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

رقم الترتيب:.....

الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة
ماستر أكاديمي في الكيمياء
تخصص: كيمياء عضوية وتحليلية
إعداد الطالبة: صفاء تريعة

تحت عنوان:

دراسة التركيب الكيميائي (فينولات ، قلويدات) لثمار نبات الحنظل ونشاطه المضاد للبكتيريا

نوقشت يوم: ..../..../.....

أمام اللجنة المكونة من:

د.تجاني سكينة	أستاذة محاضرة(ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	رئيسا
د.مازري راضية	أستاذة محاضرة(ب)	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	ممتحنا
زمالي جعفر	أستاذ مساعد (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	ممتحنا
تامة نور الدين	أستاذ مساعد (أ)	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	مؤطرا ومقررا

السنة الجامعية : 2017/2016

الاهداء

نحن لا نكتب اهداء سوى للغرباء أما الذين نحبهم فهم جزء من العمل وليسوا بحاجة الى توقيع في الصفحة الاولى.

SaFa

الشكر والعرفان

"وَإِذْ تَأَذَّنَ رَبُّكُمْ لَئِن شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ وَلَئِن كَفَرْتُمْ إِنَّ عَذَابِي لَشَدِيدٌ "

الشكر لله عز وجل الذي أنار لي الدرب، وفتح لي أبواب العلم وأمدني بالصبر والإرادة .

الشكر لحبيبي رسول الله صل الله عليه وسلم خاتم الأنبياء والرسل الذي بعث فينا ليخرجنا من ظلمات الجهل الى نور العلم .

الملخص

ان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تثمين الموارد الطبيعية ودورها كمضادات حيوية بديلة ومن هذا المنطلق قمنا باختبار الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية والأملاح القلويدية الموجودة في ثمار نبات الحنظل .حيث قمنا باستخلاص المركبات الفينولية بواسطة الايثانول أما للحصول على الاملاح القلويدية فقد قمنا بالاستخلاص بواسطة الكلوروفورم . تم التقدير الكمي للمركبات الفيينولية بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية وتلاها تقدير نوعي بواسطة جهاز HPLC .

وكخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية البيولوجية لهذه المستخلصات على اربع سلالات بكتيرية ممرضة وكانت النتائج ايجابية خاصة المستخلصات المائية للأملاح القلويدية .

الكلمات المفتاحية : ثمار نبات الحنظل – المركبات الفينولية – الاملاح القلويدية – الفعالية البيولوجية

Résumé

L'objective essentiel de cette étude est de montrer l'intérêt des substance naturelles comme des anti biotique à partir de ce principe, nous avons testé l'efficacité biologique pour des composés phénoliques et des sels alcaloïdes qui se trouvent dans les fruits du *Citrullus colocynthis* , l'extraction est fait par l'éthanol, et concernant les sels alcaloïdes l'extraction est fait le chloroforme, La quantification des composés phénolique est fait grâce à l'appareil U.V , et la qualification par l'appareil HPLC .

En fin , dans la dernière étape , on a évalué l'efficacité biologique de ces extraits sur quatre espèces bactérienne pathogènes et les résultats était positifs , surtout les extrants aquatiques de sels alcaloïdes

Les Mots-clés: les fruit du *Citrullus colocynthis*, Les composés phénoliques, des sels alcaloïdes , l'efficacité biologique.

الفهارس

الفـــــهرس

شكر وعرفان

ملخص

Résumé

فهرس الموضوعات

فهرس الأشكال

فهرس الجداول

فهرس الصور

فهرس المنحنيات

قائمة الرموز

المقدمة

المراجع

الجانب النظري

الفصل الأول

عموميات حول نبات الحنظل

I-1- التصنيف النباتي لنبات الحنظل 03

I-2-الأسماء الشائعة لنبات الحنظل 03

I-3-الوصف النباتي لنبات الحنظل 04

I-3-1-الورقة 04

I-3-2- الزهرة..... 05

I-3-3-الثمرة 05

I-3-4- البذور 06

I-3-5-الجذور والسيقان 06

I-4-التوزيع الجغرافي لنبات الحنظل 07

I-5-القيمة الغذائية لنبات الحنظل 07

I-6- التركيب الكيميائي لنبات االحنظل 08

I-7-الاستعمالات الشعبية الطبية لنبات الحنظل 09

I-8- الفعالية العلاجية لنبات الحنظل 11
I-9-الاثار الجانبية والسلبية لنبات الحنظل 11
المراجع 14

الفصل الثاني

المركبات القلويدية والفينولية

II المنتجات الطبيعية 18
II–2–المركبات القلويدية 19
II-1-1–نبذة تاريخية 19
II–1–2–تعريف..... 19
II–1–3–التسمية 20
II-1-4–طرق التعرف على القلويدات..... 21
II–1–5–تصنيف القلويدات 21
II–1–5–1– القلويدات الحقيقية..... 21
II–1–5–2–القلويدات الأولية 22
II–1–5–3– القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) 22
II –1–6–الخواص العامة للقلويدات..... 22
II–1–7–الدور الفسيولوجي للقلويدات..... 23
II–1–8–فوائد القلويدات..... 24
II-1-8–1– فوائد القلويدات للنبات..... 24
II-1-8–2– فوائد القلويدات للإنسان 24
II–2–المركبات الفينولية 24
II-2-1–تعريف 24
II-2-2– الاصطناع الحيوي للمركبات الفينولية 25
II–2–2–1–مسلك حمض الشيكميك..... 25
II–2–2–2– مسلك عديد الاسيتات 25
II-2-3– مصدر المركبات الفينولية 26
II–2–4– أقسامها 27
II–2–4–1– عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار 27
II-2-4–1–1– المركبات الفينولية من الشكل C_6، $C_6–C_1$، $C_6–C_2$ 27

II-2-1-4-2- المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_3،C_6-C_4 28
II-2-1-4-2-3- المركبات الفينولية من الشكل : $C_6-C_1-C_6$،$C_6-C_2-C_6$ 28
II-2-4-2- المركبات الفينولية النباتية واسعة الانتشار..... 28
II-2-4-2-1- الاحماض الفينولية 28
II-2-4-2-1-1-أحماض بنزويك C_6-C_1 29
II-2-4-2-1-2- أحماض سيناميك C_6-C_3 29
II-2-4-2-2- الكومارينات (C_6-C_3) 30
II-2-4-2-2-1-تقسيم الكومارينات 31
II-2-4-2-2-2-الفعالية البيولوجية للكومارينات 33
II-2-4-2-3- الفلافونيدات 33
II-2-4-2-3-1-تصنيف الفلافونويدات..... 34
II-2-4-2-3-2- النشاطية الحيوية للفلافونيدات 35
II-2-4-2-3-عائلة المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات 36
II-2-4-3-1-التانينات $(C_6-C_3-C_6)_n$ 36
II-2-4-3-1-1-تقسيم التاتينات 36
II-2-4-3-2- اللقينين $(C_6-C_3)_n$..... 37
II-2-5- أهمية الفينولات 37
المراجع 40

الفصل الثالث

عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية

III-1-البكتيريا 46
III-1-1-مفهوم البكتيريا 46
III-1-2- خصائص البكتيريا..... 47
III-1-3- تصنيف البكتيريا 48
III-1-3-1-من حيث توزيع أسواطها 48
III-1-3-2-من حيث الشكل 48
III-1-3-3-من حيث الوسط التي تعيش فيه 48
III-1-3-4-من حيث التغذية 48
III-1-3-5-من حيث طريقة التلوين (غرام) 49

III-1-3-6-من حيث الأثر على الكائنات الحية 49
III-2-المضادت الحيوية 53
III-2-1-تعريف المضادات الحيوية 53
III-2-2-أنواع المضادات الحيوية 53
III-2-2-1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية 53
III-2-2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية..... 53
III-2-3-تأثير المضادات الحيوية 53
III-2-3-1-العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا 53
III-2-3-2-العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا 54
III-2-3-3-العمل على تثبيط نمو DNA..... 54
III-2-4-طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية 54
III-2-4-1-تمهيد 54
III-2-4-2- خواص الجذمة البكتيرية 55
III-2-5-كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي 55
III-2-5-1-المبدأ..... 55
المراجع 85

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

IV-1- جمع عينات النبتة المدروسة..... 63
IV–1–1– وقت الجمع المناسب من فصول السنة 63
IV–1–2– التجفيف..... 63
IV –1–3–الحفظ 63
IV –2–الاجهزة والمواد المستعملة 64
IV –2–1–المحاليل المستعملة..... 64
IV –2–1–1–الكواشف..... 64
IV –2–1–2–المذيبات العضوية 64
IV –2–1–3–الكحولات..... 64
IV –2–2–الاجهزة المستعملة..... 65
IV –3– الكشف عن مواد الايض الثانوي في ثمار نبات الحنظل..... 65

IV-3-1-الكشف عن أملاح القلويدات 65
IV-3-2-الكشف عن الفينولات..... 66
IV-3-3-الكشف عن الفلافونيدات..... 66
IV-4-استخلاص المركبات الفينولية..... 66
IV-4-1-تعريف الاستخلاص..... 66
IV-4-1-1-استخلاص سائل – سائل 66
IV-4-1-2-استخلاص صلب – سائل..... 67
IV-4-2- طريقة استخلاص المركبات الفينولية من ثمار نبات الحنظل 67
IV-5- استخلاص المركبات القلويدية 70
IV-6-التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية 72
IV-6-1-مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية..... 72
IV-6-1-1-مبدأ العمل 72
IV-6-1-2-مكونات الجهاز..... 73
IV-6-2-التقدير الكمي للمركبات الفينولية 74
IV-6-2-1-رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك..... 74
IV-6-2-2-التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات..... 75
IV-6-3-التقدير الكمي للفلافونويدات 76
IV-6-3-1-رسم المنحنى القياسي لحمض الروتين..... 76
IV-6-3-2-التقدير الكمي للفلافونيدات في المستخلصات 77
IV-7-التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC)... 78
IV-7-1-الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC)..... 78
IV-7-1-1-مدخل..... 78
IV-7-1-2-المبدأ..... 78
IV-7-1-3-مكونات الجهاز..... 79
IV-7-2-التحليل الكيفي..... 79
IV-7-2-1:شروط التجربة..... 80
IV-8-الدراسة البيولوجية..... 81
IV-8-1-جمع السلالات البكتيرية المستهدفة..... 81
IV-8-2-تحضير محاليل المستخلصات المائية والميثانولية..... 81

IV-8-3-تحضير الأقراص..... 81
IV-8-4-تحضير وسط الزرع 81
IV-8-5-تحضير المعلق البكتيري..... 82
IV-8-6-وضع الاقراص المشبعة بتراكيز المستخلصات..... 82
IV-8-7-أنواع البكتيريا المدروسة..... 82
المراجع 84

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

V-1-الكشف عن مواد الايض الثانوي في ثمار نبات الحنظل..... 88
V -2- مردود الاستخلاص..... 89
V-3- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعةفوق البنفسجية –المرئية .. 91
V-4: التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة البنفسجية –المرئية 92
V-5:التقدير الكمي للفينولات بواسطة (HPLC)..... 93
V-6: الفعالية البيولوجية..... 96
خاتمة..... 106
الملاحق..... 109

فهرس الأشكال

الجزء النظري		
الفصل الأول : عموميات حول نبات الحنظل		
الشكلI-1	مختلف اجزاء نبات الحنظل	07
الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية		
الشكل II-1	مثال عن القلويدات الحقيقية	21
الشكل II-2	مثال عن القلويدات الأولية	22
الشكل II-3	مثال عن القلويدات الكاذبة.....	22
الشكل II-4	نموذج لمركب فينولي بسيط	25
الشكل II-5	مخطط مبسط يوضح التركيب الحيوي للمغذيات النباتية الفينولية.	26
الشكل II-6	أمثلة عن مركبات فينولية من الشكل C_6،C_6-C_1،C_6-C_2.....	27
الشكل II-7	أمثلة عن مركبات فينولية من الشكل C_6-C_3،C_6-C_4.....	28
الشكل II-8	أمثلة عن مركبات فينولية من الشكل $C_6-C_1-C_6$،$C_6-C_2-C_6$.....	28
الشكل II-9	أمثلة عن أحماض بنزويك C_6-C_1.....	29
الشكل II-10	أمثلة عن أحماض C_6-C_3.....	30
الشكل II-11	الهيكل الأساسي لـ Coumarine.....	30
الشكل II-12	بنية بعض المركبات الكومارينية البسيطة	31
الشكل II-13	بنية بعض مركبات فيرانوكومارين الزاوية	32
الشكل II-14	بنية بعض مركبات فيرانوكومارين الخطية	32
الشكل II-15	أمثلة عن البيرانوكومارين الخطية والزاوية	32
الشكل II-16	الشكل العام للفلافونيدات وأهم المواقع المتداخلة في تأثيراتها الحيوية.	33
الشكل II-17	أمثلة عن بعض أصناف الفلافونيدات	35
الشكل II-18	بنية التانينات القابلة للتحلل المائي وتانينات مكثفة.....	36
الشكل II-19	بنية اللقينين	19
الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا		
الشكل III-1	رسم تخطيطي لخلية بكتيرية	47
الشكل III-2	بكتيريا Escheria coli.....	50
الشكل III-3	بكتيريا Staphylococcus aureus.....	51
الشكل III-4	بكتيريا Vibrio vulnificus.....	51

الشكل III-5	بكتيريا Micrococcus luteus.....	52
الشكل III-6	قطر منطقة التثبيط للبكتيريا.....	55
	الجزء العملي	
	الفصل الرابع : الطرق والوسائل	
الشكل IV-1	مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص الفينولات.....	69
الشكل IV-2	مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص الأملاح القلويدية.....	71
الشكل IV-3	مكونات جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية	73
الشكل IV-4	مكونات جهاز (HPLC).....	79
	الفصل الخامس : النتائج والمناقشة	
الشكل V-1	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	90
الشكل V-2	مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للاملاح القلويدية.....	91
الشكل V-3	كمية الفينولات الكلية في المستخلصين A و B.....	92
الشكل V-4	مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافونيدات.....	93
الشكل V-5	كروماتوغرام العينة A.....	93
الشكل V-6	كروماتوغرام العينة B	94
الشكل V-7	مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين	96
الشكل V-8	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Escherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة	98
الشكل V-9	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Staphylococcus aureus الناتجة عن التراكيز المختلفة	100
الشكل V-10	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Micrococcaceae luteus الناتجة عن التراكيز المختلفة	102
الشكل V-11	مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Vibrio vulnificus الناتجة عن التراكيز المختلفة	104

فهرس الجداول

الجزء النظري		
الفصل الأول : عموميات حول نبات الحنظل		
الجدول I-1	تصنيف نبات الحنظل.....	01
الجدول I-2	القيمة الغذائية لبذور نبات الحنظل.....	08
الجدول I-3	التركيب الكيميائي لمختلف أجزاء نبات الحنظل.....	09
الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية		
الجدول II-1	أمثلة عن الكومارينات.....	31
الجدول II-2	بعض المركبات الفينولية المستعمله في الطب والصيدلة.....	38
الجزء العملي		
الفصل الرابع : الطرق والوسائل		
الجدول IV-1	قيم الامتصاصية لحمض الغاليك.....	74
الجدول IV-2	قيم الامتصاصية لحمض الروتين.....	76
الجدول IV-3	زمن المكوث للفينولات المرجعية	80
الجدول IV-4	الشروط التجريبية لجهاز الـ (HPLC) لفصل المركبات الفينولية.....	80
الجدول IV-5	تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن.....	81
الفصل الخامس : النتائج والمناقشة		
الجدول V-1	مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية	90
الجدول V-2	مردود الاستخلاص للأملاح القلويدية	90
الجدول V-3	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	91
الجدول V-4	كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.....	91
الجدول V-5	قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة	92
الجدول V-6	كمية الفلافونيدات في المستخلصين.....	92
الجدول V-7	المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين.....	95
الجدول V-8	التراكيز المحضرة لدراسة الفعلية البيولوجية.....	96
الجدول V-9	أقطار تثبيط Escherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة	97
الجدول V-10	أقطار تثبيط Staphylococcus الناتجة عن التراكيز المختلفة....	99
الجدول V-11	أقطار تثبيط Micrococcus luteus الناتجة عن التراكيز المختلفة	101

الجدولV-12 أقطار تثبيطVibrio vulnificus الناتجة عن التراكيز المختلفة..... 103

فهرس الصور

الجزء النظري		
الفصل الأول: عموميات حول نبات الحنظل		
الصورة I-1	صورة فوتوغرافية لنبتة الحنظل.....	04
الصورة I-2	صورة فوتوغرافية لأوراق نبات الحنظل.....	04
الصورة I-3	صورة فوتوغرافية لزهرة نبات الحنظل.....	05
الصورة I-4	صورة فوتوغرافية لثمار نبات الحنظل.....	05
الصورة I-5	بذور نبات الحنظل.....	06
الصورة I-6	صورة فوتوغرافية لجذور نبات الحنظل.....	06
الجزء العملي		
الفصل الرابع : الطرق والوسائل		
الصورة IV-1	مراحل استخلاص المركبات الفينولية.....	68
الصورة IV-2	مراحل استخلاص الأملاح القلويدية.....	70
الصورة IV-3	المحاليل بعد اضافة كاشف الفولين.....	75
الصورة IV-4	المحاليل بعد اضافة ثلاثي كلوريد الالمنيوم.....	77
الفصل الخامس : النتائج والمناقشة		
الصورة V-1	الكشف عن أملاح القلويدات.....	88
الصورة V-2	الكشف عن الفينولات.....	88
الصورة V-3	الكشف عن الفلافونيدات.....	89
الصورة V-4	الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Escherichia coli	97
الصورة V-5	الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Staphylococcus .	99
الصورة V-6	الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Micrococcus luteus	101
الصورة V-7	الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Vibrio vulnificus	103

فهرس المنحنيات

الجزء العملي

الفصل الرابع : الطرق والوسائل

المنحنى V-1 المنحنى القياسي لحمض الغاليك..... 75
المنحنى V-2 المنحنى القياسي لحمض الروتين..... 77

قائمة الرموز

الرمز	المعنى
A.G	Acide gallique
ACN	Acétonitrile
$AlCl_3$	Chlorure d'aluminium
EtOH	Ethanol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MeOH	Méthanol
$NaCO_3$	Carbonate de sodium
UV-Visible	Ultra Violet-Visible

مقدمة عامة

مقدمـــــة عامة

يعد طب الاعشاب فرع من فروع الطب المكمل أو البديل ، وذلك لأن النباتات الطبية تؤدي دورا مهما في حماية صحة الانسان وتحسين مسار حياته، ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية اذ تحتوي على عدد كبير جدا من المكونات الفعالة طبيا التي تعكس الامكانيات العلاجية الكبيرة لها ، [1] وهي تمتاز عن الادوية الكيميائية بفعاليتها العلاجية العالية وكذلك قلة تأثيراتها الجانبية ، وفي كل عام تكتشف الهيئات الدولية المعنية بالصحة والدواء ، أن دواء كيميائيا متداولا لعدة سنوات أصبح يمثل خطرا على متناوليه تبادر بإبلاغ الدول المختلفة للتوقف عن استعماله ، فالنباتات الطبية تحتل مكانة مميزة في الانتاج الاقتصادي وتخص في الوقت االراهن بعناية بالغة ، اذ تعتبر أهم االمواد الاستراتيجية في صناعة الادوية أو بالأحرى النواة البادئة في الاصطناع الكيميائي للأدوية .[2].

ويعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الاقل تقلل من أعراض الاصابة بهذا المرض [3] ، وبالتالي امكانية استخدامها في علاج بعض الامراض الناتجة عن الاصابات البكتيرية المختلفة .

وبلادنا الجزائر كغيرها من البلدان ، تملك ثروة هائلة من النباتات الطبية تنتشر في مساحات شاسعة ضمن بيئات مناخية مختلفة ، ما يمنحها تنوعا نباتيا كبيرا [4]

لذلك فكرنا في اطار هذا البحث الوقوف بحق على الاجزاء والجهات التي ترجع اليها الفعالية سواء كانت علاجية أو غير ذلك .

من خلال اشكالية يدور حولها مجهودنا العلمي في هذه الدراسة نعبر عنها بطرح التساؤل التالي :

هل دراسة المستخلصات الميثانولية الفينولية والمستخلصات المائية القلويدية لثمار نبات الحنظل يكشف عن مواد فعالة يجعل من هذه النبتة ذات أهمية حيوية طبيا ؟

عبر تقسيم الدراسة الى :

❖ الجزء النظري ويضم :

الفصل الاول : عموميات حول نبات الحنظل

الفصل الثاني : المركبات القلويدية والفينولية

الفصل الثالث : عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية

❖ الجزء العملي ويضم :

الفصل الرابع :الطرق والوسائل

الفصل الخامس: النتائج والمناقشة

المراجع

المراجع باللغة العربية

[3] م.هيكل ،ع.عمر ،"النباتات الطبية والعطرية (كيمياؤها،انتاجها،فوائدها)،دار منشأة المعارف، الاسكندرية ،مصر،ص510(1993).

المراجع باللغة الاجنبية

[1] R.Majed Jamous,M.S.Shtayeb,"Traditional arabic palestinia herbal medicine,Biodiversity and Envionmental center(BERC),Nablus,(2008).

[2] A.K.Hostethman,M.Mallard,M.Hamburgon,Phytochemistry of medicinal plants used in traditional medicine,Oxford university press,p 3(1995).

[4]S. Benhouhou,Aguid to midicinal plants in north africa,IUCN,Suisse,p256(2005).

الجانب النظري

الفصل الاول

عموميات حول نبات الحنظل

مدخــل :

تستخدم شركات صناعة الأدوية الكثير من النباتات الطبية في صناعة العلاجات والأدوية ، والتي تحتوي في تركيبها على مواد مفيدة لمكافحة العديد من الأمراض ، كما تتميز بخلوها من المواد الكيمائية الضارة ذات الآثار الجانبية السيئة ، ومن هذا المنطلق يكن من الجيد العودة لاستعمال هذه النباتات العشبية الطبية في حياتنا اليومية ، والتي تمثل اتجاها جديد في طريق العلاج بالطب البديل ، لذا لابد وأن نتعرف على فوائد أفضل تلك النباتات الطبية في علاج الأمراض ألا وهو الحنظل .

I-1-التصنيف النباتي لنبات الحنظل(*Citrullus colocynthis*):

الجدول I-1: تصنيف نبات الحنظل (*Citrullus colocynthis*) [1]

الاسم العلمي	(*Citrullus colocythis*)
النطاق	حقيقيات النوى (eucaryotes)
المملكة	النباتات (Plantes)
الفرقة العليا	النباتات الارضية Embryophytes
القسم	نباتات وعائية Tracheophytes
الشعبة	شعبة البذريات Spermatophytes
الشعيبة	مستورات البذور Angiospermae
الرتبة	قرعيات Cucurbitales
الفصيلة	قرعية Cucurbitaceas
الجنس	حنظل Citrullus

I-2-الاسماء الشائعة لنبات الحنظل(*Citrullus colocynthis*):

الاسم العربي : حنظل ، علقم ، مرارة الصحراء ، التفاح المر ، الرقي البري .

الاسم العلمي :(*Citrullus colocynthis*) ،Citrakus Colocynthis

الاسم الانجليزي: Bitter melon ، Bitter apple ،Colocynth ،Desert gourd ، Vine of Sodom

الاسم الفرنسي : Citrullus colocynthis .

الصورة I-1: صورة فوتوغرافية لنبتة الحنظل (*Citrullus colocythis*)

I-3-الوصف النباتي لنبات الحنظل (***Citrullus colocythis***) :

الحنظل هو أحد النباتات العشبيّة المعمّرة والتي تنمو زاحفةً على الأرض، يتبع فصيلة القرعيّات، ثماره كرويّة الشكل كبيرة الحجم خضراء اللّون مخطّط بالأبيض المائل إلى الأصفر، أملس ولبّه إسفنجيّ جاهز للأكل، يُحيط بها أغصان أو شعيرات حادّة وخشنة وأوراق ذات شكلٍ مثلث، وأزهاره صفراء وطعمه شديد المرارة، داخلها بذور قاسية تعرف ببذور الحنظل أو الهبيد. [7]

I-3-1- الورقة :

الاوراق ذات شكل مثلث ومفصصة عميقة التفصص من 3-5 فصوص ذات لون اخضر داكن خشنة الملمس . وتشبه الى حد بعيد اوراق البطيخ [3]

الصورة I-2 : صورة فوتوغرافية لأوراق نبات الحنظل (*Citrullus colocythis*)

I-3-2- الزهرة :

تظهر الازهار بلون اصفر منفردة في محور الورقة ، وهي احادية المسكن اما المدقات والاسدية فهي موجودة في انواع مختلفة من الزهور من نفس النبات ولديها سويقتين طويلتين .وتتألف كل زهرة من جريسية صفراء ، اما بتلة الزهرة (تويج الزهرة) فيتألف من خمسة فصوص ، يتم تحديد الزهور الاناث عن غيرها من الزهور الذكور بسهولة وذلك عن طريق الزغابي وشعيرات المبيض . [2]

الصورة I-3: صورة فوتوغرافية لزهرة نبات الحنظل (*Citrullus colocythis*)

I-3-3- الثمرة :

الثمار تكون كروية الشكل وملساء وقطرها من 5الى 10 سم وطعمها مر للغاية ، اما لونها فيكون اخضر مصفر (خطوط صفراء) والذي يصبح عند النضج رخامي اللون ،اما لب الثمرة فهو اسفنجي ابيض و ناعم وجاف وهو جزء لايتجزأ من البذور ، كل نبتة تنتج من 15الى 30 ثمرة [3]

الصورة I-4: صورة فوتوغرافية لثمار نبات الحنظل (*Citrullus colocythis*)

I-3-4-البذور :

البذور رمادية اللون ، طولها حوالي 5 ملم وعرضها 3 ملم ، صالحة للاكل ولكن في المقابل هي شديدة المرارة ذات نكهة جوزية غنية بالدهون والبروتين ، تؤكل كليا او يستخرج منها الزيت لاستخدامه في العلاجات . [4]

الصورةI- 5: بذور نبات الحنظل(*Citrullus colocythis*)

I-3-5- الجذوروالسيقان :

الجذور ضخمة ،لحمية ومعمرة وهذا ما يؤدي الى بقائها اكبر فترة ممكنة اما السيقان فهي طويلة ونحيلة وجافة وصعبة القطع ، وعادة تنتشر على الارض في جميع الاتجاهات ولديها ميل لتسلق الشجيرات والاعشاب التي بجانبها .[2].

الصورة I- 6: صورة فوتوغرافية لجذوروسيقان نبات الحنظل (*Citrullus colocythis*)

الشكلI-1: مختلف اجزاء نبات الحنظل (*Citrullus colocythis*)

I-4-التوزيع الجغرافي لنبات الحنظل (***Citrullus colocythis***):

ينمو نبات الحنظل في الاراضي الصلبة وفي الاودية والاماكن التي تتجمع فيها مياه الامطار ،ونبات الحنظل يتحمل الحرارة بشكل كبير ،وهو واسع الانتشار .حيث تنتشر زراعة الحنظل في منطقة حوض البحر الابيض المتوسّط، كذلك في سواحل شمال إفريقيا، وغرب آسيا، ومنطقة جنوب أوروبا، كما يتواجد بكثرة في المناطق الصحراويّة التابعة للمملكة العربيّة السعودية، كما يُزرع ويُصدّر من دول كثيرة كإسبانيا وصحراء سيناء بمصر وتركيا.[4]

I-5-القيمة الغذائية لنبات الحنظل(***Citrullus colocythis***):

تبلغ نسبة البذور 70% من وزن الثمرة وتحتوي كل 100 غ من البذور على 556 سعرة حرارية ويحتوي الحنظل على نسبة عالية من البروتين والدهون والكربوهيدرات ونسبة قليلة من الالياف ، كما انه غني بعناصر هامة كالكالسيوم والفوسفور .[1].

