



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي



كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطالبتين:

شريط هاجر

بوترعة الشيماء

تحت عنوان:

دراسة القدرة المضادة للأكسدة والنشاط البيولوجي لمستخلص الإيثانولي لأوراق و الأغصان لنبات العلقلة الذي ينمو في صحراء الوادي (*Oudney africana R*)

نوقشت يوم : 2023 /06/04 أمام اللجنة المكونة من :

رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر - بالوادي	أستاذ تعليم عالي	وهراني محمد رضا
مقررا	جامعة الشهيد حمه لخضر - بالوادي	أستاذ محاضر (ب)	نغموش نصر صالح
مناقشا	جامعة الشهيد حمه لخضر - بالوادي	أستاذ محاضر (ب)	عبدي عبد الرزاق

السنة الجامعية: 2022 / 2023

إِهْدَاء

(وقل اعملوا فسيري الله عملكم ورسوله والمؤمنين)

إلى من حملتني 9 أشهر في بطنها وداخل قلبها مدى عمري إلى ملاكي ومعني الحب والتفاني والتي وهبت لي الحياة، وصبرت على كل شيء، وانتصرت على الظروف القاسية ورفعت بنا إلى العلا والتي رعتني حقا رعاية بنفسها منذ صغري. هي الغالية ورفيقة دربي وحبيرة قلبي و سندي وقوتي كنتي أبي وأخي وكل أفراد عائلتي إلى أمي العزيزة حفظك الله لي ورمك.

وإلى سندي وقوتي بعد الله عز وجل إلى من أثروني على نفوسهم إلى من أظفروا لي ما هو أجمل في الحياة أخواتي ليلي، زينب، سميرة، قاسم.

هاجر ...

إِهْدَاء

الشكر لله أولاً وأخيراً كما ينبغي لجلال وجهك ومخزومة سلطانك إلى سيد الأمة الإسلامية ومولانا محمد
صلى الله عليه وسلم

أهدي تخرجي إلى تجرع الكأس ليستقيني قطرات الحب إلى من حضنني بحنان ورعاية
كل خطوات حياتي إلى نور عيني وبصري إلى من صد الأشواك عن دربي ليهد لي
طريق العلم إلى قلبي الكبير والدي العزيز **الأستاذ الطاهر بوتريجة**

إلى من تدك قدميها الجنة وغمرتني بالحنان والأمان والحب إلى أمي الغالية حفظك الله
لي.

إلى أخي ورفيق دربي في هذه الحياة وسندي بعد أبي، أخي العزيز علاء.

وإلى قوتي وسندي ومن **ظهروا** لي الجانج الطوف في الحيلة ومعني في كل خطوات
دربي اخواتي الجميلات عبير، دعاء، إسراء.

الشيماء...

سُرَّةُ التَّوْفِيقِ

وقال تعالى: (إِنَّ الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ إِنَّا لَا نُضِعُّ أَجْرَ مَنْ أَحْسَنَ عَمَلًا)
[الكمه:30]، صدق الله العظيم.

لك الحمد يا إلهي كما ينبغي جلال وجهك وعظمة سلطانتك وحمد لك والشكر لك يا إلهي
العظيم على توفيقنا في هذا العمل.

نتقدم بأسمى العبارات والشكر والتقدير والامتنان إلى من يعجز لساننا عن إيجاد العبارات المناسبة
لشكره لمن سدّد خطايانا ويسرّ لنا عملنا وجعل لنا كل شيء سهل ويسير يستحق كل الشكر
والثناء والامتنان الغير منقطع الذي لم يخل علينا بتوجهاته ونصائحه القيمة والثمينة طول
مراحل الإنجاز العمل أستاذنا الكريم الفاضل **نغموش نصر صالح** لك الشكر كثيراً وحفظك الله
لأهلك وعائلتك ولكل أحبابك وفقك الله إلى اعلى المراتب بإذنه.

الملخص

يحتوي مستخلص النبات الطبيعي على العديد من المركبات الفينولية والمواد الكيميائية المرتبطة بوظائف بيولوجية مختلفة. هذا العمل هو أحد مكونات تطوير الجزء الجوي (الأوراق والسيقان) من نبات العلقه، المصنف كجزء من عائلة Brassicaceae. تم إجراء هذا البحث لتقييم الخصائص المضادة للأوكسدة والمضادة للجراثيم للمستخلص الإيثانولي لهذا النبات. كشف تحليل المكونات الفينولية عن كميات متفاوتة من مادة البوليفينول ومستخلص الساق ينتج أعلى القيم. علاوة على ذلك، كان للمستخلصات التي تم الحصول عليها قدرة قوية على منع جذر DPPH، وكذلك جذر ABTS، ومقايسة β -carotene-linoleate، واختبار الفينانثرولين. الخصائص المضادة للأوكسدة في نبات العلقه تجعله علاجًا عشبيًا مفيدًا لعلاج مجموعة واسعة من الأمراض المزمنة بالإضافة إلى الوقاية من هذه الحالات. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الدراسة لفهم التطبيقات العلاجية المحتملة بشكل كامل وتصميم أدوية فعالة وآمنة. تم تقييم القدرة المضادة للبكتيريا للمستخلصات الإيثانولية على أربع سلالات بكتيرية مميزة وسلالة فطر واحدة. أشارت النتائج إلى أن أيا من السلالات كانت عرضة لأي من المستخلصات التي تم فحصها. يشتمل هذا العمل على تحقيق أولي، وعلى هذا النحو، يمكننا من لفت الانتباه إلى القيمة المحتملة للاستفادة من هذا النبات في العلاج بالأعشاب التقليدية. بالإضافة إلى ذلك، سيسلط الضوء على المزايا المختلفة لهذا المصنع، والتي تم التغاضي عن ميزاتهما لفترة طويلة جدًا.

الكلمات المفتاحية: مضادات الميكروبات؛ نبات العلقه؛ النشاط المضاد للأوكسدة؛ مستخلص إيثانولي.

Abstract: Natural plant extract includes various phenolic compounds and chemicals linked to different biological functions. This work is a component of the development of the aerial portion (leaves and stems) of *Oudneya africana* R, classified as part of the Brassicaceae family. This research has been done to evaluate the antioxidant and antibacterial properties of ethanolic extract of this plant. The analysis of the phenolic components revealed varying amounts of polyphenols, and the stem extract producing the highest values. Furthermore, the obtained extracts had a strong capacity to block the DPPH radical, as well as the ABTS radical, the β -carotene-linoleate bleaching assay, and the phenanthroline test. The antioxidant qualities of *O. africana* make it a potentially useful herbal therapy for the treatment of a wide range of chronic diseases as well as the prevention of these conditions. However, further study is required to fully comprehend its potential therapeutic applications and to design medicines that are both effective and safe. The antibacterial ability of the ethanolic extracts was evaluated on four distinct bacterial strains and one fungus strain. The results indicated that none of the strains were susceptible to any of the extracts that were examined. This work comprises a preliminary investigation, and as such, it enables us to bring attention to the potential value of making use of this plant in traditional herbal treatment. In addition to this, it will shed light on the various advantages of this plant, the features of which have been overlooked for a very long time.

Keywords: antimicrobial; *Oudneya africana*; antioxidant activity; ethanolic extract.

فهرس المحتويات

فهرس المحتويات

I	فهرس الاشكال
II	فهرس الجداول
III	قائمة المختصرات
1	مقدمة عامة

الجزء النظري

الفصل الأول : دراسة بييليوغرافية حول نبات العلقة

5	I. دراسة بييليوغرافية حول النبتة <i>Oudneya africana R</i>
5	I.1. النباتات الطبية
5	I.1.1. تعريف النباتات الطبية :
5	I.2.1. تصنيف النباتات الطبية :
6	I.2. تعريف بنبتة <i>Oudneya africana R</i> :
6	I.3. التصنيف النباتي لـ <i>Oudneya africana R</i> :
7	I.4. الوصف النباتي لـ <i>Oudneya africana R</i> :
8	I.1.3. الإنتشار الجغرافي لـ <i>Oudneya africana R</i> :
8	I.2.3. الخصائص البيولوجية :
8	I.3.3. الاستخدام التقليدي لنبات العلقة :
9	I.4. الدراسات السابقة المنشورة على مستخلص نبات العلقة :
11	قائمة مراجع الفصل الأول

الفصل الثاني : الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

13	II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة :
13	II.1. الليبيدات :
13	II.2. الأحماض الدهنية :
14	II.3. تقسيم الليبيدات :
14	II.4. الهيدروبيروكسيدات :
14	II.1.4. الأكسدة الآلية :
14	II.2.4. الأكسدة الضوئية :
15	II.3.4. الأكسدة الإنزيمية: تحدث في وجود إنزيم Lipoxyenase

16	5.II. المركبات المضادة للتأكسد :
16	6.II. تعريف الجذور الحرة :
16	7. II. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS) ^[6] :
17	8.II. الماء الأوكسجيني: H_2O_2 :
18	2. 8.II. جذور البيروكسيل ROO :
18	3. 8.II. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH :
18	4. 8.II. جذور الألكوسيل RO :
18	9.II. مكافحة الجذور الحرة :
18	1. 9.II. نظام الدفاع داخل العضوية :
18	2. 9.II. نظام دفاع خارج العضوية :
18	10.II. مضادات التأكسد :
19	1. 10.II. استعمالات مضادات التأكسد :
19	2. 10.II. النباتات ومضادات التأكسد :
20	3. 10.II. مضادات التأكسد الطبيعية :
21	11.II. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد :
21	1. 11.II. تحليل المركبات المتأكسدة :
21	2. 11.II. تحليل البيروكسيدات :
21	3. 11.II. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد :
22	12.II. إجهاد التأكسد: oxidative stress :
24	1. 2. 13.II. عائلة المركبات الفينولية واسعة الإنتشار :
25	3. 13.II. خصائص المركبات الفينولية :
26	14.II. المركبات الفلافونويدات :
26	1. 14.II. تعريف :
29	3. 14.II. تصنيف الفلافونويدات :
30	4. 14.II. الخواص الفيزيوكيميائية للفلافونويدات :
30	5. 14.II. خصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونويدات :
31	قائمة مراجع الفصل الثاني

الفصل الثالث : الفعالية البيولوجية ومضادات الميكروبات

35	III. الفعالية البيولوجية ومضادات الميكروبات
35	1. III. الفعالية البيولوجية :
35	2. III. مضادات الميكروبات :

37	III.3. البكتيريا:-----
37	III.3.1. تعريف البكتيريا:-----
37	III.3.2. التركيب الخلوي للبكتيريا:-----
37	III.3.3. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية:-----
39	III.4.3. تصنيف أنواع البكتيريا:-----
41	III.4. المقاومة البكتيرية:-----
41	III.1.4. تعريف المقاومة البكتيرية:-----
41	III.2.4. طرق التعرف على حساسية ومقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي:-----
35	قائمة مراجع الفصل الثالث-----

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع : المواد والطرق المستعملة

44	IV الجزء العملي-----
44	IV.1. تحضير العينة:-----
44	IV.2. الأجهزة والأدوات و المواد المستعملة لمراحل الاستخلاص:-----
45	IV.3. المواد والطرق-----
45	IV.1.3. المواد الكيميائية-----
45	IV.2.3. جمع العينات النباتية-----
45	IV.3.3. استخلاص النبات-----
45	IV.4. كيمياء النبات-----
45	IV.1.4. إجمالي محتوى البوليفينول (TPC)-----
46	IV.2.4. محتوى الفلافونويد الكلي (TFC)-----
46	IV.5. النشاط المضاد للأكسدة-----
46	IV.1.5. اختبار DPPH-----
47	IV.2.5. مقايسة β -كاروتين-----
47	IV.3.5. الكسح الجذري لـ ABTS-----
48	IV.4.5. مقايسة الفينانثرولين-----
48	IV.6. تحليلات البيانات الإحصائية-----
49	IV.7. بروتوكول الفحص المضاد للبكتيريا-----
49	IV.1.7. ملحمة عامة-----
49	IV.2.7. طريقة انتشار القرص-----

49	3.7.IV. قياس حجم المنطقة-----
50	قائمة مراجع الفصل الرابع-----

الفصل الخامس : النتائج والمناقشة

52	V. النتائج والمناقشة-----
52	1.V. مردود الاستخلاص والكيمياء النباتية-----
52	2.V. النشاط المضاد للأكسدة-----
53	1.2.V. اختبار (DPPH)-----
54	2.2.V. اختبار β -كاروتين وحمض اللينوليك-----
55	3.2.V. اختبار الفينانثرولين-----
56	3.2.V. اختبار ABTS-----
58	3.V. نشاط مضادات الميكروبات-----
61	قائمة مراجع الفصل الخامس-----
63	خاتمة عامة-----

فهرس الاشكال

- الشكل 1 . صورة فوتوغرافية لنبات العلقه 2
- الشكل I. 1. الصورة الفوتوغرافية ل *Oudneya africana* R 7
- الشكل II. 1. تفاعل أكسدة الليبيدات 15
- الشكل II. 2. الصيغة الكيميائية لمركب الفينول 23
- الشكل II. 3. الهيكل الأساسي الأحماض الفينولية مشتقة من الحمض البنزويك 24
- الشكل II. 4. البنية الأساسية للفلافونيدات 26
- الشكل III. 1. بنية الخلية لبكتيرية..... 38
- الشكل III. 2. قطر منطقة التثبيت للبكتيريا..... 42
- الشكل IV. 1. مخطط توضيح مراحل الاستخلاص 44
- الشكل V. 1. تغيرات نسبة التثبيت بدلالة التراكيز باستخدام طريقة DPPH 53
- الشكل V. 2. تغيرات نسبة التثبيت بدلالة التراكيز باستخدام طريقة β - كاروتين 54
- الشكل V. 3. تغيرات الامتصاصية بدلالة التراكيز باستخدام طريقة الفينانثرولين 56
- الشكل V. 4. تغيرات نسبة التثبيت بدلالة التراكيز باستخدام طريقة ABTS 57
- الشكل V. 5. صور فوتوغرافية تصور النشاط المضاد للبكتيريا من مقتطفات انتشار قرص أجار من نبات العلقه. (أ) الورقة (L) ، (ب) الجذعية (S). معيار (مذيب) ، (1/1) ؛ 40 ملغ / مل ، (2/1) ؛ 20 ملغ / مل (4/1) ؛ 10 ملغ / مل ، و (8/1) ؛ 5 ملغ / مل..... 59

فهرس الجداول

- الجدول I. 1. يوضح التصنيف العلمي لنبات *Oudneya africana R* 6
- الجدول II. 1. أصناف المركبات الفينولية وبعض مصادرها من النبات 24
- الجدول II. 2. نماذج المركبات الفينولية من الهيكل (C6 - C1), (C6 - C2) 25
- الجدول II. 3. يوضح تصنيف الفلافونيدات 29
- الجدول III. 1. يوضح تصنيف أنواع البكتيريا 39
- الجدول V. 1. إجمالي كميات البوليفينول والفلافونويد في أوراق نبات العلقة (L) والساق (S) المستخلصات الإيثانولية... 52
- الجدول V. 2. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقة المختلفة باستخدام DPPH. 53
- الجدول V. 3. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقة المختلفة باستخدام طريقة β - كاروتين 54
- الجدول V. 4. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقة المختلفة باستخدام اختبار الفينانثرولين 55
- الجدول V. 5. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقة المختلفة باستخدام طريقة ABTS 56
- الجدول V. 6. خصائص مضادات الميكروبات من المستخلصات الإيثانولية نبات العلقة. 58

BHT	Butylated hydroxytoluene
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
O ₂ ^{•-}	Superoxide anion
OH	Hydroxyl radical •
ROS	Reactive oxygen species
FRAP	Ferric reducing ability of plasma
TP	total polyphenols
RSM	response surface methodology
ALT	Alanine Transaminase Test
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MBC	Minimum Bactericidal Concentration
BHA	Butylated hydroxyanisole
TBH	tert-Butylhydroquinone
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
CAT	Catalase

مقدمة عامة

إن دراسة علم النبات والتعرف عليه أمر ضروري لأن حياة الإنسان أصبحت متشابكة مع الحياة النباتية كغذاء، لكن الإنسان القديم لم يتوقف عند هذا الحد، بل طور استخدامه بمرور الوقت مع النباتات البرية التي تغطي سطح الأرض والأمراض المصابة معهم، استخدم هذه النباتات أو أجزاء منها للعلاج. بالإضافة إلى قيمتها الغذائية العالية لاحتوائها على مصدر طاقة الحياة من الكربوهيدرات والبروتينات والدهون، فإنها تتمتع بفوائد طبية علاجية، حيث لها دور في علاج العديد من الحالات المرضية [1]، والتي تمت دراستها على أنها فعالة النباتات الطبية لاحتوائها على مركبات كيميائية ولها فعالية بيولوجية واضحة [2]، واستخدامها كجزء لا يتجزأ من أنظمة الرعاية الصحية التقليدية هو أقدم العلاجات وأكثرها تنوعاً. وفقاً لتقديرات منظمة الصحة العالمية، يستخدم أكثر من 80% من الأشخاص في جميع أنحاء العالم حالياً الأدوية العشبية في بعض القدرات لتوفير الرعاية الطبية الأولية [3]. لا يزال الطب التقليدي والفلكلوري يسجل حضوراً ملحوظاً في الجزائر. لا توجد بلدة أو قرية صغيرة لا تمارس استخدام العلاجات العشبية التقليدية [4]، على الرغم من التقدم العلمي الكبير في مجال تقنيات العلاج الحديثة، فضلاً عن محاولتهم تجنب استخدام الأدوية التي تحتوي على مكونات كيميائية وغير طبيعية، وتكلفة العلاج التقليدي والشعبي منخفضة [5، 6].

ينتمي نبات العلقة *Oudneya Africana R* إلى عائلة *Brassicaceae*. في المراجع، يطلق عليه أيضاً *Henophyton Deserti* [7، 8]. من بين السكان الأصليين للصحراء الجزائرية، المشار إليها باسمها العربي "العلق" الجزائر والمغرب كلاهما يستخدمان هذا النبات. وهي عبارة عن شجيرة فرعية بأوراق كاملة، وليست سميناً للغاية، ويبلغ ارتفاعها ما بين 74 سم إلى 1 متر (الشكل 1). لها أوراق بسيطة، وكولين، ومتناوبة. الأزهار قصيرة، أرجوانية، وردية، كبيرة جدا (10-15 ملم)، سيليكات مسطحة، منتصب، بحافة متموجة من 3-6 سم، موهنة بمنقار قصير (1.5-3 مم). مع الكأس والبتلات الشعاعية وثنائية الميول الجنسية. بذور مجنحة، 15-18 لكل خلية. إنه يحمل 6 أسدية حرة تشكل أندروسيوم رباعي الزوايا، ومبيض علوي ووحيد العين [9، 10]. لطب الأعشاب التقليدي الجزائري تاريخ طويل في دمج هذا النوع، حيث يتم استهلاكه كعلاج فعال لأمراض الأمعاء [11]. يستخدم نبات العلقة بشكل جيد في الأدوية الصحراوية المحلية، حيث يشكل المسحوق علاجاً جيداً للعناية بالآفات الجلدية. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يحظى بشعبية كبيرة كغذاء بالنسبة للجمال [12]. في الجزائر، تنتشر في جميع أنحاء التربة الرملية والكثبان الرملية في المناطق القاحلة جنوب شرق دوار الماء. هذا النوع أحد أكثر أنواع النباتات الطبية التقليدية شيوعاً، مع مجموعة واسعة من التطبيقات [13، 14]. يستخدمه البدو في منطقتنا لعلاج العقم، ولا توجد دراسة علمية منشورة حول ذلك، حيث يجفف في الظل ويطهى كالشاي. بالإضافة إلى ذلك، يتم استخدامه كدواء لعلاج الربو مما يدل على أن محتوى الفلافونويد في نبات العلقة هو المسؤول عن آثاره المضادة للأوكسدة العالية، السامة للخلايا، والمضادة للجراثيم. وهم يعتقدون أن وجود مركبات الفلافونويد هو المسؤول عن هذه الصفات. تم اكتشاف نبات العلقة لاحتوائه على مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية، بما في ذلك القلويدات، والجليكوزيدات القلبية، والأنثراكينون المربوط، والصابونين، والترينويدات، والستيرولات [15].



الشكل 1 . صورة فوتوغرافية لنبات العلقه

تم الحصول على مستخلص إيثانولي من كل من الساق (S) والورقة (L) من نبات العلقه لغرض تحليل محتوى الفلافونويد الكلي، والمحتوى الفينولي، والنشاط المضاد للأوكسدة، والنشاط المضاد للميكروبات. بالإضافة إلى ذلك، هناك القليل جدًا من الأبحاث التي تم نشرها والتي تم إجراؤها باستخدام المستخلصات الفينولية لهذا النبات. كنتيجة مباشرة، قمنا بالتحقيق في الخصائص المضادة للأوكسدة والمضادة للميكروبات لنبات العلقه الجزائري الصحراوي. تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة القدرة المضادة للأوكسدة لمستخلص نبات العلقه، حيث يشمل عملنا هذا ما يلي:

جزء نظري الذي يتضمن ثلاث فصول:

✓ **الفصل الأول:** يشمل دراسة ببليوغرافية حول نبات العلقه والدارسات العلمية السابقة حول هذا

النبات

✓ **الفصل الثاني:** يدرس طرق مضادات الأوكسدة واستعمالاتها واهم مركبات التي لها قدرة مثالية لي

الإجهاد التأكسدي.

✓ **الفصل الثالث:** يشمل دراسة ببليوغرافية حول الفعالية البيولوجية والمضادة للميكروبات

وجزء تطبيقي يشمل فصلين:

✓ **الفصل الرابع:** ويتضمن الأجهزة والوسائل المستعملة بالإضافة إلى المواد، وخطوات العمل التجريبية

لتحديد القدرة المضادة للأوكسدة والمضادة للميكروبات.

✓ **الفصل الخامس:** يشمل النتائج التجريبية المحصل عليها ومناقشتها ومقارنتها مع النتائج المنشورة في

المراجع.

ونتهي عملنا هذا بملخص عامة.

