جمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لحضر الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا

مذكـــــــــرة تـــــــــــــخرج
لنيـــــل شهـــــــادة ماستـــــــــر أكاديمـــي
ميدان: علوم الطبيعة والحياة
شعبة علوم بيولوجية
تخصص: التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات
الموضـــوع

المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية لنبات

Rhantherium Suaveolens

من إعداد:
بوزنة فاطمة الغنبازية
سحنون وهيبة

عدايكة عائشة	استاذ محاضر أ	رئيسا
مخدمي نور الهدى	استاذ محاضر أ	مشرفا
قادري منيرة	استاذ محاضر أ	مناقشا

الموسم الجامعي: 2023 – 2024

شكـر وتـقـديـر

نشكر الله أولاً على منحنا الصحة والإرادة والقوة والشجاعة والقدرة على تجاوز الأوقات الصعبة وتحقيق أهدافنا والتي بدونها ما كان لمشروعنا أن يرى النور.

نشكر كل من ساهم وبذل جهدا ولو بالقليل في إنجاز هذه المذكرة،

الشكر والامتنان للاستاذة والمشرفة مخدمي نور الهدى على قبولها الإشراف على مذكرتنا والدعم والتوجيه لبلوغ نهاية البحث.

كما اختص بالذكر زميلتى في العمل وصديقتى اميرة سبتى (بوزنة فاطمة) على مجهوداتها ومساندتها لنا

كما نشكر الأساتذة الكرام أعضاء لجنة المناقشة على تفضلهم قبول وتقييم المذكرة. وإلى جميع موظفين وعمال إلمخابر بكلية علوم إلطبيعة وإلحياة

وإلى جميع زميلاتنا وطلبة دفعة ماستر2024

اهداء

الى سيدة نساء الكون فى عينى التى تركتنى فى منتصف الطريق ويا ندى روحى وبلسمها لك اهدى تخرجى يا حبيبة الروح فابنتك اليوم وبكل تواضع قد حققت حلمك كم تمنيت ان تفرح عينك برؤيتى يوم تخرجي لكل ارادة الله سبقت، الى التى يحتضنها التراب قبل ان احقق لها امنيتها، ها قد تخرجت وحصدت ثمار تعبك عليا ، اليك ارفع قبعات الفخر والعز اليك ايتها الروح الطاهرة التى ذهبت بلا عودة رحمك الله واسكنك فسيح جناته

الى السند والرفيق وصديق الايام جميعها بحلوها ومرها زوجى الغالي اشكرك على دعمك المستمر الى من كان الاول دوما فى مساندتى وتشجيعى ،الى من جاد عليا بوقته واكرمنى بفضله اقرارا منى بفضله واعترافا بحقه

الى أبنائي **احمد غسان ،جود الرحمان ،غيث الله** الذين وثقوا بي على الدوام أهدي لكم هذا البحث، راجية أن أكون لكم مصدر فخر وقوة دائمًا.

فاطمة

اهداء

الى روح النبي الخاتم صلى الله عليه وسلم وجميع الانبياء والعلماء العاملين

حبا واقتداء

الى من علماني معنى الحياة والدي الحبيبين اطال الله في عمرهما

حبا وبرا

الى زوجي الحبيب اعترافا بجهده في دعمي وتشجيعي

حبا وودا

الى ابنائي رائد ورشاد وتقوى

حبا وعطفا

الى اخوتي واخواتي واقاربي والى كل من ساعدنا في هذا العمل

حبا ووفاء

وهيبة

الفهرس

الملخص
Résumé
Abstract
قائمة الاختصارات
قائمة الاشكال
قائمة الجداول
المقدمة

الفصل الأول: الدراسة النظرية لنبات العرفج

1. النباتات الطبية 5
2. العائلة النجمية..... خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
3. نبات العرفج *Rhanterium* 6
1.3- تصنيف نبات *Rhantherium* 6
4. نوع *Rhantherium suaveolens* 7
1.4. أصل الاسم 7
2.4. التصنيف النباتى لنبات العرفج نوع *Rhantherium suaveolens* 8
3.4. الوصف النباتي لـ *Rhantherium suaveolens* 9
5.4. الوصف المورفولوجي لنبات العرفج 11
6.4. التوزيع الجغرافي لنبات العرفج *Rhanteriume suaveolens* 11
7.4 . القيمة الغذائية لنبات العرفج *Rhanteriume suaveolens* 12
8.4. االخصائص العلاجية لنبتة العرفج*Rhanteriume suaveolens* 13
9.4. الأهمية الاقتصادية لنبات العرفج *Rhanteriume suaveolens* 15

الفصل الثاني : الدراسة الكيميائية (الايض الثانوي)

1. الدراسة الكيميائية 17
1.1 مركبات الأيض الأولي:(Primary Metabolites) 18
2.1 مركبات الأيض الثانوي:(Secondary Metabolites) 18
1.2.1مركبات الأيض الثانوي في نبات العرفج *Rhanteriume suaveolens* 19
2.2.1- أهمية مركبات الأيض الثانوي في نبات العرفج 19
2- المركبات الفعالة البيولوجية 20
1.2- الفينولات les phenols 20
2.2- الفلافونيدات Les flavonoides 21
3.2- التانينات tanine 22
4.2- القلويدات Les alkaloids 23
5.2- التربينات Les terpènes 24

الفهرس

1.5.2- تصنيف التربينات 25

6.2- الزيوت الأساسيةL'huile essentielle 25

الفصل الثالث:دراسة الفعالية البيولوجية

1 . الفعالية المضادة للاكسدة..... 28

1.1- الاجهاد التاكسدي 28

21.- الجدور الحرة 28

1 .3- مضادات الأكسدة 29

1 .3. 1تعريف مضادات االكسدة..... 29

1 -3-2 أنواع مضادات االكسدة..... 29

الإنزيمات أو مضادات الأكسدة الطبيعية..... 30

فيتامينات مضادة للتأكسد: 30

-1الفعالية المضادة للبكتيريا 33

1 -1 تعريف البكتيريا 33

2.1 خصائص البكتيريا 33

3.1 تصنيف البكتيريا 34

4.1 السلالات البكتيرية المدروسة..... 35

أ-بكتيريا القولون Escherichia coli: 35

ب-بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*: 36

ت-بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*:..... 37

3-المضادات الحيوية 39

1.3 انواع المضادات الحيوية 40

4. النشاطية المضادة للالتهاب 41

1.4 الالتهاب: 41

2.4. أسباب الالتهاب 43

2.4. أنواع الاتهاب..... 43

الفصل الرابع : الطرق والأدوات المستعملة

1 الطرق المتبعة في جمع وتجفيف المادة النباتية..... 47

2 الطرق المتبعة في الكشف الكيميائيعن نواتجالأيض الثانوي..... 48

3 الطرق المتبعة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي 52

4- الطرق المتبعة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة..... 54

5 - الطرق لمتبعة لدراسة النشاطية المضادة للالتهاب..... 57

6- الطرق المتبعة فى دراسة النشاطية المضادة للتخثر 62

7- 1-زمن البروثرومبين(PT) ، أو معدل البروثرومبين (TP) (Quick ou taux de prothrombine) 62

الفهرس

2-7- زمن التخثر الجزئي للثرومبوبلاستين الكاولي (céphaline Kaolin (TCK) 63

النتائج والمناقشة

1- مردود المستخلص 68
2. الكشف الكيميائي عن المواد الايض النبات 68
3- مناقشة النتائج 80
4- نتائج تفديير الفعالة المضادة للاكسدة 81
5- نتائج تفديير الفعالة المضادة للتخثر ..... 81**خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.**
6- نتائج النشاطية المضادة للالتهاب 82
7- تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا **84**
الخاتمة **87**
المراجع **89**

Abstract

تم تناول نبات العرفج (Rhantherium suaveolens) بشكل مفصل في الدراسة كنموذج من العائلة النجمية، وتم تقييم خصائصه الكيميائية والنشاطات البيولوجية المختلفة لاحتمالات استخدامه في الطب البديل والمكمل. إليك أبرز النقاط التي تمت مناقشتها واكتشافها في الدراسة

تم في التجارب الكيميائية لنبات العرفج إعداد المستخلص الميثانولي ،حيث فى هذه التجربة قمنا بتحضير المستخلص الميثانولى بالمقابل سجلنا ايضا مردودية حيث سجلت النسبة عند المستخلص الميثانولي ب% 20.68 ،يليه الكشف الكيميائي الذى اظهر تواجد مختلف مركبات الإيض الثانوي في كامل النبتة بقيم متفاوتة، التربينات الثلاثية، القلويدات، التانينات، الفلافونويدات ومتعددة الفينولات مع انعدام الصابونينات. ثم التقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات والتانينات لدى المستخلص الميثانولى حيث قدرت أعلى كمية لعديدات الفينول بـ (34.84 ± 0.51 g /mg) ، أما لفلافونويدات فقدرت بـ 2,22 (± 0,075mg /g) بينما قدرت التنينات ب (4,09 ± 0,28 mg /g).

حيث اعتمدنا في تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص على طريقتين DPPH وFRAP حيث لوحظ تسجيل نشاط جد مهم مضاد للجذور الحرة باستعمال المستخلص المدروسة فسجل معدل تثبيط للجذور الحرة فى مستخلص بقيم (mg/ml 0,002 ±0.62 =IC50) ل DPPH، أما في إختبار FRAP كانت % 58.37. ومن ناحية اخرى تمت دراسة النشاطية المضادة لتخثر من خلال اجراء اختيبارات التخثر التالية TP, TCK, Fibrinogéne حيث كانت نتائج TP ذات مستويات عالية تقدر ب 81,53% للمستخلص مقارنة بشاهد، بينما تظهر نتائج (34.54s) TCKمما تفسر ان المستخلص يملك نشاط مضاد لتخثر وقدرة على اطالة زمن TCK،اما Fibrinogène كانت 2,58g/l وهى توضح ان المستخلص قادر على اطالة مستوى الفيبرينوجين. بينما تم تقييم النشاط المضاد للإلتهاب مخبريا لمستخلص نبات العرفج عن طريق تخريب البنية الثانوية لبروتين زلال البيض، وافادت النتائج أن مستخلص نبات العرفج يملك فعالية تقليص فى معدل التشوه البروتينى، حيث المستخلص يمتلك فعالية تقليص في معدل التشوه البروتيني. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، أظهرت النتائج نشاطًا هامًا ضد مختلف السلالات المختبرة، حيث كانت أكبر نشاطية على البكتيريا سالبة الغرم *Pseudomonas aeruginosa* بقطر تثبيط 27 ±0,57mm في التركيز D100mg حيث اثبت التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي بين هذه النتيجة و التثبيط المتحصل عليه من قبل المضاد الحيوي GN 50، كما ابدى المستخلص الميثانولي نتائج جيدة على السلالتين *Escherichia coli, Staphylocoque aureus*

كلمات المفتاحية: Rhantherium *Suaveolens*، العرفج البري، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للتخثر النشاط المضاد للالتهاب .

Abstract

Rhantherium suaveolens was detailed in the study as a member of the Asteraceae family, and its various chemical properties and biological activities were evaluated for its potential use in alternative and complementary medicine. Here are the highlights of what was discussed and discovered in the study.

In this experiment, we prepared the methanolic extract, where in this experiment we prepared the methanolic extract in return we also recorded a yield of 20.68%, followed by chemical detection which showed the presence of various secondary metabolic compounds in the whole plant with varying values, tertiary terpenes, alkaloids, tannins, flavonoids and polyphenols with the absence of saponins, followed by quantification of polyphenols, flavonoids and tannins. The quantification of polyphenols, flavonoids and tannins in the methanolic extract showed the highest amount of polyphenols (g/mg 0.51 ± 34.84) and flavonoids (2.22 ± 0.075mg/g). while dragons were estimated at 4.09 ± 0.28 mg/g.).

In evaluating the antioxidant activity of the extract, we relied on the DPPH and FRAP methods, where it was observed that a significant antioxidant activity was recorded using the studied extract, as the inhibition rate of free radicals in the extract was recorded at values of mg/ml () 0.62 ± 0.002 =IC50 (for DPPH), while in the FRAP assay it was 58.37%. On the other hand, the anticoagulant activity was studied by performing the following coagulation tests (TP, TCK, Fibrinogéne), where the TP results were high levels estimated at 81.53% for the extract compared to the control, while the TCK results show (34.54s). Fibrinogène was g/l2.58, indicating that the extract is able to prolong the level of fibrinogen. The in vitro anti-inflammatory activity of the extract was evaluated by disrupting the secondary structure of egg albumin protein, and the results indicated that the extract possesses a protein denaturation rate reducing activity, where the extract possesses a protein denaturation rate reducing activity. Regarding the antimicrobial activity, the results showed significant activity against various tested strains, where the greatest activity was on *Pseudomonas aeruginosa* with an inhibition diameter of 27±0.57mm at concentration D100mg where statistical analysis showed no significant difference between this result and the inhibition obtained by the antibiotic GN 50, also the methanolic extract showed good results on *Escherichia coli* and *Staphylocoque aureus* strains, and the methanolic extract showed good results on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus.*

Keywords: Rhantherium Suaveolens, wild cress, antimicrobial activity, anticoagulant activity Anti-inflammatory activity.

Abstract

Le Rhantherium suaveolens a été décrit dans l'étude comme un membre de la famille des Asteraceae, et ses diverses propriétés chimiques et activités biologiques ont été évaluées pour son utilisation potentielle en médecine alternative et complémentaire. Voici les grandes lignes de ce qui a été discuté et découvert dans l'étude.

Dans cette expérience, nous avons préparé l'extrait méthanolique, où dans cette expérience nous avons préparé l'extrait méthanolique en retour nous avons également enregistré un rendement de 20,68%, suivi par la détection chimique qui a montré la présence de divers composés métaboliques secondaires dans la plante entière avec des valeurs variables, terpènes tertiaires, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et polyphénols avec l'absence de saponines, suivi par la quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins. La quantification des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans l'extrait méthanolique a montré la plus grande quantité de polyphénols (g/mg 0,51 ± 34,84) et de flavonoïdes (2,22 ± 0,075mg/g). tandis que les dragons ont été estimés à 4,09 ± 0,28 mg/g.).

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait, nous nous sommes basés sur les méthodes DPPH et FRAP, où il a été observé qu'une activité antioxydante significative a été enregistrée en utilisant l'extrait étudié, puisque le taux d'inhibition des radicaux libres dans l'extrait a été enregistré à des valeurs de mg/ml () 0,62 ± 0,002 =IC50 (pour DPPH), tandis que dans le test FRAP il était de 58,37%. D'autre part, l'activité anticoagulante a été étudiée en effectuant les tests de coagulation suivants (TP, TCK, Fibrinogéne), où les résultats TP étaient des niveaux élevés estimés à 81,53% pour l'extrait par rapport au contrôle, tandis que les résultats TCK montrent (34,54s), ce qui explique que l'extrait a une activité anticoagulante et la capacité de prolonger le temps TCK. Le taux de fibrinogène était de g/l2,58, ce qui indique que l'extrait est capable de prolonger le taux de fibrinogène. L'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait a été évaluée en perturbant la structure secondaire de la protéine de l'albumine de l'œuf, et les résultats ont indiqué que l'extrait possède une activité de limitation du taux de dénaturation de la protéine. En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, les résultats ont montré une activité significative contre les différentes souches testées, où la plus grande activité était sur *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 27±0.57mm à la concentration D100mg où l'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre ce résultat et l'inhibition obtenue par l'antibiotique GN 50, également l'extrait méthanolique a montré de bons résultats sur *Escherichia coli* et *Staphylocoque aureus* souches, et l'extrait méthanolique a montré de bons résultats sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus.*

Mots-clés : Rhantherium Suaveolens, cresson sauvage, activité antimicrobienne, activité anticoagulante Activité anti-inflammatoire.

قائمة الاختصارات

DPPH: 2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyl.

***E. coli*:** Escherichia coli

EMeOH: Extrait Methanolique.

FRAP: Ferric reducing antioxydant power.

GPx: Glutathion peroxidase

IC50: Concentration inhibitrice 50

MeOH: Méthanol.

NOS: Nitric oxide synthase

ROS: Reactive oxygen species

SOD: Superoxide dismutase

UV: Ultra-violet.

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
01	التصنيف النباتى وانواع نبات *Rhantanium*	05
02	التصنيف النباتي لـنبات *Rhantherium suaveolens*	06
03	الوصف النباتى لنبات *Rhantherium suaveolens*	07
04	الخصائص العلاجية المعروفة لنبتة العرفج	10
05	تصنيف التربينات	18
06	تصنيف بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	25
07	تصنيف بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*	27
08	الادوات المستعملة اثناء جمع وتحضير المادة النباتية	35
09	الادوات ومحاليل والاجهزة المستعملة الاستخلاص	35
10	المحاليل والادوات مستعملة اثناء الكشف عن مواد الايض الثانوى	36
11	يمثل الادوات المستعملة عند التقدير الكمي لبعض مواد الايض الثانوي	37
12	المحاليل الكيمائية والادوات والاجهزة المستعملة فى تقدير الفعالية المضادة للأك	37
13	المحاليل والاجهزة المستعملة فى اختيبار النشاطية المضادة للبكتيريا	38
14	أنواع السلالات البكتيرية المختبرة	45
15	أنواع المضادات الحيوية المستعملة	45
16	جدول المردود الصافي لنبات *Rhantherium suaveolens*	53
17	الكشف عن المواد الفعالة في مستخلص نبات *Rhantherium suaveolens*	53
18	محتوى الفينولات للمستخلص الميثانولي لنبات العرفج	54
19	محتوى التانينات للمستخلص الميثانولي لنبات العرفج	55
20	قيمة الامتصاصية الضوئية للمحلول المحضر	56
21	يمثل نتائج مسارات التخثر لمستخلص نبات العرفج	58

قائمة الاشكال

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
01	نبات العرفج	07
02	زهرة نبات العرفج	08
03	شجيرة نبات العرفج	08
04	التوزيع الجغرافي لنبات العرفج في الجزائر	09
05	البنية الكيميائية للفلافونيدات	15
06	الأقسام المختلفة للفلافونيدات	16
07	هيكل كيميائي للتانين القابل للهيدروليز والتانين المتكثف	16
08	أنواع مضادات الاكسدة	23
09	بكتيريا القولون *Escherichia coli*	26
10	صورة بالمجهر الالكتروني لبيكتيريا *Escherichia coli*	26
11	صورة بالمجهر الالكتروني لبكتريا ***Pseudomonas aeruginosa***	27
12	صورة بالمجهر الالكتروني لبيكتيريا *staphylococcus aureus*	28
13	رسم تخطيطي للموقع االلتهابي	31
14	الالتهاب المزمن	32
15	الموقع الجغرافى لولاية غرداية	39
16	المنحنى القياسي للكريستين **Quercitine**	47
17	منحنى يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل **Acide Gallique** لنبات العرفج	54
18	منحنى يمثل التقدير الكمي للتانينات	56
19	توضح النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات العرفج	57
20	منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار القدرة الارجاعية للحديد **FRAP.**	57
21	زمن البروثرومبين ((TQ. TP) لمستخلص نبات العرفج	58
22	اختبارالسيفالين المنشط **tck** لمستخلص نبات العرفج	59
23	اختبار زمن الفيبرينوجان**fibrinogène** لمستخلص نبات العرفج.	60
24	نتائج اختبار تمسخ البروتين.	61
25	منحنى يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل **Acide Gallique**لنبات العرفج	62

المقدمة

المقدمة

المقدمة:

خلق الله النباتات على الكرة الأرضية من قبل أن تطأها قدم إنسان أو حافر حيوان لأن النباتات هي الغذاء الأساسي لكل مخلوق حي وبدونها لا وجود للحياة(رويحة،1983)، ومع تعاقب السنين، أخذ العارفون بأمور النباتات في تبادل المعرفة عن النافع منها ونواحي الاستفادة منها لصالح مجتمعاتهم (عرفة،2006)، وكانت مملكة النباتات الذخر الوحيد لأدوية الانسان من خلال عدد لا يحصى من القرون(عبود ووحيد، 2017) ، وذلك يشجع الإنسان حاليا بضرورة الاهتمام بالطبيعة واكتشاف المزيد مما لم يكن معروفا من قبل(حمزة،2006) .

منذ عقود، استخدم الإنسان النباتات لتخفيف آلامه وشفاء أمراضه وعلاج جروحه وفي الواقع من بين حوالي 500000 نوع من النباتات،وجد ان 80.000 لها خصائص طبية في إفريقيا، حيث لا يزال العديد من السكان يستخدمون الأدوية العشبية للرعاية الصحية حيث كانت القوة العلاجية للنباتات معروفة تجريبيا، ولطالما كانت النباتات جزءا من الحياة اليومية للإنسان حيث تتعدد استخداماتها للغذاء والصحة. **(Emedia Science, 2002)**

تعد النباتات الطبية المصدر الرئيسي للعقاقير والمواد الفعالة التي تدخل في صناعة الأدوية، وت زداد أهميتها مع التقدم الحضاري وازدياد الحاجة إلى الدواء والتوسع في استخداماته (صالح، 2012). على الرغم من كثرة النباتات الطبية والعطرية والمزروعة في الدول العربية، ورغم الدور المهم والبارز لهذه النباتات في تأسيس وتصنيع الأدوية والعطور وبعض الصناعات الأخرى، إلا أن تطويره واستخدامها لم يتم

بعد، وبالرغم من ذلك فإن تنميتها والاستفادة منها لم تنظم على المستوى القومي حتى الان ولا يزال الاستفادة منها يعتمد على الجهود الذاتية لبعض الأفراد الذين يقومون بتصديرها للخارج بغرض الكسب المادي فقط. للأسف، لا توجد سيطرة على جمع هذ النباتات وطرق الاستفادة منها، على الرغم من أهميتها في الطب الشعبي في الدول العربية، وتاريخها القديم .**(عبد الباسط محمد السيد،2010)**

تعتبر منطقة البحر الأبيض المتوسط بمناخها المعتدل والمشمس مواتية بشكل خاص لزراعة النباتات الطبية والعطرية بفضل قدراتهم المطهرة. **(Meriam Nadia,2019)**

ولطالما استخدم طب الأعشاب في الجزائر في قطاع الطب التقليدي. ولا تزال النباتات الى اليوم تلعب دورًا مهما للغاية في العلاج التقليدي وحياة السكان، لكن قواعد استخدامها تفتقر في كثير من الاحيان إلى الصرامة ولا تأخذ في الاعتبار المتطلبات الفعلية للعلاج الحديث.