الجدولI-2:القيمة الغذائية لبذور نبات الحنظل(لكل 100 غ من البذور حوالي 556سعرة حرارية) [2]

العنصر الغذائي	الكمية (بالغرام)
بروتين	23,6
دهون	47,2
كربوهيدرات	19,5
الياف	1,5
ماء	6,7
كالسيوم	0,046
فوسفور	0,58

I-6-التركيب الكيميائي لنبات الحنظل. *Citrullus colocynthis*:

لعلى أبرز ما يميز نبات الحنظل ، والعامل الذي استدعى انتباه العلماء والباحثين احتوائه على العديد من المركبات النباتية الطبيعية ذات التأثيرات الصحية النافعة والتي تم تحديد العشرات منها في مختلف مكونات الحنظل[7] حيث اكدت الدراسات أن ثماره تحتوي القلويدات، ومواد صابونية [6] و ايلاتيرين (A) وايلاتيريسين(B) وبكتين[7] ومكوناته الفعالة هي الكولوسنتين، والكولوسنثيتين[9] [6] وهما خليط من مواد قلويدية وغليكوزيدية،[6] ومادة السيترولول [8] ، فهو من أعظم النباتات فوائد وتعود شدة مرارته للمواد القليلكوسيدية[7] كما أنه يحتوي على زيت دهني وقلويدات، وتصل نسبة الزيت في بذوره بين 15-20٪ [6].

والجدولI-3 يوضح التركيب الكيميائي لمختلف اجزاء نبات الحنظل

الجدول I-3: التركيب الكيميائي لمختلف اجزاء نبات الحنظل. Citrullus Colocynthis [7] [5]

الجزء النباتي	التركيب الكيميائي
غلاف الثمرة	جلوكوزيدات وأجليكونات، الصبونيات ، بكتينات ، 8.2 % كربوهيدرات
اللب	قلويدات ،كولوسنتين ، تربينات ،استتيرولات غير مشبعة ،كومارينات ، ترسين B وثنائي الترسين B، حمض السترولينك ، الكيوكاربيتاسينات B وD وI. 2.7 % الياف
البذور **البذور**	67-73 % حمض اللينوليك ، 10-16 % حمض الاوليك ، 5-8 % حمض دهني ، 9-12 % حمض البالمتيك ، كذلك كمية عالية من الارجنين ، التربتوفان والاحماض الامينية التي تحتوي على الكبريت وبروتينات .

I-7-الاستعمالات الشعبية الطبية لنبات الحنظل (*Citrullus colocythis*):

بالنسبة للاستعمالات الشعبية الطبية للحنظل فقد استخدمت اجزاءه المختلفة بما في ذلك :

- ❖ اللب
- ❖ الاوراق والسيقان
- ❖ البذور
- ❖ الجذور [7]

حيث استخدمت على النحو التالي :

- ❖ يفيد نبات الحنظل بالدرجة الأولى في تليين المعدة، فهو مسهّل قوي للأمعاء يكافح الإمساك المزمن؛ لاحتوائه على موادّ راتنجيّة صابونيّة وبكتين، كما أنّه يحسّن حركة المعدة والأمعاء ويسهّل عمليّة الهضم، ويطرد الغازات منها، ونافعٌ لعلاج القولون.
- ❖ يُستخدم نبات الحنظل لزيادة اسوداد شعر الإناث وتأخير ظهور الشعر الأبيض (الشيب) فيه.
- ❖ علاج لالتهابات المفاصل الروماتزميّة، وآلام الظهر، والأفخاذ، والعضلات، ومرض عرق النسا، وذلك بتقسيم حبّة من الحنظل إلى جزئين ثمّ شيّها على النار وتوضع ساخنة على كعب القدمين للمريض وتربط جيّداً للصباح وتكرّر العمليّة حتّى يُشفى المريض تماماً.
- ❖ يفيد رماد ثمرة الحنظل في علاج التهابات العين وإزالة حمرتها، ويزيد من اسودادها.
- ❖ يعالج الحنظل أمراض الجذام واليرقان الكبديّ (الصفار)، والصمم، وداء الفيل، أيضاً ويحسّن من عمل الكبد والمرارة.
- ❖ يستخدم قطران الحنظل في علاج الحيوانات كالمواشي والطيور من الأمراض الجلديّة الصعبة كالجرب والقراد العالق بوبر الحيوانات.
- ❖ لنبات الحنظل قدرة مذهلة في علاج الصداع النصفيّ (الشقيقة)، ويعمل على تنقية الدماغ.
- ❖ يعالج لبّ وبذور الحنظل الأمراض العصبيّة ومنها الفالج واللقوة.
- ❖ تفيد أوراق نبات الحنظل في تحليل الأورام في الجسم وإنضاجها، كما تفيد في وقف نزيف الدم.
- ❖ يسكّن وجع الأسنان والتهاباتها إذا تمّ استخدامه كمضمضة. يفيد نبات الحنظل في علاج مشاكل الكلى والمثانة والجهاز البوليّ بشكل عام.
- ❖ يخلّص الجسم خاصّة المفاصل والأعصاب من البلغم المتراكم فيها، ويطرده إلى خارج الجسم.
- ❖ مفيد لعلاج لدغات العقارب والأفاعي، فهو يطهرها ويشفي آلامها والتهاباتها، ويزيل سمومها.
- ❖ يعالج الحمى ارتفاع حرارة الجسم والاستسقاء.
- ❖ يفيد في علاج البثور الموجودة على سطح البشرة. [2]

I-8-الفعالية العلاجية لنبات الحنظل (*Citrullus colocythis*):

I-8-1- مضاد للبكتيريا :

اظهر المستخلص المائي لنبات الحنظل فعالية عالية لنشاط كل من البكتيريا القولونية والمكورات العنقودية الذهبية وفعالية اقل ضد البكتيريا العصوية في المقابل لم يظهر المستخلص أي فعالية ضد الجراثيم من جهة اخرى أظهرت خلاصات الميثانول من النبات نشاطية عالية ضد كل من البكتيريا العصوية الرقيقة والعقدية المقيحة ، السلمونيلة التيفية ونشاطية اقل ضد البكتيريا العقدية البرازية ولم يظهر أي فعالية ضد بكتيريا المتقلبة الرائعة [10]

I-8-2- مضاد للسكري :

اظهرت الدراسات التي أجريت في الجسم الحي قدرة بعض المركبات الموجودة في نبات الحنظل على تحفيز مستقبلات سكر الدم على الانتقال من داخل الخلية الى سطح الخلية وهذا يسهم في تحقيق مزيد من التمثيل الغذائي الفعال لسكر الدم

ووجدت آثار مشابهة لتلك الموجودة في الانسولين في بضعة مركبات اخضعت للاختبار.

وأظهرت الاختبارات التي أجريت على اثنين من المركبات في الفئران انها أسهمت في خفض سكر الدم وحرق الدهون وكان أحدها فعالا بشكل خاص في خفض سكر الدم في الحيوانات التي تستهلك غذاء عالي الدهون.

وأشار الباحثون الى انه يوجد ما قد يصل الى 70 نوعا من المركبات النشطة في نبات الحنظل. وخلصوا الى ان "الدراسة الحالية تقدم أساسا هاما لمزيد من التحليل للعلاقة ذات الصلة بالبناء النشط لتحقيق أفضل استغلال لنبات الحنظل في علاج مقاومة الانسولين [11]

I-8-3- مضاد للاتهاب :

اشارت عدت حقائق ومعطيات لدراسة مستخلص نبات الحنظل امتلاكه عدت عوامل مضادة للاتهاب ،وقد بينت الدراسة تأثير كابح بشكل خاص على مختلف العوامل السامة للخلايا الناجم من الوذمات الوعائية والناتجة من طحالب الكاراجينان (الطحلب الايرلندي) والتي تسبب نضحات قيحية للمعدة ،وبالتالي اظهرت تاثيرات ايجابية ضد المراحل الحادة والدون الحادة من الالتهابات .[12]

I-9-الآثار الجانبية والسلبية لنبات الحنظل .Citrullus colocynthi:

- ❖ المغص والاسهال، والقيء وضيق في التنفس، لذلك يجب الحذر اثناء استخدام هذا النبات
- ❖ قد يسبب التهاب حاد في القولون اذا تم ابتلاع نبات الحنظل، وقد يسبب نزيف داخلي يسبب الوفاة .
- ❖ لا ينبغي استخدام الحنظل من قبل الأطفال والنساء الحوامل أو الأشخاص الذين لديهم مناعة ضعيفة. [14]

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية :

[2] سهام الخضر، "معجم النباتات و الأعشاب الطبية " ، مجموعة النيل العربية ، مصر، ص170-171 (2007).

[6] ايناس ملكاوي ، فوائد نبات الحنظل ، يونيو (2015) .

[9] ميساء الجردي ،الحنظل صديق الرمال مرارة الطعم أشفت أصعب العلل أفضل النباتات علاجا للسكري والبدانة ،صباح الخير السورية (2009).

قائمة المراجع باللغة الاجنبية

[1] K.C. Chunekar, G.S. Pandey," The Bhavprakash nighantu with elaborated Hindi commentary by Padmashri", p 403 (1998).

[4] Lloyd, U.John, "Citrullus Colocynthis", The Western Druggist, Chicago, (1898).

[5] S.Gurudeeban, K .Satyavani, T .Ramanathan, Bitter Apple (Citrullus colocynthis) An Overview of Chemical Composition and Biomedical Potentials, Asian journal of plant sciences (2010) .

[8] Issa Abed Abdel-Hassan , Jamal Ahmed Abdel-Barry, The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of Citrullus colocynthis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits, Journal of Ethnopharmacology, P325–330 (2000).

[10] Mahesh Chand Meena and Vidya Patni, Isolation and Identification of Flavonoid "Quercetin" from Citrullus colocynthis (Linn.) Schrad,Asian journal of chemistry , (2008).

[11]Tehila Tannin Spitz, Shlomo Grossman, Sara Dovrat, Hugo E. Gottlieb, Margalit Bergman, Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from Citrullus colocynthis on human breast cancer cells, Biochemical pharmacology, P 56–67 (2007).

[12] E. N. Akobundu, J. P. Cherry, J. G. Simmons, Chemical Functional, and Nutritional Properties of Egusi (Colocynthis citrullus L.) Seed Protein Products ,journal of food science , May (1982).

[13] W. N. Sawaya, N. J. Daghir, P. Khan, Chemical Characterization and Edibility of the Oil Extracted from Citrullus colocynthis Seeds, January (1983).

[14] S. Gurudeeban, E. Rajamanickam, T. Ramanathan, K. Satyavani, Antimicrobial activity of Citrullus colocynthis in Gulf of Mannar, International Journal of Current Research, P 78-81 (2010).

[15] S. Gurudeeban, T. Ramanathan, Antidiabetic effect of Citrullus colocynthis in alloxon-induced diabetic rats, Inventi Rapid Ethno pharmacolog, P 112 (2010).

[16] E. Rajamanickam, S .Gurudeeban, T .Ramanathan, K .Satyavani , Evaluation of anti inflammatory activity of Citrullus colocynthis, International Journal of Current Research, P 67-69 (2010).

مواقع الانترنت :

[7]http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Citrullus_colocynthis.html (03/02/2017)

[15] http://www.jatrophaworld.org/citrullus_colocynthis_88.html (04/02/2017)

[17] http://www.thaqafnafsak.com (25/01/2017)

الفصل الثاني

المركبات القلويدية والفينولية

مدخـــل :

يزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية والانتفاع بها في معالجة الامراض المختلفة ،اذ تحتوي النباتات على عدد كبير جدا من المكونات الفعالة طبيا التي تعكس الامكانيات العلاجية الكبيرة لهذه النباتات ،فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الادوية المصنعة في معالجة بعض الامراض [1]

II- المنتجات الطبيعية :

يطلق دارسو الكيمياء العضوية لفظ "المنتجات الطبيعية " على المركبات التي تنتج بواسطة الكائن الحي مثل الاحماض الامينية – البروتينات– السكريات ..

ويشمل هذا التعريف العديد من المركبات التي تنتمي الي طوائف مختلفة وجميع المنتجات الطبيعية تلعب دور مهم في التفاعلات الحيوية وكذلك لها دور هام في التفاعلات الأيضية خاصة تلك المواد التي يتم فصلها من النباتات أو الكائنات الحية الدقيقة نظرا لأهميتها للإنسان في مجالات متعددة، ويمكن تقسيمها الى قسمين كبيرين [2]

- **المنتجات الأولية:** تتميز المنتجات الأولية بخاصيتها الحيوية و الضرورية لبقاء الخلية و الجسم فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية (Métabolites primaries)التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية السكريات، الدهون والبروتين. [4]،[3]
- **المنتجات الثانوية:** هناك عديد من المركبات التى تنتج فى النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي وتشمل كل من التربينات والفينولات والقلويدات وغيرها [4]

وهي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ، ولها إستعمالات دوائية عديدة، وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة. إذ تعتبر مركبات القسم الأول المواد البادئة لها، ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي (Métabolites secondaires) وهناك ثلاث مواد أولية رئيسية: حمض الشيكميك الأسيتات والأحماض الأمنية، و التي تعتبر وحدات البناء للأيوض الثانوية .[3]

كل عنصر نباتي مؤكد يحتوي على عدد من المركبات التي تنتج من عمليات الأيض الثانوي للنبتة بحيث تمثل المنتجات الطبيعية الفعالة لها، والتي يمكن تقسيمها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر إلى آخر [5]،[3].

فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيراتها الفسيولوجية، كما تصنف أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات حيث تصنف إلى: التربينات وأشباهها، القلويدات وأشباهها، والزيوت الطيارة ، المضادات الحيوية والفيتامينات، المركبات الفينولية [3]

وسوف نهتم في هذا الفصل بدراسة المركبات القلويدية والمركبات الفينولية .

II-2-المركبات القلويدية :

II-1-1-نبذة تاريخية :

بدأ اكتشاف القلويدات في النباتات المحتوية عليها بفصل قلويد المورفين من نبات الخشخاش عام 1817م من طرف العالم الألماني (Surterner)، وأول من أطلق اسم القلويدات على هذه المجموعة من المركبات العالم (Meissner) عام 1818م، حيث تتابع اكتشاف عدد آخر من القلويدات منها : Quinine، Emetine، Strychnine، حتى وصل عددها إلى ما يقارب 1900 قلويد، وفي عام 1950م تم اكتشاف قلويدات Vinca والمعروف تأثيرها ضد خلايا السرطان.[6]

II-1-2-تعريف :

في سنة 1879م عرف W.Meisser القلويدات على أنها جزيئات قاعدية معقدة ذات أصل نباتي، وفي سنة 1982م عرفها pelletier بأنها جزيئات لها حلقة تحتوي على ذرة أزوت وتشكل منتجات ثانوية. إذن يمكن القول إن القلويدات عبارة عن مركبات عضوية معقدة التركيب قاعدية، تحتوي على النتروجين كعنصر أساسي، بالإضافة إلى عنصر الكربون والهيدروجين وأحيانا عنصر الأكسجين، وتتصف هذه المادة بأن لها خاصية علاجية. [6]

وهناك من يعرفها على انها مركبات صلبة غير ذائبة في الماء لكنها تذوب في الايثانول والايثر والكلوروفورم والقليل منها سوائل يذوب في الماء مثل النيكوتين " التبغ " توجد ذرة نتروجين في غالبية

اشباة القلويات علي شكل نتروجين ثلاثي يحتوي التركيب البنائي لكثير من هذه المركبات علي مجموعات فعالة بها ذرة أكسجين مثل الهيدروكسيل أو الكيتون أو الكاربوكسيل تتصف الكثير من اشباه القلويات بالفعالية القوية وذلك إذا ما وجدت بها ذرة كربون أو أكثر غير متماثلة في تركيبها البنائي، تبرز أهمية أشباه القلويات من تأثيراتها الفسيولوجية وعلي الرغم معظمها سامة ولكن لها استخداماتها الطبية المختلفة بجرعات بسيطة. [4]

II-1-3-التسمية :

نظرا لاختلاف القلويدات في خواصها وتراكيبها الكيميائية وبالتالي اختلاف في استعمالاتها ووظائفها الفسيولوجية فإنه يتعذر معه توفر نظام تسمية موحدة لهذه المركبات الطبيعية. لذلك تتم تسمية القلويدات حسب أحد الطرق التالية: [7]

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

2-تسمى بعض القلويدات حسب الاسم اللاتيني الثاني للنبات المستخلص منه ومثال ذلك: قلويد Belladonine المستخلص من أوراق نبات *Atropia belladona*.

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

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

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

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

II-1-4-طرق التعرف على القلويدات:

1- درجة الانصهار.

2- معرفة أملاحه ومشتقاتها.

3- معرفة درجة ذوبانيتها في مختلف المذيبات.

4- تغير لونها باستعمال العوامل الملونة.

5- تعرف على شكل بلورات باستعمال المجهر.

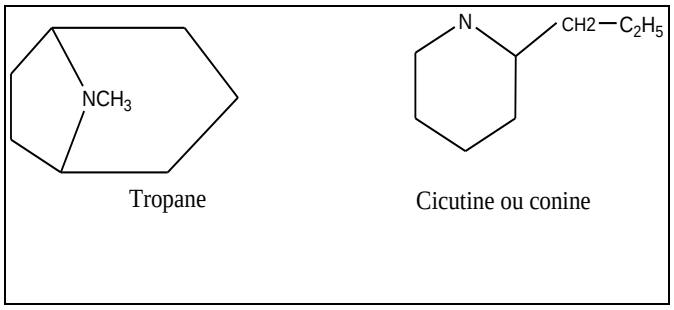
6-التعرف على القلويدات باستعمال جهاز (Spectrophotomètres) والذي تستخدم فيه الأشعة فوق البنفسجية. [8]

II-1-5-تصنيف القلويدات :

يمكن أن نقسمها إلى ثلاثة أقسام :

II-1-5-1- القلويدات الحقيقية (Les alcaloïdes vrais).

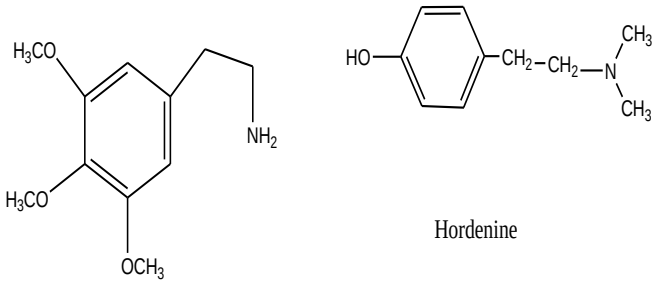
تحتوي على ذرة آزوت داخل الحلقة الكربونية (hétérocylique)، وهي مركبات قاعدية وتتواجد في الحالة الطبيعية كأملاح، وهي تتشكل انطلاقا من أحماض أمينية.[9]



الشكل**II-1:** مثال عن القلويدات الحقيقية. [9]

II-1-5-2-القلويدات الأولية (Les protoalcalaoide)

هي أمينات بسيطة لها ذرة آزوت خارج الحلقة وهي مركبات قاعدية تنتج من أيض الأحماض الأمينية.[9]



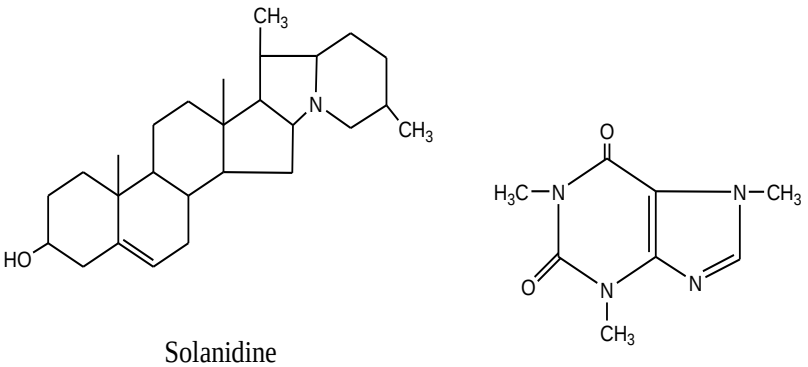
Mescaline

Hordenine

الشكلII-2: مثال عن القلويدات الأولية. [9]

II-1-5-3- القلويدات غير الحقيقية (الكاذبة) (les pseud-alcalaoide)

لها كل خصائص القلويدات، لكنها ليست مشتقة من أحماض أمينية. هذا القسم يحوي القلويدات الستيرودية والقلويدات البيرينية. [9]



Solanidine
(alcaloïde steroïdique)

Caféine

الشكل II-3: مثال عن القلويدات الكاذبة. [9]

II -1-6-الخواص العامة للقلويدات:

- تحتوي القلويدات بالإضافة إلى عنصر (N) على عنصري (H.C) وبعضها يحتوي على عنصر (O).
- معظم القلويدات غير الطيارة صلبة الملمس، أما القلويدات الطيارة فهي سائلة ولا تحتوي على عنصر (O).

❖ معظم القلويدات عديمة الرائحة غير الطيارة متبلورة، لونها أبيض، مرة المذاق، ويخرج عن هذه القلويدات التالية:

- قلويدات Berberine، Colchicine صفراء اللون.
- قلويد Caradine برتقالي اللون.
- قلويد Sanguinarine عديم اللون.
- القلويدات عديمة اللون يمكن أن تكون أملاح ملونة مثل:

1- Sanguinarine salt أحمر اللون.

2- Hydrastuinine salt أصفر اللون.

❖ معظم القلويدات كما ذكر متبلورة صلبة إلا:

- قلويد Nicotine pilocarpine, Spartine وغيرها عبارة عن سوائل.

❖ معظم القلويدات لا تذوب في الماء أو تذوب بشكل جزئي ماعدا قلويد colchicine،إلا أنها تذوب جيدا في الكحول والكلوروفورم، كما أنها تشكل أملاح ذائبة في الماء.

❖ معظم القلويدات لها تأثير فسيولوجي ومنها ما هو سام جدا.

❖ يكون ترسيب القلويدات باستعمال المواد التالية:

-cd k13 -Picric acid -Tannic acid -Marne 's Reagent -Maye 's Reagen Dragendorff 's Reagent -Wagner's Regent.

❖ لمعظم القلويدات خاصة التناظر (Stéréo isoméries).

❖ معظم القلويدات تؤثر على الضوء المستقطب.

❖ تتوزع القلويدات في المملكة النباتية وتوجد في المملكة الحيوانية والفطريات مثل: فطر مهمازا الشيلم.

❖ تشتق القلويدات من خمسة أحماض أمينيه أساسية هي:

Tyrosine -Tryptamine - Phenylalanine – Lysine -Ornithine. [8]

II-1-7-الدور الفسيولوجي للقلويدات:

كل القلويدات لها نشاط فسيولوجي مكثف، علاجي أو سمي، مثل: المورفين، الكافيين، الستريكينين، أو الالكينين، وأكثر من 3000 من القلويدات لها خصائص علاجية في الأغلب مهمة.

وبما أن القلويدات مركبات عضوية نيتروجينية تتكون من أحماض أمينيه مثل: الألانين، الليسين، الفينيل ألانين والتربتوفان، لذا فمن المحتمل أن يكون لها دور فيزيولوجي في عمليات البناء الحيوي، وقد تعتبر القلويدات مخزون للنتروجين الزائد عن احتياج النبات. [10]

II-1-8-فوائد القلويدات:

II-1-8-1- فوائد القلويدات للنبات:

- ❖ تمتاز القلويدات بأنها مواد سامة لذلك فإن وجودها يحميه من الحشرات الضارة.
- ❖ تأثر بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات للنمو (Plantgrouth regulators). [8]

II-1-8-2- فوائد القلويدات للإنسان :

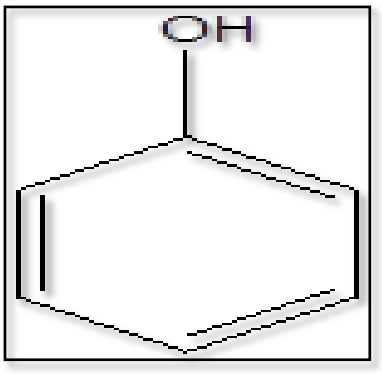
- ❖ مسكنة للآلام مثل: Morphime، Hyoscin .
- ❖ موسعة للقصبات الهوائية مثل: THeophylline.
- ❖ مرخية للعضلات مثل: Tubocuraine.
- ❖ رافعة للضغط مثل: Ephedine، أو خافضة للضغط مثل: Reserpine.
- ❖ موسعة لحدقة العين Atropine أو مضيقة لحدقة العين Pilocapic.
- ❖ طاردة للديدان Pelletierine.
- ❖ مادة لسرطان قلويدات Virca.
- ❖ مخدرة موضعية Oocaie.
- ❖ منبهة Caffeie.
- ❖ مدرة للبول Xanthines. [8]

II-2-المركبات الفينولية :

II-2-1-تعريف :

تمثل متعددات الفينول مجموعة من المواد الايضية الثانوية المتميزة باحتوائها على مجموعة أو عدة مجموعات من هيدروكسيل ، متغيرة أو غير متغيرة مرتبطة بأنوية حلقية [11]. تشكل متعددات الفينول مجموعة جزيئات متنوعة ومنتشرة الوجود . تمتلك تركيبة كيميائية جد متنوعة حيث تم تحديد عدة الاف من الجزيئات في العديد من النباتات [11] [12] وتعتبر مواد بلورية صلبة في درجة الحرارة العادية

وتملك درجات غليان عالية بسبب وجود الروابط الهيدروجينية بين جزيئاتها [13] تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية او اكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيلية حرة او مرتبطة بمجاميع اخرى مثل الاستر والايثر ، وتختلف في عدد الحلقات وعدد ونوع المجاميع المرتبطة [14]وبتعريف اكثر دقة هي عبارة عن منتج الايض الثانوي الحاوي على حلقة بنزين أو اكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة اخرى ، تكونت حلقاتها من ايض حمض الشيكيميك acide Shikimique او متعددة الاسيتات (polyacétate).[3] [15]



Phénole simple

الشكلII-4: نموذج لمركب فينولي بسيط

II-2-2- الاصطناع الحيوي للمركبات الفينولية :

يوجد عدت مسالك لتكوين النظام الحلقي (Aromatique système) داخل النباتات الراقية ، ولكن أهم تلك المسالك هي :

1- مسلك حمض الشيكميك(La voie de l'acide shikimique)

2- مسلك الأسيتات (La Voie de l'acétate)

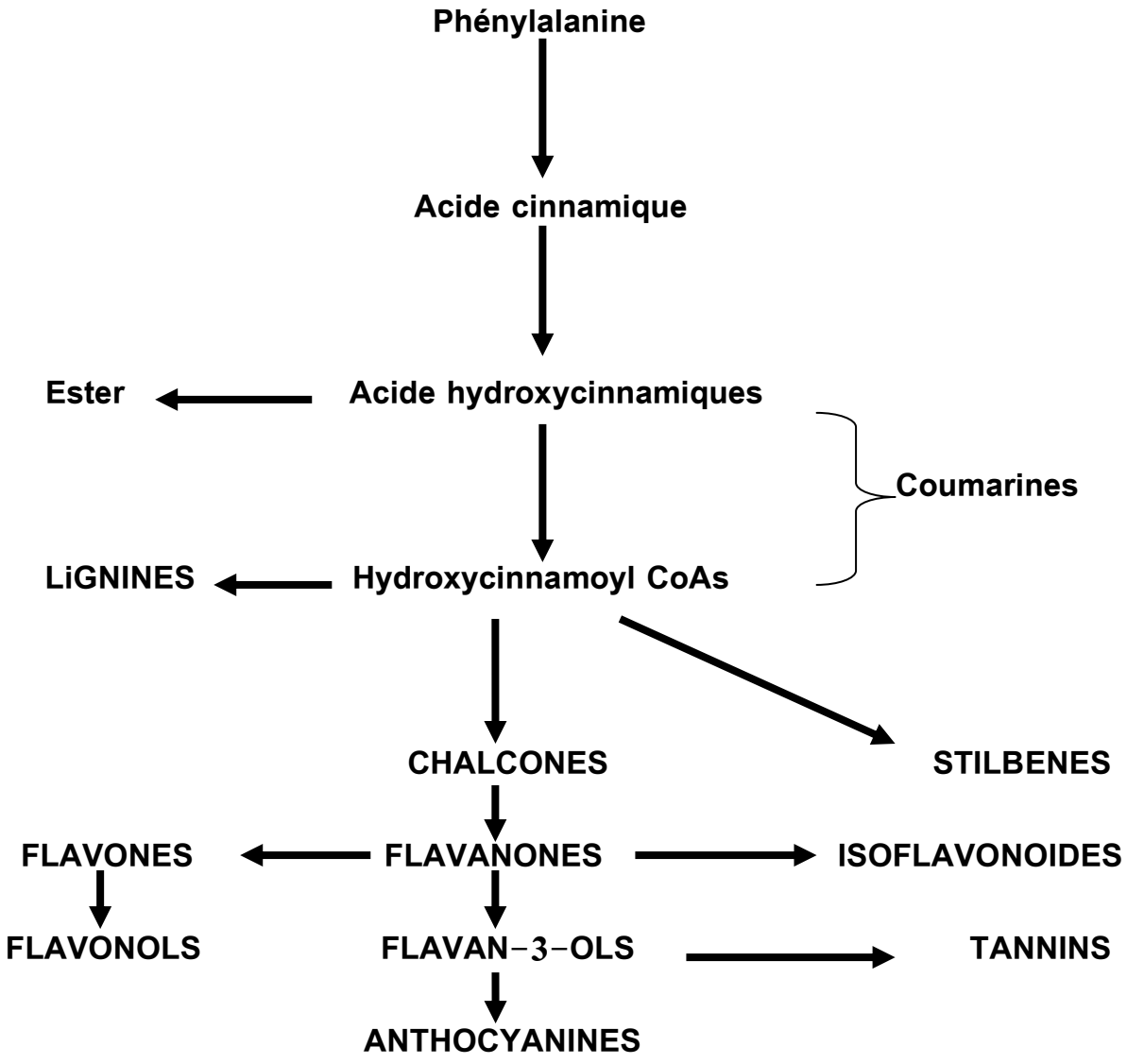
II-2-2-1-مسلك حمض الشيكميك:

يعتبر هذا المسلك في تكوين حمض الشيكميك وكذلك خطواته الوسيطية ذات أهمية كبيرة للنبات ليست لدورها في انتاج الفينولات فحسب بل في بناء الأحماض الامينية الاروماتية مثل : الفينيل الانين (phénylalanine)،تيروزين (tyrosine)،تريبتوفان (tryptophane).[16]

II-2-2-2- مسلك عديد الاسيتات :

يأتي هذا المسلك لتكوين الفينولات مشابها لبناء الأحماض الدهنية حيث يبدأ كل منهما من (Acetyl CoA)، (Malonyl CoA) [16].