المراجع:

1. Frecska, E.; Bokor, P.; Winkelman, M., The therapeutic potentials of ayahuasca: possible effects against various diseases of civilization. *Frontiers in pharmacology* **2016**, *7*, 35.
2. Anand, U.; Jacobo-Herrera, N.; Altemimi, A.; Lakhssassi, N., A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites* **2019**, *9*, (11), 258.
3. Ekor, M., The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in pharmacology* **2014**, *4*, 177.
4. Miara, M. D.; Bendif, H.; Rebbas, K.; Rabah, B.; Hammou, M. A.; Maggi, F., Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *Journal of Herbal Medicine* **2019**, *16*, 100262.
5. Fagbule, O. F.; Emenyonu, U.; Idiga, E.; Oni, O. O.; Ijarogbe, O. A.; Osuh, M. E.; Lawal, F. B.; Owoaje, T. O.; Ibiyemi, O., Using traditional rhyme (folk song) as a tool for oral hygiene promotion (UTRATOHP) among children in rural communities in Nigeria: a protocol for a randomised controlled trial. *medRxiv* **2023**, 2023.01. 11.23284418.
6. Courric, E.; Brinvilier, D.; Couderc, P.; Ponce-Mora, A.; Ménil-Mamert, V.; Sylvestre, M.; Pelage, J. H.; Vaillant, J.; Rousteau, A.; Bejarano, E., Medicinal Plants and Plant-Based Remedies in Grande-Terre: An Ethnopharmacological Approach. *Plants* **2023**, *12*, (3), 654.
7. Palici, I.-F. Valorisation des Activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines. Bordeaux, **2016**.
8. Rouari, L.; Gouzi, H.; Ghermaoui, M.; Benaceur, F.; Kemassi, A.; Merabti, B.; Messahli, I.; Rezzoug, A.; Rouari, A.; Chaibi, R., First study of larvicidal activity of Algerian *Oudneya africana* extracts against *Culex pipiens* larvae. *Ukrainian Journal of Ecology* **2022**, *12*, (1), 65-70.
9. Hammami, R.; Hamida, J. B.; Vergoten, G.; Lacroix, J. M.; Slomianny, M. C.; Mohamed, N.; Fliss, I., A new antimicrobial peptide isolated from *Oudneya africana* seeds. *Microbiology and immunology* **2009**, *53*, (12), 658-666.
10. Nabti, L. Z.; Belhattab, R., In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. aerial parts. *IBSPR* **2016**, *4*, 58-64.
11. Bellakhdar, J.; La, P.; Marocaine, T., *Medecine arabe ancienne et savoirs populaires. La Pharmacopée Traditionnelle; Ibis Press: Paris, France* **1997**.
12. Telli, A.; Esnault, M.-A.; Khelil, A. O. E. H., An ethnopharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province). *Journal of arid environments* **2016**, *127*, 82-92.
13. Tiwari, P.; Bajpai, M.; Sharma, A., Antimicrobials from Medicinal Plants: Key Examples, Success Stories and Prospects in Tackling Antibiotic Resistance. *Letters in Drug Design & Discovery* **2023**, *20*, (4), 420-438.
14. Larbi, B. A. M.; Naima, B.; Elsharkawy, E. R.; Neghmouche, N. S., Phytochemical characterization, in-vitro cytotoxic and antibacterial activity of *Cotula cinerea* (Delile) Vis essential oil. *Journal of Natural Remedies* **2018**, 107-112.

15. Altwaty, N. H.; El-Sayed, O. E.; Aly, N. A.; Baeshen, M. N.; Baeshen, N. A., Molecular and cytogenetic assessment of *Dipterygium glaucum* genotoxicity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2016**, 88, 623-634.

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسة بيئية جغرافية حول نبات العلقه

I. دراسة بيبلوغرافية حول النبتة *Oudneya africana R***I. 1. النباتات الطبية****I. 1.1. تعريف النباتات الطبية :**

النباتات الطبية هي النباتات التي تحتوي على مواد طبيعية ذات فوائد صحية وعلاجية. وتشمل هذه النباتات مجموعة كبيرة من الأنواع المختلفة التي يتم استخدامها في الطب البديل والتقليدي، تحتوي النباتات الطبية على مكونات طبيعية مثل الألكالويدات والفيتامينات والأحماض الأمينية والزيوت الأساسية والمركبات الفينولية والكربوهيدرات والعديد من المركبات الأخرى التي تعمل على تحسين الصحة والعلاج من الأمراض [1].

يتم استخدام النباتات الطبية لعلاج الكثير من الأمراض المختلفة، كما يمكن استخدامها لتخفيف الأعراض المرتبطة ببعض الأمراض، مثل الآلام والتهابات الجسم، والأرق، والقلق [2].

يجب توخي الحذر عند استخدام النباتات الطبية، حيث يمكن أن تسبب بعضها تفاعلات سلبية مع بعض الأدوية الحديثة والحالات الطبية الخاصة، وينصح بالتشاور مع الطبيب أو الصيدلي قبل استخدامها [3].

يستخدم مصطلح "العقاقير الخام من أصل طبيعي أو بيولوجي" من قبل الصيادلة أو علماء الصيدلة للإشارة إلى النباتات أو أجزاء من النباتات التي لها خصائص طبية [4]. سيتم اختيار الأجزاء الأكثر تركيزاً في المكونات النشطة بحيث يمكن أن تكون النبات بأكمله، أو الأوراق، أو الساق، أو الجذور، أو الزهور، سواء كانت طازجة أو مجففة [5].

I. 2.1. تصنيف النباتات الطبية :

تصنف النباتات الطبية عادة حسب الاستخدام الطبي الذي يمكن الحصول عليه منها. وبشكل عام، يمكن تصنيف النباتات الطبية إلى الفئات التالية:

- 1- النباتات المسهلة: وهي النباتات التي تستخدم لتخفيف الألم وتهدئة الجهاز العصبي، وتشمل مثل هذه النباتات القرفة والكمون والليمون.
- 2- النباتات المنشطة: وهي النباتات التي تستخدم لتحفيز الجهاز العصبي وزيادة الطاقة، وتشمل مثل هذه النباتات الجنسنغ والقهوة والزعرتر.
- 3- النباتات المضادة للالتهابات: وهي النباتات التي تستخدم لتخفيف الالتهابات والألم، وتشمل مثل هذه النباتات الزنجبيل والكرم والمرمية.
- 4- النباتات المضادة للأكسدة: وهي النباتات التي تحتوي على مضادات الأكسدة القوية التي تحمي الجسم من الضرر الناجم عن الجذور الحرة، وتشمل مثل هذه النباتات العنب الأسود والأفوكادو والتوت الأحمر.
- 5- النباتات المضادة للفيروسات: وهي النباتات التي تستخدم لعلاج الأمراض الفيروسية، وتشمل مثل هذه النباتات الألوة فيرا والشاي الأخضر والكاموميل.

وهناك العديد من النباتات الأخرى التي تستخدم في الطب، وتصنف عادة حسب الخصائص الطبية التي تتميز بها. ويجب الانتباه إلى أن استخدام النباتات الطبية يجب أن يكون بتوجيه من الطبيب المختص، حيث إن استخدامها بشكل غير صحيح يمكن أن يؤدي إلى آثار جانبية خطيرة [6].

2.I. التعريف بنبتة *Oudneya africana R* :

نبات العلقة هو نوع من النباتات المزهرة، والمعروفة باسم Desert Verbena. موطنها الأصلي شمال أفريقيا والشرق الأوسط، حيث تنمو في المناطق القاحلة وشبه القاحلة. النبات عبارة عن شجيرة منخفضة النمو ذات أزهار صغيرة أو بيضاء أو وردية شاحبة تفتح في الربيع والصيف. تتكيف مع الظروف الصحراوية القاسية، وتحمل الجفاف ودرجات الحرارة المرتفعة والتربة الرديئة. تم استخدام نبات العلقة في الطب التقليدي لخصائصه المضادة للميكروبات ومضادة للالتهابات، وقد تمت دراسة مستخلصاته للتطبيقات العلاجية المحتملة [7].

3.I. التصنيف النباتي لـ *Oudneya africana R* :

الإسم العلمي : *Oudneya africana R*

مرادفة : *Henat l'ibel*

الإسم الشائع : العلقة

الجدول 1.I. يوضح التصنيف العلمي لنبات *Oudneya africana R* [8]

المملكة	Végétal
شعبة	Sppérmaphytes
الطبقة	Dicotylédone
ترتيب	Pariétales
العائلة	Brassicaceae
الجنس	Oudneya
النوع	Oudneya africana R
الإسم العامي	Henat l'ibel

4.I. الوصف النباتي لـ *Oudneya africana R*:

هي شجيرة نصف معمرة تنمو سنويًا حساسة للبرد شجيرة عطرية يصل إلى 30-60 سم ارتفاعًا، ولها جذوع مربعة متعددة الفروع تنتشر لتشكيل كومة. السيقان مستقيمة، ضعيفة، مشعرة، مستديرة خضراء مع بقع حمراء [9]. الأوراق ناعمة، بسيطة، سويقيه وبيضاوية إلى مستطيل بيضوي، خضراء رمادية اللون مرتبطة بعكس بعضها البعض على ساق مربع. هي ناعمة للغاية بسبب وجود العديد من الشعر. طولها 0.5-1.5 سم وعرضها 0.2-0.8 سم، مع قمة منفرجة، وحافة كاملة، وقاعدة متناظرة، ولكنها مستقيمة، وعروق شبكية. لها زهور صغيرة أنبوبية، بيضاء أو وردية شاحبة مع **بر اكنس** أخضر رمادي يزهر في السنبله كعناقيد. يبلغ طولها أقل من 0.3 سم وترتيبها طول الرؤوس 13 سم. الزهور هي خنثى في الطبيعة ببذور دقيقة، بيضاوية داكنة وبنية اللون. لديها اسطوانية فرعية. [10]. الجذور مجعده طوليا مع شقوق عرضية: 0.2-0.6 مم في القطر السطح الخارجي للجذر بني داكن في حين أن اللون البني الفاتح داخلي مع العديد من الجذريات الطويلة وندبات الجذور موجودة أيضا. الشقوق تكون طويلة، متناظرة وليفية لها رائحة عطرية وغير لاذعة [3].



الشكل 1. I. الصورة الفوتوغرافية لـ *Oudneya africana R*

I.3.1. الإنتشار الجغرافي لـ *Oudneya africana R* :

نبته العلقلة توجد بشكل رئيسي في المناطق الجافة والصحراوية في شمال إفريقيا، بما في ذلك الجزائر وتونس وليبيا، ومصر، والصحراء الغربية، والسودان. وتتواجد هذه النبتة أيضاً في بعض المناطق الجافة في جنوب إسبانيا والبرتغال [11].

تنمو نبتة العلقلة في المناطق الصحراوية والجبلية التي تتميز هذه المناطق بأنها جافة وقاحلة، وتتراوح درجات الحرارة فيها من 0 درجة مئوية في الشتاء إلى 50 درجة مئوية في الصيف. وتعد هذه الظروف القاسية بيئة مناسبة للنباتات المتكيفة مثل نبات العلقلة، التي تتحمل الظروف القاسية وتعتبر مصدراً مهماً للغذاء والدواء للسكان المحليين في المنطقة [12].

I.3.2. الخصائص البيولوجية :

أظهرت دراسة أجراها Hammami et al (2009) [4] على مستخلص نشط من نبات العلقلة وجود جزيء بيتيد منخفض الوزن الجزيئي مع طيف واسع جداً من النشاط المضاد للميكروبات. أظهرت دراسة أخرى أجراها Djeridane et al (2006) [13] حول الخاصية المضادة للأكسدة لأحد عشر نباتاً طبيًا جزائريًا أن نبات العلقلة له خصائص مثيرة للاهتمام كمضادات الأكسدة.

وفقاً Bouhadjera et al (2005) [14]، فقد أثبتت التحليلات المضادة للميكروبات أن مستخلصات الستيرويدات والستيرويدات من الأوراق والفاكهة تمنع نمو الزوائف وتظهر طيفاً واسعاً من مضادات الفطريات. اكتشف Stocker et al (2005) [15]، من خلال تحليل قدرة ثمانية عشر نباتاً طبيًا جزائريًا على تثبيط إنزيم أسيلاز 1 في كلى الخنازير، أن نبات العلقلة يتمتع بنشاط مثبط قوي ضد هذا الإنزيم، وذلك بفضل Maackiain (3-O-(6'-O-malonyl-β-D-glucopyranoside)، وهو فلافونويد معزول من هذا النبات).

I.3.3. الاستخدام التقليدي لنبات العلقلة :

يستخدم سكان ورقلة هذا النبات (الأوراق والسيقان) كعجينة (معجون = نبات تم اختزاله إلى مسحوق ومبلل بالماء) للاستخدام الخارجي ضد الأمراض الجلدية (تأثير جلدي) وأيضاً ضد لدغات الحشرات [6، 8]. يعتبر استخدام هذا النوع في طب الأعشاب قديماً نسبياً في المغرب، ويستخدم كعلاج لأمراض الأمعاء [9]. يتم تحضير أوراق ونبود هذا النبات لعلاج مشاكل الجهاز الهضمي والتهاب المفاصل ونزلات البرد والإنفلونزا والحمى والتهيج ولسعات العقرب [16].

يستخدمه البدو في منطقتنا لعلاج العقم، ولا توجد دراسة علمية منشورة حول ذلك، حيث يجفف في الظل ويُطهى كالشاي.

4.I. الدراسات السابقة المنشورة على مستخلص نبات العلقة :

في مقالة لـ Bellakhdar et al [17]، تم التوصل الى ان نبات العلقة لها خصائص مضادة للأكسدة بسبب وجود العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا مثل الفينولات والفلافونويد والتربينات. مضادات الأكسدة هي مركبات تساعد في حماية الخلايا من الإجهاد التأكسدي الذي تسببه الجذور الحرة، وهي جزيئات غير مستقرة يمكن أن تدمر الخلايا وتساهم في الشيخوخة والأمراض المختلفة.

وجدت إحدى الدراسات المنشورة، أن مستخلص نبات العلقة يحتوي على نسبة عالية من الفينول الكلي وأظهر نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة، كما تم قياسه بواسطة فحوصات مختلفة بما في ذلك فحوصات DPPH و ABTS [19،18]، وجدت دراسة أخرى نشرت في مجلة تحليل الغذاء والدواء أن المستخلص له نشاط كبير في إزالة الجذور الحرة وكان فعالاً في منع بيروكسيد الدهون، وهو نوع من الأضرار التأكسدية للدهون [12].

أشارت دراسة حديثة إلى أن النبتة تحتوي على مجموعة واسعة من المركبات النشطة الحيويًا، والتي تتميز بخصائص مضادة للالتهابات، والأكسدة، ومضادة للأورام، والبكتيريا. كما أنها تحتوي على مواد مضادة للفطريات ومواد قادرة على تنظيم مستويات السكر في الدم والكوليسترول [20].

وفي دراسة نظرية للنبتة، تم تحليل تركيبة المواد الكيميائية للنبتة ودراسة الفوائد الصحية والعلاجية المحتملة لها. وأظهرت الدراسة النظرية أن هذه النبتة قد تكون مفيدة في علاج العديد من الأمراض، بما في ذلك الأمراض المزمنة مثل السكري والقلب والأورام [21].

الهدف الرئيسي من الدراسة التي نشرها Mahboub et al [22]، تأثير طرق التجفيف المختلف (الظل، التجفيف ، الفرن ، التجفيف الشمسي) على الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا في نبات العلقة (نباتات طبية عفوية) في شمال الصحراء الجزائرية. استندت التجارب إلى تجفيف الأوراق بأربع طرق مختلفة (في الظل، الفرن (45 درجة مئوية)، التجفيف الشمسي والتجميد)، تم استخدام المستخلصات المختلفة لتقييم أنشطتها البيولوجية. أظهرت النتائج أن التجفيف والتجفيف الشمسي كانا أفضل وضعين للحفاظ على النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات نبات العلقة. علاوة على ذلك، أظهرت السلالات البكتيرية الأربع المدروسة مقاومة منخفضة ضد مستخلصات نبات العلقة المجففة بواسطة المجفف الشمسي.

أظهرت نتائج دراسة حديثة، أن العلاج بالمستخلصات المائية من نبات العلقة يقلل بشكل كبير من نسبة الجلوكوز في الدم ويحسن أنشطة الترانساميناز (TGO ، TGP) للفئران المصابة بداء السكري. من ناحية أخرى، فإن إعطاء المستخلص المائي يقلل أيضًا ($p > 0.05$) من مستوى البلازما لحمض البولييك واليوريا والكرياتينين. لوحظ انخفاض ($p < 0.01$) في تركيزات أنسجة MDA وزيادة في مستوى GSH في الأنسجة. من ناحية أخرى، أظهر الفحص النسيجي لنسيج البنكرياس أن المستخلص المائي من نبات العلقة له تأثير وقائي على بنية ووظيفة خلايا

Langerhans ويحسن النسيج النسيجي، حيث لخصت الدراسة إلى أن نبات العلقه لها تأثير مفيد على تطور مرض السكري وهذه المضاعفات [23].

قائمة مراجع الفصل الأول

1. Bourmita, Y.; Belboukhari, N.; Cheriti, A.; Ould El Hadj, M. D., Recherche préliminaire des sources végétales sahariennes à alcaloïdes pour usage bio-insecticides. *Algerian journal of arid environment* **2013**, 258, (1624), 1-10.
2. Haddouchi, F.; Chaouche, T.; Halla, N., Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie* **2018**, 16, (S1), S254-S262.
3. Ghourri, M.; Zidane, L.; ROCHDI, A.; Fadli, M.; DOUIRA, A., Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville d'El Ouatia (Maroc Saharien). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty* **2012**, 12, (2), 218-235.
4. Rouari, L.; Gouzi, H.; Ghermaoui, M.; Benaceur, F.; Kemassi, A.; Merabti, B.; Messahli, I.; Rezzoug, A.; Rouari, A.; Chaïbi, R., First study of larvicidal activity of Algerian *Oudneya africana* extracts against *Culex pipiens* larvae. *Ukrainian Journal of Ecology* **2022**, 12, (1), 65-70.
5. Nadia, B.; Youssra, C. Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Oudneya africana*. 2022, جامعة غرداية.
6. Bouhadjera, K., Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales Sahariennes, *Oudneya africana* R. Br. Et *Aristida pungens* L. *Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen* **2005**.
7. Chehma, A.; Djebar, M.; Hadjaiji, F.; Rouabeh, L., Étude floristique spatio-temporelle des parcours sahariens du Sud-Est algérien. *Science et changements planétaires/Sécheresse* **2005**, 16, (4), 275-285.
8. Usmonova, G.; Ochilova, G. In MEDICINAL PLANT-MOUNTAIN BASIN, International Scientific and Current Research Conferences, 2021; pp 06-09.
9. Satya Kumar, B. V.; Rupesh Kumar, M.; Tamizhmani, T.; Fasalu Rahiman, O.; Niyas, K. M., MAJORANA HORTENSIS (M.): A REVIEW UPDATE. *Pharma Science Monitor* **2011**, 2.(4) ,
10. Gheitasi, I.; Azizi, A.; Omidifar, N.; Doustimotlagh, A. H., Renoprotective effects of *Origanum majorana* methanolic L and carvacrol on ischemia/reperfusion-induced kidney injury in male rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2020**, 2020.

11. Hammami, R.; Hamida, J. B.; Vergoten, G.; Lacroix, J. M.; Slomianny, M. C.; Mohamed, N.; Fliss, I., A new antimicrobial peptide isolated from *Oudneya africana* seeds. *Microbiology and immunology* **2009**, 53, (12), 658-666.
12. Djeridane, A.; Yousfi, M.; Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.; Vidal, N., Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* **2006**, 97, 660-654 ,(4) ,
13. Bouhadjera, K.; Kebir, T.; Baba-Ahmed, A.; Bendahou, M., Antimicrobial activity of the sterols and steroids extracted from the Algerian *Oudneya Africana* R. *Br. Pakistan J. Biol. Sci* **2005**, 8, 834-838.
14. Stocker, P.; Yousfi, M.; Salmi, C.; Perrier, J.; Brunel, J.; Moulin, A., Maackiain 3-O-(6'-O-malonyl- β -D-glucopyranoside) from *Oudneya africana*, a powerful inhibitor of porcine kidney acylase I. *Biochimie* **2005**, 87, (6), 507-512.
15. Ould El Hadj, M.; Hadj-Mahammed, M.; Zabeirou, H., Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). **2003**.
16. Bellakhdar, J., *Hommes et plantes au Maghreb: éléments pour une méthode en ethnobotanique*. Lulu. com: **2008**.
17. Derbel, S.; Bouaziz, M.; Dhouib ,A.; Sayadi, S.; Chaieb, M., Chemical composition and biological potential of seed oil and leaf extracts of *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. *Comptes rendus chimie* **2010**, 13, (4), 473-480.
18. Hajlaoui, H.; Arraouadi, S.; Mighri, H.; Chaaibia, M.; Gharsallah, N.; Ros, G.; Nieto, G.; Kadri, A., Phytochemical constituents and antioxidant activity of *Oudneya Africana* L. leaves extracts: evaluation effects on fatty acids and proteins oxidation of beef burger during refrigerated storage. *Antioxidants* **2019**, 8, 442 ,(10) ,
19. Hadjadj, S.; Sekerifa, B. B.; Khellafi, H.; Krama, K.; Rahmani, S.; El Hadj-Khelil, A. O., Salinity and type of salt effects on seed germination characteristics of medicinal plant *Zygophyllum album* L.(Zygophyllaceae) native to the Algerian Sahara. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* **2022**, 31, 100412.
20. Maroua, Z.; Iman, S.; Zineb, M.; Samir, D., Evaluation of in-vitro Antioxidant and Anti-diabetic activities of leave aqueous extracts of *Oudneya Africana*. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* **2018**, 48-53.
21. Maroua, Z.; Iman, S.; Zineb, M.; Samir, D., *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2018**.