في السنوات الأخيرة حيث ركزت الكثير من الأبحاث على تعزيز الطب التقليدي من أجل التحقق من سلامة وفعالية النباتات المستخدمة ووضع القواعد العلمية لاستخدام هذه النباتات، وأروع ما قام به العلم هو اكتشاف مكونات هذه النباتات من مواد فعالة واماكن تواجدها(عيسى،2012).

و في هذا السياق يندرج عمل بحثنا والهدف الرئيس منه هو التحقق من الفعالية المضادة للالتهابات ومضادات الأكسدة والمضاد للبكتيريا لبعض مستخلصات ازهار نبات طبي صحراوي جزائري ينتمي إلى العائلة النجمية Asteraceae من جنس *Rhantherium*.

يعرف *Rhantherium suaveolens* بنبات العرفج وهو نوع مستوطن في شمال إفريقيا (شمال الصحراء) ، و معروف باستخدامه في الطبي التقليدي ومن تم طرح الاشكالية التالية:

– ما مدى احتواء نبات العرفج *Rhanteium suaveolens* على المواد الفعالة؟

-ما مدى تأثير مستخلص نبات العرفج على الجذور الحرة وعلى النشاطية مضادة لتخثر و نمو السلالات البكتيرية ؟

ومن أجل الإجابة على هذه الإشكالية تضمن عملنا دراسة فيتوكيميائية من خلال الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي أولا، وذلك بعد استخلاص المستخلص الميثانولي للنبات، والتقدير الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات والتانينات ثانيا ،واتبعناها اخرا بتثمين هذا المستخلص في النشاطية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا،والفعالية المضادة للالتهاب والفعالية المضادة للتخثر،حيث قسمت دراستنا الى الى جزئين:

- ❖ جزء نظري :يحتوي على ثلاث فصول:
  - ✓ الفصل الأول: خصصناه لدراسة نباتية وتصنيفية للنوع النباتي
  - ✓ الفصل الثاني: شمل دراسة لمواد الأيض الثانوي
  - ✓ الفصل الثالث: تم التطرق فيه إلى بعض المفاهيم الخاصة بالفعالية المضادة للأكسدة و كذا التعريف بالسلالات البكتيرية المدروسة وكذا مفهوم الالتهاب.
- ❖ الجزء التطبيقي: يضم فصلين:
  - ✓ الفصل الأول: أدرجت فيه الطرق والمواد المستعملة في البحث.
  - ✓ الفصل الثاني: سردنا النتائج وقمنا بتحليلها ومناقشتها.

وفي الأخير لخصت جميع النتائج المتحصل عليها في خاتمة كللت بتوصيات.

الجزء النظري

الفصل الأول: الدراسة النظرية لنبات العرفج

1. النباتات الطبية:

يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضوه أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية واحدة أو أكثر، بتركيز مرتفع أو منخفض، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين، أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض، إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية، أو إذا تم استخدامها وهي مازالت على صورتها الأولى، أي نبات طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا **(محمد وعبد الله،2003)**.

2. العائلة النجمية :

العائلة النجمية Asteracées هي ثاني أكبر عائلة نباتية من حيث عدد الأنواع بعد العائلة السحلبية. تضم العائلة النجمية النباتات المزهرة، ثنائية الفلقة وتنتمي إلى رتبة النجميات حيث تتنوع هذه النباتات بين العشبية والشجيرات والأشجار، وتوجد في مختلف بيئات الحياة البشرية، مثل الحقول والحدائق والمناطق الصناعية والغذائية ونباتات الزينة' ،كما تستخدم أحيانًا في الطب النباتي وتُعتبر أيضًا أعشابًا ضارة في بعض الحالات، تتميز النجمية بتنوعها الغني ووفرة الأنواع التي تشمل الصغيرة والكبيرة، وتشكل مجموعة غنية ومتنوعة من النباتات في البيئة الطبيعية **(Aujardin, 2022)** .

هذه الفصيلة هي الأكثر أهمية من حيث عدد النباتات ذات القيمة الصحية، نظراً لثراء أنواعها والعدد الكبير من المواد الكيميائية، التي يمكن أن تنتجها ثراء أنواعها .**(Canal, 2017).**

3. نبات العرفج *Rhanterium*:

جنس *Rhanterium* هو جزء من العائلة النجمية، تحت الفصيلة الفرعية *Tubuliflorae*. يتواجد هذا الجنس في شمال أفريقيا وشبه الجزيرة العربية، ويضم فقط سبعة أنواع معروفة.

- *Rhantherium epapposum* Oliver
- *Rhantherium adpressum Coss. & Durieu.*
- *Rhantherium apressum*
- *Rhantherium Suaveolens* Desf.
- *Rhantherium intermedium* Coss. & Durieu ex Pomel
- *Rhantherium incrassatum,*
- *Rhantherium Squa*

(Quezel et Santa, 1963; Ozenda, 1983 ; Wiklund, 1986).

3- 1- تصنيف نبات *Rhantherium* :

تُصنف أنواع جنس*Rhantherium* على النحو التالي: (**Khelifi.2021**)

الجدول 01: يبين التصنيف النباتى وانواع نبات Rhantanium

Règne	Plantae
Embranchement	permaphytes (plante à grains)
Sous embranchement	Angiospermes (plante à fleurs)
Classe	Magnolipsida (Dicotylédones
Sous classe	Magnoliidae
Super ordre	Asterids
Ordre	Asterales
Sous ordre	Euasterids II
Famille	Asteraceae (Compositeae)
Genre	Rhanterium
Espèce	Rhanterium adpressum Coss. & Durieu Rhanterium epapposum Oliver Rhanterium apressum Rhanterium. suaveolens Desf. Rhanterium. intermedium Coss. & Durieu Pomel Rhanterium. incrassatum Rhanterium. Squarrosum

4- نوع ***Rhantherium suaveolens***:

4-1 . أصل الاسم:

يأتي اسم *Rhanteruim suaveolens* من اللاتينية وينقسم إلى نصفين:

- ***Rhanterium*** : من كلمة Rhinanthus او Rhinanthusالصغير = النبات الصغير
- ***Suaveolensà*** : ترتيب suave = عطر

2.4- التصنيف النباتى لنبات العرفج نوع *Rhantherium suaveolens*

صنف (Bouheroum 2007) نبات العرفج كما هو موضح في الجدول (01).

الجدول (02): يبين التصنيف النباتي لنبات *Rhanteruim suaveolens*

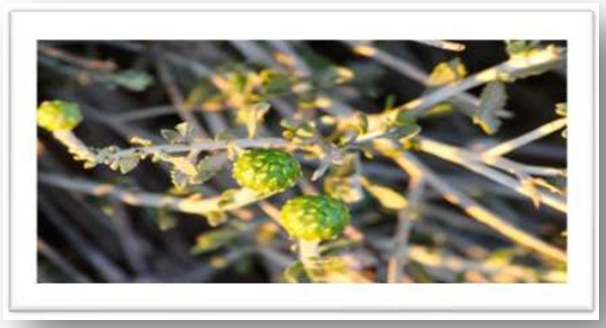
المملكة	النباتية
الشعبة	النباتات البذرية
القسم	مغطاة البذور
الصف	ثنائيات الفلقة
الرتبة	النجميات (المركبة)
العائلة	المركبة
الجنس	العرفج Rhantherium
النوع	*Rhantherium suaveolens*

4 -3 الوصف النباتي لـ *Rhantherium suaveolens*

Rhantherium suaveolensهو نبات يُصنف ضمن فصيلة النجمية (Asteraceae)وجنس *Rhantherium*على حسب **(Quezel et Santa, 1962-1963)**

الجدول (03) يمثل الوصف النباتى لنبات *Rhantherium suaveolens*

النمو والبنية	الأزهار	الأجزاء الزهرية	التوزيع
– يتميز بأنه شجيرة فرعية قصبية. – له عدة طلقات وأغصان منتصبة وخصل منتصبة ومقسمة. – تتواجد الأوراق بشكل متناوب وهي صغيرة الحجم وقد تكون كاملة أو مسننة.	– الرؤوس الطرفية للأزهار صغيرة ومنفردة ومتغايرة. – الازهار متعددة الالوان ومتشبعةحيت تكون الزهور الهامشية صفراء اللون ومربوطة برباطات وحيدة الانثى –الازهار المركزية تكون انبوبية وخنثوية	– الغطاء الزهري يكون جرسي الشكل مع تداخل الكسور في عدة صفوف،ويكون جلديًا ورمحي الشكل. - الوعاء(قاعدة الزهرة) يكون مسطحًا او محدبا قليلاً، –تجاويف الزهراء تكون ضيقة واسطوانية مع 4–5اضلاع، واضلاع الهامشية تقع فى محاور البقع وتكون صلعاء بشكل عام	–يوجد هذا النبات في المراعي الصحراوية ويتواجد بشكل اساسى فى شمال افريقيا



الشكل 1:نبات العرفج
Rhanteriume suave olens (jean- paul peltier 2006)

الشكل 02: زهرة نبات العرفج
Rhanteriume suaveolens

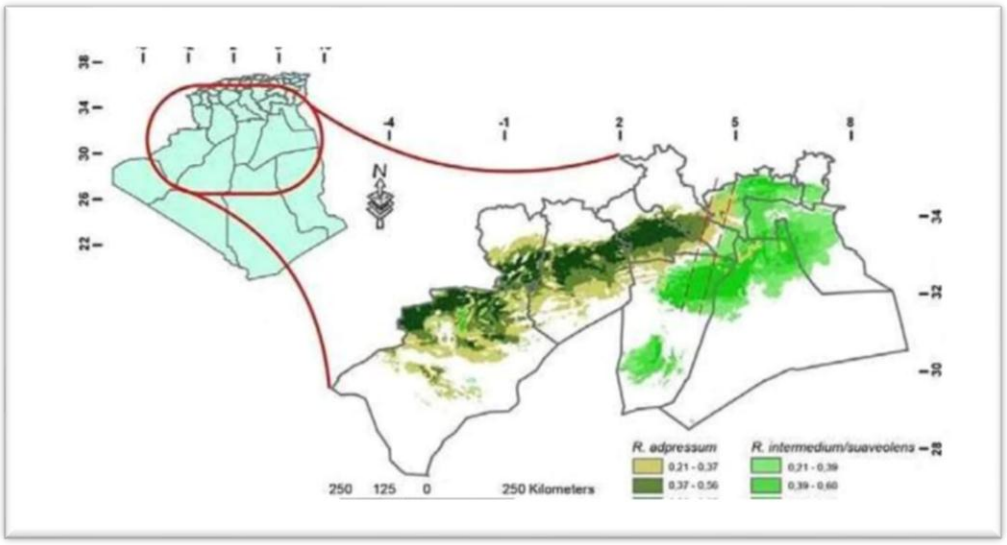
03 : شجيرة نبات *Rhanteriume suaveolens* العرفج

5.4- الوصف المورفولوجي لنبات العرفج:

- العرفج شجيرة معمرة تتحدى قسوة الصحراء، يتباهى العرفج بمظهره كشجيرة معمرة صغيرة، كثيفة الفروع، تناسب طبيعة الصحراء القاسية.
- تتميز أفرع العرفج السفلية بصلابتها وقسوتها، مع تفرعات كثيفة، بينما تتمتع الأفرع العلوية الحديثة بمرونة أكبر، مما يسمح لها بالتكيف مع تقلبات الطقس.
- تزهر شجيرة العرفج خلال فصل الربيع، فتتجلى روعتها بأزهارها الصغيرة ذات اللون الأصفر، تجذب إليها الفراشات والنحل.
- تتمتع شجيرة العرفج بقدرة هائلة على تحمل الظروف البيئية الصعبة، فهي تنمو في مختلف أنواع التربة، من الطينية إلى الرملية والحصوية، كما تتحمل الملوحة والجفاف وقساوة الطقس **(الحماد، 2005)**
- ينتمي العرفج إلى عائلة النجميات (Asteraceae)، وهي عائلة تضم العديد من النباتات المميزة، مثل الأقحوان وعباد الشمس ونبات النقد .

6.4 التوزيع الجغرافي لنبات العرفج *Rhanteriume suaveolens*:

يتم توزيع هذا الجنس بالضبط شمال افريقيا(الجزائروتونس)، ويمكن العثورعليه أيضا فيالعراق إيران والمملكة العربية السعودية والكويت والإمارات العربيةالمتحدة **(vincent ,2008)**



الشكل (04) : التوزيع الجغرافي لنبات العرفج في الجزائر **(طاهري وآخرون 2020)**

4-7- القيمة الغذائية لنبات العرفج:*Rhanteriume suaveolens*

هو من بين المصادر الجديدة للمكونات الطبيعية، حيث تحتوي على المركبات الفينولية وأظهرت هده المركبات اهتمامًا كبيرًا كعوامل لها عدة أنشطة تعزز الصحة، مثل الخواص المضادة للطفرات والأورام **(موسى اسملسيد، 2012)** وتمثل واحدة من أكثر المجموعات إثارة للاهتمام من المركبات النشطة بيولوجيًا المستخدمة كمضادات أكسدة غذائية طبيعية.

يعد نبات العرفج من صنف *Rhanteriume suaveolens* منأفضل النباتات الرعوية للإبل والأغنام ذات القيمة الغذائية المرتفعة، حيث يحوي الساق في مرحلة التزهير على 4.5 %من البروتين و2.44%من الألياف و5.3 %من الدهن و6.9%من الرماد. **(طيبة،2008)** خلال موسم النمو سجل محتوى البروتين 9.23% في بداية النمو الخضري ، ليقل إلى 96.7% في طور البذور. **(سعود وآخرون.،2004)**

وتشير الدراسات إلى أن محتوى البروتين في نبات العرفج يتغير خلال موسم النمو، حيث يصل إلى 9.23% في بداية النمو الخضري، بينما ينخفض إلى 9.67% في طور البذور **(سعود وآخرون، 2004)** .

8.4- االخصائص العلاجية لنبتة العرفج *Rhanteriume* :

نبتة العرفج والتي يُعرف علمياً بالاسم العلمي " *Rhanteriume* "، تُعتبر من النباتات ذات الخصائص العلاجية ولها استخدامات متعددة في الطب الشعبي والعلاج البديل والطب الحديث. إليك بعض الخصائص العلاجية المعروفة لنبتة العرفج موضحة في الجدول **(04)**

النوع	*Rhanterium adpressum*	*Rhanterium epapposum Oliver*	*Rhanterium Suaveolens*
الخصائص العلاجية في الطب الشعبى	-يتميز بخصائص مضادة لادرار البول -يعالج مشاكل البول -يستعمله سكان جنوب الجزائر في دباغة -يستعمله سكان ايران في انعاش بشرتهم	-يُستخدم في الطب الشعبي كعلاج للعدوى الجلدية والاضطرابات الهضمية، وكمبيد للحشرات - يُوصى بتحضير مغلي الأزهار الطازجة أو المجففة كمحمي للكبد، وخافض لضغط الدم، ومضاد للالتهابات الأمعاء، ومنبه للشهية	-منشط وموسع للقصبات الهوائية -استخدام الجذور لعلاج الربو - استخدام الأوراق لعلاج آلام الظهر
المراجع	(M Bouheroum et al, 2007) (M S Yaghmai et S Kolbadipour, 1987)	Ferchichi et al 2006 Amrani et al., 2014)	(Al-Qahtani2011)
الخصائص العلاجية فى الطب الحديث	- تمتلك خصائص مضادة للتشنج، ووقائية للديدان خاصة ضد الديدان الدبوسية والأوكسيور. - تمتلك تأثيرات مضادة للأستروجينات، ويبدو أيضًا أنها تحفز نشاط الخلايا العظمية مما يؤدي إلى تحفيز تخليق وتكوين العظام.		
المراجع	(Novais et al.2004)(Hajjaj,2017) (Ferchichi et al 2006)		

9-4 الأهمية الاقتصادية لنبات العرفج *Rhanteriume suaveolens* :

- يُعد نبات العرفج مصدرًا غنيًا لعلف الماشية، مثل الإبل والأغنام، وذلك لقيمته الغذائية العالية.
- مثبت للتربة: يلعب نبات العرفج دورًا حيويًا في تثبيت التربة ومنع انجرافها، خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة.
- يُساعد نبات العرفج على نمو العديد من النباتات الحولية حوله، مما يخلق بيئة متنوعة غنية بالحياة.
- يُعد نبات العرفج ملاذًا للعديد من الحيوانات، مثل طائر النعام، حيث توفر كثافته حماية من كثافة الغبار وقساوة الطقس. **(عزيز، 2007)**
- يُستخدم نبات العرفج كحطب ووقود ممتاز لإشعال النار، حيث إنه سريع الاشتعال، وتتميز جذوره بأنها تظل مشتعلة لوقت طويل، تمامًا كالفحم. كما أن لاحتراقه رائحة زكية ومنعشة تعطر الأجواء.
- اختيرت زهرة العرفج الصفراء لتكون الزهرة القومية لدولة الكويت، مما يدل على قيمتها الثقافية والرمزية.
- يُستخدم نبات العرفج في صباغة الأقمشة باللون الأصفر، كما يُستخدم في التدفئة والطهي لدى البدو أو كعلف للماشية بعد تجفيفه. **(البوريني.،2016)**

الفصل الثاني: الدراسة الكيميائية (الايض الثانوي)

1. الدراسة الكيميائية

تتكون المواد الكيميائية في الكائنات الحية، بواسطة عمليات الأيض Metabolism ،وتتضمن عمليات البناء Anabolism والهدم Catabolism ،وتتنتج الكائنات الحية نوعين من المركبات هما المركبات الأساسية والتي تسمى بمركبات الأيض الأولي Metabolites Primary، مثل البروتينات والسكريات والأحماض الأمينية والأحماض الدهنية وغيرها وهذه المركبات تحافظ على إستمرار العمليات الفسيولوجية الأساسية ،التي تعد ضرورية لنمو وبقاء الكائنات الحية **(علوان،2008)** . وتنتج مركبات عضوية معقدة ليس لها وظيفة مباشرة في النمو تسمى بمركبات الايض الثانوي Metabolites Secondary، وتنتج من مركبات الايض الاولي (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) ذات الاهمية الكبيرة في عمليات نمو وتطور النبات. يتجلى دور المركبات الثانوية في الدفاع عن النبات، باعتبارها وسيلة وقائية ضد المسببات المرضية. وتشير الدراسات الى الاهمية الكبيرة لمركبات الايض الثانوي في صناعة الادوية والعقاقير الطبية، وان أكثر من ربع الادوية المنتجة في العالم خلال العقود الثلاثة الماضية مشتقة من مركبات ثانوية نباتية **(سامي وآخرون، 2010)** تنتمي مركبات الايض الثانوي التي ينتجها نبات العرفج إلى مجموعة عديدات الفينول والقلويدات ،التانينات، التربينات

(Al-yahya et al.,1990).

1.1 مركبات الأيض الأولي:(Primary Metabolites)

هي مركبات تدخل فى التفاعلات الاولية، وتشير فى الغالب الى العمليات الايضية الاساسية التى تنتج عنها الاحماض الكربوكسيلية البسيطة، الاحماض الامينية ، السكريات ، الدهون، البروتينات حيث تتميز بخاصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية (**دندوقى 1989**) حيث:

- البروتينات: لبناء العضلات والأنسجة.
- السكريات: لتوفير الطاقة.
- الأحماض الأمينية: لبناء البروتينات والهرمونات.
- الأحماض الدهنية: لبناء جدران الخلايا والدهون.

(علوان.،2008)

2.1 مركبات الأيض الثانوي:(Secondary Metabolites)

من نواتج الايض الاولى الى نواتج اكثر تعقيدا مثل : القلويدات ،التربينات ، الفلافونويدات هى جزيئات مختلفة البنية والوظيفة ،كما تختلف من نوع نباتى لاخر،اذا يفوق عددها 200000مركب معروف **(attou, 2011)**، حيث تؤدي هذه المنتجات الطبيعية دورا مهما فى عمليات الايض داخل الخلية كما لها دور دفاعى فى نبات ولها تطبيقات عدة فى شتى المجالات مثلا ،صناعة الادوية ،صناعة الاغذية ،صناعة السموم الزراعية وصناعة الروائح العطرية وغيرها(**طاهر، 2008**)

1.2.1مركبات الأيض الثانوي في نبات العرفج ***rhanteriume suaveolens***

ينتمي نبات العرفج إلى عائلة النجميات (Asteraceae) التي تُعرف بغناها بمركبات الأيض الثانوي. وتشمل مركبات الأيض الثانوي الموجودة في نبات العرفج:

- عديدات الفينول: لها خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات.
- القلويدات: لها خصائص مضادة للبكتيريا والفطريات.
- التانينات: لها خصائص قابضة ومضادة للميكروبات.
- التربينات: لها خصائص مضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات.