والمخطط التالي يلخص التركيب الحيوي المبسط للمغذيات النباتية الفينولية



الشكل II-5: مخطط مبسط يوضح التركيب الحيوي للمغذيات النباتية الفينولية

II-2-3- مصدر المركبات الفينولية :

ان للمركبات الفينولية انتشار واسع في المملكة النباتية كنواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي ، وتعد الفاكهة واحدة من اغنى المصادر لهذه المركبات فضلا عن كون هذه المركبات مصدرا غذائيا فان لها تاثيرات فزيولوجية عديدة [9] وبصورة اكبر تتواجد في الاجزاء الهوائية خاصة الازهار والاوراق وذلك بشكل ايتروزيدات تذوب في الماء تتمركز في حوصلة الخلية

وتتواجد بصورة أقل في الخضر والحبوب وأوراق الشاي . [17]

II-2-4- أقسامها :

يمكن تقسيم المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيداتها الى عدة اقسام أهمها : الاحماض الفينولية ، الفلافونويدات ،التنينات ، الستلبينات ، اللقان [18]

وقد قام العالمان Harborne و simmonds سنة 1964 بوضع اقسام لها كالتالي :

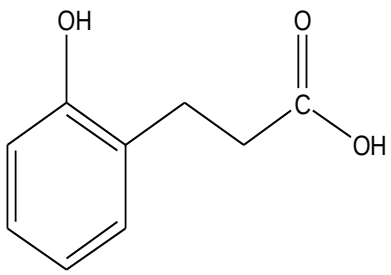
- ❖ عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار
- ❖ عائلة المركبات الفينولية النباتية كثيرة الانتشار
- ❖ عائلة المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات [19] [20]

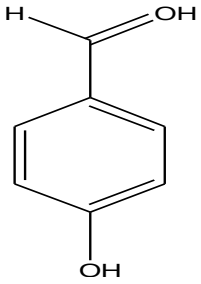
II-2-4-1- عائلة المركبات الفينولية النباتية قليلة الانتشار :

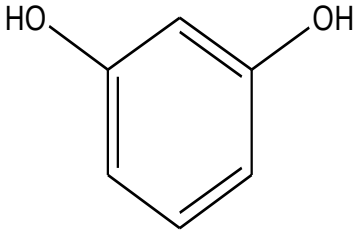
II-2-4-1-1- المركبات الفينولية من الشكل C_6 ، C_6-C_1 ،C_6-C_2 :

وهي ذات هيكل كربوني بسيط تحتوي على حلقة بنزن مرتبطة بواحدة أو اكثر من مجموعات الهيدروكسيل [16]

أمثلة :







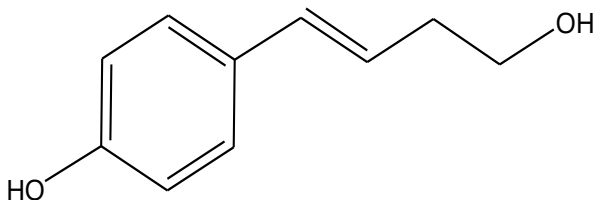
hydroxy phénylacétique	**4-hydroxy-bezaldehyde**	**Résoreinol**

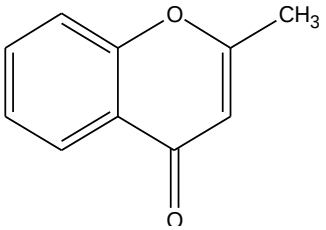
الشكل II-6: أمثلة عن مركبات فينولية من الشكل C_6 ، C_6-C_1، C_6-C_2

II-2-4-1-2- المركبات الفينولية من الشكل C_6-C_3، C_6-C_4

وهي متواجدة اكثر من سابقتها وبعض هياكلها موضحة في الاشكال التالية [3]

أمثلة :

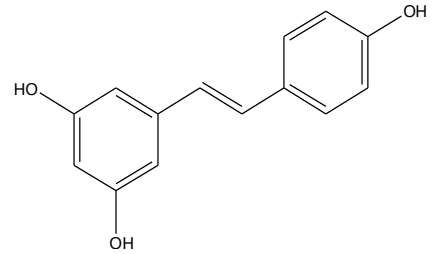
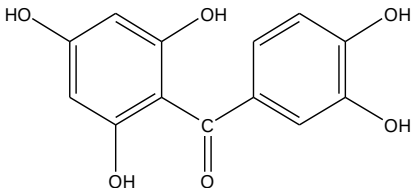




4-(E)-4-hydroxybut-1-enyl phenol	**Chromone**

الشكل II-7: أمثلة عن مركبات فينولية من الشكل C_6-C_3، C_6-C_4

II-2-4-1-3- المركبات الفينولية من الشكل : $C_6-C_2-C_6$،$C_6-C_1-C_6$: [3]

	
Resvératrol	**Maclurine**

الشكل II-8:أمثلة عن المركبات الفينولية من الشكل $C_6-C_2-C_6$،$C_6-C_1-C_6$

II-2-4-2- المركبات الفينولية النباتية واسعة الانتشار :

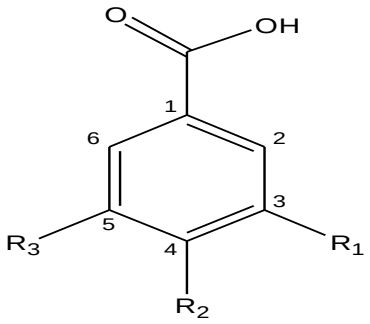
II-2-4-2-1- الاحماض الفينولية :

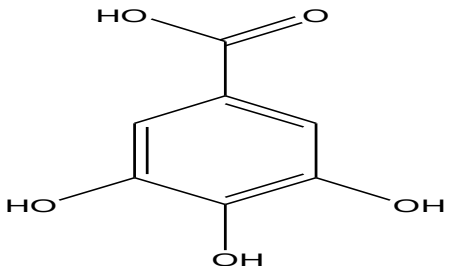
ويتكون من حلقة بنزين مرتبطة بمجموعة حامضية وهى مجموعة الكربوكسيل COOH وكذلك واحد أو أكثر من مجموعات االهيدروكسيل وقد يحصل أيضا مجموعات آخرى مثل مجموعة الميثيل .

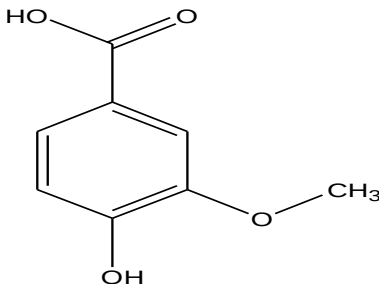
وهي تنقسم الى مجموعتين : **[16]**

II-2-4-2-1-1-أحماض بنزويك C_6-C_1 :

الهيكل الاساسي للاحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك	**أمثلـــــة**
	Acide gallique **acide vanillique**







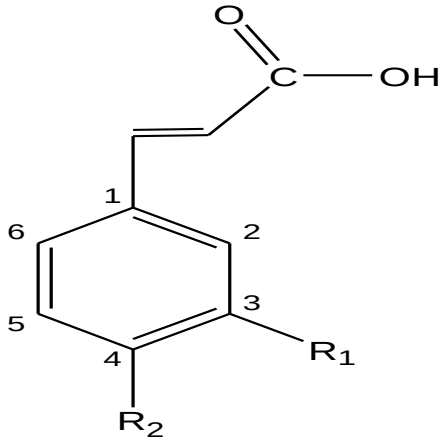
الشكلII-9: أمثلة عن أحماض بنزويك C_6-C_1

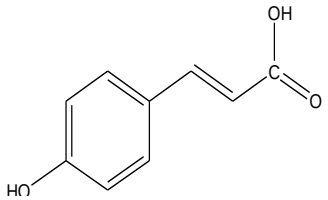
II-2-4-2-1-2- أحماض سيناميك C_6-C_3 :

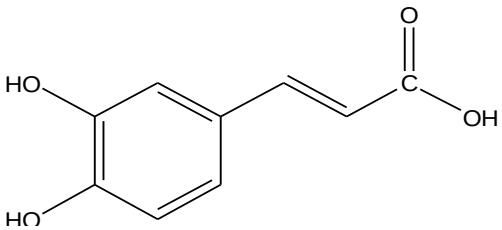
أحماض السيناميك توجد على شكل متماكبات(E et Z diastéréoisomèrs) بسبب وجود رابطة مزدوجة في الجذر الجانبي ،حيث أن التشكيلة E أكثر تواجدا لأنها أكثر إستقرارا ترموديناميكيا. وتوجد في شكل أسترات أو سكريات[20].

وتشمل أحماض السيناميك أربعة مركبات لا يكاد عضو نباتي يخلو تقريبا من أحدها على الأقل وهي: أحماض الفيريليك ، السينابيك الكافييك ، الكوماريك [15]

الهيكل الأساسي لحمض السيناميك	أمثلــة
	 Ac.p−coumarique **Ac.cafeique**



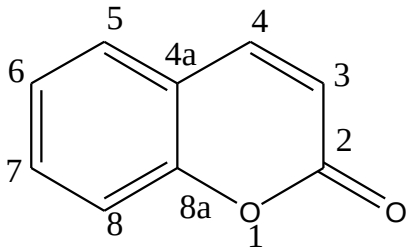




الشكلII_10:أمثلة عن أحماض C_6–C_3

II-2-4-2-2- الكومارينات (C_6–C_3):

اشتق اسم الكومارين من كلمة (coumarou) وهو اسم نبات (Willd odorata Dipteryx.)من عائلة Fabaceaeالذي فصل منه الكومارين (سنة 1820)،تعتبر الكومارينات مركبات طبيعية مهمة جدا حيث تستعمل كمواد حافظة للأغدية وكذا مواد التجميل[15] ،تنتمي الكومارينات إلى مجموعة من مركبات تسمى α–benzopyrone تتكون من حلقة عطرية مرتبطة مع حلقة بيران [21] تتواجد الكومارينات في الطبيعة بشكل أجليكونات أو مرتبطة بجزيئات سكرية مشكلة جليكوزيدات (glycosides).



الشكل II-11:الهيكل الاساسي لـ Coumarine

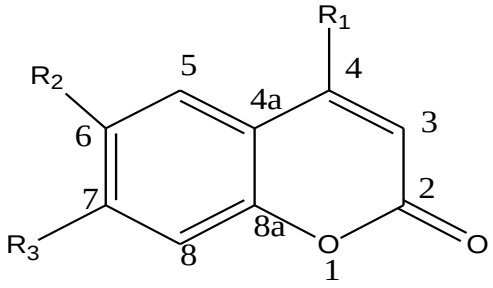
II-2-4-2-2-1-تقسيم الكومارينات :

يمكن تقسيم الكومارينات الى عدة أقسام [22]

❖ **كومارينات مستبدلة على حلقة البيرون** : وتشمل هذه الجموعة كومارينات مستبدلة في الموقعين 3 او 4 على حلقة البيرون مثل : هيدروكسيل ، الكيل ، فينيل

العائلات التي تحوي على هذا النوع من الكومارينات هي : Guttiferae، Papillonaceae، Rutaceae، Meliaceae، Ranunculaceae، Umbelliferae.

❖ **كومارينات مستبدلة على الحلقة البنزينية** : يكون المستبدل على الحلقة البنزينية هو مجموعة هيدروكسيل أو الكيل أو استيل

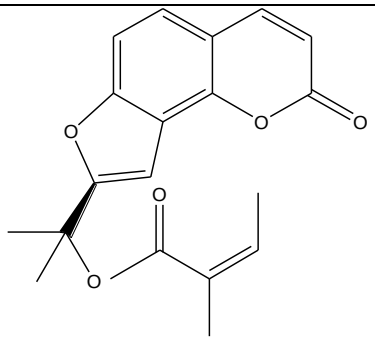
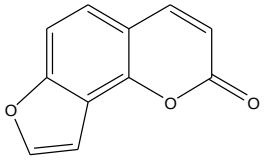


الشكلII-12: بنية بعض المركبات الكومارينية البسيطة.

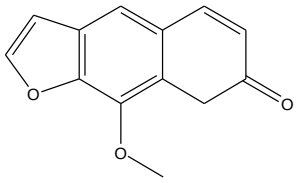
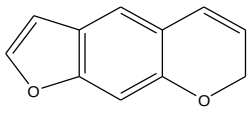
الجدول II-1:أمثلة عن الكومارينات.

	R_1	R_2	R_3
Coumarine	H	H	H
Herniqrine	H	H	OCH_3
Methylombelliférone	CH_3	H	OH
Scopolétine	H	OCH_3	OH
Ombelliférone	H	H	OH

❖ **فيرانوكومارين** : تتألف هذه المجموعة من اندماج حلقة الفيران مع الكومارين في الموقع 7 وتضم نموذجين أساسيين الاول خطي (psoralene) والثاني زاوي (angelicine) وقد ثبت أن عائلة (Rutaceae) يتركز بها هذا النوع من الكومارينات مقارنة بنباتات عائلات اخرى Moraceae، Fabaceae، Apiace

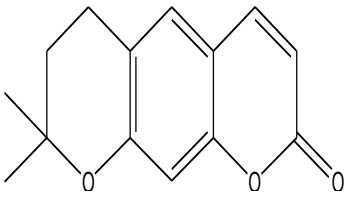
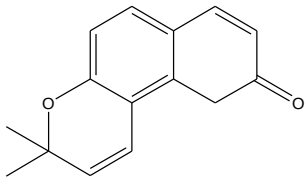
	
Culumbianadine	**Angélicine**

الشكلII-13: بنية بعض مركبات فيرانوكومارين الزاوية

	
Xanthotoxine	**Pesonaléne**

الشكل II -14: بنية بعض مركبات فيرانوكومارين الخطية

❖ **بيرانوكومارين** : تتكون هذه المجموعة من مساهمة ذرة الاوكسجين في الموقع 7 للكومارين في تشكيل حلقة سداسية لتعطي نوعين : خطي (xanthyletine) التي تتواجد فقط في نباتات عائلة (Umbellifereae) او زاوي (seseline)

	
xanthyletine	**Seseline**

الشكل II-15: أمثلة عن البيرانوكومارين الخطية و الزاوية

II-2-4-2-2-2-الفعالية البيولوجية للكومارينات :

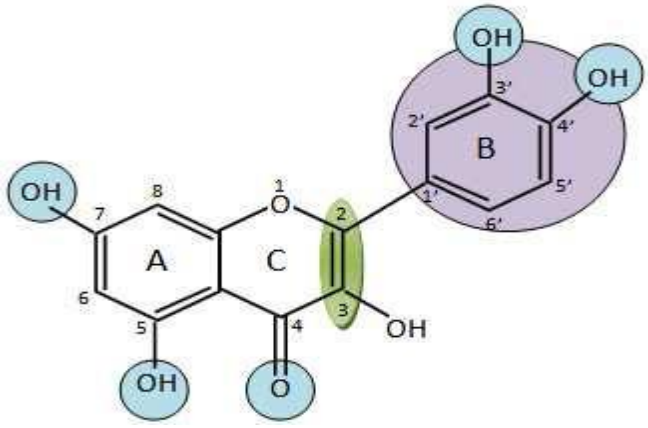
يستعمل Hydroxy-4-coumarine ضد تخثر الدم ، يستعمل المركب coumermycineA1 والمركب novobiocine كمضادات للبكتيريا . [22]

II-2-4-2-3- الفلافونيدات :

الفلافونيدات عبارة عن عائلة واسعة الانتشار من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات ، تحتوي على أكثر من 6000 نوع ، تملك الفلافونيدات بنية كيميائية مشتركة يتكون فيها الهيكل الكربوني من 15 ذرة كربون(C6-C3-C6) موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة A و B)مرتبطتين بحلقة غير

متجانسة pyrane أو pyrone تدعى الحلقة c . تتوزع الفلافونيدات بكثرة في الاوراق والقشرة وفي الازهار ، كما تنتشر بكثرة في الخضر الورقية . تساهم الافلافونيدات في اعطاء النكهة ولون الازهار والثمار والاوراق ، حيث أن غالبية الالوان عبارة عن chalcone و aurones و anthocyanins، كما لها دور في نمو وتكاثر النبات والمقاومة ضد العوامل الممرضة للنبات والاشعة UV، تؤدي التغيرات الحاصلة على مستوى الحلقات الى وجود عدة أقسام من الفلافونيدات ومشتقاتها التي تختلف فيما بينها في عدد ومواقع مجاميع OH، وكذلك في طبيعة ومدى الارتباط بالسكريات هذه الاقسام هي : Isoflavones Flavanols ،Flavones ، Flavanones ، Flavanonols

Flavan3,4diols ،Flavan3-ols ،Chalcone ،Aurones ،Anthocyanins [23]



الشكل II-16: الشكل العام للفلافونيدات واهم المواقع المتدخلة في تاثيراتها الحيوية

II-2-4-2-3-1-تصنيف الفلافونويدات :

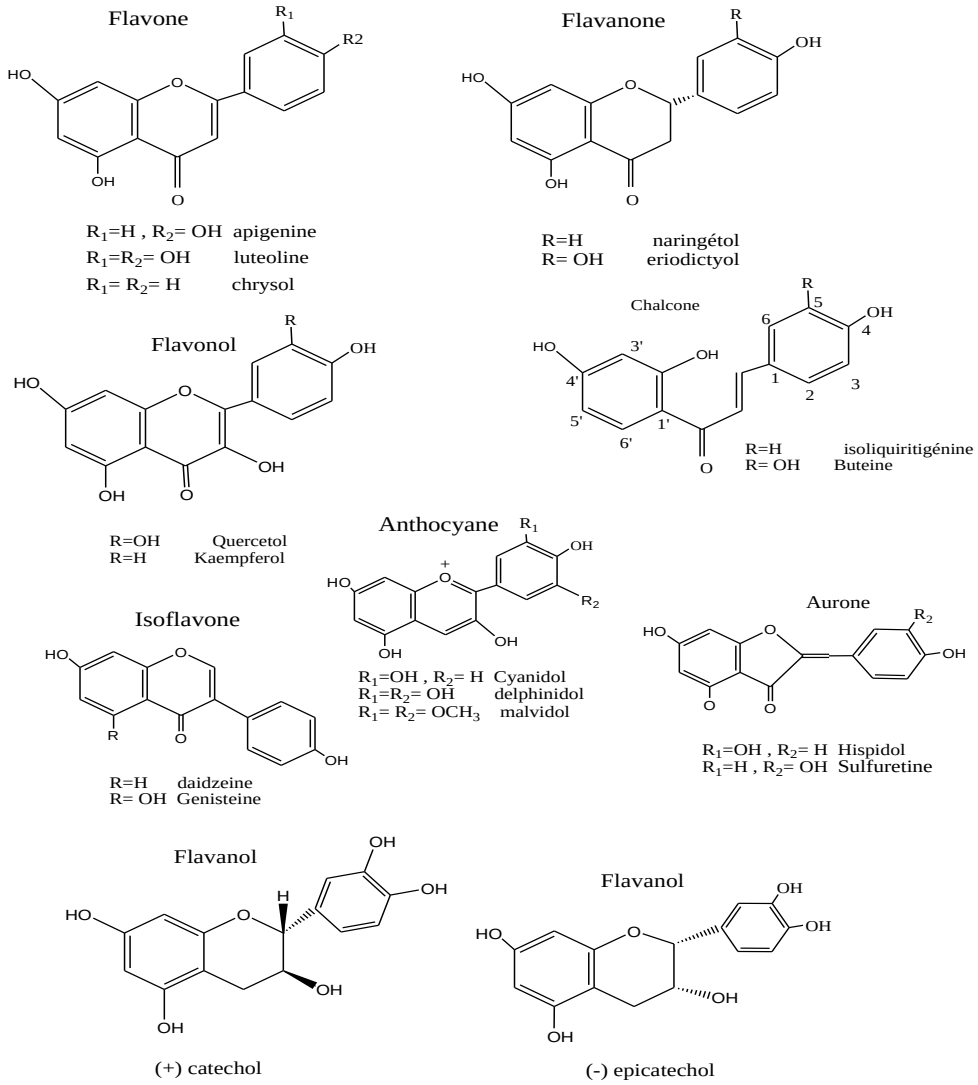
أحدثت دراسة الفلافونيدات عارضة كبيرة لمعرفة أنواعها البنيوية، حيث تم معرفة أكثر من 6500 بنية فلافونيدية إلى غاية 1999م حيث يمكن تقسيم الفلافونيدات حسب جهة ارتباط الحلقة C إلى:

- فلافونويدات : إذاكان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C إنطلاقا من الموقع C_2.
- إيزوفلافونويدات: إذاكان ارتباط الحلقة B مع الحلقة C إنطلاقا من الموقع C_3 [23].

كما يمكن تقسيمها تبعا لدرجة أكسدة الحلقة C إلى عدة أصناف، فأكثرها إنتشارا الفلافونات Flavones و الفلافونولات Flavonols وهي مركبات متماثلة في الهيكل الرئيسي، ويكون الإختلاف في الموقع C_3 إذا كان غير مستبدل فهنا يكون الفلافون ، أما إذا كان مستبدل بـ: OH فهو فلافونول ، وفيهما تكون الحلقة A مستبدلة بمجموعة هيدروكسي حرة في المواقع C5 و C7 بنسبة 90%اما الحلقة B فتكون مستبدلة في الموقع C4 بنسبة 50% ، تثبيت هذه المجموعات يكون قبل تشكل الحلقات Aو B ولهذا فهي تعتبر مجموعات أصلية.

وتتميز الفلافانونات Flavanones وفلافانولات flavanols بغياب الرابطة الثنائية بين C2 و C3وهنا كنوع خاص من الفلافونيدات يتواجد في الأزهار يتغير لونه عل بحسب الـ PH وهو عبارة عن الأنثوسيانات [15] [24]

وبعض اصناف الفلافونويدات موضحة في الشكل التالي : [24] [20]



الشكل II-17:أمثلة عن بعض أصناف الفلافونويدات

II-2-2-4-2-3-2- النشاطية الحيوية للفلافونيدات :

أثبتت كثير من الدراسات أن تناول الاغذية الغنية بالمركبات الفينولية خاصة الفلافونويدات لها تاثيرات ايجابية على الصحة اذ تتميز الفلافونويدات بتاثيرات حيوية مختلفة : كمضادات أكسدة ، ومضادات التهاب ، ومضادات للحساسية ، ومضادات للبكتيريا . كما تحمي من امراض القلب والاوعية ومرض السرطان ولها دور في حماية الجهاز العصبي [23]

II-2-4-3-عائلة المركبات الفينولية النباتية المتواجدة في الطبيعة على صورة بوليمرات :

II-2-4-3-1-التانينات $(C_6-C_3-C_6)_n$:

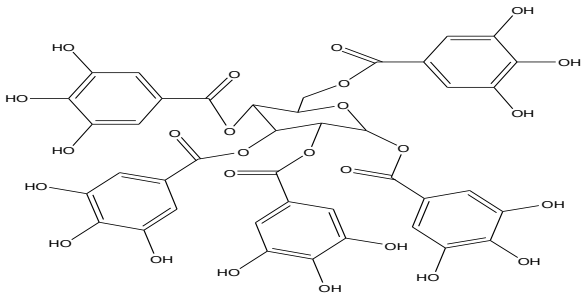
وهو اسم عام لمركبات فينولية مبلمرة قادرة على دبغ الجلود أو ترسيب الجيلاتيم من المحاليل وهذا التاثير يعرف بالخاصية القابضة او العفصية

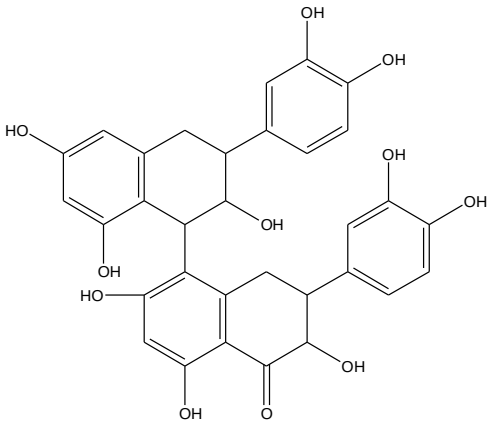
تعد التانينات مركبات ذات وزن جزيئي كبير يتراوح مابين 500-3000 وحدة ، وهي ذات مصادر نباتية وتتواجد في اجزاء مختلفة من النبات كاللحاء والثمرة والاوراق والجذور وغيرها

II-2-4-3-1-1-تقسيم التاتينات :

تتقسم التانينات الى :

- ❖تانينات قابلة للتحلل المائي : هي عبارة عن أحماض فينولية مرتبطة بجلوكوز
- ❖تانينات غير قابلة للتحلل المائي (تانينات مكثفة): هي عبارة عن فلافونويدات غير مرتبطة بجلوكوز [25]





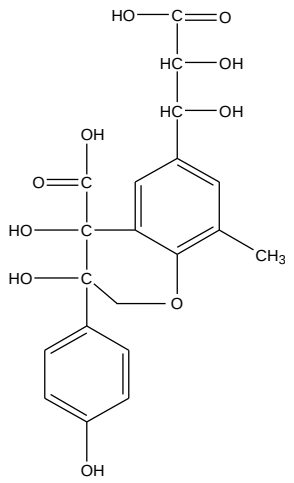
تانينات قابلة للتحلل المائي	**تانينات مكثفة**

الشكل II-18:بنية التاتينات القابلة للتحلل المائي وتاتينات مكثفة.

II-2-4-3-2- اللقينين $(C_6-C_3)_n$:

هي عبارة عن بوليمرات رئيسة مسؤولة عن تشكيل أغلب الكتلة الحيوية للنبات وتُعتبر هذه البوليمرات الحيوية مصادر متجددة لإنتاج الألياف الطبيعية، ذو وزن جزيئي عالي ويتكون من وحدات الفينيل بروبان ويوجد اللجنين بين الخلايا وداخل طبقات الجدار الخلوي وهو المادة الأسمنتية التي تربط بين الخلايا بعضها البعض، وداخل الجدار الخلوي يكون اللجنين مصاحبا للسليولوز.