22. Mahboub, N.; Slimani, N.; Khelil, A., study of the effect of different drying modes on the antioxidant and antibacterial activities of oudneya africana. *Pharmacophore* **2017**, 8, (6), 6-9.
23. Samir, D.; Iman, S.; Maroua, Z.; Zineb, M., Anti-diabetic and anti-oxidative activities of Algerian Oudneya africana extract in alloxan induced diabetic rats. *Asian Journal of Emerging Research* **2020**, 2, 137-145.

الفصل الثاني

الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة :

ينتج الإجهاد التأكسدي باختلال التوازن بين طلائع المؤكسدات ومضادات الأكسدة، حيث يمثل طلائع المؤكسدات الأنواع النشطة المشتقة من الأكسجين والنترجين، التي يتم إنتاجها بصورة دائمة من طرف الخلايا خاصة على مستوى الميتوكوندري خلال عملية التنفس الخلوي، وفي الخلايا الداخلية للأوعية بتنشيط إنزيم oxidase xanthine وفي حالة ارتفاع حموضة الدم (acidose) خلال الأكسدة الذاتية للكاتيكولامينات (catecholamines) خلال الالتهاب بواسطة إنزيم NADPH oxidase و myeloperoxidase وخلال اضطراب استقلاب الكالسيوم^[1].

1.II. الليبيدات :

هي مركبات عضوية غير قطبية ذات ملمس دهني، حيث تضم عدة مركبات تختلف من حيث التركيب الكيميائي والوظيفة، وتشارك من حيث بأنها شحيحة الذوبان في الماء، ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل البنزين، والإيثر، والكلوروفورم وغيرها...، للليبيدات (الدهون) عدة وظائف نذكر منها:

- مخزنات طويلة الأمد للطاقة، وتعطي عند إحتراقها كمية من الطاقة أكبر من السكريات والأحماض الدهنية.
- وله وظيفة تركيبية في الخلية، حيث يدخل في تركيب الغشاء الخلوي، حيث تكون الطبقة المزدوجة التي تحافظ على سلامة الخلية والعضيات...
- لا يحتاج تخزين المادة الدهنية إلى الماء نظرا لطبيعتها الكارهة للماء، عكس ما يحدث في السكريات البروتينات.
- بعض المواد الدهنية عبارة فيتامينات، ومساعدات إنزيم.
- الليبيدات أو الدهون تضم في غالبيتها أسترات لأحماض دهنية بالإضافة إلى الستيرولات، إن أهم مكونات الليبيدات هي الأحماض الدهنية، والتي تحدد الكثير من خصائص المادة الدهنية.

2.II. الأحماض الدهنية :

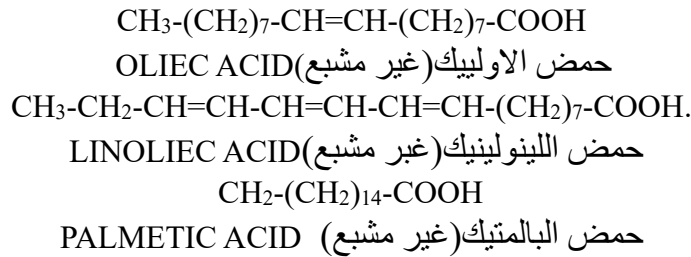
هي عبارة عن أحماض عضوية تحتوي من 4 الى 36 ذرة كربون، لكن المنتشرة منها تحتوي من 12 إلى 24 ذرة كربون، وخاصة تلك المحتوية على 16 و 18 ذرة كربون المستخدمة لصنع المركبات ثلاثية الجليسيرول . وهي تحتوي على مجموعة كربونيل واحدة في سلسلة غير متفرعة وهي نوعان:

(أ) - المشبعة: وهي التي لا تحوي روابط مزدوجة، صيغتها العامة $C_nH_{2n}O_2$

(ب) - غير المشبعة: وهي التي تحوي رابطة مزدوجة أو أكثر صيغتها العامة $C_nH_{2n-x}O_2$ ، حيث x يمثل عدد الروابط المزدوجة في الحمض الدهني.

في الوسط المتعادل تكون الأحماض الدهنية الحرة متأينة (متشردة) بنسبة عالية، وذلك لأن ثابت التأين لمجموعة الكاربوكسيل منخفض $pka=4.8$ ، وفي الحالة الطبيعية تكون الأحماض الدهنية مرتبطة بصورة أسترات كحولية أو أميدية ، مما يفقدها صفة التأين.

تختلف الأحماض الدهنية في خواصها الفيزيائية (قابلية الذوبان، نقطة الانصهار)، حيث يقل الذوبان وترتفع نقطة الانصهار بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية، بينما يقلل وجود الروابط المزدوجة من نقطة الانصهار. وتكون الأحماض الدهنية المشبعة في الحالة الصلبة عند درجة حرارة الغرفة ($25^{\circ}C$)، بينما تكون الأحماض غير المشبعة في صورة سائلة عند نفس الدرجة.



3.II. تقسيم الليبيدات :

تقسم الدهون إلى عدة أقسام حسب تركيبها الكيميائي، أو حسب درجة القطبية (الكراهة للماء)، ومن الناحية الوظيفية تقسم الدهون عادة إلى دهون خزنه وتركيبية (مكونة للأغشية).

4.II. الهيدروبيروكسيدات :

تتشكل الهيدروبيروكسيدات في الأنظمة التي تحوي الأحماض الدهنية غير المشبعة، حسب ثلاثة طرق مختلفة وذلك حسب طبيعة الوسط والعوامل المحفزة لتفاعل الأكسدة [2].

1.4.II. الأكسدة الآلية :

هي التفاعل اللحظي والآني للجذور الحرة مع المركبات العضوية غير المشبعة المحفزة من طرف درجة الحرارة والشوارد المعدنية والجذور الحرة [3].

2.4.II. الأكسدة الضوئية :

هو تفاعل أكسدة الليبيدات المحتوية على الأحماض الدهنية نتيجة تعرضها للضوء (خصوصا الأشعة فوق البنفسجية UV)، وفي وجود مستقبلات الضوء مثل (الكلوروفيل، مركبات الهيم) [4].

II.3.4. الأوكسدة الإنزيمية: تحدث في وجود إنزيم lipooxygenase [5]

أثناء عملية الأوكسدة الآلية تكون التفاعلات متعلقة فيما بينها، ونوع الفعل المحفز أثناء تعاقب التفاعلات التي تنقسم إلى ثلاثة (03) أطوار هم:

الطور الابتدائي Initiation

طور الانتشار Propagation

طور الانتهاء Termination

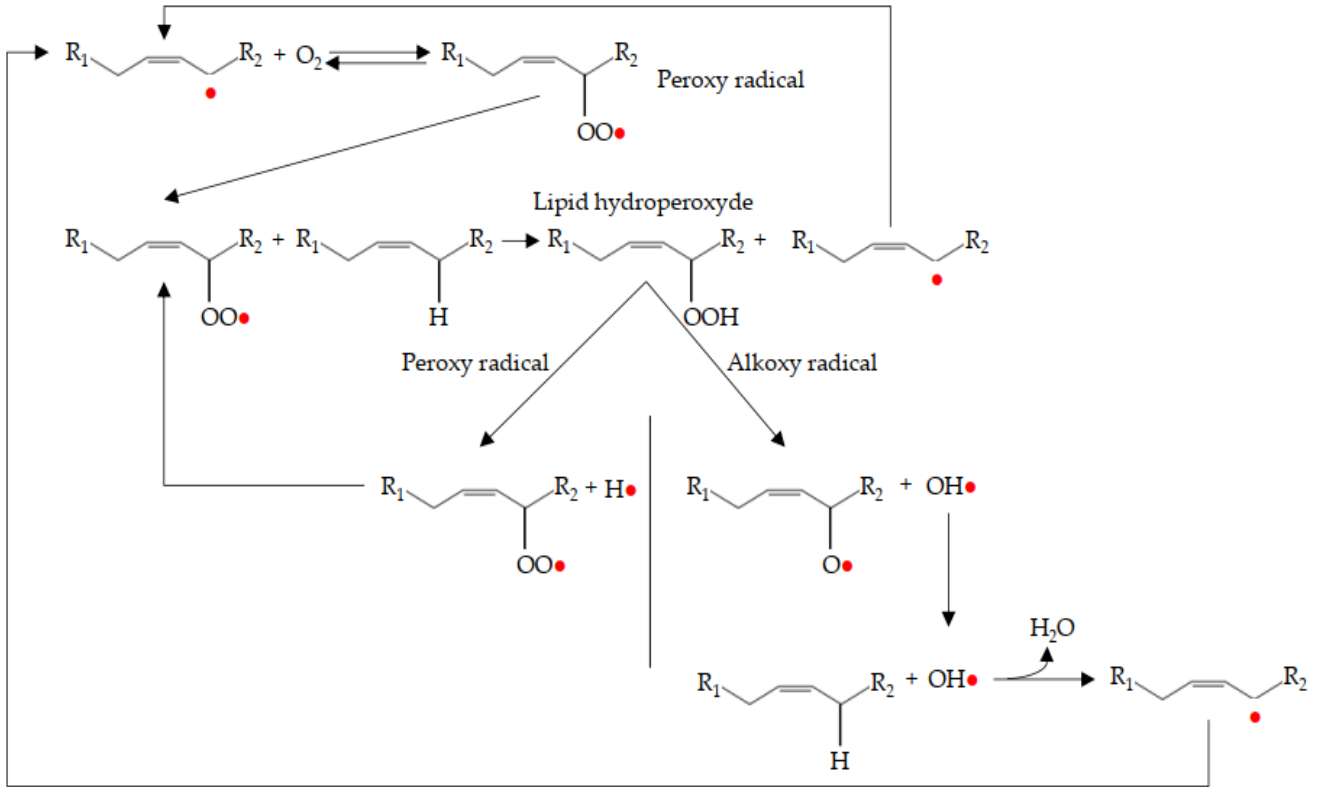
حيث نميز:

اختفاء متفاعلات الأوكسدة (الأوكسجين، الحمض الدهني).

ظهور مركبات أو نواتج أولية للأوكسدة (البيروكسيدات).

ظهور مركبات أو نواتج ثانوية ناتجة عن الاتحادات انطلاقا من البيروكسيدات.

الشكل II.1. يوضح تسلسل هذه المراحل .



الشكل II.1. تفاعل أكسدة الليبيدات

5.II. المركبات المضادة للتأكسد :

تعتبر تفاعلات الأكسدة الإرجاعية عملية مهمة جدا في الحياة اليومية ولجسمنا خصوصا أثناء عملية التنفس، حيث أن جزيء الأوكسجين له القابلية لاكتساب إلكترون وينتج كذلك طاقة على شكل ATP، للأسف هذه العملية لا تتم أو لا تعمل دائما بنفس الشكل والسبب في ذلك يعود إلى تشكل مركبات سامة ذات إلكترونات عزباء تعرف باسم الجذور الحر.

6.II. تعريف الجذور الحرة :

الجذر (غالبا ما يطلق عليه اسم الجذر الحر) عبارة عن ذرة أو مجموعة ذرات تحوي إلكترون أعزب أو أكثر. الجذور الحرة يمكن أن تكون ذرات أو جزيئات ذات شحنة موجبة أو سالبة أو عديمة الشحنة، وتعتبر كوسيط مهم في بعض التفاعلات البيوكيميائية، فهي تتمتع بنشاط كبير.

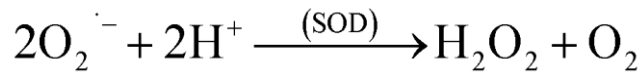
هنالك عدة أنواع من الجذور الحرة، ولكن أهم الجذور الحرة الموجودة في الأنظمة البيولوجية (بصفة عامة الكائن الحي) مصدرها الأوكسجين أو مشتقة من الأوكسجين، ومعروفة باسم المركبات الأوكسجينية النشطة ROS والتي نرمز اختصارا بالرمز : Substances Reactive Oxygen ، وذلك بسبب وجود زوج إلكترون في المدار الخارجي لجزيء الأوكسجين، مما يجعل له قابلية تشكيل الجذور الحرة، أي يحدث أنه يحدث تفاعل إرجاع للجزيئات.

7. II. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS) [6]

جذر سيبرالبيروكسيد O₂⁻ :

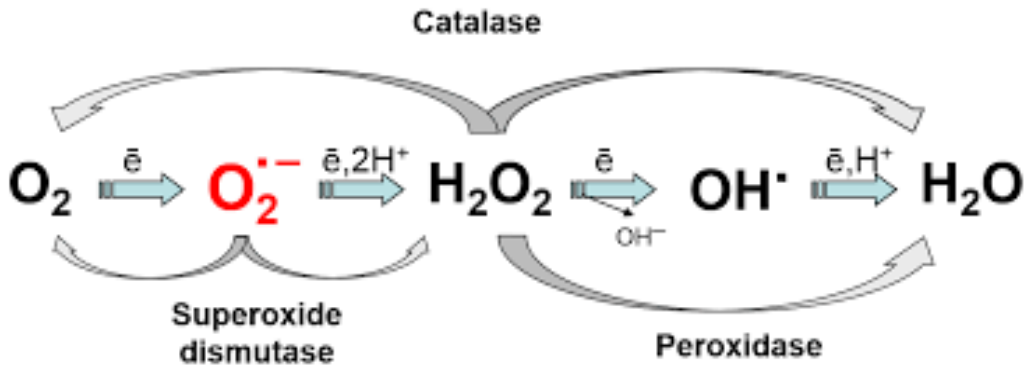
يعتبر جذر نشط وله عدوانية كبيرة، ويمكن أن يتفاعل في وسط حمضي لينتج وفي وجود محفز إنزيمي وهو

SOD وفق المعادلة التالية:

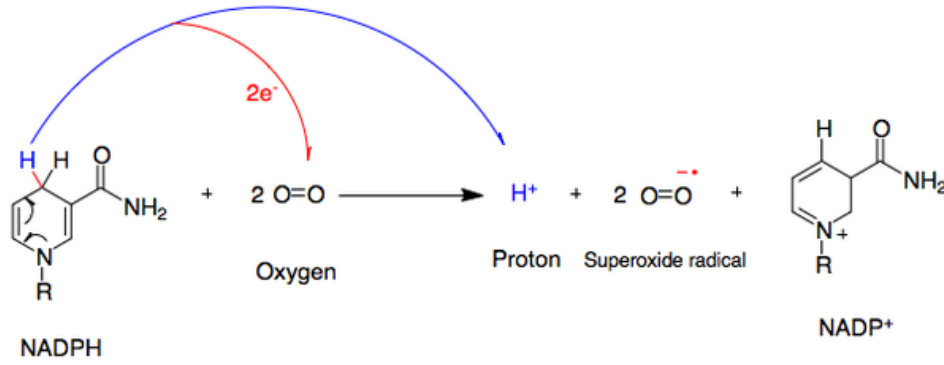


يمكن أن يتشكل الجذر السابق في وجود:

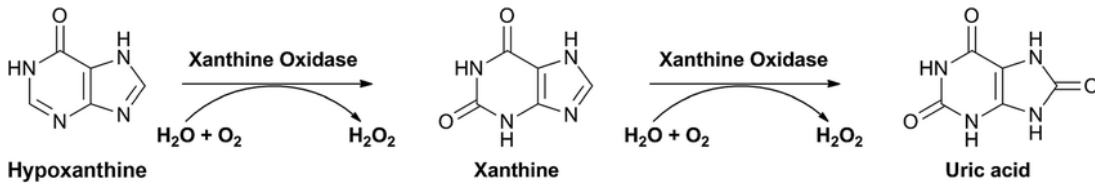
- الإنزيم سيتوكروم اوكسيداز الميتوكوندري:



- اوكسيداز:



-النظام الانزيمي: Xanthine / Xanthine oxydase



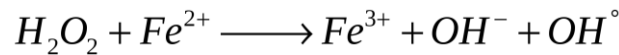
8.II. الماء الأوكسجيني: H₂O₂

يتشكل وفق المعادلة (1) هذا المركب الأوكسجيني النشط، محب للماء يمكن أن يتفاعل في وسط مائي ويعتبر سام جدا .

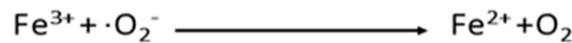
1.8.II. جذر الهيدروكسيل OH⁻ :

من أهم الجذور غير المستقرة والأكثر فعالية ونشاط بالمقارنة مع باقي المركبات الأوكسجينية النشطة. ROS يمكن أن يتشكل وفق الآليتين التاليتين:

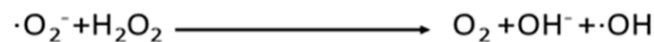
-تفاعل: Fenton



- تفاعل Haber-Wiessh وهو تفاعل بطيء.



Total Reaction net:



II.8.2. جذور البيروكسيل ROO· :

يمكن أن تكون جذور حرة، يمكن كذلك أن تتوزع داخل الأغشية البيولوجية، يتم الحصول عليها بتفاعل الجذور الحرة الكربونية R مع جزيء الأوكسجين .

II.8.3. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH :

عبارة عن متفاعلات تتفكك ثانية إلى جذور البيروكسيل أو إلى جذور الألكوسيل .

II.8.4. جذور الألكوسيل RO· :

نشط جدا يتم الحصول عليه من تفكك البيروكسيدات العضوية

عدة دراسات أثبتت أن ROS تؤكسد الليبيدات، البروتينات، الإنزيمات وال ADN تسبب عدة أمراض كالسرطان وأمراض القلب والشرابيين... [7,8].

تعتبر الأغذية المحتوية على الليبيدات حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة الآلية. هذا التفاعل اللحظي (الآني) لليبيدات أو الأحماض الدهنية مع الأوكسجين يؤدي تلاف المادة الغذائية من حيث اللون والرائحة والطعم، بسبب الأكسدة ويمكن للجذور الحرة أن تفقد المادة الغذائية من قيمتها الغذائية بالتفاعل مع الفيتامينات بالخصوص مع الفيتامين E [9]vit

II.9. مكافحة الجذور الحرة :

لمكافحة هذه الجذور المؤذية فان جسمنا يستعين ببعض المركبات الجزيئية المضادة للتأكسد لها القدرة للتفاعل مع الجذور الحرة، وبذلك تضع حدا لتفاعل الجذور بدون أن تتلف المادة الحية. حيث أن كل جزيء من مضادات التأكسد يمكن أن تتفاعل مع جذر واحد فقط، ولهذا يجب توفير كبر عدد من مصادر مضادات التأكسد [10]. يملك جسم الإنسان نظامين من مضادات التأكسد تسمح بتعديل إنتاج هذه الجذور والحد من أضراره.

II.9.1. نظام الدفاع داخل العضوية :

والذي يتشكل من الإنزيمات التي تتفاعل فيما بينها لتشكل نظام ضد التأكسد مثل غلوتاتيون أوكسيدياز Gluthathion oxidase، الكاتالاز Catalase و سيرواوكسيد ديسميثاز Superoxyde dismutase

II.9.2. نظام دفاع خارج العضوية :

يمكن الحصول عليه من الجزيئات الناتجة عن الأغذية الغنية بمضادات التأكسد مثل الفيتامينات C، E وكذلك الفيتامين A و BHT، BHA والبولىفينولات [11].

II.10. مضادات التأكسد :

مضادات التأكسد هي جزيئات لها القدرة على تثبيط على أكسدة الجزيئات وتعمل على تأخير مدة أكسدة الليبيدات، وتستعمل حاليا في بعض الأغذية منزوعة الماء أو التي يتواجد بها بكمية متوسطة من الماء [12].

II.1.10.1. استعمالات مضادات التأكسد :

هناك عدة مركبات عضوية جزيئية حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة، لهذا من الضروري إضافة بعض المركبات التي بها خاصية التثبيت السريع للأوكسجين الهوائي والتي تساهم هي الأخرى في حماية فعالة. مضادات التأكسد هذه أو مضادات الأكسجين إن صح التعبير، مستعملة بشكل كبير في الصناعة الغذائية نذكر على سبيل المثال لا الحصر التوكوفورولات، التي تتواجد في الطبيعة من خلال الزيوت والأجسام أو المواد الدهنية ذات الأصل الحيواني [13].

إذا فمضادات التأكسد تستعمل من أجل استباق عملية الأكسدة التي يحدثها بصفة عامة وجود الأوكسجين. يمكن القول إن الفعل المضاد للأوكسجين احتمال أن يحدث بطريقتين:

(أ)- بإزالة العوامل التي تساعد في عملية التأكسد من درجة حرارة و الأوكسجين وتركيز المحفزات (المعادن والإنزيمات (ووجود الضوء.

(ب)- إضافة محفز عكسي الذي يوقف التفاعل في مرحلة الانتشار، معناه إضافة مضاد للأوكسجين، يمكن أن يكون مركب طبيعي (الفا توكوفورول، حمض الأسكروبيك) أو مركب اصطناعي أشتق من الفينولات [14].

درست المركبات المضادة للتأكسد والتي يكون مصدرها اصطناعي من حيث سميتها عند الحيوان، من بين النتائج المتحصل عليها أن هذه المركبات لها تأثير على الرئة والمعدة والغدة الدرقية وتحدث مرض السرطان ولها كذلك نتيجة سلبية على صحة الإنسان [15]

ومن بين هذه المركبات الاصطناعية التي تستعمل كمضادات للتأكسد وكذلك كمضادات للبكتيريا بسبب فعاليتها الكبيرة نذكر منها BHA،TBH،BHT [16].

II.2.10.2. النباتات ومضادات التأكسد :

تتميز المركبات الفينولية بخصائص مضادة للتأكسد (مثل الفلافونويدات ومشتقات حمض السياميك..). التي يمكن أن تستخلص من النباتات والتي كانت محل عدة دراسات [17].

وجد كذلك أن النباتات بمختلف أنواعها يمكن أن تحوي كمية كبيرة من مضادات التأكسد مثل vit E و vit C والكارنتويدات ..، رغم أغلب المقالات العلمية ترجح أن السبب في الفعل المضاد للتأكسد سببه وجود المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات [17]، والأحماض الفينولية والفينولات ثنائية التربين [18]، فإن بعض الدراسات أثبتت أن النباتات التي لا تحوي المركبات الفينولية يمكن أن يكون لها أثر أو فعل مضاد للتأكسد .