(Al-yahya et al.,1990)

2.2.1. أهمية مركبات الأيض الثانوي في نبات العرفج:

1. **استخدامها في الطب الشعبي** :يتم استخدام مركبات الأيض الثانوي في الطب الشعبي لعلاج مجموعة متنوعة من الأمراض تاريخيًا، استُخدمت العديد من هذه المركبات لعلاج العديد من الحالات الصحية، مثل الالتهابات والأمراض الجلدية والهضمية وغيرها.
2. **مصدر محتمل للأدوية الجديدة** :يُعتبر البحث في مركبات الأيض الثانوي في نبات العرفج مصدرًا محتملاً لاكتشاف أدوية جديدة،فعلى سبيل المثال قد تحتوي بعض هذه المركبات على خصائص علاجية مثل: الخصائص المضادة للسرطان أو الخصائص المضادة للالتهابات ،التي يمكن استخدامها في تطوير أدوية جديدة لعلاج الأمراض.

3. **الحماية النباتية** :تُساهم مركبات الأيض الثانوي في حماية النبات من المسببات المرضية، مثل البكتيريا والفطريات والفيروسات، بالإضافة إلى الحشرات المفترسة فبعض هذه المركبات قد تكون لها خصائص مضادة للميكروبات أو الحشرات، مما يساعد النبات على البقاء والنمو بشكل صحي ومستقر.

2- المركبات الفعالة البيولوجية :

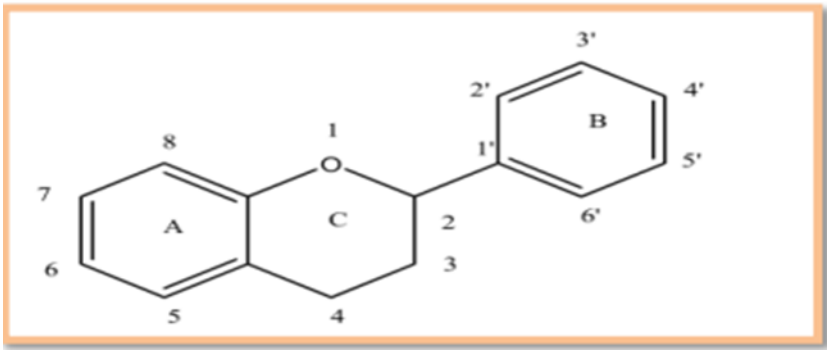
1.2. الفينولات les phenols:

المركبات الفينولية أو عديدات الفينول عبارة عن مستقبلات ثانوية نباتية، تتميز بنيتها الأساسية بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة بعدة مجاميع هيدروكسيل **(Hopcins, 2003)**، فقد تتواجد المركبات الفينولية على شكل حر أو مرتبطة مع سكريات أو أسترات ...، وبإمكانها الارتباط مع مكونات الجدار الخلوي كعديدات السكريات والبروتينات **(Edeas,2007)**. ويمكن تقسيم المركبات الفينولية حسب بنيتها الأساسية إلى عدة أقسام: الفينولات البسيطة والاحماض الفينولية وcoumarin و isocoumarin و naphtoquinone وxanthone و stilbene و antraquinoneو flavonoids و lignane و tannin ومن بين هذه الاقسام تمثل الاحماض الفينولية والفلافونيدات الأقسام الأكثر انتشار **(جرموني،2014)**

2.2. الفلافونيدات Les flavonoides

عرفت لأول مرة من قبل العالم " gyorgyi – Szent Albert " والذي صنفها على أساس أنها فيتامين (**بن مرعاش،2012)** تنتشر الفلافونيدات في الأجزاء النباتية المختلفة، خاصة في الأوراق والبراعم والأزهار، توجد في معظم الأصناف النباتية بالأخص الراقية منها، ومنعدمة تقريبا عند الطحالب **(باز،2006)**

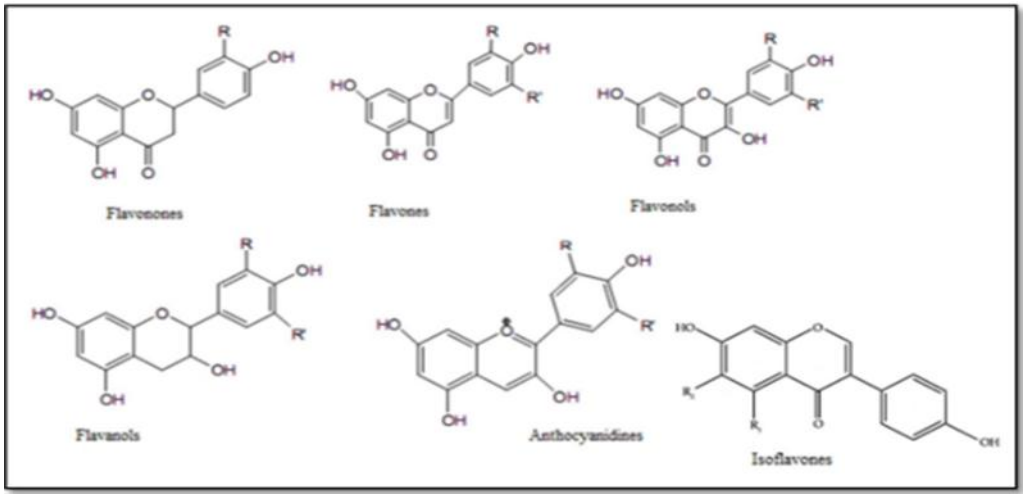
يتميز الفلافونويدات بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون، مكون من دورتين من 6 ذرات كربونية مرتبطتين بسلسلة من 3 ذرات كربون. يشكل الجسر المكون من 3 ذرات كربون عادة دورة ثالثة من نوع البيرون. جميع الفلافونويدات، حوالي 300 نوع، لها أصل مشترك في التخليق الحيوي، وهي الفلافونات، الفلافونولات،والفلافانونات يمكن تقسيمها إلى نحو عشر فئات حسب درجة التأكسد في النواة البيرانية المركزية.



الشكل 05: البنية الكيميائية للفلافونيدات

يعتبر النشاط الرئيسي المنسوب إلى الفلافونويدات هو الخاصية الفيتامينية P. بوصفها قادرة على تحسين الأوعية الدموية، فإنها تقلل من نفاذية الشعيرات الدموية وتعزز مقاومتها. بالإضافة إلى خصائصها المضادة للالتهاب، يمكن للفلافونويدات أن تكون مضادة للحساسية، وتحمي الكبد، وتكون مضادة للتشنج

(Chen وآخرون، 1992؛ Karou وآخرون، 2006)، وتخفض نسبة الكوليسترول، وتعمل كمدر للبول، ومضادة للبكتيريا، ومضادة للفيروسات، ولعدد قليل منها فقط فهي خلايا مضادة للورم في الاختبارات الخلوية. كما أنها تعتبر مُقاتلة للجذور **الحرة (Bruneton، 1987)**. بشكل عام تعتبر الفلافونويدات مثبطات إنزيمية لإنزيمات الهستيدين الديكاربوكسيليز، والإيلاستاز، والهيالورونيداز، وفسفوديستيريز **(Bruneton، 1998)**



الشكل 06: الأقسام المختلفة للفلافونيدات **(Bahorun et al.,2006)**

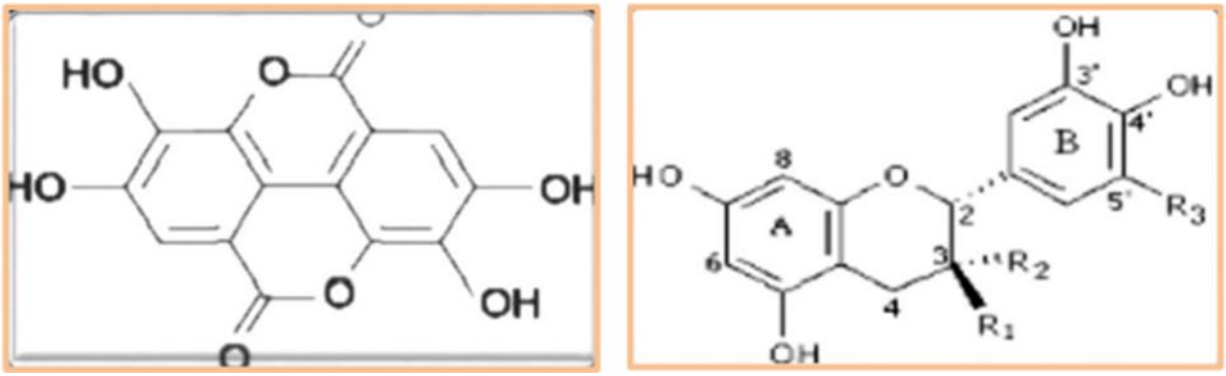
3.2. التانينات tanins :

التانين هو مادة عضوية موجودة في العديد من النباتات، خاصة في الأشجار والأغصان والجذور والأوراق والفواكه والقرون والأوراق المصنوعة من التانين والعصائر والصمغ، وتستخدم لأغراض متنوعة بما في ذلك تنقية الجلود وصناعة الأحبار وفي الصيدلة **(Cntrl,2012)**

يوجد نوعان من التانينات مختلفة من حيث هياكلها وأصولها البيوجينية:

التانينات القابلة للتحلل: وهي بوليسترات من الجلوكيدات وأحماض الفينول، يمكن تحللها بسهولة بواسطة الأحماض والإنزيمات (التاناز) إلى أوز (عادة الجلوكوز) وأحماض الفينول.

التانينات المتكثفة: تتكون من وحدات تركيبية متعددة من فلافان-3-أول (الكاتيكول أو الإبيكاتيكول) و/أو فلافان-3،4-ثنائي أول (بروأنثوسيانيدول) مرتبطة ببعضها بروابطC-C ، غالبًا ما بين C4-C8 أو نادرًا بين C4-C6



الشكل(07): هيكل كيميائي للتانين القابل للهيدروليز والتانين المتكثف (**Okuda et Ito, 2011**؛ **Adamczyk et al., 2013**)

4.2. القلويداتLes alkaloids :

القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب ذات أصل نباتي، تحتوي على عنصر النيتروجين كعنصر أساسي مما يعطي الصفات القلوية لها (**Mauro, 2006**)معظم القلويدات يحتوي التركيب البنائي، لها على مجموعات فعالة بها ذرة الأوكسجين مثل المجموعة الهيدروكسيلية أو المجموعة الكيتونية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر (**الحازمي ، 1995**)قد يحتوي النبات أكثر من 100

مركب من القلويدات المختلفة، إلا أن تركيزها لا يتجاوز 10 ٪ من الوزن الجاف لنبات (**Maur , 2006**) تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها،(**العابدة ، 2009**) ولقد كانت أكثر المحاولات قبولا وانتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعها (هيجانور)الذي قسم القلويدات إلى ثلاث أقسام رئيسية هي:

- القلويدات الحقيقية.
- القلويدات الأولية.
- القلويدات الكاذبة.

5.2. التربينات Les terpènes:

إقترح مصطلح التربين في عام 1880، عندما اكتشف مركب C10H16 في زيت التربنين ، وهي مركبات عديدة ذائبة في الدهون ، توجد خاصة لدى النباتات، و لكن أيضا لدى الحيوانات و البكتيريا، والتربينات مجموعة واسعة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الكربونية المتنوعة بدء من السلاسل الخطية البسيطة و انتهاء إلى بنية متعددة الحلقات الكربونية (**حوه ،2013**) التربينات هي مركبات هيدروكربونية طبيعية ناتجة عن تكثيف وحدات ذات 5 ذرات كربون تسمى وحدة. (PHILIPPE, 2007)،(Isoprène 5-carbone 2-méthyle-1,3-butadièn.Isoprène) أحصى العلماء أكثر من 36000 مركب، حيث تم عزل العديد منها من الزهور، الساق، الجذور، و أجزاء مختلفة من النبات ، و كذلك يمكن أن نجدها في الحيونات و

الحشرات الكائنات البحرية فهي تشكل بذلك المنتجات العظمى النباتية ، حيث يتم تركيب التربينات في الصانعات الخضراء (AYAD ،2008).|

1.5.2. تصنيف التربينات:

تتميز التربينات بأنها تشترك في الوحدة الأساسية و تصنف على أساس عدد الوحدات الأساسية المكررة حسب (Haba , 2008)إلى الجدول التالي:

الجدول (05) يوضح تصنيف التربينات

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	أحادي التربينMonoterpènes	2
15	سيسكوتربيناتSesquiterpènes	3
20	ثنائي التربين Diterpénes	4
25	التربين ثلاثى Triterpènes	6
30	رباعى التربين Tétraterpènes	8
أكثر من 4	متعدد التربينPolyterpènes	اكثر من 8

6.2. الزيوت الأساسية L'huile essentielle :

زيوت الأساس تُعرف زيوت الأساس بأنها منتجات تحتوي على تركيبة كيميائية معقدة، تحتوي على الزيوت الطاردة الموجودة في النباتات والتي تتغير إلى حد ما أثناء التحضير،تعتبر هذه الزيوت عطورًا وأدوية طبيعية في الوقت نفسه. يجب استخدامها بجرعات منخفضة للغاية نظرًا لتركيز مبادئها النشطة بشكل فائق.

(برانتون ج، 2009). لاستخراج هذه الزيوت الطاردة، هناك عدة عمليات، ولكن اثنتان فقط منها قابلة للاستخدام في تحضير الزيوت الأساسية، عملية التقطير بالبخار وعملية العصر **(برانتون.ج، 2009)**.

حسب (**رشيد وآخرون ، 2013**) الزيوت هي عباره عن مزيج معقد من المركبات والمكونات الرئيسية لها: هي التربينات الاحادية (Monoterpenes C10) من المعروف منذ القدم أن الزيوت الأساسية تظهر قدرة علاجية لايستهان بها، وقد تم استعمالها في والسسكوتيربينات 15 (Sesquiterpens) C وهي عباره عن هيدروكاربونات صيغتها العامه مختلفة ومجال استعمالاتها: الطب والصيدلة كمستحضرات طبية أو مسوغات للأدوية، التجميل، صناعة مواد التنظيف، التطهير، والصناعات الغذائية كمعطرات ومنكهات **(Amarti et al.,2008 Adam et al.,2009)**

ويتم استخلاص الزيوت بعدة طرق وهيا :

- الاستخلاص بغاز اكسيد الكربون
- طريقة الاستخلاص بالتقطير(التقطير بالماءوالبخار)
- طريقة الاستخلاص بالمذيبات العضوية (الاستخلاص بالمذيبات الغير طيارة والاستخلاص بالمذيبات الطيارة)
- طريقة الاستخلاص بالعصر (العصر اليدوى والهيدروليكى والميكانيكى)
- الاستخلاص بالتحلل الانزيمى

الفصل الثالث: دراسة الفعالية البيولوجية

1 . الفعالية المضادة للاكسدة

1.1. الاجهاد التاكسدي :

يعرف الإجهاد التأكسدي في النظام البيولوجي، على أنه إختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة ومولدات الأكسدة، هذا الإختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة و/أو تقصان في مضادات الأكسدة (**Kirschvink, 2000**) فيؤدي عدم التوازن هذا إلى ظهور أضرار خلوية ،غالبا ما تكون غير عكسية على حسب (**Tunez,.2011**) الأكسدة تنتج عن عملية فقدان للإلكترونات من قبل الذرات أو الجزيئات أو الأيونات ينشا عنها زيادة في الشحنة الموجبة أو النقصان في الشحنة السالبة.

1 .2. الجدور الحرة

تندمج الذرات في الجزيئات بروابط قوية بواسطة الكترونات متعاكسة حلزونية ، تكون محملة بطاقة كافية قادرة على أن تؤدي إلى تخريب هذه الروابط وبهذا تؤدي إلى ظهور وحدات كيميائية تملك إلكترون غير مرتبط على المدار الخارجي. تسمى هذه الوحدات الكيميائية الجذور الحرة. **(بوبلوطة،2009)** فهي تنتج طبيعيا بكميات صغيرة من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم وبذلك فإنها تكون مراقبة من طرف الجهاز المناعي **(عمر،2010)**. حيث تعتبر بيوت الطاقة (الميتوكندري) داخل الخلية المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الجذور **(حوة،2013)** .

كما تعمل الجذور الحرة على تخريب الخلايا، الأنسجة والأعضاء حيث تدخل في العديد من الأمراض الحادة والمزمنة تنشأ الجذور الحرة في جسم الإنسان من مصادر داخلية وخارجية، وتزداد في حالات المرض **(بوبلوطة ، 2010)**

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج (ROS ،**Miquel2002** ؛ **بن سلامة،2012**) .أو منع إنتشارها أو هدمها وتتكون مضادات الأكسدة من بعض الإنزيمات التي يصنعها الجسم وبعض العناصر الغذائية التي يتناولها الإنسان من فيتامينات ومعادن وغيرها ضمن طعامه اليومي.

1 .3. مضادات الأكسدة

1 .3. 1تعريف مضادات ألكسدة

تعرف مضادات الاكسدة هي كل مادة أو مركب يزيل الجذور الحرة للاكسجين أو يثبط عملية الاكسدة في الخلية (**Alzoghaibi، 2013**) . يضم جسم الانسان مجموعة متنوعة من مضادات الاكسدة التي تعمل على موازنة تأثير المواد المؤكسدة(**Birben, 2012 et al**) .ويمكن أن يفقد هذا التوازن بسبب الافراط في إنتاج الجذور الحرة أو عدم كفاية تناول العناصر الغذائية التي تحتوي على جزيئات مضادة لألكسدة. **(Alzoghaibi, 2013)**

1 -3-2 أنواع مضادات ألكسدة :

إن الدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة و تقسم

مضادات الأكسدة على أساس مصادرها إلى الطبيعية والمصنعة (Miquel, 2002). يوجد ثلاث أنواع أساسية من مضادات الأكسدة، سوف نتعرف عليها:

الإنزيمات أو مضادات الأكسدة الطبيعية:

هذا النوع من مضادات الأكسدة يتم تصنيعه داخل جسم الإنسان من خلال البروتينات والمعادن التي نحصل عليها من النظام الغذائي اليومي للأشخاص، فكلما كانت من مصادر أكثر جودة كانت هذه الإنزيمات أفضل في أداء وظيفتها وهذه الإنزيمات تشمل التالي:

- فوق أكسيد الديسموتيز SOD (Superoxidedismutase) .
- جلوتاثيونبيروكسيداز GlutathionePeroxidase.
- الكاتاليز Catalase.

ويجب العلم بأن هذه الإنزيمات تقوم بوظيفتها بشكل متكامل ،بمساعدة بعض العناصر في الجسم مثل الحديد والنحاس والسيلينيوم والمغنيسيوم والزنك.

فيتامينات مضادة للتأكسد:

توجد بعض الفيتامينات المضادة للتأكسد والتي لا ينتجها الجسم طبيعيًا لذلك لابد من الحصول عليها من مصادر خارجية سواء من الطعام أو من المكملات الغذائية وتشمل:

- ✓ فيتامين أ :(AVitamine) والذي يعمل على تقوية المناعة ويحسن صحة العيون ويرمم الأنسجة ويحسن من مستوى الكوليسترول في الجسم.
- ✓ فيتامين ج :(Vitamine C) فهو من الفيتامينات التي تساهم في تصنيع الكولاجين ويحمي الجلد من الأشعة فوق البنفسجية بالإضافة إلى قدرته على تعزيز امتصاص الحديد ويقوي المناعة.

- ✓ فيتامين هـ : (Vitamine E) هو من الفيتامينات التي تحمي أغشية الجسم ويحسن من حالة الجلد والبشرة والأوعية الدموية.
- ✓ حمض الفوليك أو فيتامين ب (Vitamine: 9) B9هو من الفيتامينات الأساسية والمهمة للنساء في مرحلة الحمل وذلك لأنه يمنع حدوث مرض خلل الأنبوبة العصبية وهو مرض قد يتسبب في تشوه الجنين. وحمض الفوليك يحافظ على سلامة القلب أيضاً.

المركبات النباتية المضادة للأكسدة: هذه المركبات موجودة بشكل طبيعي في بعض الخضروات والفواكه الطازجة والتي تستخدمها النباتات لحماية نفسها من الشوارد الحرة والتي يستفيد منها الإنسان عند تناولها بكميات مناسبة للاستفادة من خصائصها والتي تشمل:

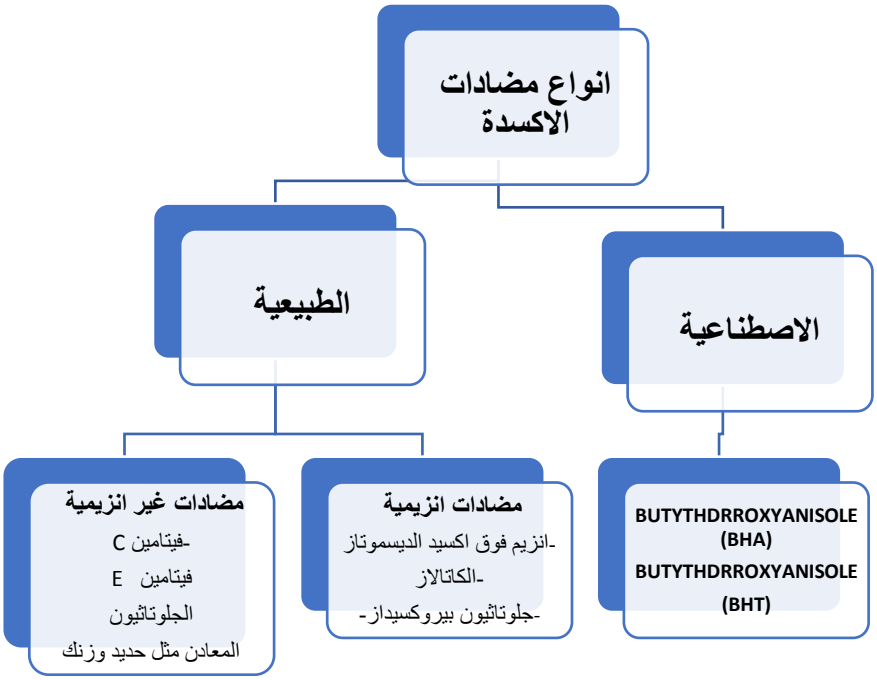
الكاروتينات: من أهم مركباتها البيتا كاروتين وهو عبارة عن صبغة تعطي اللون البرتقالي للخضار والفاكهة توجد في الجزر والبطاطا الحلوة والقرع.