واللجنين عبارة عن بوليمر معقد ثلاثي الأبعاد مكون من وحدات الفينيل بروبان Phenyl – prorane غير متبلور، ويعمل اللجنين كمادة مغلقة ومحيطة بالميكروفبريل. وهو يوفر الصلابة للجدار الخلوي، كما يمد الخلايا بالحماية ضد التلف الكيميائي. [26]



الشكل II -19: بنية اللقينين

II-2-5- أهمية الفينولات :

- ❖ تلعب دور في وقاية النباتات من الامراض التي تسببها البكتيريا والفطريات فهي مبيدات للحشرات او مضادات حيوية
- ❖ تمتلك المركبات الفينولية خصائص مضادة للاكسدة [15]
- ❖ الدراسات المكثفة في المجال الطبي اضهرت الفعاليات المختلفة منها ماهي مضادة للسرطان حيث تعمل على تقوية الجهاز المناعي وزيادة النشاط المضاد للورم [27]

- ❖ تعمل على التقليل من نفاذية وهشاشة الشعيرات الدموية ، اذ أنها ضرورية للبنية الطبيعية والوظيفية للشعيرات الدموية ، وكذلك فان لها دورا مضادا للالتهاب نظرا لتداخلها مع ميتابوليزم حمض الأراكيدونيك . [27]
- ❖ بالاضافة الى ذلك كشفت الدراسات على كون الفينولات مضادة لارتفاع الظغط ، وللحساسية ، ومضادة لتسمم الكبدي وذات فعالية ضد الملاريا ، كما تستعمل كمواد حافظة .

والجدول التالي يوضح بعض المركبات الفينولية التي تستعمل لعلاج العديد من الامراض

[3] [15]

الجدولII-2: بعض المركبات الفينولية المستعمله في الطب والصيدلة [3] [15].

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الاحماض الفينولية	– مضادات للبكتيريا – مضادات للأكسدة مضاد للطحالب
الكومارينات	– حماية الاوعية الدموية – مضاد للامراض الجلدية
الفلافونيدات	– مضاد للاكسدة – تخفض ارتفاع الدم – تخفض نسبة الكلسترول في الدم – تقلل من حدوث مرض السكري – تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي – تزيد من نشاط الفيتامين c – تقوي وتحسن اداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر امراض القلب
التانينات	– مضادة للاكسدة

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية

[2] د.سمير عبد العظيم محمد عبد الجليل، "المنتجات الطبيعية النباتي ، الكيمياء والاستخلاص والتنقية" ،الاسكندرية،ص25 (2014).

[3] بن عاشور صبرينة البتول ،"الفعالية المضادة للاكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ل "deverra scoparia"، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الهندسة الكيميائية ،تخصص التحضير العضوي والفيتوكيمياء ،جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة (2007).

[6] غسان حجاوي، حياة حسين المسيمي، رولا محمد قاسم ،"علم العقاقير والنباتات الطبية"، دار الثقافة للنشر و التوزيع، الطبعة الأولى الإصدار الخامس ، (2009) .

[7] العابد إبراهيم ، "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum "،مذكرة ماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية ،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 8، 10، 11، 16، 17 (2009) .

[17] زمالي جعفر ، "دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة الصحراوية Solanum Nigrum "، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء ، تخصص تحضير عضوي وفيتوكيمياء ، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة (2007).

[23] عبد الرحيم بن سلامة ، "النشاطات المضادة للاكسدة والمثبطة للانزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق .Hertia cheirifolia L "، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، تخصص البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية ، جامعة فرحات عباس ،سطيف (2012).

[24] باز مسعود ، "استخلاص وفصل وتحديد بنيات منتوج الايض الثانوي عند نبات جنس .Centaurea C.Sphaerocephala L "، رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية ، تخضض كيمياء النبات ، جامعة منتوري ،قسنطينة (2006).

[25] د. رفعت أحمد الكرد ، "تأثير التانينات من مصادر نباتية مختلفة على الوضع التغذوي للحديد في الجرذان "، جامعة البترا ، عمان ، الاردن ، ص 3 (2007).

[27] عمراني أمال ، "دور فيتامين C,E والمستخلص البوتانولي لنباتي suaveolens Rhantherium و Chrysanthemum fontanesii في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproate لدى الفئران الحوامل In vivo و In vitro "، رسالة مقدمة لنيل شهادة دكتورا العلوم في بيولوجيا و فسيولوجيا خلية االحيوان ، جامعة قسنطينة I، قسنطينة (2013).

قائمة المراجع باللغة الاجنبية :

[1] T. Mabry, M.Thomas, K.Markham ,"The systematic identification of flavonoids" ,Springer- verlag , Berlin,p13 (1970).

[4] Belkhiri,Cours de pharmacognosie-PG.de chimie organique et phytochimie ,Universite Mentouri, Constantine(2006).

[5] M. Abdelghafour,"radioltse gamma des flavonoides ,etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools fomation de depsides" ,these de doctora (2003).

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

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

[10] John Mc Murry,Tadhg Begley, Chimie Organique des Processus Biologiques, 1re édition, Paris, p54-55 (2005).

[11] J.L. Guignard,L. Cosson, M.Henry , Alirégé de phytochimie. Masson, p 138-154(1985).

[12] G. Richter, Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Presses, polytechnique et universitaire Romandes, p 328- 339(1993).

[14] C. Manach, A .Scalbert, C. Morand, C. Remesy, L. Jimenez, Polyphenols: Food source and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition , p 727-747 (2004).

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

[18] D.A. Saliha, "etude quantitative des composes phenoliques des extraits de trois varietes de dattes (phoenix dactylifera l.) et evaluation in vitro de leur activite biologique", Mémoire Pour l'obtention de diplôme de Magister en Biologie , Université El-Hadj Lakhdar , Batna (2010).

[19] E.Grotewold,The science of Flavonoids(1-123),1st ed , Columbus,Ohio,USA,Springer Science Business Media, Inc ,(2006).

[20] L. Salah Eddine,"Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuille de Phoenix dactylifera Ldans la région du sud d'Algérie (la région d'Oud Souf)",Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en science, Université Mohamed Khider, Biskra (2014).

[21] G.J.Keating,R . O'kennedy, Thechemistry and occurrence of coumarins,p 23-66 (1997).

[22] R.D.H. Murry,J. Méndez, S.A. Brown , The Natural Coumarine: Occurrence, Chemistry and Biochemistry, JohnWiley and Sons Ltd, Chichester (1982).

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

مواقع الانترنت :

[13] http:// www. pdffactory. com (06/04/2017)

[16] http:// www.smsec.com/ar/encyc/2/index.htm (04/03/2017)

الفصل الثالث

عموميات حول البكتيريا

والمضادات الحيوية

مــدخـل :

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى ، تعامل معها الانسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض و أستعمل بعضها في عمليات التخمر المختلفة .

و لقد كان للكشف المجهري الأثر في التعرف عليها، أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي (باستور Pasteur) من خلال تجاربه على التخمر و اكتشف أيضا طعومها و ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن ان توجد بالسوائل و خاصة الحليب ، أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض و هو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا .

و لقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان، و لكن الاكتشافات الحديثة و التقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية و الدوائية و التخلص من المواد العضوية و غير العضوية و كذلك معالجة المياه و معالجة الحيوية لمخلفات المزارع و استخدامها في انتاج الطاقة و غاز الميثان [1]

III-1-البكتيريا

III-1-1- مفهوم البكتيريا :

البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى الا بالمجهر الالكتروني (10^6 X) أو المجهر الضوئي (10^3 X) ، توجد البكتيريا في كل مكان ، في التربة و في الهواء و في الماء ، و على جسم الانسان ، و داخل قناته الهضمية ، و جهازه التنفسي [2]

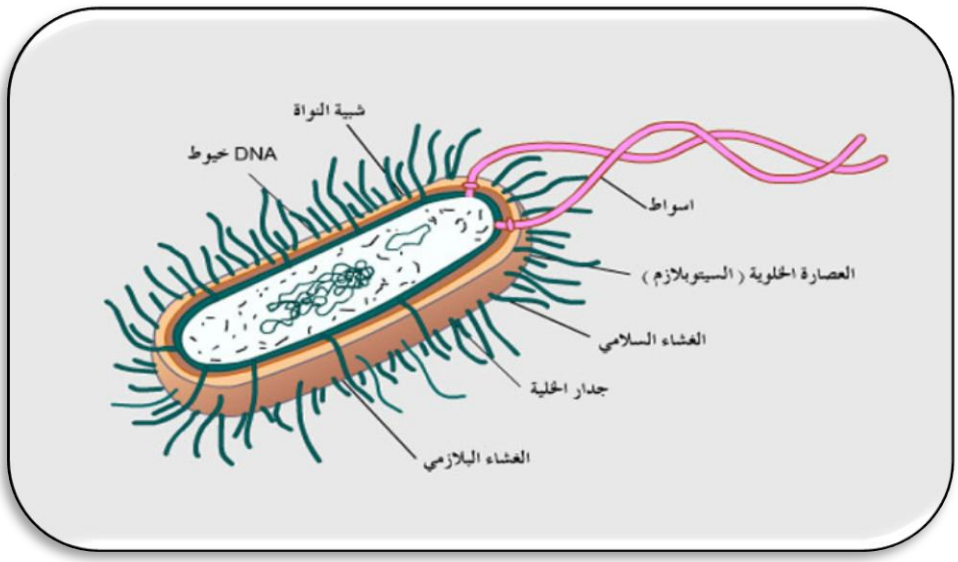
وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة، أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية [3] .

تركيبة الخلية البكتيرية بسيطة ، اذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم فالاول جدار خلوي سميك وصلب هو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من أي هجوم خارجي ، أما الثاني رفيع السمك يسمى بالغشاء الخلوي الستوبلازمي ، اما المساحة الداخلية للخلية فهي تمثل السيتوبلازم ، وهي في الغالب جد متجانسة تحتوي على ريبوزومات ذات شكل حبيبي كروي ، كما تحتوي على اجسام ذات

قوام حبيبي يمكن للبكتيريا أن تخزن بها الطاقة ، اضافة الى احتوائها على جزيئة ، أو أكثر من ال ADN البلازمي أو مايسمى بالبلازميدات ، وهي تتكاثر بصورة مستقلة عن كروموزوم ال ADN الخاص بالنواة ، وان هذه الاخيرة ليس لها غشاء نووي

الجدار والغشاء الخلويين ، السيتوبلازم والنواة هي عناصر ثابتة وأساسية لكل أنواع الخلايا البكتيرية فبعض الانواع تكون محاطة من الخارج بمحفظة (capsul) ، او لها سوط يساعدها على الحركة اذا كانت من البكتيريا المتحركة ، اضافة الى أن بعض أنواع البكتيريا لها زوائد خلوية تسمى البيلي (pili) وهي تساعد الخلية البكتيرية على الالتصاق بالوسط الذي تكون فيه [4]

والشكل التالي رسم تخطيطي يوضح بنية الخلية البكتيرية :



الشكلIII-1: رسم تخطيطي لخلية بكتيرية

III -1-2- خصائص البكتيريا :

- ❖ البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .
- ❖ البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 2-3 ميكرون
- ❖ تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس ، متماسك ، متمم للبكتيريا، و هو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالاجسام الغريبة ، و هناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف يدعى (Capsule)

❖ درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37° م – 45° م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة الى أعداد كبيرة [1]

III-1-3- تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير:

III-1-3-1- من حيث توزيع أسواطها:

فيمكن تقسيمها إلى :

بكتيريا وحيدة السوط

بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد .

بكتيريا ذات أسواط عديدة: موزعة على كل الخلية .

III-1-3-2- من حيث الشكل :

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

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

البكتيريا الحلزونية (Spiral) : التي تأخذ الشكل الحلزوني .

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

III - 1- 3 – 3- من حيث الوسط التي تعيش فيه :

فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع :

بكتيريا هوائية اجبارية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الأوكسجين وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

بكتيريا لا هوائية اجبارية (Anaerobic):وهي البكتيريا التي تعيش فقط، في غياب الأوكسجين

بكتيريا لا هوائية اختيارية (Facultative Anaerobic): وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو، في ظل وجود الأوكسجين ، أو عدمه.

III-1-3-4- من حيث التغذية :

فيمكن تقسيمها إلى نوعين :

بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو .

بكتيرياعضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد العضوية كالسكر . [5]

III-1-3-5- من حيث طريقة التلوين (غرام) :

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

بكتيريا غرام موجب G^+ (gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية .

بكتيريا غرام سالب G^- (gram négative) : تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) ، أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram négative) . [6]

III-1-3-6- من حيث الأثر على الكائنات الحية :

يمكن تقسيمها إلى :

البكتيريا النافعة (*Beneficial Bacteria*): وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة.

فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، 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 دوراً هاماً في غذاء النبات؛ إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أوليّ، يستطيع من خلاله النبات أن يكوّن البروتين. كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، وكذا المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان.

ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا نتاج عمل البكتيريا النافعة. وحديثاً تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث.

ويطلق على كل هذه الأنواع البكتيرية اسم البكتيريا النافعة(*Beneficial Bacteria*)،

ويطلق على هذا النوع من البكتيريا اسم البكتيريا الممرضة (*Pathogenic Bacteria*). [7]

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

البكتيريا الضارة (*Pathogenic Bacteria*): توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة ، وذلك على نحو ما يحدث في أمراض: السل، والكوليرا، والتيفود، والسعال الديكي،والزهري والسيلان . [7]

ومن بين البكتيريات الضارة و المسببة للأمراض :

❖ **إشيريشيا كولي *Escherichia coli* :**

هي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :

المملكة : Bacteria

التصنيف: Proteobacteria

القسم : Gammaproteobacteria

الرتبة : Enterobacteriales

العائلة : Enterobacteriaceae

النوع : Escherichia

الصنف: *Escherichia coli*

الشكلIII-2: بكتيريا *Escherichia coli*

وهي بكتيريا هوائية ذات غرام سلبي ، تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة ، تكون متحركة على شكل عصيات ، مسببة للأمراض من هذه الأمراض : أمراض الجهاز البولي ، الإسهال الطفيلي ، إلتهاب السحايا وتسمم الدم . [7]

❖ **ستافيلوكوكيز أروز *Staphylococcus aureus* :**

هي بكتيريا ذات غرام موجب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :

المملكة : Bacteria

التصنيف: Firmicutes

القسم : Bacilli

الرتبة : Bacillales

العائلة : Staphylococcaceae

النوع : Staphylococcus

الصنف: *Staphylococcus aureus*

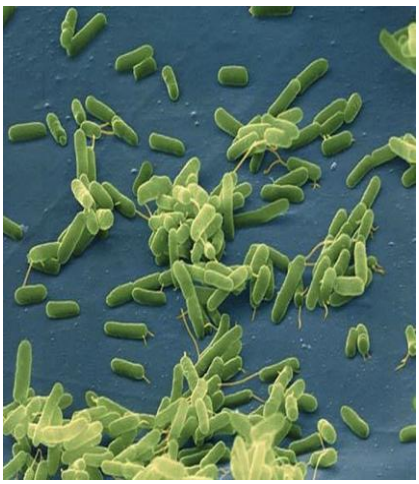
الشكلIII-3:بكتيريا *Staphylococcus aureus*

هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لون أصفر براق ، عديمة الحركة ، تكون عناقيد على شكل أكوام ، وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه .

هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد و تسبب تسمم الغذاء ، وتتسبب في إلتهابات جلدية خطيرة ، ويتسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل انتشارها في الأماكن المزدحمة المغلقة

وقد تسببت البكتيريا في موجات وبائية ووفيات هائلة نتيجة التهابات الرئتين، وخراريج المخ، وأمراض السحايا، وتسمم الدم، وغيرها من أمراض قاتلة. [7]

❖ **فيبريو فيلنيكوس *Vibrio vulnificus* :**



وهي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي الى :

المملكة : Bacteria

القسم : Gammaproteobacteria

الرتبة : Vibrionales

العائلة : Vibrionaceae

النوع : Vibrio

الصنف: *V. vulnificus*

الشكلIII-4:بكتيريا ***Vibrio vulnificus***

هي بكتيريا على شكل ضمة ، تتواجد لكثرة في البيئات البحرية تم عزلها اول مرة سنة 1976م .وهي مسببة لعدت التهابات منها التهاب المعدة والتهابات الجروح النخرية في الجلد المصاب ، كما يمكن أن تسبب الاسهال والام في البطن .[8]

❖ **ميكروكوكوس *Micrococcus luteus* :**

وهي بكتيريا ذات غرام موجب ، وهي البكتيريا التي تنتمي الى :

المملكة : Bacteria

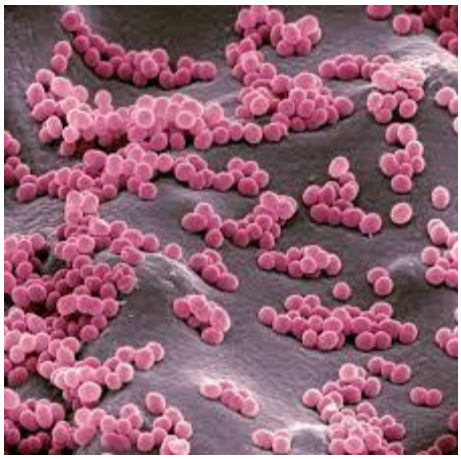
القسم : Actinobactérie s

الرتبة : Actinomycetales

العائلة : Micrococcaceae

النوع : Micrococcus

الصنف : *M.luteus*



الشكل III-5 : بكتيريا *Micrococcus luteus*

وهي بكتيريا مكورة الشكل صنفت أول مرة عام 1972م، من قبل العالم كوهن . تتواجد على مستوى جلد الانسان والحيوان كما يمكن أن تتواجد في التربة والغبار وقد أثبتت الدراسات أن لهذه البكتيريا قدرة كبيرة على البقاء على قيد الحياة وهي بكتيريا ممرضة انتهازية خاصة المرضى الذين يعانون من نقص المناعة وهي تسبب أمراض متنوعة منها التهاب المفاصل والتهاب السحايا .[9]

III-2- المضادات الحيوية :

III-2-1- تعريف المضادات الحيوية :

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin 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 (1945) في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراد مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات [10].

III- 2- 2- أنواع المضادات الحيوية :

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

III-2-2-1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها، وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل : سلفوناميد ، كلورام فينكول .

III-2-2-2- 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 :أمبسلين ، جنتاميسين ، بنسيلين [11] .

III-2-3- تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب ، أو كبح الميكروبات ، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Cell Wall) ، أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell) ، او يعمل على مستوى الخلية لايقاف تصنيع البروتين (Protein Synthesis) .

III-2-3-1- العمل على الجدارالخارجي للبكتيريا : المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane.

وهذا يوقف نموها وعملها ويمكن ان يشمل تدمير تلك الأخيرة بالفعل وتعمل وفق هذا الاسلوب من العمل :

بنسلين Penicillin .

سيفلوسبورين Cephalosporin .

فانكوميسين Vancomycin .

سيكلوسبرين Cyclosporine .

III-2-3-2-العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذيه الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية) ، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا ، هذا ما يسمح بتدميرها ، مثل ؛

polymyxines (lipopeptides cycliques) يعمل وفق هذا الاسلوب من العمل.

III-2-3-3- العمل على تثبيط نمو ADN :

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN ، حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN للبكتيرية وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل :

ستربتوميسين Streptomycin

كاناميسين Kanamycin

أرثروميسين Erythromycin

ريفامبيسين Rifampicin

سبترين Septrin [11]

III-2-4- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية :

III-2-4-1- تمهيد :

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة .

بعض المضادات الحيوية تملك فاعلية (كبيرة أو صغيرة) والذي يختلف حسب البكتيريا الحساسة لفعل المضاد .

نظرية : معرفة الفاعلية للمضادات الحيوية (المقاومة الطبيعية للبكتيريا) تسمح بالقيام بالمعالجة .

حقائق : البكتيريا تستطيع أن تملك مقاومة للمضاد الحيوي بتعديل أساسي لجيناتها .

نتيجة : معرفة العنصر البكتيري لا يسمح بتوقع الفاعلية للمضاد الحيوي . [8]

III-2-4-2- خواص الجذمة البكتيرية :

في علم الطب ، الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد على حسب تركيز المضاد الحيوي ، أي بإرتفاع التركيز، تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

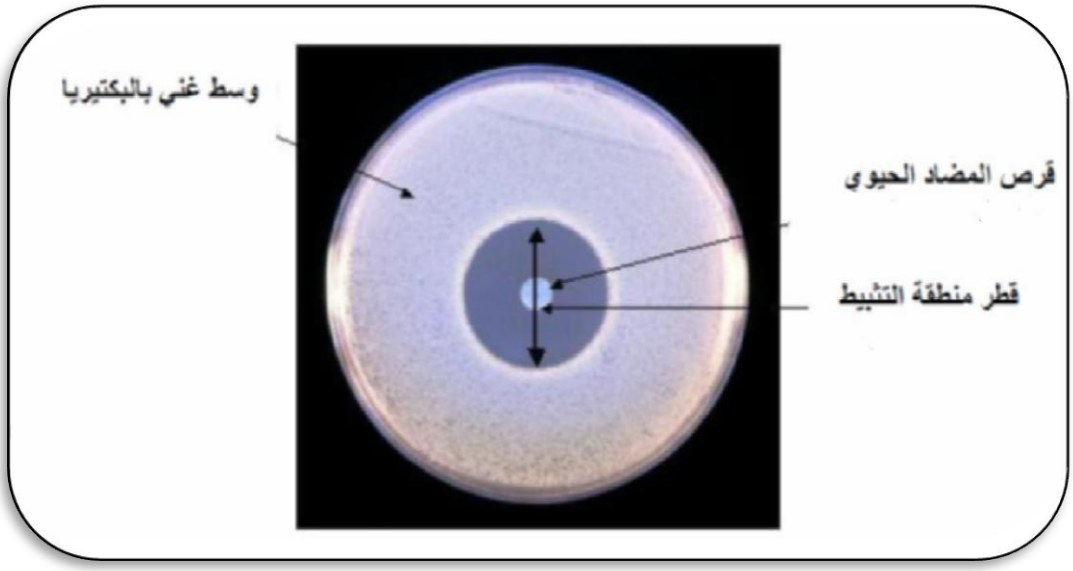
III -2-5-كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي :

III-2-5-1-المبدأ :

إيجاد التركيز الأدنى لتثبيط الجذمة البكتيرية (Inhibitrice) ، بإستعمال مختلف المضادات الحيوية ويسمى (CMI) .

CMI: هو التركيز الأقل للمضاد الحيوي القادر على مواجهة البكتيريات و التثبيط الكامل لها ونقصانها [11] [12].

والشكل رقم 02 يبين قطرمنطقة التثبيط .



الشكلIII-6 : قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الإنتشار .

❖**طريقة الإنتشار (Méthode de diffusion) :**

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على احداث هذا التأثير ، نلجأ الى طريقة Antibiogramme عن طريق

الانتشار على وسط صلب ، حيث تحضر الاقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (او المواد المراد معرفة تاثيرها على البكتيريا) وتوضع في احواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح ، وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الاخرى ، وبالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي[13] ويمكن القول أن :

- البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي اذا كان القطر أقل من 8 ملم
- البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي اذا كان القطر مابين 9و 14 ملم
- البكتيريا حساسة للمضاد اذا كان القطر مابين 15و 20 ملم
- البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي اذا كان القطر أكبر من 20 ملم [14]

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية

[1]عابد أ ، "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران" ، مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ، ص106(2009).

[2] مصطفى د، والاخرون ، "النبات العامة" ، منشاة المعارف ، الاسكندرية ، ص 1100 (1979).

[3] د.محمد عبد المحسن معارج ، "وراثة الأحياء الدقيقة" ، شركة الشهاب للنشر والتوزيع. ص18-20 (1995).

قائمة المراجع باللغة الاجنبية

[4] R.C.Bottger ,Liebigs Ann,Chem ,p109,351,(1859).

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

[6] J.H. Jorgensen, M. J. Ferraro, Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices, Clinical Infectious Diseases,26,p973-980,(1998).

[7] S.Robert-Dernmet , Antibiotique et antibiogrammes ,Décarie Vigot, Montréal , p322,(1995).

[8]D.G.Hollis,RE.Weaver,CN.Baker,C.Thornsberry,Halophilic Vibrio species isolated from blood cultures , journal of clinical microbiol ,p425 (1976).

[9]C.L.Greenblat,J.Baum,BY.Klein,S.Nachshon,V.Koltunov,RJ.Cano,Micrococcus luteus-Survival in Amber , Journal of Microbial Ecology,p120-127(2004).

[10] H.M. Ericsson,J.C. O Sherris, Antibiotic Sensitivity Testing, Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica ,p90 (1971).

[11]V. Guerin-Faublée,C. Carret, L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites, Journées nationales GVT-INRA,p5-12 (1999).

[12] A.W. Baurer,W.M.M. Kirry,J.C.A. Sherries,M. Turch, Antibiotic susceptiblity testing by a standardized single disk method.-Amer,journal of clinical pathology,p493-496 (1966).

[13] A.W.Bauter,W.M.Mkirry,J.C.A.Sherris,M.Truch,Antibiotic susceptibility testing by a standardized single ,Journal of clinical pathology,p493-496 (1966).

[14] G.Poncea,Fritzer,I.Del vallc et Rouras," Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard", Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie(2003).

الجانب العملي

الفصل الرابع

الطرق والوسائل

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة ، أيضا مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي .

IV-1- جمع عينات النبتة المدروسة (*Citrullus colocynthis*):

يعتبر وقت عملية القطف اهم خطوة في استخلاص المادة الكيميائية الفعالة وهذا يعود لكونها تتاثر بمجموعة من المؤثرات أي العوامل

وأبرز هذه العوامل ما يلي :

IV-1-1- وقت الجمع المناسب من فصول السنة :

ان النباتات الطبية المعمرة ، يجب اختيار الفصل المناسب من فصول السنة الذي يلائم كل نوع منها ، خاصة وانها تبقى طوال السنة حاملة للمادة الكيميائية الفعالة في مختلف اجزائها الا ان تركيز المادة الفعالة قد يتغير من فصل لاخر لذلك تم الحصول على عينتين من نبات الحنظل ***(Citrullus colocynthis)*** من منطقتين مختلفتين من ولاية وادي سوف وهما الحمراية وحساني عبد الكريم خلال شهري سبتمبر واكتوبر أي خلال فصل الخريف الذي يعتبر وقت نضج ثمار نبات الحنظل .

IV-1-2- التجفيف :

يتم نشر حبات ثمار الحنظل في الظل على قماش سميك مع الحرص على عدم تعرضها للشمس وتنتهي مدة التجفيف بعد ان نتأكد من عدم وجود الماء في الثمار والتجفيف يسهل عملية السحق ويمنع النبات من التعفن وتستمر هذه العملية من اسبوعين الى ثلاثة اسابيع

IV -1-3-الحفظ :

بعد سحق العينات بواسطة الهاون يتم حفظها في أوعية زجاجية محكمة الغلق ومغلفة بلون اسود بعيدة عن الضوء ، ويجب التأكد من عدم تعفن النبات .[1]

IV -2-الاجهزة والمواد المستعملة :

IV -2-1-المحاليل المستعملة :

- ✓ حمض الغاليك (A.G)
- ✓ حمض الكبريت (H_2SO_4 ; 2%)
- ✓ حمض كلور الماء (HCL;1%,2%,10%)
- ✓ هيدروكسيد الامونيوم (NH_4OH)
- ✓ محلول الروتين (Rutine)
- ✓ محلول ثلاثي كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$; 2%)
- ✓ محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 ; 7.5%)

IV -2-1-1-الكواشف:

- ✓ كاشف فولين (Folin)
- ✓ كاشف ماير (Mayer)
- ✓ كاشف واجن (wagner)

IV -2-1-2-المذيبات العضوية :

- ✓ هكسان (hexane)
- ✓ اثير البترولي (R-O-R')
- ✓ كلوروفورم ($CHCL_3$)
- ✓ أسيتونتريل (ACN)

IV -2-1-3-الكحولات:

- ✓ ميثانول 70% (eau:MeOH/30:70)
- ✓ ايثانول 80% (eau:EtOH/20:80).