فتوجد عدة دراسات أنجزت في السنوات الماضية لنشاط بعض النباتات الطبية المثبط للأكسدة التي تحدث في وجود الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل و وشرسبة سيبر اوكسيد والبيروكسيدات [19,18].

النشاط المضاد للتأكسد لعدة فواكه والشاي درست بشكل كبير في عدة مقالات علمية [20] وأشاروا فيها أن الفعل المضاد للتأكسد لهذه النباتات مصدره وجود فيتامينات مثل الفيتامين C، بيتا كاروتان أو الفلافونويدات، وحسب Abaga et al [21] فإن مزيج من عدة مضادات التأكسد التي هي من أصل طبيعي الموجودة في الفواكه والخضر يمكن أن يكون له فعالية أحسن من أن يستعمل مضاد واحد فقط للتأكسد، أو مزيج بسيط من حمض الاسكوربيك والفا توكوفيرول وبيتا كاروتان.

بعض الفواكه والخضر تحوي مجموعة من مضادات التأكسد ليس لها نشاط عالي فقط بل فهي تتميز بنوعية عالية جدا على سبيل المثال دراسة أنجزت من قبل Abaga et al سنة 1998 أثبت فيها أن مستخلص عصير العنب يمكن أن يملك حماية عالية لتأكسد الليبوبروتينات liporotiene [22]، من جهة أخرى متعددات الفينولات الموجودة في مستخلصات نداء البحر romarin هي السبب في نشاطها المضاد للتأكسد في زيت الزيتون وزيت tournesol، كذلك معروف أن زيت الرانتج لعباد الشمس يملك نشاط مضاد للتأكسد مرتفع بالمقارنة مع زيت الرانتج لندى البحر ولكن اقل نشاط من BHT و BHA [23].

كما نشر Yin Chen سنة 1998 أن استعمال النباتات التي تنتمي إلى عائلة alliaceae يمكن أن تعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في المواد الغذائية ممكنا جدا [24].

وأخيرا أثبتت النتائج المتحصل عليها من طرف Varder et al سنة 2003 أن الزيت الطيار للزعر Thymus pectinatus يمكن أن يعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في الأغذية [24].

II.3.10. مضادات التأكسد الطبيعية :

توجد عدة مضادات التأكسد ذات المصدر الطبيعي، نذكر منها :

(أ)- حمض الأسكوربيك أو الفيتامين C vit :

يملك عدة خصائص إلى جانب قدرته الكبيرة المضادة للتأكسد فهو مضاد للزكام، وله القدرة كذلك على تعديل الجذور الحرة وتكوين النيتروز أمين [25].

(ب)- التوكوفيرول او الفيتامين E vit :

يستعمل بكثرة في مواد التجميل لما له من خصائص مضادة للتأكسد على مستوى الأغشية (الجلد)، فهو مفخخ للجذور الحرة [26].

(ج)- بيتا كاروتان β -carotene :

الذي يملك تسعة روابط مضاعفة مترافقة فله إمكانية تحفيز الوظيفة المناعية للجسم، وذلك بتجميد عمل الجذور الحرة حيث يقوم بتعطيل عملية الأكسدة الضوئية [27].

11.II. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد:

أكسدة الليبيدات والنشاط المضاد للتأكسد يتعلق أو مرتبط بالوسط وتركيبه ومكوناته ودرجة الحرارة والمحفزات (الإنزيمات والمعادن مثل الحديد ..).

عدة طرق استعملت لتحديد حالة أكسدة غذاء [28] نذكر منها :

1.11.II. تحليل المركبات المتأكسدة

والتي تتم بـ :

- معايرة الأحماض الدهنية التي لم تتأكسد والمتبقية خصوصا بالكروماتوغرافيا الغازية.

2.11.II. تحليل البيروكسيدات

وذلك بـ :

حساب نسبة البيروكسيد بواسطة معامل البيروكسيد (IP) .

- تحديد الدينات المترافقة بواسطة المطيافية فوق البنفسجية UV.

- تحليل المركبات الثانوية المركبات الثانوية الناتجة عن عملية الأكسدة بالطرق التالية:

(أ) -معايرة المركبات الالديهيدية بواسطة اختيار حمض ثيو باربوتيريك TBA

(ب) -معايرة الأحماض المؤكسدة بقياس وفصل باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

(ج) -قياس المركبات الطيارة باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية.

من خلال ما سبق نستنتج أنه لا توجد طريقة معينة ومحددة لتقويم فعالية مضادات التأكسد، فلكل هدف طريقة خاصة به تميزه عن الأخرى، فتقويم حالة أكسدة المادة الغذائية، ينجز بعدة تقنيات تعتمد أساسا على الكروماتوغرافيا الغازية و المطيافية فوق البنفسجية [29]، والرنين النووي المغناطيسي والكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة HPLC.

وطريقة النشاط المضاد للتأكسد الكلية، أو القدرة على إلغاء أو حذف كل منابع الجذور الحرة، هذه الأخيرة يمكن أن تقاس بعدة طرق من بينها:

قياس القدرة الامتصاصية للجذور الحرة الأوكسجينية ORAC [30]

3.11.II. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد

كما ذكر سابقا فان المصادر الطبيعية لمضادات التأكسد جلبت اهتمام الباحثين، فتعددت الدراسات ومن ثمة تعدد الطرق المستعملة في الكشف عن النشاط المضاد للتأكسد، من بين هذه الطرق أو الاختبارات Test والخاصة ببعض المستخلصات النباتية والمركبات الطبيعية والاصطناعية نذكر:

- اختبار TBA assay [30]

- اختبار TBARS assay [31]

- اختبار TBARS المعدلة [32,31] TBARS assay Modified .

- نظام حمض اللينولييك [33] acid linoleic system

- نظام بتا كاروتان / حمض اللينولييك [34] β -carotene/linoleic acid system

- اختبار DPPH assay [35]

- طريقة الثيوسيانات thiocyanat method [36]

- طريقة الدينات المترافقة [31] conjugated diene method

- اختبار تغير لون بيتا كاروتان [37] β -carotene bleaching test

- تفخيخ الجذر الحر DPPH [35] scavenging effect on DPPH

- اختبار DPPH بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة DPPH assay by TLC [38]

12.II. إجهاد التأكسد: Oxidative stress

كما سبق ذكره الجذور الحرة لها أثر سلبي على الصحة، والتي مصدرها الأوكسجين، بسبب مصادرها الداخلية والخارجية التي تسبب سهولة ظهورها، من الأسباب الخارجية نذكر التلوث الدخان الناتج عن السجائر، الأوزون الأشعة فوق البنفسجية UV، من جهة أخرى المصادر الداخلية تأتي من الأغذية التي تحوي مركبات مؤذية كالبيستيسيدات pesticides، والمواد المطهرة detergent، والمياه الملوثة.... الخ.

تصبح هذه الوضعية أكثر تعقيدا عندما تصبح الأنظمة داخل endogene وخارج العضوية exogene لا تكفي لحماية الجسم أخطار تحدده بسبب المركبات الأوكسجينية النشطة ROS التي سبق التعرف عليها والأخطار التي يمكن أن تسببها، هذا الاختلال في التوازن يسبب إجهاد التأكسد [39].

يعرف إجهاد التأكسد كنتاج عدم التوازن بين نظام الدفاع ضد التأكسد antioxidant وأنظمة الإنتاج للمركبات المؤكسدة pro-oxidants، لصالح هذه الأخيرة كنتيجة لعدم التوازن هذا يمكن أن تسبب أضرار للخلية، ويمكن كذلك أن تسبب أضرار لل ADN، وتسبب طفرة لها علاقة بأمراض القلب، السكر [40].

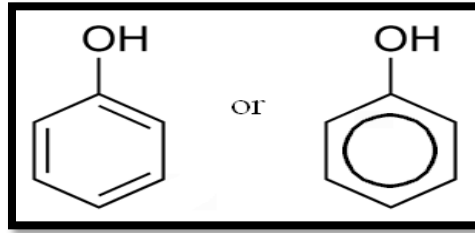
13.II. المركبات الفينولية :

13.II. 1. تعريف المركبات الفينولية :

وفقا لجرموني (2009)، تعتبر المركبات الفينولية أكثر المركبات إنتشاراً في المملكة النباتية، تملك المركبات الفينولية القدرة على الحماية من أشعة الشمس (الأشعة فوق البنفسجية) والأجسام الغريبة على النبات، حيث تتكون بنيتها الأساسية من أحماض فينولية بسيطة وتتميز بملقة عطرية أو أكثر من ذلك وترتبط بوظيفة هيدروكسيلية حرة أو أخرى مثل : الإثير أو الأستر.

غير أن هذا التعريف الكيميائي الصرفي للفينولات يعد غير كافياً لتحديد المركبات الفينولية النباتية، حيث يوجد مركبات منتجات أيضاً ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف لكنها تنتمي إلى مجموعات فيتو كيميائية مثل بعض القلويدات كالمورفين، وبعض التربينات كالتيمول^[41]، التي تضم في بنيتها حلقة عطرية ومجموعة هيدروكسيل فينولية، مما يتطلب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة وعلية يكون تعريف المركبات الفينولية الأدق على النحو التالي:

مشتق غير أزوتي يمكنه تكوين حلقة أو حلقات من أيض حمض الشيكيمييك (Acide shikimique)، أو متعدد الأسيتات (poly acetates).



الشكل II. 2.. الصيغة الكيميائية لمركب الفينول

13.II. 2. تصنيف المركبات الفينولية :

يوجد الكثير من المركبات الفينولية التي قسمت إلى مجموعات وتصنيفات متعددة، حيث تم تصنيفها من طرف العالم (dacosta) عام 2003 وفق بنيتها إلى مجموعات: ^[42].
الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، التانينات والصابونيات.

وهناك تصنيف اخر يقوم تقسيم المركبات الفينولية حسب إنتشارها ومدى تعقيدها الذي قام به العالمان (simmonds, harbome) عام 1964 حيث الفينولات البسيطة وهي فينولات قليلة الانتشار، أحماض فينولية، الفلافونيدات ن الكومارينات وهي قليلة الانتشار واخرى مركبات فينولية على شكل بوليمرات. ^[43].
الجدول التالي يبين ذلك:

يضم قسم المركبات الفينولية حوالي 8000 مركب مقسمة إلى عدة أصناف، بعض منها مدون في الجدول:

الجدوال II. 1. أصناف المركبات الفينولية وبعض مصادرها من النبات

المصدر	أمثلة	الصف	الهيكل الأساسي
في عديد الأنواع	Catéchol	الفينولات البسيطة	C ₆
الفراولة	p-hydrxobenzioque	أحماض البنزويك	C ₆ -C ₁
البطاطا، التفاح	Acide caféique Acide férulique Scopolétine	أحماض السيتاميك	C ₆ -C ₃
الليمون		الكومارينات	
الجزر	Juglone	النافتوكينون	C ₆ -C ₄
الكروم	Resvératrol	الستلبيبات	C ₆ -C ₂ -C ₆
الفواكه الحمراء الخضر، التفاح، العنب السوجا	Catéchine Naringénine Daidéine	الفلافونيدات الأيزوفلافونيدات	C ₆ -C ₃ -C ₆
أنواع الفواكه		اللقتين	(C ₆ -C ₃) _n

في ما يلي سنأخذ المركبات الفينولية الأساسية :

II. 13. 1.2 عائلة المركبات الفينولية واسعة الانتشار :

الأحماض الفينولية:

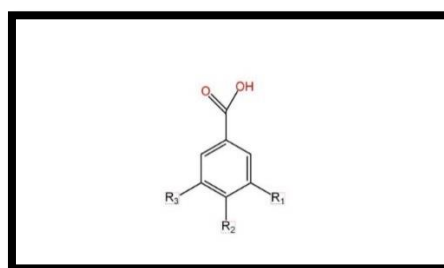
➤ الأحماض الفينولية هي مركبات واسعة الانتشار وتملك هذه المركبات وظيفة كربوكسيلية واحدة على الأقل

(COOH) وتشتق من حمضين أساسيين وهما: حمض البنزويك (acide benzoique) أو حمض السيناميك

(Acide cinnamique) [44].

➤ الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:

تملك البنية التالية (C₆-C₁) وتكون حرة أو غير حرة أو مثل حالة السكريات أو الأستر.

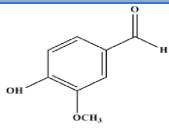
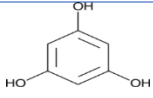
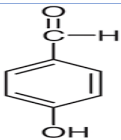


. الشكل II. 3. الهيكل الأساسي الأحماض الفينولية مشتقة من الحمض البنزويك

13.II. 2.2. عائلات المركبات الفينولية قليلة الانتشار:

الأحماض الفينولية تملك بنية بسيطة قليلة الانتشار في الطبيعة، في غالب تكون مكونات الزيوت الطيارة ونلخص في مايلي المركبات الفينولية قليلة الانتشار من الهيكل (C6 -C1),(C6 -C2) ، في الغالب عبارة عن كحولات والدهيد وكيثونات ونماذج على ذلك في الجدول التالي :

الجدوال II. 2. نماذج المركبات الفينولية من الهيكل (C6 -C1),(C6 -C2)

الصيغة	الإسم
	4-Hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde
	Bezene-1.3.5-triol
	4-hydroxybenzaldehyde

13.II. 3. خصائص المركبات الفينولية :

الفيزيائية والكيميائية :

- الفينولات تنحل أساساً في المذيبات العضوية القطبية، وايضاً في المحاليل هيدروكسيد الصوديوم والكربونات الصوديوم.
- الأحماض الفينولية تذوب في المحاليل القطبية العضوية وفي الأوساط الحمضية المخففة.
- الفينولات لديها قابلية لتأكسد بسهولة خاصة في المحاليل القلوية وغير أن الأحماض السيناميك تعطي تركيبات تظهر تحت تأثير الإشعاعات فوق البنفسجية.
- الأحماض الفينولية تنحل وتذوب بواسطة كربونات الهيدروجين.

البيولوجية والعلاجية لأحماض الفينولية:

- أظهرت الدراسات أن الأحماض فينولية خصائص بيولوجية مهمة جداً حيث تعتبر هي ومشتقاتها من المركبات النشطة ويتمل بعض هذا النشاط حافظة للحرارة ، مضادات الالتهاب، مطهرة للمجري البولية.
- تملك الأحماض الفينولية مواد فعالة لعلاج الكثير من الأمراض الخطيرة مثل مضادات الالتهاب ،سلطانات، الفيروسات ، للأكسدة ،مكافحة للحساسية، مكافحة للجراثيم.
- نذكر بعض الأحماض التي لها فعالية علاجية عالية (Acide Gallique , Acide Caféique) وهما مركبان تتميز بنشاطها العالي ضد البكتيريا والفطريات، الفيروسات وتعتبر مضادات الأكسدة قوية

➤ حمض الفيرليك وحمض الغاليك تأثيرهما عالي اتجاه سلطان الرئة الذي أثبت فاعليته على فئران التجارب.

الكيميائية للأحماض الفينولية:

➤ الأحماض الفينولية تنحل بواسطة كربونات الهيدروجين.

➤ ستخلص الأحماض الفينولية بمذيبات عضوية في الوسط حمضي مخفف ، كل الصيغ المستبدلة للمركبات الفينولية تذوب في الماء وتعد غير ثابتة.

➤ كل الفينولات قابلة للتأكسد بسهولة ، حيث أن أحماض سيناميك تعطي تراكيب تظهر تحت الأشعة فوق البنفسجية.

14.II. المركبات الفلافونويدات :

14.II.1. تعريف :

تعتبر مركبات طبيعية ناتجة من عملية الايض الثانوي وتكون على شكل صبغات متواجدة في جميع أجزاء النبات (الأوراق، أزهار، الجذور) وغيرها .

تم اشتقاق إسمها من (flavus) وتعني باللاتينية اللون أصفر ويمثل مصطلح عام لكثير من المركبات الفينولية التي اكتشفها العالم (Albert ,szent-gyorgyi) لأول مرة الذي صنفاها بأنها فيتامين P .

تتواجد الفلافونويدات بشكل ممرکز في القسم الهوائي لنبات، و في داخل الخلية على شكل غليكوسيدات حويصلية قابلة لذوبان في المذيبات العضوية أما الفلافونويدات قابلة لذوبان في المذيبات الغير القطبية تكون متواجدة في سيتوبلازما الخلية، وهي أحد أهم الأقسام المركبات الفينولية [45].

تتوضع الفلافونويدات على الأنسجة السطحية للأوراق عندما تكون في صورتها أجليكونات (aglycones) لنبات التي تنمو في المناطق المعتدلة، في حالة نباتات التي تنمو في مناطق الحارة وجافة فتكون ملازمة لمواد مفرزة هي الأخرى ليوفيلية. تحتوى الفلافونويدات على 15 ذرة كربون في هيكلها الرئيسي الموزعة في الهيكل (C₆-C₃-C₆) حيث تتصل بحلقة (A) بالحلقة (B) وهما حلقتين متجانستين بحلقة (C) غير متجانسة وتحتوى على ذرة أكسجين .



. الشكل II. 4. البنية الأساسية للفلافونويدات

II.14.2. أهمية الفلافونيدات :

➤ دور البيولوجي والعلاجي:

يمكن تلخيص بعض الفاعليات البيولوجية الهامة في مايلي [46]:

- من خلال الدراسات أظهرت لها تأثير كبير على خلايا السرطانية وحيث الفولافونات والفلافونولات الميتوكسيلية تأثيرات قوية على الخلايا السلطان البلغوم الأنفي والأورام لويس.
- تعتبر الفلافونويدات مضادات تشنج اذا يعتبر (Quercétine ,Kaenférole luteoline) وبعض مشتقاتها مؤثرة على العضلات الملساء .
- الفلافونيدات لها تأثير مضاد للإلتهاب وذلك أن بعض الأمراض المتميزة بزيادة النفاذية أو بضعف الشعيرات يمكن أن تعالج بمستخلصات اليمون الغنية بالفلافونيدات.
- _ تعتبر كأدوية للعجز الوريدي، إذا تعتبر منشطات للأوردة، وفي نفس الوقت تقلل نفاذية الأوعية الدموية، فتأثيرها على جدار الأوعية وكذا خواصها المضادة للإلتهاب وهي أصل استعمالها في التطبيب كحاميات أوعية أو مقومات وريدية.
- تقوم بمعالجة تورم الساقين نتيجة الاحتباس الماء في الجسم.
- تحمي من ارتفاع ضغط الدم.
- تقوم بحماية الأوعية الدموية والكبد.
- تمنع التجلط القلب وذلك بتثبيت الظواهر المسبب لذلك وتقليل انسداد العضلة القلب.
- دورها الفيسيولوجي:

- تملك الفينول تركيبة متعددة تمنحها دوراً هاماً في سلاسل الأكسدة الإرجاعية وبعضها ضد المؤكسدات وإذ يظهر مفعولها في الترابط المعقد للمعادن الداخلية في عمليات الأكسدة [47].
- المركبات الفلافونيدية تحتوي على مجموعات كثيرة من مركبات الفينولية التي لها القدرة تثبيت على بعض البروتينات والإنزيمات وبعد ذلك تقوم بتغيير التوازنات الإنزيمية، لها تدخلات في مراحل أخرى مختلفة للتطور وخاصة عند التلقيح.

➤ دورها في التغذية:

- تملك مركبات الفلافونويدات دوراً أساساً في النظام الغذائي وحيث أظهرت الدراسات أن البشر يجب أن يستهلكوا من (50 إلى 800مغ) يومياً وذلك بالاستهلاك كميات كبيرة من الفواكه والخضروات الورقية والمشروبات مثل الشاي، عصير الحوامض مثل الليمون، البرتقال [48]..

➤ دورها في النبات:

- تقوم بجذب الطيور والحشرات المساعدة لها في عملية التلقيح.
- تقوم على حماية النبات من الجراثيم المؤذية لها.
- تحمي النبات من الأشعة الشمس الحارقة وحيث تتراوح طول الموجي للأشعة البنفسجية (280-315mm).

14.II. 3. تصنيف الفلافونيدات :

تنقسم إلى عدة أنواع ذلك بتميزها بعدد من المستبدلات المختلفة طبيعتها و موضعها وتوضح في الجدول التالي:

. الجدول 3.II يوضح تصنيف الفلافونيدات

التصنيفات	الصيغ الكيميائية	'3	'4	'5	الأمثلة
Flavones		OH	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines.		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflqvenes		R5	R7	R4	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-GLU	OH	Daidzeine

II.14.4. الخواص الفيزيوكيميائية للفلافونويدات :

- الفلافونويدات هي مركبات فينولية اذا تملك الصيغة الحامضية ضعيفة فهي تذوب في المحاليل القاعدية بشكل قوي مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH .
- تتصف الفلافونويدات التي تتصل بعدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة بالصفة قطبية وعليه فإن ذوابنيتها في المذيبات القطبية مثال على ذلك الإيثانول والماء، سيلفوكسيد الأستون، في وجود السكريات تكون ذوابنيتها في الماء أفضل [49].
- الفلافونويدات الأقل قطبية تذوب في الإيثروالكلوروفورم مثال على ذلك: إيزوفلافونات، الفلافونات التي ترتبط بيها عدد كبير من مجموعات الميثوكسيل .

II.14.5. خصائص البيولوجية والعلاجية للفلافونويدات :

إضافة إلى دورها المعروف في إعطاء لون ورائحة للنبات تعمل هذه المركبات على مراقبة نمو وتطور النبات من خلال التداخل بطريقة معقدة مع هرمونات النمو النباتية ودورها الأساسي في حمايته من البكتيريا والفطريات [49].

تحتوي على العديد من الأدوية التي استخدمت قديماً والنباتات الطبية على الفلافونويدات كمركبات فعالة بيولوجياً، غالباً ما توصف الفلافونويدات النشطة حيويًا ببيوفلافونويدات لقدرتها الكبيرة من الناحية الدوائية فمثلاً هي:

- ✓ مضادات للفيروسات وللسرطان والالتهاب ومضادة للهيستامين.
- ✓ تمنع النزيف وتورم الساقين نتيجة الاحتجاز الماء بالجسم.
- ✓ تحمي من ارتفاع ضغط الدم.
- ✓ تحمي الكبد والأوعية الدموية.
- ✓ تنشط الأوعية والأوردة وتجعلها قوية ضد الأمراض القلبية الوعائية.
- ✓ تقلل من الإصابة خطر انسداد عضلة القلب وتثبيط ظواهر التجلط.