الفلافونويدات: عبارة عن مجموعة من المركبات الموجودة في الكثير من الخضروات والفواكه ومن أهمها مركبات الأنثوسيانيدينات وهي عبارة عن مركبات تحمل اللون الأحمر والأزرق وتوجد في بعض الفواكه مثل التوت البري والفراولة والكرز الأحمر، وتعد هذه المركبات من مضادات التأكسد الضعيفة بسبب ضعف استقرارها وامتصاصها في الجسم.

ولكنها تلعب دورًا هامًا ورئيسيا في الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية وخاصة مرض تصلب الشرايين كما أنها تعمل كمضاد للسرطانات والالتهابات.

كبريتيدات الأليل: توجد بكميات كبيرة في الثوم ،والبصل فهي تحافظ على صحة العظام بالإضافة إلى نشاطها ضد الخلايا السرطانية، وأيضاً تحفز المناعة وتخفض مستوى السكر في الدم وتتميز بخصائص المضادات الحيوية الأخرى.

عديدات الفينول: توجد في بعض الأطعمة ومنها المكسرات والكاكاو والشاي الأخضر، فهي من مضادات الأكسدة القوية جدًا وتساعد في خفض مستوى الكوليسترول والسكر في الدم ،إلى جانب قدرتها على تعزيز صحة القناة الهضمية في الجسم وتعمل أيضًا على منع زيادة الوزن وتخفيف الالتهابات.



الشكل (08) : أنواع مضادات الاكسدة

2- الفعالية المضادة للبكتيريا :

2-1- البكتيريا

هي كائنات حية دقيقة بدائية النواة ذات خلية واحدة، يتراوح وقطرها ما بين (0.3, 0.2 ميكرون) ، **تتميز** بجدار خلوي يتركب من(peptidoglycan) ارتباط سكر –حمض أميني .تصنف حسب جدرانها إلى بكتيريا موجبة الغرام وبكتيريا سالبة الغرام **(الحلو،2009)**

2-2- خصائص البكتيريا:

- تتميز البكتيريا بمجموعة من الخصائص، ومن أهمها:
- البكتيريا كائنات دقيقة بدائية النوى.
- تتميز البكتيريا ببساطة التركيب.

إذ تتركب من جدار خلوي وغشاء خلوي ،يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا ولا يحتوي على بروتين الهستون، وقد يحتوي على جزيء DNA أو أكثر على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات، وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموزوم **(العابد،2009)** .

- بعضها متحركة تستخدم في حركتها شعيرات صغيرة يطلق عليها مسمى الأسواط أو الأهداب.
- تتكاثر بالانشطار.
- قد تحاط بعض أنواعها بطبقة مخاطية، تسمى المحفظة Capsule تشكل غطاء وتزيد من قدرة بعض أنواع البكتيريا في إحداث المرض.

- تتغذى على المواد العضوية وغير العضوية تحت الظروف الهوائية و اللاهوائية وبعضها ذاتي التغذية (العابد، 2009,)

2-3-تصنيف البكتيريا:

يمكن تصنيف البكتيريا وفق عدة طرق:

الأسماء العلمية:

تُصنف البكتريا شأنها شأن بقية الكائنات الحية، وفق الأجناس genus (بناءً على وجود ميزات متشابهة أو مشتركة)، ووفق الأنواع species (ضمن الجنس نفسه).يتكون الاسم العلمي من اسم الجنس متبوعًا باسم النوع ، قد تكون هناك أنواع فرعية مختلفة ، وتُسمى السلالات.تتباين السلالات في التركيب الجيني والمُكَوِّنات الكيميائية.يمكن في بعض الأحيان أن تكون الأدوية واللقاحات فعالة تجاه سلالات بكتيرية محددة دون سواها.

الاصطباغ:

يمكن تصنيف البكتيريا حسب اللون الذي تتحول إليه بعد استخدام مواد كيميائية معينة) الصبغات stain تُعد تقنية "غرام "(Gram طريقة شائعة في تلوين البكتيريا.تتصبغ بعض أنواع البكتريا باللون الأزرق،ويُطلق عليها إيجابية الغرام.تتصبغ سلالات أخرى باللون الأحمر،ويُطلق عليها سلبية الغرام تصطبغ الجراثيم إيجابية الغرام وسلبية الغرام، بشكلٍ مختلف بسبب الاختلاف في تركيب جدرانها الخلوية،كما أنّها تسبّب أنواعًا مختلفة من العدوى، وتتأثر بأنواع مختلفة من المضادَّات الحيوية هناك العديد من الصبغات الأخرى بالإضافة إلى صبغة غرام.

الأشكال:

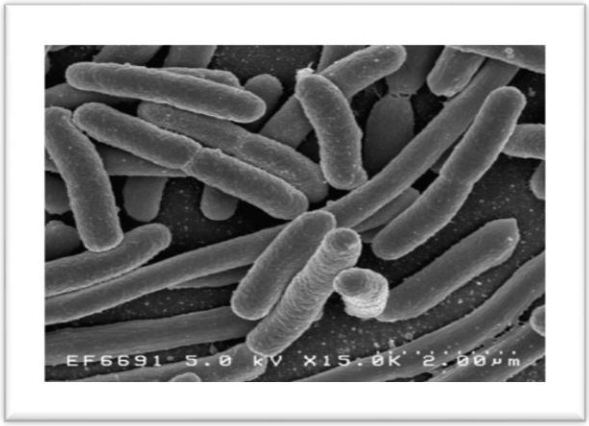
يمكن تصنيف جميع أنواع البكتريا تحت أحد الأشكال الثلاث الرئيسية التالية: الدائري وتُسمى مكورات cocci والخطّي وتُسمى عُصي.

2-4-السلالات البكتيرية المدروسة:

أ-بكتيريا القولون Escherichia coli:

بكتيريا عصوية الشكل متحركة بأسواط جسمية، هوائية اختياريا، سالبة الغرام تتواجد في الأمعاء الغليظة للإنسان، معظمها ليست مسببة للأمراض، يمكن أن تسبب امراض عند تواجدها بأعداد كبيرة **(Irving et al ,2005).**

من بين هذه الأمراض إلتهابات الأعضاء التناسلية والتهاب السحايا لدى الأطفال حديثي الولادة، وجود بيكتيريا Escherichia Coli يدل على تلوث مياه الشرب والغذاء **(KayserK et al, 2005)**. تصنف كالاتي في الجدول رقم (06)



الجدول رقم (06): تصنيف بكتيريا القولون Escherichia coli

الشعبة	Proteobacteri
الطائفة	Gammaproteobacteria
الرتبة	Entérobacteriale
العائلة	Entérobactérice
الجنس	Escherichia
النوع	*Escherichia coli*

الشكل (09) بكتيريا القولون *Escherichia coli*

الشكل (10): ملاحظة بالمجهر الالكتروني لبيكتيريا (David Marchal) Escherichia *coli*

ب- بكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*:

هي بكتيريا عصوية سالبة الغر ام متحركة هوائية (الشكل09) **(Irving *et al*, 2005)** مصدرها الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان، تمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات لذا يصعب السيطرة عليها **(Lambert, 2002)** وهذا ما يفسر نموها وتكاثرها في الأوساط الاستشفائية.**(Lyczak *et al*, 2000)**

تحتل المرتبة الأولى في التسبب بعدوى التهابات الرئة.

تصنف هذه البكتيريا في الجدول التالي (08) **(بن حوة،2013)**

الجدول رقم (08): تصنيف بكتيريا الزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa

الشعبة	*Proteobacteria*
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Pseudomonada l*
العائلة	*Pseudomonadadacea*
الجنس	*Pseudomonas*
النوع	*Pseudomonas aeruginosa*

الشكل (11): صورة بالمجهر الالكتروني للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* **(laboratuvar.com)**

ت- بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus*:

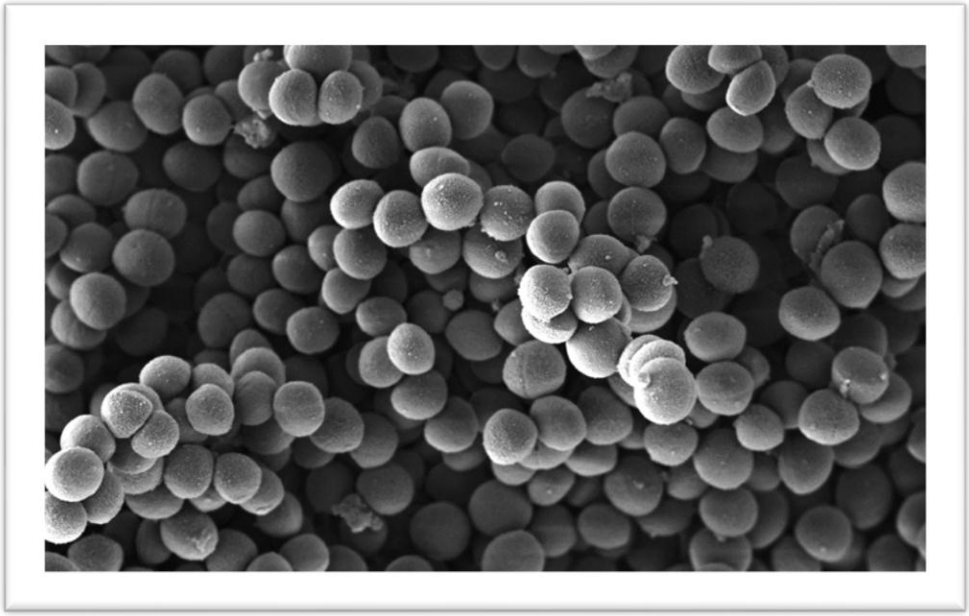
هي بكتيريا موجبة الغرام غير متحركة، سميت بهذا الاسم (مكورات عنقودية) لأنها تتجمع على شكل كرات غير منتظمة تشبه عنقود العنب عند رؤيتها تحت المجهر الشكل (11)

تعيش المكورات العنقودية الذهبية بشكل طبيعي على جلد الإنسان **(شبوعات، 2014)** وفي تجويف الأنف أو في الجهاز التنفسي، إلا أنه يمكن أن تتسبب بمجموعة من الأمراض مثل التهابات جلدية طفيفة كالبثور، والتهاب النسيج الخلوي، اضافة الى امراض اخرى مثل الالتهاب الرئوي (Pneumonia) التهاب السحايا (meningitis) والتهاب العظم والنخاع وتجرثم الدم(Septicemia)

تعد واحدة من الأسباب الأكثر شيوعا للأمراض المكتسبة من المستشفيات **(البوز،2012)** حيث تصنف هذه البكتيريا فى الجدول (7) كالتالى:

جدول رقم (07): تصنيف بكتيريا المكورات الذهبية العنقودية *staphylococcus aureus* **(بن حوة،2013)**

الشعبة	Firmicute
القسم	**Cocci**
الرتبة	***acillales***
العائلة	***Staphylococcaceae***
الجنس	***Staphylococcus***
النوع	***Staphylococcus aureus***



الشكل (12): صورة بالمجهر الالكتروني لبيكتيريا*staphylococcus aureus* (بالمجهر الإلكتروني الماسح.)

3-المضادات الحيوية

المضادات الحيويَّة هِيَ أدوية تُستَخدَمُ لمعالجة حالات العدوى البكتيرية، وهِيَ غير فعَّالة ضدَّ حالات العدوى الفيروسيَّة و معظم حالات العَدوى الأخرى.تقضي المضادَّات الحيوية على البكتيريا أو تمنعها من التكاثُر، ممَّا يُساعد الدِّفاعات الطبيعيَّة للجسم على القضاء عليها.

على الرّغم من أنَّ الأطباء يُحاوِلون استخدَام المُضادَّاتَ الحيويَّة لمُعالجة أنواع مُحدَّدة من العَدوى البكتيريَّة، إلّا أنَّهم يبدؤون أحيانًا باستخدام مضادات حيوية يمكنها القضاء على أنواع مختلفة من البكتيريا في وقت انتظار نتائج الاختبارات التي تتعرَّف إلى البكتيريا المُحدَّدة.من المهمّ أخذ المضادَّات الحيوية كما هو موصوف، وينبغي أخذ المضادَّات الحيوية وفق الجرعة، وعدد المرات وعدد الأيام التي تحقق أقصى فعالية لعلاج عدوى محددة.

- يُمكن أن تُصبِحَ البكتيريا مُقاومةً لتأثيرات المُضادَّات الحيويَّة، وخاصة إذا لم تؤخذ بالطريقة المطلوبة.
- يُمكن أن تُؤدِّي المُضادَّات الحيويَّة إلى تأثيراتٍ جانبيَّة، مثل الانزعاج في المعِدة والإسهَال، وبالنسبةِ إلى النِّساء، عَدوى الخمائر المهبليَّة.
- يُعاني بعضُ الأشخاص من حساسيَّة لمُضادَّات حيويَّةٍ مُعيَّنةٍ.

1.3 انواع المضادات الحيوية

تعمل المضادات الحيوية على تعطيل وظائف حيوية هامة في البكتيريا الضارة، لتقضي على البكتيريا تمامًا أو توقفها عن العمل والتكاثر بشكل طبيعي، ويساعد هذا الجهاز المناعي على مواجهة العدوى والالتهاب. تستهدف الأنواع المختلفة من المضادات الحيوية المتوفرة أمراضًا مختلفة ومتنوعة، وتنقسم عادة إلى نوعين:

مضادات حيوية تستهدف شريحة واسعة من السلالات البكتيرية، مثل الأموكسيلين(Amoxicillin) ، والجنتاميسين.(Gentamicin)

مضادات حيوية تستهدف بضعة أنواع فقط من السلالات البكتيرية المسببة للأمراض، مثل البنسلين (Penicillin).

وتعمل المضادات الحيوية بآليات مختلفة، ومنها:

- تدمير جدران الخلايا البكتيرية ومنع تكونها، وهي الآلية الأكثر شيوعًا في المضادات الحيوية.
- تدمير البروتينات الموجودة في الخلايا البكتيرية وتثبيط عملها.
- تغير في تركيب أغشية الخلايا البكتيريا.
- تثبيط انقسام الحمض النووي داخل البكتيريا.

ويتم عادة اختيار المضادات الحيوية من قبل الطبيب لحالة المريض تبعًا للسلالة البكتيرية المسببة للالتهاب أو العدوى، وأحيانًا قد يجري الطبيب بعض الفحوصات لتحديد ما إذا كان المريض يعاني من حساسية تجاه أنواع محددة من المضادات الحيوية.

4. النشاطية المضادة للالتهاب :

1.4 الالتهاب

هو رد فعل وقائي يصدره الجسم تجاه الإصابة أو العدوى، حيث تصبح المنطقة المصابة متورمة وساخنة وحمراء ومؤلمة. والالتهاب هو رد فعل الجسم تجاه الإصابة أو العدوى فعلى سبيل المثال إذا كنت تعاني من ألم في الأسنان أو احتقان في الحلق أو عندما يرتطم رأسك بالباب أو يصطدم أصبع الخنصر بشيء ما، فإن ما يشعر به جسمك في هذه الحالات يسمى رد الفعل الالتهابي. وتتحول المنطقة المصابة إلى اللون الأحمر، وتصبح ساخنة، وتتورم ويتألم منها المصاب. هذه هي الأركان الأربعة الرئيسية للالتهاب كما وصفها Celsus قبل أكثر من 2000 عام، والتي تعرف بأركان الالتهاب: الاحمرار (rubor)، والسخونة (calor)، والتورم (tumor) والألم (dolor) يحدث الاحمرار جراء تضخم الشعيرات الدموية (الأوعية الدموية الصغيرة) في النسيج المصاب،

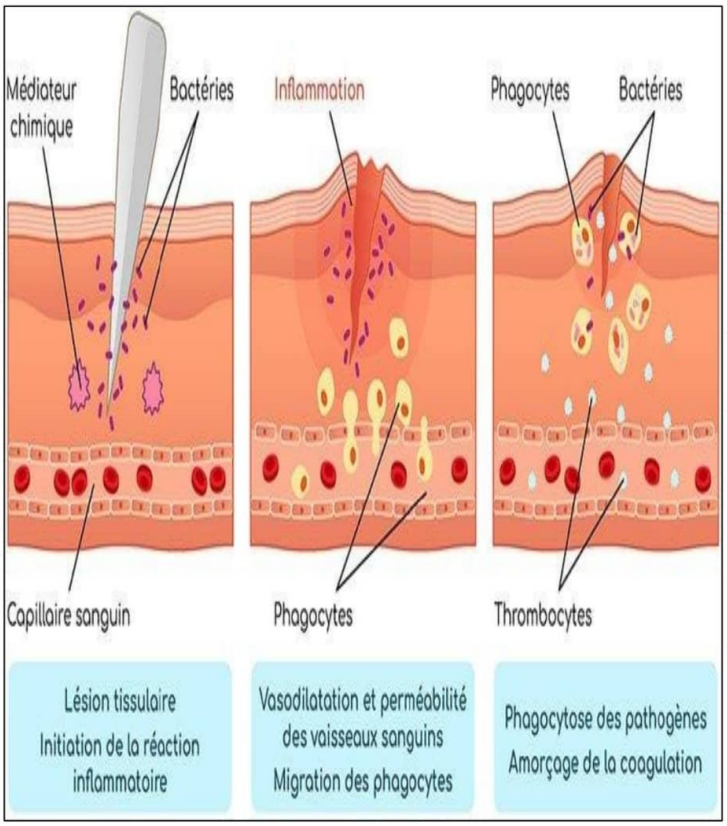
وهو ما يتسبب في استدعاء المزيد من الدماء بمعدل أكثر من المعتاد. وهذه الزيادة في تدفق الدم هي أيضًا المسؤولة عن الشعور بالحرارة، ويحدث التورم جراء امتلاء الأنسجة بالسوائل التي تخرج من الأوعية الدموية المتضخمة، بينما يشعر الإنسان بالألم بسبب المواد الكيميائية التي تحفز النهايات العصبية في هذه

المنطقة.والعلامات الرئيسية لحدوث الالتهاب وصفها (Aulus Cornelius Celsus)وتسمى الأعراض الرئيسية للالتهابات قبل أكثر من 2000 عام.

وتشمل هذه الأعراض الاحمرار (الذي يسببه تمدد الأوعية الدموية الصغيرة)، والتورم (الذي يسببه تراكم السوائل خارج الأوعية الدموية)، والألم (الذي تسببه بعض المواد الكيميائية مثل البروستاجلاندين)، والحرارة (الناتجة عن زيادة تدفق الدم).

الالتهاب عملية ضرورية ومفيدة لبقاء الشخص على قيد الحياة.عادة ما يكون الالتهاب عملية مفيدة، والغرض منه هو القضاء على العوامل الممرضة وإصالح تلف الانسجة. في بعض الاحيان يمكن أن يكون الالتهاب ضارا بسبب عدوانية العامل الممرض،أو استمراره أو بسبب التشوهات في لوائح العملية الالتهابية، أو بسبب الشذوذ الكمي أومشاركة الخلايا النوعية في الالتهاب .

ممكن أن يسبب الالتهاب تلف موضعي أو معمم لا رجعة فيه لانسجة، وأحيانا يؤدي إلى صدمة إنتانية تؤدي إلى الوفاة في الحالات الاكثر خطورة(**Nathan, 2002 & Barton, 2008**) يشارك الالتهاب في التسبب في العديد من الامراض، مثل مرض السكري وأمراض القلب والاوعية الدموية والسرطان وأمراض مميتة أخرى (**Yukui Ma al et 2013**).



الشكل (13) : رسم تخطيطي للموقع الالتهابي**(Nutrixeal-Info, 2021)**

2.4 أسباب الالتهاب

الالتهاب الناجم عن الهجمات الفيزيائية أو الكيميائية، يمكن أن يحدث الالتهاب بسبب الحرارة والبرودة والاشعاع المؤين، والمواد الكيميائية أو السموم البكتيرية.**(Weill & Batteux, 2003)** الالتهاب بسبب العوامل المعدية، يمكن أن يكون الالتهاب نتيجة عدوى (تتعلق باختراق الكائنات الحية المسببة لامراض مثل البكتيريا أو الفيروسات أو الطفيليات أو الفطريات) .**(Postiaux, 2016)**

3.4 انواع الالتهاب

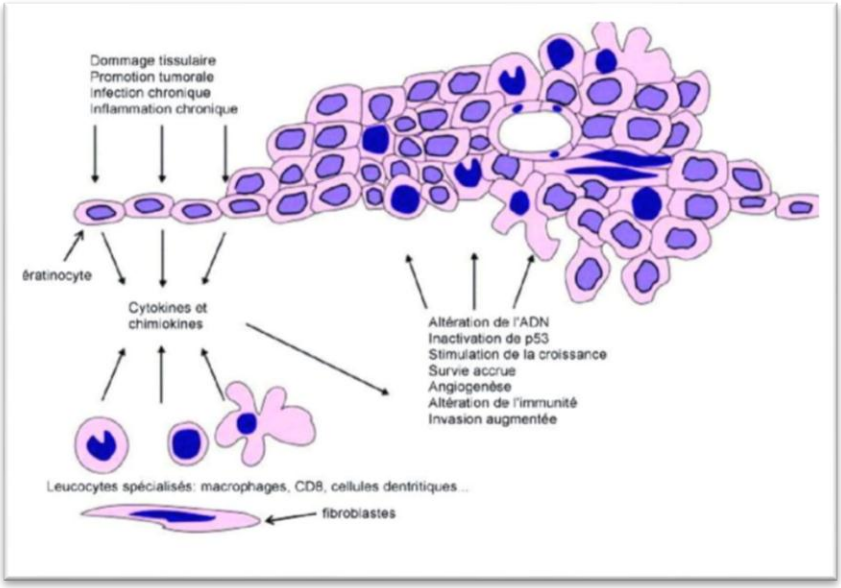
هناك نوعان من الالتهاب،الالتهاب المزمن والحاد، حيث أن الالتهاب الحاد ظاهرتان هما:

(Vascular Phase و Cell Phase)، ويمكن أن يستمر هذا النوع من الالتهاب ،من بضع ساعات إلى بضعة أيام ،ويتم توفيره بواسطة أنواع معينة من الخلايا مثل الخلايا الضامة والخلايا النسيجية والخلايا البدينة Mast Cells والخاليا المتغصنة Dendritic Cells في حالة الالتهاب المزمن، تستمر العملية الالتهابية لفترة طويلة ويصاحبها تكوين تليف، Fibrosis وتشكيل الورم الحبيبي Granuloma (**2014.,aletParag.**)

أ- الالتهاب المزمن

هو رد فعل يمكن أن يستمر لعدة أسابيع أو أشهر،يتم خلالها ملاحظة الالتهاب ،وتدمير الانسجة التالفة وعمليات الاصلاح في نفس الوقت.و في الحلات المزمنة، يرتبط الالتهاب بالتسلل الهائل للخلايا وحيدة النواة ،مثل البالعة Macrophage والخلايا الليمفاوية، وينتج عن المشاركة المستمرة لاستجابات المناعية الفطرية والمكتسبة.