IV -2-2-الاجهزة المستعملة :

- ✓ جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية –المرئية (spectrophotomètre UV-Visible).
- ✓ جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur).
- ✓ جهاز كروماتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (HPLC).
- ✓ مخلاط مغناطيسي .
- ✓ ميزان الكتروني حساس .
- ✓ حاضنة
- ✓ معقمة (Autouclave)

المستخلصات المدروسة :

- ✓ مستخلص الكحول الايثانولي لثمار نبات الحنظل لمنطقة الحمراية (A)
- ✓ مستخلص الكحول الايثانولي لثمار نبات الحنظل لمنطقة حساني عبد الكريم(B)
- ✓ مستخلص المائي لثمار نبات الحنظل ('A)
- ✓ مستخلص المائي لثمار نبات الحنظل منطقة حساني عبد الكريم ('B)

IV -3- الكشف عن مواد الايض الثانوي في ثمار نبات الحنظل (*Citrullus colocynthis*) :

IV-3-1-الكشف عن أملاح القلويدات :

نأخذ 1غ من المسحوق الجاف ونضيف لها 10مل من الايثانول ، نرج لمدة ساعة ثم نرشح .

نبخر 2 مل من محلول الايثانول ، نضيف للراسب 5مل من حمض الكلور (10%HCL) نسخن قليلا ونرشح ، المحلول الناتج نضيف له قطرات من هيدروكسيد الامونيوم حتى يصبح المحلول قاعدي (PH=9).

نستخلص المحلول بثنائي ايثيل ايثر ثم نبخر المذيب ، ونضيف للراسب قليل من حمض الكلور

(2% HCL) ثم نضيف قطرات من كاشف ماير (Mayer) وكاشف واجن (Wagner)، ان ظهور الراسب يدل على وجود القلويدات .[2]

IV-3-2-الكشف عن الفينولات :

باضافة قطرات من محلول كلوريد الحديد الى المحلول الفينولي ستحول الى لون بنفسجي [3]

IV-3-3-الكشف عن الفلافونيدات :

نأخذ 2غ من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونضعها في 30مل من حمض الكلور

(1% HCL) ثم تترك لمدة 24ساعة ، نقوم بعملية الترشيح ونجري الاختبارات التالية :

نأخذ 5مل من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الامونيوم حتى القاعدية ، نلاحظ ظهور اللون الاصفر الفاتح دليل على وجود الفلافونيدات .[4]

IV-4-استخلاص المركبات الفينولية :

IV-4-1-تعريف الاستخلاص :

الاستخلاص عملية فصل فيزيائية تتضمن فصل سائلين أو أكثر عن بعضهما البعض وهذه العملية تتطلب وجود سائل اخر ليضاق لهما وله خاصية الذوبان مع احد مكونات الخليط الاساسية ، وعند اضافة هذا السائل للخليط (ويسمى المذيب solvant) يذيب جزءا من السائل المراد فصله من الخليط ويكونان معا طبقة من مزيج غير ذائبة في المحلول المتبقي ويسمى(المستخلص) وما تبقى من الخليط الاساسي مع ما تبقى من المذيب يسمى المصفى

وفي عملية الاستخلاص يتم الاستخلاص طبقا للخواص الكيميائية والفيزيائية لمواد الخليط ، والمستخلص المذيب يستخدم للفصل احيانا بدلا من التقطير او التبخير [5]

IV-4-1-1-استخلاص سائل - سائل :

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

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

ويمكن لنا التأثير بعدة عوامل هي :

- اختيار المذيب العضوي .

- الـ pH (حمضية المحلول).

- تشبع الوسط المائي أو عدم تشبعه .[6] [7]

IV-4-1-2-استخلاص صلب – سائل :

أي مبدأ مهما كانت دقته للحصول على مستخلص نقي أو جزيء نقي يبدأ دائما باستخلاص صلب – سائل حسب عدة متغيرات .

❖ **الانقاع في البارد :**

هذه الطريقة تعتمد على وضع مسحوق النبات الطبي أولا مع الماء أو مزيج من الماء والكحول أو مزيج من الماء والكحول وغليسيرين خلال زمن متغير من 2 الى 21 يوم عند درجة الحرارة العادية وهذه الطريقة تستعمل للحصول على مستخلصات رطبة ومستخلصات جافة مائية .

❖ **الاستخلاص بالساخن :**

توجد طرق مختلفة للاستخلاص بالساخن وأهمها :

- **عملية الانقاع :** التي تعتمد على سكب الماء المغلي على المسحوق النباتي الطبي وتركها تنقع خلال زمن متغير

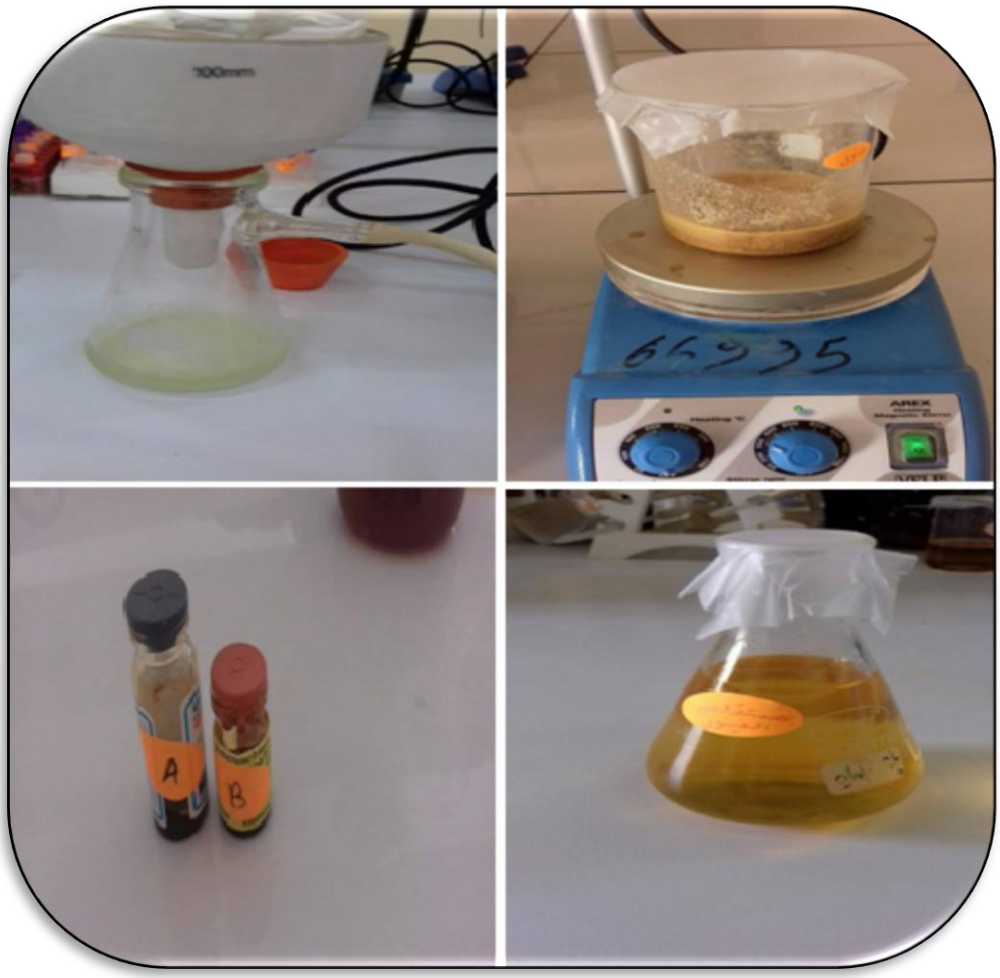
- **الاستخلاص بالغليان :** التي تعتمد على الحفاظ على المسحوق في الماء المغلي خلال زمن معين بعد التركيز والتجفيف تستعمل هذه الطريقة لتحضير مستخلصات رطبة ومستخلصات جافة .

أيضا الاستخلاص المائي الساخن تستعمل عامة للحصول على جزيئات قطبية [6] [7]

IV-4-2- طريقة استخلاص المركبات الفينولية من ثمار نبات الحنظل :

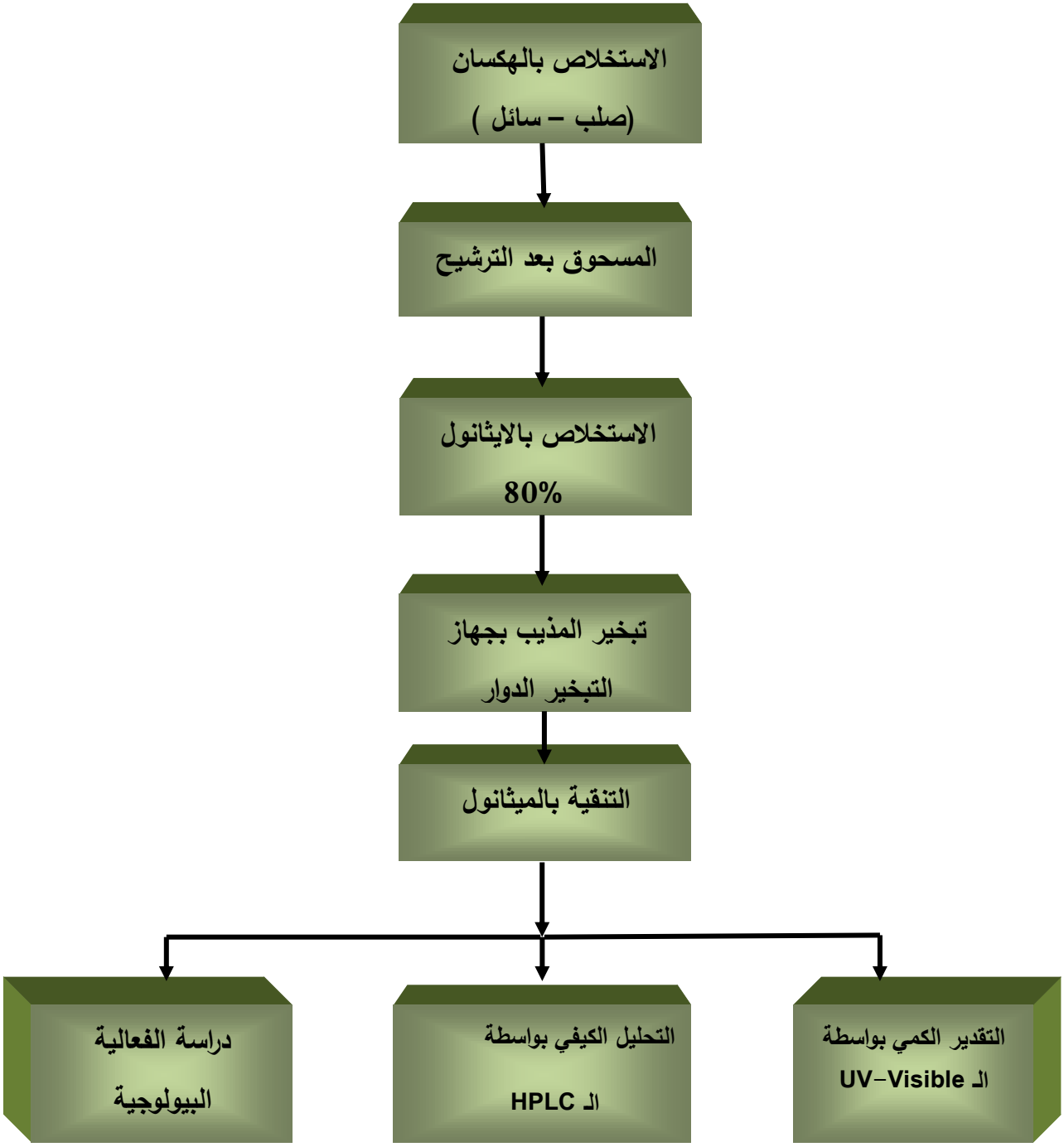
نأخذ وزن قدره 30غ من مسحوق كل عينة من عينات ثمار نبات الحنظل ونقوم بنقعها في حجم قدره 150 مل من الهكسان ، نقوم بالتحريك لمدة ساعة واحدة ونتركه مدة 24 سا في درجة حرارة الغرفة ، نضيف الى المسحوق بعد الترشيح 150 مل من الايثانول 80% بعد التحريك تترك 24 سا اخرى ، ثم نقوم بعملية الترشيح ، نكرر عملية الاستخلاص بالايثانول مرتين على الاقل وذلك لفصل افضل . ثم نجمع الاطوار المفصولة ويعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur)

نقوم بتنقية المستخلص الخام باضافة كمية من الميثانول ونعيد تركيزه لنتحصل في الاخير على المستخلص الخام [8]. ثم يتم وزن هذه المستخلصات لنتحصل على مردود الاستخلاص



الصورة IV-1: مراحل استخلاص المركبات الفينولية .

والمخطط التالي يلخص خطوات العمل :



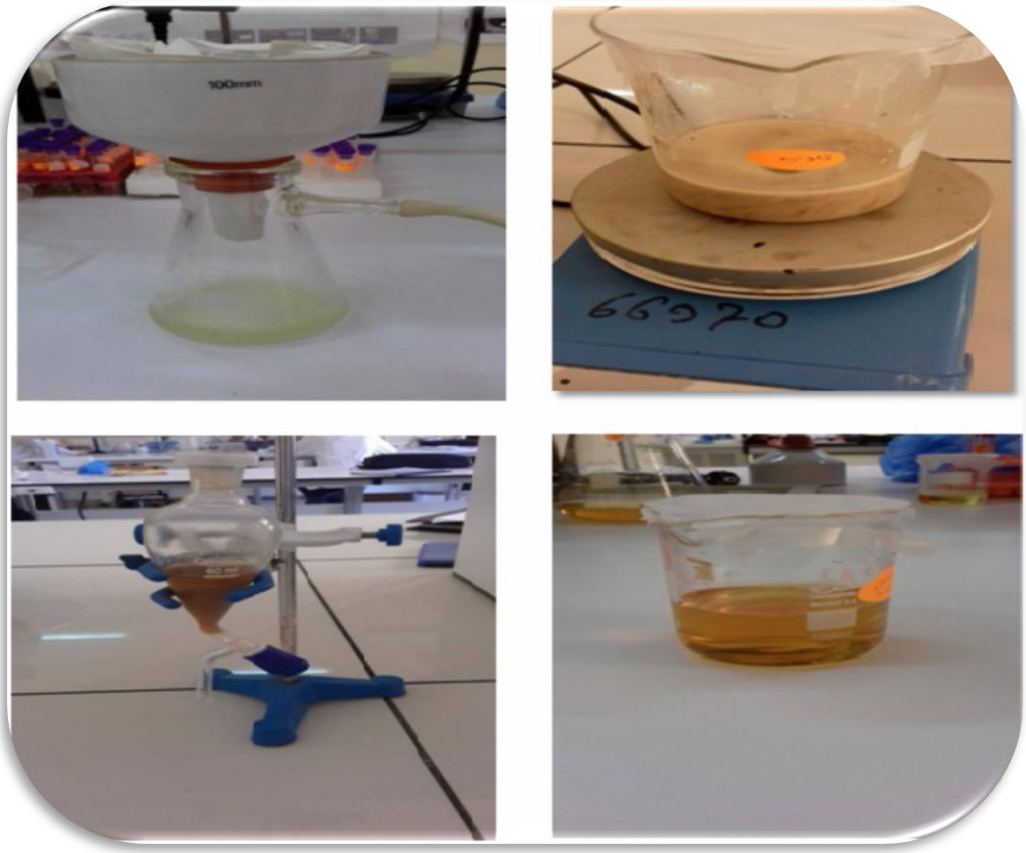
الشكلIV -1: مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص الفينولات.

IV-5- استخلاص المركبات القلويدية :

ناخذ وزن قدره 50 غ من مسحوق كل عينة ونقوم بعملية النقع في حجم قدره 100 مل من الايثر البترولي بعد ذلك نقوم بعملية التحريك لمدة ساعة . نترك المزيج لمدة 24 ساعة اخرى في درجة حرارة

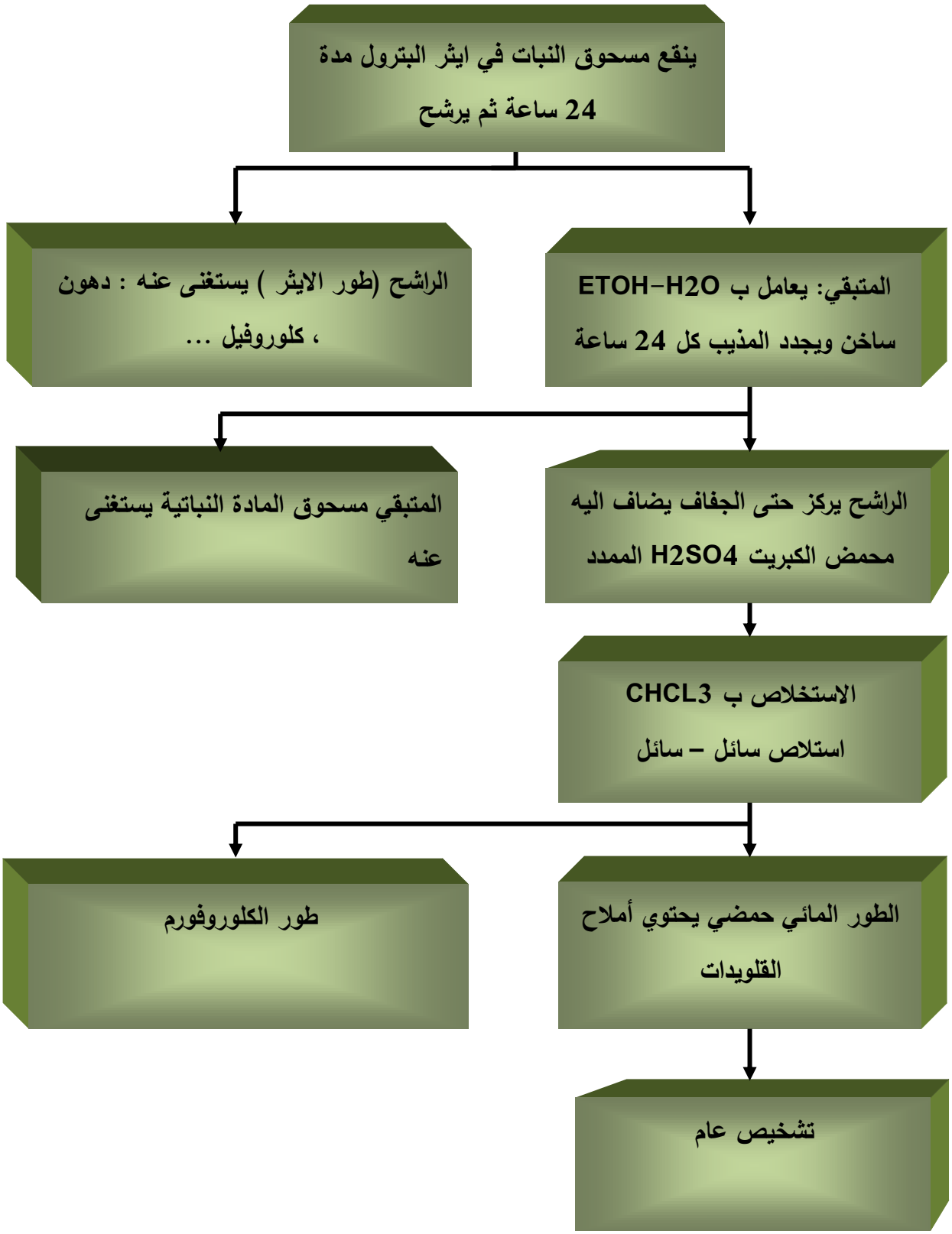
الغرفة ، بعد ذلك نقوم بالترشيح ونضيف للمسحوق 100مل من الايثانول 80% بعد التحريك يترك ل 24سا ، ومن ثم نقوم بعملية الترشيح ، نكرر عملية الاستخلاص بالأيثانول لاكثر من مرة . الاطوار الفصولة نقوم بجمعها ويعاد تركيزها (تبخير المذيب) بواسطة جهاز التبخير الدوار (Rotavapeur) حتى الجفاف ثم يضاف للراسب 10مل من حمض الكبريت H_2SO_4 الممدد 2% ، ثم نقوم بعملية الاستخلاص بواسطة الكلوروفورم $CHCl_3$ (استخلاص سائل – سائل) فنتحصل على طورين طور مائي وطور عضوي [9]

الطور المائي حمضي يحوي على الاملاح القلويدية نقوم بتبخير الماء منه لنتحصل في الاخير على الاملاح القلويدية



الصورة IV-2: مراحل استخلاص الأملاح القلويدية

والمخطط التالي يلخص خطوات العمل :



الشكل IV-2: مخطط يوضح طريقة العمل لاستخلاص الأملاح القلويدية.

IV-6-التقدير الكمي بواسطة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية :

IV-6-1-مطيافية الاشعة فوق البنفسجية – المرئية Spectrophotométre UV-Visible

كانت هذه الطرق تعرف قديما بالطرق اللونية ، حيث استخدمت العين لتقدير تركيز المجهول وذلك بمقارنة لون المجهول مع ألوان محاليل قياسية من نفس المادة . حاليا تستخدم أجهزة تسمى الاجهزة الطيفية spectrophotometers للتحليل بدلا من استخدام العين تعتمد هذه الطرق على امتصاص الاشعة المرئية وفوق البنفسجية بواسطة حزيئات المادة في المحلول ، ويتناسب هذا الامتصاص طرديا مع التركيز حسب قانون لامبرت- بير $A=\varepsilon bc$

المواد الملونة أو التي يمكن تلوينها باضافة كواشف طيفية تحلل بناءا على امتصاصها للاشعة المرئية visible بينما المواد العضوية وبعضا من المركبات غير العضوية والتي تحتوي على مجموعات مثل

NO^{-}_{3} ، SO^{-2}_{4} ، .....الخ يتم تحليلها في الغالب بناءا على امتصاصها للاشعة فوق البنفسجية

(Ultra-Violet)

يتكون الضوء المرئي من ألوان متعددة وكل لون له مدى معين من طول الموجة [10]

IV-6-1-1-مبدأ العمل :

يتكون جهاز الطيف الذري من قسمين رئيسين هما المصدر الضوئي لأي طول موجي محدد(ومقياس كثافة الضوء)، حيث يتم وضع السائل المراد قياس تركيز العناصر الموجودة بداخله في حامل العينة (Cuvette)، ثم يتم وضع العينة بين المصدر الضوئي والكاشف ، وعند تعرض الكاشف الضوئي للضوء فانه يتولد على أقطابه اشارة كهربائية تتغير بتغير كمية الضوء الممتصة من قبل السائل ، حيث يعتمد تغير امتصاص العينة للضوء على تغير تركيز المادة في المحلول وبالتالي يمكن حساب التركيز بالاعتماد على امتصاص الضوء عند طول موجي محدد ، فعلى سبيل المثال الهيموغلوبين يكون أحمر اللون لان الهيموغلوبين يمتص اللونين الازرق والاخضر أكثر من اللون الاحمر ، حيث ان درجة امتصاص الهيموغلوبين للضوء الازرق والاخضر يتناسب مع تركيز الهيموغلوبين ، فعندما نمرر ضوءاذا طول موجي محدد خلال المحلول فان هناك علاقة بين تركيز المذاب وكمية الضوء المنقولة حسب قانون Lambert Beer

$$A = \log I_0/I$$

حيث :

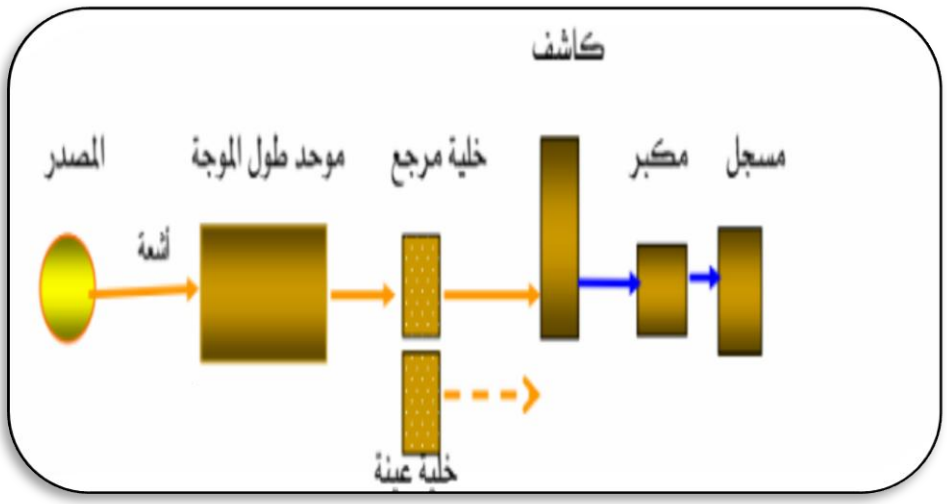
I_0: شدة الضوء الوارد

I: شدة الضوء الصادر[11]

IV-6-1-2-مكونات الجهاز :

توجد مجموعة مختلفة من الاجهزة والتي تختلف عن بعضها في التصميم منها الفوتوميتر والاسبكتروفوتوميتر وهذه الاجهزة تتكون اساسا من اربعة أجزاء رئيسية وهي:

- المصدر (source)
- وحدة التحكم في الاطوال الموجية (monochromator)
- وحدة العينات (cells)
- الكاشف او المقدر (detector)



الشكل**IV-3:** مكونات جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible.

IV-6-2-التقدير الكمي للمركبات الفينولية :

تم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau حسب طريقة

(Single ton,Ross 1965) وحمض الغاليك كاساس مرجعي ، كاشف فولين يتغير لونه من الاصفر الى الازرق بالاكسدة .

IV-6-2-1-رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك :

❖ **تحضير المحاليل :**

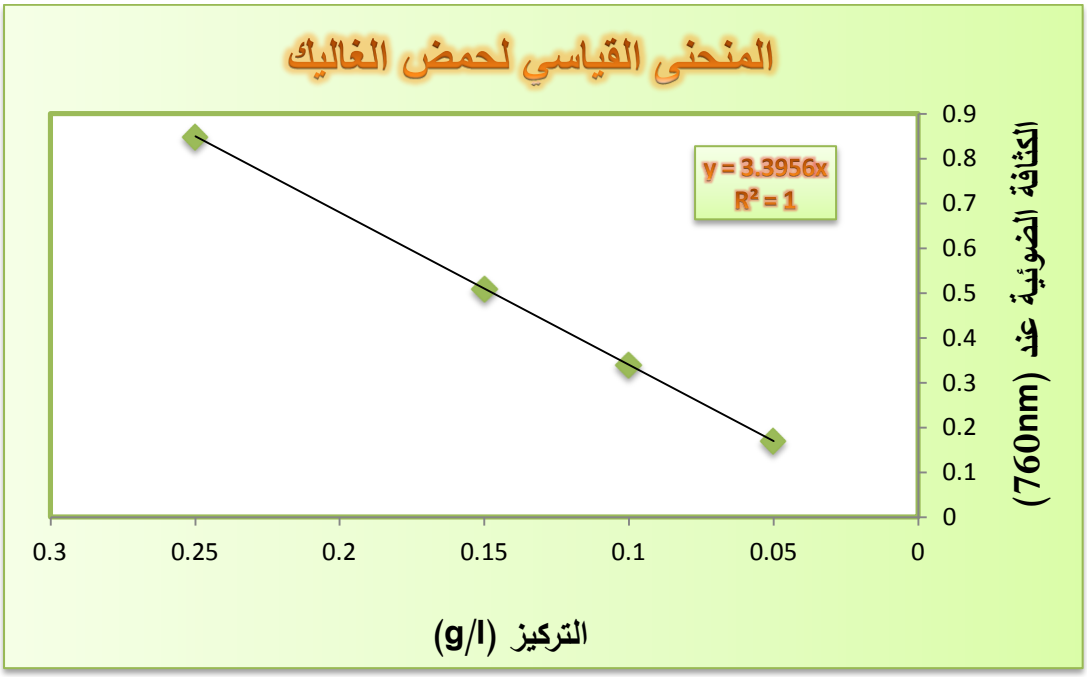
تم تحضير تراكيز مختلفة من حمض الغاليك تكون محصورة بين 0.03mg /ml و 0.3mg/ml في كل انبوب اختبار نضع 0.5ml من المحلول المحضر ونضيف له 0.5ml من كاشف (folin) الممدد ونضيف لهم 0.8ml من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) تركيزه 7.5% ، نرج الانابيب جيدا ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة وتتم قراءة الامتصاصية بجهاز

(UV-Visible) عند طول الموجة λ_{max}=760nm

قيم الامتصاصية مدونة في الجدول(IV-1):

التركيز ملغ /مل	0.05	0.1	0.15	0.25
الامتصاصية A	0.1698	0.3397	0.509	0.849

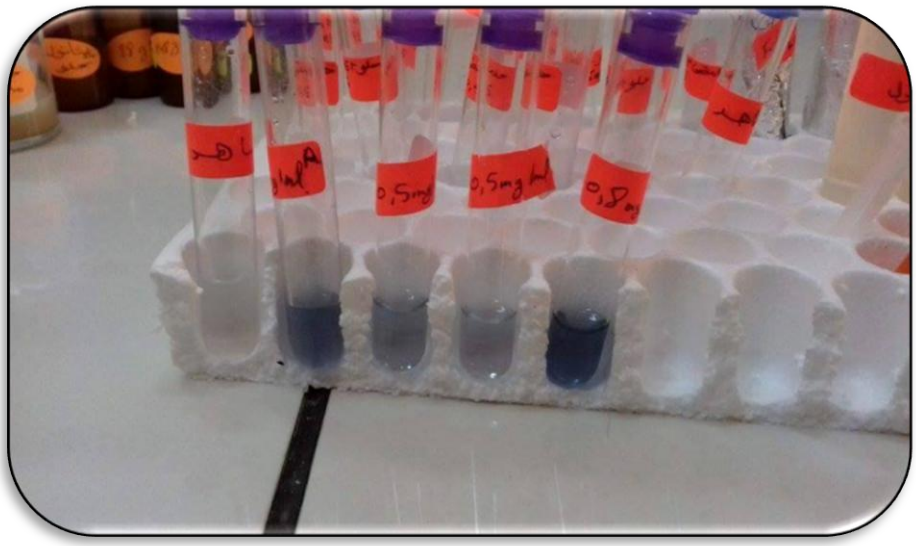
انطلاقا من النتائج المدونة في الجدول نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز ب g/l)



المنحنى IV-1:المنحنى القياسي لحمض الغاليك.[12]

IV-6-2-2-التقدير الكمي للفينولات في المستخلصات :

تعامل المستخلصات بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الغاليك ناخذ 0.5ml من كل مستخلص ونضيف له 0.5ml من كاشف فولين و 0.8ml من (Na_2CO3) ونتركها في الظلام مدة 30 دقيقة ، نستخدم المنحنى القياسي لحمض الغاليك لحساب تراكيز الفينولات في مختلف المستخلصات .