قائمة مراجع الفصل الثاني

1. Gramza, A.; Korczak, J.; Amarowicz, R., Tea polyphenols-their antioxidant properties and biological activity-a review. *Polish Journal of food and nutrition sciences* **2005**, 14, (3), 219.
2. Sinaga, M. S.; Tambun, R.; Rahmadani, D.; Mardhiyani, F. D. In *The effect of amount of hydrogen peroxide on utilization of unsaturated fatty acids from avocado seeds waste into sourcing of raw materials in the making of epoxy compounds*, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2021; IOP Publishing: p.012112
3. Porter, N. A.; Caldwell, S. E.; Mills, K. A., Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* **1995**, 30, (4), 277-290.
4. Josephy, P. D.; Eling, T.; Mason, R. P., The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3, 5, 3', 5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates. *Journal of Biological Chemistry* **1982**, 257, (7), 3669-3675.
5. Leshem, Y.; Wurzbarger, J.; Grossman, S.; Frimer, A., Cytokinin interaction with free radical metabolism and senescence: Effects on endogenous lipoxygenase and purine oxidation. *Physiologia plantarum* **1981**, 53, (1), 9-12.
6. Liu, H.-N.; Pei, M.-S.; Wei, T.-L.; Yu, Y.-H.; Guo, D.-L., Molecular cloning and expression analysis of hydrogen peroxide sensors under H₂O₂ and ROS inhibitor treatment in 'Kyoho' grape berry. *Postharvest Biology and Technology* **2021**, 180, 111617.
7. Liochev, S. I., Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine* **2013**, 60, 1-4.
8. Wu, D.; Cederbaum, A. I., Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol research & health* **2003**, 27, (4), 277.
9. Savard, C., Le stress oxydatif est-il responsable de la toxicité des mycotoxines sur le système reproducteur mâle?
10. Goddio, A., Oxygen derived free radicals in plastic surgery—therapeutic interest of fighting free radicals: the superoxide dismutases. *European Journal of Plastic Surgery* **1989**, 12, (3), 111-116.
11. Farouk, S.; Al-Amri, S. M., Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2019**, 180, 333-347.

- 12 . Razzaghi-Asl, N.; Garrido, J.; Khazraei ,H.; Borges, F.; Firuzi, O., Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry* **2013**, 20, (36), 4436-4450.
- 13 . Suzuki, K., Anti-oxidants for therapeutic use: why are only a few drugs in clinical use? *Advanced Drug Delivery Reviews* **2009**, 61, (4), 287-289.
- 14 . Bin, Z.; Feng, L.; Yan, Y., Biomimetic metalloporphyrin oxidase modified carbon nanotubes for highly sensitive and stable quantification of anti-oxidants tert-butylhydroquinone in plant oil. *Food Chemistry* **2022**, 132898.
- 15 . Lee, T.-J.; Kim, S.; Cho, H.-J.; Lee, J.-H., The incidence of thyroid cancer is affected by the characteristics of a healthcare system. *Journal of Korean medical science* **2012**, 27, (12), 1491-1498.
- 16 . Ito, N ;Fukushima, S.; Tsuda, H., Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *CRC Critical reviews in Toxicology* **1985**, 15, (2), 109-150.
- 17 . Li, H.-B.; Wong, C.-C.; Cheng, K.-W.; Chen, F., Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology* **2008**, 41, (3), 385-390.
- 18 . Ch, S.; Dave, R., In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research* **2009**, 3, (13), 981-996.
- 19 . Tiwari, O. P.; Tripathi, Y. B., Antioxidant properties of different fractions of Vitex negundo Linn. *Food Chemistry* **2007**, 100, (3), 1170-1176.
- 20 . Pękal ,A.; Drózdź, P.; Biesaga, M.; Pyrzynska, K., Evaluation of the antioxidant properties of fruit and flavoured black teas. *European journal of nutrition* **2011**, 50, (8), 681-688.
- 21 . Abaga, A.-G. E. Valorisation non alimentaire des huiles de friture usagées en tant que biolubrifiants. Université de Lorraine, 2013.
- 22 . Abaga, J. O. The Steroid Hormone Corticosterone Decreases Paraquat Toxicity in Swiss-Webster Mice. Mankato State University, 1998.
- 23 . Kahl, R.; Kappus, H., Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung und-forschung* **1993**, 196, (4), 329-338.
- 24 . Chen, Y.; Le Cahérec, F.; Chuck, S. L., Calnexin and other factors that alter translocation affect the rapid binding of ubiquitin to apoB in the Sec61 complex. *Journal of Biological Chemistry* **1998**, 273, (19), 11887-11894.

- 25 . Ahmed, E. A.; Omar, H. M.; Ragb, S. M.; Nasser, A. Y., The antioxidant activity of vitamin C, DPPD and L-cysteine against cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* **2011**, 49, (5), 1115-1121.
- 26 . Mosca, A.; Crudele, A.; Smeriglio, A.; Braghini, M. R.; Panera, N.; Comparcola, D.; Alterio, A.; Sartorelli, M. R.; Tozzi, G.; Raponi, M., Antioxidant activity of Hydroxytyrosol and Vitamin E reduces systemic inflammation in children with paediatric NAFLD. *Digestive and Liver Disease* **2021**, 53, (9), 1154-1158.
- 27 . Terao, J., Antioxidant activity of β -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids* **1**, 989-661-659 ,(7) ,24
- 28 . Kristinova, V.; Mozuraityte, R.; Storrø, I.; Rustad, T., Antioxidant activity of phenolic acids in lipid oxidation catalyzed by different prooxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, 57, (21), 10377-10385.
- 29 . Jayaprakasha, G. K.; Singh, R.; Sakariah, K., Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry* **2001**, 73, (3), 285-290.
- 30 . Dávalos, A.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B., Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC– fluorescein) assay. *Journal of agricultural and food chemistry* **2004**, 52, (1), 48-54.
- 31 . Antolovich, M.; Prenzler, P. D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K., Methods for testing antioxidant activity .*Analyst* **2002**, 127, (1), 183-198.
- 32 . Ghani, M. A.; Barril, C.; Bedgood Jr, D. R.; Prenzler, P. D., Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food chemistry* **2017**, 230, 195-207.
- 33 . Sakanaka, S.; Tachibana ,Y.; Ishihara, N.; Juneja, L. R., Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food chemistry* **2004**, 86, (1), 99-103.
- 34 . Osman, H.; Rahim, A. A.; Isa, N. M.; Bakhir, N. M., Antioxidant activity and phenolic content of *Paederia foetida* and *Syzygium aqueum*. *Molecules* **2009**, 14, (3), 970-978.
- 35 . Chen, Z.; Bertin, R.; Frolidi, G., EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry* **2013**, 138, (1), 414-420.
- 36 . Chapman, R.; Mackay, K., The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **1949**, 26, (7), 360-363.
- 37 . Dawidowicz, A. L.; Olszowy, M., Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β -carotene bleaching assay:

- experiments with BHT used as standard antioxidant. *European Food Research and Technology* **2010**, 231, (6), 835-840.
- 38 . Cieśla, Ł.; Kryszewski, J.; Stochmal, A.; Oleszek, W.; Waksmundzka-Hajnos, M., Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2012**, 70, 126-135.
- 39 . Sies, H.; Berndt, C.; Jones, D. P., Oxidative stress. *Annual review of biochemistry* **2017**, 86, 715-748.
- 40 . Davies, K. J., Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB life* **2000**, 50, (4-5), 279-289.
41. Manthey, J. A., Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation* **2000**, 7, (sup1), S29-S34.
42. Jucá, M. M.; Cysne Filho, F. M. S.; de Almeida, J. C.; Mesquita, D. d. S.; Barriga, J. R. d. M.; Dias, K. C. F.; Barbosa, T. M.; Vasconcelos, L. C.; Leal, L. K. A. M.; Ribeiro, J. E., Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural product research* **2020**, 34, (5), 692-705.
43. Denisow, B.; Denisow-Pietrzyk, M., Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2016**, 96, (13), 4303-4309.
44. Cushnie, T. T.; Lamb, A. J., Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents* **2011**, 38, (2), 99-107.
45. Manthey, J. A.; Guthrie, N.; Grohmann, K., Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current medicinal chemistry* **2001**, 8, (2), 135-153.
46. Patel, D. K., Biological importance, therapeutic benefit and analytical aspects of bioactive flavonoid pectolinarin in the nature. *Drug Metabolism Letters* **2021**, 14, (2), 117-125.
47. Małecka, M.; Skoczyńska, A.; Goodman, D. M.; Hartinger, C. G.; Budzisz, E., Biological properties of ruthenium (II)/(III) complexes with flavonoids as ligands. *Coordination Chemistry Reviews* **2021**, 436, 213849.
48. Carvalho, M. T.; Araújo-Filho, H. G.; Barreto, A. S.; Quintans-Júnior, L. J.; Quintans, J. S.; Barreto, R. S., Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action. *Phytomedicine* **2021**, 90, 153636.
49. Kinoshita, T.; Lepp, Z.; Kawai, Y.; Terao, J.; Chuman, H., An integrated database of flavonoids. *Biofactors* **2006**, 26, (3), 179-188.

الفصل الثالث

الفعالية البيولوجية والمضادة للميكروبات

III. الفعالية البيولوجية ومضادات الميكروبات

تمهيد

إن الأحياء الدقيقة مثل البكتيريا، الفطريات، الفيروسات، الممرضة تعتبر من أهم الأسباب المؤدية إلى الإصابة بالميكروبات، فهي في كل مكان حولنا، كما تعيش في الأغذية وداخل وخارج أجسامنا وفي أي نظام بيئي، حيث تعتبر الكائنات الدقيقة أكثر عدداً من الكائنات الحية إذا ما قورنت بالكائنات الأخرى، وتمثل البكتيريا أبسط أنواع الكائنات الخلية والتي تضم مجموعة من المجهرات الواسعة الانتشار في الكرة الأرضية [1].

أول من اكتشف البكتيريا هو العالم الكيميائي الفرنسي لويس باستون (Louis Pasteur) وفي عام 1859، فقد اكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجارب على التخمر، إكتشف أيضاً طعومها، أما العالم الألماني روبرت كوخ (Robert Koch) فقد عمل على اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وهو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا، حيث أرتبط إسم البكتيريا مع الأمراض المسببة لها، إلا أن العلوم الحديثة أثبتت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في الصناعات الغذائية و الدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية [2].

III.1. الفعالية البيولوجية:

الفعالية البيولوجية هي القدرة على القيام بتأثيرات على الكائنات الحية، سواء كان ذلك في النظام الحيوي بشكل كلي أو على مستوى خلايا أو أنسجة محددة. وتمثل هذه التأثيرات في العديد من الأنشطة الحيوية، مثل التأثير على الأنزيمات، والبروتينات، والحمض النووي، والخلايا [3].

تعد الفعالية البيولوجية مهمة في العديد من المجالات، مثل الصناعة الدوائية والزراعة وعلوم الحياة بشكل عام. فمن خلال دراسة الفعالية البيولوجية للمركبات الكيميائية والعناصر الحيوية، يمكن للعلماء تحديد قدرتها على التأثير على الكائنات الحية واستخدام هذه المعلومات في تطوير الأدوية والمبيدات والأسمدة والمواد الغذائية [4]. ويتم تقييم الفعالية البيولوجية عن طريق العديد من الاختبارات المختلفة، مثل اختبار السمية واختبار النشاط الحيوي، ويتم تحليل النتائج باستخدام تقنيات مختلفة مثل الكروماتوغرافيا، والطيفية، والمجهرية، والجزيئية [5].

III.2. مضادات الميكروبات:

تعتبر مضادات الميكروبات مجموعة من الأدوية التي تستخدم للتحكم في نمو وانتشار الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا، والفيروسات، والفطريات، والطفيليات. تختلف مضادات الميكروبات بشكل كبير في آلية عملها ونطاق فعاليتها، ويتم استخدامها بشكل رئيسي في الوقاية والعلاج من العدوى والأمراض المعدية.

تنقسم مضادات الميكروبات إلى فئات عدة، بما في ذلك:

1 - المضادات الحيوية: وهي مجموعة من الأدوية التي تستخدم للتحكم في النمو وانتشار البكتيريا. وتتضمن هذه المجموعة البنسلين والسيفالوسبورينات والتتراسيكلينات والماكروليدات والأمينوغليكوزيدات وغيرها [6].

- 2- **المضادات الفيروسية:** وهي المواد التي تستخدم لمنع نمو وانتشار الفيروسات، وتشمل مضادات الفيروسات التي تستخدم لعلاج الأمراض الفيروسية مثل الإيدز والإنفلونزا والمهريس.
- 3- **المضادات الفطرية:** وهي المواد التي تستخدم للتحكم في نمو الفطريات، وتشمل مضادات الفطريات التي تستخدم لعلاج الأمراض الفطرية مثل العدوى الفطرية في الجلد والأظافر والأعضاء الداخلية.
- 4- **المضادات الطفيلية:** وهي المواد التي تستخدم للتحكم في نمو وانتشار الطفيليات، وتشمل مضادات الطفيليات التي تستخدم لعلاج الأمراض الطفيلية مثل الملاريا والأميبا الحرشفية.
- 5- **المضادات الحيوية الاصطناعية:** وهي مجموعة من المواد الكيميائية التي تم تطويرها في المختبر وتستخدم للتحكم في نمو وانتشار.

. المضادات الحيوية:

1.2. تعريف المضادات الحيوية :

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin سنة 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن نحتها لكائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيمولين لهذه الظاهرة كثيراً عن تعريف الحالي والذي ذكره Wacksma سنة 1945 في أن هذه الظاهرة ترجع إلى أفراد مواد كيميائية ذات تأثير ضار بالميكروبات [7].

2.2. أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية حسب وظيفتها إلى قسمين:

- مضادات الحيوية كاجحة لنشاط الخلية البكتيرية :

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

- مضادات الحيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

عن طريق التأثير على جدار خليةها ، أو بالتسبب في إنتفاخ خليةها وانفجارها ، او عن طريق منع تكوين مادة البروتين داخل خليةها مثل Penicin, Gentamicin , Ampicillin .

3.2. تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروبات، وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب

(Cell Wall) أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell)، أو يعمل على مستوى الخلية للإيقاف تصنيع البروتين

(Synthesis) Protein) في ما يلي نذكر أنواع التأثيرات المختلفة لمضادات الحيوية على البكتيريا :

1. العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا :

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط (Transpeptidase) هذا ما يمنع من تركيب (Peptidoglycane) ، وهذا يوقف نموها وعملها ويمكن أن يشمل تدميرها.

2. العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا :

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي، ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا، وهذا ما يسمح بتدميرها.

3. العمل على تثبيط نمو : ADN

أن اضطراب عمل ال ADN يمنع الخلية من الأقسام وتكوينها للإنزيمات الخاصة بذلك، ومن بين أسباب هذا الاضطراب المضادات الحيوية.

4. مضادات تعمل على تخريب بنية الغشاء السيتوبلازمي :

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة (Apidoprotine) لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد السيتوبلازم الكروموزومي.

III.3. البكتيريا:**III.3.1. تعريف البكتيريا:**

هي عبارة عن كائنات دقيقة الحجم لا ترى إلا بالمجهر أحادي الخلية بدائية النواة (Prucaryote)، تكون إما كروية أو عضوية أو حلزونية حيث يتراوح طولها بين الميكرومتر والواحد إلى بعضة أعشار الميكرومتر، حيث أنها تستطيع العيش لمدة طويلة و تتحمل جميع الأحوال غير المناسبة من ارتفاع درجة الحرارة إلى انخفاضها وغيرها من الظروف القاسية [8].

III.3.2. التركيب الخلوي للبكتيريا:

تتكون الخلايا البكتيرية النموذجية من مكونات خلوية بعضها أساسي موجود في جميع أنواع البكتيريا والبعض الآخر يقتصر وجوده على أنواع معينة، تضم المكونات الأساسية كل من الجدار الخلوي، والغشاء البلازمي، والسيتوبلازم النواة، وما يحتويه من مادة وراثية وريبوسومات، أما المكونات غير أساسية فتشمل الأسواط والعلبة أو الكبسولة، والأهداب، والجراثيم الداخلية [9].

III.3.3. المكونات الأساسية للخلية البكتيرية :**➤ الجدار الخلوي Paroi Cellulaire:**

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

➤ الغشاء البلازمي Plasma membrane:

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

➤ السيتوبلازم Cytoplasm:

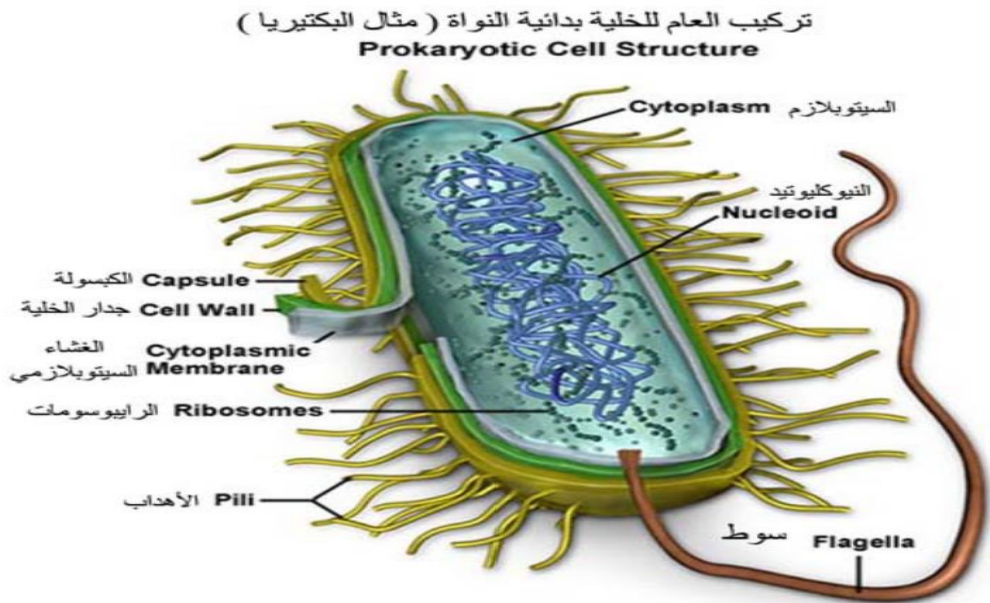
سيتوبلازم الخلايا البكتيرية له تركيب بسيط حيث تحتوي على الريبوزومات (Ribosomes) والمادة الوراثية البكتيرية (Bacterial genome) ، والسيتوبلازم عبارة عن سائل غروي يتكون من الماء بنسبة 75 إلى 85 %، وبروتينات، والدهون، كربوهيدرات ، مركبات غير عضوية .

كما تتكون السيتوبلازم من ثلاثة أجزاء وهي:

- المنطقة الحبيبية Granular region .
- منطقة الصبغة Pigmented region .
- المنطقة السيتوبلازم السائلة Fluid cytoplasmic region .

➤ نواه بدائية Nucleoide :

هي المادة التي تحمل الوراثة لتوادها في المنطقة النووية في السيتوبلازم في البدائيات النواة غير محاطة بغشاء نووي، وهي عبارة عن جزئ طويل مفرد من ال ADN في صورة حلقة يرتبط ارتباط غير محكم ببعض البروتينات مكونة ما يسمى بالكروموسوم حيث تحتوي الخلية البكتيرية على كروموسوم واحد [10].



الشكل III. 1. بنية الخلية لبكتيرية..

III.4.3. تصنيف أنواع البكتيريا:

الهدف الأساسي من تصنيف هو التعرف على الأنواع المختلفة للبكتيريا وتشخيصها، لذلك تم تصنيف البكتيريا من طرف العلماء إلى أقسام كتالي^[11]:

الجدول III. 1. يوضح تصنيف أنواع البكتيريا

التعريف	تصنيف البكتيريا
<ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا الكروية: وهي البكتيريا التي تأخذ شكل الكريات الصغيرة، حيث يتراوح قطرها 0.1 nm إلى 4 nm و يطلق عليها باللاتيني Coccus ولها عدة أشكال منها : كروية متجمعة (Streptococci)، وكروية عنقودية (Diplococci). ● بكتيريا العصوية: و هي البكتيريا التي تأخذ شكل العصيات صغير يطلق عليها باللاتيني Bacillus. ● بكتيريا الحلزونية: وهي البكتيريا التي تأخذ شكل حلزوني تدعي باللاتيني Spirillus . ● بكتيريا الواوية: وهي بكتيريا التي تأخذ شكل الواو. 	من حيث شكل
<ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا وحيدة السوط: بما سوط واحد يخرج من إحدى قطبي الخلية البكتيرية. ● بكتيريا متعددة الأسواط: هذا النوع ينقسم إلى قسمين: <ol style="list-style-type: none"> 1. متجمعة على طرف واحد. 2. مزرعة على كل خلية. 	من حيث توزيع أسواطها
<ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا هوائية: وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الهواء الجوي حيث تعتبر المصدر الرئيسي لتسمم الأغذية. ● بكتيريا لا هوائية: وهي الكتيريا التي تعيش في غياب الهواء الجوي ● بكتيريا لاهوائية إختيارية: وهي البكتيريا التي تستطيع العيش في وجود الهواء الجوي او عدم وجوده. 	من حيث الوسط الذي تعيش فيه

<ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا ذاتية التغذية: وهي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو . ● بكتيريا عسوية التغذية: وهي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد الذاتية كالسكر . 	<p>من حيث التغذية</p>
<p>يفسر الاختلاف بين البكتيريا في تركيب جدار الخلية بالتلوين ،حسب تقنية غرام Gram نسبة للعالم البلجيكي (J.Gram) المكتشفة سنة 1884م ،ينقسم إلى قسمين وهما :</p> <ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا غرام موجبة G^+: عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية . ● بكتيريا غرام سالبة G^-: لا تمتص أو قليلة الامتصاصية للون وتحرر صبغاً وتظهر حمراء . <p>يظهر جدار الخلية (G^+) أسمك من جدار الخلية (G^-) وكذلك راجع إلى احتوائها على غشاء خارجي إضافي و إحتوائها على الفة سفة موليبيدات .</p>	<p>من حيث طريقة التلوين</p>
<ul style="list-style-type: none"> ● بكتيريا نافعة : وهي نوع من أنواع البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان وتساعده على عملية الهضم وتفرز بعض المواد المفيدة للجسم و هناك نوع آخر يعيش في التربة . ويلعب دوراً هاماً في غذاء النبات وتستعمل الأنواع الأخرى في صناعة منتجات الألبان وبعض الأدوية . ● بكتيريا انتهازية : وهي بكتيريا تعيش في جسم الإنسان , بدون أن تسبب أي ضرر أو اذى إلا عند نقص المناعة ،متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب العديد من الأمراض مثل التهاب اللوزتين والحلق . ● بكتيريا ضارة : وهي بكتيريا تهاجم الجسم الإنسان مسببة له الأمراض متفوتة الخطورة مثل : الكوليرا ، التيفويد ، السل . 	<p>من حيث أثرها على الإنسان</p>

III.4. المقاومة البكتيرية :

III.4.1. تعريف المقاومة البكتيرية :

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

✓ مقاومة طبيعية.

