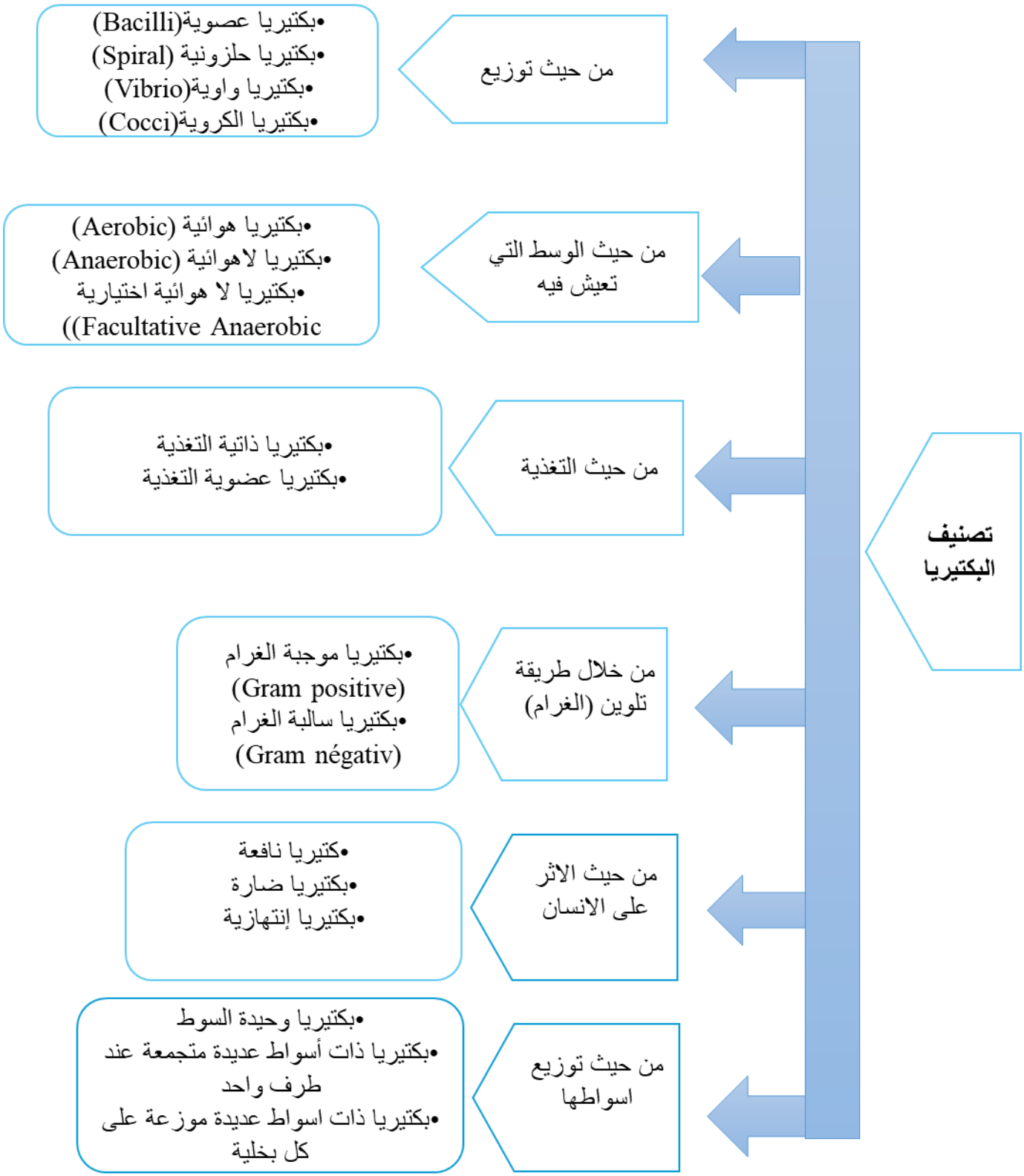
- **الأجسام الإدخالية:** تراكيب تخزن المواد الغذائية والطاقة داخل الخلية، وتستعمل عند الحاجة.

- **الميزوسوم:** إنثناء في الغشاء الخلوي يُعتقد أنه يساعد في انقسام الخلية وبعض العمليات الحيوية [76] [77][79][81].




**الشكل (1.III):** صورة تمثل التركيب النموذجي للخلية البكتيرية [76]

### 5.3.III. تصنيف البكتيريا:




**الشكل (2.III):** مخطط تصنيف البكتيريا[76][77][81].

### III.6.3. مفهوم الفعالية المضادة للبكتيريا:

الفعالية المضادة للبكتيريا هي قدرة مادة على تثبيط نمو البكتيريا أو القضاء عليها بشكل جزئي أو كلي، وتستخدم هذه الفعالية لتقييم مدى تأثير هذه المواد في إيقاف تكاثر البكتيريا أو قتلها، سواء عن طريق منع إنقسامها أو إضعاف نشاطها الحيوي، وهذه الخاصية مهمة في الأبحاث البيولوجية والطبية، خاصة في دراسة المضادات الحيوية والمواد الطبيعية التي قد تُستعمل في مكافحة العدوى البكتيرية [79][81].

- **مضادات البكتيريا:** هي مواد قادرة على تثبيط نمو البكتيريا أو القضاء عليها بشكل كلي أو جزئي، وتكون إما طبيعية أو صناعية أو دوائية، وتستخدم للحد من تكاثر البكتيريا المسببة للأمراض [76][79]

- **المضادات الحيوية:** هي مواد كيميائية تنتج عادة من كائنات دقيقة أو تصنَّع صناعيا، وتستعمل خصيصا لعلاج الإلتهابات البكتيرية من خلال قتل البكتيريا أو تثبيط نموها داخل الجسم [76].

### III.7.3. طرق قياس الفعالية المضادة للبكتيريا:

تقاس الفعالية المضادة للبكتيريا بعدة طرق مخبرية، أهمها طريقة الانتشار في الأجار التي تعتمد على قياس منطقة التثبيط حول المادة المختبرة، حيث يدل حجمها على قوة التأثير [77][79][81]، ويستخدم إختبار التركيز المثبط الأدنى (MIC) لتحديد أقل تركيز يوقف نمو البكتيريا، واختبار التركيز القاتل الأدنى (MBC) لمعرفة أقل تركيز يقتل البكتيريا، وكذلك يُستعمل منحنى القتل لدراسة تأثير المادة مع الزمن، وقياس الكثافة الضوئية لمتابعة نمو البكتيريا عبر عكارة الوسط، وتوجد طريقة العد البكتيري لتحديد عدد الخلايا الحية بدقة، إلى جانب تقنيات حديثة فلورية وجزيئية تعطي نتائج أكثر تفصيلا [79].

- **طريقة اختبار الأقراص (Disk Diffusion):** تتم بزراعة البكتيريا على وسط زرعي مناسب ، ثم وضع أقراص ورقية مشبعة بالمادة المختبرة على السطح، ثم بعد الحضانة، تلاحظ منطقة خالية من نمو البكتيريا حول القرص تسمى منطقة التثبيط، ثم يقاس قطرها لتقييم الفعالية، فكلما كانت أكبر دل ذلك على تأثير مضاد قوّي، هذه الطريقة سهلة وسريعة لكنّها تعطي نتائج نوعية فقط [76][77][79].

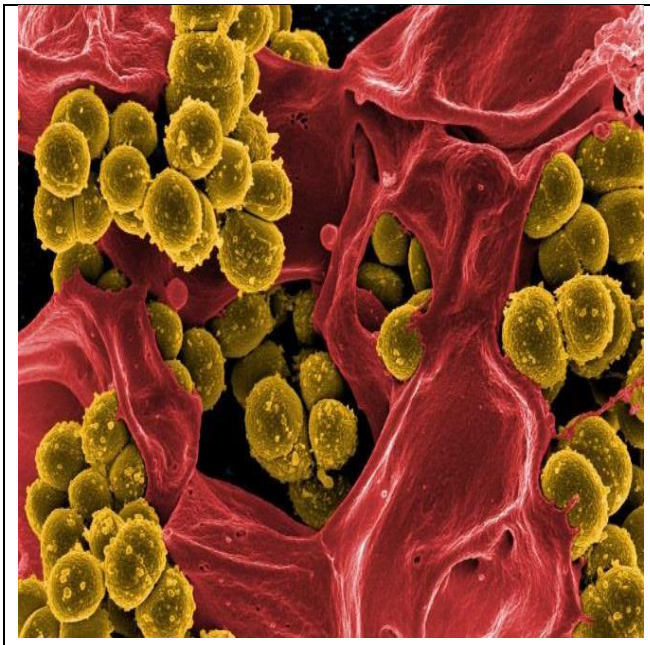
### III.8.3. السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة:

#### III.1.8.3. المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*):

تعد هذه البكتيريا من أهم البكتيريا الممرضة الإنتهازية لدى الإنسان، وتم وصفها علميا لأول مرة سنة 1884م [83]، تنتمي إلى جنس *Staphylococcus*، وتنتشر بشكل واسع وتسبب طيفا متنوعا من العدوى يتراوح بين إصابات جلدية بسيطة وعدوى خطيرة قد تصيب الدم أو الأعضاء الداخلية [84] وتمتاز بقدرتها على التكيف مع الظروف البيئية المختلفة، إضافة إلى قابليتها لاكتساب مقاومة للمضادات الحيوية [85][86]، تعيش هذه البكتيريا بشكل طبيعي على جلد الإنسان والأغشية المخاطية وكذلك الجهاز الهضمي

والبلعوم [84][85][86]، وتمتلك هذه البكتيريا عوامل ضراوة متعددة تمّكنها من الإلتصاق بالأنسجة ومقاومة الجهاز المناعي وهذا يفسر قدرتها على إحداث عدوى حادة أو مزمنة [86].

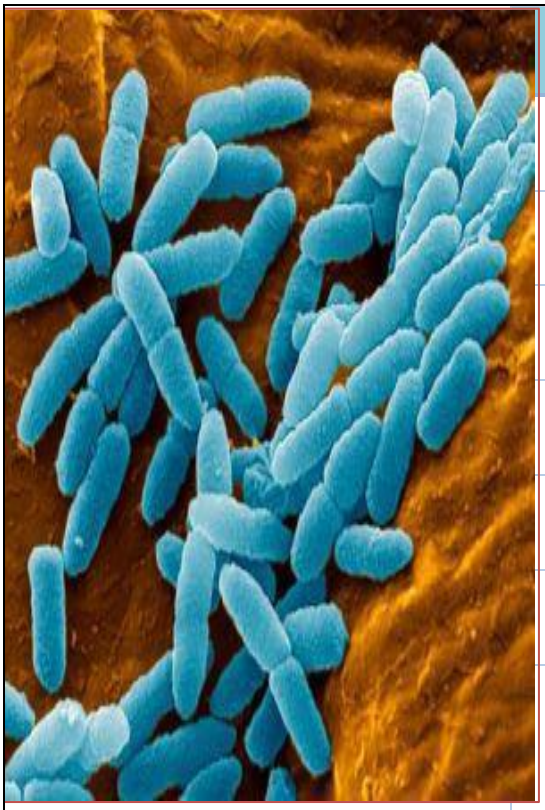
| المملكة | ***Bacteria*** |
|---|---|
| **التصنيف** | *Firmicutes* |
| **القسم** | *Bacilli* |
| **الرتبة** | *Bacillales* |
| **العائلة** | *Staphylococcaceae* |
| **النوع** | *Staphylococcus* |
| **الصنف** | *Staphylococcusaureus* |



**الشكل (3.III):** بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* [84][86]

### 2.8.3.III. بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا عصوية هوائية إختيارية، تنتشر على نطاق واسع في البيئات الطبيعية كالتربة والمياه، وتتواجد أيضا في البيئات الرطبة داخل المستشفيات وعلى مختلف الأسطح والأدوات الطبية [87] [89]، وهي بكتيريا إنتهازية ممرِضة، حيث تسبب العديد من الإنتانات خصوصا لدى الأشخاص ذوي المناعة الضعيفة منها إلتهابات الجهاز التنفسي، والجروح والحروق، والمسالك البولية وتتميز هذه البكتيريا بقدرتها العالية على التكيف مع الظروف البيئية المختلفة، إضافة إلى مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية، ممّا يجعل علاج الإنتانات الناتجة عنها أكثر صعوبة [87] [88]، كما تنتج أصباغا مميزة مثل البيوسيانين الذي يمنح المستعمرات لونا أخضر مزرقا، ويُستخدم كأحد المؤشرات المخبرية للتعرف عليها [89].

| الاسم العلمي | المستوى التصنيفي | |
|---|---|---|
| ***Bacteria*** | المملكة |  |
| ***Proteobacteria*** | الشعبة | |
| ***Gammaproteobacteria*** | الطائفة | |
| ***Pseudomonadales*** | الرتبة | |
| ***Pseudomonadaceae*** | الفصيلة | |
| ***Pseudomonas*** | الجنس | |
| ***Pseudomonas aeruginosa*** | النوع | |

**الشكل(4.III):** بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* [89] [90].

# الجزء العملي

# الفصل الرابع: الوسائل والطرق المستعملة

تم انجاز هذا العمل على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر – بالوادي ومخبر الكيمياء التطبيقية والبيئة بجامعة الشهيد حمه لخضر_بالوادي ، كما تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات الفينولية بمخبر المجد للتحاليل الطبية بولاية الوادي.

## 1.IV. جني العينات:

تم جمع العينات من منطقة البياضة ذات الإحداثيات الجغرافية (خط العرض:N ´ 18°59.033 وخط الطول: E ´ 6°8.5025) من ولاية وادي سوف في شهر فيفري 2026،

## 2.IV. تجفيف العينات:

تم في هذه الدراسة إستخدام ثلاثة أجزاء من النبات تمثلت في الساق والأوراق، والأزهار، بالإضافة إلى اللبن النباتي.

**الساق والأوراق:**

نغسل النبات جيدا بالماء المقطر ثم نجففه في غرف تجفيف لعدة ساعات عند حوالي°C 50 [91]، بعد تجفيف العينات نتركه يبرد عند درجة حرارة الغرفة ثم يطحن إلى مسحوق ناعم ومتجانس لأن زيادة نعومة المسحوق تساوي مساحة سطح أكبر وزيادة في مردود الإستخلاص[57]، وتم طحنه بواسطة مطحنة كهربائية والتشغيل فيها يكون متقطع وذلك لتجنب سخونة العينات ويكون متوسط النعومة.

**الأزهار:**

تم أخذ الأزهار مع القنابات المحيطة بها، ثم قمنا بتجفيفها في الظل تحت درجة حرارة عادية مع القيام بتقليبها من حين إلى آخر لضمان التجفيف الجيد ومنع تعفن النبات في حالة ارتفاع الرطوبة، وهذا بعد غسلها ونزع كل الغبار والشوائب العالقة بها، ولا تطحن بل نستعملها بعد تجفيفها مباشرة.

**اللبن النباتي:**

يتم جمعه بقطع نهايات فروع الجزء الهوائي من النبات بواسطة شفرة حادة ويكون ذلك في الصباح الباكر، ثم يتم تجفيفه في درجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء والرطوبة ، في حالة عدم إستعمال العينة مباشرة فيجب حفظها عند درجة حرارة °C 4 [49].

## 3.IV. المواد والأدوات والأجهزة الستعملة:

**الجدول(1.IV):** المواد والأدوات والأجهزة المستعملة:

| المواد | الأدوات | الأجهزة |
|---|---|---|
| - إيثانول (99.9%)<br>- محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$<br>- محلول كربونات الصوديوم $Na_2CO_3$<br>- حمض الهيدروكلوريك HCl<br>- كاشف ماير<br>- هكسان<br>- إيثر بترولي<br>- ميثانول $CH_3OH$<br>- كلوروفورم<br>- محلول الأمونياك $NH_4OH$<br>- كاشف فولين<br>- محلول كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$<br>- حمض الغاليك<br>- الكيرستين<br>- جذر ثنائي الفينيل بيكريل هيدرازيل DPPH<br>- زلال البيض (15%)<br>-الماء المقطر | - بيشر (25ml- 50ml-<br>150ml- 600ml-1000ml)<br>- قمع بوخنر<br>- حوجلة بوخنر<br>- ورق ترشيح<br>- قمع الفصل (50ml-500ml)<br>-إرلن ماير(250ml)<br>- حامل<br>-ماصة (5ml)<br>- الماصة الدقيقة<br>- خلية القياس (كيوفيت)<br>- أنابيب إختبار (5ml)<br>- أطباق بتري<br>- أقراص ورقية معقمة<br>- ممسحة وعصا معقمة<br>- محرك مغناطيسي<br>- مسترجع مغناطيسي<br>- ملعقة مخبرية (سباتولا)<br>- مخبار مدرج ( 10ml-<br>100ml)<br>-قارورات زجاجية صغيرة<br>(5ml) | - فرن التجفيف<br>- مطحنة كهربائية<br>- مضخة<br>- جهاز المبخر الدوار<br>- جهاز المطيافية UV_Vis<br>- ميزان إلكتروني حساس<br>- ميزان عادي<br>- جهاز ال pH<br>- ثلاجة<br>- حمام مائي<br>- حاضنة |

**- المستخلصات المدروسة:**

- **مستخلص الفينولات للساق والأوراق E1**
- **مستخلص الفينولات للأزهار E2**
- **مستخلص الفينولات للبن النباتي E3**
- **مستخلص القلويدات للساق والأوراق E4**

## IV.4. الكشف الكيميائي للمستخلصات:

### IV.4.1. الكشف عن الفينولات والفلافونويدات:

قمنا بوزن كتلة معينة من مطحون الساق والأوراق وكذلك الأزهار وإضافة لها مزيج عضوي مائي (إيثانول70% +ماء30%)، بحيث يجب استعمال نسبة جزء واحد من المادة النباتية إلى ثلاثة أجزاء من المذيب (1 المذاب/3المذيب)، يرجّ المزيج لمدة ساعتين في درجة حرارة المخبر، ثم نتركه في الظلام لمدة 72ساعة عند درجة حرارة الغرفة، بعدها نرشح الخليط تحت الفراغ ونجففه للحصول على المستخلص الخام.