الصورة IV-4: المحاليل بعد اضافة كاشف فولين.

IV-6-3-التقدير الكمي للفلافونويدات :

نستعمل في هذه التجربة فلافونيد الروتين (Rutine) كفلافونويد مرجعي لرسم المنحنى القياسي حيث تعتمد هذه الطريقة على قدرة تكوين المعقد الاصفر بين ثلاثي كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافانويدات

IV-6-3-1-رسم المنحنى القياسي لحمض الروتين :

❖ **تحضير المحاليل :**

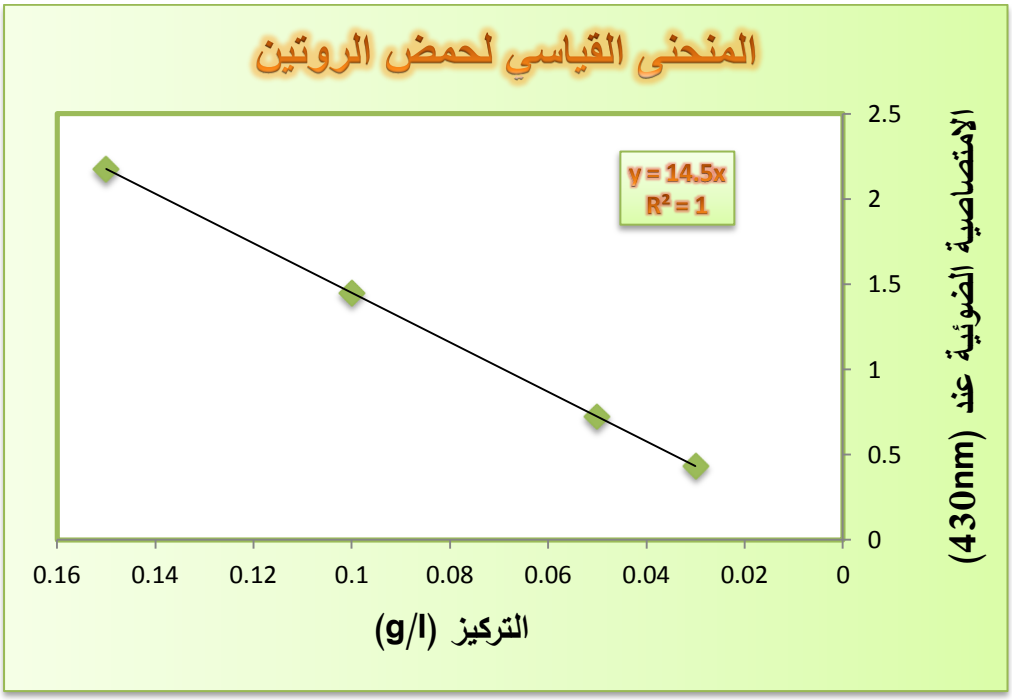
تم تحضير تراكيز مختلفة من محلول الروتين (Rutine) الممدد في الميثانول محصورة مابين

(0.03ملغ /مل و0.3 ملغ /مل) في انابيب اختبار ونظيف لها 1مل من ثلاثي كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) 2% يترك المزيج ساعة في الظلام حتى اتمام التفاعل ثم نقرأ شدة الامتصاص الضوئي لكل محلول عند طول الموجة λ_{max}=**430nm**

قيم الامتصاصية مسجلة في الجدول التالي(IV-2) :

التركيز ملغ /مل	0.03	0.05	0.1	0.15
الامتصاصية	0.434	0.724	1.449	2.174

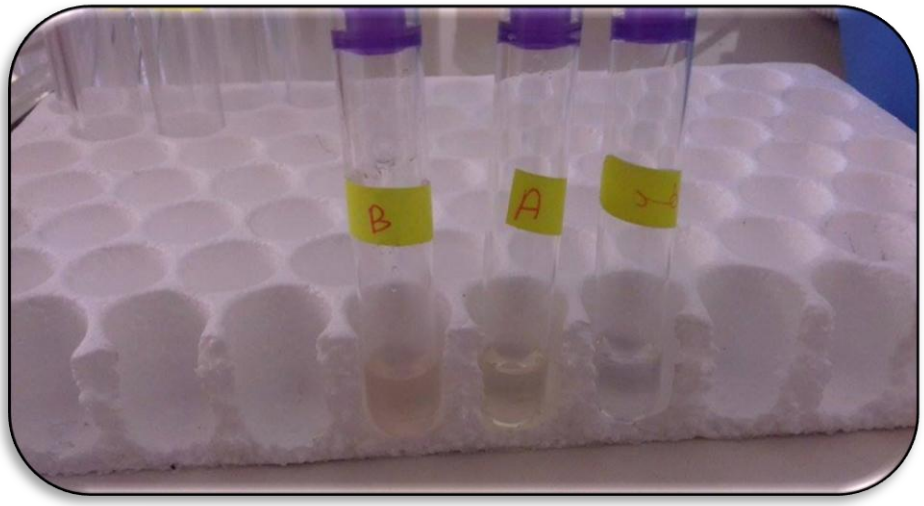
انطلاقا من النتائج المدونة في الجدول نرسم المنحنى القياسي للروتين الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز ب (g/l).



المنحنى IV-2: المنحنى القياسي لحمض الروتين. [13]

IV-6-3-2-التقدير الكمي للفلافونيدات في المستخلصات :

نعامل المستخلصات الممددة بنفس معاملة حمض الروتين وبعد الحصول على قيم الامتصاصية الضوئية لهذه المحاليل الممددة وبمساعدة المنحنى القياسي لحمض الروتين نحسب تركيز الفلافونيدات في العينات .



الصورة IV-4: المحاليل بعد اضافة ثلاثي كلوريد الالمنيوم.

IV-7-التحليل الكيفي بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC)

IV-7-1-الكروماتوغرافيا السائلة ذات الكفاءة العالية (HPLC):

IV-7-1-1-مدخل :

كان من اهم احدث تقنيات الكروماتوغرافيا في العام 1966م تطور كروماتوغرافيا السائل الى مايعرف الان بكروماتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية . حيث كانت تستغرق عمليات الفصل والجمع والتحليل بواسطة كروماتوغرافيا السائل التقليدي عدت ساعات لذا فكر الباحثون في تطويره وتوصلوا الى الطريقة التي تسمى الكروماتوغرافيا السائلة ذو الظغط العالي او الكفاءة العالية ، حيث تم التطوير بادخال نظام جديد للحقن (الحقن بواسطة الصمام) وادخال كواشف حديثة للكشف عن المواد لحظة خروجها من العمود وعليه يتم الفصل والكشف في دقائق معدودة .

في هذا النوع يستخدم عمود من الحديد أو الزجاج المقاوم للظغط والذي يعبأ بحبيبات صغيرة تتراوح قطرها من من 5الى 50 مايكروميتر من السيليكا النفاذ أو الالومينا أو الراتنجات بالنسبة للطريقة الامتزازية (طور ساكن صلب) ، أو تكون هذه الحبيبات مغطاة (مطلية أو مرتبطة كيميائيا) بطبقة رقيقة من سائل بالنسبة للطريقة التجزيئية .

IV-7-1-2-المبدأ:

تحقن مكونات العينة ثم يتم فصلها عن بعضها بناءا على اختلاف اتزان التوزع لكل مكون بين الطور الساكن السائل والطور المتحرك السائل .التركيز النسبي للمكون في الطور الساكن Csالى الطور المتحرك Cm يعبر عنه بمعامل التجزؤ K

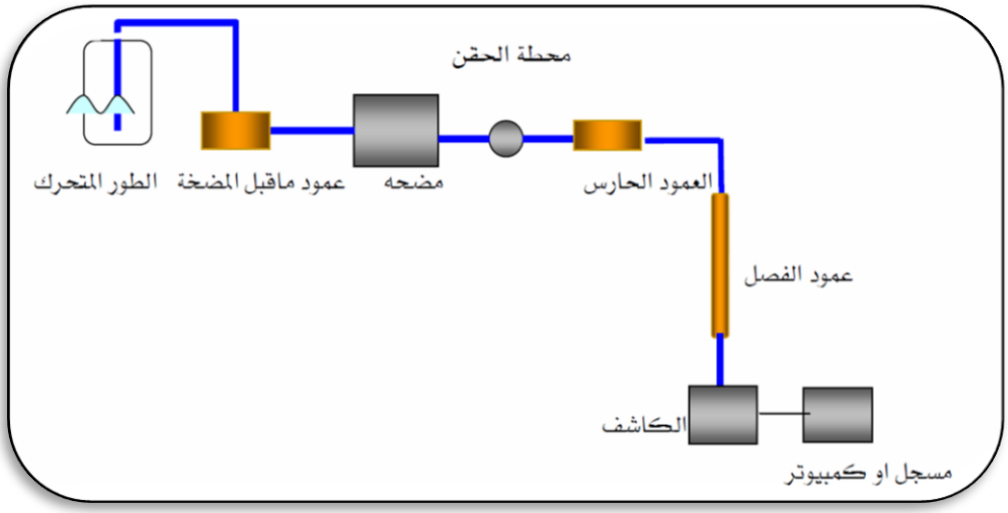
$$K = \frac{cs}{cm}$$

المعادلة اعلاه توضح أن حركة المكون تتناسب عكسيا مع معامل التجزؤ أي أن المكون ذو معامل التجزؤ لمكونات الخليط ويمكن الوصول الى هذا بتغيير ظروف التجربة مثل تغيير تركيب الطور المتحرك وتغيير الطور الساكن ودرجة الحرارة .[14]

IV-7-1-3-مكونات الجهاز:

يتكون الجهاز من الاجزاء الرئيسية التالية :

- مستودع الطور المتحرك
- المضخة
- محطة الحقن
- العمود
- الكاشف
- وسيلة لتسجيل الكروماتوغرام (مسجل أو كمبيوتر)



الشكل IV-4 : مكونات جهاز HPLC [15]

IV-7-2-التحليل الكيفي:

وللتأكد من وجود المركبات الفينولية وعددها نستعمل جهاز الـ HPLC بغرض التحليل الكيفي ، وذلك بحقن عينة المركب المرجعي لمعرفة زمن المكوث المميز له ، ثم نحقن بعد ذلك العينة المراد تحليلها في نفس شروط حقن المركب المرجعي وبنفس الحجم (20µl)بتركيز 5ملغ /مل من الميثانول 100%، ثم نقرأ على الكروماتغرام زمن المكوث للمركبات المكونة للعينة ونقارنها مع القيم المرجعية ، وبذلك محدد المركبات الفينولية التي تم تحديد زمن مكوثها والمدون في الجدول (IV -3):

الجدول IV –3: زمن المكوث للفينولات المرجعية .

المركبات الفينولية المرجعية	زمن المكوث t_r(min)
حمض الأسكوربيك	4.21
حمض الغليك	5.23
حمض الكلوروجينيك	13.62
حمض الكافييك	16.3
كرستين	20.37
الفانيلين	21.46
حمض بيوكومارين	23.95
الروتين	28.22

IV–7–2–1:شروط التجربة :

الجدول (IV –4) يوضح الشروط التجريبية لجهاز ال HPLC لفصل المركبات الفينولية في العينات المدروسة :

الجدول IV–4: الشروط التجريبية لجهاز ال HPLC لفصل المركبات الفينولية

العامل	الشروط
النظام	الطور المعكوس Rp–HPLC
العمود	(25cm×46cm)C18
حجم الحقن	20µl
معدل الحقن	1ml/min
طول الموجة	λ=300nm
الزمن	50min
درجة الحرارة	25C°
الطور المتحرك	acetonitrile:(A) (0.2% acide acetique):(B)

تغيرات نسب الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن موضحة في الجدول (IV -5):

الجدول IV-5:تغيرات نسبة الطور المتحرك A وBبدلالة الزمن .

الزمن (min)	نسبة % (A)	نسبة % (B)
0.01	10	90
0.02	10	90
6.00	14	86
16.00	17	83
23.00	19	81
28.00	23	77
30.00	10	90
50.00	10	90

IV-8-الدراسة البيولوجية :

تتمثل الدراسة البيولوجية في سلالات الاختبار ومستخلصات ثمار النبتة وتهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات على البكتيريا من خلال اختبارات عياريه وصيدلية وكذلك طبية

IV-8-1-جمع السلالات البكتيرية المستهدفة :

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخبر مستشفى بشير بالناصر

IV-8-2-تحضير محاليل المستخلصات المائية والميثانولية :

تم تحضير ثلاث تراكيز لكل مستخلص (1 ، 10،100) ملغ/مل ، حيث اذيبت المستخلصات الخام الفينولية في كحول الايثانول 80% ، اما الاملاح القلويدية فقد اذيبت في ماء مقطر .

IV-8-3-تحضير الأقراص :

تم قص ورق الترشيح Whatman الى اقراص بقطر 7 ملم ثم وضعت هذه الاقراص في انبوب اختبار زجاجي يحتوي على 10 مل ماء مقطر ومن ثم وضعت في جهاز المعقمة (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120 م° بعدها تم التخلص من الماء ثم نقلت الاقراص الى الحاضنة حتى تجف

IV-8-4-تحضير وسط الزرع :

نقوم باذابة الوسط المغذي Muller Hinton في حمام مائي من ثم نسكب كميات محددة في كل علبة بيتري بمقدار 20مل ثم يترك حتى يتصلب ويوضع في الفرن مدة كافية لازالة الرطوبة المتبقية

IV-8-5-تحضير المعلق البكتيري :

نأخذ في كل مرة جذمة (عينة) من احدى الانواع البكتيرية بواسطة ماصة باستور ونضعها في زجاجية تحوي ماء فيزيولوجي ثم نقوم برج بسيط ونسكب قطرات منه في علبة بيتري التي تحتوي وسط الزرع المحضرة مسبقا ونقوم بالتحريك حتى تتوزع كليا على الوسط ثم نقوم بسكب الكمية الزائدة من ثم تترك في الحاضنة مدة 15 دقيقة في الحاضنة في درجة حرارة 37م°

IV-8-6-وضع الاقراص المشبعة بتراكيز المستخلصات :

❖ **بالنسبة للمستخلصات الفينولية**

نضع ثلاث اقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا للمستخلصين الفينوليين A و B داخل علب بيتري مع قرص مشبع بشاهد ايثانول 80% وذلك بواسطة ملقط (Pince)

معقم توضع الاقراص بعيدة عن حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية ، ثم نقلب العلب (من اجل التخلص من بقايا الماء) وندخلها الحاضنة تحت درجة حرارة 37 م ° ولمدة يوم كامل

❖ **بالنسبة للمستخلصات القلويدية**

نضع ثلاث اقراص مشبعة بالتراكيز المحضرة سابقا بالمستخلصين القلويديين A و B داخل علب بيتري وذلك بواسطة ملقط (pince) معقم توضع الاقراص بعيدة ع حافة العلبة وعلى بعد مسافات متساوية ، ثم نقلب العلب وندخلها الحاضنة تحت درجة حرارة 37م° ولمدة يوم كامل

IV-8-7-أنواع البكتيريا المدروسة :

- ❖ بكتيريا Escherichia coli
- ❖ بكتيريا Staphylococcus
- ❖ بكتيريا Vibrio vulnificus
- ❖ بكتيريا Micrococcus luteus,

المراجع

قائمة المراجع باللغة العربية :

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

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

[8] سوسن علي حميد الحلفي ، أم البشر حميد جابر الموسوي ، الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه ، مجلة أبحاث البصرة ، العلميات (2011).

[12] عبد الكريم ربيعي، " المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية ، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء التحليلية ومراقبة المحيط ، جامعة قاصدي مرباح ،ورقلة ، ص35(2010).

[13] صليحة مود ،" استخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال ودراسة فعاليتها البيولوجية "، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء ، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، ص71(2016).

قائمة المراجع باللغة الاجنبية

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

[4]K.Benzahi," Contributon àl'ètude des flavonoides dans la

Plante cynodon Dacÿlon-L <<chiendent>>", mèmoides de

Magistèi. Universitè de Ouargla ,P15-17(2001).

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

[6] K.Hosttmann,M.Hostettman, Brocédés modernes d'isolement des substances nafurelles biologiquement active,Ler congrés international sur les plantes et substances naturalles d'intérét thérapeutique, Monastir,(1986).

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

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

[10] S.Asadi , A.Ahmadiam,A.Ali Esmaeili ,A.Sonboli,N.Khodagholi,In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six salvia species from iran: Acomprative study ,Food Chemical Toxicology,(2010).

[15] T.Sirard , Fundamentals of HPLC .water corporation ,the science of what spossible ,p103(2012).

مواقع الانترنت

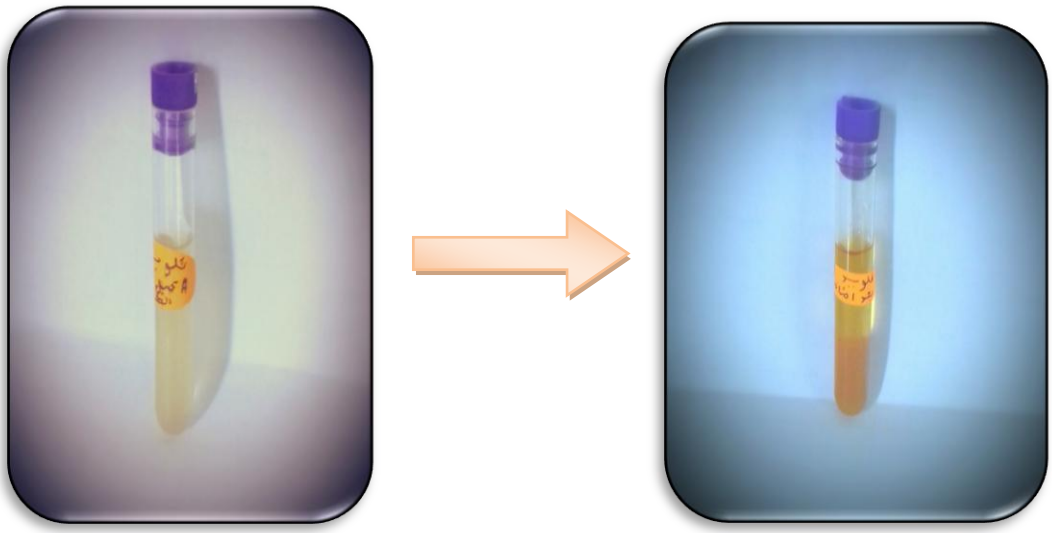
[11] http://alasedka.ahlamontada.com (06/04/2017)

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

V-1-الكشف عن مواد الايض الثانوي في ثمار نبات الحنظل (*Citrullus colocynthis*):

الكشف عن أملاح القلويدات :

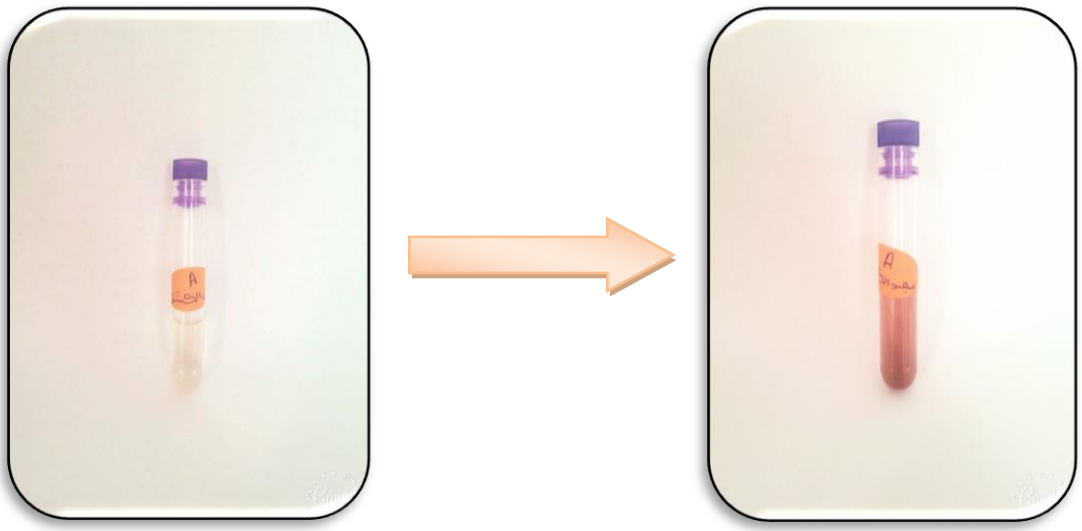


بعد الكشف **قبل الكشف**

الصورة V-1 : الكشف عن أملاح القلويدات.

نلاحظ ظهور راسب وهذا دليل على وجود القلويدات

الكشف عن الفينولات :

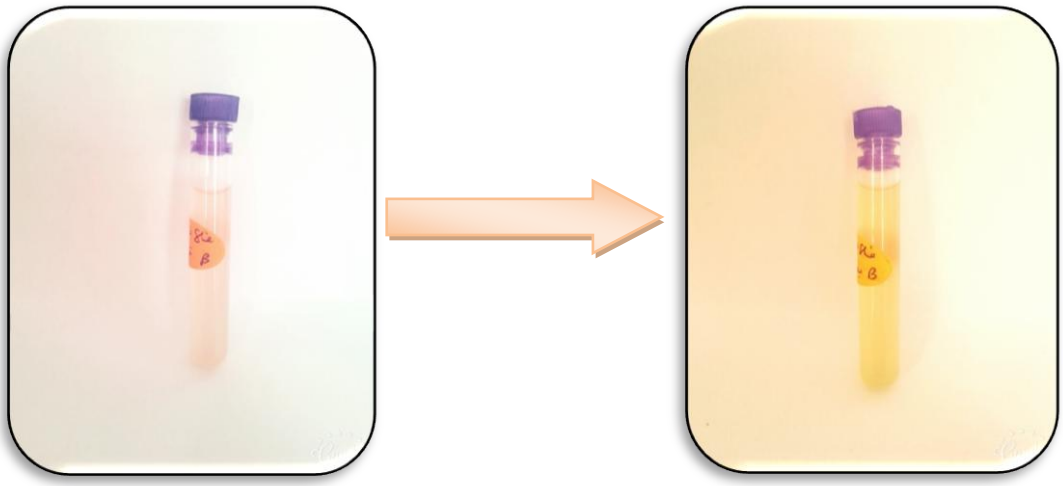


بعد الكشف **قبل الكشف**

الصورة V-2: الكشف عن الفينولات

نلاحظ ظهور اللون البنفسجي وهذا دليل على وجود الفينولات

الكشف عن الفلافونيدات :



بعد الكشف **قبل الكشف**

الصورة V-3: الكشف عن الفلافونيدات

نلاحظ ظهور اللون الاصفر وهذا دليل على وجود الفلافونيدات .

V -2- مردود الاستخلاص :

نرمز لمردود المستخلصات بالرموز التالية :

- ✓ مستخلص الكحول الايثانولي لثمار نبات الحنظل منطقة الحمراية (A)
- ✓ مستخلص الكحول الايثانولي لثمار نبات الحنظل منطقة حساني عبد الكريم (B)
- ✓ مستخلص المائي لثمار نبات الحنظل منطقة الحمرايا ('A)
- ✓ مستخلص المائي لثمار نبات الحنظل منطقة حساني عبد الكريم ('B)

$$R\% = m_f / m_i \quad \text{...................... (1-V)}$$

R%:المردود %

m_f: الكتلة النهائية

m_i: الكتلة الابتدائية

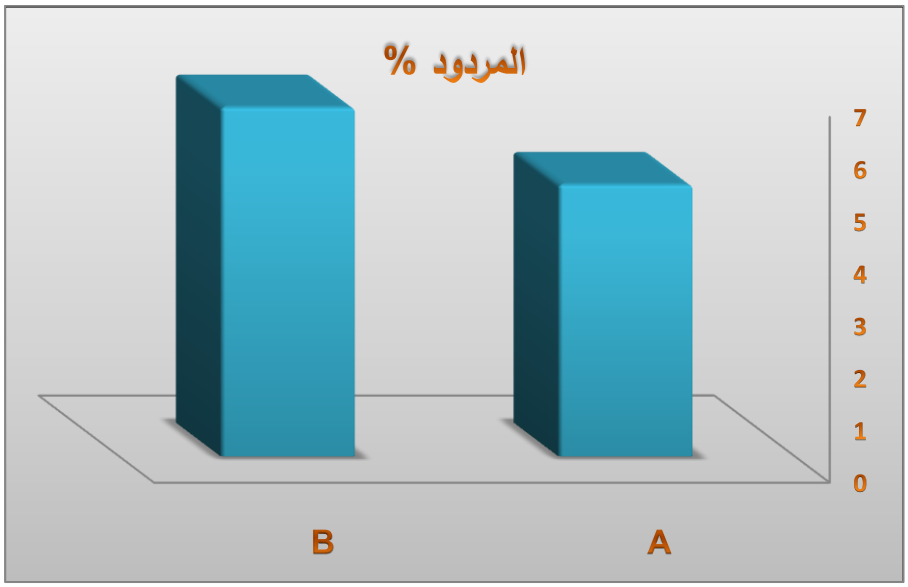
بعد عملية الاستخلاص تحصلنا على النتائج المدونة في الجدول (1-V):

الجدول V-1: مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية .

العينة	الكتلة الاولية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المردود %
A	30	1.56	5.2
B	30	2.006	6.68

من خلال النتائج المبينة في الجدول نجد أن مردود الاستخلاص بالنسبة للعينة B أكثر من مردود العينة A هذا ما يدل على أن محتوى المركبات الفينولية في ثمار العينة B أكثر منها في نوع العينة A وعلى العموم فان مردود الاستخلاص متوسط .