✓ مقاومة مكتسبة.

III.4.2. طرق التعرف على حساسية ومقاومة البكتيرية للمضاد الحيوي :

III.4.2.1. الخواص الجذمة البكتيرية :

في علم الطب، الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيز المضاد الحيوي، أي بارتفاع التركيز نقل ومقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة.

III.4.2.2. حساسية الميكروب :

إن دراسة حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي لها عدة أهداف، أولها اختيار المضاد الأكثر نشاطاً إضافة إلى أنه في حالة معالجة الأمراض المعدية، يجب معرفة المضاد الفعال وهذا باختباره على الميكروب المسؤول عن المرض، واخيراً تحديد التركيز اللازم للتخلص من العامل المعدي والمرضى للمرض. من أهم طرق التعرف على حساسية أو مقاومة البكتيريا للمضاد الانتشار.

➤ طريقة الانتشار: (Méthode de diffusion)

وهي الأكثر استعمالاً في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجيلوز gélose وأهم وسط جيلوزي هو وسط، Hilton Muller نسبة للباحث الذي حضر سنة 1941م، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية :

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي، يسكب بكميات محددة في علب بتري، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي ، ثم يشتل في علب بتري المحضرة مسبقاً (بعد تصلب الوسط الجيلوزي) ، تدخل العلب للحاضنة للتجفيف ، بعدها توضع أقراص الاختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فاعليته، ثم تعاد العلب للحاضنة تحت درجة حرارة 37° لمدة 18 إلى 24 ساعة^[12].

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقاً وكنتيجة لهذا الاختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي ويمكن القول أن :

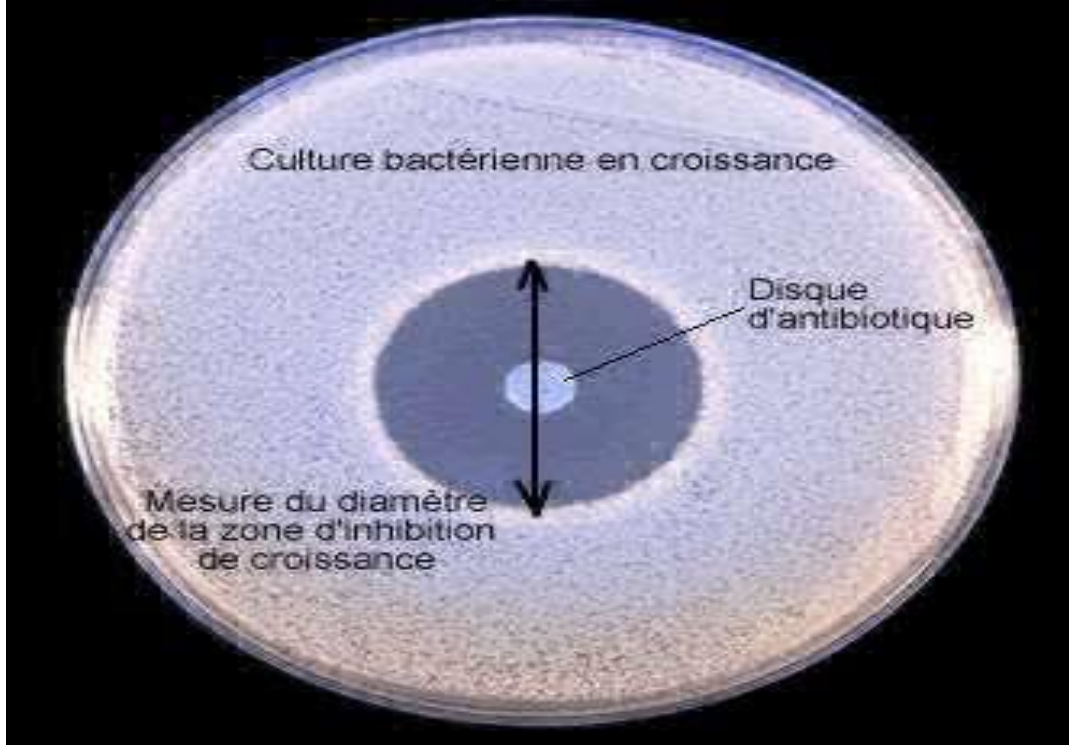
➤ إذا كان قطر التثبيط أكبر أو يساوي 15 ملم فهي حساسة.

➤ إذا كان القطر التثبيط أصغر من 15 ملم فهي متوسط حساسة.

➤ إذا كان قطر التثبيط منعدم فإنها مقاومة.

ويعتمد نجاح هذه الطريقة على مدى الانتشار الجيد للمضاد الحيوي في الوسط الزرع، فإن لم يكن كذلك

فنتبع طريقة أخرى لقياس مدى حساسية الميكروب^[13].



الشكل III. 2. قطر منطقة التثبيط للبكتيريا.

البكتيريا المدروسة :

الهدف من هذه الدراسة معرفة مدى تأثير المستخلصات العضوية على البكتيريا التالية:

- Escherichia Coli ✓
- Pseudomonas aeruginosa ✓
- Staphylococcus aureus ✓
- candida albicans ✓
- Klepsiella Pneumoniae ✓

قائمة مراجع الفصل الثالث

1. Silva, N.; Fernandes Júnior, A., Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases* **2010**, 16, 402-413.
2. Li, S.; Jochum, C.; Yu, F.; Zaleta-Rivera, K.; Du, L.; Harris, S. D.; Yuen, G. Y., An antibiotic complex from *Lysobacter enzymogenes* strain C3: antimicrobial activity and role in plant disease control. *Phytopathology* **2008**, 98, (6), 695-701.
3. Abu-Ghannam, N.; Rajauria, G., Antimicrobial activity of compounds isolated from algae. In *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals*, Elsevier: 2013; pp 287-306.
4. Mousavi, S. R.; Rezaei, M., Nanotechnology in agriculture and food production. *J Appl Environ Biol Sci* **2011**, 1, (10), 414-419.
5. Singh, A.; Kumar, J.; Sharma, V. K.; Singh, D. K.; Kumari, P.; Nishad, J. H.; Gautam, V. S.; Kharwar, R. N., Phytochemical analysis and antimicrobial activity of an endophytic *Fusarium proliferatum* (ACQR8), isolated from a folk medicinal plant *Cissus quadrangularis* L. *South African Journal of Botany* **2021**, 140, 87-94.
6. Naqvi, S. Z. H.; Kiran, U.; Ali, M. I.; Jamal, A.; Hameed, A.; Ahmed, S.; Ali, N., Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *International journal of nanomedicine* **2013**, 3187-3195.
7. Kheyrodin, H.; Jami, R.; Rehman, F. U., Cellular structure and molecular functions of plants, animals, bacteria, and viruses. *Cellular, Molecular and Biomedical Reports* **2022**, 2, (1), 33-41.
8. Jimenez, A.; Chen, D.; Alto, N. M., How bacteria subvert animal cell structure and function. *Annual review of cell and developmental biology* **2016**, 32, 373-397.
9. Bisset, K.; Hale, C., Complex cellular structure in bacteria. *Experimental Cell Research* **1953**, 5, (2), 449-454.
10. Salton, M. R., Cell structure and the enzymic lysis of bacteria. *Microbiology* **1953**, 9, (3), 512-523.
11. March-Rosselló, G. A., Rapid methods for detection of bacterial resistance to antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed.)* **2017**, 35, (3), 182-188.
12. Baym, M.; Stone, L. K.; Kishony, R., Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. *Science* **2016**, 351, (6268), aad3292.

13. Salloum, S.; Michel, T.; Tayyara, L., Bacterial resistance to antibiotics and associated factors in two hospital centers in Lebanon from January 2017 to June 2017. *Infection Prevention in Practice* **2020**, 2, (2), 100043.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع

المواد والطرق المستعملة

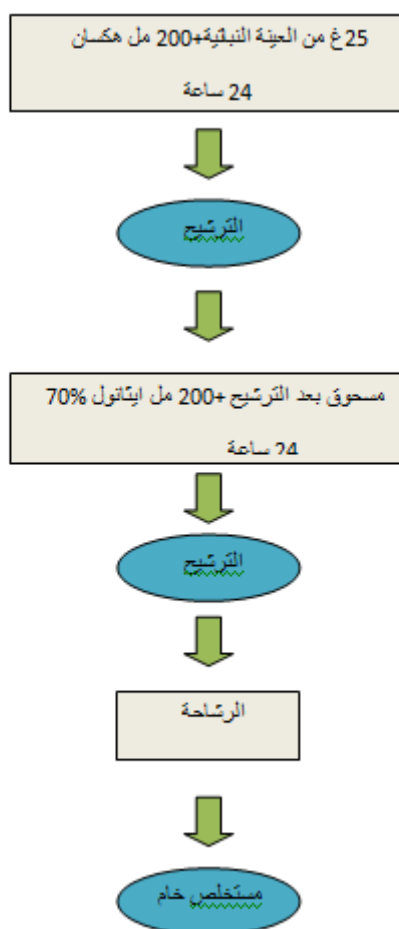
IV الجزء العملي

1.IV. تحضير العينة:

تمت عملية الاستخلاص على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، والدراسة المضادة للاكسدة في مركز البحث في البيوتكنولوجيا بقسنطينة ، والنشاط المضاد للبكتيريا في مخبر المجد بالوادي.

2.IV . الأجهزة والأدوات و المواد المستعملة لمراحل الاستخلاص:

الأدوات	المواد	الأجهزة
ببشر	نبات العلقة	ميزان الكتروني حساس
ورق ألمنيوم	الهكسان (hexane)	جهاز التبخير الدوراني. (Rotavapeur)
سحاحة	ايتانول (EtOH)	جهاز الترشيح تحت الفراغ
قمع ترشيح	ماء مقطر	مضخة



الشكل IV. 1. مخطط توضيح مراحل الاستخلاص

3.IV. المواد والطرق

1.3.IV. المواد الكيميائية

كانت شركة Sigma Aldrich مصدر لعدد من المواد الكيميائية المختلفة ، بما في ذلك Folin-Ciocalteu و sodium carbonate و 2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulonic acid) و 2,2-diphenyl- بيكريل هيدرازيل (DPPH)، (BHT)، (BHA)، كيرسيتين ، حمض الغاليك ، وعدد قليل من المركبات الإضافية كانت من بين هذه المواد الكيميائية. استخدم هذا الاستفسار المذيبات والمركبات العضوية ، والتي تمتلك جميعها خصائص جعلتها مناسبة للاستخدام في التطبيقات التحليلية في هذا البحث.

2.3.IV. جمع العينات النباتية

في ديسمبر 2022 ، تم جمع *O. africana* في بلدية دوار الماء ، التي تقع في الجنوب الشرقي للجزائر (في إحداثيات 33 ° 15-46 شمالاً ، و 7 ° 33'22 شرقاً). تم استخدام الخصائص المورفولوجية والنباتية للنبات لتحديد هويته. أولاً ، تم فصل الأوراق والسيقان بشكل طبيعي ، وغسلها بالكامل تحت الصنبور للتخلص من أي أوساخ ، ثم تجفيفها. تم سحق المكونات الجافة لـ *O. africana* ، بما في ذلك الساق والأوراق ، بشكل فردي في مسحوق ناعم.

3.3.IV. استخراج النبات

الطريقة المستخدمة لاستخراج *O. africana* هي تلك التي طورها Chiang et al (1994) بالبروتوكول التالي: تم نقع مساحيق *O. africana* بما في ذلك أجزاء الورقة (50 غ والساق (50 غ) في الإيثانول لمدة 48 ساعة ، بنسبة 1 غ من المسحوق مقابل 4 مل من الإيثانول. بعد ذلك ، يرشح الخليط باستخدام ورق الترشيح ، ثم يبخر المذيب باستخدام مبخر دوار عند درجة حرارة 45 درجة مئوية تحت الضغط. لإنتاج مستخلص صلب ، تم حفظه في الظلام عند درجة حرارة 4 درجات مئوية.

4. IV. كيمياء النبات

1.4.IV. إجمالي محتوى البوليفينول (TPC)

تجربة صفيحة ميكروية وصفها مولر وآخرون. (2010) لتحديد محتوى البوليفينول الكلي (TPC) ، مع بعض التعديلات الطفيفة [3-1]. تتم إضافة 20 ميكرو لتر من العينة و 100 ميكرو لتر من كاشف Folin-Ciocalteu (FCR) إلى صفيحة ميكروية 96 بئر. Folin-Ciocalteu reagent عبارة عن محلول 7.5٪ sodium carbonate (Na₂CO₃) تم تخفيفه 100 مرة في الماء المقطر (10/1) قبل تحديد ما إذا كان الطول الموجي للخليط 765 نانومتر ، يُسمح له بالراحة في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين أثناء إطفاء الأنوار. عند عمل فراغ ، يتم اتباع الطرق المتطابقة ، باستثناء أن المذيب يستخدم بدلاً من المستخلص. (الميثانول). لم يتم إجراء التجارب مرة واحدة ، وليس مرتين ، ولكن ثلاث مرات للتأكد من أن النتائج كانت دقيقة. في ظل نفس الظروف مثل المستخلصات ، تم تحديد البوليفينول الكلي باستخدام منحني معايرة تم إنشاؤه بواسطة حمض الجاليك في نطاق من التركيزات ، تتراوح من 25 إلى 200 ميكروغرام / مل. تم عرض

النتيجة في (µg gallic acid equivalents per mg of extract) (µg GAE / mg extract) ، والتي يتم حسابها باستخدام معادلة الانحدار الخطي الذي يتوافق مع منحني المعايرة الموضح. كما هو موضح بالمعادلة التالية (1):

$$TPC = \frac{C \times V}{M} \quad (1)$$

مع: V: حجم المستخلص (مل). م: وزن المستخلص (ملغ). C: [a.g] ميكروغرام / مل.

2.4.IV. محتوى الفلافونويد الكلي (TFC)

تم تحديد TFC باستخدام مقايسة لونية نترات الألومنيوم [4] يتكون الخليط من 50 ميكرو لتر من محلول الاستخراج بتركيز 1 مغ / مل ، 10 ميكرو لتر من 10٪ نترات الألومنيوم ، 130 ميكرو لتر من الإيثانول ، و 10 ميكرو لتر من أسيتات البوتاسيوم. وجد أن الامتصاصية 415 نانومتر بعد قياسها بعد فترة انتظار مدتها 40 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. كعنصر تحكم إيجابي ، تم استخدام كيرسيتين لتحديد نطاق معايرة يتراوح من 25 إلى 200 ميكروغرام / مل لكل مليلتر. ثم تم استخدام هذا النطاق لتحديد كمية مركبات الفلافونويد. تم الإبلاغ عن النتائج بالميكروغرام من مكافئ كيرسيتين لكل مغ من المستخلص ، والمختصرة كـ µg EQ / mg من المستخلص ، من خلال استخدام معادلة الانحدار الخطي لمنحني المعايرة الذي تم الحصول عليه باستخدام الأخير وتطبيق المعادلة التالية (2):

$$TFC = \frac{C \times V}{M} \quad (2)$$

مع: V: حجم المستخلص (مل). م: وزن المستخلص (ملغ). C: ميكروغرام / مل

5.IV. النشاط المضاد للأوكسدة

قد يكون من الضروري استخدام عدة طرق لاستكشاف الخصائص المضادة للأوكسدة في المستخلصات النباتية. هذا نتيجة تعقيد المواد الكيميائية النباتية. لاستكشاف إمكانات مضادات الأوكسدة لمستخلصات *O. africana* ، تم استخدام اختبار DPPH ، واختبار ABTS ، واختبار بيتا كاروتين ، واختبار الفينانثرولين ، مما يجعل من الممكن تقييمها بسهولة أكبر وتفسيرها بطريقة أبسط وربطها بمواد أخرى. تم استخدام المؤشرات A0.5 و IC50 كطرق قياس أثناء إجراء تحليل الانحدار الخطي لتقييم النشاط المضاد للأوكسدة للمستخلصات التي تم أخذها في الاعتبار لهذه التجربة. تم إجراء هذا التقييم من أجل تحديد فعالية المقتطفات. ترتبط كفاءة النشاط ارتباطاً عكسياً بقيم A0.5 و IC50.

1.5.IV. اختبار DPPH

من أجل تقييم مدى كفاءة المقتطفات في إخماد تأثيرات الجذور الحرة DPPH ، تم وضع الإجراء الذي حدده Blois (1958) موضع التنفيذ [5]. تتمثل الخطوة الأولى في إنتاج محلول DPPH في إذابة 4 مغ من DPPH في 100 مل من الميثانول. قبل استخدامه ، يتم تخزين المحلول عند درجة حرارة -20 درجة مئوية وبعيداً عن الضوء. بعد إضافة 160 ميكرو لتر من محلول ميثانولي من DPPH إلى صفيحة ميكروسكوبية بها 96 بئرًا ، تحتوي كل بئر على اللوحة على

40 ميكرو لتر من عينة بتركيز مختلف من المادة التي يتم اختبارها. بطول موجة 517 نانومتر ، تم قياس الامتصاصية خلال فترة حضانة مدتها ثلاثون دقيقة أجريت في درجة حرارة الغرفة وفي غياب الضوء. لإنشاء عنصر تحكم سلفي ، قمنا بدمج 40 ميكرو لتر من الميثانول و 5 مل من محلول DPPH بحجم إجمالي قدره 5 مل. تمت مقارنة نتائج اختبارات النشاط التي أجريت على كل من المستخلصات مع تلك الخاصة بثلاثة معايير مميزة لمضادات الأكسدة: -tocopherol و BHT و BHA ، تم تقييم كل منها في مجموعة من التراكيز. يتم حساب النشاط المضاد للجذور لكل عينة باستخدام المعادلة التالية (3) ، ويتم إعطاء النتائج كنسبة مئوية من تثبيط DPPH.

$$DPPH \text{ inhibition } (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

في هذه المعادلة ، تشير "A0" إلى الامتصاصية الشاهدة، و "A1" تعني الامتصاصية لعينة sample بعد السماح لها بالمكوث لمدة 30 دقيقة. تم اختيار بوتيل هيدروكسي الأيزول (المعروف أيضًا باسم BHA) وبوتيل هيدروكسي تولوين (المعروف غالبًا باسم BHT) كمعايير لهذا المسعى البحثي. تم إجراء الحسابات الرسومية باستخدام منحني نسب التثبيط بتركيزات مختلفة باستخدام برنامج OriginLab للحصول على قيم IC50. تُعرّف قيمة IC 50 على أنها تركيز العينة (بالميكروجرام / مل) التي تؤدي إلى انخفاض في 50٪ من الجذور.

IV.2.5. مقايسة β-كاروتين

تم إجراء هذا الاختبار وفقًا لبروتوكول Barros et al [6] تعتمد الطريقة على حساب الامتصاصية عند 453 (A453) و 505 (A505) و 663 (A663) نانومتر من المستخلصات الإيثانولية المذابة في خليط الأسيتون - الهكسان (6: 4 ، حجم / حجم). تستخدم المعادلتان (4) و (5) لحساب الكمية الإجمالية للكاروتين والليكوبين. تم التعبير عن النتائج بالميكروغرام من كاروتينويد لكل ملجم من المستخلص.

$$lycopene \text{ (mg/100mL)} = 0.0458 \times A_{663} + 0.372 \times A_{505} - 0.0806 \times A_{453} \quad (4)$$

$$\beta - carotene \text{ (mg/100mL)} = 0.216 \times A_{663} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453} \quad (5)$$

IV.3.5. الكسح الجذري لـ ABTS

الإجراء المستخدم لتحليل نشاط ABTS هو ما (Re وآخرون ، 1999) [7] ، مع تعديل طفيف. من خلال تجريد إلكترون من ذرة نيتروجين من ABTS ، يتم تشكيل $ABTS^{\bullet+}$ جذري (الذي يمتص بطول موجة 734 نانومتر). في حالة وجود أحد مضادات الأكسدة التي تتبرع بالهيدروجين ، فإن ذرة النيتروجين المعنية تلتقط H^{\bullet} ، مما يؤدي إلى تكوين $ABTS^+$ ، مما يؤدي إلى تغيير لون المحلول. يتم إنتاج $ABTS^+$ الجذري الموجب عندما يتفاعل 7 ملي مولار

ABTS في الماء مع 2.45 ملي مولار من بيرسلفات البوتاسيوم. يحضن الخليط لمدة 16 ساعة في الظلام في درجة حرارة الغرفة. من أجل تحضير المحلول للاستخدام مع ABTS⁺ جذري ، يتم تخفيفه أولاً بالإيثانول حتى يصل إلى امتصاص 0.020 ± 0.70 عند 734 نانومتر. بتركيزات مختلفة ، يضاف 160 ميكرو لتر من محلول ABTS⁺ إلى 40 ميكرو لتر من محلول الاستخلاص. بعد 10 دقائق ، يتم قياس الامتصاصية عند 734 نانومتر باستخدام قارئ صفيحة ميكروسكوبية 96 بئر. في الوقت نفسه ، تم إجراء تحكم سلبي عن طريق الجمع بين 40 ميكرو لتر من الميثانول مع 160 ميكرو لتر من محلول ABTS⁺. تم حساب مثبطات النسبة المئوية عند كل تركيز بالنسبة لامتناس عينة فارغة. (إيثانول). تم استخدام المعادلة التالية (6) لتحديد قدرة الكسح في ABTS:

$$ABTS^{*+} \text{ scavenging activity (\%)} = \frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}} \times 100 \quad (6)$$

حيث A_{Sample} هو الامتناس للتركيز المتبقي لـ ABTS⁺ في وجود العينة والتحكم هو تركيز البداية لـ ABTS⁺ تم استخدام الرسم البياني لنسبة ABTS⁺ تأثير الكسح الجذري مقابل تركيز المستخلص لحساب تركيز المستخلص الذي يعطي نشاط الكسح الجذري بنسبة 50% (IC₅₀). تم استخدام BHT و BHA كمعايير لمقارنة نشاط مضادات الأكسدة.