تظهرالخلايا البلعمية في الآفات أنها تنتج سلسلة من الوسائط المسببة لالتهابات التي تنشط الخلايا الليفية، لربط الكولاجين وتنشيط أنواع الخلايا الاخرى .(**Eddy, 2005**) يحدث الالتهاب المزمن في البداية عن طريق الاستجابات الوعائية، التي تنطوي على ظهور جزيئات الالتصاق على سطح الخلايا البطانية، والتي ستؤدي تحديدًا إلى التصاق الخلايا الوحيدة، والخلايا Endothelial الليمفاوية وتسمح بنقلها إلى الحيز خارج الاوعية الدموية .(**aletCharles, 2010**)



الشكل (14) : الالتهاب المزمن.**(Balkwill , 2001)**

ب- الالتهاب الحاد

ظاهرة مفيدة للجسم وهي الوظيفة الاساسية لاستجابة المناعية ،التي تهدف إلى القضاء على العامل الممرض، أو عزل العامل العدواني (البكتيريا والفيروسات والطفيليات وانسجة التالفة) عن بقية الجسم والسماح بإصلاح الانسجة ،في أسرع وقت ممكن(**Weill & Battaux, 2003**) يمكن أن يحدث هذا التفاعل خلال بضع دقائق ،أو عدة ساعات حسب نوع وشدة تلف الانسجة، ويمكن أن يستمر عادةً لبضعة أيام (**Stevens etal.2004**) ،يتميز الالتهاب الحاد في المقام الاول بتفاعل دوران الاوعية الدقيقة Microcirculatoire، يزول الالتهاب الحاد من تلقاء نفسه، أو بالعلاج،ولكنه قد يكون ضارًا إذا كان تدميرالانسجة شديدًا (**Charles et al2010**)

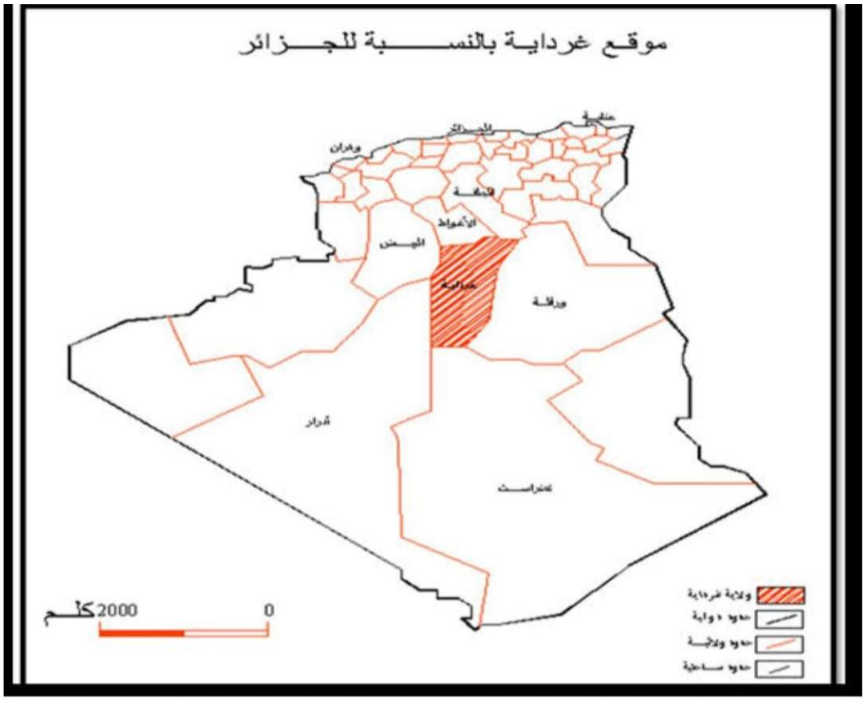
الجزء التطبيقي

الفصل الرابع:

الطرق والأدوات المستعملة

1- الطرق المتبعة في جمع وتجفيف المادة النباتية:

تم الحصول على العينة النباتية لل *Rhanterium suaveolens* في فصل الخريف، من ولاية غرداية دولة الجزائر حيث تقع شمالي الصحراء تحدها ولاية الجلفة والاغواط شمالا، ولاية البيض وادرار غربا وولاية ورقلة شرقا وولاية تمنراست جنوبا.



الشكل (15): الموقع الجغرافي لولاية غرداية

تم تجفيف النبتة فى الظل بطريقة طبيعية بتعريضه للهواء فى مكان مهوى وبعد تجفيف النبات يتم طحن جميع اجزاءها باستخدام طاحونة البن وتم وضع المسحوق في زجاجيات نظيفة مغلقة.

الشكل (16): صورة لنباتات*Rhanterium suaveolens* بعد التجفيف والطحن

2- الطرق المتبعة في الكشف الكيميائيعن نواتج الأيض الثانوي:

من اجل معرفة ما يحتويه نبات العرفج *Rhanterium Suaveolens*من مواد فعالة اعتمدنا طريقة الكاشف اللوني

2-1تحضير مستخلص نبات العرفج:

قمنا بتحضير مستخلص نبات العرفج المعدلة والمتبعة للخطوات التالية(**mahmoudi et al.2012**) :

قمنا بوزن50gمن أوراق النبات المطحون والجاف ،ونضيف اليه 210mlمن الميثانول(MeOH) المركز،و90ml من الماء المقطر،ووضعنه في بيشر محكم الاغلاق، ثم فى جهاز الرج للحصول على محلول متجانس، وتركها لمدة 24ساعة في مكان مظلم فى درجة حرارة المخبر، وفى اليوم الثانى قمنا بترشيح

المستخلص بواسطة جهاز الترشيح، وكررنا العملية لمدة يومين، بوضع بقايا النبتة بعد الترشيح الاول باضافة (140 ml ميثانول +60 ml ماء مقطر) وبعد ترشيحه نضع المستخلص المتحصل عليه فى جهاز التسخين الدورانى لنتحصل على مستخلص خام ،ثم نضع المستخلص المتحصل عليه في الحاضنة الكهربائية تحت درجة حرارة 45°c للحصول في النهاية على ناتج عبارة عن مستخلص خام، يحفظ لحين الاستخدام.

2-2 مردود المستخلص:

هو عبارة عن النسبة بين الكتلة الجافة المستخلصة التى تم الحصول عليها وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة فى الاستخلاص وتقدر حسب **(Gueettaf et al.2016)** فى المعادلة الاتية :

المردودية %= (الكتلة الجافة المستخلصة/كتلة المادة النباتية الجافة) ×100

2-3 الاختبارات الفيتوكيميائية الاولية:

هي جملة من الاختبارات التي تهدف إلى معرفة وحصر مختلف المواد الفعالة ،التي يحتويها نبات العرفج *Rhanterium Suaveolens* ونلخص مجملها فيما يلي :

الكشف عن القلويدات: les Alcaloïdes

نضع في أنبوبي اختبار 1ml من المستخلص، ونضيف 5 قطرات من HCL ثم نضيف في الانبوب الاول من كاشف ماير ودراجندروف على التوالي:

- **كاشف دراجندروف:** ظهور راسب برتقالي يدل على وجود القلويدات

- **كاشف وانر:** ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات **(Harborn.1973)**

الكشف عن التانينات:les tannins

- نضع في أنبوب اختبار 2mlمن المستخلص، و نضيف له 3 قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي (FeCl3 %2−1)

- ظهور لون أزرق مسود دليل على وجود gallique tannins

- ظهور لون ازرق مخضر يدل على وجود cathéchiquet **(Trease et Evans1987)**

الكشف عن متعدد الفينول polyphynol:

- نضع فى انبوب اختيبار3ml من المستخلص النباتي، ونضيف له 5 قطرات من$Fecl_3$بتركيز 2% حيث تميز ظهور المركبات الفينولية ،بظهور اللون ازرق مخضر **(Rosine and momo.2009)**.

الكشفعن الفلافونويداتLes flavonoids.

- نضع في أنبوب اختبار 2ml من المستخلص، ونضيف 2الى3نشارة المغنزيوم، ثم نضيف له 2mlمن HClالمركز.

- ظهور لون أحمر أو البرتقالي يدل على وجود الفلافونويدات **(Azzi2013)**

الكشف عن التربينات الثلاثية Triterpéne :

- نضع في أنبوب اختبار 2ml من المستخلص ثم نتركها تتبخر كليا، نضيف لها 2mlمن الكلوروفورم، وبواسطة ماصة، نضيف بحذر على حافة الأنبوب 3mlمن حمض الكبريت H2SO4 وننتظر 30 دقيقة.
- ظهور حلقة بنية حمراء في نقطة الاتصال بين المحلولين يدل على وجودالتربينات **(khan et.2011**

الكشف عن السكريات المرجعة :des sucres réducteurs

- نضع في أنبوب اختبار 5mlمن المستخلص، و نضيف له 20 قطرة من محلول فـهلنغ ، يسخن الأنبوب على حمام مائي.
- ظهور راسب أحمر آجوري، يدل على وجود السكريات المرجعة في نبات العرفج .

(Trease et Evans , 1987)

الكشف عن الصابونيات: Les saponosides

- نضع أنبوب اختبار2ml من المستخلص و نضيف له كمية قليلة من الماء، ثم نقوم برج الأنبوب لمدة 15ثانية .
- بعد 20 دقيقة نقوم بقياس طول الرغوة.
- عدم وجود الرغوة يدل على عدم وجود الصابونيات.
- ظهور رغوة أقل من 1 cmعلى وجود الصابونيات بكمية قليلة.
- ظهور رغوة محصورة بينcm 2 –1 يدل على وجود الصابونيات بكمية معتبرة.
- ظهور رغوة أكثرمن 2–3 cm يدل على وجود الصابونيات بكمية كبيرة. **(eral.2011)**

2-3-: الطرق المتبعة في التقدير الكمي لبعض مواد الأيض الثانوي- :

2-3-1التقدير الكمي لعديدات الفينول :

تم تقدير محتوى الفينولات الكلي ،بالاعتماد على كاشف (Ciocalteu-Folin) وهو كاشف يرجع بواسطة المركبات الفينولية (تم اختيار حمض الغاليك كفينول مرجعي) إلى أكسيد التنغستين ذات اللون الأزرق . باتباع الخطوات التالية:

- مزج 2mg من المستخلصات المذابة في الميثانول(تركيز) 1mg مع 1 ml من محلول Folin Ciocalteuالمخفف 10 مرات مع الرج جيدا.
- حضن الأنابيب في درجة حرارة المخبر لمدة خمس دقائق.
- نضيف لها 0.8 ml من كربونات الصوديوم Na2Co3بتركيز (7.5 %).
- نترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة.
- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 567nmبواسطة جهاز المطيافية .
- يتم التعبير عن الناتج mg مكافئ من حمض الغاليك لكل غرام من المادة الجافة (Sèche Matière) g/Equivalent AG mg عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز حمض الغاليك المذاب في الميثانول المعامل نفس معاملة المستخلص.(**Singleton et Rossi .1965**)

2-3-2: التقدير الكمي للفلافونويدات :

تعتبر الفلافونيدات من أكبر المجاميع المنتمية لعديدات الفينول، ويمكن تقديرها كميا ،عن طريق التفاعل مع AlCl3 وتكوين معقد ذو لون أصفر مع الفلافونو يدات **(Zhishen al et 1999)** تم اتباع الخطوات التالية :

- مزج 0.5 ml من المستخلص المذابة في الميثانول(تركيز) 1 ml/mg مع 0.5 ml من محلول ثلاثي كلوريد الألمنيوم AlCl3 ذو التركيز 2 % للعينة.
- رج الأنابيب جيدا وتحضن في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة نصف.
- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 420 nm بواسطة جهاز المطيافية و يتم التعبير عن الناتج mg مكافئ من حمض الكرستين لكل غرام من المادة الجافة عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز حمض الكرستين المذاب في الميثانول ومعامل نفس معاملة المستخلص

(al et Ordonez2006)

3-3 التقدير الكمي للتانينات :

تم التقدير الكمي للتانينات باستخدام الفانلين وذلك باتباع الخطوات التالية:

- نأخذ 500 µl من المستخلص ونضيف له 3 ml من محلول (فانلين/ميثانول 4%) و1.5 ml من حمض كلور الماء HCl .
- تخلط الأنابيب جيدا ثم تترك لمدة 15 دقيقة.

- نقوم بقراءة شدة الامتصاصية الضوئية، عند طول الموجة 500 nm بواسطة جهاز المطيافية، يتم التعبير عن الناتج بالملغ مكافئ من الكاتشين لكل غرام من المادة الجافة ،عن طريق رسم منحنى العيارية لتراكيز الكاتشين المذاب في الميثانول و المعامل نفس معاملة المستخلص. **(Sun et al 1998)**

4- الطرق المتبعة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

يتم قياس قدرة المستخلص النباتي أو مركب ما على إزاحة الجذور الحرة ،من خلال التقليل من عملية الأكسدة، وتقدير الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق أهمها:

تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص نبات *Suaveolens Rhanterium:*

4-1 المبدأ:

تعتمد طريقة اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH ،على قدرة المستخلص النباتي (مضادات الأكسدة) على منح ذرة هيدروجين من مجاميع الهيدروكسيل الفينولية وتعديل الجذر الحر DPPH، ويظهر ذلك من خلال زوال اللون البنفسجي لجذر DPPH وتحوله إلى H-DPPH ذو اللون الأصفرنتيجة ارجاعه إلى مركب مستقر (-diphényl-1-picrylhydrazyne2,2). **(2011، بوعبدالله)**

ولتتبع هذا التفاعل لونيا يستعمل جهاز المطيافية اللونية Spectrophotométre عند طول موجة .517 nm.

4-2 طريقة العمل:

يتم تحضير محلول DPPH ذو تركي 0.1 Mmolوذلك باذابة 4 mg في 100 mlمن الميثانول .

تحضير المحلول الأصلي بأخذ 8 mg من كل مستخلص وإذابتها في 2 ml من الميثانول فأصبح تركيز المحلول الأصلي 4 mg/mlو إنطلاقا من هذا التركيز قمنا بتحضير بقية التخافيف .

نأخذ 200µl من كل تركيز من المستخلص المذاب في الميثانول، ونضيف له 800 µl من محلول DPPH (3تكرارات)، نجانس المحلول وتحضن الأنابيب في الظلام لمدة 30 دقيقة ثم تقاس امتصاصية المحاليل المحضرة عند طول موجة 517 nm بجهاز المضيافية (Spectrophotometer) ومن أجل المقارنة الإيجابية لنسبة تثبيط الجذر الحر DPPH نستعمل حمض الأسكوربيك.

2-4-3 حساب نسبة التثبيط I% للجذر الحر DPPH :

يتم حساب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH لمختلف التراكيز للمستخلص النباتية ولحمض الاسكوربيك وفق المعادلة التالية : **% Inhibition = ((Abs_Control - Abs_Sample) / Abs_Control) * 100**

حيث أن:

- **Abs_Control**:الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص
- **Abs_Sample Ai**: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلص أو حمض الأسكوربيك.

2-4-4 تحدد مقدار IC50 المثبطة لجذر DPPH:

يعرف هذا المقدار على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط أو كبح 50% من DPPH والذي يحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط I% بدلالة تركيز المستخلص **(Scherer et Godoy, 2009).**

2-4-2 اختبار FRAP :

هو تفاعل مضاد للأكسدة يعتمد على الإرجاع اللوني، أي يدرس مدى قدرة المستخلصات النباتية على تثبيط عملية الأكسدة، حيث يعتمد مبدأ الطريقة على تلوين أو عدم تلوين المعقد بيريديل ثلاثي أزين فريك:

(TPTZ) 2,4,6- tripyridyl-s-triazine ferrique في وسط حامضي (مرجع)

طريقة العمل :

في أنابيب اختبار زجاجية تحتوي على 0,25 ml من المستخلص المائي للنبات المدروس بتراكيز مختلفة بين (0.020ml و 0.3)،تمت اضافة 0.625 ml من محلول منظم Tampou فوسفات الصوديوم 0.2 مولار الرقم الهيدروجيني(6.6)

وبعدها تمت اضافة 0.625ml من محلول فيروسيانيد البوتاسيوم (K3Fe(CN)6) 1%في ماء مقطر وحضنت جميع انابيب الاختبار في حمام مائي عند 50 درجة مئوية لمدة 20دقيقة، ثم تتم اضافة 2.5 ml من حمض ثلاثي كلورواسيتيك بنسبة 10% (TCA) لايقاف التفاعل ،يتم الطرد المركزي عند 3000دورة في الدقيقة لمدة 10دقائق. نأخذ 0.625ml من المادة الطافية ونقلها إلى انبوب اخر، نظيف اليه 0.625 ml من الماء المقطر و 0.125 ml من محلول كلوريد الحديديك (FeCl3 0.1 %)في الماء المقطر ،تكون قراءة امتصاص وسط التفاعل عند 700 nm مقابل عينة شاهد معدة بشكل مماثل مع استبدال المستخلص بالماء المقطر.

لرسم المنحنى القياسي:

- نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من حمض الأسكوربيك تكون محصورة بين .0.01mM و0.2 mM.

- نأخذ 2ml من الميثانول نضيف له 1ml من الخليط ، FRAPو 100 µl من التركيز الأول لحمض الأسكربيك مع إضافة القطرة الأولى تبدأ القراءة في جهاز (UV-V)ونسجل القيم كل دقيقة ولمدة 11 دقائق
- نكرر العملية مع جميع التراكيز المحضرة لحمض الأسكوربيك، ثم نرسم منحنيات.

5- الطرق المتبعة في تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:

5-1 السلالات البكتيرية المستعملة:

لتقدير الفعالية ضد البكتيرية للمستخلص النباتي اعتمدنا طريقة الانتشار بالأقراص وذلك بتشبع الاقراص من المستخلص على نمو 3سلالات بكتيرية مرجعية موضحة في الجدول التالي:

جدول (14) :أنواع السلالات البكتيرية المختبرة

البكتيريا المدروسة	المرجع	طبيعة الجدار الخلوي
Escherichia coli	ATCC 25922	سالبة الغرام
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853	سالبة الغرام
Staphylococcus aureus	ATCC25923	موجبة الغرام

5-2 المضادات الحيوية المستعملة:

من أجل دراسة نشاطية مستخلص نبات *Rhanterium Suaveolen* على الأنواع البكتيرية المذكورة سابقا تم استعمال مضادات حيوية بهدف المقارنة مع الأثر التثبيطي للمستخلص المدروس وهي موضحة في في الجدول (15)

الجدول (15): انواع المضادات الحيوية المستعملة

المضاد الحيوي	الاسم	التركيز (µg)
GEN	Gentamycine	50

5-3 طريقة العمل:

- **تنمية مزارع بكتيرية حديثة:**

قمنا بتنشيط سلالات البكتيريا المختبرة وذلك بأخذ مسحة من العزلات البكتيرية باستعمال Anse de platine وتنميتها في وسط زراعي مغدي gélose nutritive وحضنها في حاضنة Etuve تحت درجة حرارة C°37 لمدة 24 ساعة **(حوة،2013)**

تحضير المستخلص:

بغية الكشف عن مدى فعالية المستخلص المدروس اتجاه السلالات البكتيرية الممرضة، قمنا بإذابة 150mg من المستخلص النباتي في 500 µl من DMSO، للحصول على تركيز 300mg/ml ،ومنه تم تحضير تخافيف باضافة DMSO .

تحضير اوساط الزرع:

سكب وسط الزرع Muller-Hinton (MH) المذاب والمعقم في Autoclave في درجة حرارة C°120 في علبة بيتري تترك لتتجمد على سطح طاولة المخبر المعقمة **(حوة،2013)**

تحضير القراص:

تحضر الاقراص انطلاقا من ورق واثمان (Papier Wattman N0) بحيث تكون متجانسة بقطر mm6 ،تعقم بجهاز Autoclave في درجة حرارة C120 ° لمدة 25د

(بوخبتي،2010)

تحضير المعلق البكتيري:

حضر المعلق البكتيري انطلاقا من مزارع بكتيرية حديثة،حيث ناخد في كل مرة مستعمرة او اثنان من كل نوع بكتيري ووضعها في أنابيب اختبار حيث يحتوي كل انبوب 5 ml من الماء الفيزيولوجي ونقوم بالرج جيدا حتى تصبح المعلقات متجانسة ومتعكرة**(العابد،2009)**

زراعة البكتيريا:

قمنا بغمس الماسحة القطنية المعقمة في المعلق البكتيري ثم مسح بها سطح وسط الزرع على شكل خطوط متوازية متقاربة مع تكرار العملية ثلاث مرات وذلك بتدويرالطبق 60 درجة في كل مرة **(بوخبتي ،2010)**

تطبيق الاقراص:

وضعنا اقراص المضادات الحيوية والاقراص الورقية المشبعة بالمستخلص (كل قرص يحتوي 10µl) واقراص بها المذيب DMSO فقط داخل الاطباق المحضرة سابقا. بعد ذلك تركت الاطباق مدة 30دقيقة قرب موقد حراري ووضعت في الحاضنة Etuve في وضع مقلوب عند درجة حرارة 37درجة لمدة 24ساعة، وبعد انتهاء مدة الحضن تم قياس قطر منطقة التثبيط بواسطة مسطرة مدرجة **(العابد،2009)**.

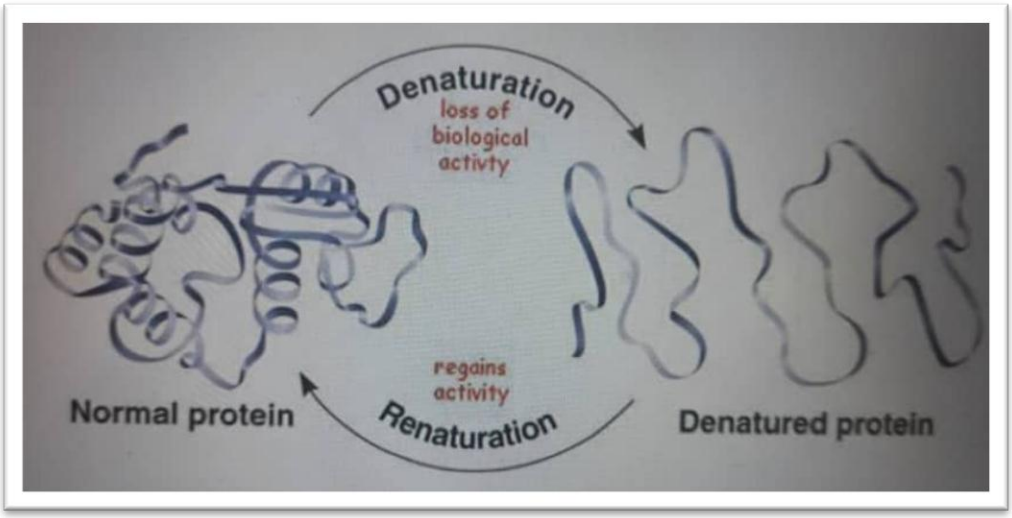
6 – الطرق لمتبعة لدراسة النشاطية المضادة للالتهاب:

6-1 اختبار زلال البيض

الالتهاب هو آلية فسيولوجية للدفاع عن الكائن الحي ضد مسببات الامراض. ومع ذلك يمكن أن يكون لها آثار سلبية إذا لم يتم تنظيمها. ويرافقه إنتاج العديد من مركبات وسيطية مثل: Cytokines، Leucotriènesو.Prostaglandines بالإضافة إلى ذلك يمكن للخلايا الالتهابية إنتاج أنواع الاكسجين التفاعلية (ROS) التي يمكن أن تؤدي إلى تفاعلات كالأكسدة السامة، مما يؤدي إلى تلف الانسجة وقد يكون الالتهاب حادًا أو مزمنًا. الاول هو استجابة فورية لمدة قصيرة، وعادة ما تختفي تلقائيًا أومع المعالجة ومع ذلك يمكن أن يتطور إلى التهاب مزمن ويمكن ربط ذلك بالعديد من الامراض المسبب له.

(Bioorganic &, Medicinal Chemistry 2006) والادوية المضمدة للالتهابات غير الستيرويدية لها آثار جانبية مثل مشاكل الجهاز الهضمي والتهيج، والسمية الكلوية.

cardiovascular risk: a systematic review،2011) وقد أجريت هذه الدراسة لتقييم التأثير المحتمل المضاد للالتهابات في المختبر لمستخلص نبات العرفج (Rhanterium Suaveolens) ضد تمسخ البروتين ، حيث يمثل الشكل (16) الية تمسخ البروتين:



الشكل (16): تمثل الية التمسخ

6-2 تقييم الفعالية المضادة لالتهابات لمستخلص نبات العرفج باستخدام اختيار طريقة تمسخ بروتين زلال البيض

- طريقة تمسخ بروتين زلال البيض

يتكون خليط التفاعل من 5mL حيث 0.2ml من بياض البيض (بيض دجاج طازج) و0.2 ml من محلول فوسفاتي ملحي (PBSPH= 6.4) و2 ml من المستخلص نبات العرفج ونستخدم كعينة اختبار نفس الحجم من الماء المقطر بمثابة شاهد. بعد ذلك نحضن الخليط عند37م° مدة15دقيقة ثم نقوم بتسخينه

عند70م°لمدة 3 دقائق. بعد التبريد نقياس الامتصاصية عند(λ = 600 nm)حيث نستخدم مركب Voltum كدواء مرجعي، بالتراكيز التالية: mg/ml (10 ،5،2.5،1.25،0.625،0.315)

ونحسب نسب تثبيط تمسخ بروتين البيض وهو مؤشر لنشاط المضاد للالتهاب بعلاقة التالية (2006، **inflammatory activities**)

$$\text{نسبة تمسخ البروتين\%} = \left(\frac{Ac - At}{Ac}\right) \times$$

حيث:

- **Ac** : شدة الامتصاصية الشاهد
- **At** : امتصاصية العينة

7- الطرق المتبعة فى دراسة النشاطية المضادة لتخثر:

تم في المختبر تقييم النشاط المضاد للتخثر لمستخلص *Rhanterium Suaveolens* مقابل مساري التخثر (المسار الداخلي والمسار الخارجي) باستخدام مجموعة من البلازما الطبيعية. ولقد تم ذلك باستخدام اختبارين كرونومتريين عالميين le temps du chéphaline-kaolin (TCK) et le temps de Quick (TQ) تم استخدام منتجات معينة لتقييم النشاط المضاد للتخثر، وهي thromboplastine (BIO-TP) و céphaline kaolin (BIO-CK)من شركة Biolabo الفرنسية تم اخذ البلازما الخالية من الصفائح الدموية، من متطوع بالغ غير معالجين،وتم اخذ دم المتطوع عن طريق الوريد في أنبوب زجاجي فوق محلول مضاد للتخثر، ثم تم طرد الدم مركزياً لمدة 10 دقائق عند 3000 دورة في الدقيقة للحصول على بلازما فقيرة

بالصفائح الدموية. يتم تخزين البلازما القياسية التي تم الحصول عليها في درجة حرارة (−10 درجة مئوية) حتى يتم استخدامها.

1−7 زمن البروثرومبين(PT) أو معدل البروثرومبين (Quick ou taux de prothrombine) (TP):

هو اختبار يستخدم لفحص المسار الخارجي للتخثر، يتم استخدام معدل البروثرومبين(PT) ، المحول إلى زمن البروثرومبين، لتقييم نشاط عوامل مركب البروثرومبين بالرجوع إلى بلازما طبيعية بنسبة 100.%
يشمل هذا الاختبار قياس الوقت المستغرق لتكوين جلطة الفيبرين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية عند إضافة فائض من الثرومبوبلاستين إلى البلازما. يتشكل الجلطة عادةً خلال 12 إلى 13 ثانية، وهو ما يُعرف بزمن البروثرومبين. يُستخدم معدل البروثرومبين لاستكشاف عوامل التخثر، مثل العامل I والعامل VI X والعامل V والعامل II والفيبرينوجين(**CAQUET،2004**) تُفسَّر زمن التجلُّط الأطول مقارنةً بالعينة السالبة بأنّ العينة المضادة للتخثُّر تؤثر على مسار التخثُّر.حيث تم إضافة 10µL من المستخلصات المحضرة في DMSO بتركيز 10 mg/ ml و 90 µL من البلازما القياسية، ثم حُضنت عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة دقيقتين و بعد الحضانة، تم تحفيز التخثر بإضافة 200 ميكرولتر من الثرومبوبلاستين المحتضنة مسبقًا عند درجة حرارة 37 درجة مئوية ، وتم تحديد الوقت اللازم لتكوين الجلطة. يُقاس التجلط الليفي تلقائيًا باستخدام مقياس التخثر.

2-7 زمن التخثر الجزئي للثرومبوبلاستين الكاولي céphaline Kaolin (TCK):

يُستخدم اختبار TCK لتحديد مدى تأثير العوامل المضادة للتخثر على مسار التخثر الداخلي من خلال قياس الوقت اللازم لتكوين الجلطة. إذا زاد وقت تكوين الجلطة في العينة التي تمت معالجتها مقارنة بالعينة السالبة (غير المعالجة)، فإن ذلك يشير إلى وجود نشاط مضاد للتخثر في المسار الداخلي للتخثر. (**CAQUET, 2004**). يتكون هذا الاختبار من قياس زمن التجلط عند درجة حرارة 37 درجة مئوية للبلازما في وجود الفوسفوليبيدات الفسفورية (السيفالين)، وهو بديل لعامل الصفائح الدموية 3 (F3P) بلازما منزوعة الأسيتات ومُستنفدة في وجود الفسفوليبيدات الفسفورية (سيفالين)، وهو بديل لعامل الصفائح الدموية.

3(F3P) منشط لنظام التلامس (Prékalikriéne, Kininogène de haut poids moléculaire et lefacteur XII) وهو الكاولين والكالسيوم بشكل عام كعامل محفز (**CAQUET، 2004**)

زيادة زمن التجلط في وجود المستخلصات مقارنةً بالضابط السلبي تشير إلى أن هذه المستخلصات تمارس نشاطًا مضادًا للتخثر فيما يتعلق بمسار التخثر الداخلي .

الإجراء المتبع في هذا الاختبار يشمل خلط µL 90 من البلازما مع µL10 من المستخلص (10 Mg/ML) في DMSO كمعيار، ويتم تحضين الخليط عند درجة حرارة 37 درجة مئوية ثم يُضاف اليه µL100 من كاشف السيفالين، ويُترك الخليط لمدة 2 دقائق، ثم يُضاف µL 100 من CaCl2 لإعادة تصنيف البلازما. يُقاس وقت الحضانة باستخدام جهاز مقياس التخثر الحيويBiomérieux ، وتُعبّر النتائج عادة في صورة زمن التخثر بالثواني (ثانية) .

3-7 تعريف الفيبرينوجين FIBRINOGENE

هو بروتين قابل لذوبان، يصنعه الكبد و يوجد في بلازما الدم كما يتكون من 6سلاسل بيبتيد. يلعب الفيبرينوجين (FIB) دورا مهما في الخثرة الأولية من خلال ارتباطه بـ GPIIbIIIa حيث يعمل كجسر بين الصفائح، و تحت تأثير الثرومبين يتحول إلى فيبرين ويحرر الفيبرينوبيبتيدات A وB

(Penche, 2015; Harif, 2007)

تحدث الخثرة الأولية في مرحلتين متتاليتين:

✓زمن الأوعية الدموية.

✓زمن الصفائح الدموية. **(Penche, 2015)**

حيث يكون تركيز الفيبرينوجين في البلازما في حالات الالتهاب أو نخر الأنسجة أو السكري أو السمنة مرتفع، ويؤدي تناول الأستروجين والحمل أيضًا إلى زيادة في الفيبرينوجين في البلازما.حيث تؤدي زيادة الفيبرينوجين في البلازما عامل خطر للإصابة بأمراض القلب أو أمراض الأوعية الدموية الدماغية. ويرتبط انخفاض تركيز الفيبرينوجين في البلازما عمومًا بـ يرتبط بخلل في التمثيل الغذائي للكبد (تليف الكبد) الأيض (تليف الكبد، واليرقان، وما إلى ذلك) أو حالات انحلال الفيبرين أو تخثر الدم المنتشر داخل الأوعية الدموي.

(مرجع fiche technique biomnis)

1. **<u>المبدأ</u>**

المبدأ الأساسي هو أنه في وجود فائض من الثرومبين، يتحول الفيبرينوجين – البروتين الذي يتحول إلى فيبرين في عملية تخثر الدم – إلى الفيبرين. يحدث هذا التحول عندما تتفاعل الثرومبين مع الفيبرينوجين، مما يسبب تحويله إلى فيبرين. تتكون بعد ذلك شبكة من الفيبرين، وهي بنية ثلاثية الأبعاد يمكن رؤيتها بصريًا. تُعتبر هذه الشبكة جزءًا من عملية تكوين الجلطة وتسهم في تثبيط النزيف وتعزيز عملية الشفاء

2. **<u>جمع العينات وتحضيرها</u>**

البلازما تُجمع عن طريق الوريد الصريح، ويتم إضافة مجموع مضاد للتخثر، الذي يتألف من 0.5ml من سترات ثلاثي الصوديوم (سعة 0.109 مل من سترات الصوديوم) لكل 4.5 مل من الدم. يُنصح بتجنب أخذ العينات بالحقن لتجنب تكوين جلطات دقيقة. يتم الطرد المركزي للبلازما لمدة 5 دقائق عند 2500 جم. يظل الفيبرينوجين مستقرًا في البلازما لمدة تصل إلى 4 ساعات عند درجة حرارة الغرفة، ولمدة تصل إلى 18 شهرًا عند تخزينه مجمدًا عند درجة حرارة −70 درجة مئوية

الإجراء المتبع في إجراء هذا الاختبار يشمل خلط 90 µL من البلازما مع 10µL من المستخلص (10 Mg/ML) في DMSO كمعيار، ثم اخذ 20 µL و اضافته لمحلول التخفيف Tampon pour la dilution(1/10) ثم يتم تحضين الخليط عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 2 دقائق ثم يُضاف اليه 100µL من كاشف ثرومبين الكالسيوم (Thrombine calcique) ونقرا النتيجة في جهاز (thrombotimer) .

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

1- مردود المستخلص

تم حساب مردودية المستخلصات انطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة كما هو موضحة في الجدول (16) .

جدول (16): جدول المردود الصافي لنبات *(Rhanteium suaveolens)*

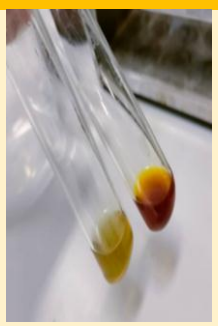
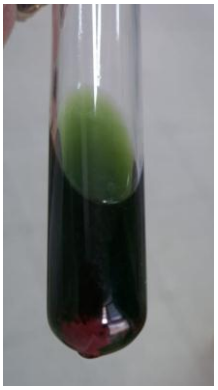
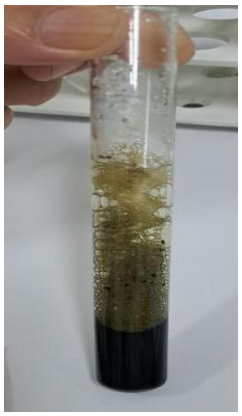
العينة (g)	المردود(g)	نسبة المردود (%)
50 g	10.34 g	20.68 %

تبين النتائج أن نبات (*Rhanteium* suaveolens) يحتوي على مردود قدر ب 10.34 g من وزن المادة النباتية الجافة، وهذه الكمية تعادل نسبة قدرها 20.68% وهي نسبة معتبرة مقارنة على ما تحصل عليه **(غمام،2016)** في نبات العرفج *(Rhanteium suaveolens)* بكمية قدرت نسبتها 24%

2-الكشف الكيميائي عن مواد الأيض الثانوي في نبات *Rhanteium suaveolens*

في هذه الدراسة قمنا بإجراء فحص كيميائي لتحديد المركبات الفعالة الموجودة في نبات (*Rhanteium suaveolens*) باستخدام اختبارات وتفاعلات كيميائية مختلفة إختبارات الكشف الكيميائي تتضمن الكشف عن مختلف المركبات الفعالة الموجودة في النبات المدروس وذلك من خلال اختبار التفاعلات النوعية،وتعتمد هذه التفاعلات إما بتشكل راسب أو بتغير في اللون بواسطة الكواشف الخاصة بكل عائلة من المركبات الفعالة النتائج مشار إليها في الجدول 17.

الجدول (17): نتائج الكشف عن المواد الفعالة في مستخلص نبات *Rhanteium suaveolens*

القلويدات	التانينات	متعدد الفينول
		
ظهورراسب بنى محمر/راسب ابيض	ظهور لون ازرق مسود	ظهورلون ازرق مخضر
التربينات الثلاثية	**السكريات المرجعة**	**الفلافونويدات**
		
ظهور حلقة بنية حمراء	راسب أحمر آجوري	ظهور لون برتقالى

قلويدات	تانينات	الفلافونويدات	التربينات الثلاثية	السكريات المرجعة	متعدد الفينول

ظهور راسب برتقالي/راسب بني	ظهور لون ازرق مسود	ظهورلون برتقالى	ظهور حلقة بنية حمراء	راسب أحمر آجوري	ظهورلون ازرق مخضر
+	++	+	+	++	+++

3- مناقشة النتائج:

(+) موجود.

(++) موجود بكمية جيدة.

(+++) موجود بوفرة

من خلال النتائج المتحصل عليها من الاختبارات الفيتوكيميائية لنبات*(Rhanteium suaveolens)* *تبين* ان نبات العرفج يحتوي على المواد الفعالة بنسب مختلفة كمتعدد الفينولات موجود بوفرة بينما التنينات والسكريات المرجعة تتواجد بكمية جيدة مع وجود التربينات الثلاثية والقلويدات الفلافونويدات وغياب الصابونيات

3-1 نتائج التقدير الكمي:

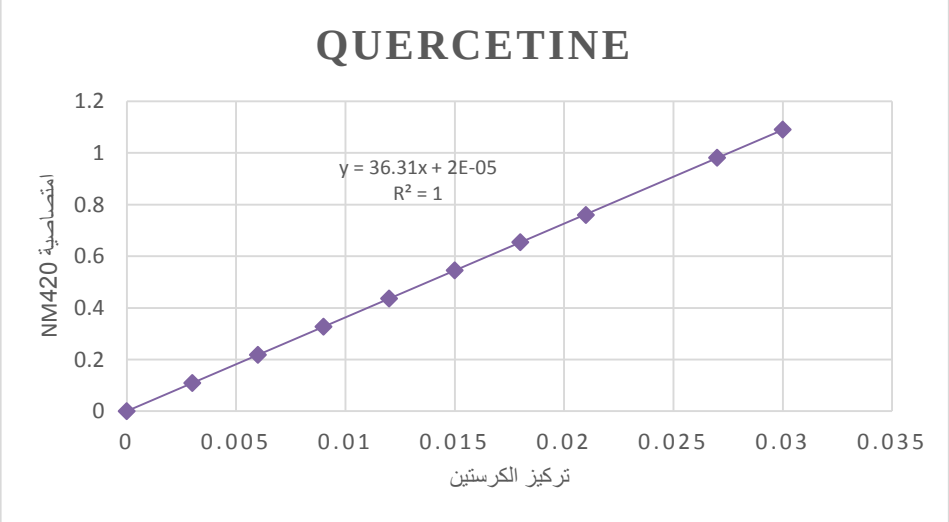
1.1.3 التقدير الكمي للفلافونويدات:

تم التقدير الكمي للفلافونيدات لنبات العرفج (*suaveolens Rhanteium*)، باستخدام AlCl3 ككاشف حيث قدرت كمية الفلافونويدات باستخدام طريقة (**Zhishen *et a. l*1999**) ويتم التعبير عن النتائج (بملغ مكافئ الكرسيتين Quercitine/غ) من المادة الجافة، بحيث تبين نتائج **الجدول 18** أن محتوى الفلافونويدات في هذا النبات قدر (2.22 ± 0.075mg/g).

ويعبر كميا عن المحتوى الكمي للفلافونويدات بإستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرستين كما هو موضح في **الشكل (18)**

الجدول (18): نتائج محتوى الفلافونويدات لنبات العرفج *(suaveolens Rhanteium)*

العينة	المستخلص الميثانولي
كمية الفلافونيدات (mg/g)	(2,22 ± 0,075 mg de Querc /g MS)



الشكل (17): المنحنى القياسي للكريستين Quercitine

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا قول إن الفلافونويدات تتواجد في مستخلص نبات العرفج *(suaveolens Rhanteium)*بكميات قليلة، حيث قدرت ب (2,22 ± 0,075mg/g).

يتضح من خلال النتائج المتحصل عليها من الشكل (17) أن نبات العرفج، (*suaveolens*) *Rhanteium* يحتوي على نسبة قليلة من الفلافونويدات بالمقارنة مع النتائج التي تحصل عليها **(Chemsa.2016)** على نفس النبات وجدوا أن تركيز الفلافونويدات يقدر (5.5µg مكافئ كيرسيتين/g من المستخلص الميثانولي) وكذلك دراسة اخرى قام بها **(Bouaziz et *al* 2009)** على نفس النبات تم الحصول عليه في نوفمبر من منطقة دوز في تونس حيث قدر تركيز الفلافونويدات بنسبة قليلة قدرت ب (1mg كيرسيتين/100g). وكذلك دراسات (**غمام2016**) حيث قدر تركيز فلافونويدات ب(25.48 µg/mg)وهي نسبة مرتفعة مقارنة بالتى تحصلنا عليها.

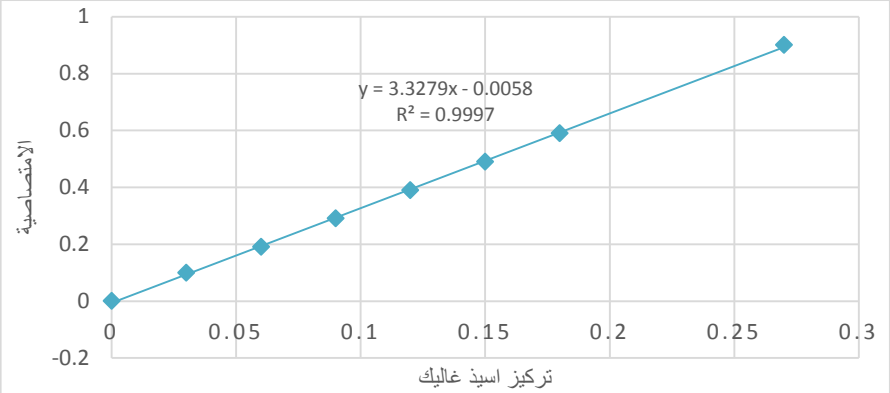
وبعد مقارنة النتائج التي تحصلنا عليها بالتي تحصل عليها كل من Chemsaو Bouazizوغمام ،لاحظنا وجود تفاوت في تركيز محتوى الفلافونويدات حيث يمكن إرجاع هذا الاختلاف إلى طريقة التقدير موقع الجمع وفصل الجمع والظروف المناخية كلها عوامل تحدد نسبة المركبات الكيميائية في النبات.وإن وجود الفينولات في النبات يشير إلى انها قد تعمل كمواد مضادة للأكسدة، تمتلك الفينولات القدرة على تثبيط عمل بعض الانزيمات المسؤولة عن الاضطرابات الالتهابي.

2.1. 3 التقدير الكمي لعديدات الفينول

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بالاعتماد على طريقة **(singleton et Rossi)** وذلك باستخدام كاشف (Folin– Cioalteau) حيث تم تقدير محتوى عديد الفينول في مستخلص نبات العرفج باستخدام حمض الغاليك كمركب قياسي بحيث تبين نتائج **الجدول 19** أن محتوى الفينولات في هذا النبات قدرب ± 34,84) 0,51mg/g) نتائج كمية عديدات الفينول للمحلول المحضر مدونة في الجدول التالي

الجدول (19): نتائج محتوى الفينولات للمستخلص الميثانولي لنبات العرفج.

العينة	المستخلص الميثانولي
كمية عديدات الفينولmg/ (g)	(0,51 ± 34,84mg d'EAG/g MS)



الشكل(18): منحنى يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول ل Acide Gallique لنبات العرفج.

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا قول إن المركبات الفينولية تتواجد فى نبات العرفج *(Rhanteium suaveolens)* بكميات كبيرة، حيث قدرت ب (34,84 ±0.51 mg d'EAG/g MS) حيث يتضح من خلال النتائج نبات العرفج غني بالمركبات الفينولية بالمقارنة مع النتائج التي قام بها (Chemsa et al2016) على نفس النبات وجدوا أن تركيز الفينولات يقدر ب(µg pyrocatechol / g 35.58 مكافئ من المستخلص الميثانولي.)

وفي دراسة اخرى قام بها (Bouaziz ,2009) ،على نفس النبات تم الحصول عليه في نوفمبر من منطقة دوز في تونس حيث قدر تركيز الفينولات (100g / pyrogallol 625mg) ،. وبعد مقارنة النتائج بالتي تحصلنا

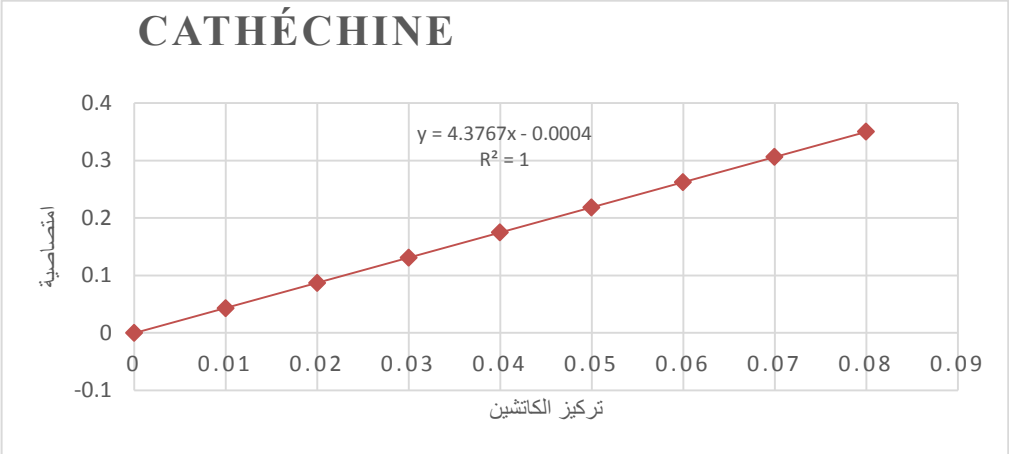
عليهاحيث تمثل اقل نسبة مما تحصل عليها كل من chemsa و Bouaziz حيث يفسر وجود تفاوت في تركيز المحتوى الفينولي في نفس النبات ،إلى اختلاف طريقة التقدير كذلك موقع وفصل الجمع والظروف المناخية كلها حيث تعتبرعوامل تحدد نسبة المركبات الكيميائية في النبات،حيث يفسر وجود الفينولات في النبات يشير إلى انها قد تعمل كمواد مضادة للأكسدة.

3.1.3 التقدير الكمي للتانينات:

تم تقدير التانينات اعتمادا على طريقة (**sun1998**) الذي يعتمد على الفانلين ككاشف حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات في المستخلص النباتي إنطلاقا من المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكاتشين(بالملغ مكافئ من الكاتشين/غ من المادة النباتية الجافة) حسب منحنى الشكل 18

جدول (20): نتائج محتوى التانينات للمستخلص الميثانولي لنبات العرفج

العينة	المستخلص الميثانولي
كمية التانينات (mg/g)	(4,09 ± 0,28 mg d'EAG/g MS)



الشكل (19): منحنى يمثل التقدير الكمي للتانينات

من خلال الشكل 19 و الجدول 20 المعبرين عن محتوى التانينات (بالملغ مكافئ للكاتشين/غرام من المادة النباتية) حيث كانت قيمتها (4,09 ± 0,28 mg d'EAG/g MS) وقد أظهرت النتائج ان محتوى التانينات في مستخلص نبات العرفج معتبر مقارنة بعديد الفينولات فوجوده في نبات يدل على احتواء النبات على مضادات الاكسدة.

4. نتائج تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

- **1.4 اختبار الجذر الحرDPPH** : تمثيل النسبة المئوية للتثبيط I% :

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية باستعمال الجذر الحر DPPH، تم استعمال حمض الأسكوربيك كمركب مرجعي ، وقياس الامتصاصية للمستخلص النباتى لنبات العرفج بواسطة جهاز Spectrophotomètre ،ثم نظمت النتائج المتحصل عليها في منحنيات عيارية لتحديد قدرة المستخلص في تثبيط الجذر الحرDPPH .حيث يمثل الجدول (21) قيم ic50 لنبات العرف

- **تحديد مقدار IC 50 المثبطة للجدر الحر DPPH:**

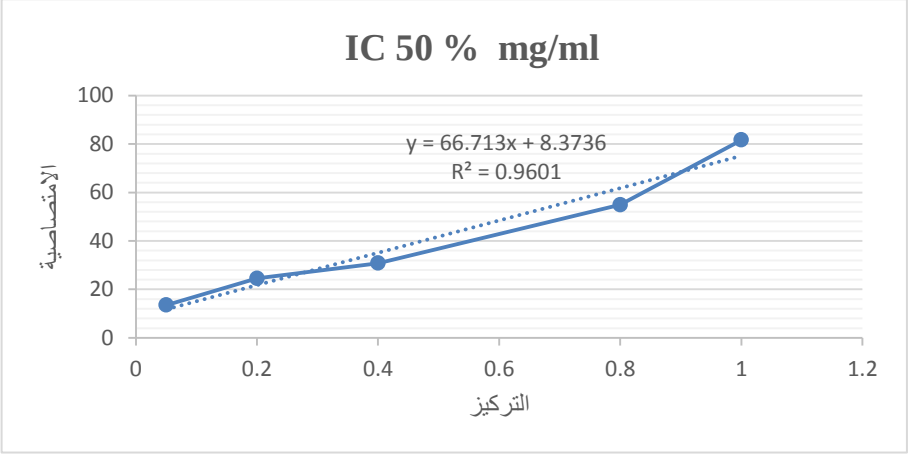
تم تحديد قيمة IC 50 المثبطة للجدر الحر DPPH. من خلال المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط I% للمستخلص النباتى و حمض الأسكوربيك كما هو موضح في الجدول (21) والشكل (20)

علما أن الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC 50 ،فكلما كانت قيمة Ic 50 ضعيفة كانت النشاطية المضادة للجذر الحر أفضل.

جدول(21):قيم **IC 50** لنبات العرفج وحمض الاسكوربيك

المستخلص	مستخلص الميثانولي لنبات العرفج	AA
IC 50 (mg/ml)	*0.62 ±0.002b*	0.014±0.0005

النتائج المتحصل عليها تظهر أن المستخلص النباتي له القدرة في اقتناص الجدر الحر DPPH بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التراكيز.



الشكل (20): توضح النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات العرفج.

بالمقارنة مع قيم **IC** 50 لحمض الاسكوربيك والتي قدرت ب (0.014 mg/ml) مع قيم المستخلص الميثانولي لنبات العرفج لتثبيط % 50 من الجدر الحر DPPH فان النشاطية المضادة للاكسدة للمستخلص الميثانولي يمتلك نشاطية ضعيفة .كذلك عند مقارنتها مع الدراسة التي قام بها (Chemsa 2016)للنشاطية المضادة للأكسدة والتي قدرت قيمة (IC50 = 0.017 mg/ml) وكذلك في دراسات لغمام سنة (2016)على النشاطية المضادة لنبات العرفج والتي قدرت ب (IC50 = 0.42 mg/ml) حيث لاحظنا أن هناك فارق يقدر على توالى(0.60mg/ ml) (0.22mg/ml) وبناء عليه نلاحظ أن مستخلص نبات العرفج له فاعلية مضادة للأكسدة قليلة مقارنة بالدراسات السابقة،إذ كلما كان التركيز IC50 اقل زادت الفاعلية المضادة للاكسدة.

يفسر وجود القدرة التثبيطية للمستخلص كونه يحتوي على مواد فعالة قادرة على إرجاع الجذر أواقتناصه، ويعود تدني او زيادة الفعالية إلى احتواء نبات العرفج على المواد الفينولية المختلفة (الفلافونويد ،التانينات..) و تؤكد الدراسات وجود تناسب طردي بين المحتوى الفلافونويدي، والقدرة المضادة للأكسدة (Mohammedi, 2011) وذلك من خلال منح الهيدروجين من خلال المجاميع الهيدروكسيلية (NABTI L.2016) (YEO. 2014) .

ومن خلال النتائج التي تحصلنا عليها نجد أن كمية الفلافونويدات قليلة رغم وجود كميات معتبرة من عديدات الفينول ،وهذا مايفسر ضعف النشاطية المضادة للاكسدة للمستخلص الميثانولي لنبات العرفج.

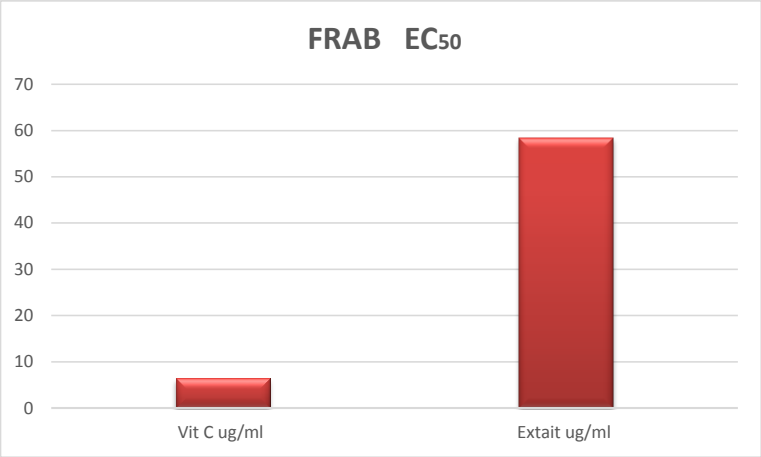
ويمكن تخمين سبب ضعف التاثير الازاحي للمستخلص المدروس ،لاحتوائه على على انواع عديدات الفينول والفلافونويدات التي تمتلك فعالية ضعيفة في ارجاع الجدر الحر ،حيث اشار (RICE-EVANS et,1997) الى أن الزيادة الحاصلة في الفعالية المضادة للاكسدة، قد ترجع الى نوعية المركبات الفينولية وتركيز وكمية هذه المركبات داخل الانسجة النباتية .

بالاضافة الى الجانب النوعي لعديدات الفينول وعلاقتها بكبح الجدور الحرة ،حيث بين العديد من الباحثين من بينهم(ZHENG وزملاؤه 2010)أن القدرة التثبيطية للمركبات ذات الاصل النباتي على جذر DPPHلها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية للمركبات الفينولية ،حيث أن عدد المجموعات الهيدروكسيلية ،موقعها ،والجدور المرتبطة مع هاته المركبات كالسكريات تلعب دورا في زيادة القدرة التثبيطية للجدر DPPH.

2.4. اختيار المضاد للأكسدة FRAP:

تعتمد مراقبة هذا النشاط على قدرة المستخلصات المختبرة على تقليل الحديد (+ Fe3) من اللون الأصفر إلى (+ Fe2) من اللون الأزرق والأخضر، باستخدام سلسلة تخفيف للحصول على ثلاثة تراكيز ،تم تقدير القدرة المضادة (القوة الارجاعية) للمستخلص النباتي بالاعتماد على اختبار ال FRAP، حيث يرتكز هذا الاختبار على قياس التغيرات التي تحدث للامتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل، والذي يمتلك علاقة طردية مع القدرة الارجاعية للحديد .حددت الفعالية الارجاعية للمستخلص النباتي استنادا لنشاطية حمض الاسكوربيك AcideAscorbique باعتباره مرجعا قياسيا.

Vitamin C (ug/ml)	Extrait(ug/ml)
6,4 ± ,0033	58,37 ± 0,012



الشكل (21): منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار القدرة الارجاعية للحديدFRAP .

من خلال النتائج المتحصل عليها وبالاعتماد على المسلمة المؤكدة التي تنص على انه كلما زادت الامتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل تزيد القدرة الارجاعية للمستخلص المدروس(HUBERT,2006) ،فانه يمكن القول ان القوة الارجاعية للمستخلص النباتي المدروس كبيرة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الاسكوربيك) .

يمكن تخمين سبب القوة الارجاعية الكبيرة للمستخلص النباتي المدروس إلى مدى احتواء المستخلصات على عديدات الفينول والفلافونويدات ، حيث تتناسب هده النتائج مع ماتوصل اليه (LI واخرون،2008) في دراسة النشاطية المضادة للاكسدة لمستخلصات 45 نبته بواسطة تقنية FRAP ،والذي اثبت ان القدرة الارجاعية لهذه المستخلصات تتناسب مع محتواها من عديدات الفينول وفلافونويدات .

واكد ذلك كل من (DUDONNE وزملاؤه ،2009)والذي اثبت وجود علاقة طردية بين القدرة الارجاعية للمستخلصات النباتية ومحتواها من عديدات الفينول وذلك في الدراسة التي اجراها اجراها على التاثير المضاد للاكسدة بعدة طرق لمستخلصات 30نبتة. في حين اظهرت الدراسة التي اجراها (Wu ،2010 et al) على مختلف مستخلصات نبات *Geranium sibiricum* باستعمال اختبار FRAP،أن القدرة الارجاعية للمستخلصات والتاثير المضاد للاكسدة لها يتناسب مع محتواها الكمي من الفلافونويدات ، واشار ايضا الى أن نوعية الفلافونويدات في كل مستخلص يمكن أن تحدد القدرة الارجاعية لهذا الاخير .

كما يمكن ارجاع التاثير الارجاعي للمستخلص النباتي الى وجود مركبات اخرى مثل الفيتامينات او الكاروتينات او الى الفعل التشاركي بين هده المركبات والمركبات الفينولية وذلك حسب ماورد عند(WANG واخرون ،2011).

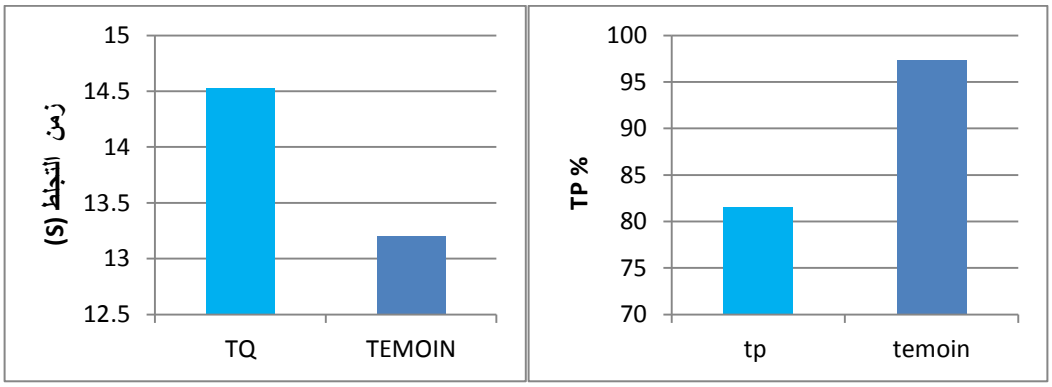
5- نتائج النشاطية المضادة لتخثر

الجدول (22) يمثل نتائج مسارات التخثر لمستخلص نبات العرفج

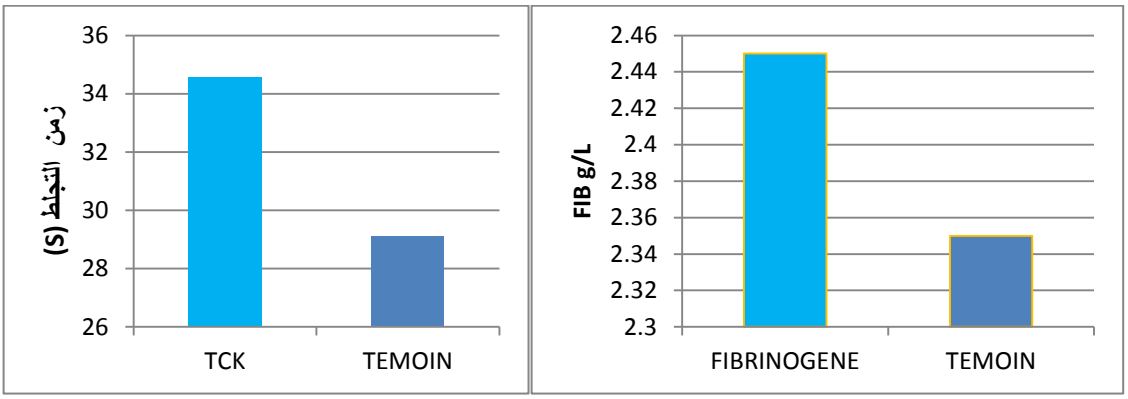
	TP	TQ	INR	TCK	FIBRINOGENE
مستخلص نبات العرفج	**(81.53±2.35)**	**(14.53±0.25)**	**(1.20±0.01)**	**(34.56±1.75)**	**(2.58±0.09)**
العينة الشاهد	**97.3**	**13.2**	**13.2**	**29.1**	**2.35**

1.5 إختبارات النشاطية المضادة لتخثر:

تم تحديد زمن تخثر البروثرومبين (TP. TQ) السيفالين-كاولين (TCK) و تقييم كمية الفيبرينوجان fibrinogène في وجود مستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens* باجراء عدة الاختبارات فى المخبر فكانت النتائج المتمثلة فى الشكل(24 ،25، 26)



الشكل (24) : اختيبار زمن البروثرومبين (TQ. TP) لمستخلص نبات العرفج



الشكل (25): اختبارزمن تخثر(tck) لنبات العرفج **الشكل (26)** كمية fibrinogène فى وجود نبات العرفج

تظهر الوثيقة (24) أن الاختبار(TP.TQ) لمستخلص نبات العرفج كان (14.53s ±0.25)TQ و (81.53% ±2.37)Tp والعينة الشاهد كان (13.20s)TQو (97.30%)TP ومن هذه النتائج تبين ان مستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens* له نشاط مضاد لتخثر اي قادر على إطالة زمن التخثر بشكل جدا وقادرة على ممارسة نشاط مضاد للتخثر مقارنة بدراسات التى اجرها **(AMRANI. Amel. 2020)** على نبات (Matricaria .sp) عائلة (*Asteraceae*)حيث تحصل على نتائج اقل وهي (77.2 %)

كما اظهرت نتائج اختيبار زمن التخثر TCk التي تم الحصول عليها (الشكل25) أن مستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens* لها نشاط مضاد للتخثر وقادرة على إطالة فترة تخثر الدم. حيث المستخلص قادر على ممارسة تأثير مضاد للتخثر على مسار التخثر الداخلي، المقدر بـ 34.56±1.75 ثانية وهي نسبة مرتفعة مقارنة بالعينة الشاهد(29.1) وكذلك التي تحصلت عليها (**Amel.Amrani.2020**) فى نبات *Matricari* عائلة (*Asteraceae*) وهي 24ثانية حيث أفاد غوغليلمون وآخرون (2002) أن النشاط المضاد للتخثر في الفلافونويدات قد يكون بسبب تأثيرها على مسار التخثر الداخلي.

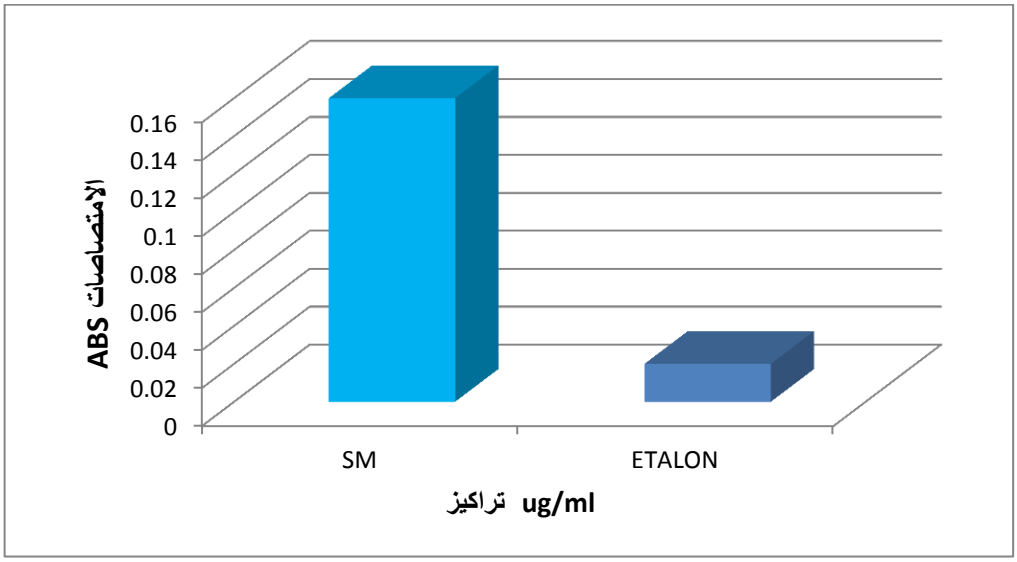
وفى اخير تم تقييم كمية الفيبرينوجان fibrinogène لمستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens* في المختبر باستخدام اختبار الفيبرينوجان ،حيث تحصلنا على النتائج المتمثلة فى (الشكل 26). حيث اظهرت نتائج الدراسة أن مستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens* قادر على زيادة مستويات الفيبرينوجين حيث كانت قيمة الفيبرينوجين (2.45±0.09) .وكذلك مقارنة بالنتائج التى تحصلت عليها **(Amel.Amrani.2020)** فى نبات *Matricari* عائلة (*Asteraceae*) قدرت ب

% 2.25 و تؤكد النتائج التي حصلنا عليها في هذه الدراسة أهمية وفعالية نبات العرفج مما يجعله مصدراً طبيعياً للمركبات المضادة للتخثر ذات الأهمية العالية .

6. نتائج النشاطية المضادة للالتهاب

يوضح (**الشكل27**) نتائج النشاط المضاد للالتهابات لنبات العرفج *Rhantherium* suaveolens المنجزة في المخبر، والذي يتكون من قيم تثبيط تمسخ زلال البيض.

وفقا للنتائج المحصل عليها، اجرينا مقارنة معدل تثبيط تمسخ زلال البيض بين الدواء القياسي المضاد للالتهابات (Voltum 50mg) والمستخلص نبات العرفج.



الشكل (26) نتائج اختبار تمسخ البروتين.

أقصى قيمة لتتثبيط كانت عند تركيز 500 mg/ml من المستخلص، بينما الدواء القياسمي كانت قيمة تثبيط التمسخ اقل لنفس التركيز،ومقارنة بنتائج التى تحصل عليها **دندوقى حسين** فى دراسته لنبات النقد سنة 2021 وكانت النتائج ان مستخلص نبات النقد الذى ينتمى لعائلة النجميات له قيمة تثبيط عالية مقارنة بالدواء القياسى ومن هذه النتائج نفسر أن مستخلص نبات العرفج ، يعتبرعاملا مضادا للإلتهابات،وقد كشف لنا هذا التحليل أن المستخلص النباتي لنبات العرفج ، قادر على التحكم في إنتاج المضادات الذاتية التى تمنع تمسخ البروتين خاصة تمسخ الألبومين (**Seaman FC ،1982**) وهي نقطة هامة في افاق الابحاث العلمية بهذا المجال

يعد تمسخ البروتين أحد اسباب الإلتهابات، يكون إنتاج مضادات ذاتية في الأمراض الإلتهابية ناتجاعن تمسخ البروتينات في الجسم الحي، وتتمثل الألية المحتملة للتمسخ في تغيرالروابط الكهروسستاتيكية،الهيدروجينية الكارهة للماء والكبريتيد التي تحافظ على البنية ثلاثية والأبعاد للبروتينات .(**Mizushima Y, ،1968 Kobayashi M**) أثبتت دراسة الباحث Boulahfa ومعاونوه أن العقاقير غير الستيرويدية المضادة للإلتهابات،(NSAIDs) والمستعملة كدواء شائع للتحكم في الحالات الإلتهابية ،والتي لها العديد من الآثارالضارة خاصة تهيجات المعدة مثل قرحة المعدة(**Boulahfa Rahima Bourouba Abire BA .2017**) وبالتالي يمكن التفكير بجدية في استبدال، هذه بتلك شريطة استكمال الاحاطة بالجوانب المختلفة لذلك.

7-تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:

تم تقدير الفعالية ضد بكتيرية باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص في وسط صلب، حيث طبقنا ثلاث تراكيز مختلفة D25mg D50mg D100mg للمستخلص الميثانولي لنبات *Rhantherium suaveolens*

على 3 سلالات بكتيرية (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylocoque aureus* ATCC25923,*Pseudomonas aeruginosa*ATCC27853)

والنتائج المتحصل عليها ملخصة في الجدول **(23)**

E. coli	*Pseudomonas aeruginosa*	*Staphylococcus aureus*	
25 ± 0 A	27 ±0,57A	24 ± 0 A	D100mg
22,66± 0,57	22,6± 1,15 A	18,2± 1,05 B	D50mg
15± 0 B	14 ± 0C	11± 0 C	D25mg
27± 0 A	28± 0 A	22± 0 A	GN 50

P < 0,001

ابدى المستخلص الميثانولي فعالية ضد البكتيريا على جميع السلالات البكتيرية المختبرة، حيث كانت أكبر نشاطية على البكتيريا سالبة الغرم *Pseudomonas aeruginosa* بقطر تثبيط 27 ±0,57mm في التركيز D100mg حيث اثبت التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي بين هذه النتيجة و التثبيط المتحصل عليه من قبل المضاد الحيوي GN 50، كما ابدى المستخلص الميثانولي نتائج جيدة على السلالتين *Escherichia coli, Staphylocoque aureus*

بشكل عام، لوحظ النشاط المضاد للميكروبات لمستخلص بشكل رئيسي للبكتيريا سالبة الجرام بدلاً من البكتيريا موجبة الجرام. وهذه الطريقة أظهرت أن المستخلص النباتى لنبات العرفج له نشاط ضد البكتيريا المختبرة،مما يشيرإلى أن النباتات الطبية يمكن أن تكون بديلاً مهما في التحكم في نمو البكتيريا.ويفسر ذلك حقيقة أن البكتيريا تحتوي على طبقة من الببتيدوغليكان المحصورة بين غشاء البلازما والغشاء الخارجي ،المكون من عديدات السكاريد الشحمية والبروتينات. هذا التركيب يمكن أن تحمي طبقة الببتيدوجليكان من المستخلصات.

في حالة بكتيريا الجرام (+)، تقع طبقة الببتيدوجليكان في الخارج، مما يسمح لهذهالبكتيريا بأن تكون متاحة أكثر للتلامس مع المستخلص (**فرحات وآخرون 2010**).

من ناحية اخرى، أظهرت العديد من الدراسات الحساسية العالية للبكتريا موجبة الغرام مقارنة بسالبة الغرام، ومع ذلك أظهرت بعض الدراسات عدم وجود نشاط إنتقائي مضاد للميكروبات ،أوللبكتريا لذا تؤكد النتائج المحصل عليها مرة أخرى فعالية المستخلصات النباتية الطبيعية، وقوتها المضادة للبكتريا وقد ذكر بأن المركبات الفينولية تسمتهدف أغلفة الكائنات الحية الدقيقة، مثل الغشاء والجدار السيتوبلازمي وهي مرتبطة بمجموعة الهيدروكسيل الحرة التي تسمح بإذابة جيدة في الوسمط المتواجدة به.

من ناحية أُخرى اظهرت الدراسة التي قام بها Rhayourومعاونوه **(Rhayour K ،2002)** إن المستخلص الخام والمركبات الفينولية في الغالب وجودها منفردة كانت أو مرتبطة بالمضادات الحيوية تهاجم البكتريا بشكل مباشر عن طريق ربط نفسها بغلاف الخلية، مما يؤدي إلى إختلال نفاذية الغشاء .وقد بينت هذه النتائج كفاءة مستخلصات أزهار نبات النقد وتتدعم بالتالي بالنتائج التي نشرها الباحث الحسني ومعاونوه

(El Hassany B, El Hanbali F, Akssira M, Mellouki F, Haidour A Barrero A ،2004)

الخاتمة:

كانت النباتات الطبية ولا زالت محط اهتمام العلماء بغية اكتشاف مواد طبيعية فعالة تستعمل في الطب والصيدلة والتجميل، تتوفر الجزائر على مؤهلات هامة في مجال النباتات الطبية واستخداماتها المختلفة نظرا لتنوع مناخها وغطائها النباتي بما فيها النباتات الصحراوية التي تتميز بكونها غنية بالمواد الفعالة، وتعتبر عديدات الفينول وخاصة الفلافونويدات والأحماض الفينولية ذات تأثيرات مزيحة للجذور الحرة ومضادة للأكسدة.

وتهدف دراستنا إلى دراسة بعض مواد الايض الثانوي لمستخلص نبات العرفج *Rhantherium suaveolens*. المنتمي الى العائلة النجمية والتي تستخدم في علاج العديد من امراض منشط وموسع للقصبات الهوائية –استخدام الجذور لعلاج الربو– استخدام الأوراق لعلاج آلام الظهر. حيت ان امتلاك نبتة *Rhantherium suaveolens* لهذا التاثير النافع للصحة يعود لاحتوائها العديد من المركبات الفعالة ولهدف التعرف عليها وتقدير كميتها ودراسة فعاليتها البيولوجية والنشاطية المضادة للاكسدة قمنا بتحضير المستخلص الميثانولي للنبات العرفج حيث قدر مردود المستخلص ب 10.34gاي بنسبة % 20.68 من وزن المادة النباتية الجافة.

بعد الفحص الكيميائي الاولي لنبات العرفج وجد انه يحتوي على العديد من المواد الفعالة المتمثلة في متعدد الفينول، الفلافونويدات، التانينات،القلويدات،التربينات الثلاثية،الغليكوسيدات.

انطلاقا من الفحص الكيميائي تم التقدير الكمي لعديدات الفينول، الفلافونويدات، والتانينات وذلك باستخدام طريقة كاشف Folin–Ciocalteu، و كلوريد الألومنيومAlCl ، كاشف الفانلين.

استنجنا من خلال النتائج أن كمية الفينولات كمية معتبرة والفلافونويدات والتانينات بكميات قليلة .

الخاتمة

بعد التقدير الكمي لجأنا الى دراسة الفعالية المضادة للاكسدة للمستخص النباتي وذلك عن طريق اختبار FRAP،DPPH .

حيث اظهرت نشاطية المضادة للاكسدة باستعمال اختبار DPPH نشاطية ضعيفة قدرت بـ0.62 mg/ ml .

كما قمنا بدراسة الفعالية البيولوجية للمستخلص النباتي ضد ثلاث سلالات بيكتيرية *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ATCC 25923) باتباع طريقة الانتشار بالاقراص حيث كانت النتائج المستخلص الميثانولي فعالية ضد البكتيريا على جميع السلالات البكتيرية المختبرة.

كما قمنا بدراسة الفعالية المضادة للتخثروذلك باستعمال زمن Tp. Tck. Febrinogenne حيث كانت النتائج ان نبات العرفج يعتبر مصدرًا طبيعيًا للمركبات المضادة للتخثر ذات الأهمية العالية.

وايضا النشاطية المضادة للالتهاب وذلك باستعمال زلال البيض تمت الدراسة بمقارنة معدل تثبيط تمسخ البروتين بين العقارالقياسي المضاد للالتهابات) Voltum 50mg) والمستخلص النباتي لنبات العرفج حيث كانت النتائج . ان له قدرة كبيرة في تمسخ البروتين مما يفسر له قدرة تقليل من الالتهابات من خلال هذه النتائج نستنتج أن لمستخلص نبات العرفج قدرة مضادة لتخثر الدم وفعالية مضادة للالتهاب .وفي الاخير ونظرا للنتائج المشجعة المتحصل عليها من مستخلص هذا النبات الطبي ، نأمل أننا حققنا بعض الأهداف لتأكيد قدرة هذا النبات في علاج بعض أمراض ، فاننا نوصي لزيادة افاق هذا البحث بالدراسة التحليلية الكمية والنوعية للمركبات الفعالة في هذا النبات والبحث وتثمين النباتات الصحرارية ، كما نوصي بالحفاظ على الأوساط الطبيعية لهذه النباتات.

المراجع:

1. Roifman I, Beck PL, Anderson TJ, Eisenberg MJ, Genest J: Chronic inflammatory diseases andcardiovascular risk: a systematic review. Canadian Journal of Cardiology 2011, 27:174-182.
2. Schenone S, Brullo C, Bruno O, Bondavalli F, Ranise A, Filippelli W, Rinaldi B, Capuano A,Falcone G: New 1, 3, 4-thiadiazole derivatives endowed with analgesic and antiinflammatory activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2006, 14:1698-1705.
3. Kariawasam K, Pathirana R, Ratnasooriya W, Handunnetti S, Abeysekera W: Phytochemicalprofile and in vitro anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of Sri Lankan varietyof Psidium guajava L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2017, 6:22-26.
4. Lambert P.A., 2002- Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in
   Trease E., Evans W.C., 1987- Pharmacognosie. Billiaire Tindall, London 13 Th.61-62 P.
5. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow ? Lancet
6. Barton G M. A calculated response : control of inflammation by the innateimmune system. J Clin Invest, 2008, vol 118, p. 413-420
7. Clos J. (2012). Immunité chez les animaux et les végétaux. Lavoisier. Paris : 291
8. Fullerton, J. N. & Gilroy, D. W. Resolution of inflammation: a new therapeutic
9. Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L., Bouriche H., 2016- Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of Genista Saharae (Coss. &Dur.). Scholars Research Library, 8 (1): 51p
10. Haba H., 2008 - Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : Euphorbia
11. Harborne, J. B., 1973- Flavonoids in phytochemistry, ed. Lawrence, P. Miller, Litton
    Irving W., Ala'Aldeen D. et Boswell T., 2005- Medical Microbiology. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p

12. Kayser M.D. F. H., Bienz K. A., Eckert Ph.D. J. et Zinkernagel M.D. M. R., 2005- Lyczak J.B., Cannon C.L.,And Pier G.B., 2000- Establishment of Pseudomonas/
13. M Bouheroum,(2007). Etude phytochimique de plantes médicinales algériennes:
14. M S Yaghmai et S. Kolbadipour.,(1987). Volatile Component of Rhanterium
15. Majdalawieh AF, Fayyad MW: Immunomodulatory and anti-inflammatory action of Nigellasativa and thymoquinone: A comprehensive review. International immunopharmacology2015, 28:295-304
16. Nathan C. Points of control in inflammation. Nature, 2002, vol 420, p. 846-852
17. Noack M, Kolopp-Sarda M-N: Cytokines et inflammation: physiologie, physiopathologie etutilisation thérapeutique. Revue Francophone des Laboratoires 2018, 2018:28-37.
18. Ordonez A.A.L., Gomez J.D., Vattuone M.A., Isla M.I., 2006- Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq), Food Chem, 97:452-458.
19. Postiaux G. (2016). Kinésithérapie et Bruit Respiratoire : Nouveau Paradigme. Scherer R., Godoy H. T., 2009- Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chemistry, 112 (3), 654-658.
20. Trease E., Evans W.C., 1987- Pharmacognosie. Billiaire Tindall, London 13 ThWeill B., Batteux F., Dhainaut J (2003). Immunopathologie et réactions inflammatoires. Paris : Eds, p. 12-23-71.
21. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., 1999- The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4):555-559
22. Amrani A ; Benaissa O ; Boubekri N ; Zama D ; Biod K ; Beroal N ; Benayache F2001;357:539-45 292.
23. aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist. Microbiol Infect. 2: 1051–1060
24. ATTOU A., 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activités biologique des Benayache S ; Bettuzzi S 2014 : Effet hépatoprotecteur et antiradicalaire d'un extrait butanolique de Rhantheriumsuaveolens ; p (386-392) ; Phytothérapie 12
25. Caquet R., 2004-250 examens de laboratoire : prescription et interprétation. 9éme Ed., Masson Paris. pp : 388-389.

26. Eddy A A. Progression in chronic kidney disease. Adv.Chronic Kidney Dis, 2005,Edition.61-62 P

27. extraits de la plante Ruta chalepeusis (fidjel de la region d'ain témouchent). frontier. Nat. Rev. Drug Discov. 15, 551–567 (2016)
28. Gram-positive bacteria and mycobacteria. Journal of applied microbiology. Vol. 95.N
29. guyoniana Boiss. et Reut. et Euphorbia retusa Forsk. Thèse doctorat, Université el- hadj
https://kids.frontiersin.org/ar/articles/10.3389/frym.2018.00051-ar lakhdar.305 p
30. Medical Microbiology. Edition Thieme. 698
31. Mémoire de magister. Université Aboubekr elkaid Tlemcen. 119p

32. Singleton V.L, Rossi J.A., 1965- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16: 144-158

33. Sun B.S., Ricardo-Da-Silva J.M., Spranger M.I., 1998-Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. J Agric Food Chem, Vol.46; 4267-4274p

34. Mizushima Y, Kobayashi M: Interaction of anti- inflammatory drugs with serum proteins,
especially with some biologically active proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1968, 20:169-173.

35. Boulahfa Rahima Bourouba Abire BA: Etude phytochimique et évaluation in vivo et in vitro de l'activité anti-inflammatoire de certains extraits de la plante médicinale Inula viscosa.2017.

36. Seaman FC: Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. The Botanical Review 1982, 48:121-594

37. Rhayour K: Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. 2002

38. El Hassany B, El Hanbali F, Akssira M, Mellouki F, Haidour A, Barrero A: Germacranolides from Anvillea radiata. Fitoterapia 2004, 75:573-57

39. Khelifi A ; Etude botaniques, phytochimiques et pharmacologiques des espèces du genre *Rhanterium* (Synthèse bibliographique), 2021

المراجع العربية:

1. ابوعبدالله م. س.، 2011 –دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير جامعة منتوري. قسنطينة. ص:6.
2. ابوالذهب م.، الكشير ح.، القزاز س.، عاية ش.، – 1997البكتيريا. دار المعارف. الجزء الأول. ص:20
3. القحطاني.ج. س (2011) الطب البديل مكمل للطب الحديث الطبعة الأولى، العبيكان للنشر.
4. الحلو ج.، – 2009علم الأحياء الدقيقة "الأصول والعلاقة ". دار أسامة للنشر. عمان ص:.216.
5. بن خناثة م.، –2014المساهمة في دارسة مستخلصات نبتة الكلخة. (Ferula Vesceritensis) مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص:83.
6. بن سلامة ع. ا.، – 2012النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق ((Hertia cheirifolia مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. ص90.
7. حوة إ.، – 2013دراسة الفعالية لبيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية المضادة للأكسدة. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير جامعة قاصدي مرباح ورقلة ص 65– 109.
8. – دندوقى ح.، 1989 – دراسة الميتابوليزم الفالفونيدى لنبات (viscosa Inula) مذكرة ماجيستير فى الكيمياء العضوية. جامعة قسنطينة ص13

9. طاهر ح، 2008 كيمياء المنتجات. الجزء النظرى. منشورات جامعة البعث كلية العلوم ص362.

10. طبعة س/قدوري ز.،2018/ 2019 المساهمة في دراسة نواتج الأيض الثانوي والفعالية البيولوجية

11. *(Pituranthos chloranthy)*لمستخلصات نبات القزاح ،مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة حمة لخضر الوادي الصفحة34،33 ،36،35.

12. عمر ل.، – 2010دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات Artemisia herba alba (Asso) الشيح. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النباتية. جامعة فرحات عباس. سطيف.90ص.

13. المرجع: ضياء فالح عبد الله الفكيكي، علي خضير جابر الركابي، قسم علوم ألاغذية – كلية الزراعة – جامعة البصرة، استخالص وتشخيص المركبات الفينولية من نبات الحناء (Lawsoniainermis)وتقدير فعاليتها كمضادات لألكسدة، مجلة ذي قار للبحوث الزراعية ، المجلد 2 ، العدد 2 (2021) ص146-147.

14. المرجع: شرادة ن/عوادي م 2019 دراسة العلاقة الفيتوكيميائية بيننبات الارطي Calligonum comosum L'her العائل والثرثوث.Cistanche tinctoria (Desf.) Beck المتطفل الناميين في وادي سوف. مدكرة تخرج لنيل شهادة ماستر اكاديمي ،جامعة الوادي.

15. رسالة مقدمة لنيل شهادة الماجستير على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا (Camellia Sinensis) جامعة منتوري . قسنطينة .ص:6.

16. مذكرة ماستر أكاديمي لمستخلصات نبات القزاح Pituranthos chloranth جامعة حمة لخضر الوادي الصفحة34،33 ،36،35 .

17. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النباتية الشيح ،جامعة فرحات عباس سطيف ص 90.

18. امين رويحة،(1983) التداوي بالاعشاب:بيروت –لبنان،دار القلم.

19. عرفة احمد عرفة (2006) النبات الاقتصادي المنصورة–مصر المكتبة العصرية للنشر والتوزيع.

20. عبود ووحيد(2017)، اهمية النباتات الطبية واستعمالاتها في الحضارات القديمة،مجلة كلية الاداب.

21. علي منصور حمزة(2006)،النباتات الطبية العالمية،الاسكندرية،منشا المعارف.

22. رفيق علي صالح(2012)،اطلس النباتات الطبية والعطريةفي الوطن العربي،دمشق –سوريا:المركز العربي لدراسة الاماكن الجافةوالاراضي القاحلة.

23. احمد انور عيسى(2012)،التداوي بي الاعشاب بين الحقيقة والسراب–مصر :دار الجمهوريةللصحافة.