مردود الاستخلاص للعينات A و B موضح في الشكل الموالي:



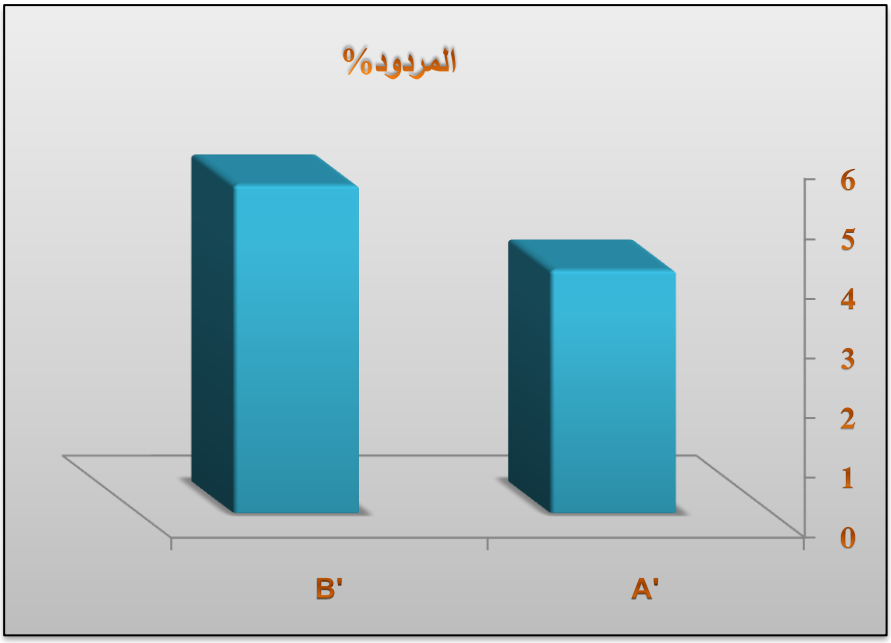
الشكل V-1 : مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للمركبات الفينولية .

الجدول V-2: مردود الاستخلاص للاملاح القلويدية

العينة	الكتلة الابتدائية (غ)	الكتلة النهائية (غ)	المردود %
A'	50	2.07	4.06
B'	50	2.74	5.48

من خلال النتائج المبينة في الجدول نجد أن مردود الاستخلاص بالنسبة للعينة B' اكثر من مردود العينة A' هذا مايدل على أن محتوى الاملاح القلويدية في ثمار العينة B' أكثر منها في نوع العينة A' وعلى العموم فان مردود الاستخلاص متوسط .

مردود الاستخلاص للعينات 'A و 'B موضح في الشكل الموالي:



الشكل V-2: مخطط يوضح نسبة مردود الاستخلاص للاملاح القلويدية .

V-3- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible:

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

الجدول V-3: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة .

العينة	A	B
التركيز (ملغ/مل)	0.8	0.8
الامتصاصية	0.481	0.717

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات ، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 1غ من المستخلص .

$$Y=3.3974x \qquad \text{(2- V)}$$

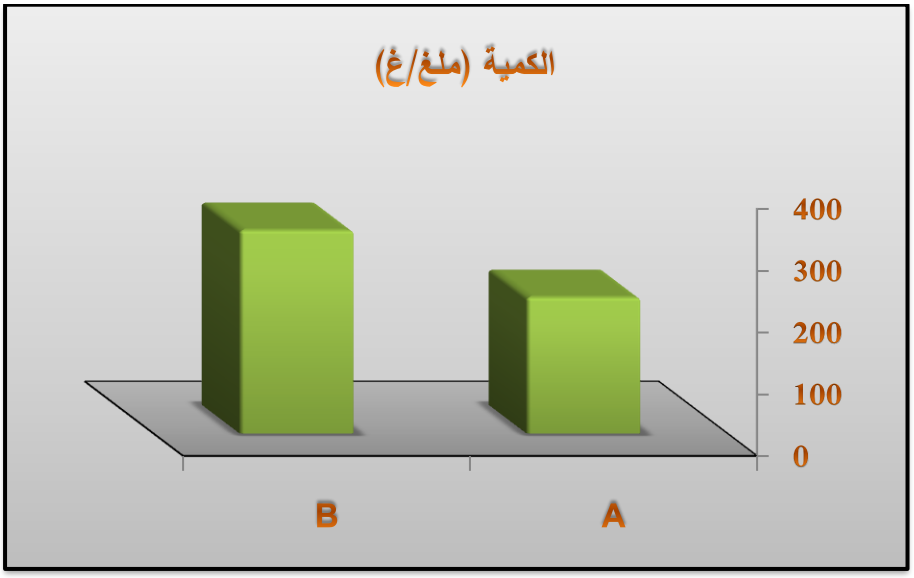
النتائج مدونة في الجدول (V-4) :

الجدول V-4: كمية الفينولات الكلية في المستخلصين

العينة	A	B
الكمية (ملغ / غ)	220.312	328.75

تتواجد المركبات الفينولية بكميات معتبرة على مستوى ثمار نبات الحنظل ، حيث تصل الى 220.312 ملغ /غ من مستخلص عينة A، و 328.75 ملغ/غ من مستخلص العينة B ، وهذا راجع الى الاختلاف في نوعية التربة و المنطقة التي تؤثر على التركيب الكميائي لكل نوع .

والشكل التالي يوضح الفرق بين الكميتين :



الشكل V-3 : كمية الفينولات الكلية في المستخلصين.

V-4: التقدير الكمي للفلافونيدات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible :

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

الجدول V-5 : قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة

العينة	A	B
التركيز (ملغ/غ)	0.8	0.8
الامتصاصية	0.118	0.143

بحساب رياضي وباستخدام علاقة المنحنى القياسي لحمض الروتين نجد تركيز الفلافونيدات في المستخلصات ، حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 1غ من المستخلص .

$$Y=14.499x \quad \text{...} (3-V)$$

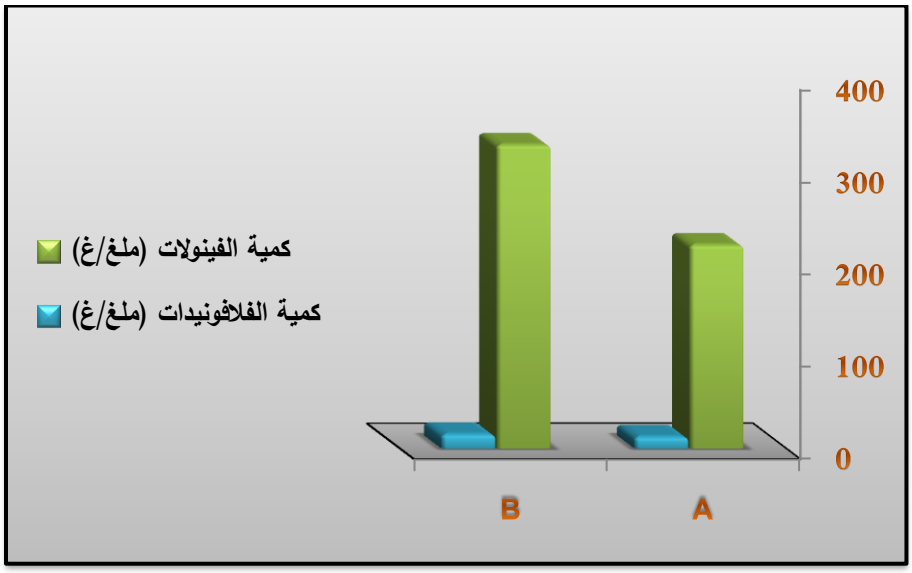
النتائج مدونة في الجدول (V-6):

الجدول V-6: كمية الفلافونيدات في المستخلصين

العينة	A	B
الكمية (ملغ/غ)	12.5	15.25

الفلافونيدات أكثر الفينولات انتشارا لذلك فأنها تمثل نسبة معتبرة من كمية الفينولات المستخلصة من الثمار .

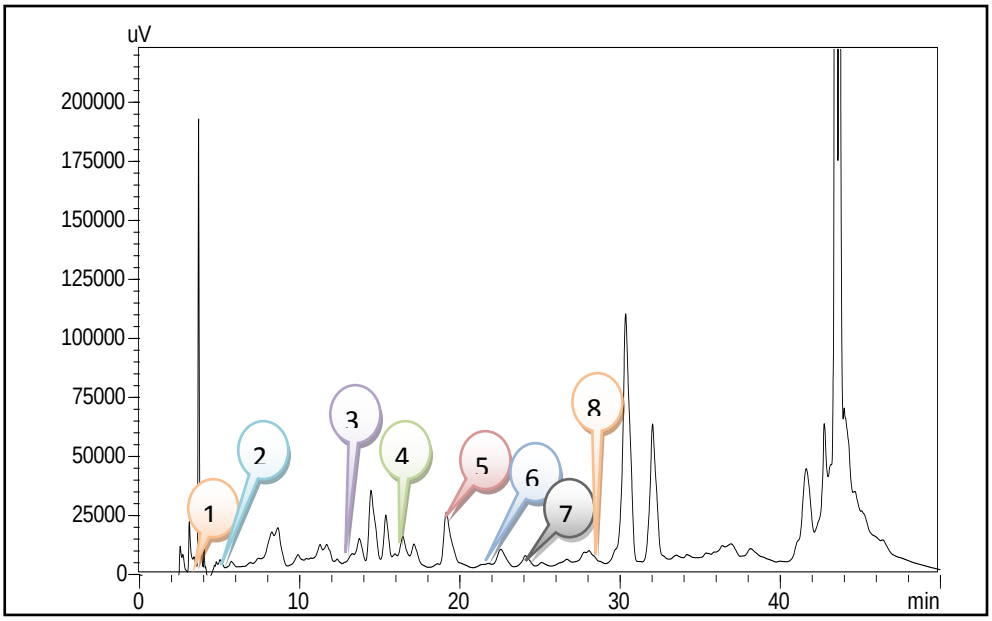
المقارنة بين الفينولات الكلية والفلافونيدات في المستخلصات موضحة في المخطط التالي :



الشكلV-4: مخطط يوضح مقارنة بين كمية الفينولات والفلافونيدات .

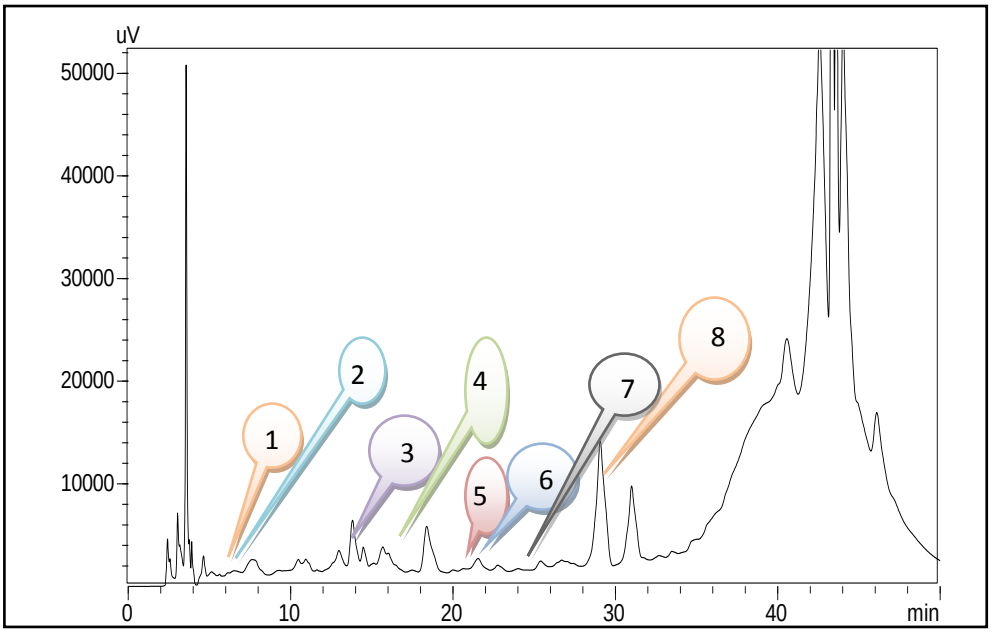
V-5:التقدير الكمي للفينولات بواسطة الـHPLC:

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص العينة A موضح في الشكل التالي :



الشكل V-5: كروماتوغرام العينة A.

الكروماتوغرام الناتج عن الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمستخلص العينة B موضح في الشكل التالي :



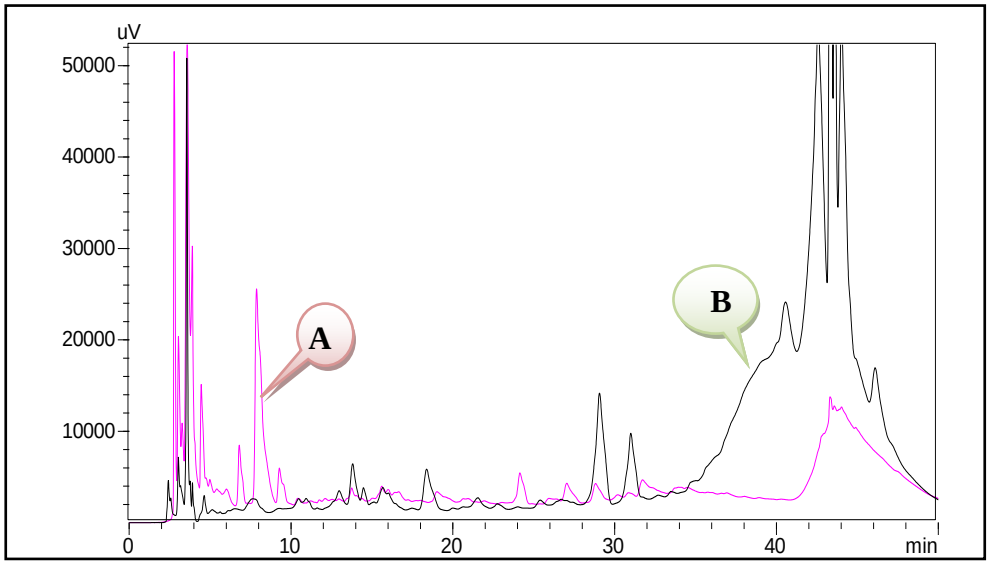
الشكل V-6:كروماتوغرام العينة B.

من خلال نتائج الكروماتوغرام تبين لنا أن المستخلصات A و B تحوي على العديد من المركبات الكيميائية ، حيث تم تحديد (8) مركبات وذلك من خلال مقارنة زمن مكوثها مع مركبات فينولية مرجعية وكل ذلك مدون في الجدول(V -7) :

الجدول V-7: المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين وكميتها

رقم المركب	المركبات الفينولية	زمن المكوث (min) للفينول المرجعي	زمن المكوث (min) في العينة A	زمن المكوث (min) في العينة B	كمية كل مركب في العينةA X 10^{-4} (mg)	كمية كل مركب في العينة B X 10^{-4} (mg)
1	حمض الأسكوربيك	4.21	4.67	4.63	0.078	0.261
2	حمض الغاليك	5.23	5.72	5.13	0.189	0.18
3	حمض الكلوروجينيك	13.62	13.71	13.80	0.739	1.085
4	حمض الكافييك	16.3	16.43	16.01	1.199	0.289
5	كرستين	20.37	19.14	20.65	2.671	0.056
6	الفانيلين	21.46	21.78	21.54	0.606	0.32
7	حمض بيوكومارين	23.95	24.07	24.01	0.864	0.027
8	الروتين	28.22	28.05	29.06	1.062	2.564

من خلال المقارنة بين كروماتوغرام العينة A و كروماتوغرام العينة B نستنتج أن المستخلصين يحويان على المركبات الفينولية المرجعية الثمانية التي تم تحديدهاسابقا غير أن كمياتها تختلف من مستخلص لاخر ويظهر ذلك جليا سواء من خلال مساحة القمم أو من خلال كمياتها المدونة حيث أن حمض الغاليك وحمض الكافييك والكرستين و الفانيلين وحمض بيوكومارين كانت كمياتهم في العينة A أكبر بينما كانت كميات حمض الاسكوربيك وحمض الكلوروجينيك والروتين في العينة B أكبر من العينة A . والشكل التالي يعطينا مقارنة واضحة لمساحة القمم بين الكروماتوغرامين :



الشكلV-7: مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين

V-6: الفعالية البيولوجية :

بعد الزرع والحضن لمدة 24 ساعة ، نقوم بقياس قطر التثبيط حول الاقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة للمستخلصات ، نكرر العملية أكثر من مرة للتأكد من النتائج المتحصل عليها ، مع الاخذ بعين الاعتبار قطر تثبيط االشاهد .

الجدول (V-8) يبين التراكيز المحضرة :

الجدولV-8: التراكيز المحضرة لدراسة الفعالية البيولوجية

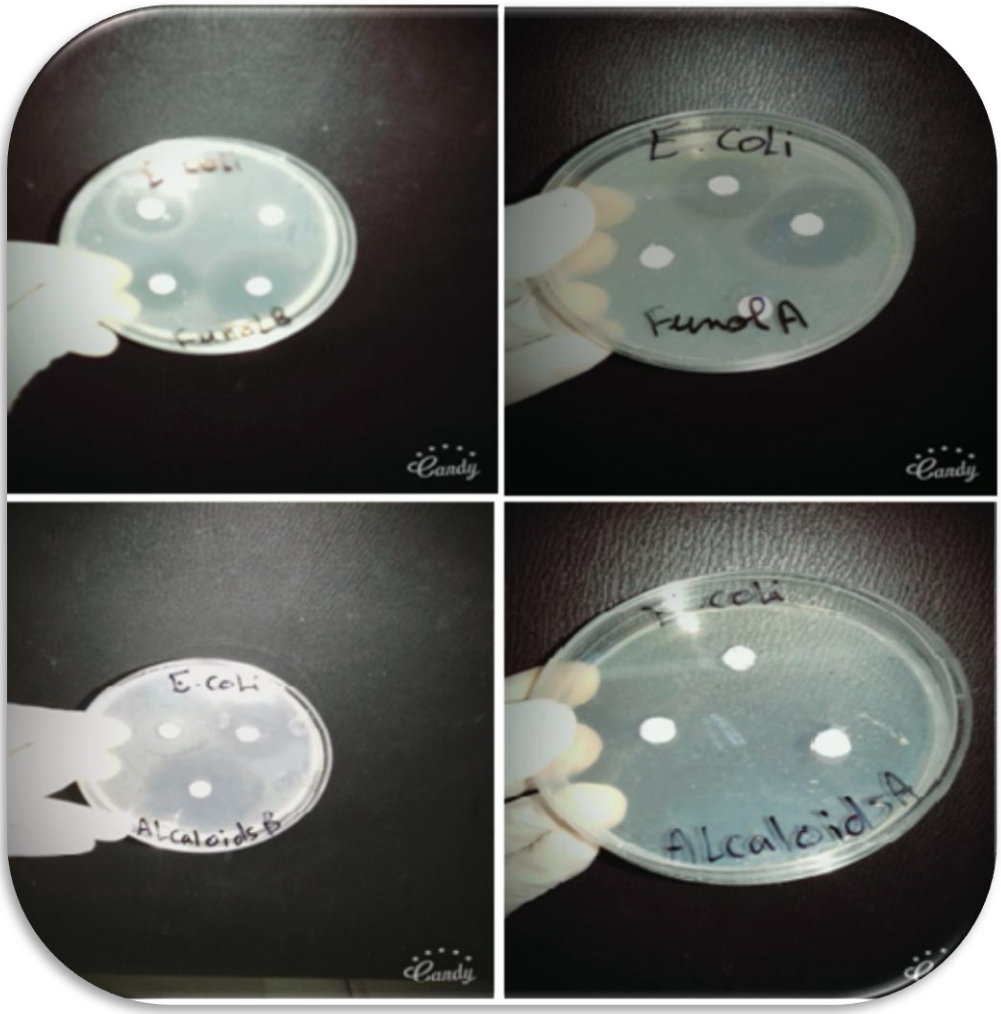
التركيز / العينة	1ملغ / مل	10ملغ / مل	100 ملغ / مل
A	A_1	A_2	A_3
B	B_1	B_2	B_3
A'	A_1'	A_2'	A_3'
B'	B_1'	B_2'	B_3'

❖ **بكتيريا Escherichia coli:**

قيم قطر التثبيط لبكتيريا Escherichia coli مدونة في الجدول (V-9):

الجدول V -9 : أقطار تثبيط بكتيريا Escherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة .

العينة	A			B			A'			B'		
التركيز	A_1	A_2	A_3	B_1	B_2	B_3	A'_1	A'_2	A'_3	B'_1	B'_2	B'_3
قطر التثبيط(ملم)	--	8	17	--	10	18	--	9	17	8	13	19



الصورة V-4:الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Escherichia coli.

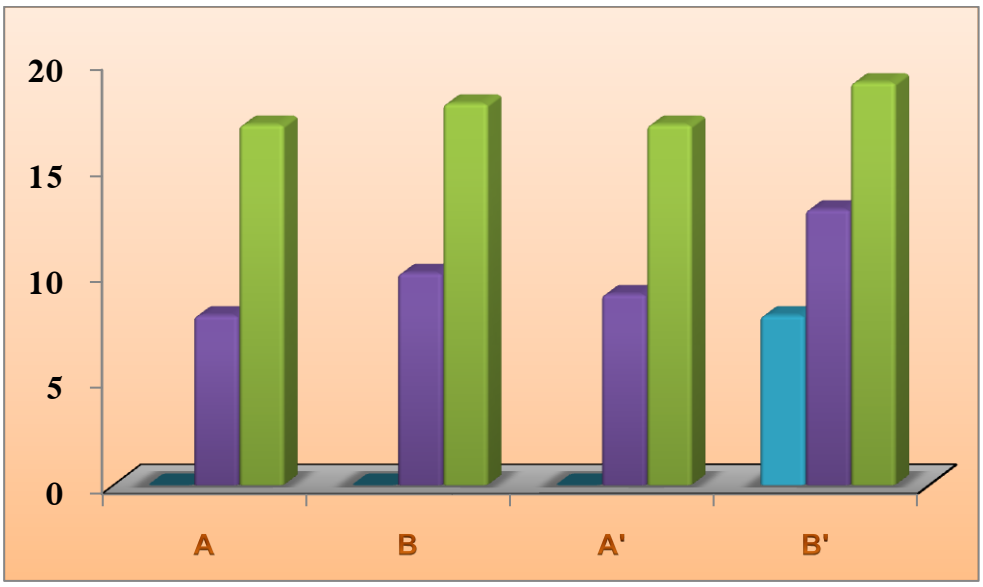
المستخلصات الفينولية :

بلغت اقطار التثبيط بالنسبة للعينة A عند التركيزين A_2 و A_3 8 ملم و 17 ملم على التوالي ، بينما بلغت اقطار التثبيط بالنسبة للعينة B عند التركيزين B_2 و B_3 10 ملم و 18ملم على التوالي ، ومنه يمكن القول أن بكتيريا Escherichia coli متوسطة الحساسية بالنسبة للتركيز B_2 و حساسة لكل من التركيزين A_3 و B_3 .

المستخلصات القلويدية :

بلغت أقطار التثبيط بالنسبة للعينة A' عند التركيز A'_3،17ملم بينما بلغت أقطار التثبيط للعينة B' عند التركيزين B'_2 و B'_3 ،13 و 19 ملم على التوالي ، ومنه يمكن القول أن بكتيريا Escherichia coli متوسطة الحساسية للتركيز B_2' وحساسة للتركيزين A_3' و B'_3

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كالتالي :



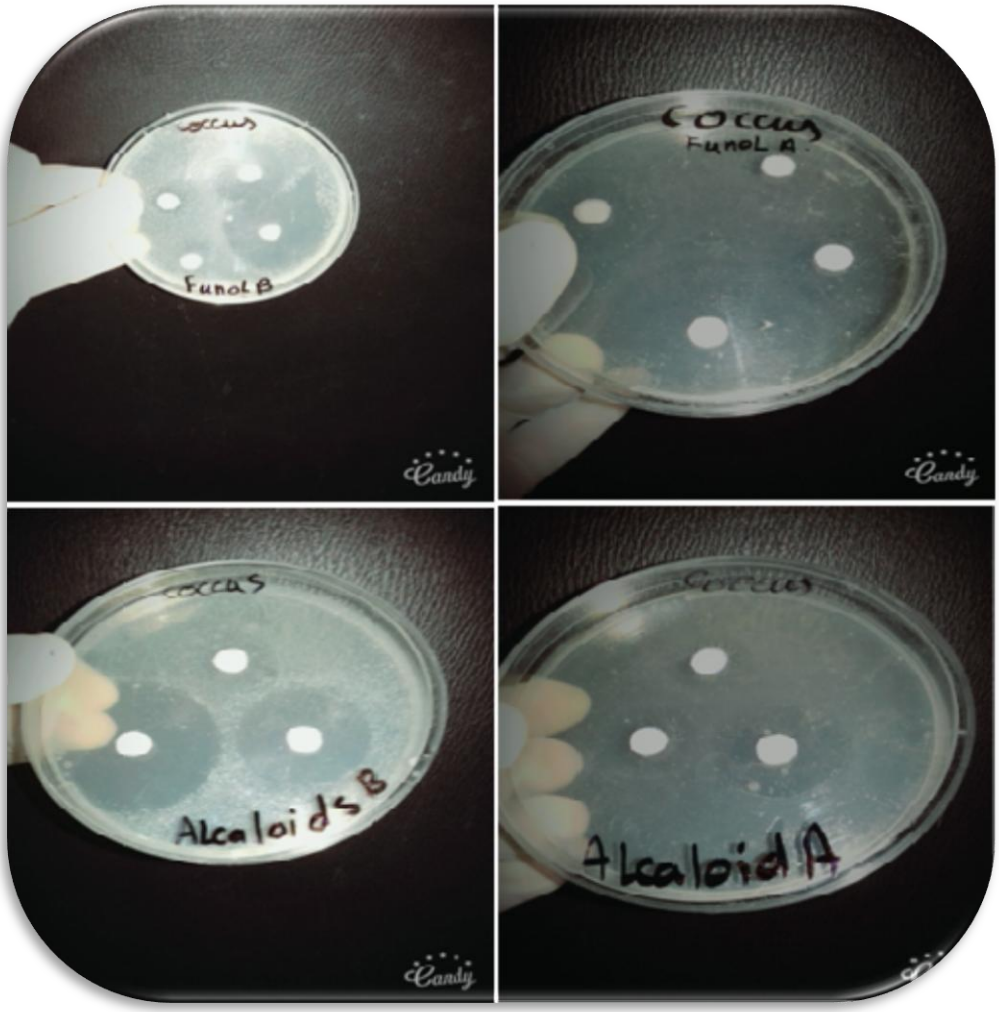
الشكل**V– 8:** مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Esherichia coli الناتجة عن التراكيز المختلفة .

❖ **بكتيريا Staphylococcus aureus:**

قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا Staphylococcus aureus مدونة في الجدول (V-10):

الجدول V-10:أقطار تثبيط بكتيريا Staphylococcus aureus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

العينة	A			B			A'			B'		
التركيز	A_1	A_2	A_3	B_1	B_2	B_3	A'_1	A'_2	A'_3	B'_1	B'_2	B'_3
قطر التثبيط(ملم)	--	8	14	--	9	16	--	9	15	--	11	17



الصورة V-5:الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Staphylococcus aureus .

المستخلصات الفينولية :

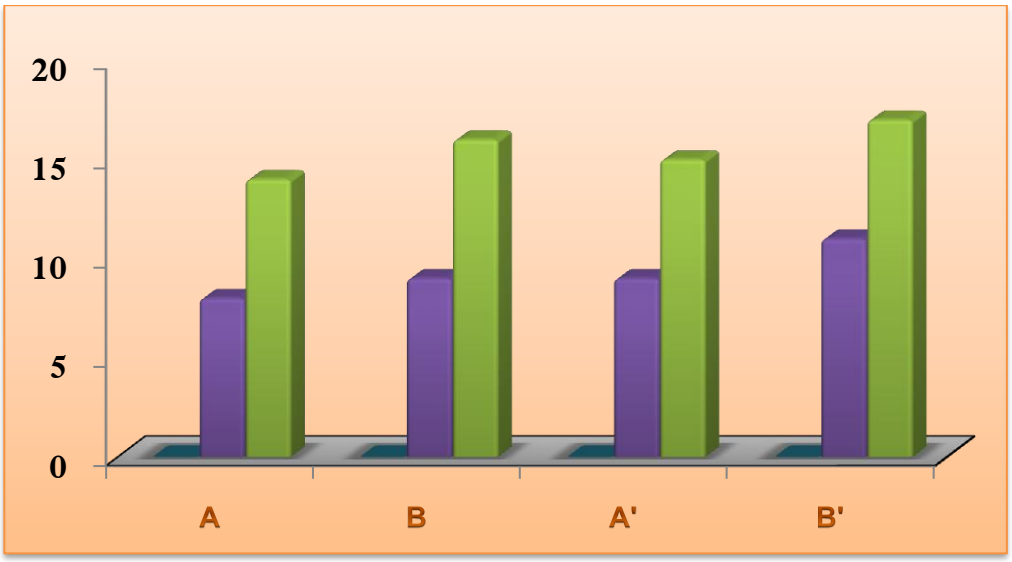
بلغت أقطار التثبيط بالنسبة للعينة A ، عند التركيز A_3 ،14ملم بينما بلغت أقطار التثبيط للعينة B،عند التركيز B_3 ،16 ملم

ومنه يمكن القول أن بكتيريا Staphylococcus aureus. متوسطة الحساسية للتركيز A_3 وحساسة للتركيز B_3.