4.5.IV. مقايسة الفينانثرولين

يتم تحديد نشاط الفينانثرولين بواسطة طريقة [8] (Szydlow-ska-Czerniaka 2008) في حجم 10 ميكرو لتر من المحلول بتركيزات مختلفة، يضاف 50 ميكرو لتر من FeCl₃ عند 0.2% ، 30 ميكرو لتر من محلول الميثانول من الفينانثرولين (0.5%) ، و 110 ميكرو لتر من الميثانول MeOH ، بهذا الترتيب. تم تحديد الامتناسية عند 510 نانومتر بعد 20 دقيقة من الحضانة عند 30 درجة مئوية في الظلام. تم إجراء التحكم السلبي بشكل متزامن تحت نفس الظروف وباستخدام حلول مماثلة، باستثناء المستخلصات التي تم استبدالها بمذيب الميثانول المخفف. تم تطبيق BHT و BHA كمعيار لمضادات الأكسدة.

6.IV. تحليلات البيانات الإحصائية

تظهر نتائج التحقيقات التي تم إجراؤها على أنها متوسط الانحراف المعياري للتحليلات في ثلاثة اختبارات منفصلة. تم حساب قيم IC₅₀ (تركيز تثبيط 50%) و A_{0.5} (تركيز 0.50 امتصاص) بواسطة طريقة الانحدار الخطي من المنحنى [نسبة التثبيط = f_j (التركيزات)] لـ IC₅₀ و [الامتصاص = f (التركيز)] أ 0.5. يتم إجراء المقارنات المتعددة وتحديد مستويات الأهمية بواسطة اختبار ANOVA أحادي المتغير، وتعتبر الاختلافات ذات دلالة إحصائية عند عتبة 0.05

7.IV. بروتوكول الفحص المضاد للبكتيريا

1.7.IV. لمحة عامة

الطريقة القياسية لتحديد الحساسية البكتيرية هي انتشار القرص. أدت تجارب باور وكيري في عام 1966 إلى ظهور انتشار قرصي معياري [9، 10].

2.7.IV. طريقة انتشار القرص

لاستخدام معلق للكائنات الدقيقة المختبرة في 100 ميكرو لتر الذي يحتوي على 2108 CFU / مل للبكتيريا و 1-5 × 10⁶ CFU / مل من أجل *C. albicans*، تم تقييم المستخلصات من حيث النشاط المضاد للميكروبات. في علب بتري المعقمة التي يبلغ قطرها 9 سم، تم نشر وسيط أجار Mueller-Hinton و Sabouraud المعقم (15 مل). تم وضع أقراص الترشيح بقطر 6 ملليمترات فوق وسط أجار المصابة بالكائنات الدقيقة المختبرة، بعد أن تم تشريبها بشكل فردي بـ 5 مل من المستخلص (500 ميكروغرام / قرص). بعد ساعتين عند 4 درجات مئوية، تم تحضين أطباق بتري لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية للبكتيريا و 48 ساعة عند 30 درجة مئوية للفطريات. تم إجراء قياسات لمناطق أقطار التثبيط (مم)، وكذلك قطر الأقراص [11].

3.7.IV. قياس حجم المنطقة

تم استخدام قالب قياس الأقراص المضادة للميكروبات لتحديد حجم منطقة تثبيط كل عامل. كانت الطريقة المقترحة لتحديد حساسية لكل عقار هي مقارنة أقطار المنطقة بمخطط تفسيري مشترك [12]. قبل المقارنة، تم قياس حجم منطقة كل عامل مضاد للميكروبات على حدى. يتطلب التحقق من صحة كل قياس تحديد كل بكتيرية [14].

[13]

قائمة مراجع الفصل الرابع

1. Johnson, J. B.; Mani, J. S.; Naiker, M., Development and validation of a 96-well microplate assay for the measurement of total phenolic content in ginger extracts. *Food Analytical Methods* **2022**, 15, (2), 413-420.
2. Tian, W.; Chen, G.; Gui, Y.; Zhang, G.; Li, Y., Rapid quantification of total phenolics and ferulic acid in whole wheat using UV–Vis spectrophotometry. *Food Control* **2021**, 123, 107691.
3. El Aanachi, S.; Gali, L.; Nacer, S. N.; Bensouici, C.; Dari, K.; Aassila, H., Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2020**, 29, 101819.
4. Wang, B.; Peng, L.; Zhu, L.; Ren, P., Protective effect of total flavonoids from *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2007**, 60, (1), 36-40.
5. Blois, M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **1958**, 181, 1199-1200.
6. Barros, L.; Cruz, T.; Baptista, P.; Estevinho, L. M.; Ferreira, I. C., Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, 46, (8), 2742-2747.
7. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* **1999**, 26, (9-10), 1231-1237.
8. Öztürk, M.; Duru, M. E.; Kivrak, Ş.; Mercan-Doğan, N.; Türkoglu, A.; Özler, M. A., In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and chemical toxicology* **2011**, 49, (6), 1353-1360.
9. Szydłowska-Czerniak, A.; Dianoczki, C.; Recseg, K.; Karlovits, G.; Szlyk, E., Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* **2008**, 76, (4), 899-905.
10. Okewole, E.; Olubunmi, P., Antibigrams of pathogenic bacteria isolated from laboratory rabbits in Ibadan, Nigeria. *Laboratory animals* **2008**, 42, (4), 511-514.
11. Bauer, A., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single diffusion method. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, 45, 493-496.

12. Correa, M. G.; Martínez, F. B.; Vidal, C. P.; Streitt, C.; Escrig, J.; de Dicastillo, C. L., Antimicrobial metal-based nanoparticles: A review on their synthesis, types and antimicrobial action. *Beilstein journal of nanotechnology* **2020**, 11, (1), 1450-1469.
13. Lalitha, M., Manual on antimicrobial susceptibility testing. *Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement* **2004**, 56238, 454-456.
14. Shahidi, A.; Ellner, P. D., Effect of mixed cultures on antibiotic susceptibility testing. *Applied microbiology* **1969**, 18, (5), 766-770.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

V. النتائج والمناقشة

1.V. مردود الاستخلاص والكيمياء النباتية

قبل تخزين المستخلصات، تم تحديد المردود، وتم ضغط النتيجة مسبقاً كنسبة مئوية محسوبة على أساس الوزن الطازج [1]. تنتج نبات العلقمة مستخلصات إيثانولية من سيقانها وأوراقها، 1.496 و 2.2% على التوالي. يتم التعبير عن كميات الفلافونويد والبوليفينول الكلي في المستخلص الإيثانولي لنبات العلقمة بالميكروجرام المكافئ ويتم تقديمها في الجدول V. 1.

الجدول V. 1. إجمالي كميات البوليفينول والفلافونويد في أوراق نبات العلقمة (L) والساق (S) المستخلصات الإيثانولية

المستخلصات	*TPC ($\mu\text{gGAE}/\text{mg}$)	*TFC ($\mu\text{gQE}/\text{mg}$)
L	69.75±1.87	91.88±1.94
S	64.83±1.54	87.81±0.69

* التعبير عن القيم على أنها تعني \pm الانحراف المعياري (SD) (ن = 3).

تم استخدام مكافئ حمض الجالليك (GAE) لحساب TPC ($\mu\text{g GAE} / \text{mg}$) ، بينما تم استخدام مكافئ كيرسيتين (QE) لحساب TFC (ميكروغرام QE / mg). تباينت TPC لأجزاء نبات العلقمة ؛ يحتوي مستخلص الأوراق على TPC أعلى (1.87 ± 69.75 ميكروغرام GAE / غ) من مستخلصات الأوراق والساق (1.54 ± 64.83 ميكروغرام GAE / ملغ). فيما يتعلق بـ TFC ، تم تقديم أعلى القيم في الورقة (1.94 ± 91.88 ميكروغرام من مستخلص QE / mg) والساق (0.69 ± 87.81 ميكروغرام من QE / mg خارج السيل).

2.V. النشاط المضاد للأوكسدة

نظراً لتعقيد المواد الكيميائية النباتية ، من الضروري استخدام عدة طرق لاستكشاف خصائص مضادات الأوكسدة في المستخلصات النباتية. للتحقيق في إمكانات مضادات الأوكسدة لمستخلصات نبات العلقمة ، اختبار (DPPH) ، اختبار (ABTS) ، تم استخدام اختبار بيتا كاروتين واختبار الفينانثرولين. تم توضيح نتائج هذه الاختبارات في الجدول 2 ، مما يجعل من الممكن تقييمها وتفسيرها بشكل أكثر بساطة وربطها بمواد أخرى. تم استخدام المؤشرات A0.5 (تركيز 0.50 امتصاص) و IC50 (تركيز تثبيط 50%) كطرق قياس أثناء تطبيق تحليل regression الخطي لتقييم نشاط مضادات الأوكسدة للمستخلصات التي تم النظر فيها لهذه التجربة. تم إجراء هذا التقييم لتحديد فعالية المسالك السابقة. ترتبط كفاءة النشاط ارتباطاً عكسياً بقيم A0.5 و IC50.

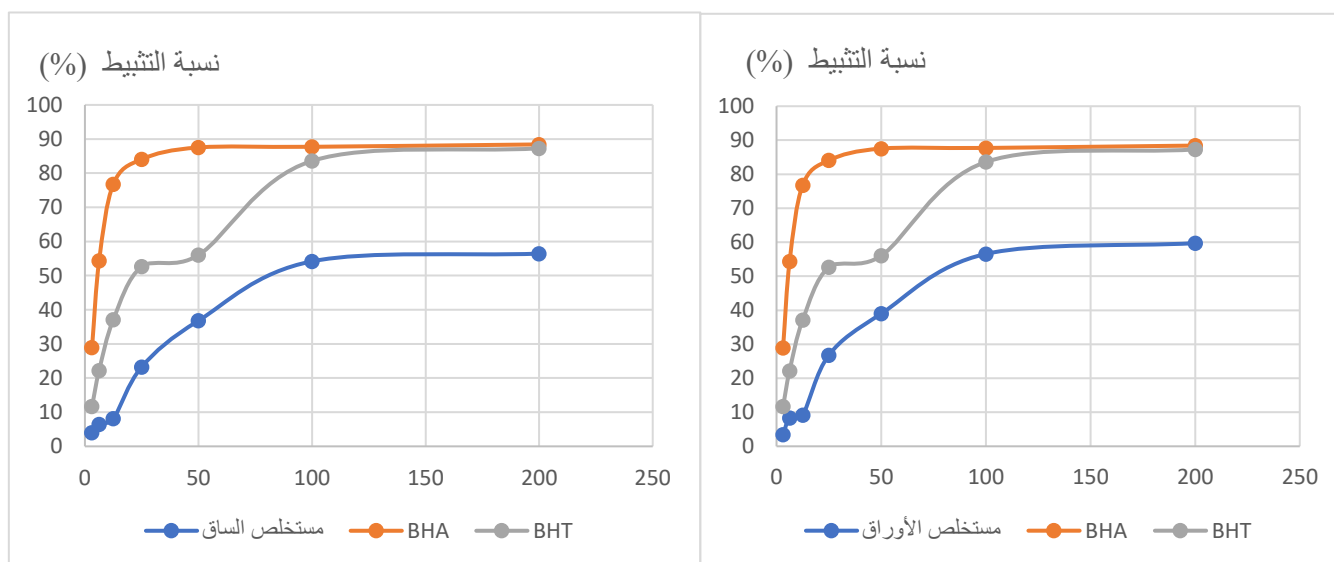
1.2.V. اختبار (DPPH)

يسرد الجدول 3.V قدرة المستخلص الإيثانولي على البحث عن الجذور الحرة من مختلف أجزاء نبات العلقلة. كانت قدرة جميع المستخلصات الإيثانولية لأجزاء نبات العلقلة المختلفة لكبح جذور DPPH ($IC_{50} = 49.62 \pm 1.91$) ميكروغرام / مل ل (L)، ($IC_{50} = 46.69 \pm 1.09$) ميكروغرام / مل ل (S) كانت أعلى. مضادات الأكسدة الطبيعية بوتيل هيدروكسي تولين (BHT) وبوتيل هيدروكسي أنيسول (BHA) أقل فعالية في تنظيف DPPH من المستخلصات الإيثانولية للأوراق والساق.

الجدول 2.V. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقلة المختلفة باستخدام DPPH

التركيز ميكروغرام / مل	تغيرات نسبة التثبيط % بدلالة التراكيز (DPPH)							IC ₅₀ µg/mL
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
نسبة التثبيط % (L)	3,47±1,45	8,31±1,22	9,189±0,91	26,81±1,66	38,98±0,49	56,56±1,05	59,72±0,21	49,62±1,91
نسبة التثبيط % (S)	3,98±1,48	6,49±1,06	8,09±1,18	23,27±1,33	36,81±0,91	54,19±0,67	56,44±0,78	46,69±1,09
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23	5.73±0.41

* القيم موضحة كالتالي: (يعني \pm SD، $n = 3$ ، $p < 0.05$).



الشكل 1.V. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة DPPH

أدت نتائج دراستنا حول النبات إلى استنتاج أن المستخلصات الإيثانولية لنبات العلقلة تعمل بشكل فعال كمضادات للأكسدة (L و S). يقيس اختبار IC_{50} كمية المستخلص المضاد للأكسدة الذي يجب أن يكون موجودًا لامتصاص وتقليل 50% من DPPH المذاب في الإيثانول بشكل فعال. كلما قل العدد، زادت كفاءة وفعالية مضادات

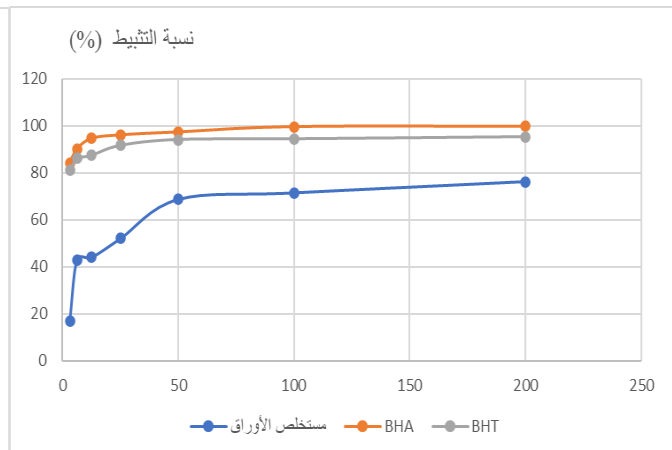
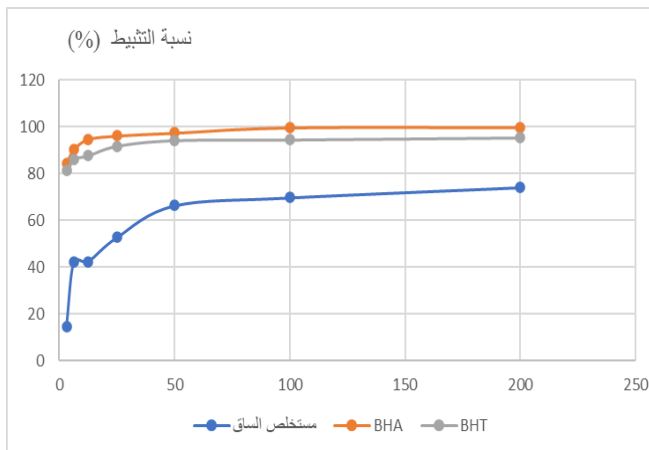
الأوكسدة التي يعتبر المستخلص منها [2]. علاوة على ذلك ، وجد Zakaria and Belhattab (2016) أن نبات العلقة من المنطقة الغربية من ورقلة (الجزائر) أظهر نشاطاً كبيراً كمضاد للأوكسدة بقيمة IC50 (12.05 ميكروغرام / مل) للمستخلص الإيثانولي ، IC50 (14.91 ميكروغرام / مل) للمستخلص المائي) و IC50 (24.57 ميكروغرام / مل) للمستخلص المائي الكحولي [3].

2.2.V. اختبار β-كاروتين وحمض اللينوليك

تم فحص نشاط مضادات الأوكسدة لهذه المستخلصات (الجدول 5.V). مقارنة بـ BHA و BHT لمختلف مستخلصات أوراق وساق نبات العلقة (IC50 = 21.33 ± 1.23 ميكروغرام / مل لـ L، IC50 = 20.21 ± 1.08 ميكروغرام / مل لـ S) ، كانت جميع أنشطة المستخلصات المضادة للأوكسدة أقل فعالية . تعتمد هذه الطريقة على الفرضية القائلة بأن وجود حمض اللينوليك يسرع عملية الأوكسدة التي تؤدي إلى تحلل β-كاروتين.

الجدول 3.V. الأنشطة المضادة للأوكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقة المختلفة باستخدام طريقة β - كاروتين

التركيز ميكروغرام / مل	تغيرات نسبة التثبيط % بدلالة التراكيز (β-كاروتين)							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ µg/mL
نسبة التثبيط % (L)	16,81±0,32	42,90±1,08	44,02±1,67	52,02±0,57	68,71±1,07	71,49±1,20	76,25±1,37	21,33±1.23
نسبة التثبيط % (S)	14,64±0,94	41,96±0,94	42,37±1,07	52,65±0,94	66,23±0,95	69,64±1,33	74,01±1,54	20,21±1.08
BHT	81.14±0.84	86.09±1.04	87.52±4.24	91.67±0.52	94.11±0.42	94.41±0.32	95.28±3.25	1.05±0.01
BHA	84.23±1.14	90.11±0.68	94.59±0.77	96.09±0.02	97.35±1.08	99.59±0.14	99.76±1.2	0.90±0.02



الشكل 2.V. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة β - كاروتين

في وجود الأوكسجين أو عوامل مؤكسدة أخرى ، يتأكسد الأحماض الدهنية غير المشبعة (حمض اللينوليك) بسرعة عن طريق إزالة ذرة الهيدروجين من إحدى مجموعات الميثيلين الديالي. تحدث هذه العملية ، المعروفة باسم نزع الهيدروجين ، عند وجود عوامل مؤكسدة. يشار إلى العملية المعنية باسم "استخراج الهيدروجين". تتشكل الجذور الخالية من حمض اللينوليك التفاعلي بسبب الأوكسدة ، وتؤكسد هذه الجذور الخالية من حمض اللينوليك التفاعلية لاحقًا جزيئات بيتا كاروتين. عندما يتفاعل β -carotene مع الأوكسجين ، فإنه يمر بعملية تؤدي إلى تحللها جزئيًا ، ونتيجة لذلك ، تفقد مجموعة chromophore. وهذا بدوره يؤدي إلى فقدانها تنوعها النموذجي من الألوان. وبالتالي يمكن تقييم درجة أكسدة حمض اللينوليك من خلال ملاحظة الانخفاض في كمية بيتا كاروتين الممتصة. تمنع مضادات الأوكسدة تبيض البيتا كاروتين عن طريق تنظيف الجذور الخالية من حمض اللينوليك والجذور الحرة الأخرى التي يولدها الجسم. هذا يحمي -كاروتين من التدمير [4]. عند 490 نانومتر ، لوحظ التغيير في امتصاص البيتا كاروتين لمدة 48 ساعة مع وبدون إضافة مضادات الأوكسدة (BHA ، BHT) ، ومستخلصات نباتية (تحكم سلي). كان من المثير للاهتمام كيف يمكن للمستخلصين إيقاف أكسدة مزيج حمض اللينوليك / بيتا كاروتين.

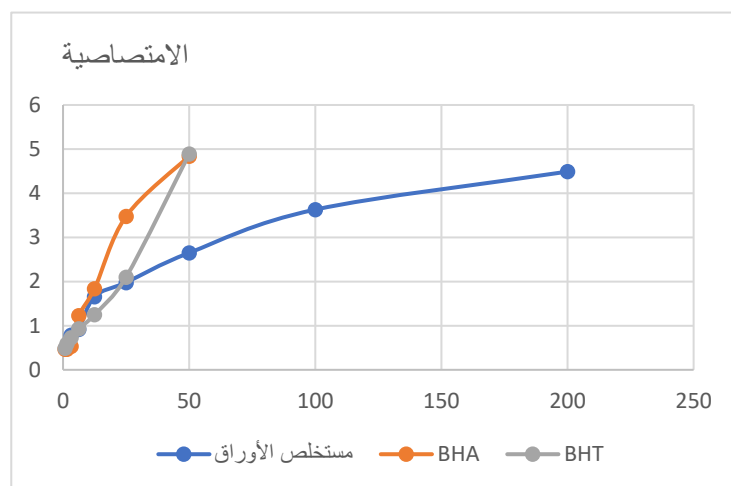
3.2.V. اختبار الفينانثرولين

خضعت مستخلصات نبات العلقلة لاختبار تكميلي يعرف باسم طريقة الفينانثرولين (Phen) لتحديد ما إذا كانت تمتلك أي خصائص مضادة للأوكسدة. مقارنةً بـ BHA و BHT ، أظهرت مستخلصات نبات العلقلة أعلى نشاط ($A_{0.50} = 16.70 \pm 1.13$ غ/مل للأوراق). يقيس اختبار الفين قدرة مضادات الأوكسدة ، المعروفة أيضًا باسم الاختزال ، على تحويل $Fe_3 + Fe_2$ إلى Fe^{2+} [5]. باستخدام اختبار الفين ، أظهرت مستخلصات نبات العلقلة قدرة عالية على امتصاص المعادن.