#### IV.4.1.1. الكشف عن الفينولات:

نعالج المستخلص الإيثانولي بواسطة قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ بتركيز% 5 المحضر حديثا ، ويظهر لون أزرق مسود يدل على وجود المركبات الفينولية[92].

#### IV.4.1.2. الكشف عن الفلافونويدات:

نأخذ 20ml من المستخلص الإيثانولي، ونمزجه في 1ml من كربونات الصوديوم $Na_2CO_3$ تركيزه 0.5 M ، ويظهر لون أصفر برتقالي يدل على وجود الفلافونويدات [93].

## IV.5. إستخلاص المنتجات الفعالة:

### IV.5.1. تعريف الإستخلاص:

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 فيطلق عليه استخلاص صلب – سائل، ولهذا الأخير عدة عوامل تؤثر عليه منها درجة الحرارة، الضغط، وطبيعة المذيب المستعمل[94][95][96].

### IV.5.2. الإستخلاص (صلب-سائل):

هو عملية يتم فيها استخدام مذيب سائل لاستخراج مادة قابلة للذوبان من مادة صلبة، وذلك بنقع المادة الصلبة في مذيب مناسب، وتركه لمدة زمنية معينة مع التحريك من حين إلى آخر عند الضغط ودرجة حرارة معينة وزمن محدد، وبهذه الطريقة يتم إنتقال المركبات الفعالة من المادة الصلبة إلى المذيب [97][98].

**الإستخلاص على البارد (النقع):**

تعتمد هذه التقنية على وضع المادة الخامة في مذيب محدد، بحيث يكون حجم المذيب يغطي ثلث المادة الخامة (المذاب1/ المذيب3)، تترك لمدة زمنية معينة مع التحريك من حين إلى آخر عند درجة حرارة الغرفة، وبهذه الطريقة يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الخامة إلى المذيب، ثم بعد ذلك نقوم بالترشيح لفصل الطور السائل عن المادة الصلبة [97].

**3.5.IV. إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *E. guyoniana*:**

**الساق والأوراق:**

نأخذ 50g من المادة الجافة، وننقعها في 500ml من الإيثر البترولي، وتُرج لمدة ساعتين، وتترك لمدة 24 ساعة في الظلام، بدرجة حرارة المخبر، ثم نرشح بطريقة الترشيح تحت الفراغ، بعد ذلك نقوم بتجفيف العينة ونضيف لها 500ml من (إيثانول70% +ماء30%)، ويرج لمدة ساعتين، ويترك مدة 72ساعة، ثم نرشح المزيج بعد ذلك نقوم بتركيزه بواسطة جهاز التبخيرالدوار (*Rotavapeur*) عند 50C°، ثم نقوم بعملية التنقية بإضافة كمية من الميثانول، ونعيد تركيزه لنحصل في الأخير على المستخلص الخام.

**الأزهار:**

نأخذ 30g من المادة الجافة، وننقعها في 300ml من الإيثرالبترولي، ثم ترج مدة ساعتين، ونتركه مدة 24 ساعة في الظلام، عند درجة حرارة المخبر، ثم نرشح المزيج بطريقة الترشيح تحت الفراغ، ونجفف العينة ثم نضيف لها 300ml من (إيثانول 70% +ماء30%)، وترج مدة ساعتين، ويترك 72ساعة ثم نرشح المزيج، بعد ذلك نقوم بتركيزه بواسطة جهاز التبخير الدوّار(*Rotavapeur*) عند درجة الحرارة 50C°، ثم نقوم بعملية التنقية بإضافة كمية قليلة من الميثانول، ونعيد تركيزه لنتحصل في الأخيرعلى المستخلص النهائي الخام.

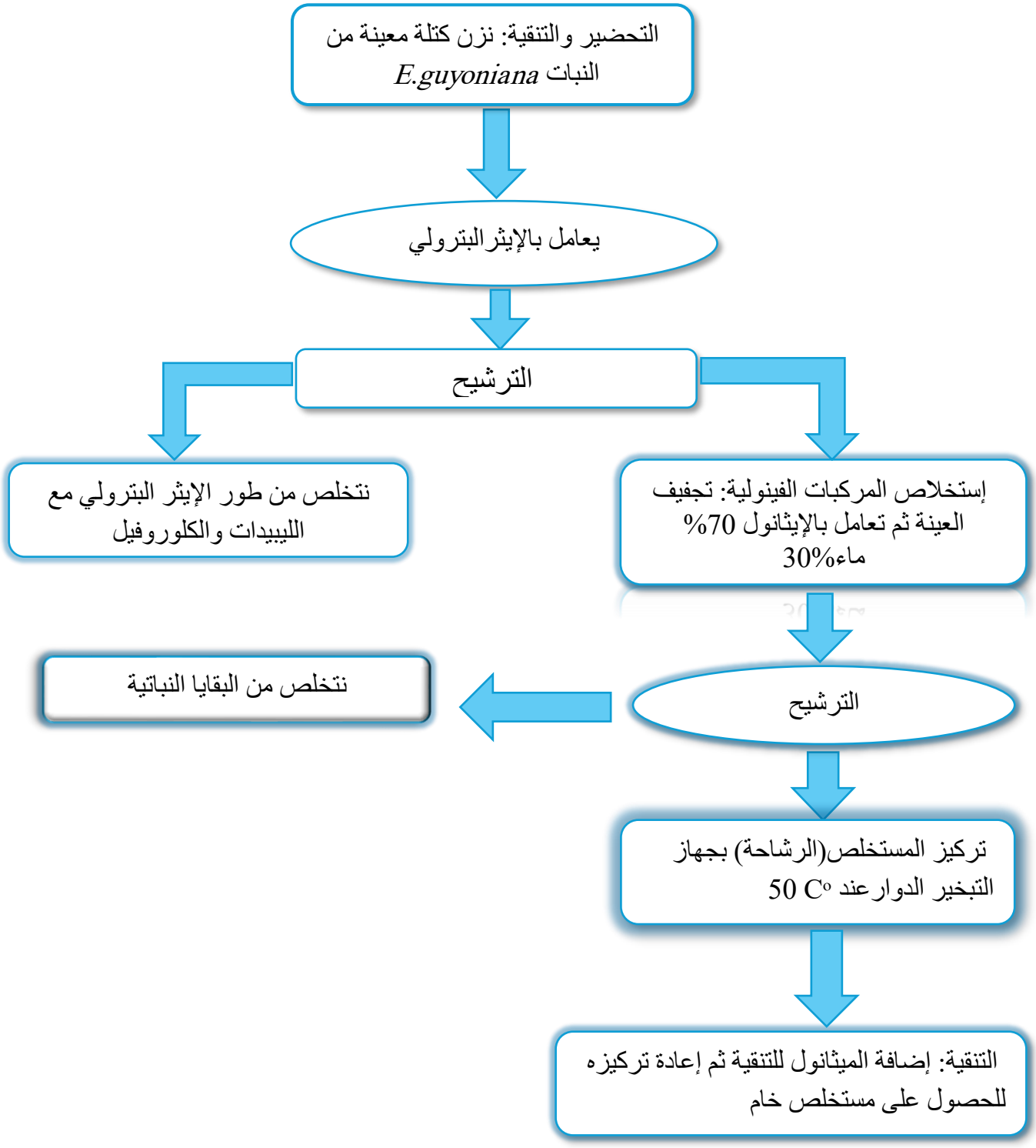
**اللبن النباتي:**

نأخذ كتلة قدرها 3.149g، نضيف لها 5ml من (إيثانول70% +ماء30%) و5ml من الهكسان، ويرج مدة ساعتين، ونتركه مدة 72ساعة، فتتشكل طبقتين نفصلها بقمع الفصل، فنتخلص من طبقة الهكسان مع المركبات الدهنية، ونحتفظ بطبقة الإيثانول والماء مع المركبات الفينولية، نقوم بترشيحها ثم تجفيفها بواسطة غرفة التجفيف عند 50C° لنحصل في النهاية على المستخلص النهائي.

**-مراحل استخلاص المركبات الفينولية لنبات E.guyoniana:**

| | | |
|---|---|---|
| | | |
| مرحلة التجفيف | مرحلة الطحن | مرحلة الوزن |
| | | |
| مرحلة النقع في الإيثر البترولي | مرحلة الترشيح | مرحلة النقع في (70%إيثانول 30%ماء) |
| | | |
| مرحلة الترشيح | مرحلة التركيز | مرحلة التجفيف |
| | | |
| المستخلصات الخام | | |

**الشكل (1.IV):** مراحل إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *E. guyoniana*



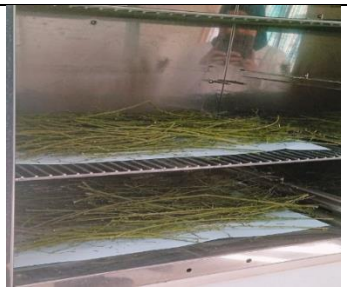
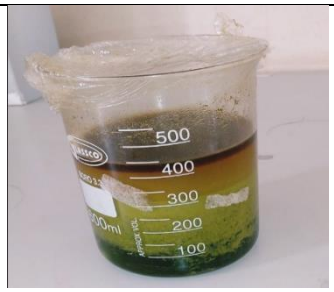
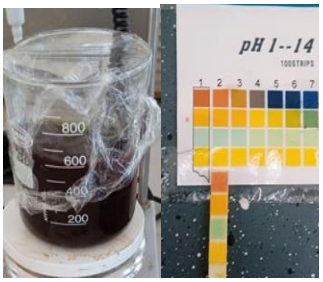

**الشكل (2.IV):** مخطط يوضح مراحل إستخلاص المركبات الفينولية لنبات *E.guyoniana*

### 4.5.IV. إستخلاص أملاح القلويدات من نبات *E. guyoniana*:

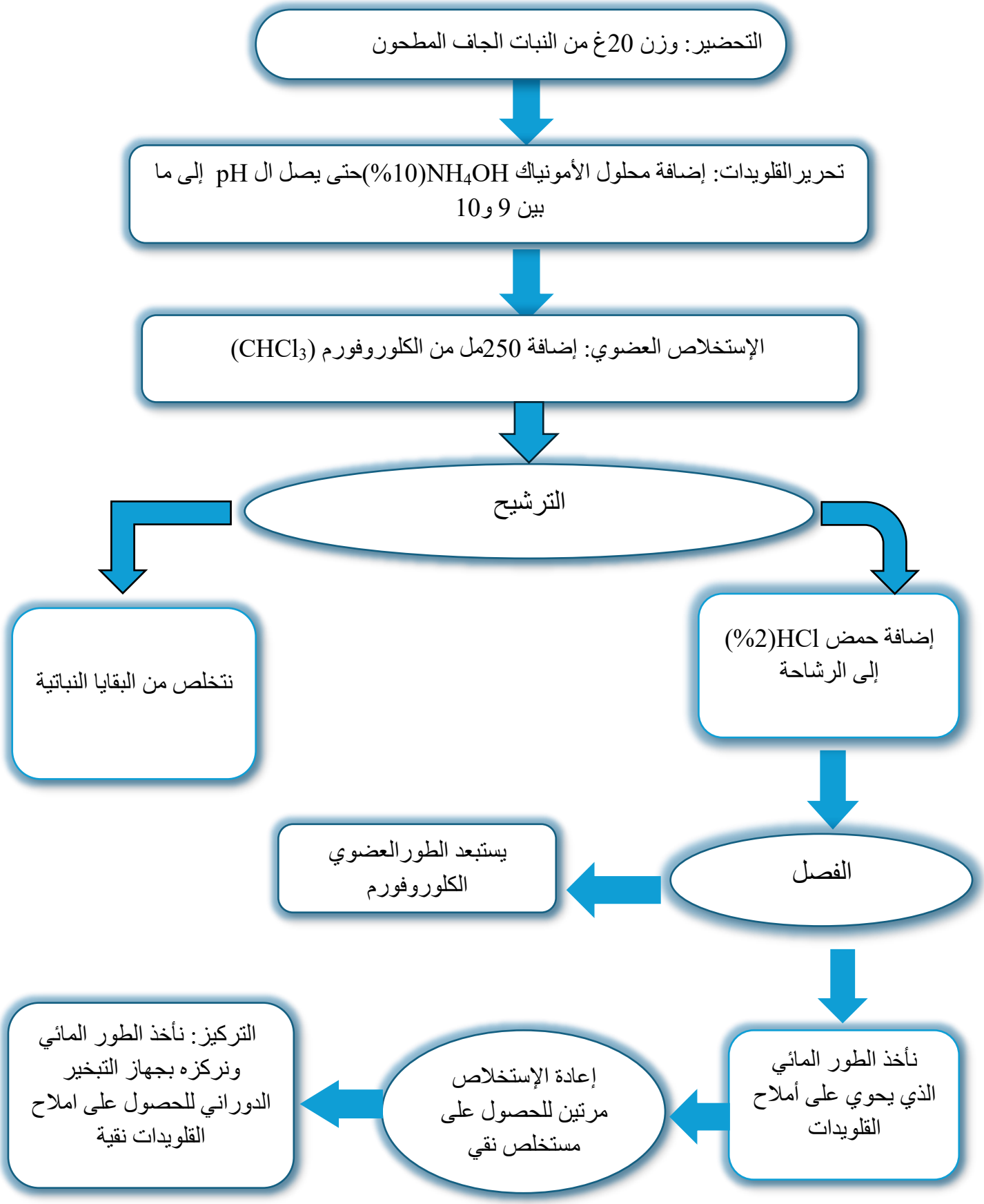
نأخذ 20g من العينة الجافة المطحونة للساق والأوراق، ونضيف له محلول الأمونياك $NH_4OH$(10%)، حتى يصل ال pH إلى ما بين 9 و10، من أجل تحرير القلويدات، حيث تذوب القلويدات في المذيب العضوي الغير القطبي، فنضيف لها 250ml من الكلوروفورم($CHCl_3$)، ويرج مدة ساعتين،

ونتركه لمدة 48 ساعة ثم نقوم بترشيح المستخلص، ويعامل بالحمض حتى الحامضية عند pH=2، بواسطة HCl(2%) ، نفصل الطبقة المائية عن العضوية، ونأخذ الطور المائي لأن القلويدات على شكل أملاح في الطبقة المائية ونعيد الإستخلاص مرتين للحصول على مستخلص نقي، نركز المحلول ثم نجففه ونحصل على أملاح قلويدات [99].

**-مراحل إستخلاص أملاح القلويدات لنبات *E.guyoniana* :**

| | | |
|---|---|---|
|  | | |
| مرحلة التجفيف | مرحلة الطحن | مرحلة الوزن |
| | |  |
| تعديل الوسط إلى وسط قاعدي | مرحلة النقع في الكلوروفورم | صورة للمستخلص بعد 48ساعة من النقع |
| |  | |
| مرحلة الترشيح | مرحلة تعديل الوسط إلى وسط حامضي | مرحلة الفصل |
| | | |
| مرحلة التركيز والتجفيف | المستخلص الخام | |

**الشكل (3.IV):** مراحل إستخلاص أملاح القلويدات لنبات *E.guyoniana*




**الشكل (4.IV):** مخطط يوضح مراحل إستخلاص أملاح القلويدات لنبات *E.guyoniana*

### 5.5.IV. تقدير مردود الإستخلاص:

المردود هو نسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة والمستخلصة ويحسب بالعلاقة التالية:

$$R\% = (m_f / m_i) \times 100$$

بحيث:

**$m_f$:** كتلة المستخلص (g).

**$m_i$:** كتلة النبتة الجافة (g).

**R%:** نسبة مردود المستخلصات.

## 6.IV. التقدير الكمي للمركبات الفينولية الكلية TPC بواسطة الأشعة *UV-Visible*:

يتم تقديرالمحتوى الإجمالي للمركبات الفينولية، بإستخدام الطريقة اللونية ل Singleton-Rossi (1965)، وذلك بإستخدام كاشف Folin–Ciocalteu[100]، ويعد هذا الكاشف مزيجا معقدا من الأحماض الفوسفوموليبدينية والفوسفوتنغستية مثل ($H_3PW_{12}O_{40}$) و($H_3PMo_{12}O_{40}$). تتعرض هذه المركبات للإختزال بوجود الفينولات، ممّا يؤدي إلى تكوّن معقدات من أكاسيد التنغستن والموليبدينوم ($W_8O_{23}$ و$Mo_8O_{23}$) ذات لون الأزرق، وتتناسب شدة هذا اللون طرديا مع تركيز المركبات الفينولية في العينة، ويتم قياس الإمتصاصية بإستخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية–المرئية (UV-Vis)، مع إعتماد حمض الغاليك (*Acid gallic*) كمرجع قياسي، عند طول موجي أقصاه 765 نانومتر[101].

### 1.6.IV. المنحنى القياسي لحمض الغاليك *Acide Gallique*:

حضرنا محلول قياسي مرجعي من حمض الغاليك بتراكيز مختلفة تتراوح بين (mg/ml) [0.3-0.05], و أخذنا 1ml من كل تركيز ووضعناه في أنبوب إختبار، ثم أضفنا إليه 0.5ml من كاشف Folin–Ciocalteu) الممدد عشر مرات، وبعد مرور5 دقائق أضفنا 2ml من محلول كربونات الصوديوم ($Na_2CO_3$) بتركيز 7.5% ، نقوم بمزج الأنابيب ونتركه في الظلام عند درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، بعد ذلك نقيس الإمتصاصية بإستعمال جهاز الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-Vis) عند طول موجي 765nm .

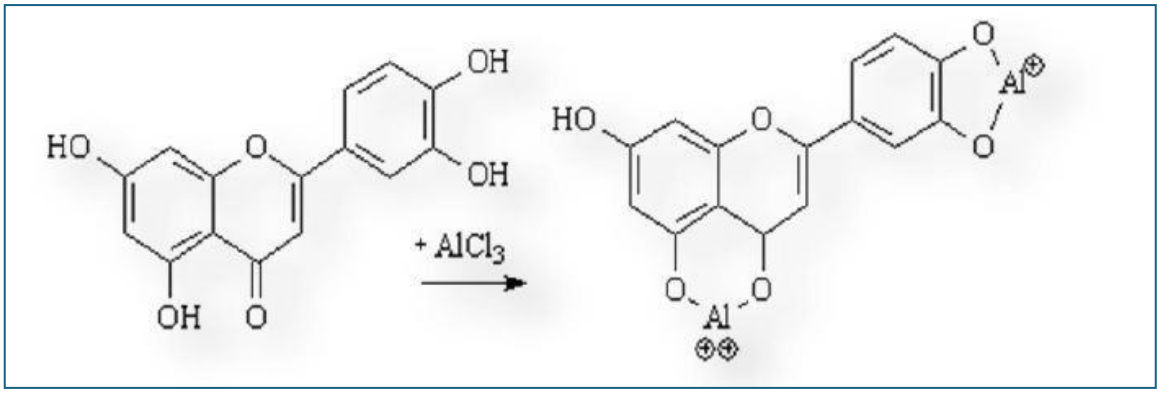
### 2.6.IV. التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات:

قمنا بتحضير محاليل ممددة من المستخلصات تتراوح بين (mg/ml) [0.8 –0.2]، ثم أخذنا 1ml من كل تركيز، ووضعناه في أنبوب اختبار، و أضفنا إليه 0.5ml من كاشف (Folin–Ciocalteu) الممدّد عشر مرات، وبعد مرور5 دقائق نضيف 2ml من محلول كربونات الصوديوم ($Na_2CO_3$(7.5%)، نمزج

الأنابيب جيدا ونتركه في الظلام عند درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، بعد ذلك نقوم بقياس الإمتصاصية باستعمال جهاز الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-Vis) عند طول موجي 765nm [102].

## 7.IV. التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدية الكلية TFC بواسطة الأشعة UV_Visble:

يتم تحديد المحتوى الكلي للفلافونويدات باستخدام الطريقة اللّونية المعتمدة على كلوريد الألمنيوم، وفق طريقة Woisky وSalatino، تعتمد هذه التقنية على تفاعل أيونات الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعات الهيدروكسيل (OH) الموجودة في البنية الكيميائية للفلافونويدات، ويؤدي ذلك إلى تكوّن معقّد ملوّن يميل إلى الأصفر، وهو دليل على وجود هذه المركبات، ويتم قياس شدة هذا اللون باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV-Visible)، حيث تُسجَّل الإمتصاصية عادةً عند طول موجي يقارب 420nm، وتعد قيمة الإمتصاص المسجلة مؤشراً كمياً على تركيز الفلافونويدات في العينة، إذ تزداد بزيادة تركيزها، ممّا يسمح بتقدير محتواها إعتماداً على منحنى معايرة مناسب [103].




**الشكل (5.IV):** آلية تشكيل المعقد الأصفر [103]

### 1.7.IV. المنحنى القياسي للكرستين *Quercetine*:

أضفنا 1ml من محلول كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز (2%) إلى 3ml من المحلول القياسي (Quercetin)، وكانت تراكيز الكرستين محصورة بين (mg/ml) [0.005-0.015]، نترك المزيج لمدة 15دقيقة في الظلام عند درجة حرارة الغرفة، ثم بعد ذلك نقوم بقياس إمتصاصية مزيج التفاعل بإستخدام جهاز المطياف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV/Visible)، عند طول موجيnm 420 .

### 2.7.IV. التقدير الكمي للفلافونويدات الكلية في المستخلصات:

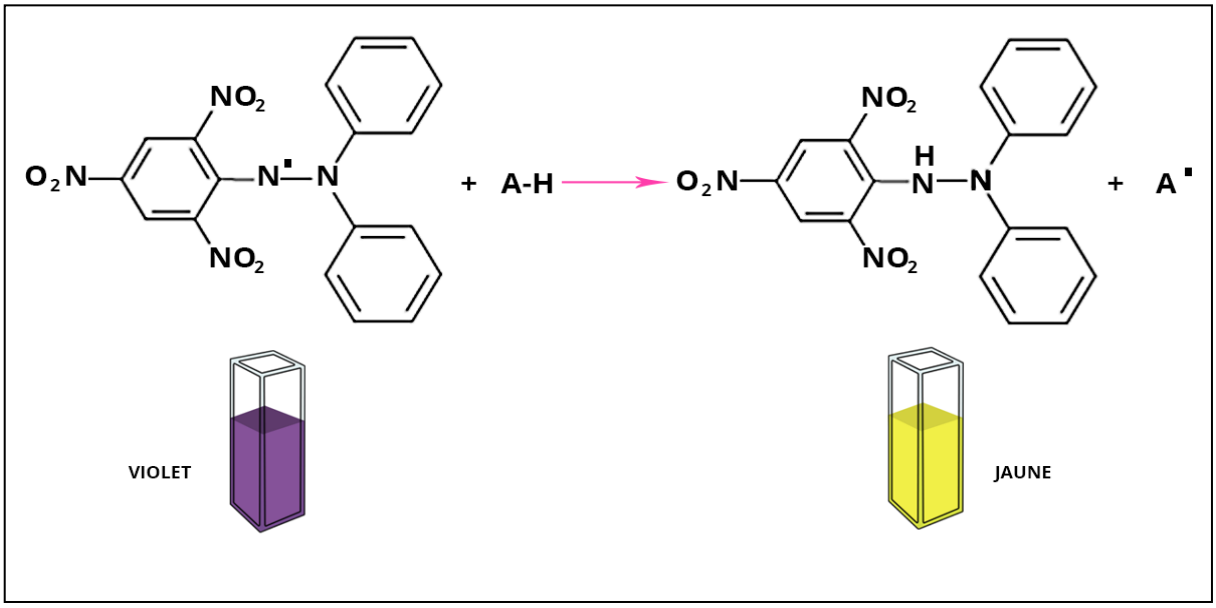
قمنا بتحضير تراكيز من المستخلص محصورة ما بين (ml/mg) [0.8 -0.3]، ثم إضافة 1ml من محلول كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز2% إلى 3ml من المستخلص العضوي، نترك المزيج لمدة 15 دقيقة في الظلام عند درجة حرارة الغرفة، ثم نقوم بقياس إمتصاصية مزيج التفاعل، وذلك باستخدام جهاز المطياف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية-المرئية (UV/Visible) عند طول موجي 420nm [104]

## 8.IV. الفعالية البيولوجية للمستخلصات:

### 1.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بإستخدام DPPH•:

#### 1.1.8.IV. تعريف إختبار تثبيط الجذر الحر DPPH•:

تعتمد هذه الطريقة على قياس القدرة المضادة للأكسدة، من خلال تفاعل الجذر الحر DPPH•، مع المواد القادرة على منح الهيدروجين أوالإلكترونات، ممّا يؤدي إلى اختزاله وتحول لونّه من البنفسجي إلى الأصفر، ويتم تحديد النشاط المضاد للأكسدة عبرإنخفاض الإمتصاص عند 517nm، حيث يدل هذا الانخفاض على قدرة المركبات على تثبيط الجذور الحرة [69][70].




**الشكل (6.IV)**: آلية إختزال الجذر الحر DPPH• بواسطة مضادات الأكسدة [65].

#### 2.1.8.IV. تحضير محلول ال DPPH:

حضرنا في البداية محلول DPPH ذو تركيز 0.1mM، وذلك بإذابة 4mg في 100mlمن الميثانول [107][108]، نضع المحلول داخل قارورة مغطاة بورق الألمنيوم لحمايته من الضوء ثم نضعه على جهازالتحريك لمدة 30 دقيقة لضمان الذوبان التام [107].

#### 3.1.8.IV. المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك:

قمنا بتحضير المحلول الأم بتركيز 1mg/ml من حمض الأسكوربيك الذي يعتبر شاهد مرجعي، وأجرينا عملية تمديد باستخدام الميثانول للحصول على سلسلة من التراكيز تتراوح بين (mg/ml) [0.2-0.01]، أخذنا من كل تركيز حجم 100µL،ثم أضفنا إليه 900µL من محلول DPPH المحضر مسبقًا،

بعد ذلك مزجنا المحاليل وتركناها في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، ثم قمنا بقياس الإمتصاصية لكل عينة عند طول موجي 517nm ، باستخدام جهاز *UV-Vis* [107].

### 4.1.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة ب $DPPH^{\bullet}$ للمستخلصات:

قمنا بتحضير المحلول الأم بتركيز 2mg/ml من المستخلصات المدروسة، انطلاقا من هذا التركيز قمنا بتمديد المستخلصات، باستخدام الميثانول للحصول على سلسلة من التراكيز تتراوح بين (mg/ml) [0.05-2]، وضعنا في كل أنبوب إختبار حجم 100µL من المستخلصات ، ثم أُضيف إليه 900µL من محلول DPPH المحضر مسبقا، بعد ذلك قمنا بمزج الأنابيب وتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، نقيس الإمتصاصية لكل عينة باستخدام جهاز UV-Vis عند طول موجي 517nm [107].

### 5.1.8.IV. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$:

يتم حساب نسبة التثبيط للجذر الحر وفق العلاقة التالية:

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

بحيث:

$A_o$ : إمتصاصية الشاهد عند الطول الموجي 517 nm

A : إمتصاصية العينة بعد 30 دقيقة عند 517 nm

I% : نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة لجذر DPPH

## 2.8.IV. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام إختبار تمسخ البروتين:

### 1.2.8.IV. تعريف إختبار الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام إختبار تمسخ البروتين:

الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام إختبار تمسخ البروتين يقصد بها قدرة المركب أوالمستخلص على تثبيط أو تقليل تمسخ البروتينات، الذي نتج عن تأثير العوامل الفيزيائية أوالكيميائية مثل الحرارة، وتمسخ البروتين يُعد من الظواهر المرتبطة بحدوث الإلتهاب في الجسم، وعليه فإن المواد التي تمتلك القدرة على حماية البروتينات ومنع تغير بنيتها تُعتبر ذات فعالية مضادة للإلتهاب [77].

### 2.2.8.IV. المنحنى القياسي للأسبرين:

وفقا لطريقة Gheraissa (2022) مع بعض التعديلات، تم في أنابيب إختبار مزج 1ml من بياض البيض (15%) مع 1ml من دواء الأسبرين ذو تراكيز مختلفة، ثم تم إضافة 20µL من حمض

الهيدروكلوريك (N1)، وحُضن المزيج عند 27 C° لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك تم تسخينه في حمام مائي عند70C° لمدة 10دقائق، ثم نتركه ليبرد، ثم قُرأت الإمتصاصية عند660nm [102].

### IV.3.2.8. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب باستخدام طريقة تمسخ البروتين:

نمزج 1ml من بياض البيض بتركيز 15% مع 1ml من المستخلصات المدروسة بتراكيز تتراوح بين (mg/ml) [0.01-1.5]، ثم نقوم بإضافة 0.2 ml من حمض الهيدروكلوريك بتركيز (1N)، بعد ذلك نحضن المزيج عند 27C° لمدة 15 دقيقة، ثم نسخنه في حمام مائي عند 70C° لمدة 10 دقائق، ونتركه يبرد، ثم نقيس الإمتصاصية عند طول موجي660 nm [102].

### IV.4.2.8. حساب نسبة تثبيط تمسخ البروتين:

يتم حساب نسبة تثبيط تمسخ البروتين بالعلاقة التالية:

$$I\ \% = [\ (A–B)\ /A] \times 100$$

بحيث:

B : إمتصاصية الشاهد عند 660nm.

A : إمتصاصية العينة.

I% : نسبة تثبيط العامل المضاد لتمسخ البروتين

### IV.3.8. الفعالية المضادة للبكتيريا:

تمت دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات النباتية على مستوى مخبر المجد للتحاليل الطبية بولاية الوادي، أختبر النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصين نباتيين معدين من جزأين مختلفين من النبات المدروس، هما مستخلص الساق والأوراقE1 ومستخلص الأزهارE2 باستخدام طريقة الإنتشار بالأقراص، وذلك على سلالتين بكتيريتين مرجعيتين

- *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*(سالبة الغرام).
- *Staphylococcus aureus ATCC 25932* (موجبة الغرام).

### IV.1.3.8. طريقة العمل:

قبل البدء في العمل يجب القيام بعملية التعقيم والتنظيف الجيد لجميع الأدوات ومكان العمل، وذلك لضمان سلامة التجربة.

**تحضير محاليل المستخلصات الخام:**

يتم تحضير محاليل مختلفة من المستخلصين بتراكيز (mg/ml) [10-20-40-80]، حيث تذاب المستخلصات الفينولية في (DMSO).

**تحضير الأقراص (وسط الزرع) وتعقيمها وتشبيعها بالمستخلصات:**

يتم تحضير الأقراص باستعمال ورق (Whatmans N°3) بقطر(6mm)، ثم توضع داخل أنبوب اختبار مغلق وتعقم لمدة (30min) عند درجة حرارة 180C° بإستعمال فرن باستور(Pasteur Oven)، بعد ذلك يتم تشبيع الأقراص بالتراكيز المحضرة مسبقا من المستخلصات بمقدار 40µl قبل وضعها في الوسط البكتيري.

**- تحضير المعلق البكتيري:**

باستخدام عود قطني تؤخذ الجذمة البكتيرية وتوضع في أنبوب اختبار يحتوي على 3ml من الماء الفيزيولوجي المعقم، ثم يُرج جيدا حتى يتجانس المحلول مع العمل بالقرب من موقد بنزن لتجنب تلوث الوسط البكتيري، بعد ذلك يُزرع المعلق البكتيري في علبة بتري، حيث يتم مسح سطح الوسط بالعود القطني لتوزيع البكتيريا بشكل منتظم على كامل السطح.

**- تشبيع الأقراص بتراكيز المستخلصات:**

توضع الأقراص المشبعة بالتراكيز المحضرة مسبقاً للمستخلصات الفينولية داخل علب بتري باستعمال ملقط معقم، مع الحرص على وضع الأقراص بعيداً عن حافة العلبة وعلى مسافات متساوية فيما بينها، ثم تُغلق العلب للتخلص من بخار الماء، وتوضع بعد ذلك في الحاضنة عند درجة حرارة 37 C° لمدة 24 ساعة [109][110].

**الشكل (7.IV):** صور توضح طريقة العمل لتقدير الفعالية المضادة للبكتيريا

# الفصل الخامس:

# النتائج والمناقشة

## 1.V. نتائج الكشف الكيميائي:

### المستخلص E1:

**الكشف عن الفينولات:**

يظهر **الشكل (1. V)** النتيجة المحصل عليها عند الكشف عن المركبات الفينولية في المستخلص E1، حيث نلاحظ بوضوح تلون المستخلص بالأزرق المسود الداكن بعد إضافة كاشف كلوريد الحديد $FeCl_3$، مما يؤكد وجود المركبات الفينولية، ويعود هذا التغير اللوني إلى تشكل معقدات تناسقية بين أيونات الحديد الثلاثي ومجموعات الهيدروكسيل الفينولية الموجودة في المستخلصE1.

**الكشف عن الفلافونويدات:**

يظهر **الشكل (2. V)** التغير اللوني الناتج عن اختبار الكشف عن الفلافونويدات للمستخلص E1، حيث أدّى إضافة الكاشف $Na_2CO_3$ إلى ظهور لون أصفر برتقالي، مما يثبت احتواء المستخلص E1على هذه الفئة من المركبات، تعكس شدة اللون الملاحظة بصرياً وجود كمية معتبرة من الفلافونويدات التي تتفاعل مع الكاشف لتعطي هذا المركب الملون.

وكانت النتائج كتالي:

**الشكل (1. V):** نتائج اختبار الكشف النوعي عن الفينولات في المستخلص E1

**الشكل (2. V):** نتائج اختبار الكشف النوعي عن الفلافونويدات في المستخلص E1

### المستخلص E2:

**الكشف عن الفينولات:**

تظهر نتائج الكشف الموضحة في **الشكل (3. V)** وجود المركبات الفينولية في مستخلص الأزهار $E_2$، حيث تشكل لون الأزرق الداكن المسود شديد الكثافة عند إضافة كاشف $FeCl_3$.

**الكشف عن الفلافونويدات:**

أدى إضافة كربونات الصوديوم إلى مستخلص الأزهار **الشكل (4. V)** إلى ظهور اللون الأصفر الفاقع البرتقالي الواضح، تؤكد هذه النتيجة الإيجابية ثراء الأزهار بالفلافونويدات وهي نتائج منطقية بالنظر إلى الدور البيولوجي لهذه المركبات في تلوين بتلات الأزهار وحمايتها من الأشعة فوق البنفسجية (UV) [8].

**الشكل (3. V)**: نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفينولات في المستخلص E2

**الشكل (4. V)**: نتائج إختبار الكشف النوعي عن الفلافونويدات في المستخلص E2

يظهر من خلال النتائج المتحصل عليها أنّ المستخلصين E1و E2، غنيان بالفينولات والفلافونويدات، ممّا يعكس ثراء المادة النباتية بهذه المنتجات التي لها أهمية صيدلانية وبيولوجية.

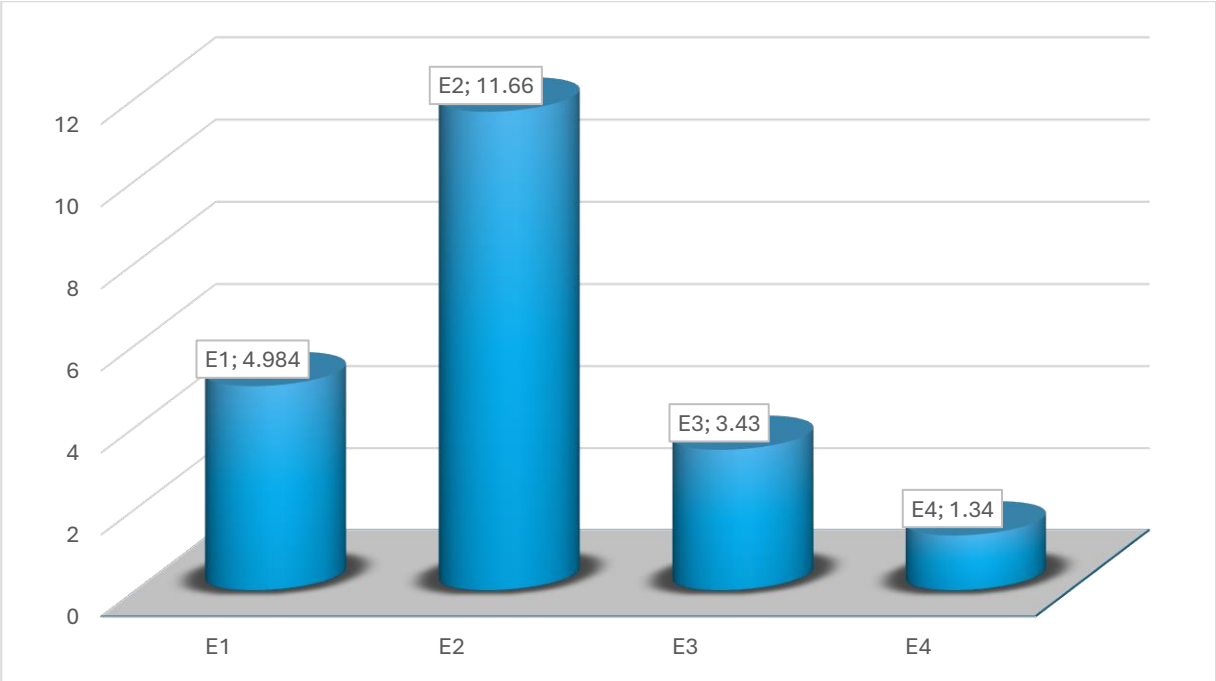
النتائج المتحصل عليها توافق مع ماتحصل عليه الباحثَين Arroussi Sarah و fenniche Chaima (2020) [111] وكذلك الباحثين سارة بن علي وعلاء الدين دريال وكوثر دويس (2021) [112].

## 2.V. مردود الإستخلاص:

بعد عملية الإستخلاص لمواد الأيض الثانوي تم تقدير المردود ب (%) والنتائج مدونة في الجدول التالي:

**الجدول (1.V):** مردود الإستخلاص للمستخلصات المدروسة

| | مستخلص الفينولات للساق والأوراق E1 | مستخلص الفينولات للأزهار E2 | مستخلص الفينولات للاتكس E3 | مستخلص القلويدات للساق والأوراق E4 |
|---|---|---|---|---|
| **الكتلة الابتدائية (g)** | 50 | 30 | 3.194 | 20 |
| **الكتلة النهائية (g)** | 2.492 | 3.498 | 0.108 | 0.2681 |
| **المردود (%)** | 4.984 | 11.66 | 3.43 | 1.34 |




**الشكل (5. V):** أعمدة بيانية تمثيل قيم مردود المستخلصات المدروسة لنبات *E. guyoniana*

أظهرت نتائج الاستخلاص اختلافا في مردود المستخلصات النباتية المدروسة، حيث بلغ مردود مستخلص الفينولات للساق والأوراق 4.984% (E1)، في حين سُجل أعلى مردود في مستخلص الفينولات للأزهار (E2) بنسبة 11.66%. أما مستخلص الفينولات للبن النباتي (E3) فقد أعطى مردودًا قدره 3.43%، بينما سُجل أضعف مردود في مستخلص القلويدات للساق والأوراق (E4) بنسبة 1.34%.

وعند مقارنة نتائج هذه الدراسة بدراسات سابقة لنبات *E.guyoniana* نلاحظ أن بعض الدراسات سجلت مردودا مختلفا، مثل دراسة Arroussi Sarah وFenniche Chaima (2020) التي سجلت مردودا قدره 12.5% باستعمال خليط الميثانول والماء [111]، ودراسة سارة بن علي وعلاء الدين دريال وكوثر درويش (2021) التي سجلت مردودا قدره 10.08% باستعمال الماء المقطر و12.08% باستعمال الميثانول[112]، إضافة إلى دراسة شكيمة مريم وكرام زينب (2024) التي أعطت مردودا قدره 15.3% باستعمال الماء المقطر[113] كما بينت دراسة Ali Radja و Bettayeb Imane (2021) اختلاف المردود حسب المذيب، حيث بلغ 7.00% بالميثانول و 5.2 % بالكلوروفورم و 2.08% بثنائي كلورو الميثان [47]، كما أن دراسة Boumeza (2018) تمت باستعمال الماء المقطر و أعطت مردودا منخفضا (1.7%)[44]. ويعود التفاوت في قيم المردود بين الدراسات إلى اختلاف عدة عوامل، منها الجزء النباتي المستعمل، وطبيعة المذيب، وطريقة ومدة الاستخلاص، إضافة إلى اختلاف التركيب الكيميائي للنبات حسب ظروف النمو والجفاف منطقة التى أخذ منها ومراحل جمعه [114].

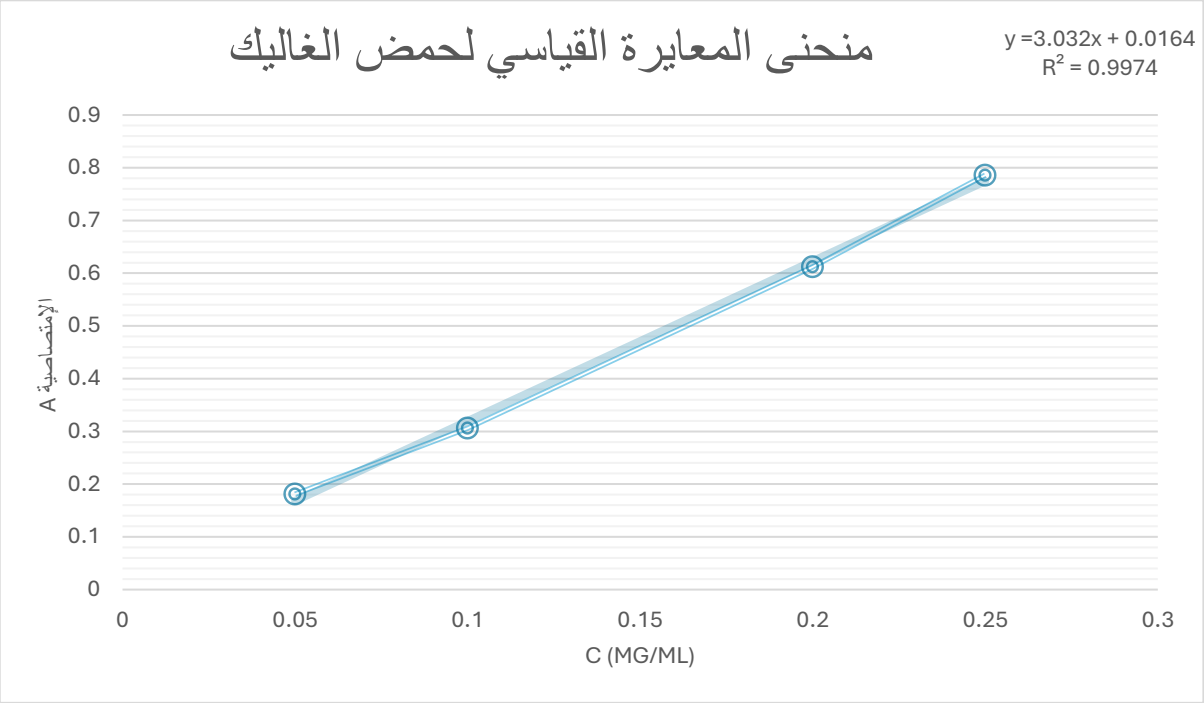
## 3.V. التقدير الكمي للمستخلصات:

### 1.3.V. التقدير الكمي للمركبات الفينولية TPC بواسطة UV-Vis:

انطلاقا من قيم الإمتصاصية لمحاليل حمض الغاليك نرسم المنحنى القياسي الذي يمثل الإمتصاصية بدلالة التركيز A=f(C) [102]

**الجدول (2.V)**: يمثل نتائج الإمتصاصية A لحمض الغاليك بدلالة التركيزC.

| **التركيز(mg/ml)** | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.25 |
|---|---|---|---|---|
| **الإمتصاصية A** | 0.181 | 0.306 | 0.612 | 0.786 |




**الشكل (6. V)**: المنحنى العياري لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلصات

تقدير كمية الفينولات الكلية للمستخلصين E1 وE2 بالاعتماد على طريقة كاشف ( Folin ciocalte)، وتم إستخدام المنحنى القياسي لحمض الغاليك كمرجع.

**الجدول (3.V)**: قيم الإمتصاصية وتركيز وكمية الفينولات الكلية للمستخلصات

| | مستخلص الفينولات للساق والأوراق E1 | | مستخلص الفينولات للأزهار E2 | |
|---|---|---|---|---|
| تركيز المستخلص mg/ml | 0.8 | 0.2 | 0.8 | 0.2 |
| الإمتصاصية A | 0.794 | 0.214 | 0.792 | 0.216 |
| تركيز الفينولات mg/ml | 0.2564 | 0.0651 | 0.2558 | 0.0605 |
| كمية الفينولات mgEAG/gext)) | 323.05 | 325.85 | 319.75 | 329.91 |

- معادلة المنحنى القياسي لحمض الغاليك:

$$y = 3.032x + 0.0164$$

- معادلة حساب كمية الفينولات في المستخلصات هي:

$$Q = (X / C) \times 1000$$

حيث:

Q : تمثل كمية الفينولات (mgEAG/gext)

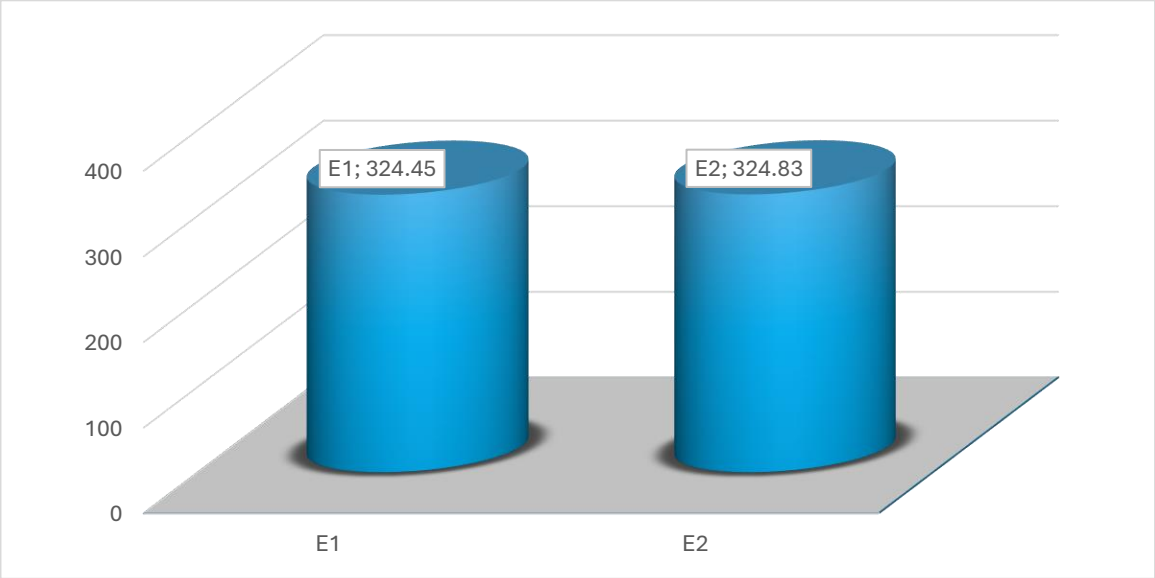
X : تمثل تركيز الفينولات (mg/mL)

C : تمثل تركيز المستخلص (mg/mL)

- تم تقدير المحتوى الكلي للمركبات الفينولية للمستخلصين E1 و E2 باستعمال طريقة كاشف (Folin–Ciocalteu reagent) بالاعتماد على المنحنى القياسي لحمض الغاليك، وتم التعبير عن النتائج بوحدة mg EAG/g Ext.

اعتمدت الدراسة على معادلة المنحنى القياسي التالية: **y=3.032x+0.0164**

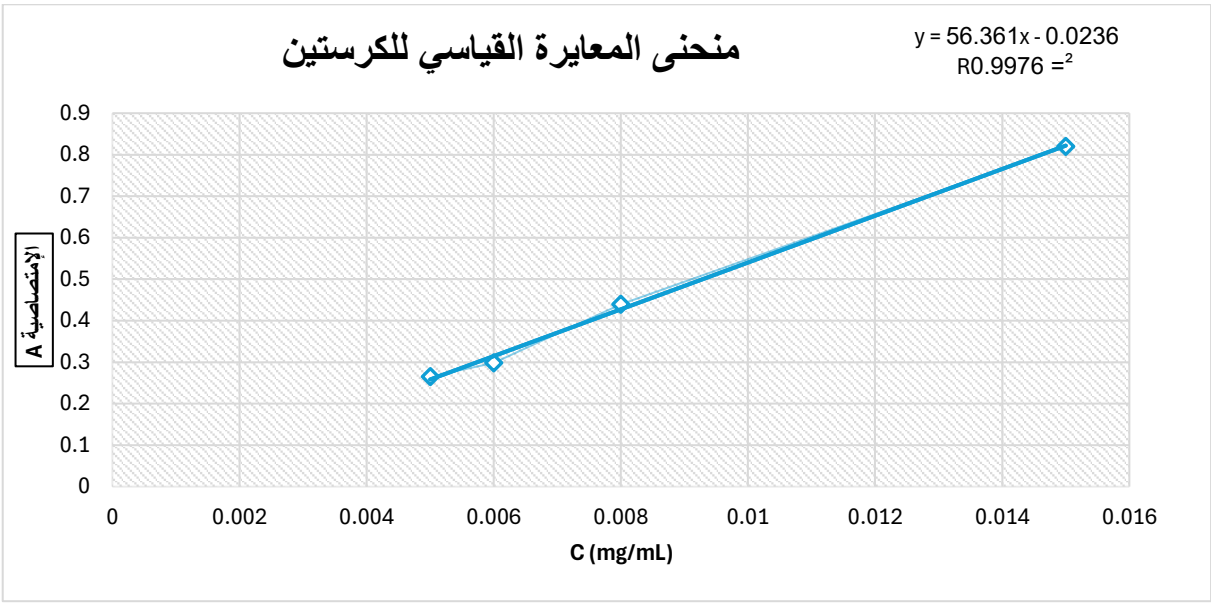
أظهرت النتائج أن المستخلصين يحتويان على نسب مرتفعة من المركبات الفينولية، حيث سجل المستخلص E1 القيم mg EAG/g ext ( 323.05 و325.85 ) في حين سجل المستخلص E2 القيم mg EAG/g ext (329.91 و319.75 ) ، و بالمقارنة مع الدراسات السابقة، نلاحظ أن محتوى الفينولات الكلي في مستخلصي هذه الدراسة كان مرتفعا مقارنة بعدة دراسات أُنجزت على نبات *E.guyoniana*، فقد أظهرت مذكرة Ali Radja وBettayeb Imane (2022)، اختلافا واضحا حسب المذيب المستعمل، حيث بلغت القيم 9.32±2.64 mg EAG/g باستعمال DCM، و 38.77± 2.31 mg EAG/g باستعمال CF، و75.13±9.77 mg EAG/g باستعمال الميثانول [48]، وفي المقابل تقاربت نتائجنا مع ما ورد في مقال Hhalima Meriem Issado (2025)، الذي سجل قيمة مرتفعة بلغت mg EAG/g 377.22±5.42 باستعمال الإستخلاص بالموجات فوق الصوتية [37]، والسبب الذي جعل دراستنا تعطي قيما مرتفعة لكمية الفينولات هو مرحلة إزالة الليبيدات واليخضور باستعمال الإيثر البترولي قبل الاستخلاص، حيث ساهمت في تركيز المركبات الفينولية وتقليل التداخلات أثناء الاستخلاص والقياس.




**الشكل (V .7)**: أعمدة بيانية تمثل التقدير الكمي للفينولات الموجودة في المستخلصين E1و E2.

**2.3.V. التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدية TFC بواسطة UV-Vis:**

**- إنطلاقا من قيم الإمتصاصية لمحاليل الكرستين نرسم المنحنى القياسي الذي يمثل الإمتصاصية بدلالة التركيز A=f(C) [104].**




**الشكل (V .8)**: المنحنى العياري القياسي للكرستين لتقدير الفلافونويدات في المستخلصين E1و E2

**الجدول (4.V)**: يمثل نتائج الإمتصاصية A للكرستين بدلالة التركيز C.

| التركيز(mg/ml) | 0.005 | 0.006 | 0.008 | 0.015 |
|---|---|---|---|---|
| الإمتصاصية A | 0.265 | 0.298 | 0.439 | 0.82 |

**التقدير الكمي للفلافونويدات TFC:**

تم تقدير كمية الفلافونويدات للمستخلصات بالاعتماد على كاشف كلوريد الألمنيوم الثلاثي $AlCl_3$، وتم إستخدام المنحنى القياسي للكرستين كمرجع.

**الجدول (5.V):** قيم الإمتصاصية وتركيز وكمية الفلافونويدات الكلية للمستخلصات

| | مستخلص الفينولات للساق والأوراق E1 | | مستخلص الفينولات للأزهار E2 | |
|---|---|---|---|---|
| **C تركيز المستخلص mg/mL** | **0.6** | **0.8** | **0.3** | **0.5** |
| **الإمتصاصية A** | **0.636** | **0.841** | **0.341** | **0.59** |
| **Xتركيز الفلافونويدات mg/mL** | **0.0117** | **0.0153** | **0.0064** | **0.0108** |
| **Q كمية الفلافونويدات (mgEQ/gext)** | **19.48** | **19.16** | **21.54** | **21.175** |

- معادلة المنحنى القياسي لحمض الكرستين هي:

$$y = 0.0564x - 0.0236$$

- معادلة حساب كمية الفلافونويدات في المستخلصات هي:

$$Q = (X / C) \times 1000$$

حيث:

Q : تمثل كمية الفلافونويدات (mgEQ/gext)

X : تمثل تركيز الفلافونويدات (mg/mL)

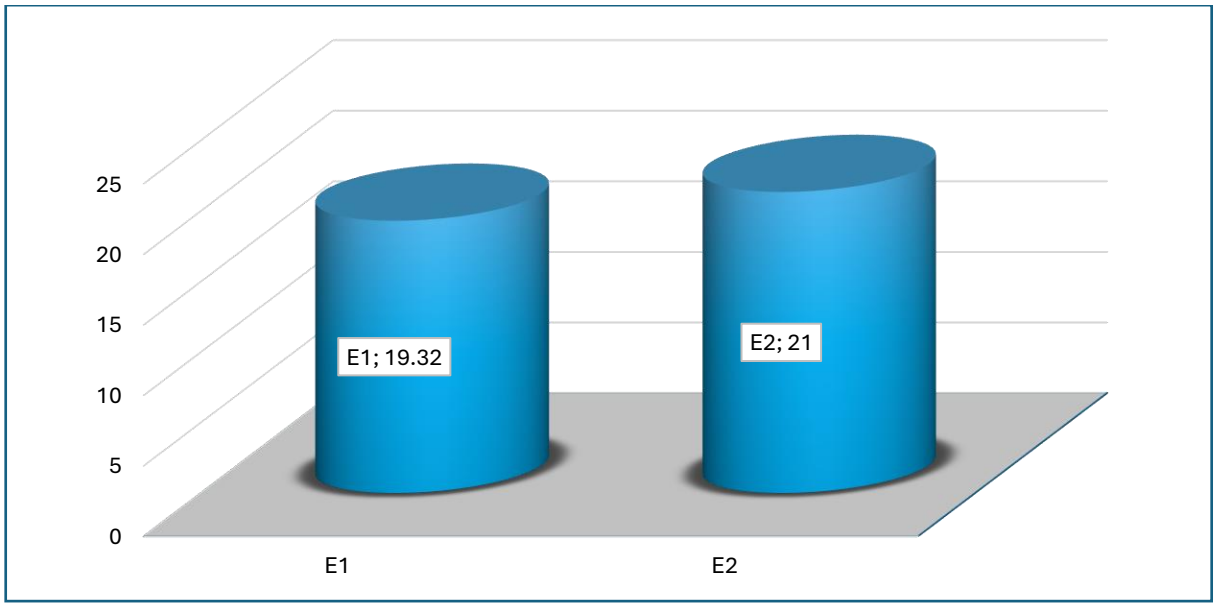
C : تمثل تركيز المستخلص (mg/mL)

تم تقدير المحتوى الكلي للفلافونويدات للمستخلصين E1 وE2 باستعمال طريقة كلوريد الألمنيوم الثلاثي$AlCl_3$ ، مع الاعتماد على المنحنى القياسي للكيرستين كمرجع، وتم التعبيرعن النتائج بوحدة (mgEQ/gext)

اعتمدت الدراسة على معادلة المنحنى القياسي التالية: $y = \mathbf{0.0564x - 0.0236}$

أظهرت النتائج أن محتوى الفلافونويدات الكلية في المستخلص E2 كان أعلى مقارنة بالمستخلص E1، حيث سجل المستخلص E2 قيمتين متقاربتين mg EQ/g ext (21.54–21.175 )، بينما سجل المستخلص E1 القيمتين mg EQ/g ext (19.48–19.16) وبالمقارنة مع مذكرة Ali Radja و Bettayeb Imane (2021) نجد أن محتوى الفلافونويدات يختلف حسب المذيب المستعمل، حيث سجلت القيم mg ER/g ext 1.65± 0.17 باستعمال المذيب DCM، وmg ER/g ext 5.94 ±0.77 باستعمال CF، وmg ER/g ext 24.97 ± 2.44 باستعمال الميثانول[47]. كما سجل Boumaza وآخرون (2018) قيمة منخفضة جدا بلغت 0.31 mg EQ/g ext [44]، وفي المقابل أظهرت دراسة Halima Meriem (2025)، باستخدام الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية قيمة مرتفعة بلغت mg 184.4 ±1.1EQ/g ext [37]

تبين النتائج أن المستخلصE2 أكثر غنى بالفلافونويدات تلعب هذه المركبات دورا مهما في حماية الأنسجة الزهرية من الإجهاد التأكسدي والأشعة فوق البنفسجية، كما تساهم في اعطاء الألوان المميزة للأزهار وجذب الملقحات [3]، لذلك غالبا ما تكون الأزهار أكثر غنى بالفلافونويدات مقارنة بالأوراق والساق

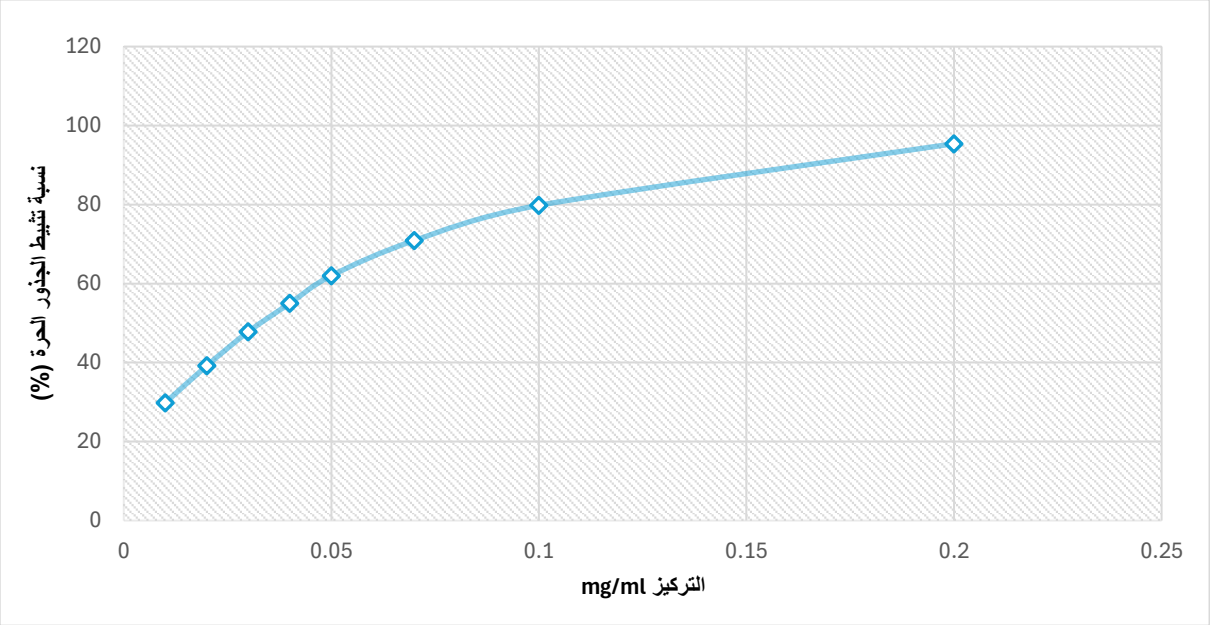



**الشكل (V. 9)**: أعمدة بيانية تمثل التقدير الكمي للفلافونويدات الموجودة في المستخلصين E1وE2.

## 4.V. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

### نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحر DPPH•:

انطلاقا من قيم الإمتصاصية لحمض الأسكوربيك نحسب قيم IC% ونرسم منحنى التثبيط IC% بدلالة التركيز IC%=f(C)




**الشكل (10. V):** المنحنى القياسي لنسبة تثبيط الجذر الحر DPPH• لحمض الأسكوربيك

**الجدول (6.V):** نتائج الإمتصاصية لحمض الأسكوربيك

| **التركيز(mg/ml)** | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.07 | 0.1 | 0.2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **الإمتصاصية A** | 29.8 | 39.2 | 47.8 | 55 | 62 | 70.9 | 79.8 | 95.4 |

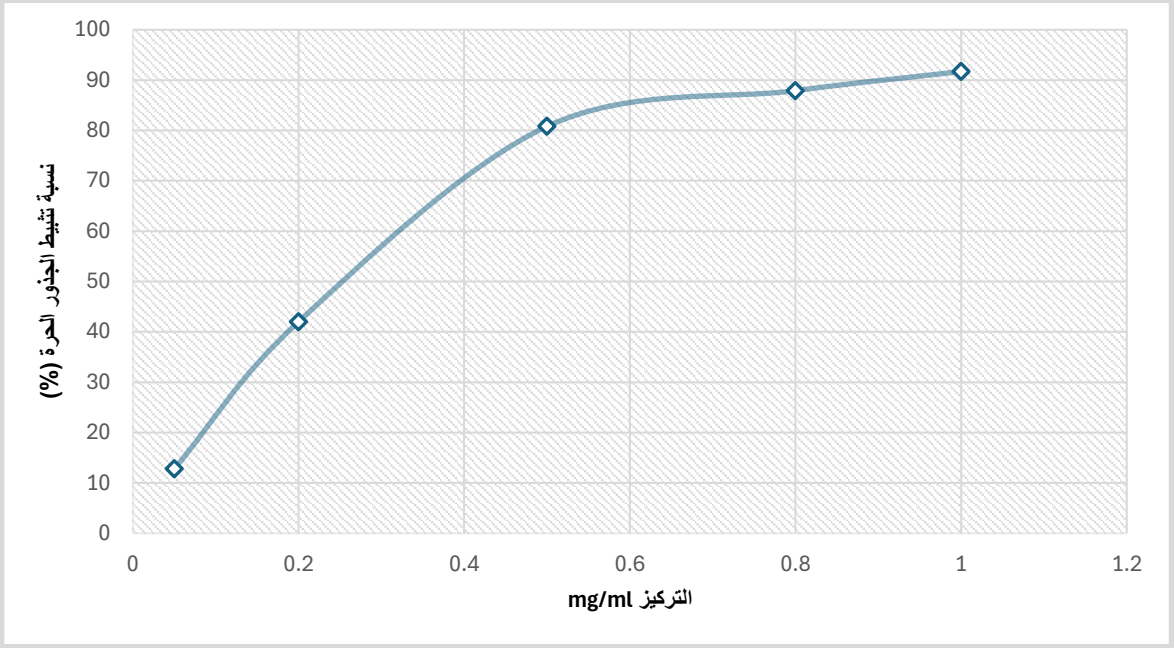
ندون نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات المدروسة في الجدول التالي:

**الجدول (7.V):** نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات

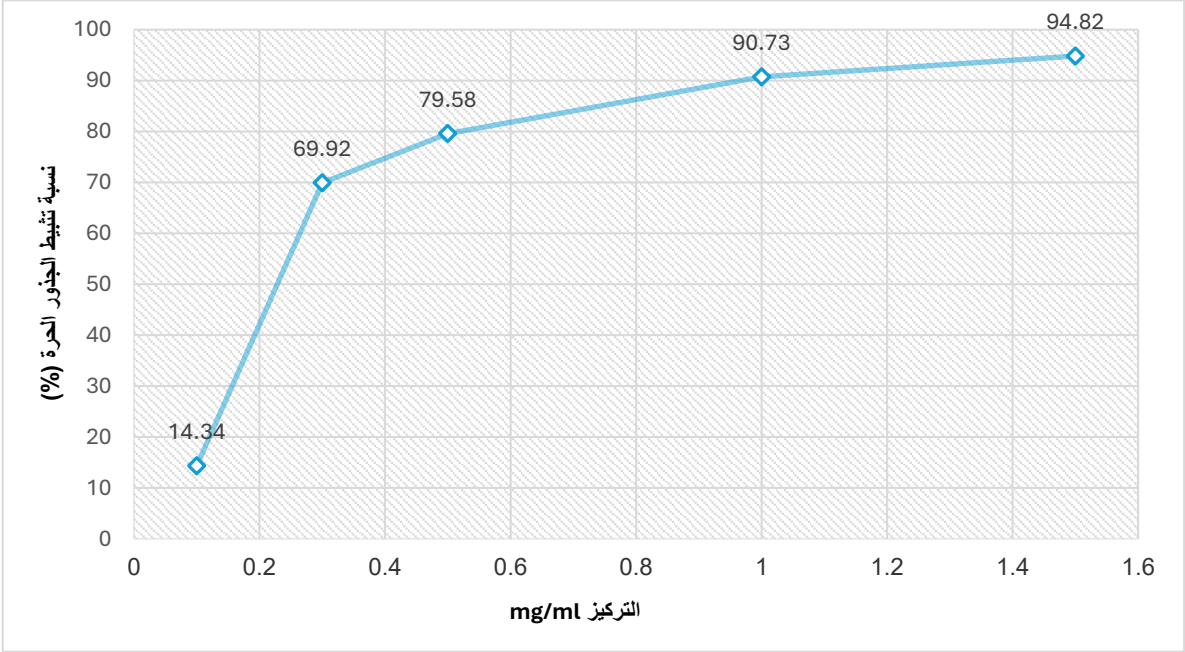
| | **مستخلص الفينولات لساق والأوراق E2** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C(mg/ml) | **0.05** | **0.2** | **0.5** | **0.8** | **1** |
| IC% | **12.8** | **42** | **80.8** | **87.9** | **91.7** |

| | مستخلص الفينولات للأزهار E2 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C(mg/ml) | 0.1 | 0.3 | 0.5 | 1 | 1.5 |
| IC% | 14.34 | 69.92 | 79.58 | 90.73 | 94.82 |
| | مستخلص الفينولات اللبن النباتي E3 | | | | |
| C(mg/ml) | 0.05 | 0.2 | 0.5 | 1 | 1.5 |
| IC% | 10.46 | 28.81 | 64 | 90.82 | 96.41 |

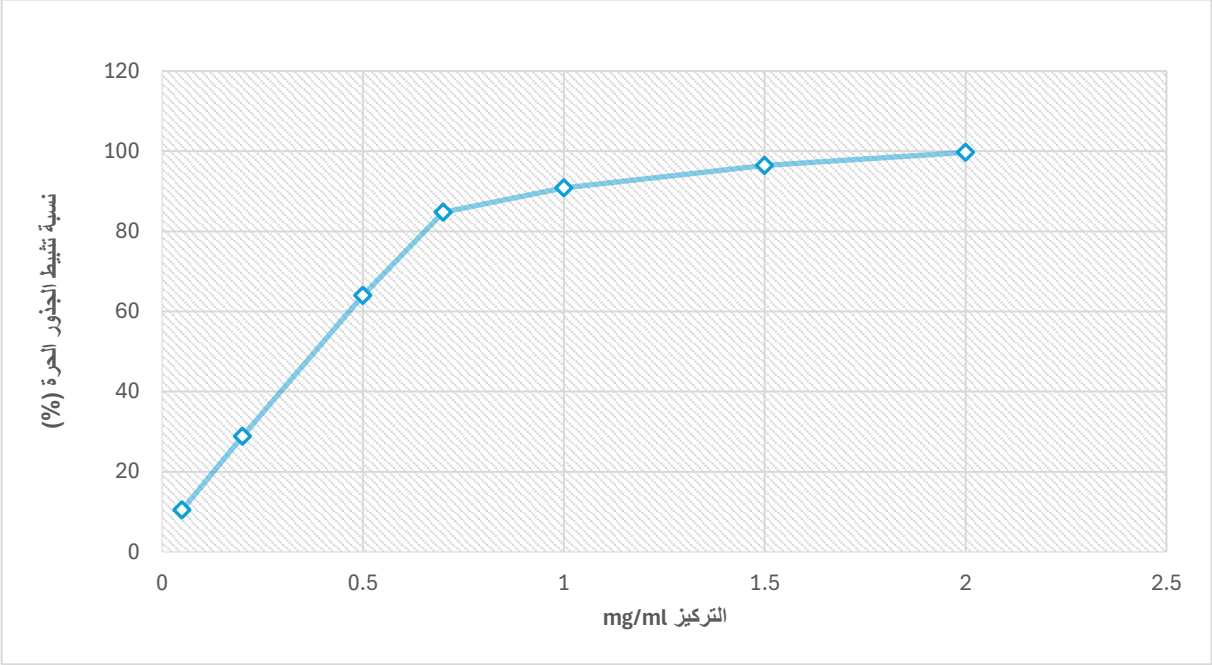
**منحنيات نسبة التثبيط بدلالة التركيز:**




**الشكل (11. V):** منحنى تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بدلالة تركيز المستخلص E1.




**الشكل (V .12):** منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH· بدلالة تركيز المستخلص E2.




**الشكل (V .13):** منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH· بدلالة تركيز المستخلص E3.

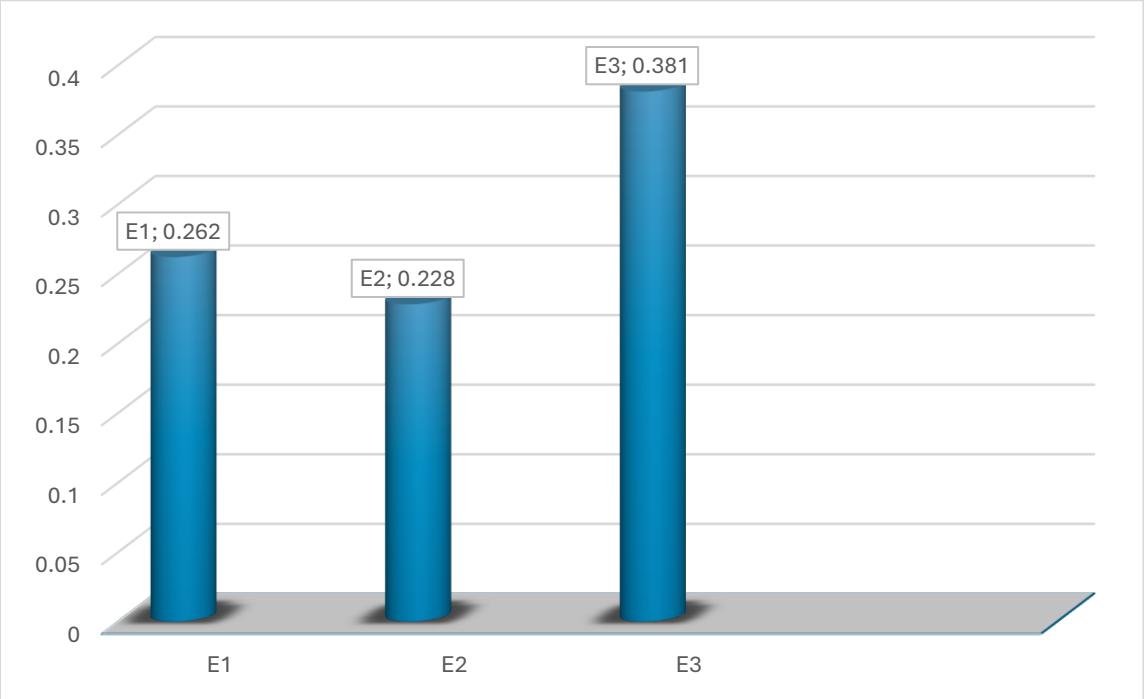
من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز لكل المستخلصات نتحصل على التراكيز المناسبة للقضاء على 50% من الجذور الحرة من طرف المستخلصات الفينولية $IC_{50}$ وحمض الأسكوربيك والتي دونت في الجدول التالي:

**الجدول (8.V)**: قيم $IC_{50}$ لتثبيط الجذر الحر DPPH• للمستخلصات وحمض الأسكوربيك.

| المستخلصات | مستخلص E1 | مستخلص E2 | مستخلص E3 | حمض الأسكوربيك |
|---|---|---|---|---|
| **IC50** | 0.262 mg/ml | 0.228 mg/ml | 0.381 mg/ml | 0.033 mg/ml |

أظهرت نتائج اختبار DPPH أن مستخلصات نبات *Euphorbia guyoniana* تمتلك نشاطا مضادا للأكسدة بدرجات متفاوتة مقارنة بحمض الأسكوربيك القياسي $IC_{50} = 0.033$ mg/mL ، حيث سجل المستخلص E2 أفضل نشاط مضاد للأكسدة بقيمة $IC_{50}$ بلغت 0.228 mg/mL ، يليه المستخلص E1 بحوالي 0.262 mg/mL ، بينما أظهر المستخلص E3 نشاطا أضعف نسبيا بقيمة 0.381 mg/mL .

وعند مقارنة النتائج بالدراسات السابقة تبين أن مستخلصاتنا أظهرت فعالية معتبرة مقارنة بعدة مستخلصات نباتية مدروسة سابقا ففي دراسة سارة بن علي وآخرين (2021) سجل مستخلص الميثانول قيمة mg/mL 0.164 وهو ما يعكس فعالية قوية تعود غالبا إلى كفاءة الميثانول في استخلاص المركبات الفينولية، بينما سجل مستخلص الماء mg/mL 3.218 قيمة مرتفعة تشير إلى ضعف الاستخلاص للمركبات النشطة [112] كما أظهرت دراسة Ali Radja و Bettayeb Imane (2024) قيما بلغت mg/mL 0.18998 لمستخلص الميثانول ، في حين سجل مستخلص DCM قيمة mg/mL 0.84309 وسجل مستخلص CF قيمة mg/mL 0.578 [113]. وفي دراسة Segueni Khaoula وآخرين (2025) سجل مستخلص العصارة اللبنية قيمة mg/mL 10.78 [49] أما في دراسة حميداتو وريدة وآخرين (2023)، فقد سجل مستخلص العصارة اللبنية قيم mg/mL 1.88 ومستخلص العصارة اللبنية النانوي قيمة mg/mL 1.53، وهما قيمتان متوسطتان تعكسان تحسنا طفيفا في الحالة النانوية [115].




**الشكل (14. V):** أعمدة بيانية تمثل قيم $IC_{50}$ للمستخلصات

## 5.V. تقدير الفعالية المضادة للإلتهاب بإستخدام طريقة تمسخ البروتين:

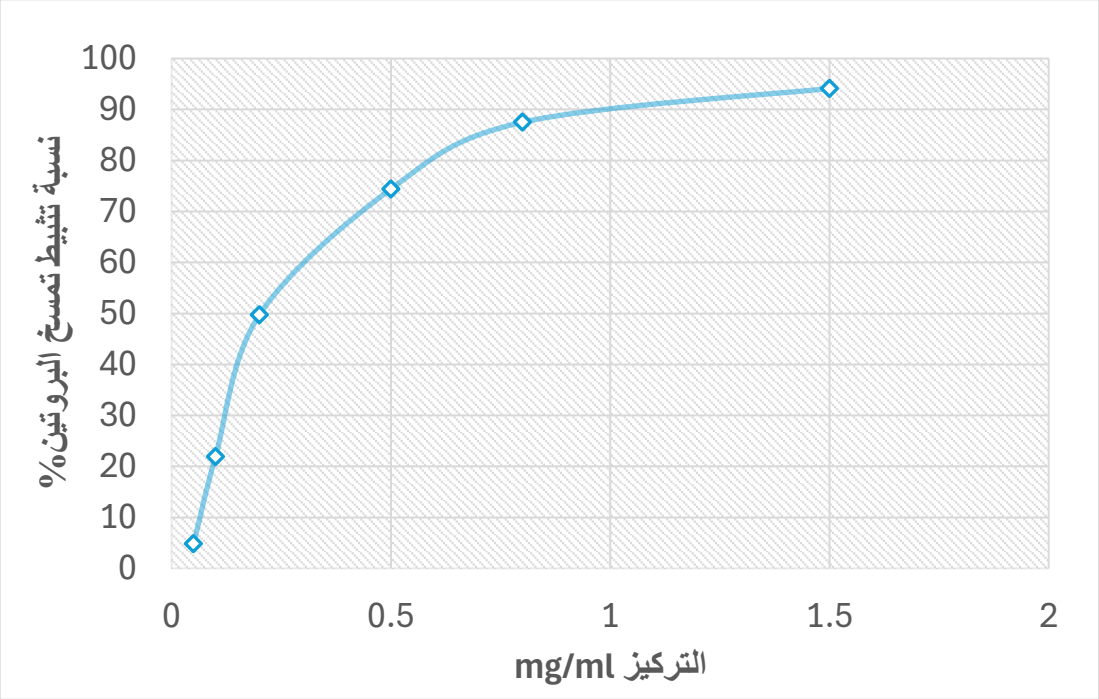
**نتائج القدرة التثبيطية لتمسخ البروتين:**

ندون نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات المدروسة في الجدول التالي:

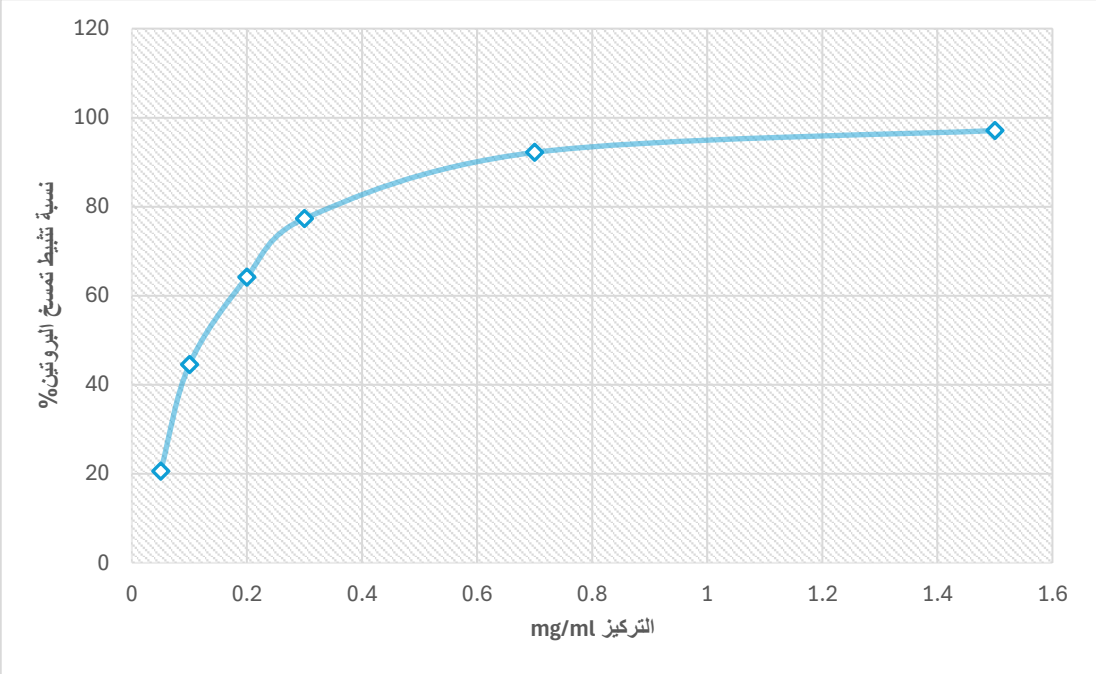
**الجدول (9.V) :** نسبة التثبيط المئوية للمستخلصات E1

| مستخلص الفينولات لساق والأوراق E2 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1.5 | 0.8 | 0.5 | 0.2 | 0.1 | C(mg/ml) |
| 94.12 | 87.5 | 74.39 | 49.7 | 21.9 | IC% |
| مستخلص الفينولات للأزهار E2 | | | | | |
| 0.7 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | C(mg/ml) |
| 92.2 | 77.32 | 64.19 | 44.55 | 20.6 | IC% |
| مستخلص الفينولات للعصارة اللبنية E3 | | | | | |
| 1 | 0.7 | 0.1 | 0.05 | 0.01 | C(mg/ml) |
| 97.14 | 94.19 | 53.48 | 35.53 | 8.92 | IC% |
| مستخلص القلويدات لساق والأوراق E4 | | | | | |
| 10 | 5 | 2 | 0.5 | 0.1 | C(mg/ml) |
| 92.9 | 86.3 | 76.9 | 38.47 | 20.06 | IC% |

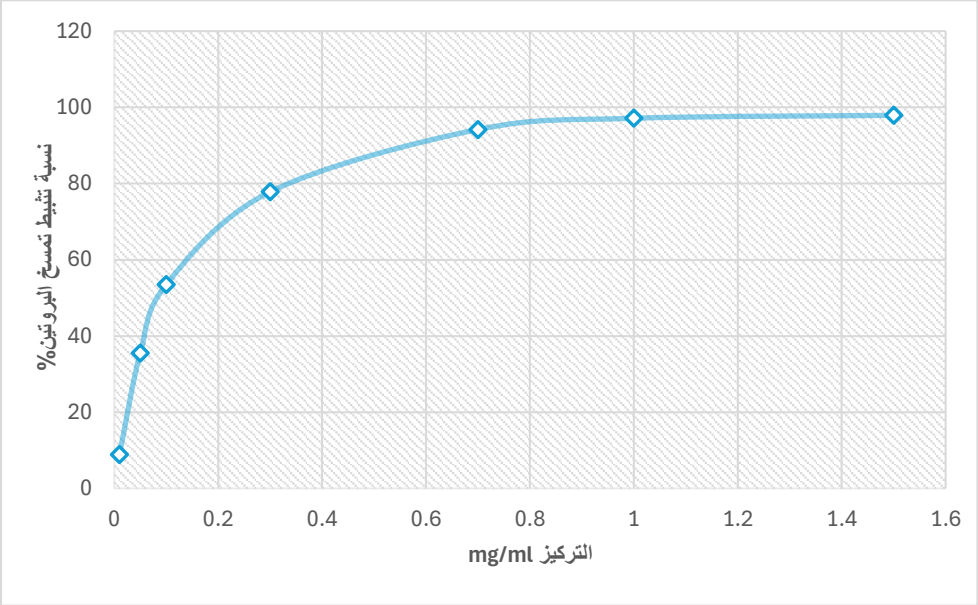
**منحنيات نسبة التثبيط بدلالة التركيز:**



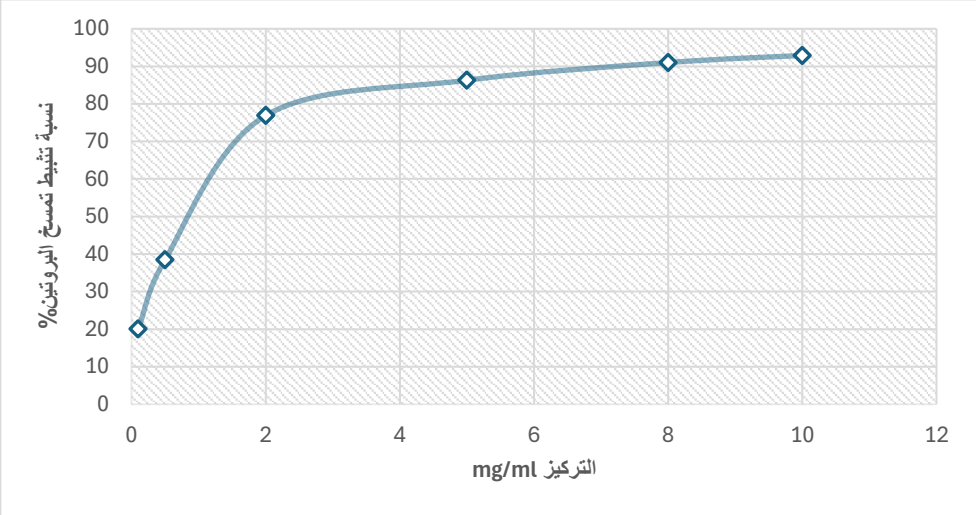

**الشكل (15. V):** منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E1.




**الشكل (16. V):** منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E2



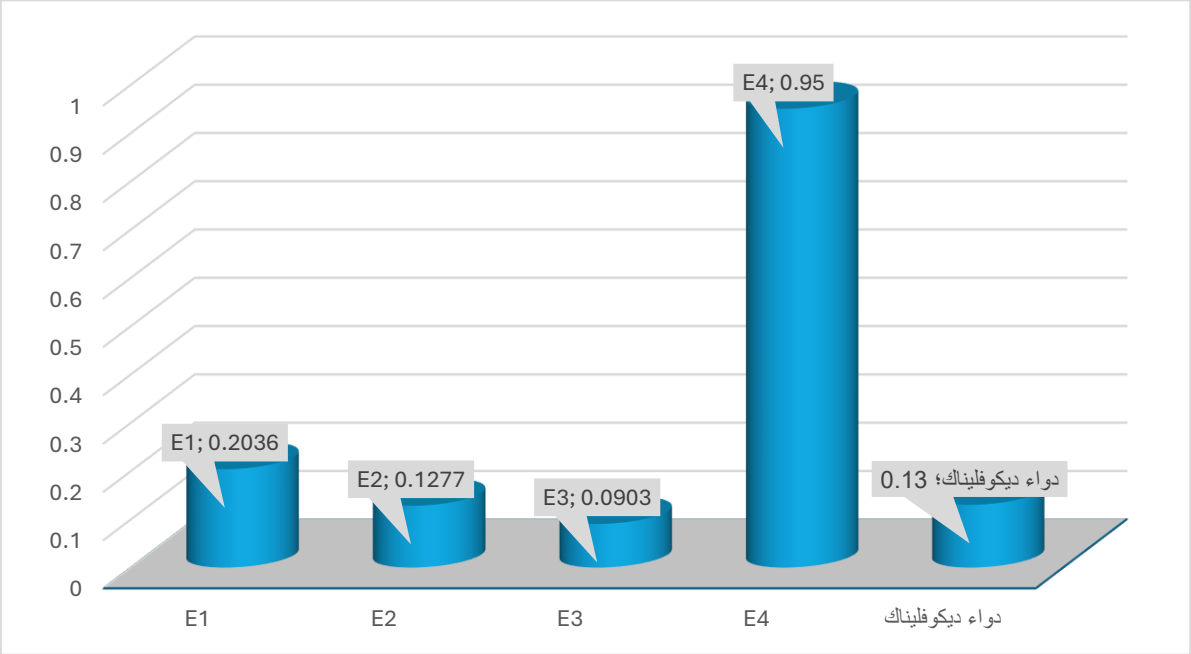

**الشكل (17. V):** منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E3




**الشكل (18. V):** منحنى تثبيط تمسخ البروتين بدلالة تراكيز المستخلص E4

**الجدول (10.V):** قيم $IC_{50}$ لتثبيط تمسخ البروتين للمستخلصات والأسبرين

| المستخلصات | المستخلص E1 | المستخلص E2 | المستخلص E3 | المستخلص E4 | دواء الأسبرين |
|---|---|---|---|---|---|
| **$IC_{50}$(mg/ml)** | 0.2036 mg/ml | 0.1277 mg/ml | 0.0903 mg/ml | 0.95mg/ml | 0.0589 mg/ml |




**الشكل (V .19):** أعمدة بيانية تمثل قيم $IC_{50}$ للمستخلصات

سجل المستخلص E3 أفضل نشاط مضاد للإلتهاب بقيمة $IC_{50}$ بلغت0.0903 mg/ml ، كما أظهر المستخلص E2 فعالية قريبة من الدواء القياسي بقيمة 0.1277 mg/ml، في حين كان نشاط المستخلص E1 متوسطاً بقيمة 0.2036mg/ml. أما المستخلص E4 فقد سجل أضعف نشاط بقيمة0.95 mg/ml.

يحدث تمسخ البروتين بسبب خلل في الكهرباء الساكنة، الكارهة للماء، ثنائي كبريت، وروابط هيدروجينية التي تحافظ على البنية ثلاثية الأبعاد للبروتينات، لذا تعمل المركبات الفينولية كالفلافونويدات والأحماض الفينولية في النباتات على الارتباط ببلازما البروتينات وحماية هذه الروابط من الكسر [102].

## 6.V. تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا :

بعد عملية الزرع والحضن لمدة 24h، نقوم بقياس أقطار التثبيط للمستخلصات الفينولية E1 E2، حول الأقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة.

### قراءة النتائج:

لتحديد مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي يتم حساب قطر التثبيط كما يلي:

- ✓ بكتيريا غير حساسة (مقاومة) للمضاد الحيوي (-) إذا كان قطرالتثبيط أقل من (mm8).
- ✓ بكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي (+) إذا كان قطرالتثبيط بين (14 – 9mm).
- ✓ بكتيريا حساسة للمضاد الحيوي (++) إذا كان قطر التثبيط بين (20 – 15mm) [102].

**المستخلص E1:**

يوضح الجدول(11.V) والشكل(20.V) نتائج دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لتراكيز مختلفة من المستخلص E1

**الجدول (11.V)**: معدلات أقطار التثبيط للبكتيريا في مستخلص E1

| **قطر منطقة التثبيط (mm)** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **المستخلص E1** | | | | |
| 80 | 40 | 20 | 10 | C(mg/ml) |
| 17 | 11 | 8 | NI | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 |
| 20 | 16 | 16 | 12 | *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 |
| NI | NI | NI | NI | DMSO |

Pseudomonas aeruginosa
(بكتيريا سالبة الغرام)

Staphylococcus aureus
(بكتيريا موجبة الغرام)

**الشكل (20. V)**: صورة تمثل نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص E1

من خلال النتائج المبينة في الجدول والشكل، تبين أن المستخلص E1 يمتلك نشاطا تثبيطيا واضحا ضد سلالتي البكتيريا المختبرتين.

❖ **عند بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853:**

بلغ قطر التثبيط 17mm عند التركيز 80 mg/ml وهي أعلى قيمة مسجلة لهذه السلالة، حيث بلغ 17mm.ويدل ذلك أن البكتيريا حساسة للمستخلص E1 وعند هذا التركيز عند التركيز 40 mg/ml انخفض قطر التثبيط إلى 11mm ويشير ذلك أن البكتيريا متوسطة الحساسية للمستخلص E1 عند هذا التركيز أما عند التركيز 20 mg/ml انحفض قطر التثبيط إلى 8mm وهو مايعكس حساسية ضعيفة للبكتيريا تجاه المستخلص E1 عند هذا التركيزفي حين عند لم تسجل أي منطقة تثبيط (NI) عند التركيز 10 mg/ml ، ما يشير إلى أن البكتيريا غير حساسة للمستخلص E1 عند هذا التركيز

❖ **عند بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC 25923*:**

سجل أكبر قطر تثبيط عند التركيز 80 mg/ml بقيمة20mm ومنه يمكن القول أن هذه البكتيريا حساسة للمستخلص E1 عند هذا التركيز كما سجلت مناطق تثبيط متقاربة عند التركيزين 40 mg/ml و 20 mg/ml بلغت 16 mm مما يدل أن البكتيريا حساسة للمستخلص E1 عند هذين التركيزين وعند التركيز 10 mg/ml بلغ قطر التثبيط 12 mm ، ما يبين أن البكتيريا متوسطة الحساسية للمستخلص E1 عند هذا التركيز

تشير هذه النتائج إلى أن بكتيريا St.a كانت أكثر حساسية للمستخلص E1 مقارنة ببكتيريا Ps.a.

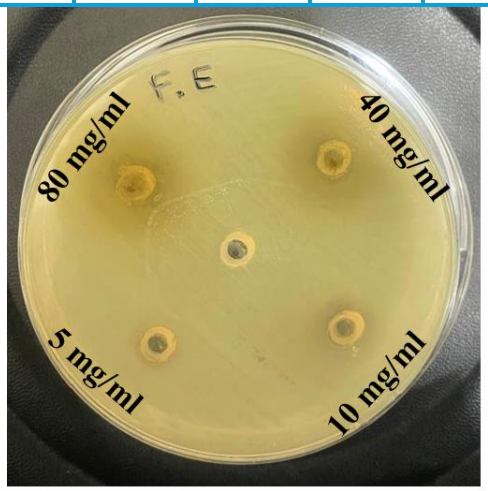
كما أظهرت نتائج الشاهد DMSO عدم وجود أي نشاط تثبيطي (NI)، مما يؤكد أن التأثير المضاد للبكتيريا يعود إلى المستخلص النباتي وليس للمذيب المستعمل.

**المستخلص E2:**

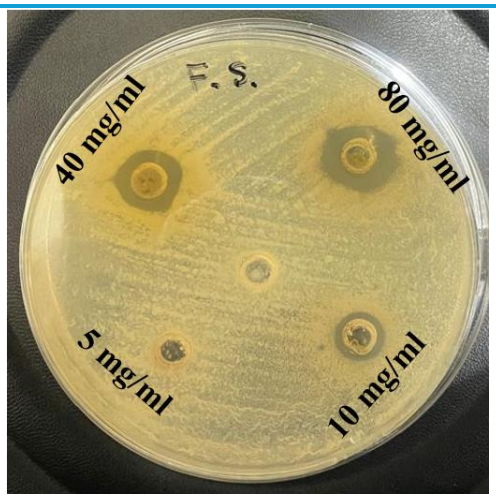
يوضح الجدول(21.V) والشكل(12.V) نتائج دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لتراكيز مختلفة من المستخلص E2:

**الجدول (12.V)**: معدلات أقطار التثبيط للبكتيريا في مستخلص E2

| قطر منطقة التثبيط (mm) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| المستخلص E2 | | | | |
| 80 | 40 | 20 | 10 | C(mg/ml) |
| NI | NI | NI | NI | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 |
| 18 | 16 | 10 | NI | *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 |
| NI | NI | NI | NI | DMSO |




Pseudomonas aeruginosa
(بكتيريا سالبة الغرام)




Staphylococcus aureus
(بكتيريا موجبة الغرام)

**الشكل (21. V)**: صورة تمثل نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص E2.

من خلال النتائج المبينة في الجدول والشكل، تبين أن المستخلص E1 يمتلك فعالية تثبيطية معتبرة ضد بكتيريا Staphylococcus aureus ATCC 25932 بينما لايظهرأي حساسية ضد بكتيريا

- ***Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853**:

حيث لم يسجل أي منطقة تثبيط (NI)

- **عند بكتيريا *Staphylococcus aureus ATCC* 25923:**

بلغ قطر التثبيط 18mm عند التركيز 80mg/ml ويدل ذلك أن البكتيريا حساسة للمستخلصE2 حساسية كما بلغ قطر التثبيط 16mm عند التركيز 40ml/mg وهذا يعكس حساسية متوسطة للبكتيريا تجاه المستخلصE2 أما عند التركيز 20 ml/mg فقد بلغ قطر التثبيط 10mm ويشير ذلك أن البكتيريا متوسطة الحساسية تجاه المستخلص E2 في حين لم تسجل أي منطقة تثبيط (NI) عند التركيز 10mg/ml مما يدل على أن البكتيريا غير حساسة للمستخلص E2

# الخلاصة العامة

**الخلاصة العامة:**

سمحت هذه الدراسة بتقييم المحتوى الكيميائي والفعالية البيولوجية لبعض مستخلصات نبات Euphorbia guyoniana. أظهرت نتائج الكشف الكيميائي النوعي احتواء المستخلصات على مركبات فعالة أهمها الفينولات والفلافونويدات. كما بينت نتائج الاستخلاص اختلاف المردود باختلاف الجزء النباتي وطبيعة المستخلص، حيث سجل مستخلص الفينولات للأزهار أعلى مردود (11.66%)، يليه مستخلص الفينولات للساق والأوراق (4.98%)، ثم مستخلص الفينولات للعصارة اللبنية (3.43%)، في حين بلغ مردود مستخلص القلويدات للساق والأوراق (1.34%).

وأظهر التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونويدات غنى مستخلص الأزهار بهذه المركبات، حيث سجل أعلى محتوى من الفينولات 326.48 mg EAG/g ext والفلافونويدات 21.36 mg EQ/g ext. كما أظهرت المستخلصات الفينولية فعالية مضادة للأكسدة جيدة، إذ سجل مستخلص الأزهار أفضل نشاط بقيمة $IC_{50}$ بلغت 0.228 mg/ml .

أما بالنسبة للنشاط المضاد للالتهاب، فقد أظهر مستخلص العصارة اللبنية أفضل فعالية بقيمة $IC_{50}$ بلغت 0.0903 mg/ml. كما بينت نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا قدرة المستخلصات على تثبيط نمو السلالات البكتيرية المدروسة، مع حساسية أكبر لبكتيريا *Staphylococcus aureus* مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام.

وتؤكد هذه النتائج أن نبات *Euphorbia guyoniana* يمثل مصدرا واعدا للمركبات الطبيعية ذات الخصائص المضادة للأكسدة والالتهاب والبكتيريا، مما يستدعي إجراء دراسات إضافية لعزل المركبات الفعالة وتحديد بنيتها الكيميائية وآليات تأثيرها البيولوجي.

# قائمة المراجع

**قائمة المراجع**

**المراجع باللغة العربية:**

[9]علي حمود السعدي، باسم كاظم إبراهيم، منى نجاح الطريحي، النباتات الطبية، الطبعة الأولى، عمّان: دار الرضوان للنشر والتوزيع، 2018.

[13] حليس يوسف، الموسوعة النباتية لمنطقة سوف: النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير، الجزائر، 2007.

[10]المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد)، أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي، دمشق، الجمهورية العربية السورية: أكساد، 2012.

[11] و. حميداتو، ع. خميس، و ح. بن عمر، دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية للبن النباتي المستخلص من بعض الأنواع النباتية الصحراوية الجزائرية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر الأكاديمي، قسم البيولوجيا، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، الجزائر، 2023.

[24] أمل علي ياسين الحسن، دراسة تشريحية تصنيفية لبعض نباتات العائلة السوسبية (*Euphorbiaceae*) في العراق، أطروحة دكتوراه، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة البصرة، العراق، 2006.

[46] أ. كماسي، أ. هاروانى، م. د. أولد الحاج، "دراسة النشاط البيولوجي للمستخلصات المائية من نبات (*Euphorbiaceae*) *Euphorbia guyoniana* المجمّع في وادي سبسب (الصحراء الجزائرية)،" مجلة البحوث والدراسات (ElWahat)، 2015.

[99] ن. نورالدين، محاضرات في كيمياء المنتجات الطبية، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، كلية العلوم الدقيقة، قسم الكيمياء، الجزائر، 2025

[107] إ. داودي و ن. أبزيز، "تحليل مقارن لكمية القلويدات والفعالية البيولوجية لمستخلصات نبات العلندة," مذكرة ماستر أكاديمي في الكيمياء العضوية، كلية العلوم الدقيقة، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، الجزائر، 2024.

[112] س. بن علي، ع. دريال، و ك. دبيس، دراسة النشاطية البيولوجية لمستخلصات نبتة *Euphorbia* guyoniana، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر الأكاديمي، قسم البيولوجيا، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، الجزائر، 2021.

[113] م. شكيمة و ز. كرام، مساهمة في دراسة المحتوى الفيتوكيميائي والنشاطية المضادة للأكسدة لمجموعة من النباتات البرية المحلية لمنطقة الوادي جنوب شرق الجزائر، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر، قسم البيولوجيا، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، الجزائر، 2024.

**المراجع باللغة الأجنبية:**

[1]W. C. Evans, Trease and Evans Pharmacognosy, 15th ed. London, U.K.: W. B. Saunders, 2025.

[2]U. E. Odoh, S. S. Gurav, and M. O. Chukwuma, Eds., Pharmacognosy and Phytochemistry: Principles, Techniques, and Clinical Applications. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2025.

[3]Agro-techniques of Selected Medicinal Plants, vol. 1. New Delhi, India: National Medicinal Plants Board, Department of AYUSH, Ministry of Health and Family Welfare, Government of India, 2008.

[4]S. S. Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo, and D. D. Rakesh, Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Trieste, Italy: International Centre for Science and High Technology, 2008.

[5]V. R. Preedy, Ed., Medicinal Plants: Utilization and Conservation. Oxford, U.K.: Academic Press, 2019.

[6]A. Pritchard, "Introduction to the *Euphorbiaceae*," Italy: Cactus & Co., 2003.

[7]G. Singh, "Plant Systematics: Theory and Practice," 4th ed., New Delhi: CBS Publishers & Distributors, 2021.

[8]Real Jardín Botánico, "Claves de Flora Iberica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, Vol. I: Pteridophyta, Gymnospermae, Angiospermae (Lauraceae–*Euphorbiaceae*)," Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2001.

[10] S. Castroviejo et al., Flora iberica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, vol. VIII: Haloragaceae–*Euphorbiaceae*. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC, 1997.

[11] M. de la Cerda Lemus, Familia *Euphorbiaceae* en el estado de Aguascalientes, México. Aguascalientes: Universidad Autónoma de Aguascalientes, 2013.

[12]G. McPherson and C. Tirel, Flore de la Nouvelle-Calédonie et Dépendances, vol. 14: *Euphorbiaceae* I (Euphorbioideae, Crotonoideae, Acalyphoideae, Oldfieldioideae). Paris: Muséum National d'Histoire Naturelle, 1987.

[14] P. Ozenda, Flore et végétation du Sahara, 3e éd. (mise à jour et augmentée), Paris, France: CNRS Éditions, 1991, réimpr. 2004.

[16]M. Ali, Textbook of Pharmacognosy, 3rd ed., Course Code ER20-13T, New Delhi, India: CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd., 2025.

[17]Mulligan, G. A., & Munro, D. B., Plantes toxiques du Canada, Ottawa, ON, Canada: Approvisionnements et Services Canada, 1990.

[18]Department of the Army, The Illustrated Guide to Edible Wild Plants, Guilford, CT, USA: The Lyons Press (Globe Pequot Press), 2003.

[19]Teuscher, E., & Lindequist, U., Natural Poisons and Venoms, Vol. 2: Plant Toxins: Polyketides, Phenylpropanoids and Further Compounds, Berlin/Boston, Germany: De Gruyter, 2024.

[20]Long Island Cactus and Succulent Society, *Euphorbia*, vol. 8, The *Euphorbia* Journal, Mill Valley, CA, USA: Strawberry Press, 1992.

[21]Ernst, M., Grace, O. M., Saslis-Lagoudakis, C. H., Nilsson, N., Simonsen, H. T., & Rønsted, N., "Global medicinal uses of *Euphorbia* L. (*Euphorbiaceae*)," Journal of Ethnopharmacology, vol. 17, 2015.

[22]A. H. Pahlevani and R. Riina, “Synopsis of *Euphorbia* subgen. Esula sect. Helioscopia (*Euphorbiaceae*) in Iran with the description of *Euphorbia* mazandaranica sp. nov.,” Nordic Journal of Botany, vol. 32, 2014, doi: 10.1111/njb.01690.

[23]T. Walker, *Euphorbia*s. London, U.K.: Cassell Illustrated (Royal Horticultural Society), 2002.

[25]D. R. Aguillón-Gutiérrez, C. Torres-León, and J. A. Aguirre-Joya (eds.), Exploring Medicinal Plants: Aromatic and Medicinal Plants of Drylands and Deserts – Ecology, Ethnobiology, and Potential Uses. Boca Raton, USA: CRC Press (Taylor & Francis Group), 2023.

[26]A. Chehma, Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Ouargla, Algeria: Université Kasdi Merbah Ouargla, Faculté des Sciences et Sciences de l’Ingénieur, Laboratoire “Protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides”, 2006.

[27]World Flora Online, “World Flora Online,” [Online]. Available: https://www.worldfloraonline.org/. Accessed: Apr. 8, 2026.

[28]Atlas Sahara, “*Euphorbia* guyoniana,” Atlas Sahara Plants Database, [Online]. Available: http://atlas-sahara.org/*Euphorbiaceae*/*Euphorbia*%20guyoniana/*Euphorbia*%20guyoniana.html. Accessed: Apr. 8, 2026.

[29]R. Otmani et al., “Phytochemical screening, allelopathic and bioherbicidal potentialities of *Euphorbia guyoniana* Boiss. and Reut. leaf extract,” Al-Qadisiyah Journal for Agriculture Sciences, vol. 12, no. 2, 2022.

[30]M.-E. F. Hegazy, A.-E. H. Mohamed, N. Aoki, T. Ikeuchi, E. Ohta, and S. Ohta, “Bioactive jatrophane diterpenes from *Euphorbia* guyoniana,” Phytochemistry, vol. 71, no. 2–3, 2010, doi: 10.1016/j.phytochem.2009.10.003.

[31] J. Bellakhdar, La pharmacopée marocaine traditionnelle: médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Casablanca, Morocco: Le Fennec, 1997.

[32] T. Benmeddour, “Etude de l’activité biologique de quelques espèces végétales dans la région des Aurès et du nord du Sahara algérien,” Ph.D. dissertation, Département de Biologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif, Algeria, 2016.

[33]H. M. Issaadi, Y. Nait Bachir, A. Ben Naama, I. Aiter, K. Szőri, and A. Hunyadi, “Green microwave-assisted extraction of *Euphorbia* guyoniana: optimization, metabolite profile, and in vivo anti-inflammatory potential,” Chemistry & Biodiversity, Wiley-VCH, 2025.

[34]B. Jayalakshmi, K. A. Raveesha, and K. N. Amruthesh, “Isolation and characterization of bioactive compounds from *Euphorbia* cotinifolia,” Future Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 7, 2021, Art. no. 79, doi: 10.1186/s43094-020-00160-9.

[35]C. Elagdi, K. Bouaouda, R. Rahhal, M. Hsaine, W. Badri, H. Fougrach, and H. El Hajjouji, “Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of *Euphorbia* resinifera and *Euphorbia* echinus,” Scientific African, vol. 21, 2023, Art. no. e01779.

[36]R. Benjamaa et al., “Comparative evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, anti-inflammatory, and antibacterial potential of *Euphorbia*-derived functional products,” Frontiers in Pharmacology, vol. 15, 2024, Art. no. 1345340, doi: 10.3389/fphar.2024.1345340.

[37]R. Jaouadi et al., “Antioxidant and insecticidal properties of *Euphorbia* helioscopia L. aqueous extracts,” International Journal of Research in Agronomy, vol. 5, no. 2, pp. 91–94, 2022, doi: 10.33545/2618060X.2022.v5.i2b.114.

[38]Z. Waheed, M. A. Ghaffari, F. Azhar, I. N. Khan, S. Zubair, and F. Kazmi, “Phytochemical characterization and evaluation of antioxidant and antidiabetic activities of *Euphorbia* hirta,” Journal of Interdisciplinary Research in Allied Health and Pharmacy, vol. 2, no. 2, 2025.

[39]G. D. Wadankar, B. R. Mahale, M. V. Kute, and P. D. Khadse, “Investigation of phytochemicals in *Euphorbia* heterophylla and *Euphorbia* rothiana,” International Journal of Medical, Pharmacy and Drug Research, vol. 6, no. 3, 2022, doi: 10.22161/ijmpd.6.3.2

[40]M.-E. F. Hegazy, A.-E. H. Mohamed, N. Aoki, T. Ikeuchi, E. Ohta, and S. Ohta, “Bioactive jatrophane diterpenes from *Euphorbia* guyoniana,” Phytochemistry, vol. 71, pp. 249–253, 2010.

[41]O. Smara, V. Vigor, A. Julia, C. Moral Salmi, J. Vercauteren, and B. Belgacem, “The coumarin from *Euphorbia guyoniana* Boissier and Reuter,” PhytoChem & BioSub Journal, vol. 8, no. 1, pp. 8–11, 2014.

[42]A. Kemassi, K. Boukhari, R. Cherif, K. Ghada, N. Bendaken, N. Bouziane, Z. Boual, N. Bouras, A. Ould Elhadj-Khelil, and M. D. Ould Elhadj, “Evaluation of the larvicidal effect of the aqueous extract of *Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.),” ElWahat pour les Recherches et les Etudes, vol. 8, no. 1, pp. 44–61, 2015.

[43]C. Lila et al., “Toxic effects of *Euphorbia guyoniana* on Drosophila melanogaster,” Journal of Bioresource Management, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2022.

[44]S. Boumaza, O. Bouchenak, K. Yahiaoui, S. Toubal, D. El Haddad, and K. Arab, “Effect of the aqueous extract of *Euphorbia guyoniana* (*Euphorbiaceae*) on pathogenic bacteria from land-based sources,” Applied Ecology and

Environmental Research, vol. 16, no. 4, pp. 3767–3781, 2018, doi: 10.15666/aeer/1604_37673781.

[45]S. Nasrine Sm El Darier and H. M. El-Taher, “Allelopathic effect of *Euphorbia guyoniana* aqueous extract and their potential uses as natural herbicides,” Sains Malaysiana, vol. 42, no. 10, 2013.

[47]R. Ali and I. Bettayeb, “Biological activities of different extracts of *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.,” Master’s thesis, Department of Biological Sciences, Faculty of Natural and Life Sciences, Kasdi Merbah University Ouargla, Algeria, 2021.

[48]A. Elorfi, “Evaluation of the biological activities of extracts of the Algerian medicinal plant *Euphorbia* guyoniana,” Master’s thesis, Department of Biochemistry, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Frères Mentouri University Constantine 1, Algeria, 2022.

[49]K. Segueni and A. Chouikh, “Physicochemical characterization and biological activities of latex from the Algerian *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.,” Acta Periodica Technologica, 2026. doi:10.2298/APT251201001S

[50]A. D. Kinghorn, H. Falk, S. Gibbons, Y. Asakawa, J.-K. Liu, and V. M. Dirsch, eds., Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, vol. 124. Cham, Switzerland: Springer Nature, 2024. doi:10.1007/978-3-031-59567-7

[51]B. Hanley, Natural and Unnatural Product Chemistry: From Molecules to Systems. Cham, Switzerland: Springer Nature, 2025. doi:10.1007/978-3-031-81698-7

[52]D. Lay, 3GE Collection on Chemistry: Phenolic Compounds. 3G E-Learning LLC, 2023.

[53]A. A. Siddiqui, Chemistry of Selected Natural Products and Heterocyclic Compounds for Pharmacy and Science Students, 2nd ed. CBS Publishers & Distributors, 2025.

[54]V. I. Kalinin, P. S. Dmitrenok, and N. V. Ivanchina, eds., Honoring Prof. Dr. Valentin A. Stonik for His Outstanding Contribution to Marine Natural Product Chemistry on the Occasion of His 80th Birthday, Marine Drugs, Special Issue Reprint, MDPI, Basel, Switzerland, 2023. doi:10.3390/books978-3-7258-0348-4

[55]O. P. Agarwal, Alcohols, Phenols & Ethers for JEE Main & Advanced: Study Package for Chemistry. Disha Publication, New Delhi, India, 2017

[56]Garde-Cerdán T., Gonzalo-Diago A., Pérez-Álvarez E. P. (eds.), Analytical Chemistry and Microchemistry: Phenolic Compounds – Types, Effects and Research, Nova Science Publishers, 2017.

[57]G E-Learning LLC, 3GE Collection on Chemistry: Phenolic Compounds. e-book ed., Bibliotex, 2023.

[58]C. García-Viguera, R. Domínguez-Perles, and N. Baenas, eds., New Insights in (Poly) Phenolic Compounds: From Dietary Sources to Health Evidences. Basel, Switzerland: MDPI, 2020.

[59]L. M. L. Nollet and J. A. Gutierrez-Uribe, eds., Phenolic Compounds in Food: Characterization and Analysis. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2018.

[60]D. K. Semwal, ed., Chemistry Research and Applications: The Essential Guide to Alkaloids. Nova Science Publishers, 2023. doi:10.52305/KXUM3530

[61]V. Srivastava, S. Mehrotra, and S. Mishra, eds., Tropane Alkaloids: Pathways, Potential and Biotechnological Applications. Singapore: Springer Nature, 2021.doi:10.1007/978-981-33-4535-5

[62]R. Paltinean and I. Ielciu, eds., Identification of Plant Metabolites: Characterization and Biological Activities. Basel, Switzerland: MDPI, 2025. doi:10.3390/books978-3-7258-3517-1

[63]H. S. Elshafie, I. Camele, and A. Sofo, eds., Plant Essential Oil with Biological Activity II. Basel, Switzerland: MDPI, 2024. doi:10.3390/books978-3-7258-0380-4

[64]S. Devi, R. Singh, N. Mittal, and T. G. Singh, eds., Role of Free Radicals in Pathology. Palm Bay, FL, USA: Apple Academic Press; Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2025.

[65] D. Armstrong and R. D. Stratton, eds., Oxidative Stress and Antioxidant Protection: The Science of Free Radical Biology and Disease. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell, 2016.

[66]I. Dini and S. Laneri, Eds., Dietary Antioxidants and Cosmetics. Basel, Switzerland: MDPI, 2024. doi: 10.3390/books978-3-7258-0056-8.

[67]R. K. Sindhu, I. Singh, and M. A. Babu, eds., Antioxidants: Nature's Defense Against Disease. Hoboken, NJ, USA: Scrivener Publishing/Wiley, 2025.

[68]P. D. Prenzler, D. Ryan, and K. Robards, eds., Handbook of Antioxidant Methodology: Approaches to Activity Determination. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2021.

[69]M. J. Morello, F. Shahidi, and C.-T. Ho, eds., Free Radicals in Food: Chemistry, Nutrition, and Health Effects. Washington, DC, USA: American Chemical Society, 2002.

[70] CHIMACTIV – AgroParisTech, "Détermination de l'activité d'un antioxydant par le test DPPH°," chimactiv.agroparistech.fr. Available: https://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph. Accessed: Apr. 10, 2026.

[71]V. Apostolopoulos, J. Feehan, and V. P. Chavda, eds., Inflammation: The Cause of All Diseases 2.0. Basel, Switzerland: MDPI, 2026.

[72]O. Merah, ed., Anti-oxidant and Anti-inflammatory Properties of Natural Compounds. Basel, Switzerland: MDPI, 2024. doi:10.3390/books978-3-7258-2046-7

[73]J.-M. Cavaillon and M. Singer, eds., Inflammation: From Molecular and Cellular Mechanisms to the Clinic, vols. 1–4. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2018.

[74]A. Rodríguez-Luna and S. González, eds., Inflammation and Natural Products. Basel, Switzerland: MDPI, 2023. doi:10.3390/books978-3-0365-9476-7

[75]S. C. Gupta, S. Prasad, and B. B. Aggarwal, eds., Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases, vol. 928 of Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2016. doi:10.1007/978-3-319-41334-1

[76]J. K. Al-Khafaji, Clinical Microbiology. 1st ed. Baghdad, Iraq: Dar Al-Sadiq Cultural Foundation, 2023.

[77]M. Goodfellow et al., eds., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., vol. 5A, The Actinobacteria. New York, NY, USA: Springer, 2012. doi:10.1007/978-0-387-68233-4.

[78]N. K. Hayles, Bacteria to AI: Human Futures with Our Nonhuman Symbionts. Chicago, IL, USA: University of Chicago Press, 2025.

[79]J. L. Slonczewski, J. W. Foster, and E. R. Zinser, Microbiology: An Evolving Science, 6th ed. New York, NY, USA: W. W. Norton & Company, 2023.

[80]T. A. Waigh, The Physics of Bacteria: From Cells to Biofilms. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2025. doi:10.1017/9781009313506.

[81]M. T. Madigan, K. S. Bender, D. H. Buckley, W. M. Sattley, and D. A. Stahl, Brock Biology of Microorganisms, 15th ed., Global ed. Harlow, UK: Pearson Education, 2019.

[82]M. Espinosa Urgel, La vida social de las bacterias. Madrid, Spain: CSIC / Los Libros de la Catarata, 2024.

[83]A. Nakane and K. Asano, eds., Staphylococcus aureus: Interplay between Bacteria and Hosts. Singapore: Springer Nature, 2024.doi:10.1007/978-981-99-9428-1

[84]D. Handayani, I. Aminah, D. Arbain, and A. E. Putra, Senyawa Antibakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dari Jamur Laut Aspergillus unguis. 1st ed. 2022.

[85]A. Fetsch, ed., Staphylococcus aureus. London, UK: Academic Press (Elsevier), 2018. ISBN: 978-0-12-809671-0.

[86]K. C. Rice, ed., Staphylococcus aureus: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 2341. New York, NY, USA: Humana Press / Springer Nature, 2021. doi:10.1007/978-1-0716-1550-8

[87] M. Mahmoudi, S. Ghafourian, and B. Badakhsh, eds., Toxin-Antitoxin Systems in Pseudomonas aeruginosa. Sharjah, UAE: Bentham Science Publishers (Bentham Books), 2021.

[88]G. Bertoni and S. Ferrara, eds., Pseudomonas aeruginosa: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. New York, NY, USA: Humana Press / Springer Nature, 2024.doi:10.1007/978-1-0716-3473-8

[89]M. Senba and K. Watanabe, “Possibility of novel therapeutic strategy for multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa using bactericidal activity in Streptococcus sanguinis secretion,” in Science against Microbial Pathogens, A. Méndez-Vilas, Ed., 2011.

[90]“Pseudomonas aeruginosa,” List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN), DSMZ. Available: https://lpsn.dsmz.de/species/pseudomonas-aeruginosa. Accessed: Apr. 22, 2026.

[91] E. Alday, M. Navarro-Navarro, A. Garibay-Escobar, R. Robles-Zepeda, J. Hernandez, and C. Velazquez, “Advances in Pharmacological Activities and Chemical Composition of Propolis Produced in Americas,” in Advances in Beekeeping and Bee Conservation, IntechOpen, 2016. doi:10.5772/63145.

[92]P. J. Iqbal, “Phytochemical screening of certain plant species of Agre City,” Journal of Drug Delivery and Therapeutics, vol. 2, no. 4, pp. 135–138, 2012.

[93]N. Jaradat, F. Hussen, and A. Al Ali, “Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols and antioxidant activity of Ephedra alata Decne.,” Journal of Materials and Environmental Science, vol. 6, no. 6, pp. 1771–1778, 2015.

[94]L. Prasad, S. Pradhan, and S. N. Naik, Eds., Biofuel Extraction Techniques. Beverly, MA, USA: Scrivener Publishing; Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2023.

[95]M. P. Shah, Ed., Extraction of Precious Metals from Industrial Waste Using Microbial Technology. Cham, Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2025.

[96]J.-P. Duroudier, Liquid–Liquid and Solid–Liquid Extractors. London, U.K.: ISTE Press Ltd; Oxford, U.K.: Elsevier Ltd, 2016.

[97]C. F. Poole, Ed., Solid-Phase Extraction, Handbooks in Separation Science series, Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2020.

[98]A. Ghorbani et al., “Effect of drying methods on mucilage, anthocyanin content, and antioxidant activity of black hollyhock (Alcea rosea var. nigra),” BMC Plant Biology, 2025, doi: 10.1186/s12870-025-06524-8.

[100] C.-G. Grigoraş, Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs, Ph.D. dissertation, Univ. d'Orléans and Universitatea Vasile Alecsandri din Bacău, 2012.

[101]B. W. Obiang-Obounou and G. H. Ryu, "The effect of feed moisture and temperature on tannin content, antioxidant and antimicrobial activities of extruded chestnuts," Food Chemistry, vol. 141, no. 4, 2013.

[102] D.-H. Truong et al., "Effects of solvent–solvent fractionation on the total terpenoid content and in vitro anti-inflammatory activity of Severinia buxifolia bark extract," Food Science & Nutrition, vol. 9, no. 3, pp. 1720–1735, 2021, doi: 10.1002/fsn3.2149.

[103] H. Doloking, Mukhriani, S. Ningsi, and N. Tahar, "Flavonoids: A review on extraction, identification, quantification, and antioxidant activity," Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 5, no. 1, 2022, doi: 10.24252/djps.v511.29329.

[104]G. Parkhe and D. Bharti, "Phytochemical investigation and determination of total phenols and flavonoid concentration in leaves extract of Vitex trifolia Linn," Journal of Drug Delivery & Therapeutics, vol. 9, no. 4-4, 2019.

[105] F. Martínez-Morales, A. J. Alonso-Castro, J. R. Zapata-Morales, C. Carranza-Álvarez, and O. H. Aragón-Martínez, "Use of standardized units for a correct interpretation of $IC_{50}$ values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants," Chemical Papers, 2020, doi: 10.1007/s11696-020-01161-x.

[106]M. Joo, A. Park, K. Kim, W.-J. Son, H. S. Lee, G. Lim, J. Lee, D. H. Lee, J. An, J. H. Kim, T. Ahn, and S. Nam, "A deep learning model for cell growth inhibition $IC_{50}$ prediction and its application for gastric cancer patients," Article. Gachon University and collaborating institutions, Korea, 2010.

[107] N. Gherrada, Contribution to the phytochemical study and evaluation of the biological potential of Salsola tetragona Delile. growing in Oued Souf region, Ph.D. dissertation, Dept. Cellular and Molecular Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, , El Oued, Algeria, 2024.

[108]T. M. Poorna Chandra, M. G. Vivek Reddy, K. V. Rekha, D. Chandana, G. Lahari, and A. Fazil, "Development and evaluation of natural pain relief spray using polyherbal extracts," International Journal of Health Care and Biological Sciences, vol. 6, no. 2, 2025.

[109]B. Bonev, J. Hooper, and J. Parisot, "Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method," Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol. 61, no. 6, 2008.

[110]J. A. Kiehlbauch, G. E. Hannett, M. Salfinger, W. Archinal, W. Monserrat, and C. Carlyn, "Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories," Journal of Clinical Microbiology, vol. 38, no. 9, 2000.

[111] S. Arroussi et C. Fenniche, Évaluation du pouvoir insecticide des extraits aqueux de deux *Euphorbiaceae* sahariennes dans la région de Ghardaïa, mémoire de master, Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, Université de Ghardaïa, Algérie, 2020.

[114]Q. D. Do, A. E. Angkawijaya, P. L. Tran-Nguyen, L. H. Huynh, F. E. Soetaredjo, and S. Ismadji, "Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica," Journal of Food and Drug Analysis, vol. 22, no. 3, pp. 296–302, 2014.

# الملاحق

| | |
|---|---|
| | |
| مطحنة كهربائية | جهاز UV-Vis |
| | |
| ميزان حساس | ميزان عادي |
| | |
| جهاز المبخر الدوار | جهاز ال pH متر |
| | |
| المجفف | |