المستخلصات القلويدية :

مستخلص العينة A' أظهر اقطار تثبيط عند التركيزين A'_2 وA'_3 بلغت 9 و 15 ملم على التوالي . أما مستخلص العينة B' فقد أظهر اقطار تثبيط عند التركيزين B'_2 و B'_3 قدرت ب 11و 17ملم على التوالي ومنه بكتيريا Staphylococcus aureus متوسطة الحساسية لكل من التركيزين A'_2 وB'_2 وحساسة لكل من التركيزين A'_3 و B'_3 .

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كالتالي :



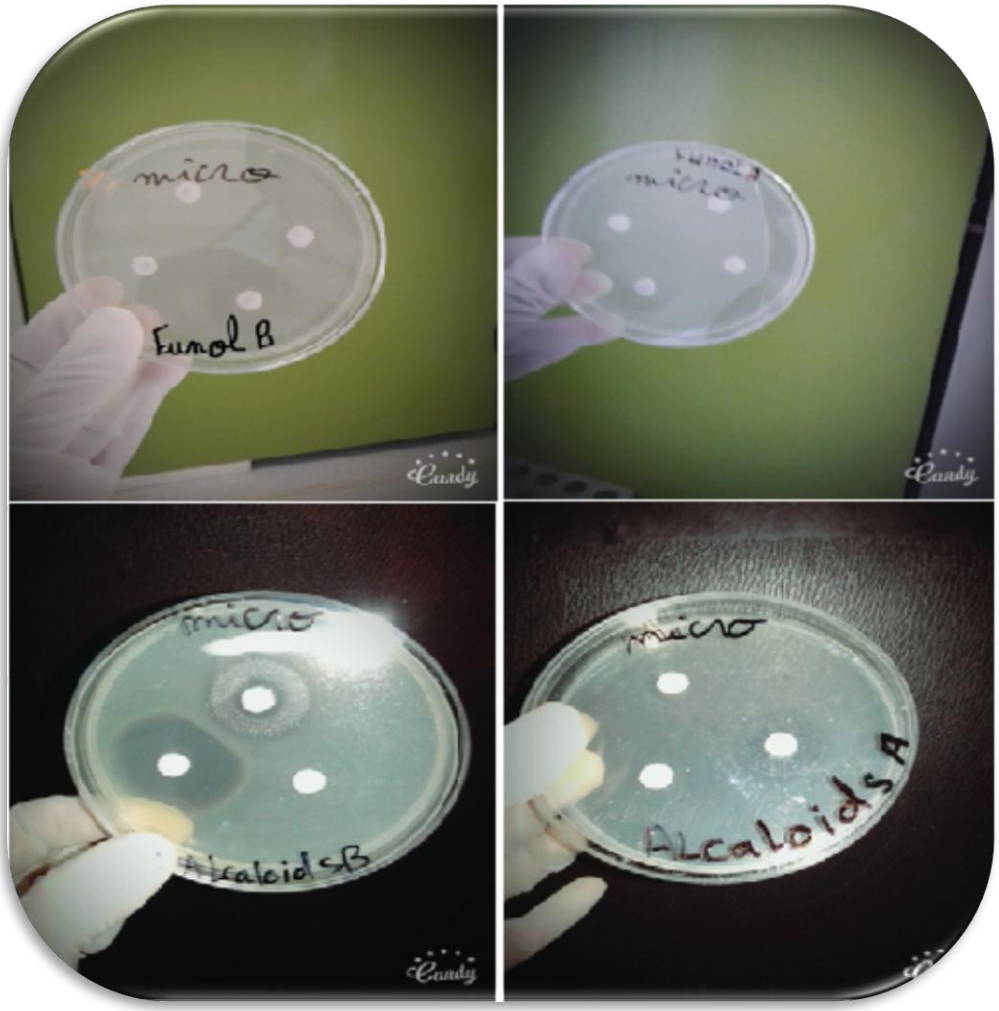
الشكل**V– 9:** مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Staphylococcus aureus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

❖ **بكتيريا Micrococcus luteus:**

قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا Micrococcus luteus مدونة في الجدول (V–11):

الجدول**V**−11: أقطار تثبيط بكتيرياMicrococcus luteus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

العينة	A			B			A'			B'		
التركيز	A_1	A_2	A_3	B_1	B_2	B_3	A'_1	A'_2	A'_3	B'_1	B'_2	B'_3
قطر التثبيط(ملم)	--	--	--	--	--	--	--	--	9	--	8	14



الصورة V−6:الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Micrococcus luteus

المستخلصات الفينولية :

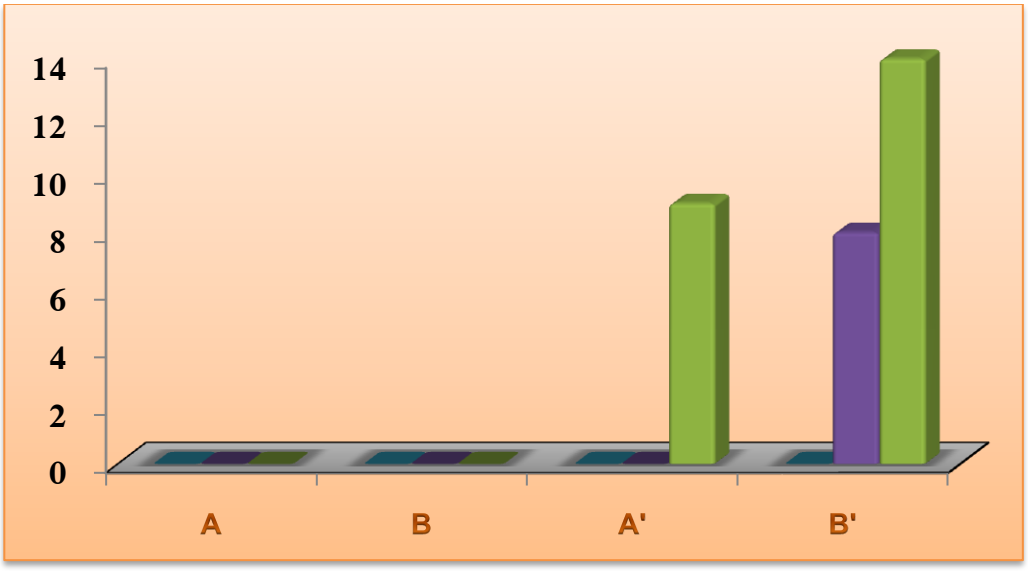
لم تظهر أي أقطار تثبيط عند كل التراكيز وفي كلا العينتين ، هذا راجع الى أن بكتيريا Micrococcaceae تمتلك مقاومة طبيعية

المستخلصات القلويدية :

مستخلص العينة A' أظهر قطر تثبيط عند التركيز A'_3 بلغ 9ملم ، بينما بلغ قطر التثبيط عند العينة B'_3 14 ملم .

ومنه يمكن القول أن بكتيريا Micrococcaceae متوسطة الحساسية لكل من التركيزين A'_3 و B'_3

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كالتالي :



الشكل**V– 10**: مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Micrococcus luteus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

❖ **بكتيريا Vibrio vulnificus:**

قيم قطر التثبيط بالنسبة لبكتيريا Vibrio vulnificus مدونة في الجدول (V-12):

الجدول V-12: أقطار تثبيط بكتيريا Vibrio vulnificus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

العينة	A			B			A'			B'		
التركيز	A_1	A_2	A_3	B_1	B_2	B_3	A'_1	A'_2	A'_3	B'_1	B'_2	B'_3
قطر التثبيط(ملم)	--	--	--	--	--	12	--	9	14	--	10	16

الصورة V-7: الاثر التثبيطي للمستخلصات الفينولية والقلويدية لثمار نبات الحنظل على بكتيريا Vibrio vulnificus

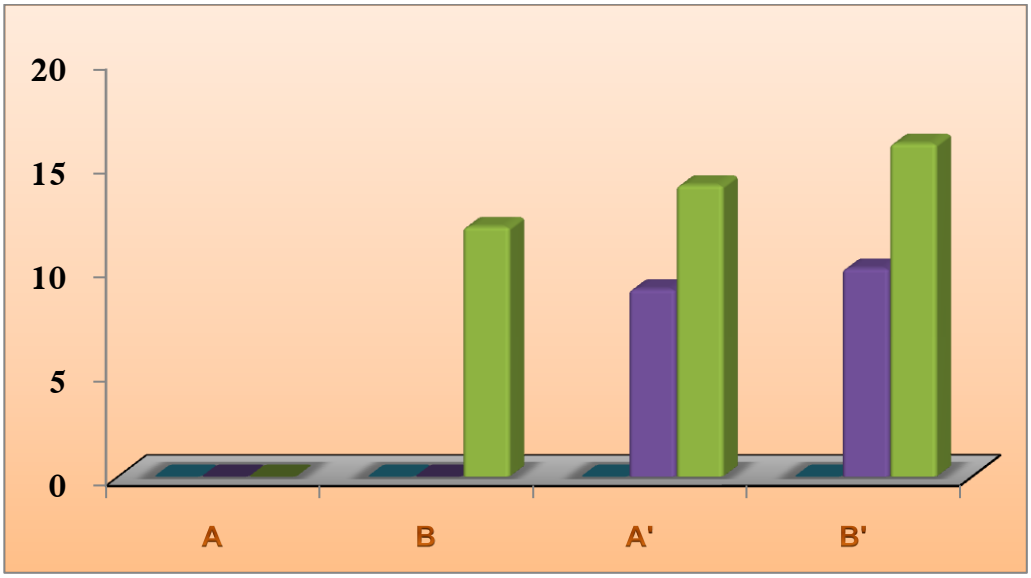
المستخلصات الفينولية :

لم تظهر تراكيز العينة A أي اقطار تثبيط ، بينما بلغ قطر التثبيط للعينة B 12 ملم عند التركيز B_3 وبالتالي بكتيريا Vbrio متوسطة الحساسية للتركيز B_3

المستخلصات القلويدية :

بلغت أقطار التثبيط عند العينة A' للتركيزين A'_2 وA'_3 9و 14ملم على التوالي . بينما بلغت أقطار التثبيط للعينة B' للتركيزين B'_2 و B'_3 10 و 16 ملم على التوالي وبالتالي بكتيريا vbrio متوسطة الحساسية لكل من التراكيز A'_2 و A'_3 و B'_2 وحساسة للتركيز B'_3.

ولتوضيح النتائج نمثلها بمخطط اعمدة كالتالي :



الشكل**V- 11:** مخطط يوضح أقطار تثبيط بكتيريا Vibrio vulnificus الناتجة عن التراكيز المختلفة .

الخاتمة

الخاتمـــة

يندرج هذا العمل في اطار تثمين الموارد النباتية لمنطقة وادي سوف ، اذ وقع الاختيار على نبات الحنظل لما يحويه من عناصر فعالة من خلال تثمين الفعالية البيولوجية لمستخلصات النبات .

خلال انجازنا لهذا البحث قمنا كخطوة أولية باستخلاص بعض مواد النبات الفعالة بواسطة مذيبات مختلفة حيث عند استخلاص الفينولات استعملنا الهكسان والايثانول للحصول على المستخلص الايثانولي الخام أما لاستخلاص القلويدات استخدمنا الايثر البترولي والكلوروفورم للحصول على الاملاح القلويدية ، بعد عملية الاستخلاص تمكنا من تقدير مردود المستخلصات حيث أعطى المستخلص الايثانولي مردود معتبر بالمقارنة مع مستخلص الاملاح القلويدية .

من ثم قمنا بالكشف الكيميائي لنواتج الايض الثانوي للنبات من خلال عمليات التلوين والترسيب والتي أظهرت احتواء النبات على : الفينولات ، الفلافونيدات ، والاملاح القلويدية .

ومن أجل المقارنة بين المستخلصات الفينولية قمنا بما يلي :

- التقدير الكمي لعديدات الفينول بأستعمال كاشف Folin–Ciocalteu حيث سجلت أعلى كمية لعديدات الفينول لدى المستخلص الايثانولي لعينة منطقة حساني عبد الكريم بمقدار 328.75mg/g أما بالنسبة للمستخلص الايثانولي لعينة منطقة الحمراية فقدر بـــ

220.312 mg/g ويعود هذا الاختلاف في كمية الفينولات بين المستخلصات الى طبيعة المنطقة والتربة التي يتواجد فيها النبات

- أما التقدير الكمي للفلافونيدات استخدمنا كاشف $AlCl_3$ حيث لاحظنا ارتفاع كمية الفلافونيدات في المستخلص الايثانولي لعينة منطقة حساني عبد الكريم كذلك والذي قدر ب 15.25 mg/g بينما قدرت نسبة الفلافونيدات في عينة منطقة الحمراية ب 12.5mg/g.

كما قمنا بالتعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق التحليل النوعي باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء (HPLC) اذ سجلنا وجود كل المركبات الفينولية المرجعية

8 مركبات وهي : حمض الأسكوربيك ، حمض الغاليك ، حمض الكلوروجينيك ، حمض الكافييك ، كرستين ، الفانيلين ، حمض بيوكومارين ، الروتين .

وختمنا بحثنا بدراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الأربعة ضد أربعة سلالات بكتيرية ممرضة (Micrococcus luteus ، Vibrio vulnificus ، Staphylococcus، Escherichia coli) باتباع طريقة الانتشار بالأقراص حيث كانت النتائج جد ايجابية خاصة مع المستخلصات المائية للأملاح القلويدية وقد كانت لديها فعالية بيولوجية معتبرة مع السلالات Escherichia coli، Staphylococcus بالمقارنة مع باقي السلالات وذلك بتسجيل أقطار تثبيط كبيرة نسبيا ، كما أبدت سلالات أخرى مقاومة للمستخلصات الفينولية ، حيث كانت بكتيريا Micrococcus luteus الأكثر مقاومة لهذه المستخلصات الفينولية .

وفي الأخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها مع مستخلصات النبات ، يمكن تثمين خصائص النبات التي تؤهله ليكون ضمن النباتات الطبية المستعمله في الطب االشعبي .

أما لزيادة افاق هذا البحث نرجو بالدراسة التحليلية الكمية والنوعية للمركبات الفعالة من خلال التعرف على الصيغ الكيميائية لمركبات النبات المسؤولة عن هذه الفعالية كخطوة أولى لأعمال مستقبلية .

الملاحق

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)**

معلومات جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)

CH-9230 FLAWIL/SWTTZERLAND

Type:R-210

SN:1000048012

Volt: 100-240VAC

Frequ:50/60HZ

Power:60W

Built2010

T 1.6 AL 250V(2x)

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre)**

معلومات جهاز المطيافية الضوئية(Spectrophotomètre)

SHIMADZU CORPORATION

MODEL UVmini-1240

CAT.No. 206-24000-38

SERIAL NO. A10934603363 CD

220-240v 50/60HZ 160VA

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):**

معلومات جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

CHIMADZU CORPORATION

MODEL CTO-20AC

CAT.NO. 228-45010-38

SERIAL NO. L20214806938

220-240v 50/60HZ

MADE IN JAPAN

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز الحاضنة (Etuve)**

معلومات جهاز الحاضنة (Etuve)

LAB TECHASIA .LTD.

ISO 9001 CERTTFIED

MODEL LIB-060M

Volts 220V 50HZ

Watts 200W/1A

SERIAL NO. 08061323

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز المعقمة (Autoclave)**

معلومات جهاز المعقمة (Autoclave)

PBINTERNATIONAL

VIA NONARA.89 20153

SERIAL N. 030004

Volts 220V 50/60HZ

Watts 1300W

MOD TIMO

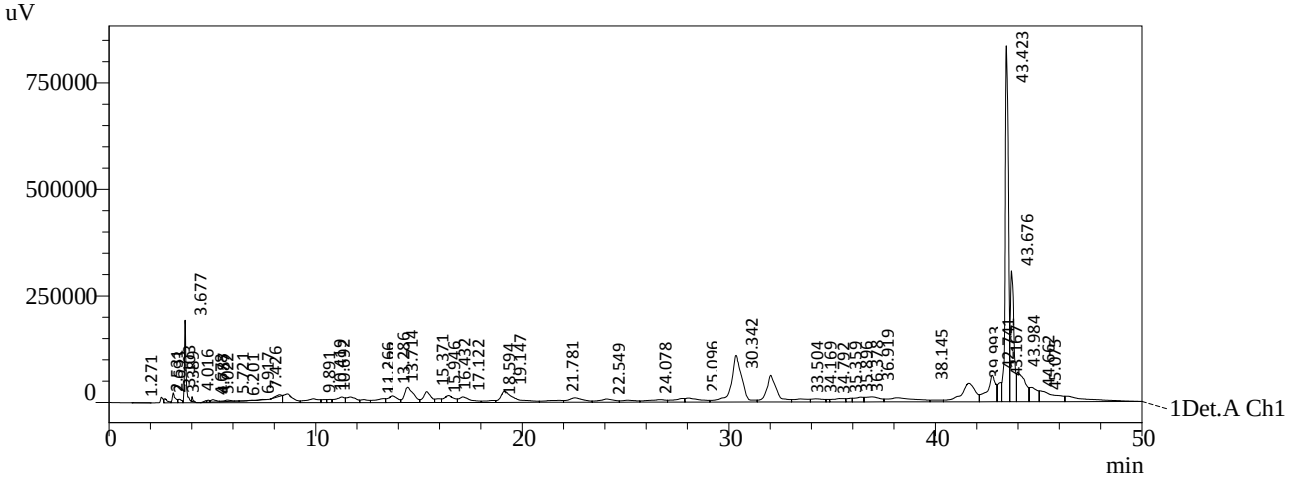
الملحق 02: نتائج الـ HPLC للعينة A

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Safa.A
Sample ID	: Et.Safa.A
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Safa.A.30-
Method Filename	: Noumia21 mo
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 30-04-2017 9
Data Processed	: 30-04-2017 1

Chromatogram

Et.Safa.A C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Safa.A.30-04-2017.50.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.271	2013	65	0.005	0.003
2	2.531	104787	12980	0.236	0.578
3	2.693	111715	9543	0.251	0.425
4	3.103	231547	23464	0.521	1.044
5	3.389	101858	8516	0.229	0.379
6	3.677	2354163	193911	5.297	8.630
7	4.016	48706	10862	0.110	0.483
8	4.678	34480	3790	0.078	0.169
9	4.787	41157	5104	0.093	0.227
10	5.022	102022	5522	0.230	0.246
11	5.721	84057	3482	0.189	0.155
12	6.201	4306	299	0.010	0.013
13	6.917	6733	654	0.015	0.029
14	7.426	11700	823	0.026	0.037
15	8.253	72501	3626	0.163	0.161
16	8.631	640288	20543	1.441	0.914
17	9.891	394050	8959	0.887	0.399

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	10.419	120414	7350	0.271	0.327
19	10.692	110198	7533	0.248	0.335
20	11.266	390491	13193	0.879	0.587
21	11.677	433993	13218	0.976	0.588
22	12.336	186671	6958	0.420	0.310
23	13.286	314646	9206	0.708	0.410
24	13.714	482389	15564	1.085	0.693
25	14.447	1084065	35921	2.439	1.599
26	15.371	636519	25387	1.432	1.130
27	15.946	167778	8873	0.377	0.395
28	16.432	532828	16174	1.199	0.720
29	17.122	499038	13022	1.123	0.580
30	18.594	157920	4555	0.355	0.203
31	19.147	1187076	26353	2.671	1.173
32	21.781	269355	4512	0.606	0.201
33	22.549	526280	10406	1.184	0.463
34	24.078	383808	7652	0.864	0.341
35	25.096	225547	4646	0.507	0.207
36	26.674	365577	5912	0.823	0.263
37	27.774	322369	8836	0.725	0.393
38	28.055	471835	9483	1.062	0.422
39	30.342	3862838	109663	8.691	4.881
40	32.023	2091988	62853	4.707	2.797
41	33.504	348803	7206	0.785	0.321
42	34.169	302408	7443	0.680	0.331
43	34.792	63743	6080	0.143	0.271
44	35.359	333258	7988	0.750	0.356
45	35.896	149449	8415	0.336	0.375
46	36.378	334254	11066	0.752	0.493
47	36.919	574169	11793	1.292	0.525
48	38.145	886986	9662	1.996	0.430
49	39.993	159105	4217	0.358	0.188
50	41.616	2005908	43327	4.513	1.928
51	42.741	1722512	62316	3.876	2.773
52	43.167	561430	44978	1.263	2.002
53	43.423	9019173	835446	20.293	37.183
54	43.676	3709061	307206	8.345	13.673
55	43.984	1932312	68804	4.348	3.062
56	44.662	884842	33462	1.991	1.489
57	45.075	1316222	25201	2.961	1.122
58	46.392	971924	12837	2.187	0.571
Total		44445259	2246862	100.000	100.000

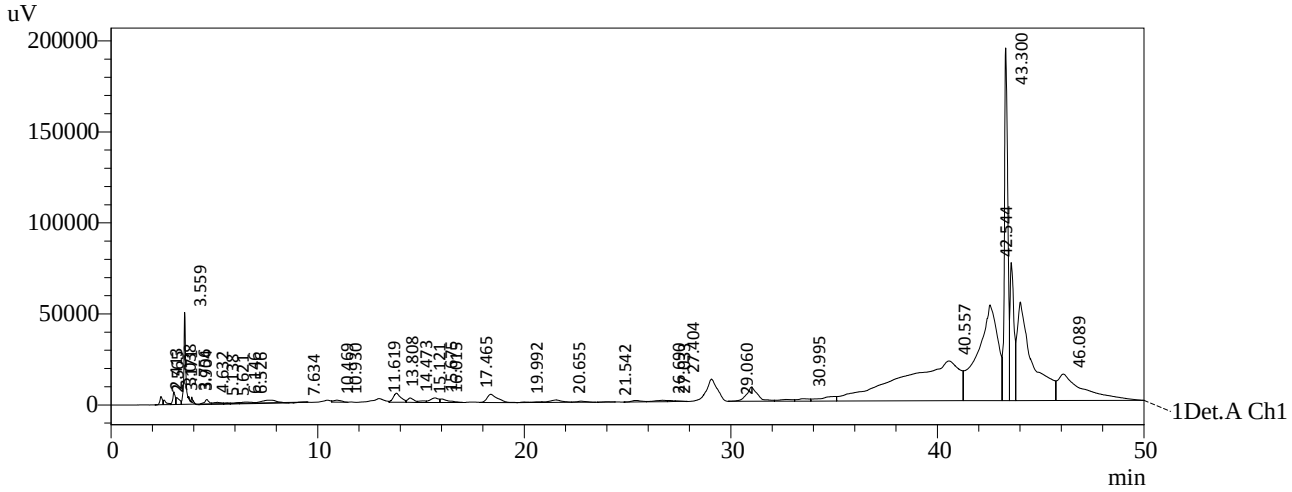
الملحق 03: نتائج الـ HPLC للعينة B

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Safa.B
Sample ID	: Et.Safa.B
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Safa.B.30-
Method Filename	: Noumia21 mo
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 30-04-2017 1
Data Processed	: 30-04-2017 1

Chromatogram

Et.Safa.B C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Safa.B.30-04-2017.51.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.413	38404	4534	0.219	0.833
2	2.565	26451	2589	0.151	0.475
3	3.038	56721	6959	0.324	1.278
4	3.171	44212	3811	0.252	0.700
5	3.559	266686	50486	1.522	9.271
6	3.756	3525	976	0.020	0.179
7	3.904	15203	2825	0.087	0.519
8	4.632	45707	2746	0.261	0.504
9	5.138	31500	1085	0.180	0.199
10	5.621	12226	739	0.070	0.136
11	6.146	16434	763	0.094	0.140
12	6.526	35583	870	0.203	0.160
13	7.634	91919	1707	0.525	0.313
14	9.276	4007	155	0.023	0.028
15	10.469	25104	1122	0.143	0.206
16	10.930	30080	1144	0.172	0.210
17	11.619	1539	141	0.009	0.026

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	12.971	79100	2076	0.452	0.381
19	13.808	129400	5019	0.739	0.922
20	14.473	49430	2409	0.282	0.442
21	15.121	19848	850	0.113	0.156
22	15.675	68935	2437	0.393	0.448
23	16.015	50682	1833	0.289	0.337
24	17.465	4950	204	0.028	0.037
25	18.377	156472	4490	0.893	0.824
26	19.992	5921	260	0.034	0.048
27	20.655	9763	370	0.056	0.068
28	21.542	56008	1327	0.320	0.244
29	22.752	20907	630	0.119	0.116
30	24.019	4654	190	0.027	0.035
31	25.398	24874	808	0.142	0.148
32	26.690	28271	741	0.161	0.136
33	27.033	10900	559	0.062	0.103
34	27.404	5667	332	0.032	0.061
35	29.060	449227	12176	2.564	2.236
36	30.995	287488	7736	1.641	1.421
37	32.689	43260	923	0.247	0.170
38	33.480	50824	1309	0.290	0.240
39	35.000	132502	2450	0.756	0.450
40	40.557	4345595	21847	24.805	4.012
41	42.544	3544775	52652	20.234	9.669
42	43.300	2181060	193738	12.450	35.577
43	43.570	989503	75870	5.648	13.932
44	44.009	2766677	54154	15.793	9.945
45	46.089	1256711	14508	7.174	2.664
Total		17518706	544552	100.000	100.000

الملحق04: طريقة حساب كميات المركبات المرجعية

وذلك من خلال حساب كمية المستخلص في حجم العينة المحقونة في الجهاز والمقدرة ب 20µl

حيث تم تقدير هذه الكمية بـ 0.01mg

وباستخدام علاقة ثلاثية بسيطة بين كمية المستخلص في العينة ونسبة مساحة القمة على مجموع مساحة القمم الكلية نجد كمية كل مركب مرجعي .

مثال :حساب كمية الغاليك في العينة A

$$0.01mg \longrightarrow 100\%$$

$$X\ mg \longrightarrow 0.189\%$$

ومنه : $X=10.189\times10^{-4}\ mg$

الملخص:

ان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تثمين الموارد الطبيعية ودورها كمضادات حيوية بديلة ومن هذا المنطلق قمنا باختبار الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية والأملاح القلويدية الموجودة في ثمار نبات الحنظل .حيث قمنا باستخلاص المركبات الفينولية بواسطة الايثانول أما للحصول على الاملاح القلويدية فقد قمنا بالاستخلاص بواسطة الكلوروفورم . تم التقدير الكمي للمركبات الفيينولية بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية وتلاها تقدير نوعي بواسطة جهاز HPLC .

وكخطوة أخيرة تم اختبار الفعالية البيولوجية لهذه المستخلصات على اربع سلالات بكتيرية ممرضة وكانت النتائج ايجابية خاصة المستخلصات المائية للأملاح القلويدية .

الكلمات المفتاحية : ثمار نبات الحنظل – المركبات الفينولية – الاملاح القلويدية – الفعالية البيولوجية.

Résumé:

L'objective essentiel de cette étude est de montrer l'intérêt des substance naturelles comme des anti biotique à partir de ce principe, nous avons testé l'efficacité biologique pour des composés phénoliques et des sels alcaloïdes qui se trouvent dans les fruits du Citrullus colocynthis , l'extraction est fait par l'éthanol, et concernant les sels alcaloïdes l'extraction est fait le chloroforme, la quantification des composés phénolique est fait grâce à l'appareil U.V , et la qualification par l'appareil HPLC . En fin , dans la dernière étape , on a évalué l'efficacité biologique de ces extraits sur quatre espèces bactérienne pathogènes et les résultats était positifs , surtout les extrants aquatiques de sels alcaloïdes.

Les Mots-clés: les fruit du Citrullus colocynthis les composés phénoliques, des sels alcaloïdes , l'efficacité biologique.