الجدول 4.V. الأنشطة المضادة للأوكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقلة المختلفة باستخدام اختبار الفينانثرولين

التراكيز ميكروغرام / مل	الامتصاصية في اختبار الفينانثرولين							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ µg/mL
الامتصاصية (L)	0,79±0,09	0,92±0,33	1,66±0,20	1,98±0,78	2,65±0,89	3,63±0,57	4,49±1,03	16,70±1,13
الامتصاصية (S)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	0.78125	1.5625	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	A_{0.5} µg/mL
BHT	0,49±0,01	0,59±0,01	0,73±0,02	0,93±0,01	1,25±0,04	2,10±0,05	4,89±0,06	0,93±0,07
BHA	0,47±0,01	0,47±0,01	0,53±0,03	1,23±0,02	1,84±0,01	3,48±0,03	4,84±0,01	2,24±0,17

* القيم موضحة كالتالي: (يعني \pm SD ، n = 3 ، p < 0.05) ، nd : لم تجرى



الشكل 3.V. تغيرات الامتصاصية بدلالة التراكيز باستخدام طريقة الفينانثولين

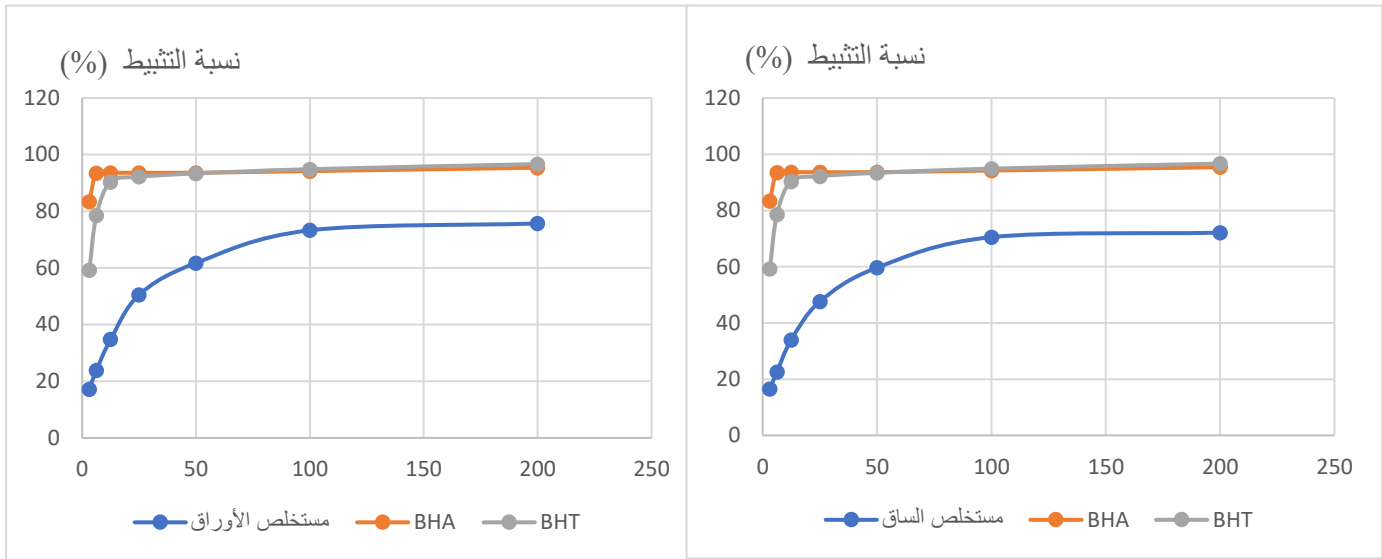
3.2.V. اختبار ABTS

أظهرت مستخلصات أوراق وساق نبات العلقه نشاطاً قوياً مضاداً للأوكسدة باستخدام طريقة ABTS (IC_{50} = 17.95 ± 1.03 ميكروغرام / مل ل (S)، IC_{50} = 15.90 ± 0.93 ميكروغرام / مل ل (S)). ABTS هو مركب ينتج الجذور الحرة عند تعرضه للأوكسجين.

الجدول 5.V. الأنشطة المضادة للأوكسدة للمستخلصات الإيثانولية من أجزاء نبات العلقه المختلفة باستخدام طريقة ABTS

التراكيز ميكروغرام / مل	تغيرات نسبة التثبيط % بدلالة التراكيز (ABTS)							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC_{50} µg/mL
نسبة التثبيط % (L)	17,18±1,02	23,89±0,33	34,79±0,09	50,52±0,41	61,76±1,80	73,30±1,59	75,71±1,01	17,95±1,03
نسبة التثبيط % (S)	16,49±1,42	22,57±1,67	33,97±0,88	47,59±0,98	59,67±1,27	70,51±0,63	72,10±1,22	15,90±0,93
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10

*القيم موضحة كالتالي: (يعني \pm SD، n = 3، $p < 0.05$)



الشكل 4.V. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز باستخدام طريقة ABTS

تؤدي إضافة مضادات الأكسدة إلى ABTS إلى تحييد الجذور الحرة ، وهو مؤشر على نشاط مضادات الأكسدة. يقلل هذا المعادلة من لون الخليط ، وهو أيضاً علامة على نشاط مضادات الأكسدة. ربما تكون مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجياً مسؤولة عن هذه الوظيفة. بعض الأمثلة على هذه المركبات النشطة بيولوجياً هي مركبات الفلافونويد والأحماض الفينولية.

يرجع النشاط المضاد للأكسدة في نبات العلقه إلى مجموعة من المواد الكيميائية. العديد من هذه المواد الكيميائية ، بما في ذلك الفلافونويد والقلويدات والأحماض الفينولية ، لها قدراتها المضادة للأكسدة المتأصلة ، والتي تساهم في نشاط مضادات الأكسدة في النبات. علاوة على ذلك ، تشتهر هذه المركبات بالقضاء على الجذور الحرة وحماية الخلايا من الأكسدة. وقد ثبت أن هاتين الخاصيتين تسرعان من تطور الأمراض المزمنة مثل السرطان والسكري وأمراض القلب والأوعية الدموية. بناءً على هذه النتائج ، يبدو أن نبات العلقه قد يكون لديه إمكانات رائعة لأنه نبات ذو قدرة عالية على الكسح الجذري. بسبب وظيفتها الفسيولوجية ، بما في ذلك مضادات الأكسدة ، ومضادة للطفريات ، ومضادات السرطان ، اكتسبت المركبات الفينولية ، المعروفة باسم البوليفينول ، اهتماماً كبيراً مؤخراً [6]. ركز الباحثون [7 ، 8] الكثير من اهتمامهم على المركبات الفينولية لأنها تمتلك القدرة على العمل كمضادات للأكسدة وهي شائعة في النباتات الطبية البرية.

علاوة على ذلك ، ركز العلماء [9] الكثير من اهتمامهم على المركبات الفينولية بسبب نشاطها المضاد للأكسدة وقدراتها على إزالة الجذور الحرة. تؤثر هذه القدرات بشكل إيجابي على صحة الإنسان وتشكل فئة كبيرة من مضادات الأكسدة [10] لذلك ، يبدو العلاج بمضادات الأكسدة خياراً علاجياً مفيداً محتملاً لهذه الأمراض حيث يبدو أن الإجهاد التأكسدي متورط في نشأة العديد من الأمراض المزمنة والتنكسية العصبية [11]. في ثلاث طرق مختلفة ، تحمي

مضادات الأكسدة الخلايا من ضرر الجذور الحرة: عن طريق منع الجذور من التطور في المقام الأول ، أو التخلص منها ، أو تعزيز تكسيرها [12 ، 13].

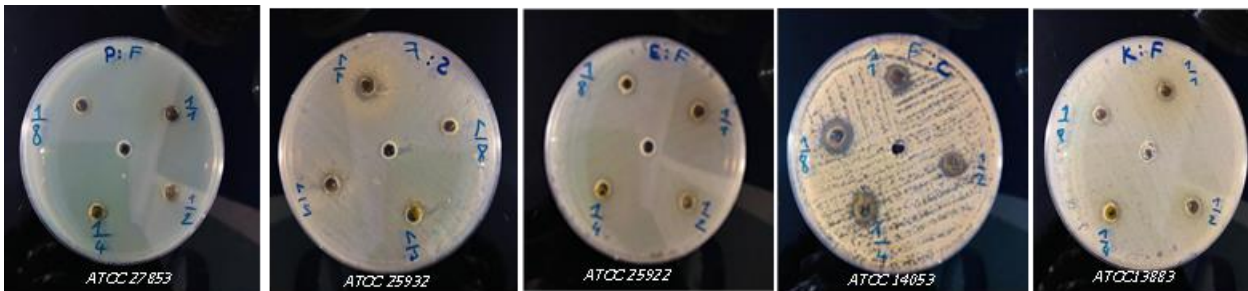
3.V. نشاط مضادات الميكروبات

يتم عرض نتائج الاختبار لتحديد الحساسية الميكروبية للمستخلصات في الجدول 3 والشكل 2. تم اختبار التأثيرات المضادة للميكروبات للمستخلصات المختلفة (S و L) من الأجزاء الهوائية من نبات العلقة على *Escherichia coli* ATCC ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ، *Candida albicans* ATCC 14053 ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ، باستخدام طريقة الانتشار مع الأقراص المشبعة بالمستخلص ووسيط Muller Hinton. قطر التثبيط (مم) كان متوسط قياسين. تشكل منطقة تثبيط حول القرص الورقي الذي تم نقعه بالمستخلص الخام الذي تم فحصه بسبب تأثير الجراثيم.

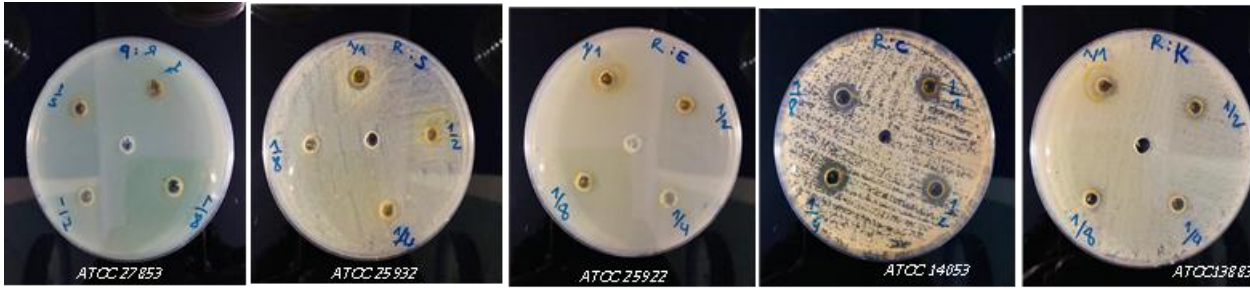
الجدول 6.V. خصائص مضادات الميكروبات من المستخلصات الإيثانولية نبات العلقة.

Microorganisms Tested		تركيز المستخلص (مع/مل)			
		قطر التثبيط (مم)			
		40	20	10	5
مستخلص الاوراق					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram -	*NA	NA	NA	NA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram -	NA	NA	NA	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	Gram-	8	7	7	7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	Gram +	NA	NA	NA	NA
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	Fungus	11	10	11	13
مستخلص السيقان					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram -	11	NA	NA	NA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram -	NA	NA	NA	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	Gram-	9	NA	NA	NA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	Gram +	9	NA	NA	NA
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	Fungus	10	11	12	11

*NA: لا يوجد نشاط.



(أ)



(ب)

الشكل 5.V. 5. صور فوتوغرافية تصور النشاط المضاد للبكتيريا من مقتطفات انتشار قرص أجار من نبات العلقه. (أ) الورقة (L) ، (ب) الجذعية (S). معيار (مذيب) ، (1/1) ؛ 40 ملغ / مل ، (2/1) ؛ 20 ملغ / مل (4/1) ؛ 10 ملغ / مل ، و (8/1) ؛ 5 ملغ / مل.

يوضح الجدول 4.V والشكل 3.V التأثير المضاد للبكتيريا لاثنين من مقتطفات من نبات العلقه على سلالات بكتيرية مختلفة. أظهرت النتائج أن ثلاث سلالات هي *E. coli* و *P. aeruginosa* و *S. aureus* ، تمثل منطقة خالية من التثبيت وأن مستخلص الأوراق الإيثانولي نبات العلقه لم يسجل أي تأثير عليها. في المقابل ، أثرت السلالتان الأخريان على *K. pneumoniae* و *C. albicans* مع أقصى مناطق تثبيط 8 و 11 مم لتركيزات 40 ملغ/مل ، على التوالي. نتائجا قريبة من تلك التي أبلغ عنها (Derbel et al. 2010) [14]. في دراستهم للنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات أوراق نبات العلقه ، اكتشفوا أنها قوية ضد *B. subtilis* و *S. aureus* بأقطار تثبيط 13 و 10 مم لمستخلصات الإيثانول وخل الإيثيل ، على التوالي. علاوة على ذلك ، لاحظوا أن هذه المستخلصات كانت خاملة ضد البكتيريا سالبة الجرام.

ومع ذلك ، على الرغم من ثراء مستخلصنا الإيثانولي من نبات العلقه في TPC و TFC ، إلا أنه لم يظهر أي نشاط ضد *S. aureus* ونشاط هش ضد *B. subtilis* و *A. niger*. وفقاً ل Edeas (2007) ، يمكن أن يكون TPC في المستخلص مرتفعاً. ومع ذلك ، فإن البولي فينولات الموجودة لديها نشاط بيولوجي ضئيل ، في حين أن المستخلص الذي يتم تناوله بجرعات عالية جداً في بوليفينول واحد مع نشاط بيولوجي مرتفع قد يكون أكثر جاذبية [15].

أظهرت النتائج أن مستخلص الجذع الإيثانولي لنبات العلقه لم يسجل أي تأثير على *P. aeruginosa* الذي يمثل منطقة بدون تثبيط ، على عكس ما وجدته Bouhadjera [16] أن سلالة *P. aeruginosa* أظهرت مقاومة ضد المستخلص. من هذا النبات. أظهر المستخلص (الجذع) تأثيراً على سلالات بكتريا *E. coli* و *K. pneumoniae* و *S. aureus* بتركيز 40 ملغ/مل ، بينما عند التراكيز المنخفضة لم يسجل أي تأثير. أما بالنسبة لسلالة الفطر (*C. albicans*) فقد أظهر المستخلص تأثيراً ظاهرياً كما في المستخلص (الورقة). يمكن استخدام تركيبة الجزيئات الموجودة في كل من هذه المقتطفات وعلاقتها بتركيز المكون النشط لشرح التباين في النشاط بينهما [17]. لذلك ، يتم تفسير التغييرات في النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات من نفس النبات من خلال الاختلافات في التركيب الكيميائي. قد يكون

النشاط المشترك (التآزر) للعديد من المواد الكيميائية في مصدر المستخلص مسؤولاً عن أقصى قدر من الكفاءة بدلاً من أن يعمل مكون واحد كمكون نشط أساسي [18].

وفقاً لخليل وآخرون. (2023) [19] ، يمكن لبعض مركبات البوليفينول ، وخاصة العفص والفلافونويد ، أن تجعل المستخلصات أكثر خطورة على الميكروبات. يؤثر موقع المكون الفينولي وكمية مجموعات الهيدروكسيل على سميته. علاوة على ذلك ، يؤدي ارتفاع نسبة الهيدروكسيل إلى زيادة السمية. إن قدرة هذه الفينولات على إعاقة نمو البكتيريا بعد الالتصاق بأغشية الخلايا ، وتفاعلاتها مع الإنزيمات والمؤثرات ، أو نقصها في الركائز وأيونات المعادن كلها تفسيرات محتملة لخصائصها المضادة للبكتيريا [20 ، 21]. تم إثبات الخصائص المضادة للميكروبات للفلافونويد ضد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض المختلفة [22]. بالإضافة إلى ذلك ، فقد ثبت أن المستخلصات النباتية والمواد الكيميائية النباتية الأخرى التي تحتوي على نسبة عالية من الفلافونويد لها خصائص مضادة للجراثيم [23].

قائمة مراجع الفصل الخامس

1. Suriyaprom, S.; Mosoni, P.; Leroy, S.; Kaewkod, T.; Desvaux, M.; Tragoolpua, Y., Antioxidants of Fruit Extracts as Antimicrobial Agents against Pathogenic Bacteria. *Antioxidants* **2022**, *11*, 602. s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published ...: 2022.
2. Derbel, S.; Bouaziz, M.; Dhouib, A.; Sayadi, S.; Chaieb, M., Chemical composition and biological potential of seed oil and leaf extracts of *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. *Comptes rendus chimie* **2010**, *13*, (4), 473-480.
3. Edeas, M., Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie* **2007**, *5*, (5), 264-270.
4. Bouhadjera, K.; Kebir, T.; Baba-Ahmed, A.; Bendahou, M., Antimicrobial activity of the sterols and steroids extracted from the Algerian *Oudneya Africana* R. *Br. Pakistan J. Biol. Sci* **2005**, *8*, 834-838.
5. Avery, O. T.; MacLeod, C. M.; McCarty, M., *Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III*. Springer: 2017.
6. Caesar, L. K.; Cech, N. B., Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1+1 does not equal 2. *Natural product reports* **2019**, *36*, (6), 869-888.
7. Domán, A.; Dóka, É.; Garai, D.; Bogdándi, V.; Balla, G.; Balla, J.; Nagy, P., Interactions of reactive sulfur species with metalloproteins. *Redox Biology* **2023**, 102617.
8. Osonga, F. J.; Akgul, A.; Miller, R. M.; Eshun, G. B.; Yazgan, I.; Akgul, A.; Sadik, O. A., Antimicrobial activity of a new class of phosphorylated and modified flavonoids. *ACS omega* **2019**, *4*, (7), 12865-12871.
9. Shamsudin, N. F.; Ahmed, Q. U.; Mahmood, S.; Ali Shah, S. A.; Khatib, A.; Mukhtar, S.; Alsharif, M. A.; Parveen, H.; Zakaria, Z. A., Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: A comparative interpretation. *Molecules* **2022**, *27*, (4), 1149.
10. Kalyan, N.; Santosh, O.; Indira, A.; Kuhad, A.; Chongtham, N., Therapeutic Aspects of Bamboo for Wound Healing. In *Bamboo Science and Technology*, Springer: 2023; pp 237-264.
11. Sato, A.; Ohishi, H.; Sakashita, T., The bactericidal effects of an amphoteric surfactant with ethanol against *Mycobacterium tuberculosis*. *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases* **1995**, *69*, (1), 91-97.

12. Kumar, S.; Singh, N.; Mittal, A.; Kharkwal, H.; Jain, S. K.; Goel, B., The genus *Leucas*: A review on phytochemistry and pharmacological activities. *Fitoterapia* **2023**, 105492.
13. Johnson, J. B.; Mani, J. S.; Naiker, M., Development and validation of a 96-well microplate assay for the measurement of total phenolic content in ginger extracts. *Food Analytical Methods* **2022**, 15, (2), 413-420.
14. Tian, W.; Chen, G.; Gui, Y.; Zhang, G.; Li, Y., Rapid quantification of total phenolics and ferulic acid in whole wheat using UV–Vis spectrophotometry. *Food Control* **2021**, 123, 107691.
15. El Aanachi, S.; Gali, L.; Nacer, S. N.; Bensouici, C.; Dari, K.; Aassila, H., Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2020**, 29, 101819.
16. Wang, B.; Peng, L.; Zhu, L.; Ren, P., Protective effect of total flavonoids from *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid on human umbilical vein endothelial cell damage induced by hydrogen peroxide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2007**, 60, (1), 36-40.
17. Blois, M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **1958**, 181, 1199-1200.
18. Barros, L.; Cruz, T.; Baptista, P.; Estevinho, L. M.; Ferreira, I. C., Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, 46, (8), 2742-2747.
19. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* **1999**, 26, (9-10), 1231-1237.
20. Öztürk, M.; Duru, M. E.; Kivrak, Ş.; Mercan-Doğan, N.; Türkoglu, A.; Özler, M. A., In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and chemical toxicology* **2011**, 49, (6), 1353-1360.
21. Szydłowska-Czerniak, A.; Dianoczki, C.; Recseg, K.; Karlovits, G.; Szłyk, E., Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* **2008**, 76, (4), 899-905.

خاتمة عامة

خاتمة عامة

باختصار، يُظهر العمل الحالي أن مستخلصات أوراق وساق *Oudinya africana* قد تكون مصدرًا قيمًا للبوليفينول. تدعم هذه النتائج استخدام الأوراق والسيقان كمكملات غذائية وتشير إلى أنها قد تساعد في منع الأمراض التي تسببها الجذور الحرة. علاوة على ذلك، تشير النتائج إلى أن لحاء الساق يمكن أن يعمل كعامل مضاد للجراثيم ضد البكتيريا التي تسبب أمراض الجهاز الهضمي لدى البشر. قد تكون هذه المادة النباتية بمثابة مصدر للعلاجات العشبية الجديدة والفعالة لعلاج الأمراض التي تسببها البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة في كل من الإعدادات السريرية والمجتمعية. يجب تحديد سمية المكونات النشطة، والآثار الجانبية، والخصائص الدوائية.

في الختام، تُظهر مستخلصات أوراق وساق *O. africana* جودة علاجية ممتازة، بما في ذلك نشاط مضاد للأوكسدة ومضاد للبكتيريا والفطريات. لفهم آليات عمل هذه المقتطفات وتحديد فعاليتها على المدى الطويل وسلامتها في علاج الأمراض المختلفة، يلزم إجراء دراسة إضافية. أظهر المستخلص أيضًا نشاطًا قويًا مضادًا للأوكسدة، مما يشير إلى أنه يمكن أن يساعد في منع الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي