رقم الترتيب:.....
رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص : كيمياء العضوية

من إعداد: عبير فوحمة

نور الهدى بورقعة

تحت عنوان:

تقدير الفاعلية البيولوجية والفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات الخام (المائية والكحولية) لبذور نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L

نوقشت يوم:2020/09/14

أمام لجنة المناقشة:

نغموش نصر صالح	أستاذ مساعد- أ-	جامعة حمه لخضر- الوادي	رئيسا
زيدان محمد	أستاذ محاضر- ب-	جامعة حمه لخضر- الوادي	مقررا
شيحي سمية	أستاذ مساعد- أ-	جامعة حمه لخضر- الوادي	مناقشا

السنة الجامعية: 2020/2019

الشكر والعرفان

الشكر لله أولا وأخرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه فلولاه لما حملت يدانا قلما ولا خطت حرفا في سبيل العلم والتعلم .

الشكر بعد الله إلى من لايسعنا رد الجميل لهما إلا بالشكر إلى من أغلى في الوجود والدينا.

الشكر الجزيل إلى من حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل وعلى رأسهم أستاذنا د.زيدان محمد الذي أشرف عل هذا العمل من خلال توجيهاته وإرشاداته فجزاه الله عنا كل خير.

كما نتوجه بالشكر الجزيل إلى أساتذتنا أعضاء لجنة المناقشة لقبولهم مناقشة هذه المذكرة واستفادتنا بتصحيحاتهم ونصائحهم وتوجيهاتهم القيمة .

كما نتقدم بجزيل الشكر إلى مسؤول مخبر ترقية وتكنولوجيا الموارد الصحراوية الأستاذ طليبة محمد علي على ما جاد به من نصائح ومساعدة خلال فترة العمل.

الشكر موصول أيضا إلى مسؤولي المخبر البيداغوجي بمخبر كلية العلوم الدقيقة على كل التسهيلات والمساعدات التي قدموها لنا .

ولا ننسى أن نشكر كل من ساعدنا على إتمام هذا العمل من قريب أو بعيد .

الملخص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة كيميائية للمستخلصات العضوية لبذور نبات *Lepidium sativum*L المتحصل عليها عن طريق النقع في مزيج من (الماء والإيثانول) بنسب حجمية مختلفة ، و دراسة مقارنة لمجموعة دراسات سابقة التي تثري أهمية وفاعلية مستخلصات بذور نبات حب الرشاد في القضاء ومواجهة الجذور الحرة وفعاليتها التثبيطية كمضادات حيوية طبيعية للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة .

ولتحقيق هذا قمنا كمرحلة أولية بحصر كيميائي للمواد الفعالة بطرق لونية و بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، و توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن بذور نبات حب الرشاد غنية بمواد الأيض الثانوي والمتمثلة في (عديدات الفينول والفلافونيدات) . وبعد الاستناد إلى بعض المراجع السابقة تم تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة لنظاميين كيميائيين (عضوي (ميثانول) ومائي) بطريقتين كيميائيتين DPPH و RP، وتبين من خلال ذلك أن للمستخلص الميثانولي فاعلية أكبر على مكافحة مضادات الأكسدة من المستخلص المائي في كلا الاختباريين .

وكخطوة أخيرة وبعد تقييم اختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا لهذين المستخلصين اتجاه أربع سلالات بكتيرية مزروعة في وسط جيلوزي (MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص ،لوحظ أن النتائج كانت جد إيجابية خاصة مع المستخلص المائي ،اذ سجل أعلى قطر تثبيط له 19 مم عند التركيز 10 mg/ml بالنسبة لسلالة البكتيرية *Escherichiacoli*.

وبالمقارنة الإجمالية والشاملة لهذه الدراسات مع مجموعة دراسات أخرى في نفس السياق تبين أن لبذور *Lepidium sativum*L قدرة معتبرة على التثبيط الجذري والبكتيري لمختلف الأنظمة العضوية .

الكلمات المفتاحية:*Lepidium sativum* L ،السلالات البكتيرية ،الأيض الثانوي،DPPH، RP **.**

Abstract:

This work aims at a chemical study of the organic extracts of *Lepidium sativumL* seeds obtained by soaking in a mixture of (water and ethanol) with different volume ratios, and a comparative study of a group of previous studies that en rich the importance and effectiveness of extracts of the seeds of the cress seed plant in eliminating and confronting free radicals and their effectiveness Inhibitory as a naturalantibiotic for many pathogenic bacterial strains.

To achieve this, we did, as a first stage, a chemical restriction of the active substances by color methods and by means of ultraviolet and visual rays spectroscopy, and through this study we concluded that the seeds of the cress plant are rich in secondary metabolites represented by (polyphenols and flavonoids).After based on some previous references the antioxidant efficacy of two chemical systems (organic (methanol) and aqueous) was determined by two chemical methods DPPH and RP, and through that it was found that the methanolic extract has a greater effectiveness in controlling antioxidants than the aqueous extract in both tests.

As a final step, and after evaluating the antibacterial efficacy test of these two extracts was evaluated against four bacterial strains cultivated in Gelozoic medium (MH), and this depending on the method of spreading by tablets, it was noted that the results were very positive, especially with the aqueous extract, as the highest inhibition diameter was recorded at 19 mm at concentration10 mg / ml for the *Escherichiacoli* Bacterial strain.

By a comprehensive and comprehensive comparison of these studies with a group of other studies in the same context, it was found that *Lepidium sativum L* seeds have a significant ability to inhibit the radical and bacterial action of various organic systems.

Key words: *Lepidium sativum L* ,bacterial strains, secondary metabolism, DPPH, RP.

الفـــهـــرس

المحتويات	
الشكر والعرفان	I
الملخص	II
الفهرس	V
قائمة الأشكال	XI
قائمة الجداول	XIV
قائمة الرموز والاختصارات	XVI
مقدمة	1
قائمة المراجع	
الباب الأول: الجزء النظري	
الفصل الأول: الدراسة النباتية	
نظرة عامة حول النباتات الطبية والعطرية	6
1. تعريف النباتات العطرية	6
2. تعريف النباتات الطبية	6
1.2.تصنيف النباتات الطبية	6
1.1.2.التصنيف النباتي	7
2.1.2. التصنيف الموروفولوجي	7
3.1.2.التصنيف الفيزولوجي	7
4.1.2.التصنيف الكيميائي	8
5.1.2.التصنيف التجاري	8
2.2.مصدر النباتات الطبية	9
3.2.أهمية النباتات الطبية	9
3.العائلة الصليبية Cruciferaceae	10
1.3.الوصف النباتي للعائلة الصليبية Cruciferaceae	10
2.3.الانتشار الجغرافي للعائلة الصليبية Cruciferaceae	11
3.3.أجناس العائلة الصليبية Cruciferaceae	11
4.الدراسة النظرية لنبات حب الرشاد *Lepidium Sativum* L	12

1.4.الأسماء الشائعة لنبات حب الرشاد *Lepidium Sativum* L	**12**
2.4.التصنيف العلمي لنبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	**12**
3.4.الوصف المورفولوجي لنبات حب الرشاد	**13**
1.3.4.أجزاء النبتة	**13**
4.4.الانتشار الجغرافي لنبات حب الرشاد	**15**
5.4.التركيب الكيميائي لنبات حب الرشاد	**16**
6.4.الاستعمالات الطبية لنبات حب الرشاد	**18**
7.4.الآثار الجانبية لنبات حب الرشاد	**19**
8.4.الدراسات السابقة لنوع *Lepidium sativum* L	**19**
قائمة المراجع	
الفصل الثاني : الدراسة الكيميائية	
مدخل	**24**
1.تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة	**24**
2.الفينولات (phénols)	**24**
1.2.تعريف الفينولات	**24**
2.2.تصنيف الفينولات	**25**
3.2.دور الفينولات البيولوجية	**27**
3.الفلافونيدات (Flavonoïdes)	**27**
1.3.تعريف الفلافونيدات	**27**
2.3.تصنيف الفلافونيدات	**28**
3.3.الأهمية البيولوجية للفلافونيدات	**29**
1.3.3.دور الفلافونيدات عند النبات	**29**
2.3.3.دور الفلافونيدات عند الانسان	**30**
4.القلويدات (Alcaloïdes)	**30**
1.4.تعريف القلويدات	**30**
2.4.تصنيف القلويدات	**30**
3.4.دور و أهمية القلويدات البيولوجية	**31**

1.3.4.دور القلويدات عند النبات	32
2.3.4.دور القلويدات عند الانسان	32
5.الصابونيات (Saponisides)	32
1.5.تعريف الصابونيات	32
2.5.تصنيف الصابونيات	33
3.5.دور الصابونيات البيولوجية	33
6.التربينات الثلاثية (Triterpène)	33
1.6.تعريف التربينات الثلاثية	33
2.6.تصنيف التربينات الثلاثية	34
3.6.دور التربينات الثلاثية البيولوجية	34
1.3.6.دور التربينات الثلاثية عند النبات	34
2.3.6.دور التربينات الثلاثية عند الانسان	34
7.الجليكوزيدات (Glycosides)	34
1.7.تعريف الجليكوزيدات	34
2.7.أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية	35
1.2.7.دور الجليكوزيدات عند النبات	35
2.2.7.دور الجليكوزيدات عند الانسان	35
8.التانينات (Tanins)	36
1.8.تعريف التانينات	36
2.8.خواص التانينات	36
3.8.تصنيف التانينات	36
4.8.دور وأهمية التانينات البيولوجية	37
1.4.8.دور التانينات عند النبات	37
2.4.8.دور التانينات عند الانسان	37
9.الجذور الحرة ومضادات الاكسدة	38
تمهيد	38
1.9.الجذور الحرة	38
1.1.9.تعريف الجذور الحرة	38

2.1.9.أنواع الجذور الحرة	38
1.2.1.9.التقسيم على أساس الاستقرار	38
2.2.1.9.التقسيم على أساس النوع	39
3.1.9.أضرار الجذور الحرة	39
4.1.9.عمل الجذور الحرة	39
2.9.مضادات الأكسدة	40
1.2.9.تعريف مضادات الاكسدة	40
2.2.9. آليات مضادات الاكسدة	40
3.2.9.تصنيف مضادات الاكسدة	41
قائمة المراجع	
الفصل الثالث : الفاعلية البيولوجية	
تمهيد	49
1.تعريف البكتيريا	49
2.التركيب الخلوي للبكتيريا	49
1.2.المكونات الأساسية للخلية البكتيرية	50
3.تصنيف البكتيريا	51
1.3.من حيث توزيع أسواطها	51
2.3.من حيث الشكل	51
3.3.من حيث الوسط الذي تعيش فيه	51
4.3.من حيث التغذية	51
5.3.من حيث طريقة التلوين(GRAM)	52
6.3.من حيث تأثيرها على الانسان	52
4.المضادات الحيوية	55
1.4.تعريف المضادات الحيوية	55
2.4.أنواع المضادات الحيوية	55
1.2.4.مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية	55
2.2.4.مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية	55

3.4.طرق تأثير المضادات الحيوية	55
1.3.4.مضادات تعمل على إيقاف نسخ ADN	55
2.3.4.مضادات حيوية تعمل على تخريب الغشاء السيتوبلازمي	56
3.3.4.العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا	56
4.3.4.العمل على تخريب الغشاء الخارجي للبكتيريا	56
5.المقاومة البكتيرية	56
1.5.تعريف المقاومة البكتيرية	56
2.5.طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي	56
1.2.5.خواص الجذمة البكتيرية	56
2.2.5.كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي	56
قائمة المراجع	
الباب الثاني : الجزء التطبيقي	
الفصل الرابع : الطرق والوسائل	
1.تحضير العينة	63
2.الأدوات والأجهزة والوسائل	64
3.تعريف الاستخلاص	64
1.3.استخلاص صلب –سائل	64
2.3.طريقة الاستخلاص	65
3.3.طريقة الترشيح	65
4.مخطط الاستخلاص	66
5.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات	67
6.التقدير الكمي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية– المرئية	67
1.6.مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	67
2.6.التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV-visible	68
3.6.التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة UV-visible	70
7.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية	71
1.7.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH	71
1.1.7.اختبار DPPH للمستخلصات	72

2.1.7.حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH	**73**
2.7.اختبار القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي RP	**73**
8.دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بتقنية اختبار الحساسية بالأقراص	**74**
1.8.تحضير التراكيز المختلفة لكل مستخلص	**74**
2.8.تنمية مزارع بكتيرية حديثة	**74**
3.8.تحضير أوساط الزرع	**75**
4.8.تحضير المعلق البكتيري	**75**
5.8.تطبيق الأقراص	**75**
قائمة المراجع	
الفصل الخامس : النتائج والمناقشة	
1.حساب مردود المستخلصات	**79**
2.التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية UV-visible	**80**
3.التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية UV-visible	**82**
4.تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	**84**
1.4.اختبار DPPH	**84**
2.4.اختبار القدرة الارجاعية للحديد	**86**
5.الفاعلية المضادة للبكتيريا	**89**
قائمةالمراجع	
الخاتمة	
الملاحق	

قائـــــــمة الأشكال		
الجزء النظري		
الفصل الأول : الدراسة النباتية		
الشكل(1.I)	نموذج يبرز تركيب وشكل أحد نباتات العائلة الكرنبية	10
الشكل(2.I)	صور توضيحية لبعض أنواع ثمار العائلة الصليبية ونموذج للتركيب البنائي لأزهارها	11
الشكل(3.I)	أجزاء نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	13
الشكل(4.I)	أوراق نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	13
الشكل(5.I)	زهرة نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	14
الشكل(6.I)	ثمار نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	14
الشكل(7.I)	بذور نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	15
الشكل(8.I)	ساق نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	15
الشكل(9.I)	الإنتشار الجغرافي لنبات *Lepidium sativum* L	16
الشكل(10.I)	البنية العامة لـ *Flavonol*	18
الفصل الثاني: الدراسة الكيميائية		
الشكل(1.II)	بنية الفينول	25
الشكل(2.II)	الهيكل الأساسي للفلافونيدات	27
الشكل(3.II)	الصيغة الكيميائية لـ Routine	35
الشكل(4.II)	البنيات الرنينية في جزيئة DPPH	39
الشكل(5.II)	مخطط يوضح أقسام مضادات الأكسدة	41
الشكل(6.II)	يوضح بنية الـ BHA	42
الشكل(7.II)	يوضح بنية الـBHT	42
الشكل(8.II)	يوضح بنية الـ GA	42
الفصل الثالث: الفاعلية البيولوجية		
الشكل(1.III)	تركيب الخلية البكتيرية	50
الشكل(2.III)	بكتيريا *E. Coli*	53
الشكل(3.III)	بكتيريا *PA*	53

الشكل(4.III)	بكتيريا *S. aureus*	**54**
الشكل (5.III)	بكتيريا *KI p*	**54**
الشكل(6.III)	قطر منطقة التثبيت للبكتيريا	**57**
الجزء العملي		
الفصل الرابع: الطرق الوسائل		
الشكل(1.VI)	البذور قبل وبعد الطحن	**63**
الشكل(2.VI)	نقع العينات بالإيثانول و الماء بنسب مختلفة	**65**
الشكل(3.VI)	ترشيح العينات بعد النقع	**65**
الشكل(4.VI)	مخطط عام للتـــجارب المنجـــزة	**66**
الشكل(5.VI)	منحنى العياري لحمض الغاليك	**69**
الشكل(6.VI)	المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات	**69**
الشكل(7.VI)	منحنى العياري للكرستين	**70**
الشكل(8.VI)	مستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات	**71**
الشكل(9.VI)	معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة	**72**
الشكل(10.VI)	المستخلصات بعد إضافة DPPH	**72**
الشكل(11.VI)	إختبار القدرة الارجاعية للمستخلصات	**74**
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الشكل(1.V)	أعمدة بيانية تمثل مردود المستخلصات المستعملة في الدراسة	**80**
الشكل(2.V)	أعمدة بيانية تمثل كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة	**82**
الشكل(3.V)	أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة	**83**
الشكل(4.V)	منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي	**84**
الشكل(5.V)	منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص المائي	**84**
الشكل(6.V)	يوضح قيم IC_{50} للمستخلصات	**85**
الشكل(7.V)	آلية الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية	**86**
الشكل(8.V)	منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص الميثانولي	**87**

الشكل(9.V)	منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص المائي	**87**
الشكل(10.V)	يوضح الفرق EC_{50} قيم للمستخلصات	**88**
الشكل(11.V)	أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص الميثانولي	**90**
الشكل(12.V)	أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص المائي	**92**
الشكل(13.V)	أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمضادات الحيوية.	**94**

قائمـــــــة الجـــــــداول		
الجزء النظري		
الفصل الاول: الدراسة النباتية		
الجدول(1.I)	يوضح التصنيف العلمي لنبات *Lepidium sativum* L	12
الجدول(2.I)	التركيب الكيميائي لنبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L	17
الفصل الثاني: الدراسة الكيميائية		
الجدول(1.II)	مركبات فينولية قليلة الانتشار	26
الجدول(2.II)	أهم هياكل أحماض بنزويك	26
الجدول(3.II)	أهم هياكل أحماض السناميك	26
الجدول(4.II)	أهم هياكل الكومارينات	27
الجدول(5.II)	تصنيف الفلافونيدات	28
الجدول(6.II)	دور الفلافونيدات عند النبات	29
الجدول(7.II)	يمثل بعض أقسام القلويدات	31
الجدول(8.II)	يوضح أقسام الصابونيات	33
الجدول(9.II)	تصنيف التانينات	37
الفصل الثالث : الفاعلية البيولوجية		
الجزء العملي		
الفصل الرابع: الطرق الوسائل		
الجدول(1.VI)	أدوات ومواد وأجهزة المستعملة في الدراسة	64
الجدول(2.VI)	أنواع السلالات البكتيرية المختبرة	74
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الجدول(1.V)	قيم المردود الاستخلاص	79
الجدول(2.V)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	80
الجدول(3.V)	كمية الفينولات الكلية في المستخلصات	81
الجدول(4.V)	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	82
الجدول(5.V)	كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات	83
الجدول(6.V)	يوضح نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات	85

الجدول(7.V)	يوضح نتائج اختبار القدرة الارجاعية للمستخلصات	**87**
الجدول(8.V)	أقطار التثبيت (ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الميثانولي	**89**
الجدول(9.V)	أقطار التثبيت (ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص المائي	**91**
الجدول(10.V)	أقطار تثبيط المضادات الحيوية	**93**

الرمز	بالعربية	بالأجنبية
EAG	حامض الغاليك المكافئ	ACIDE Gallique Equivalent
EQ	الكرستين المكافئ	Quercetion Equivalent
%	النسبة المئوية	Pourcentage
R%	المردود	Rendement
ADN	حمض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين	Acide Désoxyribo nucléique
UV-Visible	مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	Spectrophotomètre ultra-violet et visible
A	الامتصاصية	Absorbance
AA	حمض الأسكروبيك	Ascorbic acid
AG	حمض الغاليك	Acide Gallique
AQ	حمض الكرستين	Acide Qurcitine
λ	الطول الموجي	Wave length
µm	ميكرو متر	micromètre
RP	القدرة الإرجاعية للحديد	The reducing power
DPPH	2.2 – ثنائي فينيل -1-بيكر يلهيدرازيل	2.2- diphényl-1-picrylhydrazy
ROS	الأنواع الأكسجينية النشطة	Réactive Oxygen Species
IC_{50}	تركيز المستخلص الذي يثبط نصف كمية الجذرDPPH المتشكلة	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
EC_{50}	تركيز المستخلص الذي يرجع نصف كمية شوارد الحديد الثلاثي Fe^{+3}	Concentration permettant de réduction 50% de fer ferrique
DMSO	ثنائي ميثيل سلفوكسيد	Dimèthyl sulfoxide
G^+	الغرام الإيجابي	Gram positive
G^-	الغرام السلبي	Gram negative
E-coli		Escherichia coli
Kl p		Klebsiella pneumoniae
S. aureus		Staphylococcus aureus
PA		Pseudomonas aeruginosa

المقـــدمة العامـة

المقدمة :

نتيجة التقدم التكنولوجي في كل المجالات عامة وفي علم الصيدلة خاصة لقيت الصناعات الدوائية رواجا وتوهجا كبيرا وذلك لما صاحبها من إنقاذ البشرية من ويلات الأوبئة وآلام الآفات المرضية ودورها كعنصر اطلاعي على التطورات الصناعية الجديدة ، غير أنها و بالرغم من ذلك باتت تشكل هاجسا يؤرق البشرية لما لازمها من تأثيرات جانبية ومضاعفات علاجية اثر الفعل التراكمي والاستعمال اللامحدود للمواد الكيميائية .

لذا اهتمت الأبحاث الحديثة في ميدان علم السموم وخاصة علم التسمم الجزيئي بفهم وتفسير آليات التي تؤثر بها تلك المواد الصيدلانية على العضوية وبالضبط على الخلية ، ومن جهة ثانية فإن ظهور ما يسمى بالجذور الحرة قد أعاد الحسبان في تفسير ميكانيزم العديد من الأمراض والآليات الفسيولوجية والاستقلابية .

فالأدوية عند دخولها إلى الجسم لا يقتصر تأثيرها على الخلايا المصابة أو العضو العليل ،بل تؤثر على الأعضاء السليمة والمصابة في آن واحد ويؤدي هذا التأثير إلى التراكم تلك المواد الصيدلانية وكذلك نواتج استقلابها داخل الجسم مما يسبب اضطرابات في المسارات الاستقلابية .[1]

وهذا ما جعل من منظمات الصحة الدولية والمؤتمرات الطبية والصيدلانية تنادي بالتعامل العقلاني والحذر ،والعودة إلى التنفيذ الفعلي لاستخدام النباتات الطبية والعطرية والعقاقير ذات المصادر الطبيعية سواء كانت حيوانية أو معدنية مع الحد من استعمال العقاقير المخلقة الغير طبيعية وجعلها في خدمة الصحة بطريقة علمية ذات أسس عملية ثابتة .

والجزائر بأكثر من 3100 نوع من النباتات منها 19.87 متوطنة ،تعتبر من بين البلدان الأكثر تنوعا وهذا بسبب موقعها الجغرافي ومساحتها الشاسعة وتنوع مناخها ،حيث هذا التنوع يشكل ثروة حقيقية تحتاج إلى الحفاظ عليها وادراتها على نحو مستدام وعقلاني من اجل الحفاظ على التوازن البيئي والحفاظ على التنوع البيولوجي. [2]

وعلى ضوء هذا وايمانا منا في تثمين الغطاء النباتي في منطقتنا وتكملة لأبحاث سابقة في هذا المجال ارتآينا بالمشاركة بهذه الدراسة التي تهدف إلى إختبار المواد الفعالة الموجودة في بذور نبات *Lepidium sativum* L وتقيم الفاعلية المضادة للأكسدة والفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات المدروسة ،وفي هذا الصدد طرحنا الإشكاليات التالية :

ما مدى احتواء بذور الرشاد *Lepidiumsativum L* على المواد الفعالة وخاصة المركبات الفينولية ؟وما مدى فعاليتها المضادة للأكسدة؟ وما تأثير المواد المستخلصة من النبات على نمو السلالات البكتيرية؟

وقصد الإجابة على هذه الإشكاليات المطروحة قسمنا البحث إلى قسمين :

✓ **الجزء النظري** : يضم ثلاثة فصول

- الفصل الأول :الدراسة النباتية .
- الفصل الثاني :الدراسة الكيميائية .
- الفصل الثالث :الفاعلية البيولوجية .

✓ **الجزء العملي** : ويضم فصلين

- الفصل الرابع : الوسائل والطرق .
- الفصل الخامس :النتائج والمناقشة .

[1]- عمـــراني آ.،دور فيتـــامين C،E والمســـتخلص البوتـــانولي لنبـــاتي RhantheriumSuaveoles و Chrysanthemumfontanesii في الوقاية من التسمم المحرض بدواء SodiumValproate لدى الفئران الحوامل in vivo وin vitro ،رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه العلوم في بيولوجيا وفسيولوجيا خلية الحيوان ،جامعة قسنطينة (2013).

[2]- Pereira, R.C.,P.Da Gama,B.A.,Teixeira V. L.,Yoneshigue-Valentin,Y .Y.,2003-Ecological roles of natural products of the Brazilian red seaweed Laurencia obtus ,Braz .J.Bio,63(4),p:667-672.

الجزء النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية

- **نظرة عامة حول النباتات الطبية والعطرية :**

تتواجد النباتات الطبية والعطرية في الطبيعة وتعد أول مصدر للحصول على الأدوية حيث أن بعض المواد الفعالة (الجواهر) المستخرجة من النباتات الطبية يكون لها تأثير فسيولوجيا واستعمالات طبية مثل نبات حب الرشاد .[1]

1. تعريف النباتات العطرية :

يعرف النبات العطري على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه النباتية أو تحوراتها على زيوت عطرية طيارة سواء كانت في صورتها الحرة أوفي صورة أخرى تتحول أو تتحلل مائيا إلى زيوت عطرية طيارة مقبولة الرائحة ، [2]والتي يمكن استخلاصها بالطرق المتعارف عليها.ومن أهم محتويات النباتات العطرية :زيوت طيارة، مركبات قلوية ،الدباغ (Tannis) وغيرها .

توجد نباتات تحتوي على زيوت عطرية وتستخدم في علاج بعض الأمراض وتسمى هذه النباتات الطبيةو العطرية. [3]

2. تعريف النباتات الطبية :

يسمى النبات نباتا "طبيا " إذا امتلك على الأقل عضو من أعضائه خصائص علاجية . [4]

كما يعرف على أنه كل نبات يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة أو تحورا ته على مادة كيميائية واحدة أو أكثر، بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية أوما تم استخدامها في صورة عشب نباتي طازج أومجفف أو مستخلص جزئيا ،[5]، [6]أو كما عرفه العالم Dragendroff على أنه (كل شيء من أصل نباتي ويستعمل طبيا فهو نبات طبي). [7]

النباتات الطبية لها القدرة على إنتاج نوع أوعدة أنواع من المواد الفعالة ويمكن أن تنتج مواد غير فعالة وليس لها تأثير طبي .وبهذا التعريف الشامل تدخل المملكة النباتية بنسبة 99% أو أكثر الموسوعة الطبية . [8]

1.2. تصنيف النباتات الطبية :

إن تصنيف النباتات الطبية يهدف إلى التعرف عليها مورفولوجيا ونباتيا ، وتحديد أجناسها وأنواعها وأصنافها لمنع الخلط بينها وبين منتجاتها الطبيعية ذات الفوائد الدوائية علاجيا والأهمية الاقتصادية صناعيا . [9]

لذلك توجد عدة تقسيمات هادفة وتصنيفات محددة للنباتات الطبية وهي :

1.1.2.التصنيف النباتي : يعتمد على الفصائل والعائلات ضمن المملكة النباتية وتصنف إلى مجموعة النبات الدنيا ومجموعة النباتات الراقية والمزهرة . [2]

2.1.2.التصنيف المورفولوجي : يعتمد هذا التصنيف على مكان تواجد المادة الفعالة بالأجزاء النباتية المختلفة، حيث تعتبر هذه الأجزاء هي المصدر الأول والرئيسي للحصول على مادة فعالة معينة أو على الأقل يعتبر هذا العضو النباتي هو العضو الذي تميل إليه المادة الفعالة لأن التركيز فيه دون غيرعن الأجزاء النباتية الأخرى، وتبعا لذلك فإن هذه النباتات تصنف إلى المجموعات التالية : [2]

✓ **نباتات تستعمل بأكملها**: وهي النباتات التي تتواجد بها المواد الكيميائية الفعالة بالأجزاء النباتية المختلفة دون أن تميل للتركيز أو التجمع في عضو نباتي محدد دون الأخر ومن أمثلتها : الصنوبر الأسود ،والونكا ،والشيح الخرساني ،والداتوره .

✓ **نباتات تستعمل أوراقها**: وهي النباتات التي تحتوي على المواد الكيميائية الفعالة في أوراقها ومن أمثلتها:الريحان ،والنعناع ،والشاي ،والحناء.

✓ **نباتات تستعمل نويراتها أو أزهارها**: وهي النباتات التي تتواجد فيها المادة الفعالة سواء في النويرة كما في البابونج والأقحوان،أوفي بتلات الأزهار كما في الورود والفل والياسمين ،أوفي كأس الزهرة الكركديه،أوفي مياسم الأزهار كما في الزعفران .كما تتواجد المواد الفعالة بالأزهار المؤنثة دون المذكرة كما في نبات القنب الهندي .

✓ **نباتات تستعمل ثمارها** :وهي النباتات التي تكون فيها المواد الكيميائية الفعالة في ثمارها ومن أمثلتها : الشمر، الكروية ، الحنظل أو في الأجزاء الغير ناضجة مثل الخشخاش .

✓ **نباتات تستعمل بذورها** :وهي النباتات التي تكون فيها المادة الكيميائية الفعالة في بذورها مثل : بذور الحنظل ،حبة البركة ،الخردل الأبيض والأسود ،والكاكاو والبن ،وعباد الشمس .

✓ **نباتات تستعمل أجزائها الأرضية** :في هذه الحالة قد تكون سيقان أرضية متحورة وجذورا وتدية أو متدرنة ،وجميعها تحتوي المواد الفعالة مثل الجذور الوتدية لعرق الحلاوة، وعرقسوس ،ودرنات السحلب.

✓ **نباتات تستعمل قفلها** :وهي النباتات التي يحتوي قفلها على المادة الكيميائية الفعالة مثل قلف القرفة ،الحور،والرمان والصفصاف .

3.1.2.التصنيف الفيزولوجي :ويعتمد هذا التصنيف على أساس الأثر العلاجي والدوائي للنبات،وليس بحسب نوعية المادة الفعالة أو مكان تواجدها وتصنف تبعا لهاته الخاصية إلى : [2]

✓ **نباتات مسهلة وملينة** :كالسينامكي والذي يعتبر من النباتات المسهلة القوية أما من النباتات الملينة فنجد عرقسوس والصبر والحنظل .

✓ **نباتات مسكنة أو مخدرة** :مثل النباتات المسكنة الصفصاف في حين نجد الخشخاش والقنب الهندي من النباتات المخدرة .

✓ **نباتات مانعة لتهتك الأوعية الدموية الشعرية** : مثل نباتات الموالح والحنطة السوداء والسذب.

✓ **نباتات منشطة للقلب** : مثل نباتات الديجيناليس بنوعيه وبصل العنصل الأبيض ونبات الدفلة .

✓ **نباتات مسببة للاحمرارت الموضعية** :وهي النباتات التي تسبب احمرار موضعي عند ملامستها للجلد ومن أمثلتها : نبات الخردل الأبيض والأسود ،والشطة السوداني .

4.1.2.التصنيف الكيميائي :ويعتمد هذا التصنيف على المواد الكيميائية الفعالة الأساسية التي توجد بالأجزاء النباتية المختلفة للنبات الواحد حيث تصنف المجموعة النباتية وفقا لمحتواها من مادة كيميائية معينة ، أو المجموعة ذات الخواص الطبيعية أو الكيميائية المشتركة وهي كالتالي :

✓ **نباتات تحتوي على القلويدات** : ومن أمثلتها : نبات الدخان ، الكوكا ، الفلفل الأسود .

✓ **نباتات تحتوي على الجليكوزيدات** : مثل نبات الديجيتاليس وبصل العنصل والدفله .

✓ **نباتات تحتوي على التانينات** :مثل نبات أبو فروة ،والبلوط ،وبعض أنواع الكافور .

✓ **نباتات تحتوي على الزيوت الطيارة** : مثل النعناع ،الريحان ،والبردقوش .

✓ **نباتات تحتوي على راتنجات** : مثل نباتات الصمغ العربي ،والقنب الهندي ، والزنجبيل .

✓ **نباتات تحتوي على مواد صابونية** : مثل نباتات عرقسوس ،عرق الحلاوة ، السذب.

✓ **نباتات تحتوي على مواد المرة** : مثل نباتات البعثران ،والخلة البلديوالدريس. [2]

5.1.2.التصنيف التجاري : ويعتمد هذا التصنيف على الأسس التجارية المعمول بها في الأسواق المحلية والخارجية طبقا لقوائم الاستيراد والتصدير وتنقسم إلى : [2]

✓ نباتات طبية .

✓ نباتات عطرية .

✓ نباتات التوابل البهارات ومكسبات الطعم والملونات الطبيعية .

✓ نباتات مبيدة للحشرات .

✓ نباتات تستخدم كالمشروبات .

2.2.مصدر النباتات الطبية :

يمكن الحصول على النباتات الطبية من مصدرين رئيسيين هما :

✓ **النباتات البرية :**

وهي عبارة عن النباتات التي تنمو بريا [10]سواء في الصحاري أو الوديان أو على حواف الترع والمصارف وغيرها ،ومنها (السكران المصري ،بصل العنصل ،الحنظل،الدمسية ،حلف البر .... وغيرها[11]

✓ **النباتات المنزرعة :**

وتضم العديد من النباتات الطبية التي تزرع في الحقول ومزارع خاصة من طرف شركات أدوية ومؤسسات استثمارية لإنتاج أصناف عديدة وأنواع محددة من هذه النباتات التي يحتاجها السوق الدولي والمحلي بكميات معينة لصناعة الأدوية وذلك تحت ظروف متحكم فيها ،ومنها (نباتات العائلة الخيمية ،الحبوب العطرية ، حشيشة الليمون، البردقوش ،الزعتر ،العتر،الريحان،الياسمين.....وغيرها). [10]

3.2.أهمية النباتات الطبية :

تكمن أهمية النباتات الطبية فيمايلي :

✓ مصدرا هاما وأساسيا في صناعة الأدوية مثل أدوية تسكين ألام المفاصل والالتهابات الروماتيزمية ،وأدوية ارتفاع ضغط الدم ،وتصلب الشرايين وكمطهر .

✓ دواء أو علاج لكثير من الأمراض سواء أخذ بشكل مباشر من الطبيعة مثل الكمون واليانسون أو مصنع مختبريا بالاستخلاص والتنقية .

✓ سرعة تأثيرها العلاجي وقلة تأثيراتها الجانبية السلبية .

✓ غذاء مباشر للإنسان ،فهي مثل النباتات الأخرى تدخل في غّذاء الإنسان اليومي بشكل مباشر ،مثل الحبوب بأنواعها والخضروات بأشكالها المختلفة .

✓ منهكات وتوابل وبهارات فهنالك العديد من البهارات التي يستخدمها الإنسان مثل القرفة والزعفران والفانيلا والشطة وغيرها .

✓ تدخل النباتات الطبية في مجالات صناعية عديدة كصناعة المبيدات ،استخراج الزيوت النباتية ،صناعة العطور ومواد التجميل بالإضافة إلى بعض الصناعات الأخرى .

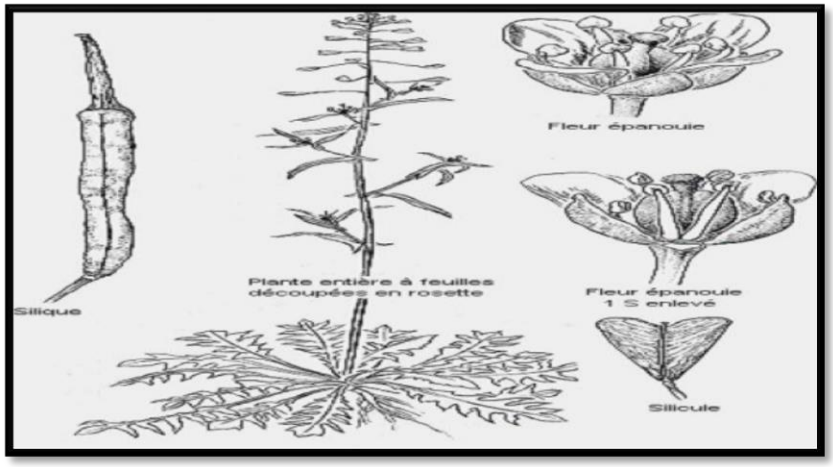
✓ تلعب النباتات الطبية دورا هاما في الزينة خاصة تزيين الحدائق العامة والمنزلية ،فبضعها على شكل أعشاب كالخشخاش وبعضها على شكل شجيرات كالدفلة والبعض الأخر على شكل أشجار كالكافور.

✓ تلعب بعض النباتات الطبية دورا في تحسين البيئة كتحسين الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة، وزيادة خصوبتها في حين نجد بعض الأشجار تعمل كمصدات للرياح . [12]

3.العائلة الصليبية Cruciferaceae :

العائلة الصليبية أو العائلة الكرنبية (Brassicaceae)هي واحدة من أكبر العائلات النباتية انتشارا في العالم والتي تنتمي إلى النباتات كاسيات البذور،تحتوي هذه العائلة على 340 جنس أو أكثر من 3350 نوع والتي تعيش خاصة في المناطق المعتدلة أو الباردة ، [13] وهي نباتات عشبية في الغالب تكون حولية أو معمرة ،ونادرا ما تكون شجيرات صغيرة . [14]

العائلة الصليبية عائلة يسهل تحديدها ويمكن التعرف عليها بسهولة ، وذلك من خلال بتلات أزهارها التي تتوضع على شكل صليب (croix) ومن هنا اشتقت تسميتها القديمة الصليبية"Cruciferae " ، لكن حديثا عدلت باسم العائلة الكرنبية "Brassicaceae"والذي اشتق منه اسم أحد أجناسها المسمى بـ[Brassico] [15].



الشكل(1.I): نموذج يبرز تركيب وشكل أحد نباتات العائلة الكرنبية.

1.3.الوصف النباتي للعائلة الصليبية Cruciferaceae :

الأوراق: أوراقها بسيطة ،متبادلة الترتيب (متعاقبة أو مفصصة)،عديمة الآذنات ،الأوعية الخشبية ضيقة .

الأزهار: ثنائية الجنس ،شعاعية التناظر ،سفلية الأجزاء . [16]

الكأس: يضم 4 سبلات حرة تنتظم في دوراتين ثنائية القطع .

التويج: يتكون من 4 بتلات غير ملتحمة (بيضاء ،صفراء، أو وردية).

المذكر:يتكون من 6 أسدية عادة اثنتين قصيرتين في حلقة خارجية وأربع طويلة في حلقة داخلية (tetradynamous).

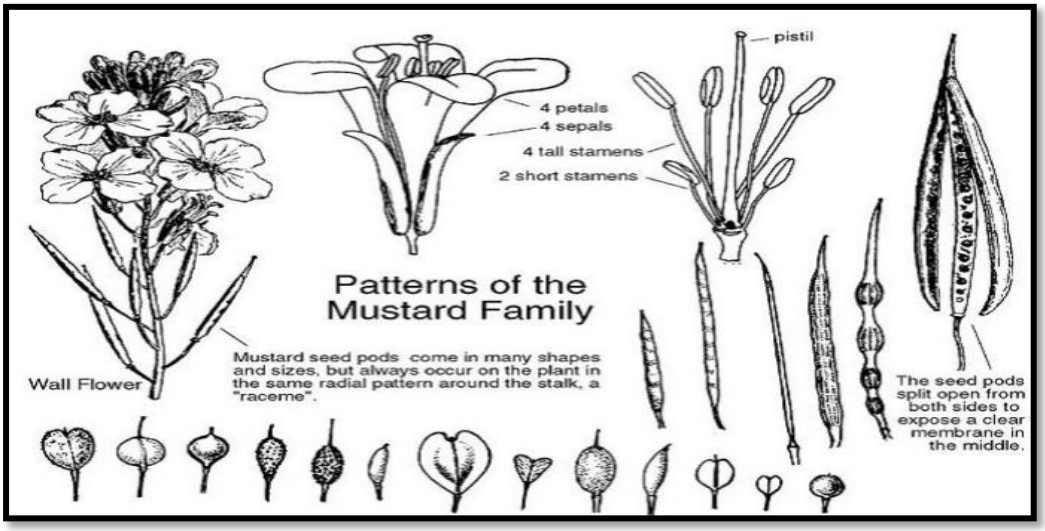
النويرة:عنقودية ،عديمة القنابات والقنيبات .

الثمار:الثمار كبسولة ذات غشاء داخلي يعرف بخردلة (silique) إذا كانت طويلة ،والخريدلة (silicle) إذا كان طولها لا يتجاوز ثلاث أضعاف عرضها . [16]، [17]

ويلخص البناء الزهري بالمعادلة التالية :

$$Ca_4\ Co_4\ A_{2+4}\ G_1\ \varphi\ \oplus$$

المعادلة الزهرية للعائلة الصليبية Cruciferaceae. [16]



الشكل(2.I):صور توضيحية لبعض أنواع ثمار العائلة الصليبية ونموذج للتركيب البنائي لأزهارها.

2.3.الإنتشار الجغرافي للعائلة الصليبية Cruciferaceae:

تتوزع الفصيلة الصليبية في جميع أنحاء العالم تقريبا ، حيث تنتشر بصورة رئيسية خارج المناطق المدارية ، في المناطق المعتدلة من النصف الشمالي للكرة الأرضية . [18]

3.3.أجناس العائلة الصليبية Cruciferaceae:

تحتوي العائلة الصليبية على حوالي (300-420) جنس تحت رتبة Brassicales ،ومن الأجناس الرئيسية لهذه العائلة كالتالي :

- ✓ Lepidium,(les passerages)
- ✓ Arabis,(arabette)
- ✓ Isatis,(pastel)
- ✓ Draba(drava)

- ✓ Cleome
- ✓ Crataeva
- ✓ Thlaspi,(taleouret) [19]

4.الدراسة النظرية لنبات حب الرشاد *Lepidium Sativum* L:

1.4.الأسماء الشائعة لنبات حب الرشاد *Lepidium Sativum* L :

تختلف الأسماء المتداولة للنوع النباتي من منطقة إلى أخرى حيث يأخذ النوع النباتي *Lepidium sativum* L عدة أسماء تتمثل في :

- ✓ **الإسم العلمي** : *Lepidium sativum* L.
- ✓ **الإسم الفرنسي** : Cresson Alénois ,passerage cultivée.
- ✓ **الإسم الإنجليزي** : Garden Cress, Upland Cress. [20]
- ✓ **الإسم العربي** : حب الرشاد أو الحرف.
- ✓ **الإسم الأمازيغي** : بلاشقين .

2.4.التصنيف العلمي لنبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L :

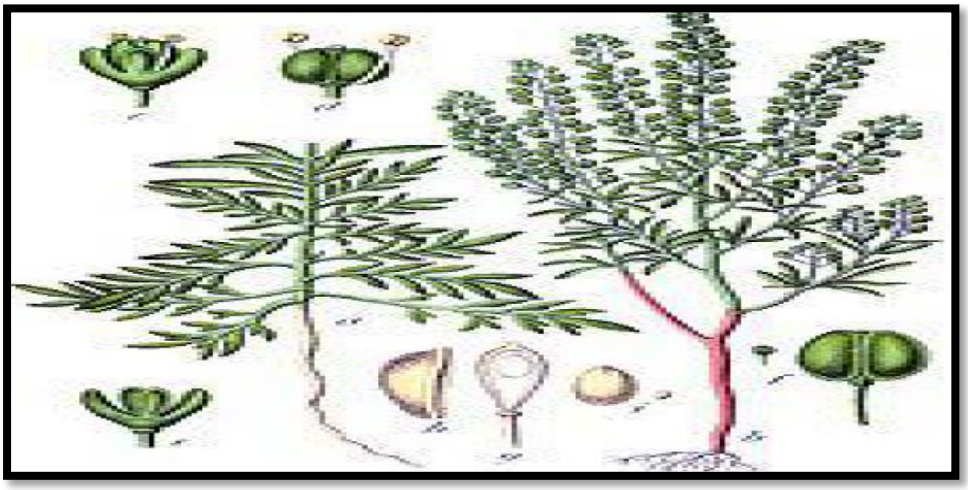
يمكن تمثيل الوضعية التصنيفية لنبات *Lepidium sativum* L في الجدول التالي :

الجدول (1.I) : يوضح التصنيف العلمي لنبات *Lepidium sativumL*. [21]

Régene	**Plante**	الشعبة
Division	Magnoliophyta	القسم
Classe	Magnoliopsida	الصنف
Ordre	Capparales	الرتبة
Famille	Brassicaceae(cruciferae)	العائلة
Genre	Lepidium	الجنس
Espèce	Lepidium sativum Linn	النوع

3.4.الوصف المورفولوجي لنبات حب الرشاد :

نبات حب الرشاد نبات معمر سريع النمو ، عشبي حولي ،أجرد ،ينتمي إلى العائلة الصليبية يتراوح طوله من 20 إلى 50سم في وقت الإزهار ، بذوره تشبه إلى حد كبير بذور حبة البركة إلا أن لونها فاتح كلون السمسم ،أوراقه صغيرة ومتفرعة وطعمها لاذع ، [22]تنمو عليه أزهار بيضاء ما تلبث إلا أن تتحول إلى بذور عند جفاف النبات ، ينمو في فصل الشتاء إلا أنه من السهل زراعته على مدار العام إذا توفرت له الظروف البيئية الملائمة . [23]



الشكل(3.I): أجزاء نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L. [22]

1.3.4.أجزاء النبتة :

✓ **الأوراق :**

الأوراق رقيقة ذات لون أخضر فاتح ،حيث نجد السفلية معلاقية مقسمة ريشيا مرة أو مرتين إلى فصوص غير منتظمة ،في حين تكون الأوراق الساقية قصيرة المعلاق أولاطئة ،و العليا تامة ،خطية غير جالسة ، أما النويرة فتكون على شكل عنقودي إبطي وإنتهائي التوضع. [24]

الشكل(4.I): أوراق نبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L.

✓ **الأزهار:**

صغيرة سنبلية يمتد طولها نحو 2مم ،غزيرة بيضاء اللون ،تخلق أغلفة تنفتح عن حب أحمر دقيق ،حريف للغاية،تتميز بكأس طوله نصف طول البتلات ،زغبة ،الشمراخ الثمري منتصب ويكون أقصر من الثمرة . [24]

الشكل(5.I):زهرة نبات حب الرشاد L *Lepidium sativum*.

✓ **الثمار :**

الثمار خردلية صغيرة ، تتميز بلون أخضر فاتح يميل إلى الأصفر، أبعادها 4-3X6-5 مم، إهليلجية إلى مدورة ،جرداء ،المصراعان مجنحان بشكل واضح ،الجناح يتسع بإتجاه القمة ليشكل جيبا ضيقا.[24]

الشكل(6.I): ثمار نبات حب الرشادL *Lepidium sativum* .

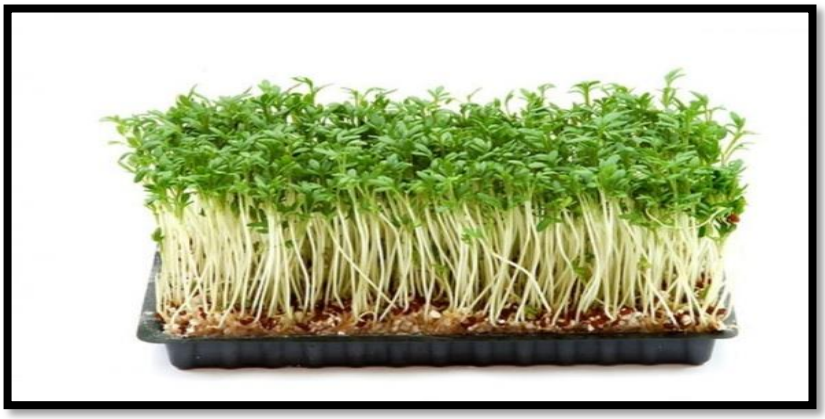
✓ **البذور :**

ملساء صغيرة،بيضاوية،مدببة ومثلثة الشكل ،يتراوح طولها من3 إلى4 مم في حين عرضها ما بين 1إلى 2مم،ذات لون بني يميل إلى الاحمرار. [22]

الشكل(7.I):بذور نبات حب الرشاد L *Lepidium sativum*.

✓ **الساق :**

يتميز بساق منتصبة كثيرة التفرع . [24]

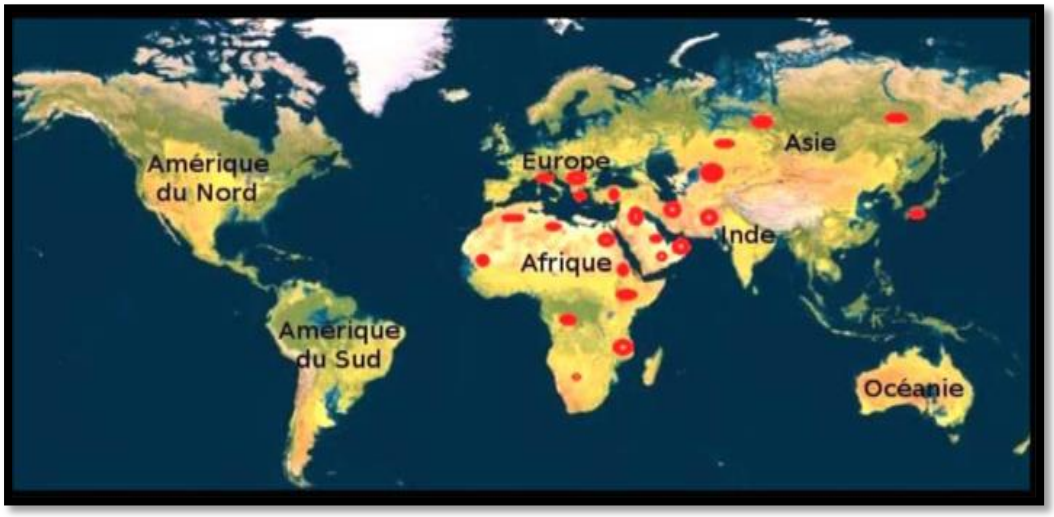


الشكل(8.I):ساق نبات حب الرشاد L *Lepidium sativum*.

4.4.الانتشار الجغرافي لنبات حب الرشاد :

يذكر أن منشأ نبات حب الرشاد يعود إلى المناطق الجبلية لإثيوبيا وإريتيريا ومنطقة الشرق الأوسط والتي تشمل بلاد الشام وتركيا،ومنها انتقل إلى الدول الأوربية . [25]

تنتشر زراعة نبات حب الرشاد في المناطق المعتدلة وشبه المدارية من العالم،حيث كان يزرع في العصور القديمة في اليونان وإيطاليا ومصر بينما اليوم أصبح يزرع في جميع أنحاء العالم بما في ذلك معظم الدول الإفريقية. [26]



الشكل(9.I):الإنتشار الجغرافي لنبات *Lepidium sativum* L. [25]

5.4.التركيب الكيميائي لنبات حب الرشاد :

تحتوي الأوراق الغضة والساق على الغلوكوزينولات glucosinolate أهمها الغلوكوتروبين (glucotropaeolin) الذي ينتج عنه عند طحن النبات مركب بنزيل إيزوثيوسيانات (benzylisothiocyanate)، [27]أما بذوره وخاصة (السويداء والنخالة) فتحتوي على البروتين والأحماض الدهنية الأساسية وخاصة في شكل أوميغا 3 (حمض اللينولينيك) كما تحتوي أيضا على العديد من المعادن مثل البوتاسيوم ،فسفور ، الكالسيوم ،و الحديد ،ومجموعة من الألياف الغير قابلة للذوبان . [26]والجدول الآتي يوضح ذلك :

الجدول (2.I) : التركيب الكيميائي لنبات حب الرشاد *Lepidium sativum* L.

Composant (%)	Lipides (0,7 g) (g)	Minéraux et oligo-élément (mg/100g)	Vitamines et assimilés (mg/100g)
Protéines: 2.6	Acides gras saturés: 0.023 g	Potassium : 606	Vitamine A et provitamine A : 346
Lipides : 0.7	Acides gras mono-insaturés : 0. 239g	Phosphore : 76	Thi amine (vitamine B1):0.08
،Glucides : 5.5	Acide gras poly-insaturés: 0.228g	Calcium:81	Riboflavine (vitamine B2) : 0.26
Fibres : 1.1	Dont oméga : 0.152g	Sodium : 14	Vitamine K: 541.9
Eau : 89.4	Dont oméga : 3 0.076g	Magnésium : 38	Vitamine C: 69

العناصر الفعالة :

بالإضافة إلى ماسبق فإن نبات حب الرشاد يحتوي أيضا على مجموعة من العناصر الأساسية والنشطة والمتمثلة في:

- **Caroténoïdes :**

✓ bêta-carotène: توجد كمية2.193 mg من bêta-carotène في حجم قدره 250ml من المستخلص.

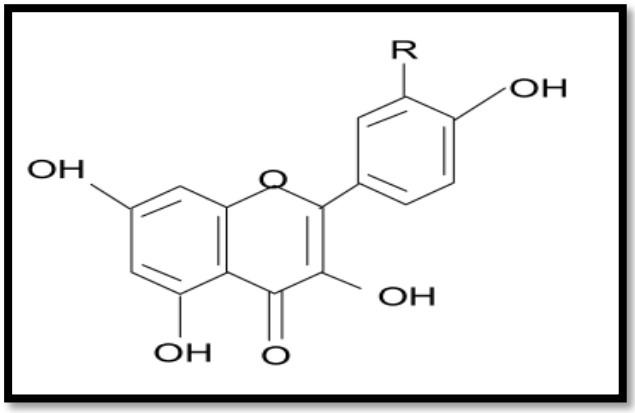
✓ la lutéine ;zéaxanthine: توجد كمية تقدر بـ 6.60 µg في حجم قدره 250 ml من المستخلص .

- **Flavonoïdes**: وخاصة الفلافونول (les flavonoles) الموجود على شكل kaempferol أو على شكل quercétine .
- **Glucosinolates**: والتي تتحول إلى isothiocyanates والذي يشكل بدوره عامل يساعد على الحد من تطور السرطان في البشر .
- **Composés phénoliques**: تم تحديد 22 مركب من المركبات الفينولية المعروفة ،والتي بدورها مسؤولة على تشكيل الزيوت الأساسية . [28]

الصيغة الكيميائية لفلافونول (les flavonoles):

R = H,kaemphérol.

R = OH,quercétol.



الشكل(10.I): البنية العامة لـ Flavonol. [28]

6.4.الاستعمالات الطبية لنبات حب الرشاد :

يعتبر نبات حب الرشاد(*Lepidiumsativum* L) من النباتات ذات الخصائص العلاجية التي وقع إستخدامها في الطب الشعبي حيث :

- ✓ يخفف من اضطرابات الجهاز الهضمي ويعمل على الوقاية من الإمساك. [29]
- ✓ يستعمل في علاج أمراض الجهاز التنفسي مثل نزلات البرد، والتخفيف من أوجاع احتقان الحلق وحالات السعال الشديد والربو والتهاب الشعب الهوائية .
- ✓ يعمل على تعزيز قوة ومرونة العظام والمفاصل وخصوصا عند الإصابة بالكسور .
- ✓ يعمل على علاج مرض الأنيميا أو فقر الدم وذلك من خلال تأثيره في تعزيز مستوى الهموجلوبين في الدم
- ✓ يكافح ارتفاع ضغط الدم ويعمل على تنظيم معدلات السكري .
- ✓ يستعمل لعلاج الالتهابات الجلدية والتقرحات والخراجات والأكزيما ومعالجة البقع والكلف في الوجه . [24]
- ✓ مقو لمناعة الجسم وضد الكسل اللمفاوي ومثبط للبكتيريا والفطريات .
- ✓ يستخدم لعلاج عرق النساء داخليا وخارجيا .
- ✓ يحتوي حب الرشاد على مركبات الفيتوكيميكال (phytochemical) والستيرولات النباتية (phytosterols) المعروفة بأثرها في محاربة السرطان ومنع تكونه والوقاية منه، وفي دراسة أجريت عام 2013 وجد لمستخلص بذور نبات الرشاد المائي القدرة على قتل خلايا سرطان الثدي . [30]

- ✓ يعمل على تعزيز الصحة العقلية وتنشيط الذاكرة و الوقاية من مرض الزهايمر .
- ✓ يساهم في الحفاظ على صحة اللثة والأسنان لكونه غني بالفيتامينات .
- ✓ يساعد على خفض الدهون الثلاثية والكولسترول في الدم .

7.4.الآثار الجانبية لنبات حب الرشاد :

في حين أن نبات *Lepidium sativum L* له آثار جانبية فينبغي عدم استخدامه من قبل المرضى المصابين بالحساسية في المعدة وعسر الهضم ،و انخفاض السكر في الدم ،انخفاض ضغط الدم وقصور الغدة الدرقية. [24]

8.4.الدراسات السابقة لنوع *Lepidium sativum L* :

➢ أثبتت العديد من الدراسات الفيتوكيميائية للمستخلصات المائية والكحولية[31]،[32] لنبات*Lepidium sativum L* غناه بالمركبات الثانوية مثل البوليوفينولات ،الفلافونيدات ، القلويدات ،الصابونيات، الكربوهيدرات ،متعدد التربين ،الستيرولات، والتي تمنحه القدرة على الفعل التثبيطي للجذور الحرة وللسلالات البكتيرية الممرضة.

➢ كما أظهرت دراسة DivanjManoharومعاونوه (2012) [33] أن المستخلص المائي لبذور نبات *Lepidiumsativum L* يمتلك قدرة على خفض مستويات الجلوكوز بشكل كبير لدى الجرذان السليمة والمصابة بداء السكري المستحدث ،بالإضافة إلى ملاحظة عدم تغير تركيز الأنسولين في البلازما القاعدية مشيرا بذلك إلى ان الآلية الأساسية من هذا النشاط تكون مستقلة عند إفراز الأنسولين .

➢ وفي إطار دراسة الفعالية المضادة للالتهابات لبذور *Lepidium sativum L* وجد F.Y.Alqahtani ومعاونوه(2019) [34] أن لمستخلص إيثر دي بترول قدرة على حماية غشاء الخلية LSO بمستويات مقدرة بـ 21% ،11%، 7 % لتراكيز µg/ml(300، 200، 100) على التوالي وذلك مقارنة بالعقار القياسي ديكلوفيناك الذي أبدى استقرار غشائيا بنسبة 65% ، 63% ،61% لتراكيزµg/ml (300، 200، 100) .

المراجع بالعربية :

[1]- د.سعد ليث السريع الركابي.،النباتات الطبية ،قسم علوم الحياة ،جامعة القادسية ،ص:2 (2017).

[2]- د.م السيد هيكل ،د.ع الله عبد الرزاق عمر .، النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها ،إنتاجها،نوافذها،دار النشر منشأة المعارف بالإسكندرية مصر ،ص:21-28 (1993).

[5]- بوخبتي ح .، النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتهما الاساسية ،رسالة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزولوجيا النبات ،جامعة فرحات عباس سطيف(2010).

[6]- العابد إ.، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum،رسالة ماجستير في الكيمياء ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).

[7]- بلفار آ.،دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات (Limoniastrum guyonianu (Dur.،رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء،جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،ص:6(2018).

[8]- مجلة الآداب،أهمية النباتات الطبية واستعمالاتها في الحضارات القديمة ، العدد 123/كانون الأول(2017).

[9]- ميثاق الجبر.، بحث وتحدد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات Cathaedulis من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا Pulicariajaubertii من العائلة Asteraceae وتقييم الفعالية البيولوجية ،رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتوراه علوم ،جامعة منتوري قسنطينة (2010).

[10]- م عبد الطاهر شعبان واخرون .، النباتات الطبية والعطرية ، كلية الزراعة ،جامعة القاهرة ،ص:16-17(2010).

[11]- م صالح سراج علي ،يونس محمد الحسن .، تاثير استرزاع النباتات الطبية البرية على خصائصها الكيميائية والحيوية ، التقرير النهائي المقدم إلى عمادة البحث العلمي،جامعة الملك فيصل (2002).

[12]- عثمان الحاج سناء وآخرون .، استخلاص وتعبئة المواد الفعالة من نباتات الحرجل والحنظل والصبار واستخدامها في التداوي ،بحث تكميلي لنيل درجة بكالوريس الشرف في البيئة والموارد،جامعة البحر الأحمر ،ص:15(2014).

[16]- الخطيب أ .،الفصائل النباتية ،ديوان المطبوعات الجامعية ،بن عكنون الجزائر (1991).

[24]- د.وسيم هاني الحكيم واخرون .،أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي ،جامعة الدول العربية ،دمشق(2012).

المراجع بالأجنبية:

[3]-Rubin, M.,2004- Guide pratique de phytothérapie et d'aromathérapie,Edition Ellipses ,Paris,pp1-77.

[4]-Farnsworth, N. R., Akerele, O.,Bingel, A. S., Soejarto, D., et Guo, Z ., 1986- Places des plantes médicinales dans la thérapeutique,Bulletin de l'organisation mondiale de la santé ,64(2):159.

[13]-Kadry,A.K.,2005-Morphological Studies on trichomes of Brassicoceaein Egypt and taxonomic singnificance Acta Bot Croat ,South valley University ,Faculty of science ,Botany department ,Sohag,Egypt ,64(1).p:57-73.

[14]-Cortea,M. E.,Franciso M.,Soengas P.,Velascv P .,2001-Phenolic compound in Brassica Vegetables Molecules ,16,p:251-280.

[15]-Dupont, F.,Guignavd J. L., Botanique les familles des plantes ,15 iiéme édition .Vol 471426-(1)-(3,2),Imprimé en Espagne ,p:198-202.

[17] -Ozenda, P., 1977-Flore du sahara ,2éme Edition ,C.N.R.S,Paris,p:622.

[18]-Hedge, I.,1976-Asystematic And Geographical Sur vyof Old world Cruciferae In:Vaughan ,J .G.,Macleod, A. J., Jones, B.M. G.(Ed),the Biology A chemistry of the Cruciferae. Academic Press,London.

[19]- Spichiger, R., Savolainen, V., Murielle, F., et Daniel, J., 2009-Botanique Systématique des plants à fleurs .Troisiéme édition revue et corrigée .Vol ISBN978-2-88074-502-8. Imprimé en Italie ,P:262.

[20] -Friedel, J., 1904. Influence de l'oxygène sur le verdissement.p.100-103- Départ./Région, Bulletin de la Société Botanique de France, 4, Tome 51-Fascicule 2.

[21] -Raval, N .,2016- A comprehensive review of Lepidium Sativum Linn ,Traditional medicinal plant ,World Journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences ,5(5):1593-1601.

[22] -Grubben, G.,Denton, O., Messiaen, M., Schippers, R., Lemmens, J, 2005. Végetables,Wageningen. Backhuys Publishers.

[23] -Balasubramanian, M., (2009). Nutritive Value of Indian Food, Nat. Inst. Nutr., ICMR, Hyderabad.

[25]-Gregory, J. R. J. Stouffer,et al .,2007- Climate change 2007 :the physical science basis.

[26]-Jansen, P., 2007 - Prota Network Office Europe, Wageningen University, P.O. Box 341, 6700 AH Wageningen, Netherlands.

[27]-Bermejo, J. E., Hernandez Leon J .,2010-Neglected Crops: 1492 from a different Perspective :Garden Cress .FAO Corporate Document Repository .www.fao.org.

[28] -Mali, R. G., Mahajan S. G .,Mehta A. A.,2008-Studies on Bronchodilatory effect of Lepidium Sativum against allergen induced bronchospasm in Guinea Pigs ,pharmacog Mag ,4,P:189-192.

[29] -Aouadhi, S.,2010-Atlas des risques de la phytothérapie traductionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes (TUNISIE).

[30]-Mahassni, H. S.,and Al-Reemi, R. M.,2013- Apoptosis and Necrosis of Human Breast cancer Cells by an Aqueous Extract of Garden Cress (Lepidium sativum) seeds Saudi Journal of Biological Sciences, 20(2)P:13-131.

[31]- Rizwan, A.,Mohd, M., Firoz, A., Aftab, A.,2015-Phytochemical analysis and evalution of anti-oxidantactivity of methanolic extract of Lepidium Sativum L.Seeds.Der Pharmacia Lettre ,7(7):427-434.

[32]- Chatoui ,K.,Talbaoui,M.,Aneb.M., Bakri,Y.,Harhar,H.,Tabyaoui,M.,2016-Phytochemical Screening, Antoxidant and Antibacterial activity pf Lepidium sativum seeds from Morocco journal .Mater.Environ.Sci,7(8):2938-2946.

[33]-Manohar,M.,Viswanatha,G.L.,Nagesh,S.,Jain,V.,Shivaprasad,H.N.,2012-Ethnopharmacology of Lepidium Sativum Linn (Brassicaceae): A Review, international journal of phytothearpy research, 2(1)P:4.

[34]-Alqahtani,F.Y., Aleanizy,F.S., Mahmoud,A.Z., Farshoric,N.N.,Alfaraj,R., Al-sheddi,E.S.,Alsarra,I.A.,2019-Chemical composition and antimicrobial, Antioxidant, and anti-inflammatory activities of Lepidiumsativum seed oil,Saudi Journal of Biological Sciences, 26:1089-1092.

الفصل الثاني

الدراسة الكيميائية

- **مدخل:**

يحي علم التداوي بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية المحتوية على عدد كبير من المكونات الفعالة طبيا و التي تعكس الإمكانات العلاجية الكبيرة لها ،فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض بالإضافة إلى احتوائها على مواد غذائية وفيتامينات فضلا عن المكونات الفعالة. [1]

1. تعريف المنتجات الطبيعية الفعالة :

المنتجات الطبيعية الفعالة هي مركبات عضوية من أصل طبيعي ،تقوم بإنتاجها الكائنات الحية ،وأكثر هذه المكونات أهمية تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية ،والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة ،وهي جزيئات تنتج إنطلاقا من عمليات الأيض ،ونميز منها قسمين [2] :

✓ **الأيض الأولي (Métabolites primaires):**

تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية والجسم ، فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية ،وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية (Métabolites primaire)التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسلية البسيطة والأحماض الأمينية ،السكريات ،الدهون والبروتين. [3]

✓ **الأيض الثانوي (Métabolites secondaires):**

تمثل هذه المنتجات مجموعة من المركبات الطبيعية المصنعة حيويا من طرف النباتات ابتداء من منتجات الأيض الأولي والمتمثلة في الفينولات والتربينات والقلويدات وغيرها [3] ،وتصنف منتجات الأيض الثانوي إما على أساس مصدرها الطبيعي أو على أساس تأثيراتها البيولوجية والتصنيف الأكثر شيوعا يكون على أساس البنية الكيميائية. [4]

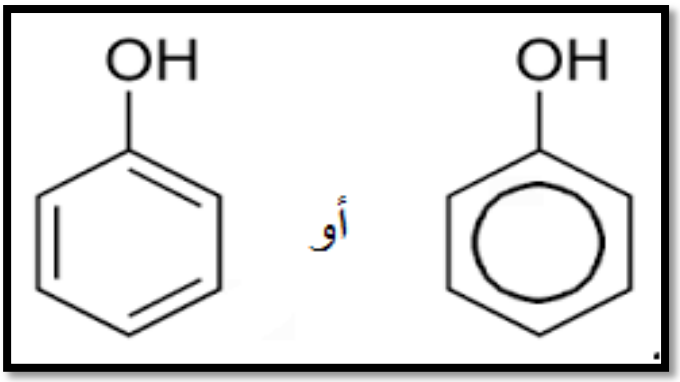
2.الفينولات (phénols):

1.2. تعريف الفينولات :

تمثل المركبات الفينولية مجموعة واسعة من المواد النباتية التي تعرف على أنها مستقبلات ثانوية في المملكة النباتية،حيث تستعملها للدفاع ضد الأشعة فوق البنفسجية أو الأجسام الغريبة. [5]

والعنصر الأساسي المميز لها هو وجود حلقة عطرية (نواة بنزينية) أو أكثر مرتبطة بمجموعة هيدروكسيل حرة أو مستبدلة مع مجموعات أخرى (إيثر- أستر- سكر)[6].،حيث أن الإختلاف في عدد الحلقات وعدد ونوع الوظائف

المرتبطة بها يجعلها تنقسم إلى عدة مجاميع ذات تراكيب متعددة تسمح لها بتشكيل مجموعة من العائلات يصعب تفكيكها إلى مركبات بسيطة.[7]



الشكل(1.II): بنية الفينول.

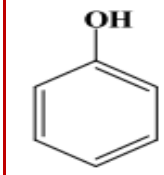
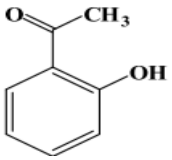
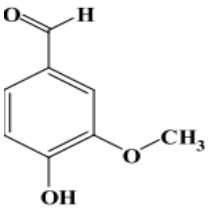
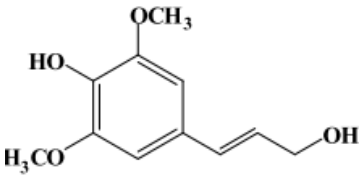
2.2.تصنيف الفينولات :

حسب العالم **Swain et Baten –Smith** (1992) يمكن أن تصنف المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيداتها إلى ثلاثة مجموعات كالتالي[8]،[9] :

- ✓ مركبات فينولية قليلة الانتشار .
- ✓ مركبات فينولية واسعة الانتشار .
- ✓ مركبات فينولية في صورة بوليمرات .

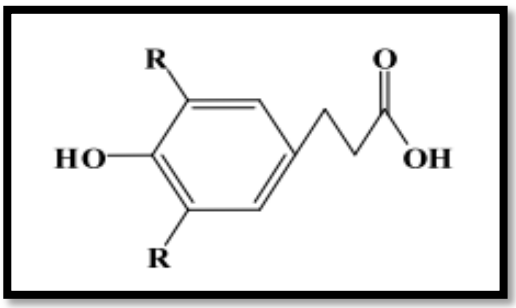
– **مركبات فينولية قليلة الانتشار**: من الشكل C_6 ،C_1 – C_6 ، C_2 – C_6 ، C_3 – C_6 كما هو موضح في الجدول**(1.II):**

الجدول(1.II): مركبات فينولية قليلة الانتشار.

الشكل	الصيغة		الشكل	الصيغة	
C_6		phénol	C_6-C_2		2-Hydroxyacétatophenone
C_6-C_1		vanilin	C_6-C_3		Alcool Sinapylique

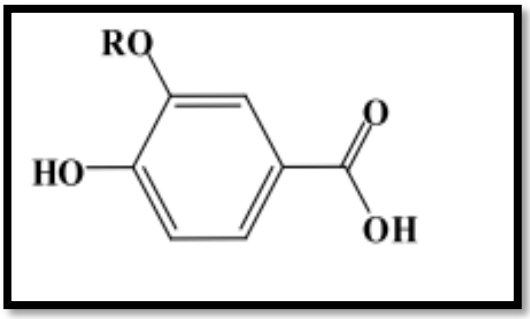
- **مركبات فينولية واسعة الانتشار:**

➢ **الأحماض الفينولية** : وتتمثل في أحماض بنزويك $C_6—C_1$ وأحماض سيناميك C_9 ،كما هو موضح في الجدولين **(2.II) (3.II):**



الجدول(2.II): أهم هياكل أحماض بنزويك.

R	المركب
H	Ac.Proto catechique
CH_3	Ac.Vanilliq

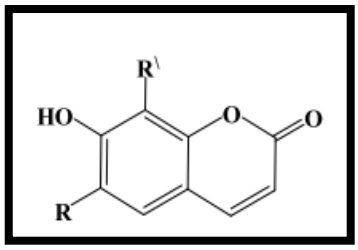


الجدول(3.II): أهم هياكل أحماض السيناميك.

R	المركب
H	Ac.Coumarique
OCH_3	Ac.Sinammique

➢ **الكومارينات** : هي مركبات كيميائية عطرية من فئة بنزوبيرون،تتشكل أساسا من العنصر ذي البنية $C_6 - C_3$، إذ تشكل السلسلة C_3 حلقة متغايرة أكسجينية في الموقع(3) [10].كما هو موضح في الجدول **(4.II)**:

الجدول(4.II): أهم هياكل الكومارينات .



المركب	R'	R
froxétine	H	OCH_3
dophenétine	OH	H

2.3.دور الفينولات البيولوجية :

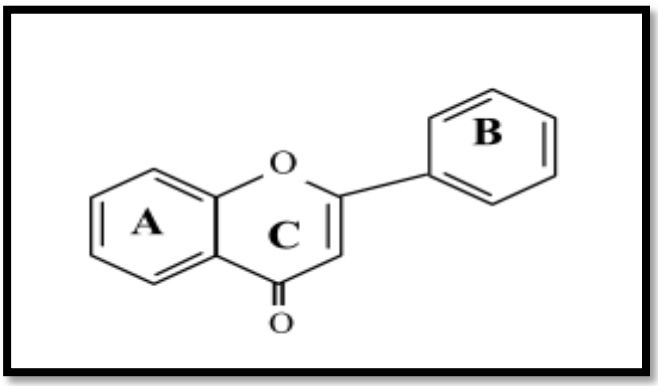
أفادت العديد من المنشورات العلمية أهمية وفاعلية المركبات الفينولية من الناحية البيولوجية والعلاجية وفي هذا الإطار يمكن حصر بعض الفعاليات الهامة المتمثلة في النشاطية المضادة للبكتيريا وتثبيط الأنزيمات ، مضادة للالتهابات والأمراض السرطانية وخاصة(سرطان الغدة اللبنية الفاريAMN_3 وعنق الرحم (Hela ،مضادة للأكسدة ،مضادة للأمراض العصبية وأمراض القلب والأوعية الدموية [11].

3.الفلافونيدات (Flavonoïdes):

1.3. تعريف الفلافونيدات :

تمثل الفلافونيدات القسم الأكبر من منتجات الأيض الثانوي حيث تحوي جميع الفلافونيدات 15ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على ثلاث حلقات (C، B،A) المميزة بالبنية C_6-C_3-C_6 [9].

اشتقت كلمة الفلانويد من الكلمة اللاتينية **Flavus** والتي تعني اللون الأصفر و الفلافونيدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار ،الثمار وأحيانا الأوراق . [12]

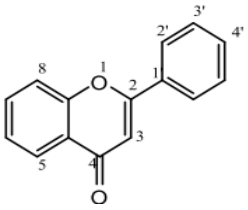
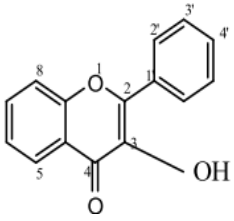
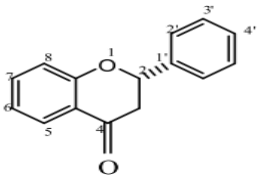
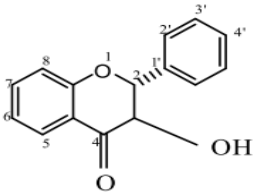
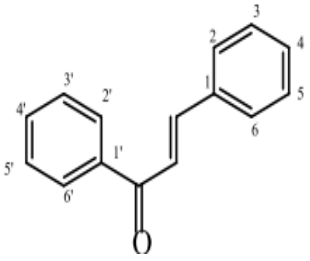


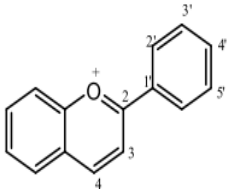
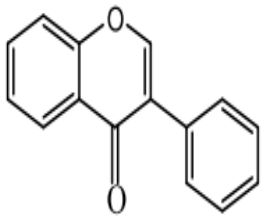
الشكل(2.II): الهيكل الأساسي للفلافونيدات .

2.3. تصنيف الفلافونيدات :

تنقسم الفلافونيدات إلى عدة أنواع وذلك تبعا لعدد المستبدلات ،موضعها وطبيعتها ،(التي تكون في جل الأحيان مجموعة ميثوكسيل أو جليكوزيل) ،بالإضافة إلى مستوى أكسدة الحلقة الغير متجانسة(C) [13].ونلخص بعض أنواعها في الجدول التالي :

الجدول(5.II): تصنيف الفلافونيدات.[14]

نوع الفلافونويد	الصيغة الكيميائية	أمثلة	خاصية
Flavones الفلافون		Apigenine (OH:5,3',4') Lutéoline (OH:5,7,4') Diosmétine(OH:5,7,3', OMe=4')	هي فلافونيدات ذات لون بنفسجي على ورق واتمان او على الطبقة الرقيقة من متعدد أميد
Flavonols الفلافونول		Quercétine(OH:3,5,7,3',4) Kaemphérol(OH:3,5,7,4') Myrecétine(OH:3, 5,7,3' ,4',5')	هي فلافونيدات ذات لون أصفر على ورق واتمان أو على الطبقة الرقيقة من متعدد اميد
Dihydro flavonols ثنائي هيدرو فلافانول		Dihydro Kaemphérol (OH:3,5,7,4') Dihydro quercétine (OH:3,5,7,3',4')	
Flavanones فلافانون		Naringénine(OH:5,7,4') Eriodictyol (OH:5,7,3',4') Hespérididdine(OH:5,3' ,O-rut=7,OMe=4')	هي فلافونيدات صفراء تحت الأشعة فوق البنفسجية المرئية
Dihydro-chalcones ثنائي هيدروشالكون		Aspalathine(OH:3,4,2',4', 6',C-glu=3') Nothofagine(OH:4,2`,4`, 6) Phloridzine(OH:4,4`,6;O-glu=2)	صبغات صفراء للأزهار

Antho-cyanidines انتوسيانيدين		Pelargonidine(OH:5,7,4') Cyanidine(OH:3,5,7,3',4') Delphénidine(OH:5,7,3',4',5')	في الوسط الحمضي تكون حمراء وفي الوسط القاعدي تكون بنفسجية أو زرقاء.
Isoflavones ايزوفلافون		Daidzeine(OH:7,4') Genisteine(OH:5,7,3',4')	

3.3. الأهمية البيولوجية للفلافونيدات :

1.3.3. دور الفلافونيدات عند النبات :

تلعب الفلافونيدات أدورا عديدة في النبات نلخص بعضها في الجدول الآتي :

الجدول(6.II): دور الفلافونيدات عند النبات.[15] ،[16]،[17]

دورها في النباتات	
إعطاء اللون للنبات	إن الامتصاص في المجال المرئي لبعض أنواع الفلافونيدات يضفي لها دور صبغة النباتات وخاصة الأزهار مما يؤدي إلى جذب الحشرات والطيور المؤبرة لمباشرة عملية التلقيح.
الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية	امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (250-270nm) من طرف الفلافونيدات يحمي البروتينات والأحماض النووية من التأثير السام لهذه الإشعاعات.
تنظيم نقل الهرمون	تعمل الفلافونيدات على تشكيل معقدات مع هرمونات النمو (AIA) وهذا ما يؤدي إلى إمكانية مراقبة نمو وتطور النباتات.
مضادات حيوية	بعض النباتات تقوم بإفراز مركبات فلافوندية على مستوى الأوراق والجذور لتستعمل كمواد سامة ضد نمو النباتات المتطفلة.
مضادات للتأكسد	المركبات الفلافوندية مضادات جيدة للتأكسد فهي تقي من التأثر بالوحدات الجذرية الأوكسجينية.

2.3.3. دور الفلافونيدات عند الإنسان:

تحتوي العديد من الأدوية التقليدية والنباتات الطبية على الفلافونيدات كمركبات فعالة بيولوجيا[18] ، اذ غالبا ما توصف الفلافونيدات النشطة حيويا ببيوفلافونيدات لقدرتها الكبيرة من الناحية الدوائية فهي :

- ✓ تعمل على التخفيف من لزوجة الدم وخطر إحتشاء عضلة القلب.[19]
- ✓ تقوي جدران الشعيرات الدموية وتمنع تشققها.
- ✓ تساهم في علاج الاضطرابات المرتبطة بإلتهاب الشبكية والمشيمة
- ✓ تقلل من خطر الإصابة بالسرطان وتمنع نمو الخلايا السرطانية كما تخفف أعراض الحساسية والتهاب المفاصل.[19]
- ✓ مضادة للجراثيم والفيروسات .

4. القلويدات (Alcaloïdes):

ادخل مصطلح القلويدات أول مرة من طرف W.Meissner عام 1819 على مركبات طبيعية تسلك سلوك القواعد ،وفي يومنا هذا تقتصر هذه التسمية على المركبات العضوية الأزوتية القاعدية والتي تنتج عادة من المملكة النباتية. [20]

1.4. تعريف القلويدات :

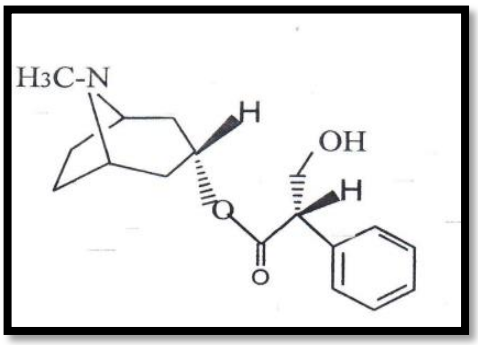
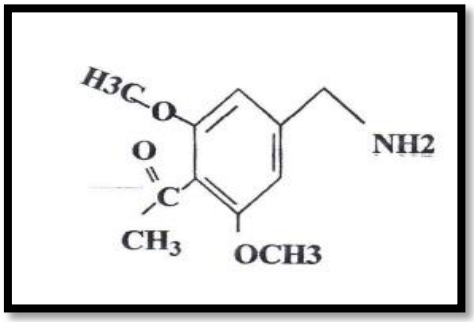
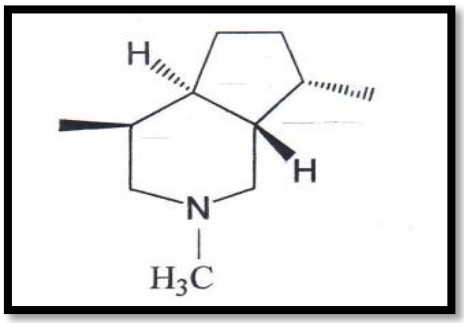
القلويدات هي قواعد آزوتية معقدة التركيب ذات أًصل نباتي ،تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها[21]، معظم القلويدات يحتوي التركيب البنائي لها على مجموعات فعالة بها ذرة الأوكسجين مثل المجموعة الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية ،كما تحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة **أو** أكثر.[22]

قد يحتوي النبات أكثر من 100 من القلويدات المختلفة إلا أن تركيزها لا يتجاوز10 % من الوزن الجاف للنبات.[23]

2.4.تصنيف القلويدات :

حسب العالم هيجاور **(Heganauer)** يمكن تقسيم القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها إلى ثلاثة مجموعات. [24]، [25]

الجدول(7.II): يمثل بعض أقسام القلويدات .

القلويدات الحقيقية (Les alcaloïdesvrais)	هي قلويدات سامة لها تأثيرات فيزولوجية متباينة ،تحتوي على ذرة نتروجين واحد أو أكثر في حلقات متغايرة ،وهي مركبات تشتق من الأحماض الأمينية ذات توزع نباتي على هيئة أملاح للأحماض العضوية.	 ***(-)-Hyoscyamine(Atropine)***
القلويدات الأولية (Lesprotoalcalaoide)	أمينات بسيطة ، قاعدية تكون فيها ذرة الأزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بل تكون مجموعة أمينيه جانبية ،يتم تخليقها من الأحماض الأمينية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية .	 ***Mescline***
القلويدات غير حقيقة (الكاذبة) (lespseud-alcalaoide)	قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض الأمينية ، يندرج تحت هذا القسم القلويدات السترويدية و القلويدات البيرينية(purines).	 ***(+)-Conine***

3.4.دور وأهمية القلويدات البيولوجية:

تعتبر القلويدات كمركبات الأيض الثانوي ،اذ لها دور مهم في الدفاع عن آكلات الأعشاب عند النبات وتستعمل كذلك في مجال الصيدلة وتتخلص أدوراها فيمايلي :

1.3.4.دور القلويدات عند النبات :

✓ تؤثر بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات للنمو(Plantgrouth regulators). [26]

✓ هي نواتج هدم أو نواتج نهاية لعملية التمثيل الآزوتي وتخزن في صورة غير ضارة للنبات . [18]

✓ تتحد القلويدات مع بعض المواد الموجودة في النبات والضارة له حيث تحميه منها بإلغاء مفعولها أو قد تكون نفسها مواد ضارة يتخلص منها النبات بخزنها في أجزائه المختلفة . [27]

2.3.4.دور القلويدات عند الإنسان : [28]، [29]

لها العديد من الأدوار منها :

✓ مسكنة للآلام مثل : Hyoscin و Morphime.

✓ موسعة للقصبات الهوائية مثل : Theophylline.

✓ مرخية للعضلات مثل : Tubocuraine .

✓ رافعة للضغط مثل : Ephédrine، أو خافضة للضغط مثل : Réserpine.

✓ موسعة لحدقة العين Atropine أو مضيقة لحدقة العين Pilocapic.

✓ تلعب دور ضد البكتيريا والفيروسات والحساسية .

✓ وجود زيادة في مجاميع الهيدروكسيل ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للاورام .

✓ الزيادة في عدد مجاميع الميتوكسيل ينتج عنه الزيادة في النشاط المضاد للسرطان .

5. الصابونيات(Saponisides):

1.5.تعريف الصابونيات :

الصابونيات عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة جليكوسيدية وتعدد السكر ليصل من اثنين إلى عشرة وعليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالي وعند حلمهتها تحرر سكر أو عدة سكريات مع genine يسمى Sapogenine هذا الأخير عبارة عن نواة استرويدية والقليل منها يحتوي نواة ثلاثية التربين . [30]

وقد اشتق الاسم من الكلمة اليونانية Sapo بمعنى صابون لأنها تحدث رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لفترة طويلة . [31]

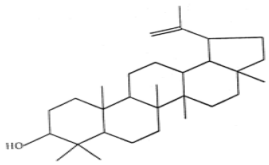
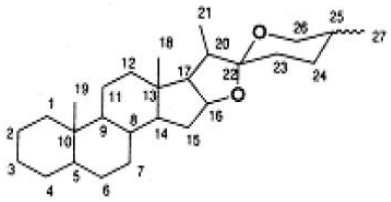
وتجدر الإشارة إلى أن الصابونيات ذات genine سترويدي تتواجد خاصة في النباتات أحادية الفلقة Monocotyledonae مثل الفصيلة الامارية (Amirilidaceae)والاليلية(Lilaceae) ، وقليلة جدا في

ثنائيات الفلقة(Dicotyledonae) مثل Scrophylariacece ، بينما إذا كان الـ genine ثلاثي التربين تكون نادرة جدا في أحاديات الفلقة لكن تنتشر بكثرة في ثنائيات الفلقة مثل:[30]

Rosaceae,Polygalaceae,Primulaceae,Carryphyllaceae,Heppocastanaceae.

2.5. تصنيف الصابونيات:

الجدول(8.II): يوضح أقسام الصابونيات.[14]، [32]

القسم	النوع	المثال
الصابونيات ذات النواة ثلاثية التربين Group des triterpénes	Monobidesmosides	 ***Lupeol***
الصابونيات ذات النواة التربينية استرويدية Group des steroides	Bidesmosides	 ***Siprostane***

3.5.دور الصابونيات البيولوجية :

- ✓ تأثر على الأغشية الدهنية ،وتعمل على حث تمديد الدم في المختبر ،أو عند حقنها وريديا .
- ✓ موقفات للتكاثر الخلوي .
- ✓ مبيدة للحشرات.
- ✓ مضادة للبكتيريا والفطريات .

6.التربينات الثلاثية :

1.6. تعريف التربينات الثلاثية :

التربينات الثلاثية مركبات صلبة بيضاء،أغلبها ينصهر عند درجة حرارة عالية ،وهي مواد فعالة ضوئيا (متعددة المراكز الكيرالية)،موجودة في الطبيعة في صورة حرة أو ايتيروزيدية (Hétéroside) ،ويدخل في التركيب البنائي

لهذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة.[33]

ويتم الإصطناع الحيوي للتربينات الثلاثية عن طريق ترابط ثلاث وحدات من Isopentenyl-pyrophosphate(IPP) إلى تكوين Farnesyl-pyrophosphate (FPP)، ويحدث هذا الأخير إلى تكوين السكوالين (المركب الأم للتربينات الثلاثية والستيرويدات).[34]

2.6.تصنيف التربينات الثلاثية :

يعتبر السكوالين المصدر الأساسي للتربينات الثلاثية ،حيث أن غالبية التربينات الثلاثية حلقية و لكن يوجد القليل منها على شكل خطي ،تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض أهم هياكل التربينات الثلاثية الأكثر إنتشارا في المملكة النباتية ومقسمة على حسب عدد الحلقات : تربينات ثلاثية حلقية ،ستيرويدات ،قلويدات ستيرويدية (alcalamines stéroidiques).[34]

3.6.دور التربينات الثلاثية البيولوجية :

1.3.6 دور التربينات الثلاثية عند النبات :

تلعب التربينات دورا مهما يتمثل في مايلي[35] :

- ✓ تتيح للنباتات حماية ذاتية من ضراوة الحشرات مثل : هرمون Ecolysones.
- ✓ مسؤول عن اللون الأصفر للأزهار .
- ✓ تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات .

2.3.6.دور التربينات عند الانسان :

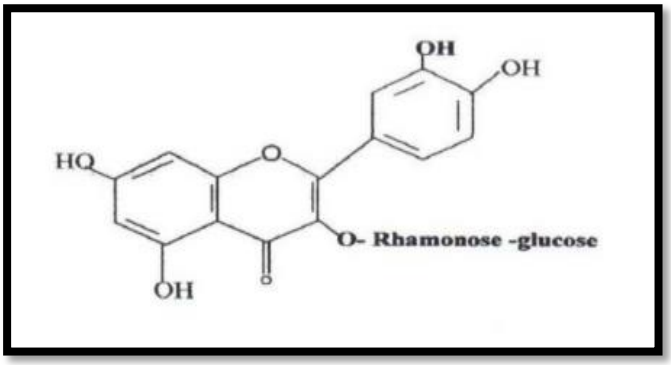
يتمثل دور التربينات عند الإنسان في مايلي[35] :

- ✓ مضادة للالتهابات .
- ✓ مسكنات للآلام .
- ✓ مضادات فيروسية وفطرية .
- ✓ مبيدات حشرية ،مبيدات رخوية .
- ✓ كما أن للعديد منها فعالية ضد الأورام ،كذلك السرطان .

7.الجليكوزيدات (Glycosides):

1.7. تعريف الجليكوزيدات :

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية النباتية الناتجة من الأيض الثانوي والتي تحتوي ضمن تركيبها على شق سكري غالبا سكر الجلوكوز والذي يعزى إليها تسميتها بالغليكوزيدات . ويتضح ذلك عندما تتحلل الغليكوزيدات مائيا (بفعل الإنزيمات أو التسخين مع الأحماض أو القلويات) [36]،مكونة نوعين من المواد العضوية إحداهما سكرية يعرف بالغليكون والثاني غير سكري يدعى بالاغليكون (Aglucaneأو Génine) والذي يعزى إليه التأثيرات الفسيولوجية أو العلاجية وكذلك الخواص الكيميائية للغليكوزيدات . [24]



الشكل(3.II): الصيغة الكيميائية لـ Rutine . [36]

2.7. أهمية ودور الجليكوزيدات البيولوجية :

1.2.7. دور الجليكوزيدات عند النبات :

الجليكوزيدات دورا هاما في حياة النبات يتمثل في :

- ✓ تنظم نموه .
- ✓ تقوم بدور وقائي لحفظ النبات من الحشرات والحيوانات .
- ✓ تعتبر مصدر تخزين للمواد السكرية التي بدورها تدخل في عملية التمثيل وتنظيم الضغط الاسموزي .
- ✓ تعمل على تنظيم درجة الحموضة PH داخل الخلايا النباتية .
- ✓ التخلص من نشاط بعض المواد الضارة والسامة للنبات .
- ✓ تعمل على انتقال بعض المواد اللازمة لعملية التمثيل الضوئي في النبات . [24]

2.2.7.دور الجليكوزيدات عند الإنسان :

تتمثل أدوار الجليكوزيدات فيمايلي : [18]، [29]

- ✓ مطهر للكلى والمسالك البولية .
- ✓ الحمى ،الروماتيزم ،الصداع ، تخفيف الضغط ،وسيولة الدم.

✓ تدخل في تركيب الأدوية (الذوق).

✓ تعمل على تقوية عضلات القلب وتنظيم ضرباته مثل : الجليكوزيدات الاسترويدية .

✓ تقوية جدران الأوعية الدموية الضعيفة مما يؤدي إلى عدم حدوث نزيف .

✓ تستخدم كملين ومسهل في حالات الإمساك مثل جليكوسيدات الكاسكارا والسينامكي.

8. التانينات (Tanins):

1.8. تعريف التانينات :

Tannis كلمة مشتقة من الفرنسية وتعني مواد الدباغة ،وهي مركبات طبيعية معقدة ،مشتقة من حمض الغاليك(Gallic acide) أو poly phénol ،مرتبطة بسكر جلوكوز ،ذات أوزان جزيئية تتراوح ما بين 500 إلى 3000 وحدة ترتبط فيما بينها بروابط C_4-C_8 أو C4-C6 ، [37] وتتواجد تقريبا في كل جزء من النبات (الخشب والأوراق والجذور والثمار والقشرة) ،تظهر كمحاليل غروية في العصير الفجوي وأحيانا تتجمع بشكل حبيبات في السيتوبلازم أو تكون مدمصة في الأغشية . [38]

وحسب الاشتقاق فان التانينات هي المركبات المستخدمة في الدباغة ،ولها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ،ويعزى ذلك إلى قدرتها على الاتحاد مع البروتينات وترسيب القلويدات. [39]

2.8.خواص التانينات :

✓ مواد غير متبلورة تذوب في الماء تكون مستحلبا حامضيا له طعم قابض(astrigent) ،وتذوب في الكحول،والجليسيرين ،ولا تذوب في الإيثر ولا البنزين .

✓ لها القدرة على ترسيب البروتينات القلويدات من محاليلها وهذه هي العملية التي تتم عند دباغة الجلود ،والتي تتميز بها هذه المجموعة من المكونات النباتية إذ ما تترسب البروتينات التي تكون الجلود فإنها تصبح غير قابلة لعمليات التحلل.

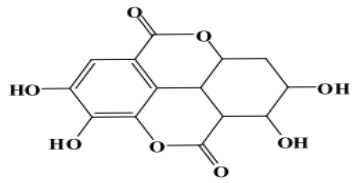
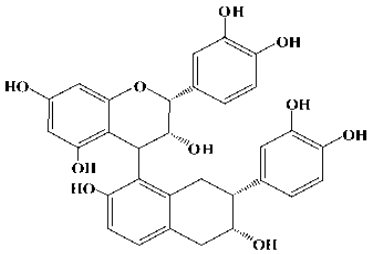
✓ ترسب التانينات نفسها من محاليلها بإضافة أملاح النحاس أو الرصاص أو القصدير كما تترسب بواسطة محلول قوي من بكربونات البوتاسيوم في المحاليل القوية .

✓ تمتص التانينات الأكسجين من الجو ،وتتحول إلى اللون الأسود. [40]

3.8.تصنيف التانينات :

تنقسم التانينات إلى مجموعتين :

الجدول (9.II):تصنيف التانينات.

نوع التانينات	تعريفه	الصيغة الكيميائية
تانينات متحللة **Tannishydrolysables**	عبارة عن أحماض فينولية مرتبطة بجلوكوز.	
تانينات مكثفة **Tannis condenses**	هي عبارة عن فلافونيدات غير مرتبطة بجلوكوز .	

4.8. دور وأهمية التانينات البيولوجية :

تلعب التانينات دورا حيويا يتمثل :

1.4.8. دور التانينات عند النبات :

تتعدد أدوار التانينات في النبات أهمها [39]، [41]:

- ✓ تعمل على تشديد الأنسجة الرخوة ،والتقليل من الإفرازات الزائدة ،وإصلاح الأنسجة التالفة.
- ✓ تعد مصدر طاقة التي يستهلكها النبات في عمليات التحول الغذائي وذلك بعد أكسدتها.
- ✓ التانينات مواد فينولية مطهرة تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة .
- ✓ لها دور هام في عمليات البناء لذلك نجدها في الأجزاء النامية كالبراعم والأوراق والثمار.

2.4.8.دور التانينات عند الإنسان :

التانينات لها العديد من الأدوار من بينها[39]، [41] :

- ✓ تعتبر التانينات موقفة للنزيف بسبب تأثيرها القابض والمرسب للبروتينات.
- ✓ مضادة للأورام Antitumour: يثبط تكاثر الخلايا السرطانية ويوقي ADN من التخريب.

✓ مضادة للإسهال و مضاد لالتهاب الحلق والفم .

✓ تعتبر كمضادات للأكسدة .

✓ لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا مثل (Clastridium Aminophilm)والفطريات وذلك بناءا على قدرتها على ترسيب البروتينات الميكروبية .

9.الجذور الحرة ومضادات الأكسدة :

1.9.الجذور الحرة :

1.1.9.تعريف الجذور الحرة :

الجذور الحرة هي أنواع كيميائية ذرات أو جزيئات تملك إلكترون أو أكثر غير مزدوج ،يكون معظمها شديد الفعالية(تتفاعل بسرعة) مع مركبات أخرى محاولة اقتناص ما ينقصها من إلكترونات لتصل إلى الثبات الكيميائي،كثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل بكون الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات ،الذي يدخل في تشكيل الأنواع الاكسجينية النشطة. [42]

2.1.9.أنواع الجذور الحرة :

1.2.1.9. التقسيم على أساس الاستقرار :

❖ **الجذور الحرة أو الجذور النشطة :**

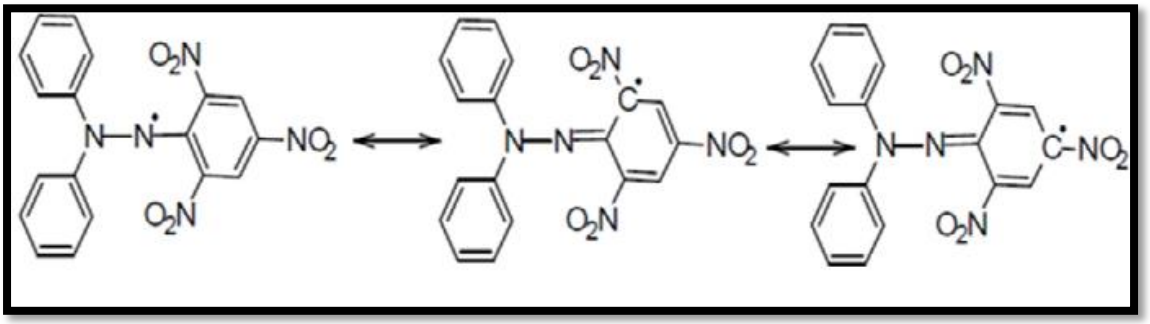
جذور حرة لها أعمار حياة قصيرة جدا تتراوح إلى المايكرو ثانية أو أقل وتصل حتى البيكوثانية (10^{-12})،غير مستقرة في الظروف الاعتيادية ،ويشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل(الهيدروجين ،النيتروجين،الكلور،الفلور) والجذور التي لها وزن جزيئي منخفض بصورة عامة. [43]

❖ **الجذور الحرة المستقرة (الصامدة):**

وتكون لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو الدقائق أو الساعات أوحتى بالأيام ومن أمثلتها جذر ثلاثي ميثيل أمين وجذر ثنائي فينيل لبكريلهيدرازين (DPPH).

➢ **الجذر DPPH :**

يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام وذلك لوجود الحلقات الأروماتية والتي تحمل أشكالا رنينية متعددة وهذا يعني عدم تمركز الالكترونات بموقع معين و DPPH هو اختصار1، 1 – ثنائي فينيل لبكريلهيدرازيل وهو مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يشبه لونه لون محلول $KMnO_4$ ويعطي لون برتقالي مصفر عند استقراره . [43]



الشكل(4.II): البنيات الرنينية في جزيئة DPPH.

2.2.1.9.التقسيم على أساس النوع :

يمكن تقسيمها إلى جذور حرة أو جذور أوكسجينة (جذر الهيدروكسيل)،جذور نتروجينية (أكسيد النتريك وثنائي أكسيد النتروجين)،جذور حرة دهنية وجذور السموم والتي تشمل معظم المواد السامة . [43]

3.1.9 أضرار الجذور الحرة:

تتواجد الأنواع الأوكسجينية النشطة (ROS) في الجسم بكميات أو تراكيز ضعيفة حيث تقوم بأدوار فيزولوجية مهمة بحيث تستعمل كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية مثل : توسع الأوعية الدموية أو استعمالها كرسائل عصبية ،كما تنتج من أجل الدفاع عن الجسم ضد الأجسام الغريبة ، [44]إلا أن الإنتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى الجزيئات الخلوية ،وأساسها ثلاث إما ضرر واقع على الحامض النووي والذي يؤدي إلى طفرات تؤدي إلى موت الخلايا أو ضعف المناعة،وإما ضرر واقع على البروتينات ومن ثم تحويل في وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية،وأخيرا ضرر واقع على الدهون / أو الأكسدة الفوقية للدهون وهي الأخطر إذ تنتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمرا أطول وانتشارا أوسع مسببة عموما خلايا سرطانية ،كما يمكن أن تنجم أضرار أخرى :أمراض القلب والأوعية الدموية . [45]

4.1.9.عمل الجذور الحرة :

الجذور الحرة تشارك في سلسلة من تفاعلات ،تؤدي إلى تجديد جذري يمكنها من أن تبدأ دورة جديدة من التفاعلات ،وتتم هذه التفاعلات على ثلاث مراحل : [43]

- **مرحلة البدء** : يتم فيها تشكيل الجذر.

$$LH + R^{\bullet} \longrightarrow L^{\bullet} + RH$$

- **مرحلة النشر** : في هذه الخطوة الجذور الحرة تجدد سلسلة من التفاعلات .

$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$$

$$LH + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOH + L^{\bullet}$$

$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$$

- **مرحلة النهائية:** في هذه المرحلة يتم تجميع الجذر الحر.

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LL$$

$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOL + O_2$$

$$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LOOL$$

2.9.مضادات الأكسدة

1.2.9.تعريف مضادات الأكسدة :

هي مركبات ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تفويضها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم،إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط التي تسببه ذرات الأكسجين ،وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الأولى كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة حيث أنها تتحد مع الجذر وتحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية : [46]

$$ROO^{\bullet} + AH2 \longrightarrow ROOH + AH$$

$$AH^{\bullet} + AH \longrightarrow A + AH2$$

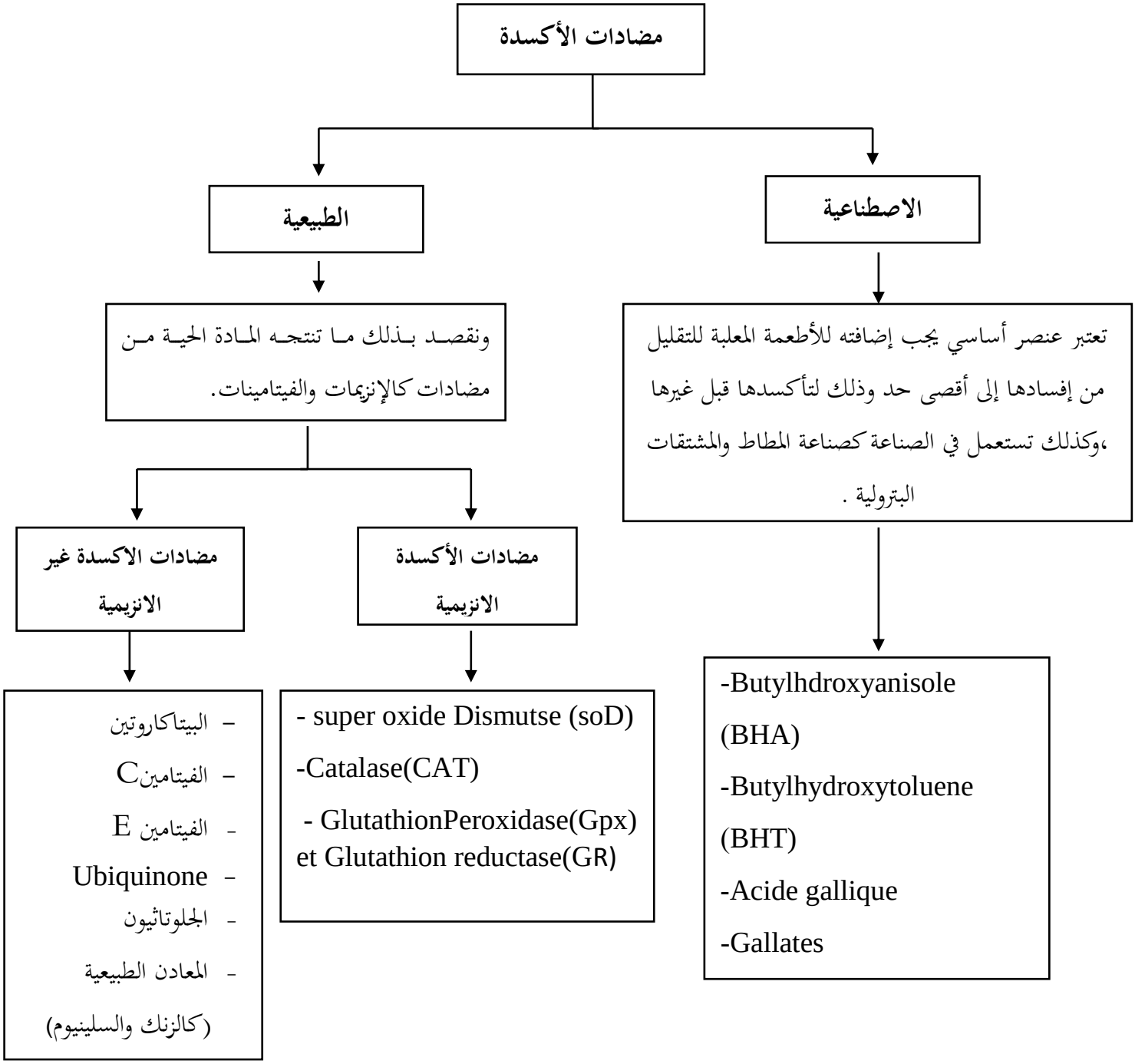
2.2.9. آليات مضادات الاكسدة :

لمضادات الأكسدة عدة آليات تتمثل في: [47]

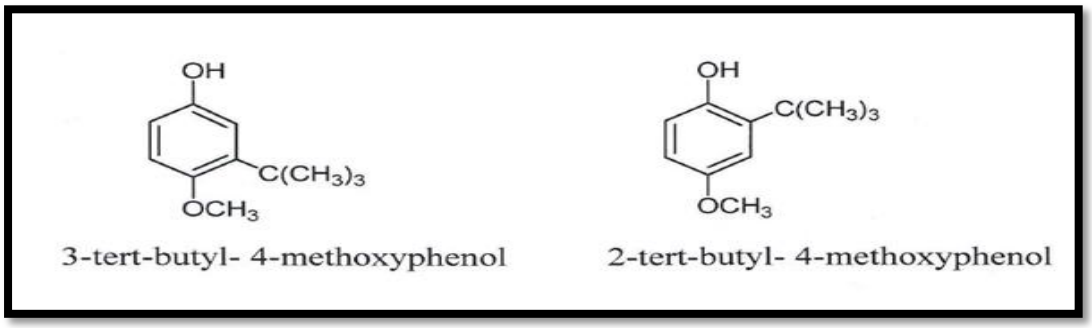
- قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها.
- كسر سلسلة التفاعلات الجذرية.
- تحمي ADN من الضرر وتثبط الجذور الحرة.
- تعمل على توقيف انتقال الالكترونات وإزالة المعادن الثقيلة بالاستخلاب.
- امتصاص الأشعة فوق البنفسجية.
- إخماد الأكسجين الأحادي وتفكك الهيدروبيركسيد .

3.2.9. تصنيف مضادات الأكسدة :

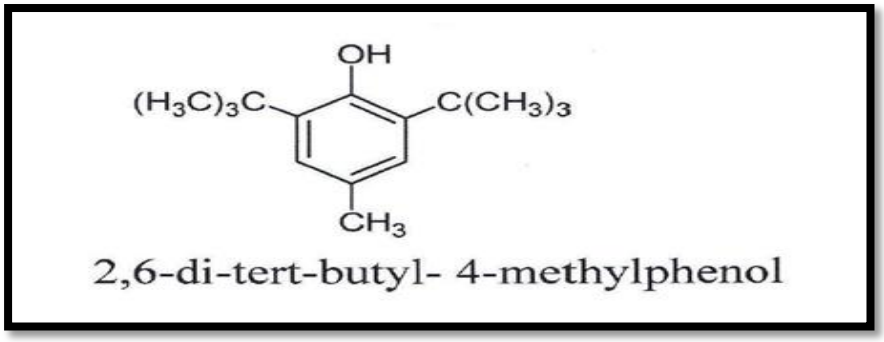
تنقسم الأنظمة المضادة للأكسدة حسب مصدرها إلى طبيعية واصطناعية وذلك حسب المخطط التالي: [42]،[43]



الشكل(5.II) : مخطط يوضح أقسام مضادات الأكسدة.



الشكل(6.II): يوضح بنية الـ BHA.



الشكل (7.II): يوضح بنية الBHT.

الشكل(8.II): يوضح بنية GA.

المراجع بالعربية :

[5] – جيدل ص.،تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات Pistacia lenticus L ، Artemisia Campestris L، Argania Spinosa L ،مذكرة دكتوراه علوم ،جامعة فرحات عباس سطيف (1).ص:37 (2015).

[7]– جرموني م ، النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة Teucrium polium، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزولوجيا التجريبية ، جامعة فرحات عباس سطيف . ص:95 (2009).

[11]– جرموني م.، دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نبتي الحرمل Peganum harmala والجعدة Santolina chamacyparssius، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم ،جامعة فرحات عباس سطيف (2014).

[13]– شباح ك .،فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي للنبتةPhoenix (Degla beida) dac tylifera ،مذكرة ماجستير كيمياء عضوية ،جامعة منتوري قسنطينة .ص:22-24 (2007).

[14]– علاوي م .، مساهمة في دراسة بعض المركبات الفعالة في نبات الرمل Scoparium ،مذكرة لنيل شهادة ماجستير ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة .ص :10(2003).

[22]– طه ح .،النباتات الطبية وزراعتها ومكوناتها ،دار المريخ للنشر ،الرياض ،ص : 63-112(1981).

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

[24]– زمالي ج .،دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة صحراوية ،مذكرة ماجستير كيمياء،جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة .ص: 16-17-36 (2007).

[26]– حجاوي غ ،حسين المسيمي. ح.ز،محمد جميل قاسم .ر.،علم العقاقير والنباتات الطبية ،دار الثقافة للنشر والتوزيع ،بيروت ،ص 312(2009).

[31]– موساوي ف .، فصل وتحديد منتوجات الايض الثانوي للنبتتين والفعالية ضد الميكروبية Launaea resedifolia(O.K.) و Launaea glomerata (Cass.Hook.F)،رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم الكيمياء العضوية ،جامعة قسنطينة 1 ،ص35 (2014).

[32]–حميدي نور الدين .،الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا ((Zygophyllaceae) (Fagonia Longispina)نبات من الجنوب الغربي للجزائر ،رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء ،جامعة أبي بكر بلقايد ،تلمسان (2014).

[33]- زعيتر لحسن .، تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلورفورم والزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة (Compositae) والسيستية و (Cistaceae) ،رسالة مقدمة لنيل درجة دكتوراه الدولة في العلوم تخصص كيمياء عضوية شعبة كيمياء نبات ،جامعة منتوري ،قسنطينة .ص: 56.

[34]- بوديارط.، فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للاكسدة لنبتة Euphor bia guy onia na ،مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية ،جامعة منتوري ،قسنطينة (2008).

[36]- شمسة ا. خ.، استخلاص المواد الحيوية الفعالة من بعض النباتات الطبية الجزائرية مثل ودراسة النشاطية المضادة لبعض الأحياء الدقيقة الممرضة ،مذكرة ماجستير في منتجات طبيعية ذات أصل نباتي ،جامعة العربي بن مهيدي ،أم البواقي.ص: 28 (2004).

[37]- عبد الجليل م .،2008- كيمياء المنتجات الطبيعية (منتجات نباتية –مكيروبية وحيوانية)،دار الفكر.

[42]- زيدان م .، دراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان جامعة قاصدي مرباح ورقلة.ص:35-38(2018).

[43]- بن ساسي ش .، تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة ،أطروحة دكتوراه ،جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة .ص:162 (2018).

[46]- بوبلوطة ح.، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتتي Centaurea ıncana و MatricariaPeubescens على السمية الكبدية ،مذكرة ماجستير ،جامعة منتوري ،قسنطينة .ص:125(2009).

[47]- بالفار م .، المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية ، رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه ،تخصص كيمياء ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2015).

المراجع بالأجنبية :

[1] -Majed Jamous, R., Ali- Shtayeb, M. S.,2008-Traditionl Arabic palestinia HerbalMedicine.BiodiversityandEnivronnentalReasherchCenter(BERC),Til, Nabuls.

[2] -Hhurableill, M.,1980-Abrègè De Matièree Mèdicale pharmacognos ie,toml Gènèralisès. Mongraphies.Masson, P:10-18, 261-266.

[3] -Belkhiri.,2006-Cours de pharmaconosie –PG. De chimie et phytochimie ,Universite Mentouri,constantine.

[4] - Abdelghafour, M ., 2003- Radioltse gamma des flavonoïdes ,étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools fomation de depsides,these de doctora .

[6]-Kanoun, K., 2011- Contribution à létude phytochimique et activité antioxyda ¯nte desextraits de Myrtus communiss L .(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) ,Mémoire EN Vue de l'obtention du Diplôme de Magister ,Université Aboubekr Belkaid Tlemcen P:118.

[8] - Ribérau-Gayon,J. P.,1968- Les Composés phénoluque des Végteaux, Dundo, France.

[9] -Vermerris, W., and Nicholson, R., 2006- phenlic compounds biochemistry ,Springer:Netherlans.p.6.

[10] -Rezine, F., et Fedaouche, M. S .,2017 – Coumarines à intérêt thérapeutique : Synthése et contrôle analytique .Mémoire de Doctorat Tlemcen .Universite Aboubeker Belkaid. p 144.

[12]-Crozier, A. ,Clifford, M. N., Ashihara H., 2006-plant Secondary Metabolite ¯Secondary Metabolites, Blackwell publishing , Oxford UK.

[15] -Dixon, R. A.,Pasinetti, G. M.,2010- Plant Physiology ,P:154، 453-457.

[16] Agatia, G., Azzarellob, E.,Pollastrib, S. M., Tattini.,2012- Plant Science،P: 196، 67-76.

[17]-Kaur Sandhar, H.,Kumar, B.,Prasher, S.,Tiwari, P., Salhan, M., Sharma,P., 2011-Internationale Pharmaceutica Science,P25-41.

[18]- Satyajit. D.,(2007) Chemistry for Pharmacy Students, John Wiley & Sons Ltd, England.

[19]-Dehhak, K.,2001- Extraction et Analysedes Flavonoides contenus dans la plante Retama Retam de larégion de ouargla . Mémoire de Magister ,Université de Ouargla, p:9-11.

[20]-Chaouch, N .,2001 - Etude des alcaloïdes dans le coloquinte ,Colocynthis Vulgaris (L) Scharad (Cucurbitacées) région de oued N'sa (Wilaya de Ouargla) .Mémoire de Magister .Universite de Ouargla .P16-17.

[21] -Mauron, M.,2006-Synthése d'alcaloïdes biologiquement actifs : La(+)-an antoxine-a et le(±) comptothéine.thése doctorat, Université Joseph fourier .P195.

[25]-Bruneton.J.,(1999)Pharmacognosie,Phytochimie,Plantes médicinales, 2"*" èdiom.Lavoisier-techique et docunetation.paris,p. ı095.095. P:784 -779 PP.783-1086.

[27]-Said Rahal.,2009-Chimie des produits naturels et des etres vivants ، Alger،p:63-78.

[28]-Wagner, H.,Bladt,S.,1996-Plant drug analysis:A thin layer chromatography atlas.Edit. Springer 2nd. Munich, p: 384.

[29]-Guignard, J., 1996 - Abrégé de biochimie végetale. 1^{ére} ed Mansson, paris, P : 145-156.

[30]-Makin, H. L. J.,(1984) Biochemistry of Steroid Hormones ,2nd edn ,Blackwell,Oxoford,pp:1-12.

[35]-Shukla, M., Gupta, K., et al., 2008- Bioavailable constituents/ metabolites of pomegran nate (Punica granatum L.) preferentially inhibit COX2 activity ex vivoand IL-1beta- induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. Journal of inflammation. Vol. 5. N°9. Pages 1 à 10.

[38]-Hoong, Y. B.,Pizzi, A., Tahir, P. Md., and Pasch, H., 2010-Characterization of Acoia mangium poly flavonoid tannis by Malbı- TOF mass spectro metry and Cp –Mas 13C NMR.European polymer Journal ,46(6):P.1268-1277.

[39]-Ben hammou, N., 2012 -Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, Thése doctorat, Université Aboubaker Belkaïd, Tlemcen.

[40]-Rira, M.,2006- Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins, Mémoire de Magister ,Université Mentouri Constantine ,p:95.

[41] -Ferradji, A.,2011- Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacialentiscus, Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas, Setif,p:90.

[44]- Flavier, A., 2003- Le Stress oxidant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique L'actualité chimique .p:108-115.

[45] -God Swill, N. A.,Kayode, O.O., 2010- Comparative Antioxidant phytoch- emical and proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vemonia amygdalina and Talinum triangulare, Pakistan Joumal of Nutrition. 9(3):259-264.

الفصل الثالث

الفاعلية البيولوجية

- **تمهيد:**

إن الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا ،الفطريات،والفيروسات ،الممرضة تعتبر من أهم الأسباب المؤدية إلى الإصابة الميكروبية ،فهي في كل مكان حولنا ،كما تعيش في الأغذية وداخل وخارج أجسامنا وفي أي نظام بيئي ،حيث تعتبر الكائنات الدقيقة أكثر عددا من الكائنات الحية إذ ما قورنت بالكائنات الأخرى ،وتمثل البكتيريا أبسط أنواع الكائنات الخلوية ،والتي تضم مجموعة كبيرة من المجهريات الواسعة الانتشار في الكرة الأرضية.

وأول من قام بوصف البكتيريا ،العالم الألماني أنتوني فإن لوفينهوك Antoni van Leewenhoek وذلك عقب تطويرها لجهاز مبسط من العدسات يشبه المجهر ،وقد اعتقد العلماء في بداية الأمر ،أن البكتيريا ما هي إلا ناتج مواد غير حية إلى أن اثبت العالم الفرنسي لويس باستور Louis Pasteur في نهاية القرن الثامن عشر أن البكتيريا كائن حي لايولد إلا من كائن حي أخر .

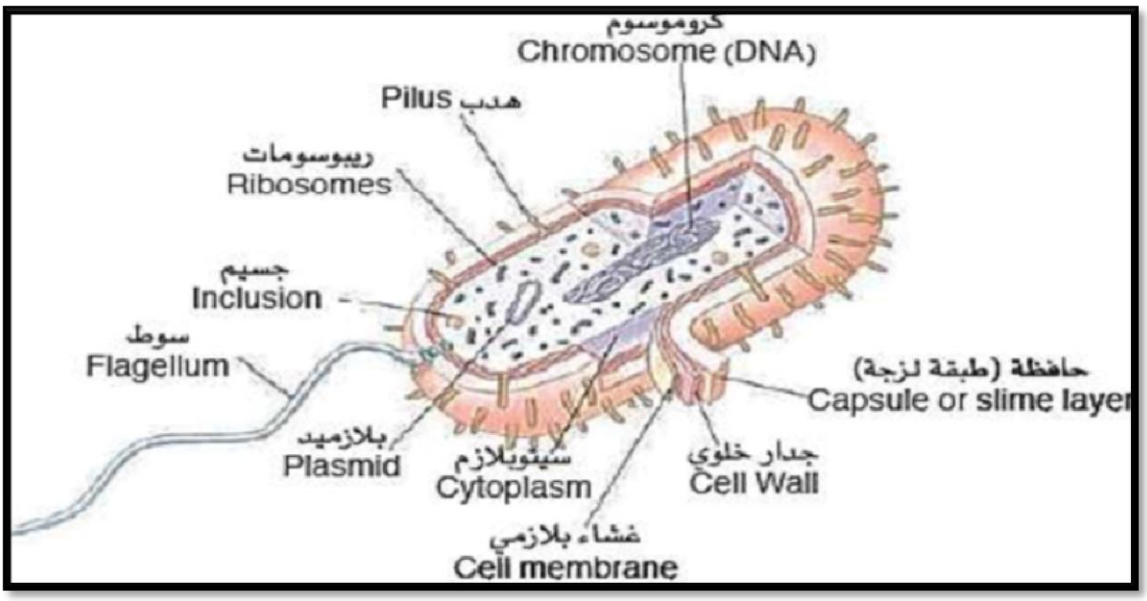
ثم توالت بعد ذلك مجموعة من الأبحاث والأعمال العظيمة التي قام بها كل من لويس باستور والعالم الألماني روبورت كوخ اللذين يعزى إليهما الفضل في إنشاء علم دراسة البكتيريا في العصر الحديث .[1]

1.تعريف البكتيريا :

هي عبارة عن كائنات دقيقة الحجم لا ترى إلا بالمجهر أحادية الخلية بدائية النواة (Procaryote) ،تكون إما كروية أو عصوية أو حلزونية ،يتراوح طولها بين الميكرو متر الواحد إلى بضعة أعشار الميكرو متر ،حيث أنها تستطيع العيش لمدة طويلة متحملة جميع الأحوال غير المناسبة من ارتفاع درجة الحرارة إلى انخفاضها،تغير درجة الملوحة وغيرها من الظروف القاسية .[2]،[3]

2.التركيب الخلوي للبكتيريا :

تتكون الخلايا البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة .تضم المكونات الأساسية كل من الجدار الخلوي ،والغشاء البلازمي،والسيتوبلازم ،النواة البدائية ،وما يحتويه من مادة وراثية وريبوسومات ،أما المكونات غير أساسية فتشمل الأسواط والعلبة أو الكبسولة ،والأهداب ،والجراثيم الداخلية .[4]



الشكل(1.III): تركيب الخلية البكتيرية .

1.2.المكونات الأساسية للخلية البكتيرية :

✓ الجدار الخلوي Paroi Cellulaire :

جدار الخلوي يكون سميك وصلب وهو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من الهجوم الخارجي ،كما يتركب الجدار من مادتين هما الكربوهيدرات والبيبتيدات .

✓ الغشاء البلازمي Plasma membrane :

غشاء رقيق له نفاذية اختيارية يحيط بستيوبلازم الخلية ويقع تحت الدار الخلوي ويبلغ سمكه 7.5 نانومتر.يتكون الغشاء البلازمي من الدهون المفسفرة والبروتينات .

✓ السيتوبلازم Cytoplasm :

سيتوبلازم الخلايا البكتيرية له تركيب بسيط حيث تحتوي على الريبوزومات (Ribosomes)و المادة الوراثية البكتيرية (Bacterial genome)، و السيتوبلازم عبارة عن سائل غروي يتكون من الماء بنسبة 75 إلى 85% ،وبروتينات ،ودهون، وكربوهيدرات ،ومركبات غير عضوية .

كما تتكون السيتوبلازم من ثلاثة أجزاء هي :

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

✓ **نواة بدائية Nucleoide :**

هي المادة التي تحمل الوراثية لتواجدها في المنطقة النووية في السيتوبلازم في بدائيات النواة غير محاطة بغشاء نووي ،وهي عبارة عن جزئ طويل مفرد من الـ ADN في صورة حلقية يرتبط ارتباط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسمى بالكروموسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية على كرموسوم واحد .

3.تصنيف البكتيريا :

صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير : [5]

1.3. من حيث توزيع أسواطها : يمكن تقسيمها إلى :

✓ بكتيريا وحيدة السوط .

✓ بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد .

✓ بكتيريا ذات أسواط عديدة : موزعة على كل خلية .

2.3.من حيث الشكل :

✓ البكتيريا العصوية(**Bacilli**) : التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر .

✓ البكتيريا الكروية (**Cocci**) :التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة .

✓ البكتيريا الحلزونية (**Spiral**) : التي تأخذ الشكل الحلزوني .

✓ البكتيريا الواوية (**Vibrio**): التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية .

3.3.من حيث الوسط الذي تعيش فيه :

✓ بكتيريا هوائية(**Aerobic**) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي ،وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

✓ بكتيريا لاهوائية إجبارية (**Anaerobic**) : وهي البكتيريا التي تعيش فقط في غياب الهواء الجوي .

✓ بكتيريا لاهوائية اختيارية (**Anaerobic Facultative**): وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو، في ظل وجود الهواء الجوي أو عدمه.

4.3.من حيث التغذية:

✓ بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو.

✓ بكتيريا عضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذائبة كالسكر.

5.3.من حيث طريقة التلوين(GRAM) :

يوضح الاختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين ، حسب تقنية **(GRAM)** نسبة للعالم **J.GRAM** المكتشفة سنة 1884 ، واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

- ✓ بكتيريا **(gram positive)** : ويرمز لها بالرمز +GRAM عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية.
- ✓ بكتيريا **(gram négative)** : ويرمز لها بالرمز -GRAM تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) ، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram negative) ،وهذا بسبب التركيب الكيميائي المختلف . [6]

6.3.من حيث تأثيرها على الانسان: [7]

- ✓ **بكتيريا نافعة(Bénéficial Bactérie) :**

وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة ، فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الانسان،يساعده على هضم الطعام ،ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم مثل الفيتامينات ،ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة ،وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة ،ويلعب دورا هاما في غذاء النبات ، إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجودة في الهواء الجوي ،ليكون بمثابة عنصر أولي ،يستطيع من خلاله النبات أن يكون البروتين ،كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها ،وكذا المواد العضوية المعقدة.

- ✓ **بكتيريا انتهازية (Opportunistic Bactérie) :**

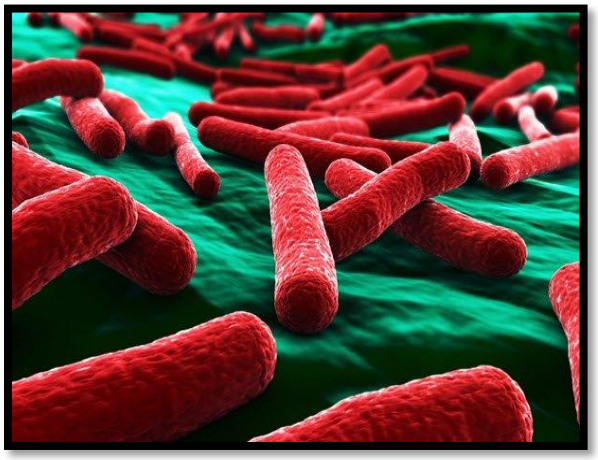
هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها تؤدي إلى انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب من الأسباب ،تهاجم الجسم ،متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديدا من الأمراض وذلك على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين.ويطلق على هذه البكتيريا اسم البكتيريا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

- ✓ **بكتيريا ضارة (Pathogenic Bacteria) :**

توجد بكتيريا ضارة تهاجم الانسان ،فتسبب له أمراض ومشاكل صحية عديدة ، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض :السل والكوليرا ،التيفوئيد ،السعال الديكي ،الزهري والسيلان، ومن بين البكتيريا الضارة والمسببة للأمراض نذكر :

➢ **بكتيريا *Escherichia coli*:** هي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى:

المملكة	***Bactérie***
الصنف	***Proteobactérie***
القسم	***Gammaproteobacteria***
الرتبة	***Enterobacteriales***
العائلة	***Enterobacteriaceae***
الجنس	***Escherichia***
النوع	***Escherichia coli***

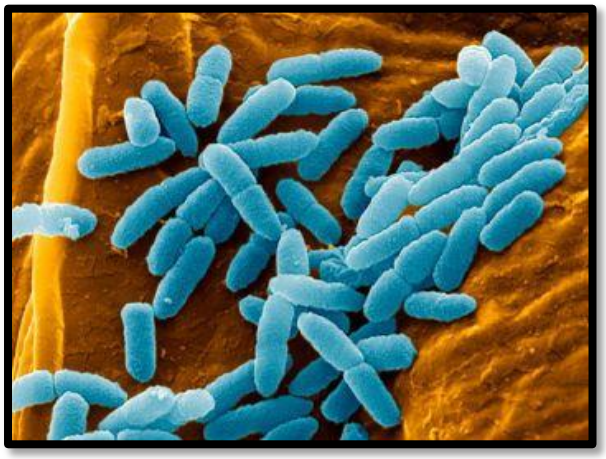


الشكل(2.III): صورة الفحص المجهري لبكتيريا *E. Coli*.

وهي بكتيريا معوية اختيارية الهواء ، متحركة على شكل عصيات،ذات أبعاد من 1إلى 3 ميكرومتر ،تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة، ، تتكاثر بسرعة كبيرة للغاية عند درجة حرارة 37C°، تسبب هذه البكتيريا: أمراض الجهاز البولي ، الإسهال الطفيلي،التهاب القلب، و التهاب السحايا وتسمم الدم . [8]، [9]

➢ **بكتيريا Pseudomonas aeruginosa :** هي بكتيريا ذات غرام سالب،وهي البكتيريا التي تنتمي إلى:

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



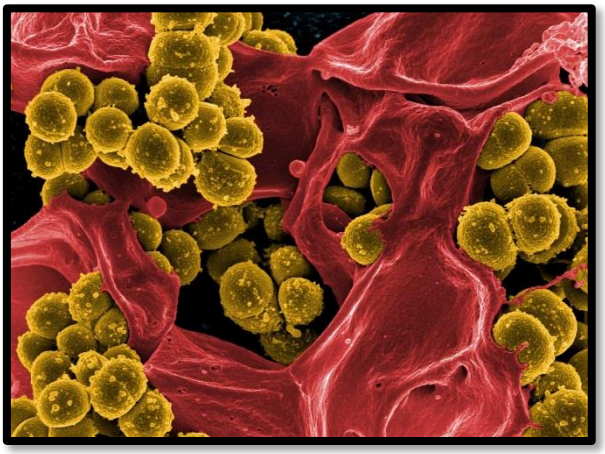
الشكل(3.III): صورة الفحص المجهري لبكتيريا *PA* .

وهي بكتيريا متحركة هوائية، ذات عصيات مستقيمة بأسواط طرفية، وهي من أقوى أنواع البكتيريا المقاومة طبيعيا لمعظم المضادات الحيوية، وذلك لامتلاكها القدرة على التصدي لهذه المضادات بعدة طرق، مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان، الماء أو التربة، تعمل هذه البكتيريا على الإتلاف السطحي للأغذية المبردة ومحللة للدهون الموجودة في اللبن مما يؤدي إلى تغير لونه وطعمه، كما ترتبط هذه البكتيريا بحالات العدوى المكتسبة في المستشفيات خصوصا في غرف العمليات الجراحية، وهي أيضا تنمو في نطاق حراري واسع ما بين34 الى 43

ويبلغ عرضها 0.5µm إلى1µm أما طولها ما بين1.5µm إلى 4µm، تعتبر ممرضة للإنسان والحيوان حيث تسبب تعفن كل من العين والحروق والجروح كما تسبب أمراض الرئتين والسحايا. [10]، [11]

➢ **بكتيريا *Staphylococcus aureus*:** هي بكتيريا ذات غرام موجب،وهي البكتيريا التي تنتمي إلى:

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

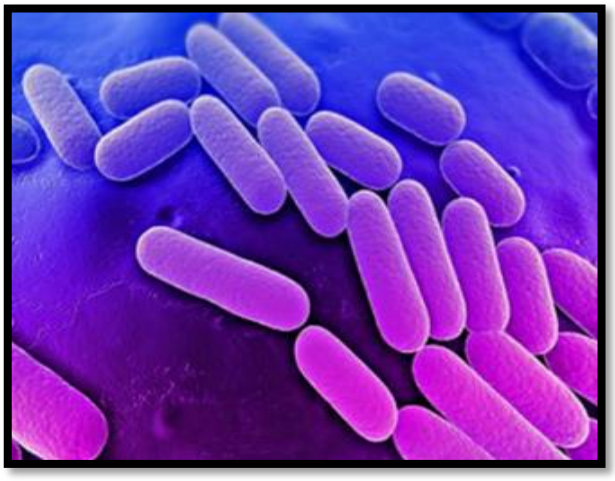


الشكل (4.III):صورة الفحص المجهري لبكتيريا *S. aureus*.

وهي بكتيريا لاهوائية اختيارية ،تنتشر في مختلف الأوساط البيئية وجسم الانسان والحيوان (الجلد،الأغشية المخاطية ،الشعر)،كروية الشكل ،ذات قطر حوالي1µm عديمة الحركة تتجمع على شكل ثنائيات أو عناقيد،تسبب هذه البكتيريا: تسمم الغذاء ،التهابات جلدية خطيرة ،أمراض السحايا والتهاب الرئيتين ،وتسمم الدم. [12]،[13]

➢ **بكتيريا *Klebsiella Pneumoniae*:** هي بكتيريا ذات غرام سالب، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى:

المملكة	***Bactérie***
الصنف	***Proteobacteria***
القسم	***Gammaproteobacteria***
الرتبة	***Enterobacteriales***
العائلة	***Enterobacteriaceae***
الجنس	***Klebsiella***
النوع	***Klebsiella Pneumoniae***



الشكل(5.III):صورة الفحص المجهري لبكتيريا *KI p* .

هي بكتيريا بيئية (تتواجد في الماء ،تربة،هواء .....) ،عصوية الشكل ، غير متحركة تتميز بشكلها الدائري محدبة ،لاهوائية اختيارية يتراوح طولها من 1µm إلى 2 µm ،وعرضها مابين µm 0.5 إلى 0.8 µm تكون منفردة او ثنائية او على هيئة سلاسل قصيرة ، تتميز بالوان مشعة تحت جهاز UV ،تتواجد بصورة طبيعية في الفم والأمعاء وعلى الجلد تسبب هذه البكتيريا إلتهاب شديد في المثانة ،الرئة ،الأذن ،الأنف والجيوب الأنفية.[14]،[15]

4. المضادات الحيوية :

1.4. تعريف المضادات الحيوية :

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ، ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيراً عن التعريف الحالي والذي ذكره waksman سنة 1945 ، في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات ، وقادرة على قتل أو تعجيز كائن حي أخر. [16]

2.4. أنواع المضادات الحيوية :

إن تصنيف المضادات الحيوية يعتمد على الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم والتي تنقسم إلى قسمين:

1.2.4.مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية :

تمنع تكاثر الخلية البكتيرية وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل : سلفوناميد ،كلورام فينكول .

2.2.4.مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها ،أو بالتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها ،أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها مثل : Ampicillin، Gentamicin،Penicillin. [17]

3.4.طرق تأثير المضادات الحيوية :

1.3.4. مضادات تعمل على إيقاف نسخ ADN:

من بين الأسباب التي تسببها المضادات الحيوي اضطراب عمل ADN مما يمنع الخلية من انقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك . [18]

2.3.4. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء الستيوبلازمي :

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة Apidoprotine لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد السيتوبلازم الكروموزومي . [18]

3.3.4. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا :

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي ،ويسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا وهذا ما يدمرها.[19]

4.3.4. العمل على تخريب الغشاء الخارجي للبكتيريا :

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع تركيب peptidoglycane وهذا ما يوقف نموها وعملها ،ويمكن أن يشمل تدميرها.[19]

5.المقاومة البكتيرية :

1.5.تعريف المقاومة البكتيرية :

ظهرت المقاومة البكتيرية مباشرة بعد بداية استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية ،وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء لأنها في تطور مستمر ونقول عن البكتيريا أنها مقاومة إذا كانت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة المضاد الحيوي تفوق النسبة المعتادة وهي نوعان :

- مقاومة طبيعية .
- مقاومة مكتسبة . [20]

2.5.طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي :

1.2.5.خواص الجذمة البكتيرية :

تعتبر الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه ،حيث نجد كلما ارتفع التركيز قلت المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

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

✓طريقة الانتشار (Méthode de diffusion) :

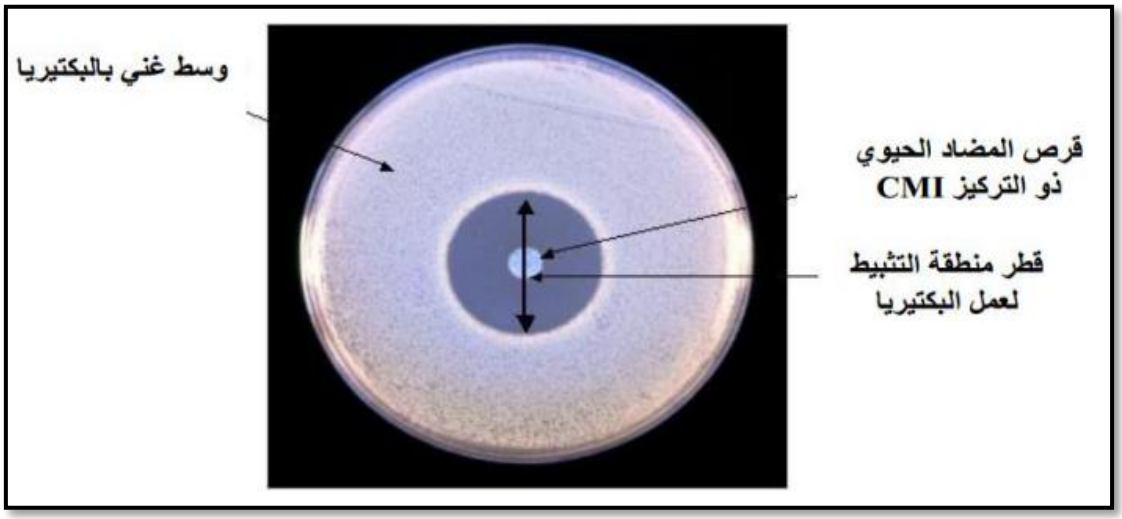
وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية ،ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز (gélose)وأهم وسط جيلوزي هو وسط Hilton Muller ،نسبة للباحث الذي حضره عام 1941،والهدف

من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي ،ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية:

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي ،يسكب بكميات محددة في علب بتري ،يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزولوجي ،ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقا (بعد تصلب الوسط الجيلوزي)،تدخل العلب للحاضنة للتجفيف ،بعدها توضع أقراص الاختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فاعليته ،ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة حرارة 37° م لمدة 18- 24ساعة .

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي ،نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا وكنتيجة لهذا الاختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي ويمكن أن نقول : [21]

- ✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8ملم .
- ✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر ما بين 19 و14 ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة للمضاد إذا كان القطر مابين 15و 20 ملم .
- ✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم . [22]



الشكل (6.III):قطر منطقة التثبيت للبكتيريا.

المراجع بالعربية

[1]- بابا عربي إلياس.، دراسة بعض أملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنيسلين V ،مذكرة لنيل شهادة الماجستير،تخصص كيمياء عضوية تطبيقية ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).

[2]- محمد عبد المحسن .،وراثة الأحياء الدقيقة ،شركة الشهاب للنشر والتوزيع ،ص:18(1995).

[4]- د.رأفت حسن عبد الوهاب .،د.فضاء ادعيج العون.،تصنيف عالم النبات والأحياء الدقيقة ،شركة دار العلم للنشر والتوزيع .الكويت (2018).

[8]- تامة .ن. د.، الدراسة الفيتوكيميائية للمنتجات الفعالة (القلويدات ، الفينولات والفلافونويدات ، التربينات الثلاثية) والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل و الحُميِّر التي تنمو في جنوب شرق اسيا،رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه علوم ،جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي (2018).

[15]- محمد م.،عبد الرزاق س.،أساسيات التشخيص البكتريولوجي المعملي والسريري ،الطبعة الأولى ،مركز التقنيات الحيوية .جامعة ليبيا .الفصل الأول (2013).

[21]- العابد إ .،دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران Traganum nudatum ،مذكرة ماجستير في الكيمياء ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2009).

المراجع باللغة الأجنبية :

[3]-Parreno, K., 2013- Development and assessment of pomegranate (Punica granatum.L) derived food products. Rich in bioactive phytochemicals. Thése doctora.

[5]-Fathima, M.,Raja govindan, N. P.,and Shantha, N.,2007- Biology Botany ,CollegeRoad, Chennai, India. 305.

[6]-Muriel, G., William, M. I., Ricardo, A., Henderson, J. C., Daniele, p, José, C. K.,Daniel, R., Tilman, S., Stéphane ,T., andViso, M.,2015- Encyclopedia of Astrobiology 2ed: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

[7] -S. Robert-Dernuet., Antibiotique et antibiogrammes. Décarie Vigot 1995: p. 322.

[9] -Michanie, S.,2003- Escherichia coli O157: H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis alimentos. 9(3): p:1-7.

[10]-Joffin, J. N., Schuter C.,2003- Pseudomonas et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes.

[11] -Pool, K., 2001- Multidrug effux pumps and antimicrobial resistance in pseudomonasaeruginosa and releted organisms. J. MOL. Microbiol Biotechnol. 3(2):255-264.

[12] -Benzahi, K.,(2001)-Contribtion à l'étudedes flavonoides dansla Plante cyndon Dacylon –L chiendent ,these de Magister ,Université de Ouargla ,P 15-17.

[13] -Sanné, C., Sauvin, H.,1952-colored flowers and fruits anthocyannes and flavones ,Edition of museum ; Paris p.58.

[14] -Carbonelle, B.,Denis, F., Marmonier, A.,Varguas, R.,1987- Bactériologie médicale ,Technique usuelles .SIMEP.paris.

[16] -Ericsson, H. M., Sherris, J. C. O.,1971- Antibiotic Sensitivity Testing, Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica ,p:90 .

[17]-Guerin Faublee,V ., Carret, C.,1999- l'antibiogramme principe,methodlogi ˉe ,interet et limites ,Journes nationales GTV-INTRA.p5-12.

[18]-Riti, S.,Chibber,S.,Robert, H.R.,(2011) Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper waterStorage vessels, Sharan et al . BMC Infectious Diseases, 11:204.

[19]- Kanner, J., Frankel, E. N., Grant, R., German, J. B., Kinsella, J. E., (1994): Natural antioxidants in grapes and wines. J.Agric.Food.Chem, 42: 64-69.

[20]-Seignalet,J.,(2005) Alimentation et Spondylarthrite.Polyarthrite rumatoide et bactéries intestinales .

[22] -Poncea, G., Fritzr Del Vallc.,et Rouras, I.,(2003) Antimicrobial activity of essentialoils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenxchuft and Technologie.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

تم انجاز هذا العمل على مستوى المخابر التابعة لكلية العلوم الدقيقة في جامعة الشهيد حمه لخضر.

1.تحضير العينة :

تم الحـصول على بذور نبات حب الرشـاد من السوق المحلية لـولاية الـوادي في تاريخ 24 جـانفي 2020. قمنا بتنقية البذور من التراب والشوائب العالقة بها وفصلها إلى بذور ذات لون موحد لتجنب خطر التهجين أثناء نمو الأنواع الأخرى ،بعد ذلك تم طحنها بمطحنة كهربائية طحنا خفيفا ووضعها في إناء زجاجي محكم الإغلاق وفي مكان مظلم إلى حين استعمالها.

الشكل(1.VI): البذور قبل وبعد الطحن .

2. الأدوات والأجهزة والوسائل:

الجدول(1.VI): أدوات ومواد وأجهزة المستعملة في الدراسة.

الأدوات	الأجهزة	المواد
• أنابيب اختبار(tubes essai) • بيشر (Bécher). • قمع (Entonnoir). • ملعقة (Spatule) . • ورق الترشيح (Papier à filtre) • ارلن ماير (Erlenmeyer) • مطحنة كهربائية ،دورق • ماصة معيارية (Pipette).	• جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية -UV) visible). • جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur). • مخلاط مغناطيسي . • ميزان الكتروني حساس. • حاضنة . • معقمة (Autouclave). • مضخة .	• الايثانول (C_2H_5-OH). • ماء مقطر H_2O. • كاشف فولين(Folin Ciocalteu) • محلول كربونات الصوديوم (Na_2Co_3) (M=105.99g/mol/99.8%). • حمض الغاليك ($C_7H_6O_5,H_2O$/99%). • محلول ثلاثي كلوريد الالمونيوم (H_2O،$AlCl_3$) (M=241.43g/mol/97%) • Gélose nutritive . • كرستين ،الماء الفيزيولوجي .

3. تعريف الاستخلاص :

هي تقنية تعمل على فصل الأنواع الكيميائية المتواجدة في الطور الأول الذي يمكن أن يكون سائل أوصلب،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 باستخلاص صلب–سائل ،ولهذا الأخير عدة عوامل منها درجة الحرارة ،الضغط وكيفية استعمال المذيب.[1]

1.3.استخلاص صلب – سائل :

- **الاستخلاص على البارد (النقع):**

وتعتمد هذه الطريقة على وضع المادة الخام داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب ،بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذاب 1/المذيب 3) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة)مع التحريك من حين لأخر تترك مدة زمنية معينة ، خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب ،تتبعها عملية الترشيح .نستعمل طريقة النقع للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة .[2]

2.3.طريقة الاستخلاص :

نقوم بواسطة ميزان إلكتروني حساس وزن كتلة قدرها 10 g من مسحوق بذور نبات حب الرشاد، نضعها في بيشر ونضيف إليها 70 ml من الماء المقطر و30ml من الإيثانول بنسب حجمية(3/7) ،نغطي البيشر بورق البرافيلم (لمنع تبخر المذيب)ونضعه في المخلاط المغناطيسي لمدة 72 ساعة لغرض النقع .

ملاحظة : نكرر نفس الخطوات السابقة مع نفس العينة ولكن بتغير نسب حجم كل من(الماء والإيثانول) لنتحصل على المستخلصات الخمسة.

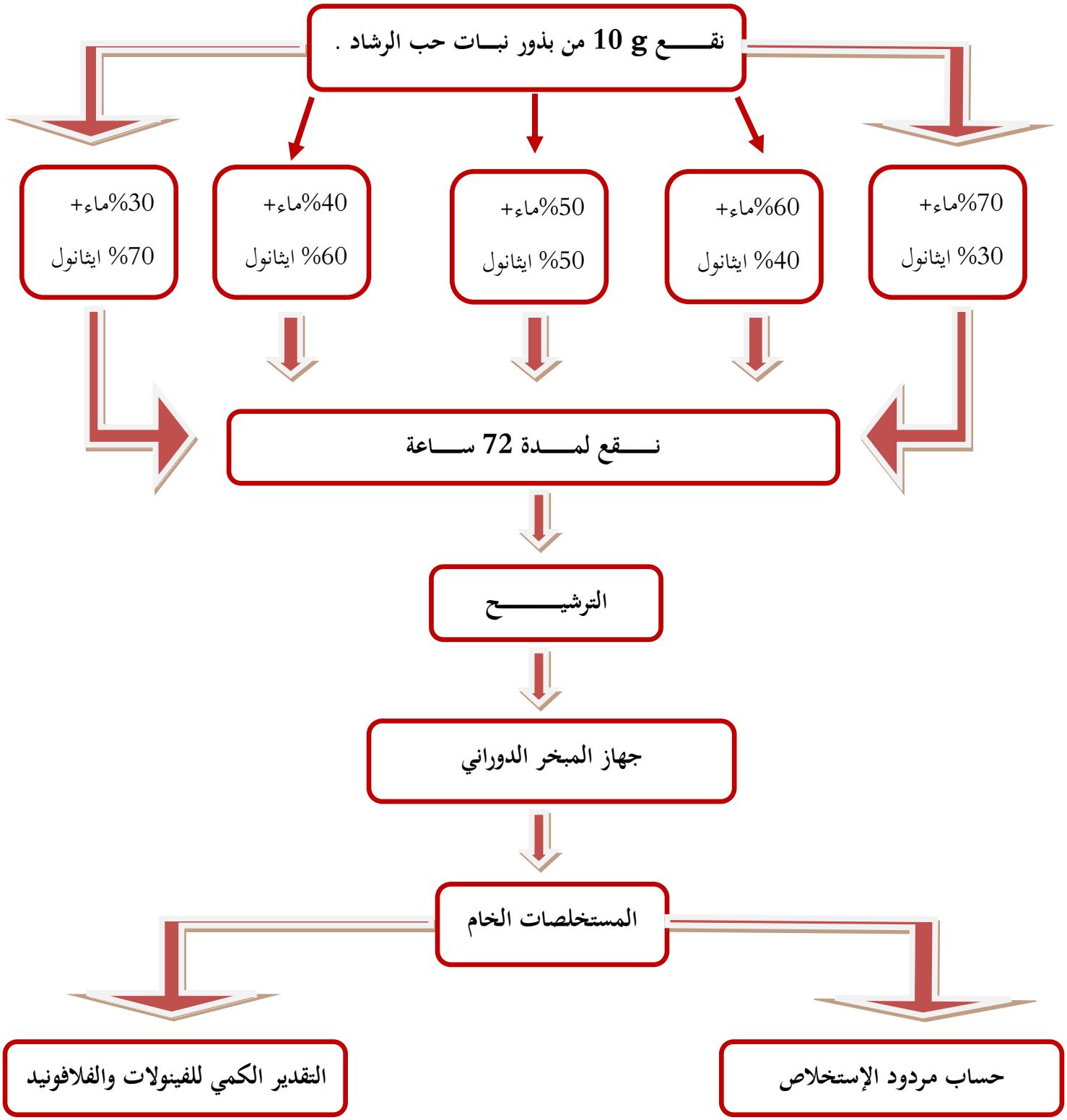
الشكل(2.VI):نقع العينات بالإيثانول و الماء بنسب مختلفة.

3.3.طريقة الترشيح :

بعد عملية النقع للعينات الخمسة للمدة المذكورة سلفا نقوم بترشيح النقيع باستعمال ورق الترشيح (Whattman)ونكرر العملية ثلاث مرات للحصول على ترشيح افضل ثم توضع في جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur) حتى نتحصل على مستخلص ذو قوام سميك ونتركه تحت التهوية للتاكد من تبخر الماء .

الشكل(3.VI):ترشيح العينات بعد النقع.

4. مخطط الاستخلاص:



الشكل(4.VI): مخطط يوضح طريقة الإستخلاص

5.حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات :

يتم حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات انطلاقا من النسبة بين المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وتعطى بالعلاقة التالية :

$$R\% = (M_F/M_I) \times 100$$

- $\mathbf{M_F}$: الكتلة النهائية .
- $\mathbf{M_I}$: الكتلة الابتدائية .
- **R%**: المردودية الإنتاجية للمستخلصات بـ **%**.[3]

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

1.6.مطيافية الأشعة فوق البنفسجية –المرئية:

هذه التقنية من أقدم الطرق استعمالا في التحليل الكمي والكيفي ، ومن أهم الوسائل التي تساعد في تحديد البنى الكيميائية للمركبات ، تشمل على منطقة الضوء المرئي ومنطقة الأشعة فوق البنفسجية ،ومن أهم الطرق التقدير الكمي طريقة قياس الامتصاصية (الكثافة الضوئية λ) للمحاليل حيث مجالها الكهرومغناطيسي (طولها الموجي) مابين 400-700 نانومتر. [4]

- **مبدأ العمل :**

يتكون الجهاز من قسمين رئيسيين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد و مقياس الكثافة الضوئية (Photometer)، حيث يتم وضع المحاليل المراد قياس إمتصاصيتها داخل أنبوب خاص (Cuve) يسمح بمرور الضوئيين المصدر الضوئي والـ Photometer، وبالتالي فإن كمية الضوء المار خلال العينة يعبر عنها بالإمتصاصية. وعند تعرض الـ Photometer للضوء فإنه يتولد على أقطابه إشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتص من قبل المحلول، حيث يعتمد تغير إمتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة الممتصة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالاعتماد على إمتصاص الضوء عند طول موجي محدد، فعندما نمرر ضوء ذو طول موجي محدد خلال المحلول فإنه هناك علاقة بين تركيز المذاب وكمية الضوء المنقولة حسب قانون BeerLambert. [4]

$$A = \log I_0 / I$$

حيث:

$\mathbf{I_0}$: شدة الضوء الوارد .

$\mathbf{I}$:شدة الضوء الصادر .

يمكننا من خلال مطيافية الأشعة UV-Visible قياس الإمتصاصية لمادة مذابة عند طول موجي (λ) معين، أو إنتاج طيف إمتصاصية في مجال طول موجي محدد فيعطي طيف شدة الإمتصاص بدلالة طول الموجة (λ) . [5]

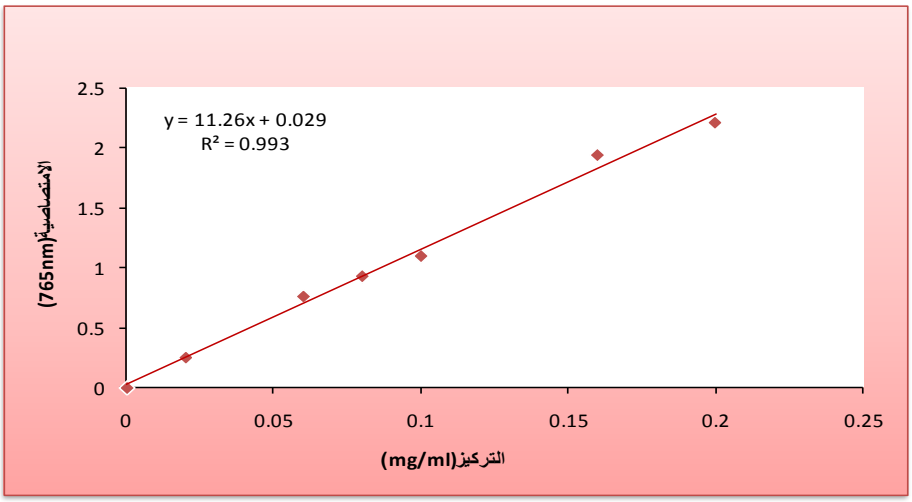
2.6.التقدير الكمي للمركبات الفينولية بواسطة UV –Visible :

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية (1965) Singleton Rossi باستعمال كاشف الفولين (Folinciocalteu) في وسط قاعدي ،حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3P_{13}W_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيدك ($H_3PMo_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكسيد التغنستين (WO_3) والموليبيدين (MoO_3)، ذات اللون الأزرق .

يتم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز مطيافية الضوئية وباستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي $\lambda_{max} = 760nm$. [6]

- **المنحنى القياسي لحمض الغاليك :**

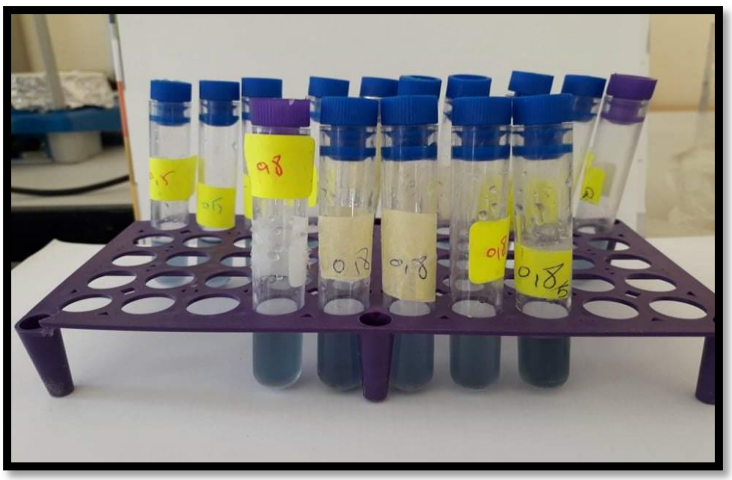
يتم تحضير سلسلة محاليل عيارية لحمض الغاليك بتراكيز تتراوح ما بين [0.3-0.03mg/ml] في أنابيب اختبار، ثم يأخذ 0.2 ml من المحاليل الممدة ويضاف لها 0.5 ml من كاشف (Folin ciocalteu) المدد 10 مرات ثم توضع في الظلام لمدة 5 دقائق ،بعدها يتم إضافة 0.8ml من محلول كربونات الصوديوم (Na_2Co_3) بتركيز (7.5%) ،ترج الأنابيب جيد ا ثم توضع في الظلام لمدة 30 دقيقة . بعدها تقرئ النتيجة في جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV –Visible في طول موجة $\lambda_{max} = 765nm$.



الشكل (5.VI): منحنى العياري لحمض الغاليك . [7]

- **التقدير الكمي للفينولات الكلية في المستخلصات :**

نحضر من كل المستخلصات العضوية المدروسة محلول معياري بتركيز قدره 1mg/ml، ومن هذا الأخير يتم تحضير تراكيز مقدره بـ 0.8 mg/ml ،نقوم بمزج 0.2ml من المستخلصات المحضرة مع 0.5ml من كاشف فولين (Folin ciocalteu) الممدد 10 مرات ثم تحضن الأنابيب في الظلام لمدة 5 دقائق ،بعدها نضيف 0.8ml من كـربونـات الصوديوم (Na_2Co_3) بتركيز (7.5%) وتحضن في الظلام لمدة 30 دقيقة ،حتى نتحصل على اللون الأزرق وتتم القراءة في الطول الموجي المذكور سابقا.



الشكل(6.VI): المستخلصات بعد الكشف عن الفينولات.

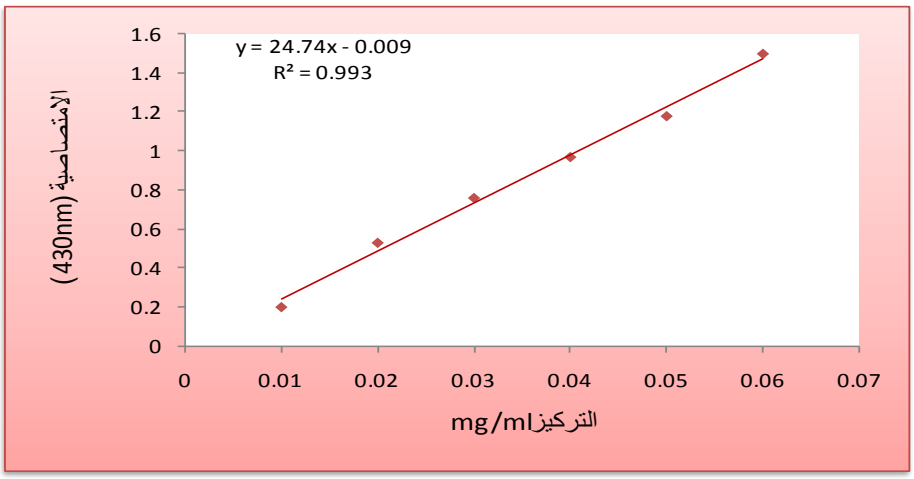
3.6.التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة UV –Visible :

يعتمد في تقدير الفلافونيدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلورو الألمنيوم $AlCl_3$ مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجود على الحلقات البنزينية للفلافونيدات حيث يشكل معقد ثابت بين مجموعة الكربونيل وهيدروكسي الموقع 3و5 كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثو هيدروكسي .

يتم تقدير الفلافونيدات كميا بواسطة جهاز مطيافية الضوئية وباستعمال فلافونيد الروتين كأساس مرجعي تقاس امتصاصيته الضوئية عند طول موجي $\lambda_{max} = 420nm$.[8]

- **المنحنى القياسي لحمض الكرستين :**

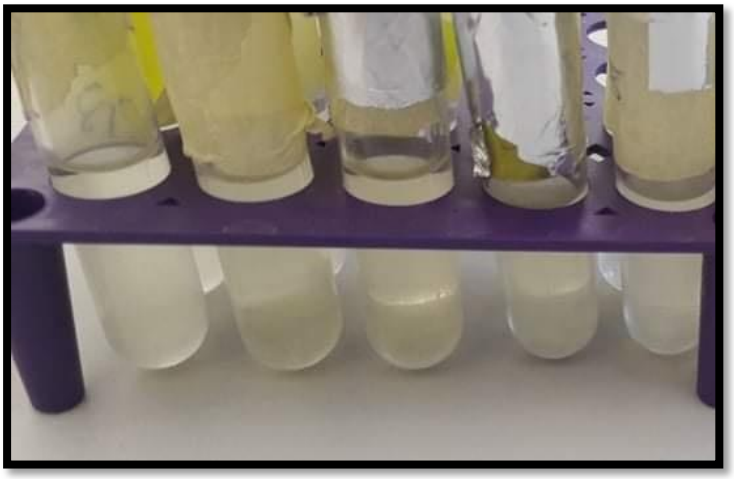
يتم تحضير محلول عياري من الكرستين بتركيز0.1 mg/ml،ثم تحضر منه سلسلة محاليل عيارية بتراكيز [0.1-0.02 mg/ml]،يأخذ من كل تركيز حجم 1ml ويضاف له1ml محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز2% وتترك في الظلام لمدة 1 ساعة عند درجة حرارة المخبر ،ثم تتم قراءة الامتصاصية في جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV –Visible عند طول موجة λ_{max}=420nm.



الشكل(7.VI): منحنى العياري للكرستين.[7]

- **التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية في المستخلصات :**

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 1mg/ml ، ونأخذ من كل تركيز 1ml في أنبوب اختبار ونضيف 1ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) ذو التركيز 2% ونتركها في الظلام لمدة ساعة واحدة،حتى نتحصل على اللون الأصفر وتتم القراءة في الطول الموجي المذكور سابقا.



الشكل(8.VI): المستخلصات بعد الكشف عن الفلافونيدات.

- **ملاحظة:**

في هذا الجزء سيتم مراجعة واستناد مجموعة من الدراسات السابقة لمعرفة مدى تأثير مستخلصات بذور نبات *Lepidium Sativum* L على تثبيط الجذور الحرة وتوقيف عملية الأكسدة بواسطة طرق كيميائية .

7. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة بالطرق الكيميائية :

هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة ،تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق التي من بينها اختبار : FRAP ، DPPH ، ABTS ،RP. وفي هذه الدراسات تم اختيار اختبارين مختلفين لقياس قدرة التثبيط :اختبار الأسر الجذري DPPH، اختبار ارجاع الحديد RP . [9]

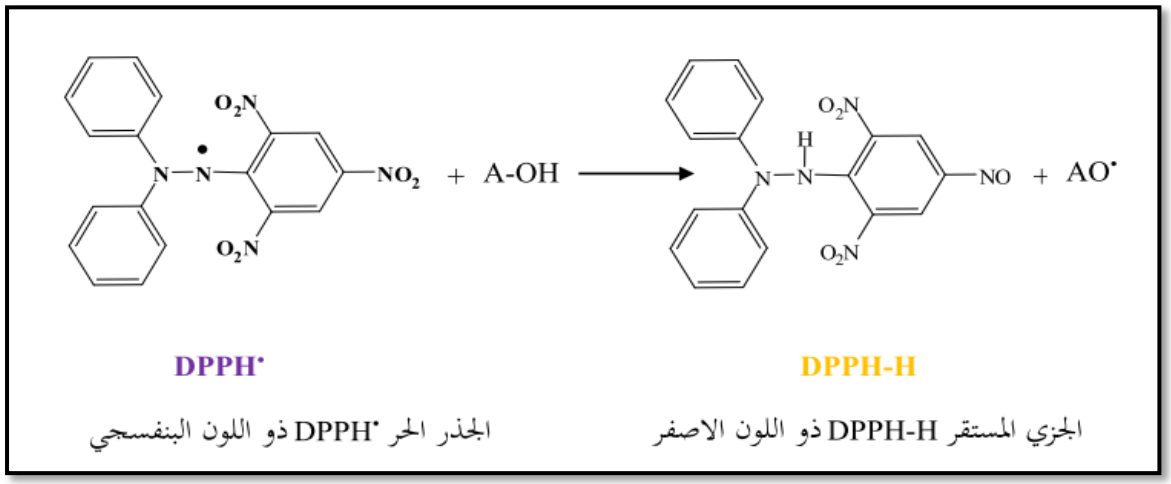
1.7. اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH :

هو اختبار مضاد للجذور الحرة وقد سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف العالم Blois سنة 1958 بجامعة ستانفورد ،ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة .

ويعتمد هذا الاختبار على نسبة ارجاع الجذر $DPPH^{\cdot}$ في وجود مركب مضاد للأكسدة قادر على منح إلكترون أو جذر هيدروجينيا ،ويظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر $DPPH^{\cdot}$ذو اللون البنفسجي الداكن الذي يتحول إلى جزيئة مستقرة DPPH-H وهي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر ،ويقاس التغير اللوني بقياس الانخفاض في قيم الامتصاصية عند الطول الموجي 517 nm ،هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المستخلصات من تثبيط الجذر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة في وجود المستخلص المضاد للأكسدة وتحدد قدرة مضادات الأكسدة بتحديد معامل جديد IC_{50} .

تعريف المقدار IC_{50}: ويعرف على أنه كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط% 50 من الجذر الحر DPPH[10].

والشكل **(9.VI)** يوضح معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة :



الشكل (9.VI): معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة .

1.1.7.اختبار DPPH للمستخلصات:

يتم تحضير محلول من DPPH في الميثانول ذو تركيز250mM فيتم الحصول على اللون البنفسجي الداكن،ثم تحضر تراكيز مختلفة من المستخلصات المدروسة ،و يؤخذ من كل تركيز1 ml ويضاف له1 ml من (DPPH) يجانس المحلول ويترك لمدة 30 دقيقة في الظلام ،تقرا الامتصاصية عند طول الموجة λ_{max}=517nm[11] يعامل حمض الاسكوربيك بنفس الطريقة حيث يستخدم كشاهد إيجابي مرجعي.

الشكل (10.VI):المستخلصات بعد إضافة DPPH.[12]

2.1.7. حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH:

يتم تعيين القدرة التثبيطية للمستخلصات بحساب النسبة المئوية لتثبيط I% لـ $DPPH^{\cdot}$ بالعلاقة التالية :

$$I\% = ((A_0 - A_i) / A_0)\ 100 \qquad (VI.1)$$

حيث أن:

A_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات بعد 30 دقيقة .

A_i : الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر +المستخلص) بعد 30 دقيقة .

I% : نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر $DPPH^{\cdot}$. [11]

2.7. اختبار القدرة الارجاعية للحديد الثلاثي (RP):

تم تحديده في سنة 1986 من طرف Oyaizu،كمؤشر يبين فاعلية الالكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة.

ويعتمد هذا الاختبار على مدى قدرة مضادات الأكسدة على منح الكترونات باستخدام طريقة اختزال مركب فريسيانيد البوتاسيوم وهذا بإرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي .يمكن تحديد كمية معقد الحديد الثنائي بقياس طول موجة تشكل اللون الأزرق الداكن عند 700nm. [10]، [13]

$$Fe(CN)_6^{3-} + Antioxidant \longrightarrow Fe(CN)_6^{4-} + oxidized$$

$$Fe(CN)_6^{4-} + Fe^{+3} \longrightarrow Fe[Fe(CN)_6]^{-}$$

- **طريقة العمل :**

يتم تحضير محاليل ذات تراكيز مختلفة للمستخلصات المدروسة ،ثم يؤخذ في أنبوب اختبار 1 ml من كل محلول ممدد ،ويضاف له 2.5ml من محلول $K_3[Fe(CN)_6]$ (1%)، و 2.5 ml من محلول الفوسفات المنظم (tampon phosphate) (pH=6.6، 0.2M)، توضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة50C° بعدها يضاف 2.5 ml من حمض ثلاثي الكلورور أسيتيك (TCA 10%)، ثم يؤخذ 2.5 ml من المحلول المحضر+2.5 ml من الماء المقطر + 0.5ml من $FeCl_3$ (0.1%) تقاس الامتصاصية عند طول موجة 700nm. [14]

يعامل vit c بنفس الطريقة حيث يستخدم كشاهد إيجابي مرجعي .

الشكل(11.VI):اختبار القدرة الارجاعية للمستخلصات. [12]

8.دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بتقنية اختبار الحساسية بالأقراص :

في هذا الجزء سيتم مراجعة واستناد مجموعة من الدراسات السابقة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات المحضرة لبذور نبات *Lepidium Sativum* L في تثبيط السلالات البكتيرية المرضة ، بتطبيق أشهر الطرق المستخدمة وهي طريقة الانتشار حول الأقراص (Méthodes des disques) .

والجدول **(2.VI)** يوضح السلالات البكتيرية المتناولة:

الجدول (2.VI):أنواع السلالات البكتيرية المختبرة .

البكتيريا المدروسة	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichiacoli	سالبة الغرام
Staphylococcus aureus	موجبة الغرام
Pseudomonas aruginosa	سالبة الغرام
Klebsiella Pneumoniae	سالبة الغرام

1.8.تحضير التراكيز المختلفة لكل مستخلص:

يتم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة لكل مستخلص عضوي (2.5 ، 5، 10) ملغ/ مل ،وذلك بإذابتها في DMSO.

2.8. تنمية مزارع بكتيرية حديثة:

يتم تنشيط العزلات المختبرة المذكورة سابقا وذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال مقبض بلاتيني (anse de platine) وتنميتها في وسط زراعي gélose nutritive وحضنها في الحاضنة بدرجة 37C° لمدة 24ساعة.

3.8.تحضير أوساط الزرع :

- يتم تعقيم منطقة العمل بواسطة موقد بنزن.
- يعقم وسط الزرع بمحلول جيلوزي(Muler –Hinton) الذي تمت اذابته في معقم بالضغط .
- سكب من الوسط في علبة بتري ذات قطر قدره 9 سم بسمك موحد حتى النصف تقريبا ونتركها تجمد على سطح طاولة المخبر. [15]

4.8.تحضير المعلق البكتيري :

- يتم وضع 5ml من الماء الفيزيولوجي المعقم في خمسة أنابيب اختبار معقمة .
- انطلاقا من مزرعة حديثة تؤخذ 5 مستعمرة بكتيرية بعيدة عن بعضها البعض ومعزولة توضع في خمسة أنابيب اختبار المحضرة سابقا .
- تترك لمدة 10 دقائق قبل استعمالها .
- يغمس الماسح القطني المعقم في المعلق البكتيري الذي يحتوي على البكتيريا ثم يمسح به كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا وتوزع على مستوى السطح بشكل خطوط متلاصقة ومنتظمة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدوير علب البيتري بزاوية 60° في كل مرة نقوم بنفس العملية للأنواع البكتيريا المستعملة في الدراسة.
- نتركها مدة 15 دقيقة ثم نقوم باستعمال تقنية الأقراص الورقية . [15]

5.8. تطبيق الأقراص :

- بواسطة ملقم توضع الأقراص المشبعة بالمستخلص بمختلف تراكيزه وأنواعه وتوضع على سطح الوسط المغذي داخل علب بيتري.
- ترك العلبة على سطح طاولة المخبر لمدة 30 دقيقة ثم نضعها بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37C° لمدة 24 ساعة .
- كما يتم القيام بتحضير ثلاث أطباق بتري تحتوي على المضادات الحيوية (كشاهد إيجابي)وDMSO (كشاهد سلبي) في كل سلالة بكتيرية .
- تسجل النتيجة بقياس منطقة قطر منطقة كبت التثبيت للتطور البكتيري بالميلي متر . [15]

المراجع بالعربية :

[1]- قريشي بثينة .،دراسة مقارنة بين مختلف المستخلصات القطبية وغير القطبية لنبات قرع الكوسا Cucurbita pepo L ،مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر ،جامعة الوادي (2017).

[6]- بوقوادة م .،دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي ،مذكرة ماجستير ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2008).

[7]- معامير ح .،علال ي.، دراسة نواتج الأيض الثانوي والفولافونيدي والفعالية البيولوجية لمستخلص الخام لأوراق نبات الرمان باستعمال الكحول والماء بنسب مختلفة، مذكرة ماستر في الكيمياء ،جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي (2019).

[9]- بن سلامة عبد الرحيم.،النشاطات المضادة للأكسدة للكزانيث لمستخلصات أوراق Heria chérifolial ،مذكرة ماجستير بيوكيمياء ،جامعة فرحات عباس سطيف (2011).

[10]- بلفار آ.،دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianu(Dur)،رسالة محضرة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء،جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،ص:6(2018).

[13]- غيابة زينب .،دراسة تحليلية للبيدات وفينولات ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية ،مذكرة دكتوراه كيمياء،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2015).

[14]- ربيعي عبد الكريم .،المساهمة في دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية ،مذكرة ماجستير في الكيمياء التحليلية ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).

المراجع بالأجنبية :

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

[3] -Boukri, N. H.,2014-contribution a l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras –el-hanout ,thème master académique ,Université Kasdi Merbah .p:99.

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

[5] -Bte-Smith, F.C (1964). In methods in polyphenol chemistry,J.B. Pridham, Editeur Pergamon Press; p.59-62.

[8]-Heing-Helmut Perkampus .,1992-UV-VIS Spectroscopy and its applications .Springer Laboratory.

[11] -Dziri, S., Hasseni, I., Fatnassi, S.,Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B., Hosni, K., 2012- Phenolic constituents antioxidant and anti microbial activities of rosy garlic (Allium roseum var. odoratissimum) SciVerse Science Direct journal of functional foods (4).423-432.

[12]-Aissous,A.,Bechara,R.,2016-Caractérisationchimiqueet activités biologique d'éxtrait brut hydroalcoolique des grains de Lepidium sativum, mémoire de mater en Science de la nature et de la vie , Université des Frères Mentouri Constantine.

[15] -Hazalin, N.A., Ramasamy, K., Lim, S. M., Wahab, I. A., Cole, A. L., and Abdul Majeed, A. B.,2009- "Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from Plant at the National Park" ,Pahang,Malaysia.BMC Complementaryand AlternativeMedicine;9:46.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

1.حساب مردود المستخلصات :

نرمز للمستخلصات بالرموز التالية :

- ✓ مستخلص المزيج (70%ماء/30% ايثانول) ⟵ A
- ✓ مستخلص المزيج (60%ماء/40% ايثانول) ⟵ B
- ✓ مستخلص المزيج (50%ماء/50% ايثانول) ⟵ C
- ✓ مستخلص المزيج (40%ماء/60% ايثانول) ⟵ D
- ✓ مستخلص المزيج (30%ماء/70% ايثانول) ⟵ E

R%: المردود %.

$$R\% = m_f/m_i$$

$\mathbf{m_f}$:الكتلة النهائية .

$\mathbf{m_i}$: الكتلة الابتدائية .

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

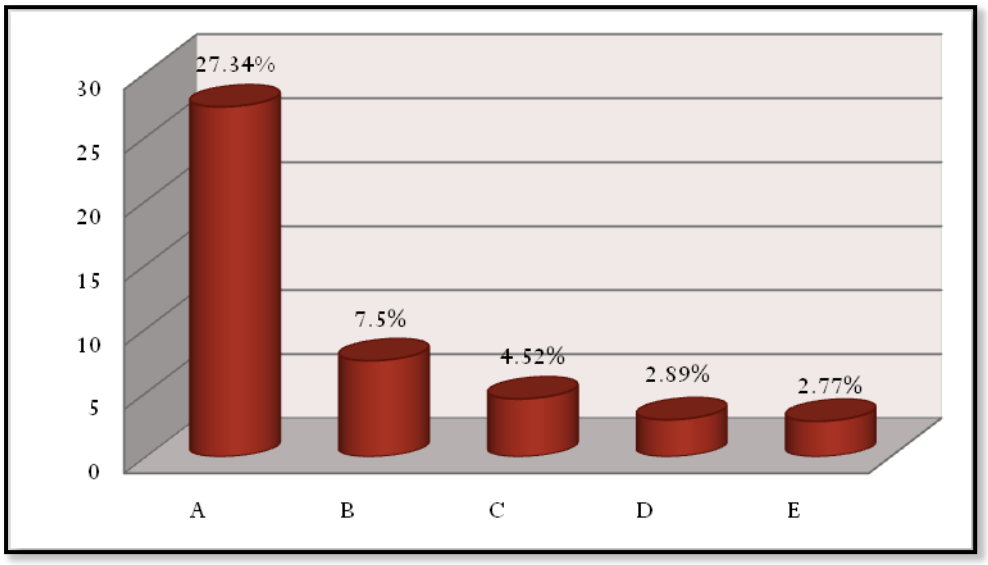
الجدول(1.V): قيم مردود الاستخلاص .

الكتلة الأولية	العينة	الكتلة النهائية	المردود%
10g	**A**	2.7346g	27.34
	B	0.7509g	7.50
	C	0.4521g	4.52
	D	0.2897g	2.89
	E	0.2774g	2.77

من خلال النتائج الموضحة في الجدول**(1.V)** نلاحظ تباين في نسب مردود الاستخلاص في كل من الأنظمة العضوية المستعملة ،حيث نجد أن أكبر مردود استخلاص سجل في المستخلص (A) والذي قدر بـ 27.34% وأقل مردود كان في المستخلص (E) بنسبة 2.77% ،أما باقي المستخلصات (B، C، D) فكانت النسب متوسطة ومقدره على الترتيب بـ 7.50%، 4.52%، 2.89% .ويعود هذا الاختلاف إلى تغير في نسب كل من الماء والايثانول في المزيج وخصائص و طبيعة المذيب من حيث القطبية، والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة

الموجودة في البذور، مما يدل على أنها غنية بالمركبات النشطة حيث كلما زادت أنواع وكميات المركبات النشطة في النبات زاد معها المردود. [1]

مردود الاستخلاص للعينات A ، B ، C، D، E موضح في الشكل**(1.V)**:



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

2.التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية–المرئية UV-visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول **(2.V)** :

الجدول (2.V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة.

العينة	A	B	C	D	E
التركيز(mg/ml)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
الامتصاصية(A)	0.77	0.71	0.68	0.57	0.50

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات ،حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1g من المستخلص المعبر عنها بـ mg للمكافئ الغرامي لحمض الغاليك على g من العينة mg EAG/g.

النتائج مدونة في الجدول **(3.V):**

$$Y=11.26x+0.029$$

الجدول (3.V): كمية الفينولات الكلية في المستخلصات .

العينة	A	B	C	D	E
تركيز الفينولات (mg/ml)	0.066	0.060	0.058	0.048	0.042
كمية الفينولات (mg/g)	82.26	75.59	72.27	60.07	52.29

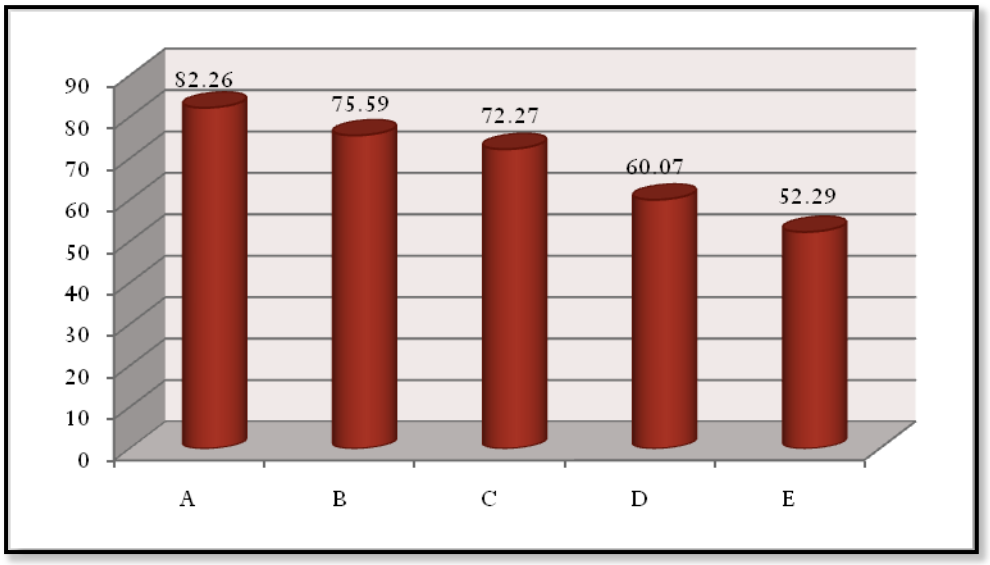
✓ **النتائج والمناقشة :**

من خلال الجدول **(3.V)** والذي يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام لوزن المستخلص لوحظ وجود تباين في كمية المركبات الفينولية في مختلف المستخلصات المدروسة والتي يتراوح مقدارها بين mg EAG/g (82.26-52.29) .

حيث بلغت كمية المركبات الفينولية 82.26mg EAG/g في مستخلص العينة A وهي تمثل أعلى نسبة في المستخلصات الفينولية ، في حين سجلت أقل قيمة في المستخلص E والتي قدرت بـ 52.29 mg EAG/g ،أما باقي المستخلصات (B، D، C) فكانت النسب متقاربة ومقدره على الترتيب بـ 75.59 mg EAG/g ، 72.27 mg EAG/g، 60.07 mg EAG/g . ومن خلال النتائج تبين :

- وجود علاقة عكسية بين نسبة الإيثانول في المزيج وكمية المركبات الفينولية(كلما زادت نسبة الإيثانول نقصت كمية الفينولات في المستخلص) والتي يمكن تفسيرها بأن نسبة الكحول (الإيثانول)المرتفعة في المزيج تعمل على إعاقة انحلال البوليفينولات خلال عملية الاستخلاص ، وهذا ما أكدته دراسة (صحراوي صباح.،2018).[2]
- كما أن جميع المستخلصات تضم أكبر كمية من عديدات الفينول حيث توافقت دراستنا مع دراسات Iqbal Hussain ومعاونوه (2011) و Jency Malara ومعاونوه (2013).[3]،[4]

والشكل**(2.V)** يوضح فرق في كمية المركبات الفينولية بين المستخلصات :



الشكل(2.V): أعمدة بيانية تمثل كمية الفينولات للمستخلصات المدروسة.

3.التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية– المرئية UV-visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول **(4.V)** :

الجدول (4.V): قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة.

العينة	A	B	C	D	E
التركيز(mg/ml)	1	1	1	1	1
الامتصاصية(A)	0.65	0.46	0.26	0.47	0.23

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الكرستين نجد تركيز الفلافونيدات الكلية في المستخلصات ،حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة لـ 1g من المستخلص المعبر عنها بـ mg للمكافئ الغرامي لحمض الكرستين على g من العينة mg EQ/g.

النتائج مدونة في الجدول **(5.V):**

$$Y=24.74x-0.009$$

الجدول (5.V): كمية الفلافونيدات الكلية في المستخلصات .

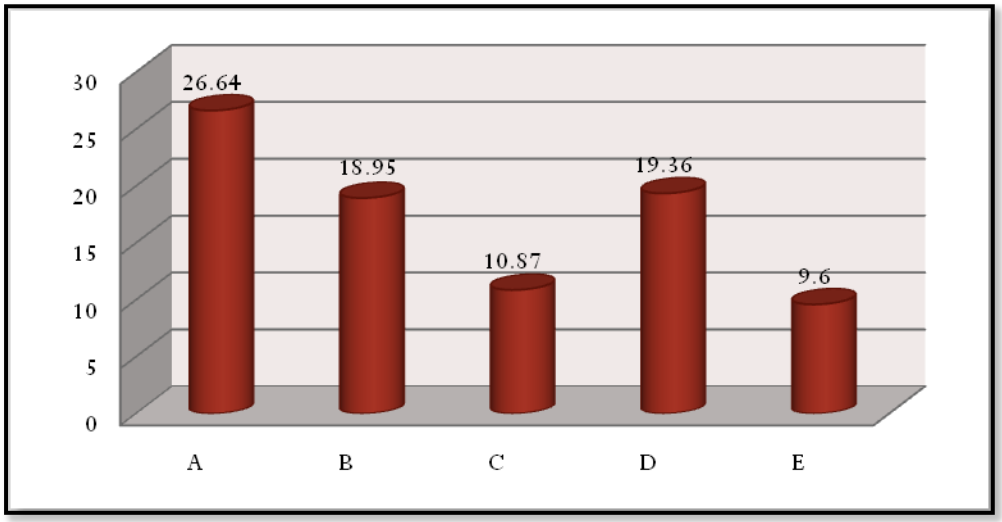
العينة	A	B	C	D	E
تركيز الفلافونيدات (mg/ml)	0.027	0.018	0.010	0.019	0.009
كمية الفلافونيدات (mg/g)	26.64	18.95	10.87	19.36	9.6

✓ **النتائج والمناقشة :**

من خلال الجدول **(5.V)** والذي يمثل التقدير الكمي للفلافونيد بالملغ المكافئ للكرستين لكل غرام لوزن المستخلص، لوحظ وجود تباين في كمية الفلافونيدات في مختلف المستخلصات المدروسة والتي يتراوح مقدارها بين (9.6-26.64) mg EQ/g.

حيث بلغت كمية المركبات الفلافونيدية 26.64 mg EQ/g في مستخلص العينة A وهي تمثل أعلى نسبة في المستخلصات ، في حين سجلت أقل قيمة في المستخلص E والتي قدرت بـ 9.6 mgEQ/g ، أما باقي المستخلصات (D، B،C) فكانت النسب متوسطة و مقدره على الترتيب بـ 19.36 mg EQ/g، 18.95 mg EQ/g،10.87 mg EQ/g.ومن خلال هذه النتائج تبين انه يمكن تفسير هذا التباين الحادث باختلاف نسب الماء بالنسبة للإيثانول في المزيج، حيث أشارت العديد من الدراسات أن إضافة نسبة من الماء إلى مذيب كحولي مثل الإيثانول من شأنه يرفع من ذوبانية الفلافونيدات وبالتالي زيادة كميتها في المستخلص. [5] وبما أن الفلافونيدات أكثر الفينولات انتشارا فهي تمثل نسب معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من هذه العينات.

والشكل**(3.V)** يوضح فرق في كمية المركبات الفلافونيدية بين المستخلصات :



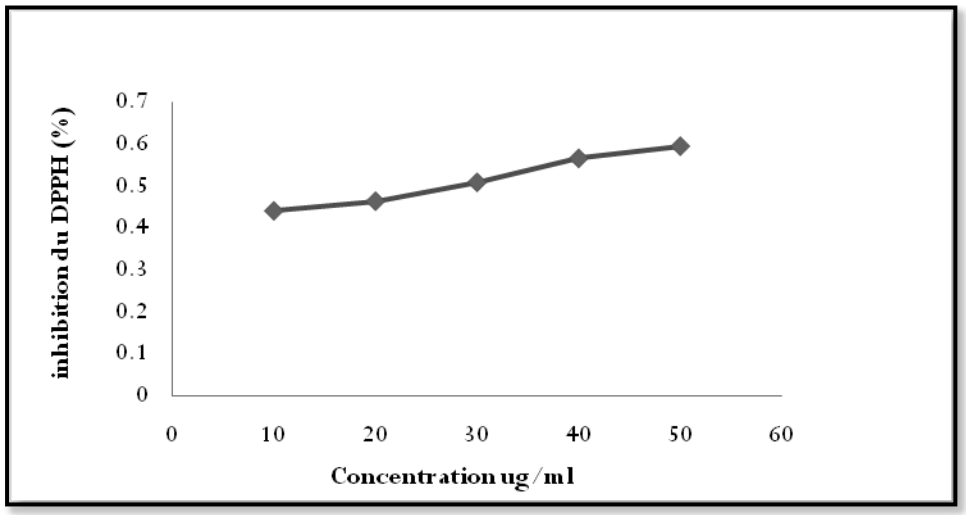
الشكل(3.V): أعمدة بيانية تمثل كمية الفلافونيدات للمستخلصات المدروسة.

4.تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة:

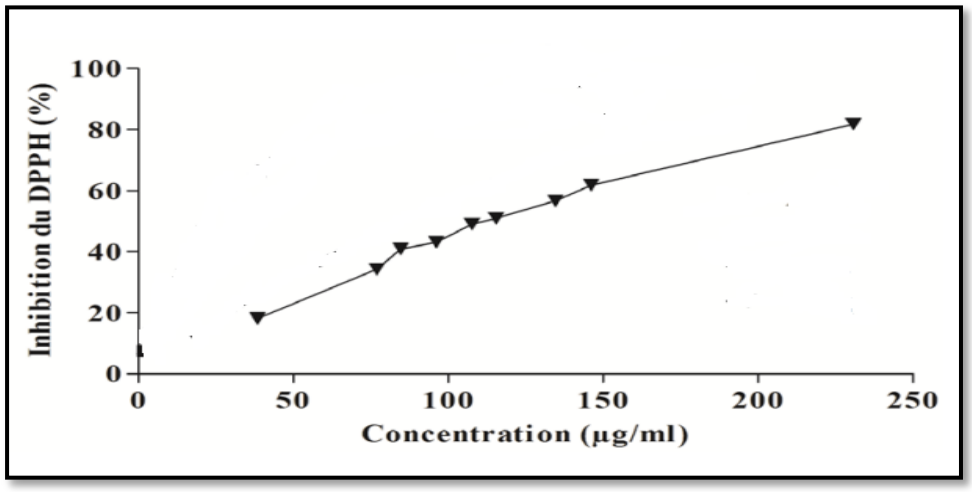
بعد مراجعة بعض الدراسات السابقة للنشاط المضاد للأكسدة ، لمستخلصات بذور نبات حب الرشاد تم الحصول على النتائج المدونة في الجداول والأشكال التالية :

1.4.اختبار DPPH:

DPPH· عبارة عن جذر حر غير مستقر ،يتغير لونه من البنفسجي إلى الأصفر عند إرجاعه إلى DPPH-H بواسطة المركبات المضادة للأكسدة التي تمنحه إلكترون أوبرتون وبذلك تعمل كمزيحات للجذور الحرة. من خلال قيم الامتصاصية المتحصل عليها تحسب نسبة التثبيط بالعلاقة رقم **(1.VI)**، لرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز أي I(%)=f(C)، الذي يظهر أن مستخلصات بذور نبات *Lepidium sativum*L تزيح جذر DPPH· بشكل يتناسب طردا مع التركيز.[6]،[7]



الشكل(4.V): منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص الميثانولي.



الشكل(5.V): منحنى تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة التركيز للمستخلص المائي.

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز تم تعيين قدرة المستخلصات المدروسة على كبح جذر DPPH بحساب قيمة IC_{50}، دونت النتائج في الجدول **(6.V)** .

الجدول (6.V): يوضح نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلصات. [6]، [7]

العينة	المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	AA
IC_{50} (µg/ml)	62	114.11	38

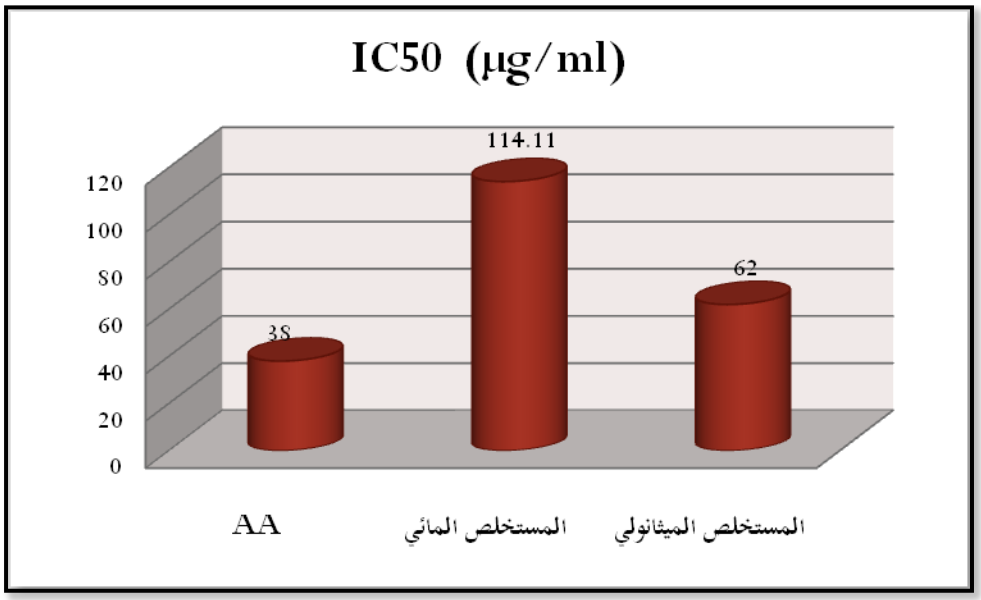
✓ **النتائج والمناقشة :**

من خلال النتائج المدونة في الجدول **(6.V)** لقيم IC_{50} ،نلاحظ أن جميع الأنظمة العضوية المدروسة تملك قدرة على اقتناص الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بشكل نسبي، واعتمادا على قيمة IC_{50} التي كلما نقصت زادت الفاعلية المضادة للأكسدة وجد أن المستخلص الميثانولي لبذور نبات *Lepidium sativum* L يملك أكبر فاعلية تثبيطية للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بقيمةIC_{50} تقدر بـ 62µg/ml وذلك مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل أقل قدرة تثبيطية للجذر الحر والذي قدرت بـ 114.1 µg/ml.

وعليه يمكن ترتيب القدرة التثبيطية للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ للمستخلصات والشاهد الإيجابي المرجعي كمايلي :

AA> المستخلص الميثانولي > المستخلص المائي.

والشكل **(6.V)** يوضح الفرق في قيم IC_{50} بين المستخلصات :



الشكل (6.V): يوضح قيم IC_{50} للمستخلصات.

وبمقارنة هذه النتائج المتوصل إليها مع بعض الدراسات الأخرى في نفس السياق وجد أن هذه المعطيات تتوافق إلى حد كبير إلى ما توصل إليه Ait-Yahia ومعاونوه (2018) حيث ذكروا أن قيمة **IC_{50}** قدرت بـ (µg/ml) 67.1 في المستخلص البوتانولي[8] ،بالإضافة إلى الدراسة التي قامت بها Bouchikhi ومعاونوها (2018) اذ وجدوا قيمة **IC_{50}** مقدرة بـ (µg/ml) 61 في المستخلص الإيثانولي[9] ،وفي دراسات أخرى أجريت على المستخلص الميثانولي لبذور *Lepidium sativum* L نجد أن قيمة **IC_{50}** كانت أعلى بكثير أي أقل فاعلية ، ونذكر منها دراسة كل من Aissous ومعاونوها (2016) [10]،ودراسة Malar ومعاونوه (2014) [11]، وكذلك دراسة Kasabe ومعاونوه (2012) [12] حيث كانت قيم القدرة التثبيطية مقدرة بـ (µg/ml) 137 ، 429، 176.18على التوالي .

وفي حين ما إذا ما تم مقارنة هذه الدراسة بدراسات تشمل على نباتات من نفس العائلة ،فنجد أن قيم **IC_{50}**متفاوتة بين الأعلى والأقل منها ،كالدراسة التي قام بها yadav ومعاونوه (2011) [13] حيث وجدوا أن قيمة**IC_{50}** قدرت بـ (µg/ml)18.46 للمستخلص الميثانولي وذلك لنبات *Ficus Benghlensis* L ، وكذلك دراسة Cuentas ومعاونوه(2008) على نبات *Lepidium peruvianum Chacon* اذ قدرت قيم IC_{50} بـ (µg/ml) 94.37 في المستخلص الكحول الايثيلي، و(µg/ml) 99.37 في المستخلص المائي ، و(µg/ml) 99.63 في مستخلص ايثيل الإيثر.[14]

ومن خلال هذا يمكن تفسير هذا التفاوت في قيم كبح الجذور الحرة بكمية الفينولات الموجودة في المستخلصات (كلما زادت كمية الفينولات زادة القدرة المضادة للأكسدة) والتي تعمل على منح الكترونات أو ذرات هيدروجين فتتحول إلى جذور مستقرة بالرنين للتخلص من الجذور الحرة ،كما هو موضح في الشكل التالي:

$$DPPH^{\bullet} + Phe\text{-}OH \longrightarrow DPPH(H) + Phe^{\bullet}$$

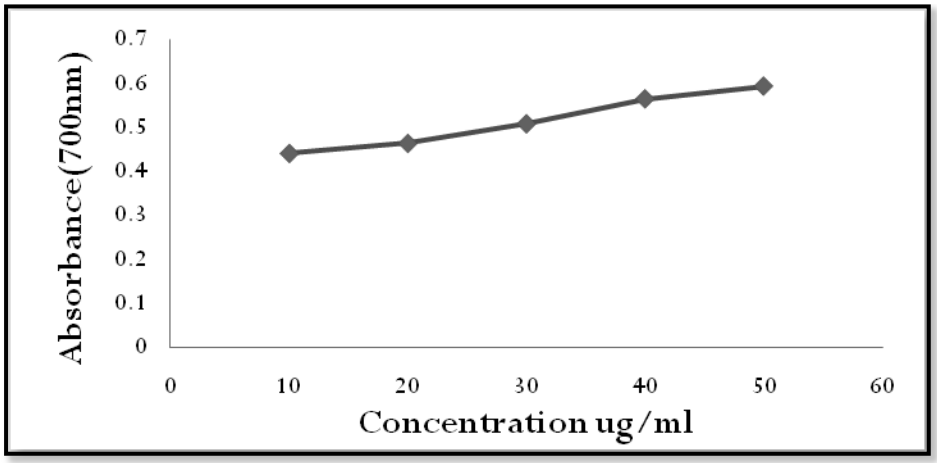
$$DPPH^{\bullet} + Phe^{-} \longrightarrow DPPH + Phe\text{-}O^{\bullet}$$

الشكل(7.V): آلية الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية . [15]

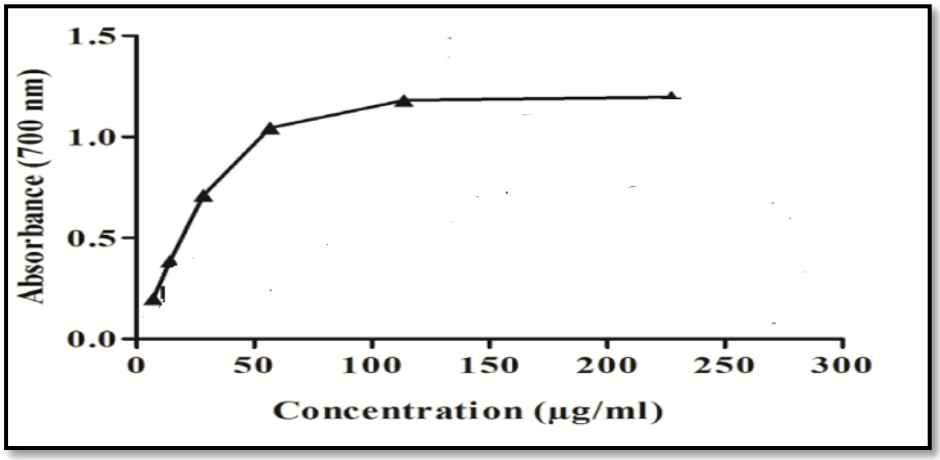
2.4.اختبار القدرة الارجاعية للحديد :

تقاس القدرة الارجاعية للمركبات بتحويل المركب $Fe[(CN_6)]_3$ إلى المعقد $Fe[(CN_6)]_2$ ذو اللون الأزرق المخضر بوجود المركبات المرجعة ،يمتص عند 700 nm ،يتحول لون المركبات المدروسة من الأصفر إلى الأزرق المخضر بدرجات متفاوتة اعتمادا على درجة ارجاع المواد المضادة للأكسدة .

من خلال قيم الامتصاصية المتحصل عليها لمستخلصات بذور نبات *Lepidium sativum* L ، نجد أن جميعها لها القدرة على إرجاع Fe^{+3} إلى Fe^{+2}، ويظهر هذا من التناسب الطردي بين الامتصاصية والتركيز عند طول موجة 700nm ، ترسم منحنيات اختبار القدرة الارجاعية بدلالة التركيز أي $A(nm)=f(C)$ ،كما هو موضح في الشكل التالي : [6]، [7]



الشكل (8.V): منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص الميثانولي .



الشكل(9.V): منحنى القدرة الارجاعية للمستخلص المائي .

بعد رسم منحنيات تغير الامتصاصية بدلالة التركيز تم تعيين القدرة الإرجاعية للمستخلصات المدروسة بحساب قيمة EC_{50} ،دونت النتائج في الجدول **(7.V)**.

الجدول (7.V): يوضح نتائج اختبار القدرة الارجاعية للمستخلصات. [6]، [7]

العينة	المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	VitC
EC_{50} (µg/ml)	26.75	45.3	48.9

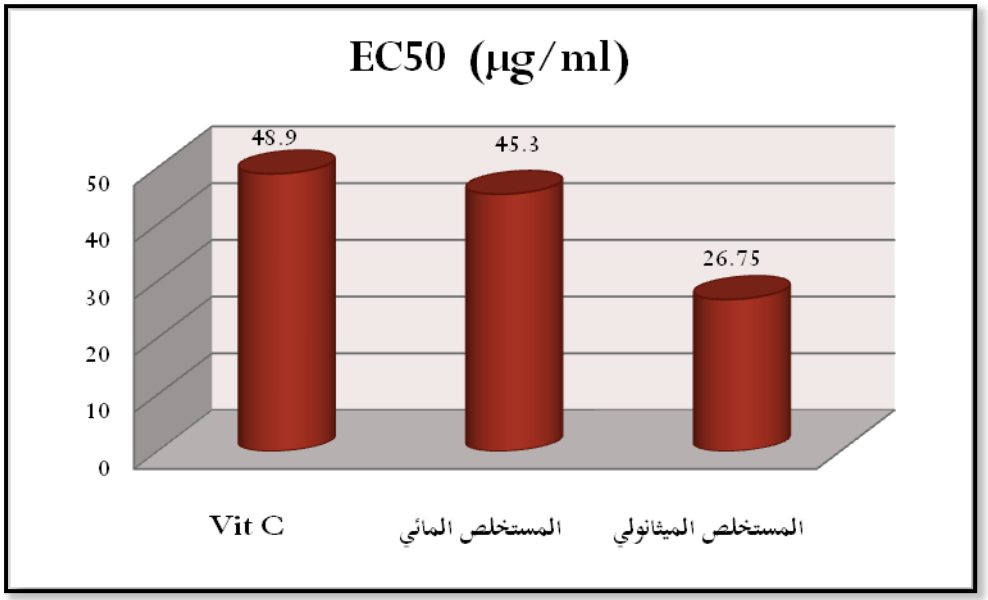
✓ **النتائج والمناقشة :**

من خلال النتائج المدونة في الجدول **(7.V)** لقيم EC_{50} نلاحظ أن للنظامين المدروسين(العضوي والمائي) قدرة على إرجاع شوارد الحديد الثلاثي إلى ثنائي بشكل معتبر ،واعتمادا على قيم EC_{50} التي كلما نقصت زادت القوة الاختزالية للمستخلصات ، وجد أن للمستخلص الميثانولي لبذور نبات *Lepidium Sativum* L يملك أكبر قدرة إرجاعية للحديد الثلاثي والتي بلغت قيمتها(µg/ml) 26.75 مقارنة بالمستخلص المائي الذي سجل قدرة إرجاعية بلغت (µg/ml) 45.3 .

ويمكن ترتيب القدرة الاختزالية للمستخلصين والشاهد الإيجابي كمايلي :

المستخلص الميثانولي> المستخلص المائي > VitC.

و الشكل **(10.V)** يوضح الفرق في قيم EC_{50} بين المستخلصات :



الشكل (10.V):يوضح الفرقEC_{50} قيم للمستخلصات .

وهذه النتائج متوافقة إلى حد كبير مع الدراسة التي قام بها كل من Malara ومعاونوه (2014) [11] بينما متعارضة مع الدراسة التي أقامها كل من Medini ومعاونوه (2018) اذ ذكروا أن قيم EC_{50} بلغت (µg/ml) 500 في المستخلص الميثانولي. [16]

و على ضوء هذا يمكن تفسير هذا الاختلاف الحادث في القدرة الإرجاعية للمستخلصات :

- بكميات الفينولات والفلافونيدات في المستخلصات بالإضافة إلى مجموعة أخرى من المواد الفعالة مثل (التانينات) التي تعمل على ارجاع شوارد الحديديك Fe^{+3} إلى الحديدوز Fe^{+2}.

■ كما ان وجود المجاميع الهيدروكسيلية المرتبطة بالفلافونيدات يوفر خاصية منح الكترونات التي تعمل على تعديل الجذور الناتجة عن اكاسيد الجذور الدسمة $LOO^{\cdot}$ لتتحول إلى مركبات أكثر استقرار المتمثلة في LOOH وتعتبر هذه المجاميع من أهم العوامل المؤثرة على نشاط مضادات الأكسدة. [17]

5.الفاعلية المضادة للبكتيريا:

بعد مراجعة بعض الدراسات السابقة لنشاطية البيولوجية لمستخلصات بذور نبات حب الرشاد وبعض المضادات الحيوية (المضادة لبعض الأنواع البكتيرية الممرضة) تحصلنا على النتائج المرفقة في الأشكال والجداول التالية :

■ **المستخلص الميثانولي :**

أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص الميثانولي بثلاث تراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط معتبرة موضحة في الجدول التالي :

الجدول (8.V):أقطار التثبيت (ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص الميثانولي.[18]

التركيز(مغ/مل) / انواع البكتيريا	قطر التثبيط(mm)		
	2.5(mg/ml)	5(mg/ml)	10(mg/ml)
Escherichiacoli	17	14	13
Staphylococcus aureus	15	11	14
Pseudomonas aruginosa	17	12	10
Klebsiella Pneumoniae	16	15	11

✓ **النتائج :**

من خلال الجدول **(8.V)** تم ملاحظة أن الأقطار التثبيطية للمستخلص الميثانولي لها قيم معتبرة عند معظم السلالات البكتيرية المختبرة :

أ- عند *Escherichiacoli* :

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 2.5 (مغ/ مل) اذ بلغ 17 مم مقارنة بالتركيز 5 (مغ/ مل) حيث بلغ قطر التثبيط عنده 14 مم ،بينما سجل أقل قطر تثبيط للتركيز 10 (مغ/ مل) والذي قدر 13مم.

ب- عند *Staphylococcus aureus*

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 2.5 (ملغ/مل)اذ بلغ 15 مم مقارنة بالتركيز10 (ملغ /مل) الذي بلغ قطر التثبيط عنده 14 مم، بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 5(ملغ /مل) والذي بلغ 11مم.

ج- عند *Pseudomonas aruginosa*:

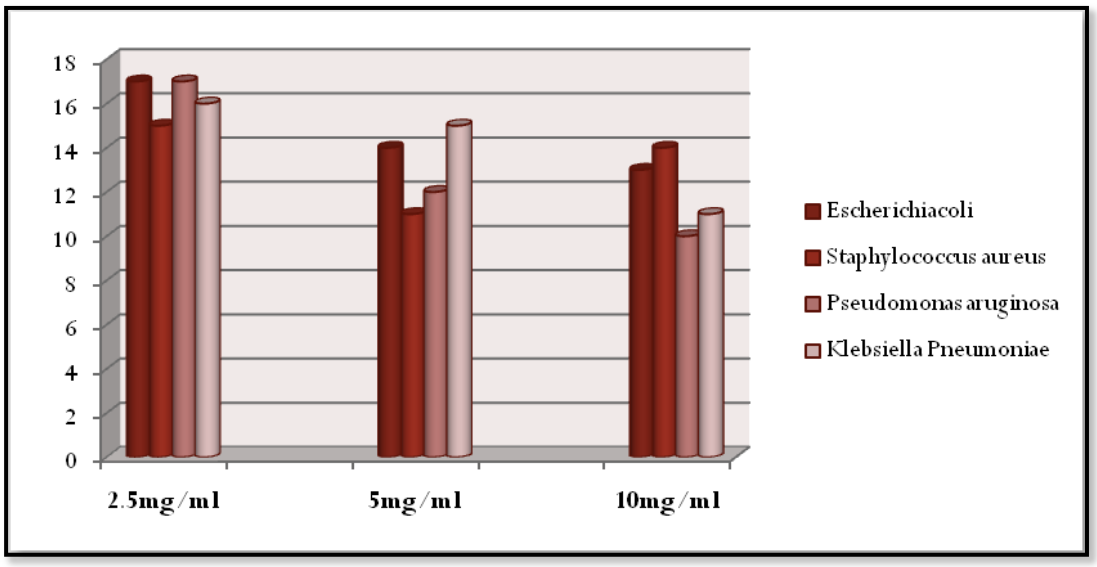
تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عند التركيز 2.5 (ملغ/مل) اذ بلغ 17 مم مقارنة بالتركيز 5 (ملغ /مل) الذي بلغ قطر التثبيط عنده 12 مم ،بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 10 (ملغ /مل) حيث بلغ 10مم.

د- عند *Klebsiella Pneumoniae* :

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عند التركيز 2.5 (ملغ/مل) اذ بلغ 16مم مقارنة بالتركيز 5(ملغ /مل) حيث بلغ قطر التثبيط عنده15 مم ،بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 10 (ملغ /مل) حيث بلغ 11 مم.

ومنه يمكن القول أن E.coli وP.aruginosa كانتا أكثر حساسية للمستخلص الميثانولي عند (التراكيز المنخفضة) من K. Pneumonia وS. aureus .

و **الشكل(11.V)** يوضح الفرق في أقطار التثبيط المستخلص الميثانولي :



الشكل(11.V): أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص الميثانولي .

- **المستخلص المائي :**

أدت معاملة السلالات البكتيرية المختبرة بالمستخلص المائي لثلاث تراكيز مختلفة إلى رسم مناطق تثبيط معتبرة موضحة في الجدول التالي :

الجدول (9.V):أقطار التثبيت (ملم) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة لمستخلص المائي . [18]

التركيز(مغ/مل) / انواع البكتيريا	قطر التثبيط(mm)		
	2.5(mg/ml)	5(mg/ml)	10(mg/ml)
Escherichiacoli	10	12	19
Staphylococcus aureus	-	-	18
Pseudomonas aruginosa	9	10	16
Klebsiella Pneumoniae	11	12	17

✓ **النتائج** :

من خلال الجدول **(9.V)** تم ملاحظة أن الأقطار التثبيطية للمستخلص المائي لها قيم معتبرة عند معظم السلالات البكتيرية المختبرة :

أ- عند *Escherichiacoli*:

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 10 (مغ/ مل) اذ بلغ 19 مم مقارنة بالتركيز 5(مغ/ مل)الذي بلغ قطر التثبيط عنده 12 مم ، بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 2.5 (مغ/ مل) حيث بلغ 10 مم

ب- عند *Staphylococcus aureus* :

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز 10 (ملغ/مل) اذ بلغ18مم ،بينما لم يتم تسجيل أي حساسية لهذه البكتيريا عند التراكيز2.5، 5(ملغ /مل) على التوالي .

ج- عند *Pseudomonas aruginosa*:

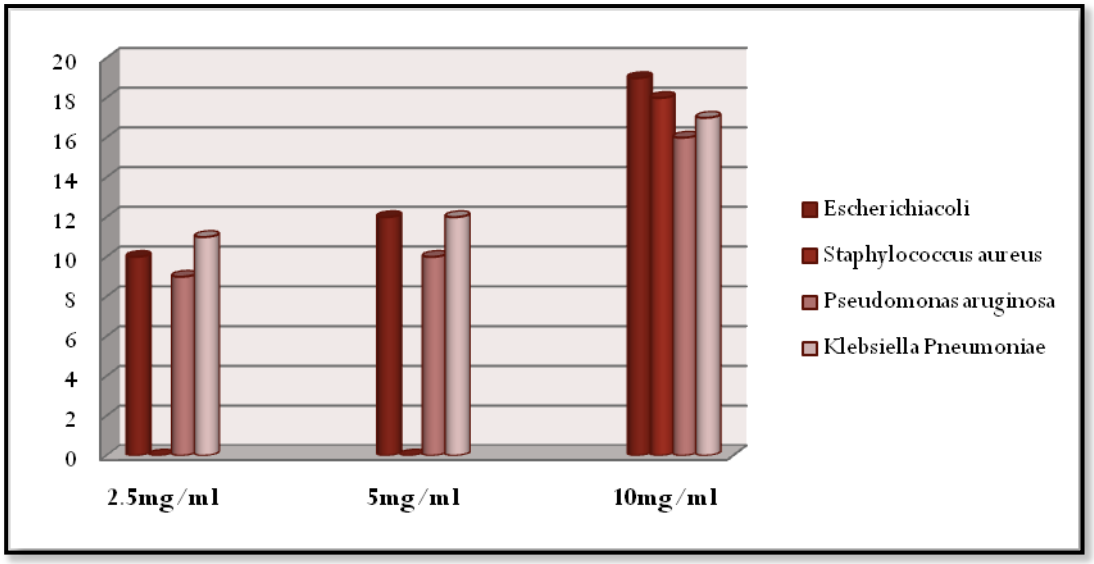
تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عن التركيز 10 (ملغ/مل) اذ بلغ16 مم مقارنة بالتركيز 5 (ملغ /مل)حيث بلغ قطر التثبيط عنده 10 مم ،بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 2.5(ملغ /مل) حيث بلغ 9مم.

د- عند *Klebsiella Pneumoniae* :

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عن التركيز 10 (ملغ/مل) اذ بلغ17 مم مقارنة بالتركيز 5(ملغ /مل)حيث بلغ قطر التثبيط عنده 12 مم، بينما سجل أقل قطر تثبيط عند التركيز 2.5 (ملغ /مل) حيث بلغ 11مم.

ومنه يمكن القول ان E.coli وS.aureus كانتا أكثر حساسية للمستخلص المائي عند (التراكيز العالية) من K. Pneumoniae وP.aruginosa .

و **الشكل(12.V)** يوضح الفرق في أقطار التثبيط المستخلص المائي :



الشكل(12.V): أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص المائي .

✓ **مناقشة النتائج:**

ومن خلال النتائج الملخصة في الجداول والأشكال السابقة تبين أن لمستخلصات بذور نبات حب الرشاد (العضوية والمائية) قدرة تثبيطية عالية اتجاه جل السلالات البكتيرية ومع أغلبية التراكيز المختلفة والمتغيرة ،وهذا ما توافق مع الدراسة المجراة من طرف إيمان ومعاونوها (2015) والتي تشير إلى أن للمستخلصات العضوية لبذور نباتLepidium SativumL نشاطية تثبيطية عالية اتجاه جل السلالات البكتيرية،[19] بينما تعارضت معها ومع نتائج الدراسة التي أجرها Parekh ومعانوه (2007) حيث أثبتوا أن كل الأنواع البكتيرية مقاومة للمستخلص المائي.[20]

وعليه فإنه يمكن تفسير الاختلاف في النشاطية المضادة للبكتيريا إلى :

- الاختلاف في تركيز المركبات الفعالة التي لها فعالية حيوية وبيولوجية ضد الأحياء المجهرية وأهمها المركبات الفينولية والفلافونيدات .
- امتصاص الأغشية الخلوية للبكتيريا للمركبات الفينولية وتفاعلها مع الإنزيمات الفعالة والعناصر المعدنية في الجدران الخلوية.

- كما ان الاختلاف في الحساسية بين السلالات البكتيرية موجبة الغرام وسالبة الغرام يعود للاختلاف في البنية،تركيبة ،طبيعة جدار الخلية البكتيرية بين النوعين ،وفي وجود Lipopolysaccharides التي يحتويها الغشاء الخارجي لبكتيريا سالبة الغرام. [21]

- **المضادات الحيوية :**

في دراسة الفاعلية البيولوجية للمستخلصات تم استعمال مجموعة من المضادات الحيوية كشواهد لمقارنة فاعليتها التثبيطية مع مستخلصات بذور حب الرشاد كما هو موضح في الجدول (8.V):

الجدول (10.V):أقطار تثبيط المضادات الحيوية. [22]

مضاد الحيوي / أنواع البكتيريا	قطر التثبيط(mm)		
	Pénicilline	Gentamicine	Amoxilline
Escherichiacoli	-	26	14
Staphylococcus aureus	-	-	-
Pseudomonas aruginosa	-	39	-
Klebsiella Pneumoniae	-	28	-

✓ **النتائج :**

من خلال الجدول **(10.V)** تم ملاحظة وجود فروقات متفاوتة في تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية :

أ- عند *Escherichiacoli*:

تم ملاحظة أن هذه البكتيريا كانت حساسة اتجاه نوعين من المضادات الحيوية حيث سجلت أعلى قطر تثبيط عند المضاد الحيوي Gentamicine اذ بلغ 26 مم مقارنة بـ Amoxilline الذي بلغ قطر التثبيط عنده 14 مم ، في حين أبدت مقاومة اتجاه المضاد الحيوي Pénicilline.

ب- عند *Staphylococcus aureus* :

تم ملاحظة أن هذه البكتيريا أبدت مقاومة اتجاه جميع المضادات الحيوية .

ج- عند *Pseudomonas aruginosa*:

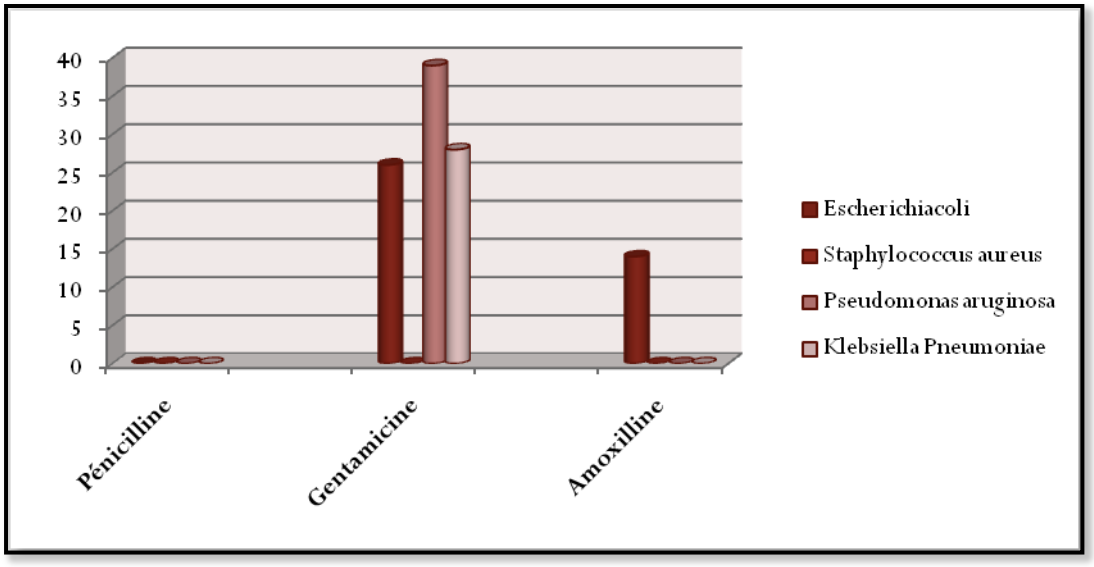
تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عند المضاد الحيوي Gentamicine اذ بلغ 39 مم ،في حين نجدها أبدت مقاومة لكل من Pénicilline وAmoxilline .

د- عند *Klebsiella Pneumoniae*:

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيط سجل عند المضاد الحيوي Gentamicine اذ بلغ 28 مم ،في حين نجدها أبدت مقاومة لكل من Pénicilline وAmoxilline .

وهذا يعود إلى خصائص كل مضاد حيوي وطريقة تأثير السلالات البكتيرية على المستخلصات وقدرتها على المقاومة.

و **الشكل(13.V)** يوضح الفرق في أقطار التثبيط المضادات الحيوية :



الشكل (13.V): أعمدة بيانية توضح أقطار التثبيط للمضادات الحيوية .

وبالمقارنة المزدوجة بين المستخلصات والمضادات الحيوية نجد أن مستخلصات الرشاد قد أثبت فعاليتها العظمى في التثبيط البكتيري اتجاه السلالات البكتيرية المختبرة، لذا أصبح من الممكن أن تحل محل المضادات الحيوية الصناعية.

المراجع بالعربية:

[2]– صحراوي صباح.، مساهمة في تحسين ظروف الاستخلاص المركبات الفينولية من نباتات الطبية لمنطقة الوادي نبات الخبيز ،مذكرة ماستر كيمياء ،جامعة حمه لخضر الوادي .ص: 58 (2018).

[19]– أبو القاسم إ وآخرون .،دراسة التأثير الحيوي للمستخلص المائي والعضوي لنبات حبة البركة ونبات حب الرشاد على بعض أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام ،مجلة جامعة سبها (العلوم البحثية والتطبيقية) ،المجلد الرابع عشر العدد الأول (2015).

المراجع بالأجنبية :

[1] -Djemai, S.,2009-étude de l'activité biologique des extrait du fruit de zizy plus lotus L,Mémoire de magister ,Université El hadj lakhater ,Batna p:91.

[3] -Iqbal Hussain.,Moneeb Ur Rehman Khattak .,Riaz ullah ., Zia Muhammad .,Naeem Khan .,Farhat Ali Khan .,Zahoor Ulah and Sajjad Haider .,2011- Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants of Khyberpakhtunkhwa Pakisatan African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol.5(6).pp.746-750.

[4] - Jency, M.,K.Chairmanb., Antia, R. J. Singhc.,J.Shifa Vanmathid .,Yves ¯ Alain- Bekro ., J.A.Mamyrbekova Békro .,B.B.Boua.,Fézan, H., TRA B12., et Indumathy, A and Aruna, A .,2013- International Journal of pharmacy and Pharmaceutical Science , 5(4),634-637.

[5] -Khoddami, A,Wilkes, M. A., Roberts, T.H .,2013- Techniques for analysis of plant phenolic compounds molecules .18:2328-2375.

[6] -Belkhiri, F., 2018- Activité anti microbienne et antioxydante de deux plantes Médicinales:Salvia Verbenaca et Lepidium Sativum ,thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en science,Université Ferhat Abbas Sétif 1.

[7] -Rizwan, A.,Mohd, M., Firoz, A., Aftab, A., 2015-Phytochemical analysis and evalution of anti-oxidantactivity of methanolic extract of Lepidium Sativum L.Seeds.Der Pharmacia Lettre ,7(7):427-434.

[8] -Ait-Yahia, O ., Perreau, F .,Bouzroura, S. A.,Benmalek, Y., Dob, T., Belkebir, A.,2018-Chemical composition and biological activities of n-butanol of Lepidium Sativum L(Brassicaceae) seed 17(5):891-896.

[9] - Bouchikhi, S.,Mekki, A.,2018- Exploration des activités Biologique de l'éxtrait des grains de Lepidium Sativum Linn .In vitro et In vivo , mémoire de

master en Science Alimentaires ,Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem

[10] -Aissous, A., Bechara, R., 2016- Caractérisation chimique et activités biologique d'éxtrait brut hydroalcoolique des grains de lepidium Sativum. mémoire de mater en Science de la nature et de la vie , Université des Frères Mentouri Constantine.

[11] -Jency, M ., Chairman,K., Singh, A.R.J.,Shifa vanmathi,J., Balasubramani- am, A.,Vasanthi,K .,2014- Antioxidative activity of different parts of the Plant Lepidium Sativum Linn ,3:95-98.

[12] -Kasabe, P. J.,Patil, P. N.,Kamble, D. D.,Dandge, P. B.,2012- Nutritonal ,Elemental analysis and antioxidant activity of Garden Cress (Lepidium SativumL) Seeds.4(3):0975-1491.

[13] -Yadav, Y. C., Srivastava, D. N.,Saini, V.,Singhal, S.,Seth, A. K., kumar, S.,2011- In vitro antioxidant activity of methanolic extraction of Ficus Benghalensis L.Latex .Pharmacologyonline 1:140-148.

[14] -Cuents, R.,DelaCrus, L.,Hernandrz, G.,Mateo, I.,Castaneda, C.,Ibanez, L.,Ramos, E.,2008-Evalution delefecto antioxidante de hojas de Lepidium peruvianum Chacon ,MACA,8(1).

[15] -Kim, J., Rodrigues, M. E., Guo, M., Kenney, M. E., Oleinick, N. L., and V E. Anderson,Oxidative modification of cytochrome c by singlet oxygen Free radical biology and medicine ,200:(9) 44.8p.1700-1711.

[16] -Medini, F., Ben hamid, M., Atwi, A., Ksour, R.,2018-Effect of eco-extraction on poly phenols contents and antioxidant activity of Lepidium sativum L seeds .54(4) :2286-5314.

[17] -Zhang, J., Yuan, K., Zhou,W.-l, Zhou,J., and Yang,P., Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of Mimosa pudica Linn. from southern China. Pharmacognosy magazine, 2011. 7(25): p. 35-39.

[18] -Shama, I. Y .Adam ., Shayma, A. M .Salih and Warda, S. Abdelgadir .,2011- In Vitro antimicrobial assessment of Lepidium Sativum L .Seeds extracts,3(6): 261-266.

[20] -Parekh, J., Chanda, S.,2007- In vitro screening of anti bacterialactivity of aqueous and alcoholic extracts of various Indian plant species against selected pathogens from Enterobacteriaceae .African journal of microbiology research .1(6):0902-099.

[21] -Dhaouadi, K.,Raboudi, F.,Estevan,C.,Barrajon, E.,Vilanova, E.,Hamdaoui, M.and Fattouch,S.,2010- Cell Viability Effects and antioxidant and antimicrobi- al and antimicrobial activities of Tunisian Date Syrup (Rub EL Tamer) Poly phenolic extracts .J.Agric.Food Chem .59:402-406.

[22] -Bouhamed, R ., Zidan, O., 2018- Contribution a l'étude phytochimique d- l'éxtrait brut de lepidium Sativum (hab erchad) et leur effet sur certains maladie- s,mémoire de master académique en Science biologique ,Université Echahid HammaLakhdar,Eloued.

الخـــاتمـــــة

الخاتمـــــة :

بتعاقب الأجيال تتعاقب الأبحاث في شتى المجالات وكمواصلة للأبحاث السابقة واكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحويها بذور نبات حب الرشاد قمنا بدراسة مقارنيه تطبيقية تعتمد على دراسة الفاعلية الكيميائية والبيولوجية من خلال الفاعلية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا لمستخلصات بذور النبات .

الحصر الكيميائي للمركبات الفعالة وخاصة لنواتج الأيض الثانوي والفلافونيدي على الخمس مستخلصات المحضرة والمحتوية على نسب مختلفة من(الايثانول والماء) أظهرت ايجابيتها من خلال احتوائها على الفينولات والفلافونيدات.كما أظهرت عملية الإستخلاص للنبات باستعمال طريقة النقع على البارد غنى بذور الرشاد بالتراكيب النشطة اذ سجل المستخلص A(70%ماء+ 30%ايثانول) أعلى مردود استخلاص مقارنة بباقية المستخلصات والذي قدر بـ 27.34 %.

وبتقدير المحتوى الكلي للفينولات بطريقةFolin –Ciocalteu وتقدير المحتوى الكلي للفلافونيدات بطريقة $AlCl_3$ و باستعمال مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية وجد أن المستخلص A ذو النظام العضوي (70%ماء+ 30%ايثانول)يحتوي على أكبر كمية من الفينولات والفلافونيدات مقارنة بباقية المستخلصات والمقدرة قيمها على الترتيب بـ 82.26 mg EAG/g ، 26.64mg EQ/g .

وللإثراء الفعلي للدراسة ولتوضيح أهمية وفاعلية بذور نبات حب الرشاد في القضاء ومواجهة الجذور الحرة وفاعليتها التثبيطية كمضادات حيوية للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة تمت مراجعة بعض الدراسات السابقة المتناولة في هذا المجال من خلال :

دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصين الميثانولي والمائي بطريقتين كميائيتن لمعرفة الآليات المستخدمة في هذا التأثير ،في طريقة DPPH أظهر المستخلص الميثانولي بامتلاكه أكبر قدرة لكبح الجذر الحر مقارنة بالمستخلص المائي والتي قدرت بـ (µg/ml)62.وكشفت عملية ارجاع الحديد التي تعكس خاصية إرجاع الالكترونات أن المستخلص في النظام الميثانولي يعطي أكبر قدرة إرجاعية من نظيره المائي والمركب القياسي Vit C والتي قدرت بـ(µg/ml) 26.75.وبالمقارنة الإجمالية لهذه النتائج مع دراسات أخرى تبين ان لبذور *Lepidium Sativum L*قدرة معتبرة في الكبح الجذري.

ودراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لهذين النظاميين ، وذلك باختبار أربع سلالات بكتيرية مزروعة في وسط جيلوزي(MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص ،حيث كانت النتائج جد إيجابية خاصة مع المستخلص المائي اذ كانت له نشاطية بيولوجية عالية مع جل السلالات البكتيرية ، سجل أعلى قطر تثبيط له 19

مم عند التركيز 10 mg/ml بالنسبة لسلالة البكتيرية *Escherichiacoli*،اما بخصوص المستخلص الميثانولي فقد بلغ أعلى قطر تثبيط17 مم عند التركيز 2.5 mg/ml بالنسبة للسلالتين *Escherichiacoli* ، *Klebsiella Pneumoniae*.

وبالمقارنة الإجمالية لهذه الدراسة مع دراسات أخرى في نفس السياق تبين ان لمستخلصات الرشاد فاعلية تثبيطية معتبرة اتجاه السلالات البكتيرية .

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها مع مستخلصات البذور الرشاد ،يمكن تثمين خصائص النبات التي تؤهله ليكون ضمن النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي.

و كنظرة مستقبلية فإننا نأمل أن دراسة حب الرشاد لا تنتهي عند هذا الحد بل هذا العمل يعتبر كخطوة تمهيدية لفتح الأفاق وأعمال مستقبلية اتجاه الباحثين لإكمال والتعمق في هذا الموضوع من خلال إجراء دراسات تحليلية كمية ونوعية للمركبات الفعالة من خلال التعرف على الصيغ الكيميائية لمركبات النبات المسؤولة عن هذه الفاعلية.

الملاحق

الملحق1: الأجهزة المستعملة

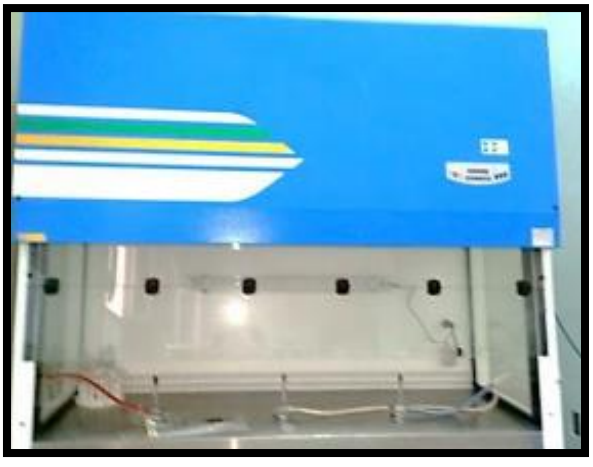
جهاز التبخيـــــــــــر

جهـــــاز UV-Visible

ميـــــــزان حساس

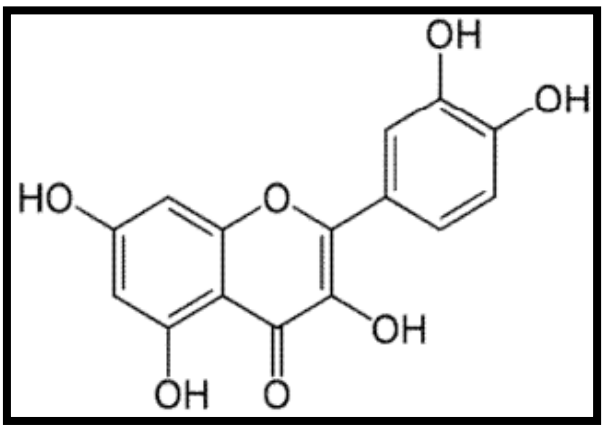
جهاز الترشيح تحت الفراغ

الحـــــاضنة

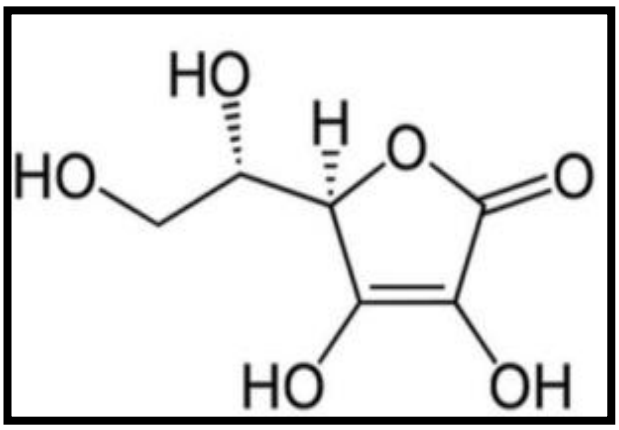


شاطفة الأبخرة

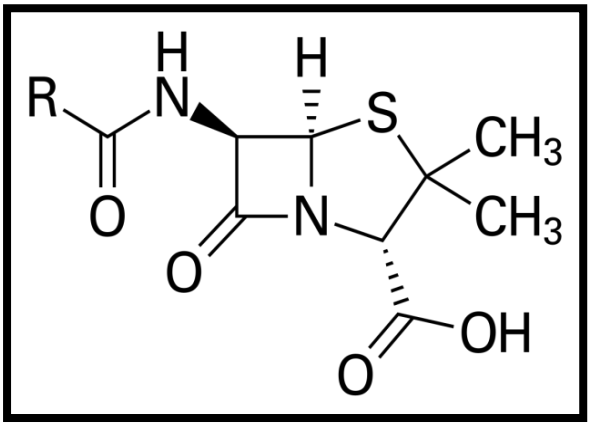
الملحق 2: الصيغ الكيميائية



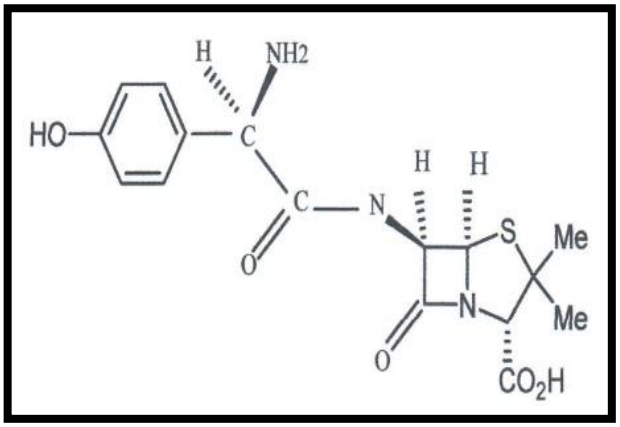
بنية الكريستين



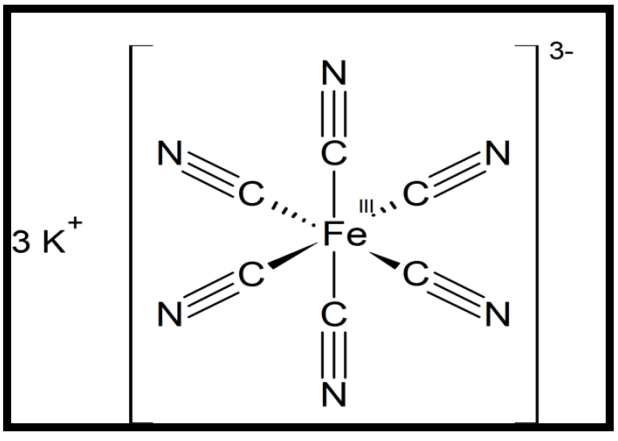
بنية Vitamine C



بنية Pénicilline



بنية Amoxilline



بنية $K_3[Fe(CN)_6]$

الملخص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة كيميائية للمستخلصات العضوية لبذور نبات *Lepidium sativum*L المتحصل عليها عن طريق النقع في مزيج من (الماء والايثانول) بنسب حجمية مختلفة ، و دراسة مقارنة لمجموعة دراسات سابقة التي تثري أهمية وفاعلية مستخلصات بذور نبات حب الرشاد في القضاء ومواجهة الجذور الحرة وفعاليتها التثبيطية كمضادات حيوية طبيعية للعديد من السلالات البكتيرية الممرضة .

ولتحقيق هذا قمنا كمرحلة أولية بحصر كيميائي للمواد الفعالة بطرق لونية و بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، و توصلنا من خلال هذه الدراسة إلى أن بذور نبات حب الرشاد غنية بمواد الأيض الثانوي والمتمثلة في (عديدات الفينول والفلافونيدات) .وبعد الاستناد إلى بعض المراجع السابقة تم تحديد الفاعلية المضادة للأكسدة لنظامين كيميائيتن (عضوي (ميثانول) ومائي) بطريقتين كيميائيتين DPPH و RP، وتبين من خلال ذلك أن للمستخلص الميثانولي فاعلية أكبر على مكافحة مضادات الاكسدة من المستخلص المائي في كلا الاختبارين.

وكخطوة أخيرة وبعد تقييم اختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا لهذين المستخلصين اتجاه أربع سلالات بكتيرية مزروعة في وسط جيلوزي (MH)، وهذا بالاعتماد على طريقة الانتشار بالأقراص ،لوحظ أن النتائج كانت جد إيجابية خاصة مع المستخلص المائي ،اذ سجل أعلى قطر تثبيط له 19 مم عند التركيز 10 mg/ml بالنسبة لسلالة البكتيرية *Escherichiacoli*.

وبالمقارنة الإجمالية والشاملة لهذه الدراسات مع مجموعة دراسات أخرى في نفس السياق تبين أن لبذورL *Lepidium sativum* قدرة معتبرة على التثبيط الجذري والبكتيري لمختلف الأنظمة العضوية .

الكلمات المفتاحية:L *Lepidium sativum* ، السلالات البكتيرية ،الأيض الثانوي،DPPH، RP .

Abstract:

This work aims at a chemical study of the organic extracts of *Lepidium sativumL* seeds obtained by soaking in a mixture of (water and ethanol) with different volume ratios, and a comparative study of a group of previous studies that en rich the importance and effectiveness of extracts of the seeds of the cress seed plant in eliminating and confronting free radicals and their effectiveness Inhibitory as a natural anti biotic for many pathogenic bacterial strains.

To achieve this, we did, as a first stage, a chemical restriction of the active substances by color methods and by means of ultraviolet and visual rays spectroscopy, and through this study we concluded that the seeds of the cress plant are rich in secondary metabolites represented by (polyphenols and flavonoids). After based on some previous references the antioxidant efficacy of two chemical systems (organic (methanol) and aqueous) was determined by two chemical methods DPPH and RP, and through that it was found that the methanolic extract has a greater effectiveness in controlling antioxidants than the aqueous extract in both tests.

As a final step, and after evaluating the antibacterial efficacy test of these two extracts against four bacterial strains cultivated in Gelozoic medium (MH), and this depending on the method of spreading by tablets, it was noted that the results were very positive especially with the aqueous extract, as the highest inhibition diameter was recorded at 19 mm at concentration 10 mg / ml for the *Escherichiacoli* bacterial strain.

By a comprehensive and comprehensive comparison of these studies with a group of other studies in the same context, it was found that *Lepidium sativum L* seeds have a significant ability to inhibit the radical and bacterial action of various organic systems.

Key words: *Lepidium sativum L* ,bacterial strains, secondary metabolism, DPPH, RP.