الجمهوريـــة الجزائريـــة الديمقـراطيـة الشعبيـــة

وزارة التعليـم العـالـي والبحث العلمـي

رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

جـــامعـة الشهيـد حمـة لخضـر الـــوادي

كليـــة علـــوم الطبيعـــة والحيـــاة

قســـم البيـولـــوجيـــا

مـــذكـــــرة تخـــــرج

لـنيـــل شهـــــادة مـــــاستـــر أكـــاديـمـــي

ميدان: علـــوم طبيعـــة وحيـــاة

شعبـــة: علـــوم البيـــولـــوجيـــا

تخصص: التنوع البيئي و فيزيولوجيا النبات

الموضوع

المساهمة في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة من أوراق وأزهار نبات ورد الجمال

Hibiscus rosa-sinensis

من إعداد:
لطيفة خطارة – فاطمة الزهراء كينة

نوقشت يوم 2018/06/04 من طرف لجنة المناقش

أ. خلف يحي	أستاذ مساعد قسم (ب)	رئيسا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر
د. شويخ عاطف	أستاذ محاضر قسم (أ)	مؤطرا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر
د. جهرة علي بوتليليس	أستاذمحاضر قسم (أ)	ممتحنا	جـامعـة الشهيد حمه لخضر

الموسم الجامعي: 2018/2017

بسم الله الرحمن الرحيم

الـتـشكـرات

نحمد الله اولا واخيرا ونشكره شكرا يليق بعظمته وجلال قدره ان يسر لنا البحث في هذا الموضوع ، فله الحمد والثناء والمنة

نتقدم بالشكر الوافر والامتنان الغير منقطع للأستاذ الفاضل الدكتور شويخ عاطف لقبوله الاشراف على هذه المذكرة ، وعلى توجيهاته ونصائحه القيمة لإنجاز هذا العمل على أكمل وجه .

نتوجه بالامتنان والشكر الجزيل لأعضاء لجنة المناقشة الذين تفضلوا وقبلوا مناقشة وتقييم هذه المذكرة الدكتور جهرة علي بوتليليس

و الاستاذ الفاضل خلف يحي .

كما نتقدم بأسمى عبارات الشكر والعرفان لكل شخص مد لنا يد العون لإنجاز هذا العمل من قريب أو بعيد ونخص بالذكر الحادة عجال و علية فاطمة جازاهم الله خيرا .

وفي الاخير لا ننسى ان نشكر كل الاساتذة الذين ساهموا في تكويننا الدراسي ، وكل طلبة دفعة ماستر النوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات 2017/2018 وانمنى لهم جميعا كل التوفيق والنجاح.

الملخص

Résumé

Abstract

الملخص :

تهدف هذه الدراسة الى تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة من أوراق (FFLH) وأزهار (FFRH) نبات *Hibiscus rosa-sinensis* المقطوف من منطقة عين زعطوط (بسكرة).

سجل مردود المستخلصات تباين في القيم ، حيث تفوق مردود عينة الازهار (3.19%) على المردود عند عينة الأوراق بقيمة (1.53%) .

أبدت نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للجذر الحر •DPPH أعلى نسب تثبيط عند مستخلص FFRH حيث قدرت قيمة IC_{50} بـ (121.34 µg/ml) أما مستخلص FFLH الأوراق فسجل القيمة المقدرة بـ (201.66 µg/ml) .

أما في اختبار إنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) فأظهرت النتائج قدرة المستخلصات على تثبيط الانحلال الدموي ، حيث سجل كل من المستخلص (FFRH) و (FFLH) عند التركيز (1.2mg/ml) نسب إنحلال لكريات الدم الحمراء متقاربة قدرت بـ (62.09 %) و (62.47%) على التوالي .

مكنت نتائج التحليل النوعي للمستخلصات بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) التعرف على نوعية وتركيز بعض الأحماض الفينولية على غرار الفلافونويدات : حمض ب-كومارين ، حمض الكافييك ، حمض الغاليك ، الفانيلين ، نارجينين ، الروتين ، الكرستين .

الكلمات المفتاحية : *Hibiscus rosa-sinensis* ؛ الفلافونويدات، النشاطية المضادة للاكسدة، اختبار DPPH، اختبار Hémolyse .

Résumé :

Le but de cette étude est de comparaison entre les flavonoïdes extraits des feuilles (FFLH) et des fleurs (FFRH) de *Hibiscus rosa-sinensis* collecté dans la région d'Ain Zaatout (W. BISKRA).

Les résultats ont montré que la plus grande valeur des rendements dans l'extrait de fleurs FFRH (3.19%) supérieur à l'extrait de feuilles FFLH (1.53%).

L'activité antioxydants avec le test DPPH a montré que l'extrait de les fleurs (FFRH) avait la valeur élevée d'inhibition (IC_{50} = 121.34 µg/ml) comparée à l'extrait de les feuilles (FFLH) où était la valeur de IC_{50} (201.66 µg/ml).

Les résultats du test d'hémolyse ont montré une similitude des taux d'hémolyse (62.09% dans l'extrait de fleurs (FFRH) et 62.47% chez (FFLH)) avec la concentration 1,2 mg/ml.

L'analyse qualitative des extraits par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) a montré les différences de concentration et de qualité de certains acides phénoliques et flavonoïdes tels que l'acide Gallique , l'acide Caffiec , Vanilline , l'acide p-Coumarine , Rutine , Naringin et Quercitine.

Mots-clés: *Hibiscus rosa-sinensis* ; Flavonoïdes ; L'activité antioxydants ;test DPPH ; test Hémolyse .

Abstract:

The aim of this study is to comparison between the flavonoids extracted from the leaves (FFLH) and flowers (FFRH) of *Hibiscus rosa-sinensis* collected from the region of Ain Zaatout (W. BISKRA).

The results showed that the highest value of the yields in the extract of flowers FFRH (3.19%) superior of extract leaves FFLH (1.53%).

The antioxidant activity with the DPPH test showed the extract of Flowers (FFRH) have the High value of inhibition (IC_{50} = 121.34 µg/ml) compared by the extract of leaves (FFLH) where was the value of IC_{50} (201.66 µg/ml).

The results of hemolysis test showed a similarity of rates of hemolysis (62.06% in extract of Flowers (FFRH) and 62.47% in extract of leaves (FFLH)) with the concentration 1.2 mg/ml.

The qualitative analysis of the extracts by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) showed the differences in concentrations and quality of some phenolic acid and Flavonoid's such as : Gallic acid , Caffiec acid , Vanillin , p-Coumarin acid , Naringin **,** Rutin and Quercitin.

Key words: *Hibiscus rosa-sinensis* ; flavonoids ; The antioxidant activity ; DPPH test ; Hemolysis test .

الفهرس

التشكرات.....
الملخص :.....
الفهرس.....
فهرس الوثائق.....
فهرس الجداول .....
قائمة الاختصارات.....
مقدمة.....

الجزء النظري

الفصل الأول: الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

I. الإجهاد التأكسدي..... 4
1.المؤكسدات..... 4
2. الادوار الفيزيولوجية للجذور الحرة..... 4
3.تصنيف الجذور الحرة..... 5
1.3.من حيث استقرارها..... 5
2.3. من حيث النوع..... 5
4. مصادر الجذور الحرة..... 5
1.4. المصادر الداخلية..... 5
2.4. المصادر الخارجية..... 7
5. الاجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض..... 7
II- مضادات الأكسدة..... 8
1. تصنيف مضادات الأكسدة..... 8
1.1.مضادات الأكسدة الطبيعية..... 8
1.1.1. الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة:..... 8
2.1.1.الأنظمة غير الإنزيمية المضادة للأكسدة..... 9
2.1. مضادات الأكسدة المصنعة..... 10
2. آلية عمل مضادات الأكسدة..... 11

الفصل الثاني: الفلافونويدات

مدخل..... 13
1- تعريف الفلافونيدات..... 13

2- توزيعها وتواجدها في النباتات و المملكة النباتية..... 14
3- أهمية الفلافونويدات للنبات 14
4- الكشف عن الفلافونيدات..... 15
5- خصائص الفلافونويدات..... 15
6- التأثيرات المضادة للأكسدة للفلافونيدات..... 17
7- تصنيف الفلافونويدات..... 18
8- الفعالية البيولوجية للفلافونويدات..... 19

الفصل الثالث: دراسة تصنيفية لنبات ورد الجمال *HIBISCUS ROSA-SINENSIS*

1. دراسة العائلة الخبازية (FAMILLE MALVACEAE) 23
1.1. الخصائص العامة للعائلة..... 23
2. دراسة النوع *HIBISCUS ROSA-SINENSIS*..... 23
1.2. الخصائص العامة *Hibiscus Rosa-sinensis* 24
2.2. الوضعية التصنيفية :*Position Systématique*..... 25
3.2. ظروف الزراعة..... 25
4.2. أهمية النبات..... 26
5.2. المواد الفعالة في النبات 27
6.2. الإستعمالات الطبية التقليدية..... 27
7.2. الدراسات السابقة عن النبات 29

الجزء التطبيقي

الفصل الأول: المواد المستعملة والطرق المتبعة

I-المواد المستعملة..... 33
1- في الميدان..... 33
1.1.المادة النباتية 33
2.1.الأدوات والطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية 33
2. في المخبر 34
1.2.الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة..... 34
II.الطرق المتبعة 36
1. تحضير المادة النباتية..... **خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.**
2. تحضير المستخلص الفلافونويدي من أزهار وأوراق نبات *Hibiscus rosa-sinensis*..... 36
3.تقدير نسبة المردودية..... 38

4.التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء *HPLC* 38
5. طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة 39
1.5.اختبارDPPH 40
2.5. اختبار النشاطية ضد انحلال الكريات الدموية الحمراء 41

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة

I.النتائج 43
1.1. حساب نسبة المردود (*R%*) 43
2.1.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة 43
1.2.1.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH : 43
2.2.1.اختبار إنحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse : 45
3.2.1. نتائج التحليل الكروماتوغرافي عن طريق HPLC : 48
II. المناقشة 55
الخلاصة 60
قائمة المصادر والمراجع 63

فهرس الوثائق

الرقم	العنون	الصفحة
الوثيقة (01)	مواقع إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة على مستوى الميتوكندري	6
الوثيقة (02)	البنية الكيميائية لفيتامينE وفيتامين C	9
الوثيقة (03)	مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية	10
الوثيقة (04)	أ الهيكل القاعدي للفلافونويدات ؛ ب الوحدة الأساسية للفلافونويدات	14
الوثيقة (05)	أهم مواقع المخالب للأيونات المعدنية.	16
الوثيقة (06)	الهياكل الأساسية للفلافونويدات	19
الوثيقة (07)	زهرة نبات H. rosa-sinensis ورسم تخطيطي لمقطع طولي في الزهرة	24
الوثيقة (08)	توضح مناطق التحمل لدرجة الحرارة حسب USDA	26
الوثيقة (09)	الموقع الجغرافي لمنطقة عين زعطوط .	33
الوثيقة (10)	مراحل عملية إستخلاص الفلافونويدات من ازهار وأوراق النبات .	37
الوثيقة (11)	مخطط لجهاز HPLC	39
الوثيقة (12)	تفاعل DPPH مع الفينول .	40
الوثيقة (13)	مردود مستخلصات الاوراق والازهار لنبات ورد الجمال *Hibiscus Rosa-Sinensis*	43
الوثيقة (14)	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار الجذر الحر DPPH.	44
الوثيقة (15)	نسب التثبيط لجذر DPPH لمستخلصات أوراق وأزهار النبات.	44
الوثيقة (16)	قيم IC50 في إختبار DPPH لكل من حمض الأسكوربيك و المستخلص الفلافونويدي للأزهار والاوراق .	45
الوثيقة (17)	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء.	46
الوثيقة (18)	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المستخلصات المدروسة	46
الوثيقة (19)	نسب إنحلال كريات الدم الحمراء بـ % عند التركيز 1.2 mg/ml لكل من حمض الاسكوربيك و الفلافونويدات المستخلصة من اوراق وأزهار النبات .	47
الوثيقة (20)	المنحنى الكروماتوغرافي لمستخلص الفلافونويدي للأوراق نبات *Hibiscus Rosa-Sinensis*	48
الوثيقة (21)	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الفلافونويدي للأزهار *Hibiscus Rosa-Sinensis*	48

فهرس الجداول

الرقم	العنون	الصفحة
الجدول (01)	بعض الأمراض المتعلقة بالإجهاد التأكسدي و الجذور الحرة .	7
الجدول (02)	الفعالية البيولوجية لبعض الفلافونويدات	21
الجدول (03)	وضعية التصنيفية لنبات *Hisbicus rosa-sinensis*	25
الجدول (04)	توزع المواد الفعالة في كامل أجزاء النبات	27
الجدول (05)	بعض الاستعمالات الطبية التقليدية حول العالم لنبات *Hisbicus rosa-sinensis*	28
جدول (06)	الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري.	34
الجدول (07)	بعض المركبات الفينولية لمستخلص الأوراق (FFLH)	49
الجدول (08)	بعض المركبات الفينولية لمستخلص الأزهار (FFRH)	51
الجدول (09)	تركيز بعض المركبات الفينولية المعروفة في مستخلص الأزهار والأوراق.	53

قائمة الاختصارات

AA : Acide Ascorbique

AAO : Activité Antioxydant

Abs contrôle : Absorbance de solution son extrait

Abs échantillon : Absorbance de solution avec extrait

Ac : Absorbance de contrôle

As : Absorbance de DPPH avec l'échantillon

DPPH : Radical 2,2-Diphenyl-1pocrylhydrazil

Eoh : Ethanol

FeCl3 : Trichlorure de fer

FFLH : Flavonoïdes des feuilles Hisbicus

FFRH : Flavonoïdes des fleurs Hisbicus

Fv : Flavonoïdes

H2O2 : Bro-oxyde.

HPLC : Heigh Performance Liquid Chromatographie.

I% : Pourcentage d'inhibition

IC_{50} : Inhibition Concentration 50%

MeOH : Méthanol

µg : Microgramme

Mg : Milligramme

Ml : Millilitre

Nm : Nanomètre

R : Rendement

% : Pourcentage

مقدمة

مقدمة

لطالما اعتبرت النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان ، ولا تزال العديد من الثقافات التقليدية تثمن الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية . يتقدم علم التداوي بالأعشاب بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم ويزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية في مجال البحث البيو صيدلاني نظرا لخصائصها العلاجية وكلفتها المنخفضة وسهولة الحصول عليها وكذا الاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا ونجاعة من العقاقير المصنعة.

تحتوي النباتات على العديد من المركبات الفعالة التي تعكس الإمكانات العلاجية لهذه النباتات ، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة البعض من الامراض ، فضلا على أن استعمال هذه العقاقير يخلو من الآثار الجانبية الضارة التي تصاحب استعمال الأدوية المصنعة أحيانا ، كونها مواد كيميائية مركزة تم تحضيرها في المعمل تحت ظروف قاسية. بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا أن تجعل المواد الفعالة في النباتات بتراكيز مخفضة يمكن للجسم البشري التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية ، قال سبحانه وتعالى في كتابه الكريم ﴿ ألم تروا أن الله سخر لكم ما في السماوات و ما في الأرض وأسبغ عليكم نعمة ظاهرة وباطنة﴾ لقمان الآية 22 .

لوحظ انخفاض في الإصابة بمجموعة من الامراض عند تناول الأطعمة والمشروبات الغنية بالمركبات الفينولية خاصة الفلافونويدات التي تمثل أكثر مضادات الأكسدة الطبيعية إنتشارا و تنوعا في المملكة النباتية و ذات نشاطية بيولوجية و صيدلانية واسعة ، تعمل مضادات الأكسدة على خفض الأضرار التأكسدية على مستوى الخلايا والجزيئات الحيوية التي تسببها الأنواع الأكسجينية Réactive Oxygène Species (ROS) و النيتروجينية النشطة Réactive Nitrogene Species (RNS) . فقد وجد أن الأنواع الأكسجينية (ROS) و النيتروجينية (RNS) تساهم في التخريب التأكسدي مسببة بذلك ظهور أو إستمرار العديد من الأمراض عند الإنسان مثل إلتهاب المفاصل ، داء السكري ، الإلتهاب المزمن والإختلالات العصبية مثل مرض الزهايمر وبعض أنواع السرطان (Valko *et al*,2007).

إن الإهتمام بمضادات الأكسدة في تزايد مستمر وذلك راجع لقدرتها العالية على إزاحة الجذور المرتبطة بالعديد من الأمراض ، كما زاد الإهتمام أكثر بمضادات الأكسدة الطبيعية المتواجدة في النباتات الطبية والتي يعتقد أنها تقدم تأثيرات إيجابية للصحة مع أقل تأثير جانبي ومن بين هذه النباتات *Hisbicus Rosa-Sinensis* أو كما تدعى بورد الجمال ، ينتمي النبات الى العائلة الخبازية *Malvaceae* وتمتلك العديد من التأثيرات حيث استخدمت قديما حول شعوب العالم لعلاج العديد من الأمراض كالإنفلونزا ، السعال ، الإسهال وآلام المعدة .

ارتأينا في عملنا الى دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات أوراق وأزهار نبات *Hisbicus Rosa- Sinensis*.

فما هي أهم المركبات الفعالة ذات التأثير المضاد للأكسدة الموجودة في هذا النبات وما هي تأثيراتها على العضوية ؟ وكيف يتم قياس الفعالية المضادة للأكسدة لهذه المركبات ؟

للإجابة عن هذه الإشكالية سنتطرق في بحثنا الى دراسة نبات *Hisbicus Rosa- Sinensis* من خلال تحضير المستخلصات الميثانولية بطريقة النقع ومن ثم التعرف على بعض المركبات الفينولية بإستعمال طريقة الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء HPLC ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة بتطبيق إختبارين إزاحة الجذور الحرة DPPH و إختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse ، حيث قسمنا عملنا الى جزئيين :

- **الجزء النظري** : يتضمن ثلاثة فصول ، تناولنا في الفصل الأول مفهوم الإجهاد التأكسدي و أنواع ومصادر الجذور المؤكسدة ، أما في الفصل الثاني استعرضنا عموميات على الفلافونويدات و أهميتها البيولوجية ، وفي ما يخص الفصل الثالث تطرقنا الى دراسة شاملة للعائلة الخبازية *Malvaceae* و نبات *Hisbicus Rosa- Sinensis* من حيث الوصف النباتي والتصنيف العلمي وأشهر استعمالاته الطبية .
- **الجزء التطبيقي** : يتضمن فصلين ، خصصنا الفصل الأول للطرق العملية المتبعة والمواد والاجهزة المستعملة لتحقيق هذه الدراسة أما الفصل الثاني فقمنا بعرض النتائج و مناقشتها و مقارنتها بالدراسات السابقة . وفي الأخير أنهينا دراستنا بخلاصة لخصنا فيها أهم النتائج التي توصلنا إليها من خلال هذا العمل المتواضع.

الفصل الأول

الإجهاد التأكسدي

ومضادات الأكسدة

I. الإجهاد التأكسدي

يوجد توازن الخلايا السليمة بين إنتاج للجذور الحرة ونقص في كمية مضادات الأكسدة تدعى هذه الحالة بالإجهاد التأكسدي مسببا أضرار خلوية خطيرة في حالة ما إذا كان الإجهاد قويا و ذو فاصل زمني طويل (SHINDE *et al*.,2012) .

عرف العالم SIE في سنة 1990 مصطلح الإجهاد التأكسدي انه عدم قدرة الجسم على الدفاع ضد هجوم الأنواع الأكسجينية النشطة ROS ، وهذا راجع إلى الاختلال الناتج عن فرط إنتاج ROS ، أو قلة قدرة الأنظمة المضادة للأكسدة (PINCEMAIL *et* DEFRAIGNET.,2007).

1.المؤكسدات

الجذور الحرة عبارة عن أنواع كيميائية (ذرات او جزيئات) تملك واحد او العديد من الالكترونات الحرة في المدار الخارجي كما يمكن إن تتواجد مستقلة (HALIIWELL *et* VANSANT.,1999 ;GUTTERIDGE.,2004). وجود إلكترون وحيد في المدار الخارجي يجعل الجذور الحرة في حالة نشاط عالي مع نصف عمر قصير، قد تكون هذه الأنواع مؤكسدة (تكسب إلكترون) أو مرجعة (تتخلى عن إلكترون) ، عدم استقرارية هذه الأنواع تجعل من الصعب ملاحظتها في الأوساط البيولوجية (BONNEFONT-ROUSSELOT *et al*.,2003).

2. الادوار الفيزيولوجية للجذور الحرة

- يرتبط مصطلح الإجهاد التأكسدي في العموم بالأضرار والإصابات الخطيرة ، إلا أنه من جهة اخرى تساهم الجذور الحرة كذلك في العديد من الوظائف الفيزيولوجية كالمناعة ، حيث تؤثر بالتحديد ضد المستضدات أثناء عملية البلعمة.
- كما تلعب دورا هاما في نقل الإشارات الخلوية ، وفي البناء الحيوي للخلايا (تقوم بدور مراسيل خلوية) وبإمكانها أن تعدل من حالة الأكسدة الإرجاعة.
- تعرف الجذور الحرة أيضا بتدخلها في تنشيط الإنزيمات، وتلعب دورا هاما في التقلص العضلي (FINAUD *et al*.,2006.).
- يمتلك جذر NO^- العديد من الوظائف الفيزيولوجية على مستوى الجهاز العصبي ، فهو يؤثر كمنظم عصبي ويلعب دورا في المرونة المشبكية وفي الذاكرة طويلة المدى ، أما على مستوى الجهاز الوعائي ، فهو ينظم الضغط الدموي ويثبط تكتل الصفائح الدموية ويهدم بعض الكائنات الحية الدقيقة (SORG.,2004).

3.تصنيف الجذور الحرة

1.3.من حيث استقرارها :

- **الجذور الحرة التي لها أعمار حياة قصيرة (غير مستقرة)**

وهي الجذور الحرة غير المستقرة في الظروف العادية ، تقدر أعمار حياة هذه الجذور بالميكروثانية أو أقل حتى تصل الى البيكوثانية . ويشمل هذا النوع ذرات العناصر مثل : الهيدروجين والنيتروجين والكلور والفلور والجذور التي وزن جزيئي ضعيف بصورة عامة مثل : NO ، OH، CH3 .

- **الجذور الحرة التي أعمار حياة طويلة (مستقرة)**

وهي الجذور التي تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو حتى الأيام مثل جذر Triphenylméthyl (TP3M) ، DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhdrazyl). (حوة،2013)

2.3. من حيث النوع:

يمكن أن تشتق هذه الجذور :

- من الأكسجين وتسمى الأنواع الأكسجينية النشطة (ROS) وأهمها جذر فوق الأكسيد($O_2^{\cdot}$) بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، جذر الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$).
- أو من النيتروجين وتسمى الأنواع النيتروجينية النشطة (RNS) و أهمها جذر أكسيد النيتروجين ($NO^{\cdot}$) ، بيروكسيد النيتروجين الهيدروجيني ، بيروكسيد النيتيرات ($ONOO^{-}$) ، ثنائي أكسيد النيتروجين ($NO2^{\cdot}$) (جيدل،2015).

4. مصادر الجذور الحرة

تختلف مصادر الجذور الحرة منها ما هو داخلي و/أو خارجي :

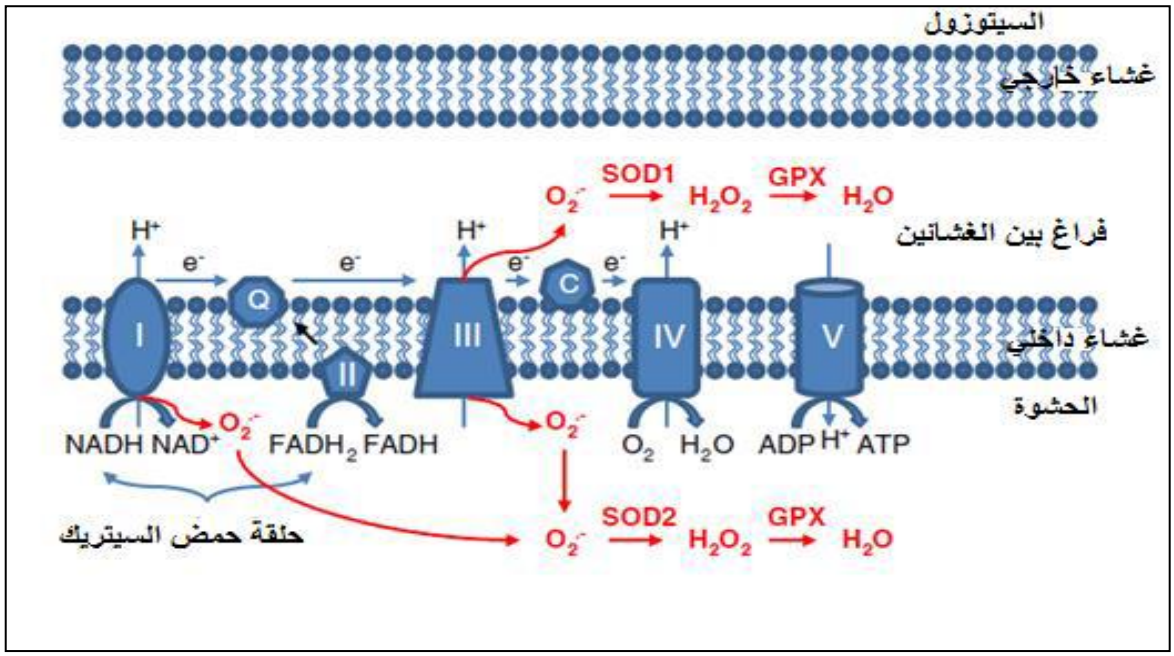
1.4. المصادر الداخلية:

1.1.4.العمليات الأيضية:

تمثل الميتكوندريا المصدر الرئيسي للأنواع الأكسيجينية النشطة في الفيزيولوجيا ، إذ تنتج حوالي 90 % من ROS عبر الميتابوليزم الخلوي و السلسلة التنفسية (BALBAN *et al*.,2005) .

يعتبر كل من المركبين NADH-ubiquinone oxidoreductase و reductase ubiquinone-cytc من إنزيمات المتيكوندري التي تنتج $O_2^{\cdot}$ و H_2O_2 (GUTIERREZ *et al.*, 2006) .

كما تقوم المتيكوندري بإنتاج H_2O_2 و $OH^{\cdot}$ من خلال تحول $O_2^{\cdot}$ وتفاعل Fenton (NEPOOLIAN *et al*., 2004).



الوثيقة (01): مواقع إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة على مستوى الميتوكندري (LI *et al*.,2013).

2.1.4. إنزيم NADPH oxidase

يتواجد إنزيم NADPH oxidase في العديد من الخلايا على مستوى الغشاء البلازمي ، حيث يلعب دورا أساسيا في الإستجابة ضد العضيات الدقيقة وذلك بإنتاج كميات عالية من جذر $O_2^{\cdot-}$ بتحويل الالكترونات من NADPH إلى الأكسجين الجزيئي (MEDOW.,2011).

3.1.4. إنزيم XO (Xanthine oxidase)

يعتبر XO مصدرا مهما لإنتاج جذر H_2O_2 و $O_2^{\cdot-}$ من خلال أكسدة xanthine أو hypoxanthine إلى حمض اليوريك خلال الأمراض الإلتهابية (KELLEY.,2010) . كما أن XO يقوم بإنتاج $NO^{\cdot}$ من خلال عملية تحفيز إرجاع nitrite و nitrate إلى nitrite و NO على التوالي (CHOI *et al*.,2002).

4.1.4. إنزيم Nitric oxide synthétase (NOS)

يتواجد انزيم (NOS) في أنسجة الثديات على ثلاث أشكال وهي على ثلاثة أشكال وهي eNOS (endothelial nitric oxide synthase) و nNOS (neuronal nitric oxide synthase) و iNOS (inducible nitric oxide synthase) . تقوم الأشكال الثلاثة بتحفيز إنتاج –NO في العديد من الخلايا عن طريق أكسدة L-areginine أو إرجاع nitrites (VANIN *et al*.,2007).

5.1.4. إنزيم lipoxygenase (LOX)

يعتبر إنزيم LOX مصدر مهما لإنتاج ROS في جدران الأوعية الدموية (KOUSHIISHI.,2009) حيث يتدخل في أكسدة الأحماض الدهنية الغير مشبعة لإعطاء مشتقات هيدروبيروكسيد الأحماض الدهنية التي تعتبر سامة بالنسبة للخلايا ، كما يتدخل في إنتاج أنواع أكسجينية أخرى عند تنشيط اللمفاويات البائية في مزارع خلوية (WERZ *et al*.,2000) .

6.1.4. المعادن

تعتبر ايونات المعادن المرجعة الموجودة بشكل حر مثل النحاس والحديد محفزات قوية في تفاعلات الاكسدة ، فبتفاعل ايونات الحديد مع H_2O_2 في وجود الاكسجين، والتي تؤدي إلى إدخال الليبيدات في سلسلة تفاعلات الأكسدة، كما أن تفاعل H_2O_2 مع ايونات الحديد يؤدي الى تشكيل HO^- الأكثر فعالية و أكسدة للجزيئات البيولوجية (SPICKETT et REIS.,2012).

2.4. المصادر الخارجية

يتعرض الجسم لمختلف العوامل الخارجية التي تؤدي إلى تكوين الجذور الحرة ، حيث تتسب الأشعة فوق البنفسجية في إنتاج –OH و–O2 (PAVLOU *et al.*,2009) ، كما تؤدي أكسدة الأدوية و الكحولات على مستوى الكبد إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة (MARI *et* al.,2010) .

تعتبر المعادن السامة من أهم المصادر الخارجية لإنتاج الجذور الحرة والتي تتمثل في الكروم (Cr) ، النحاس (CU) و Vanadium (V) وبعض الجزيئات المستنشقة مثل السيليس و amiante والأشعة المؤينة مثل الأشعة X محفزات قوية لتفاعلات الأكسدة وإنتاج الجذور الحرة (KOIVULA *et al.*,2011) كما يمكن للمخدرات مثل الكوكايين أن تسبب أضرارا تأكسدية على مستوى الجلد وذلك بتنشيطها لإنزيم XOR و NOS (COHEN *et al.* , 2010) .

5. الاجهاد التأكسدي وعلاقته بالأمراض

ـ إن الإنتاج المفرط للأنواع الأكسجينية والجزيئات المؤكسدة يلحق أضرارا بالجزيئات البيولوجية خاصة الليبيدات،بما في ذلك الكولسترول الغشائي، والأحماض الدهنية الحرة والغشائية والبروتينات المتغيرة بالأكسدة تفقد مميزاتها البيولوجية وتصبح جد حساسة لإنزيم البروتياز(Protease).

أكسدة DNA حيث يمكن أن نميز عدة أقسام أساسية (abasique) للأضرار التأكسدية المحفزة بواسطة جذر الهيدروكسيل : القواعد المؤكسدة، المواقع غير القاعدية ، إضافة جزيئات بين ذراعي DNA وتكوين جسور DNA- بروتين . من أمثلة الأضرار التي قد تسببها الجذور الحرة على القواعد الأزوتية نذكر منها : 5-hydroxymethyl Uracile ، 8-oxo-guanin، 8-nitro-guanine : 8(جرموني،2009).

كما أظهرت العديد من الدراسات أن الإجهاد التأكسدي مرتبط بظهور العديد من الأمراض كعامل محفز لها ، ترتبط معظم الأمراض المحفزة للإجهاد بالسن، لأن الشيخوخة تخفض من الدفاع المضاد للأكسدة لجذور وتزيد من إنتاج الميتوكوندري للجذور الحرة (BALBAN *et al.*,2005). بعض الأمراض التي يعتبر الإجهاد التأكسدي محفزا رئيسيا لها موضحة في الجدول(1):

الجدول(01) : بعض الأمراض المتعلقة بالإجهاد التأكسدي و الجذور الحرة .

الأمراض	المراجع
السرطان	(MAERINZ *et al*.,2010)
أمراض اقلب والأوعية	(LAKSHMI *et al*.,2009)
داء السكري	(KASHIHARA *et al*.,2010)
Alzheimer,Parkinson	(FILOSTO *et al*.,2011)
الالتهاب	(SYRKINA *et al*.,2008)
التهاب المفاصل	(WRUCK *et al*.,2011)
الشيخوخة	(ROMANO *et al*.,2010)
الحساسية	(LI *et al*.,2010)

II- مضادات الأكسدة

إن العضوية مجهزة بمجموعة أنظمة دفاعية ضد RNS وROS يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل المركبات التي تتواجد بتراكيز ضعيفة مقارنة بالمادة المؤكسدة والتي تعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة (GUEYE.,2007) . تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع انتشارها أو هدمها (MIQUEL .,2002) لذلك فان الخلية تستعمل العديد من الآليات المضادة للأكسدة ، وتستهلك كميات عالية من الطاقة لمراقبة مستوى ROS .

وتختلف طبيعة هذه الأنظمة المضادة للأكسدة حسب الأنسجة والنوع الخلوي وحسب تواجدها في الوسط داخل وخارج الخلوي (BONNEFONT-ROUSSELOT *et al*.,2003) .

1. تصنيف مضادات الأكسدة

1.1.مضادات الأكسدة الطبيعية

1.1.1. الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة:

ونقصد به ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالإنزيمات الجليتاثيون والكاتالاز والبيروكسيداز. يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة من أهمها :

1.1.1.1. أنزيم Superoxide dusmutase (SOD)

يعتبر إنزيم (SOD) من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي ، حيث يحفز هذا الإنزيم عملية دسمتة - O_2 إلىH_2O_2 بمساهمة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس والزنك. (FUKAI ET USHIO-FUKAI, 2011).

2.1.1.1.إنزيم Catalase:

يوجد إنزيم CAT في أغلب الكائنات الحية وفي كل أعضاء الجسم ويتركز خاصة في الكبد وكريات الدم الحمراء والكلى وبكميات قليلة في المخ والقلب والعضلات الهيكلية ، و يعمل على التخلص من H2O2وذلك بتحويله إلى H2O و O 2. (ODAJIMA *et al*., 2010).

3.1.1.1. إنزيم Glutathion réductas (GR) و Glutathion peroxidase. (GPX)

ينتشر كل من Glutation peroxidase (GPx) و Glutathion réductase (GR) في العديد من الأنواع الخلوية ، حيث يتمركزان في الميتوكندري و السيتوزول ، ويعتبران من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة ، وذلك لقدرتهما على إزاحة عدد من الجذور و الهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة الكولسترول والأحماض الدهنية . (HERBETTE *et al*.,2007).

2.1.1.الأنظمة غير الإنزيمية المضادة للأكسدة

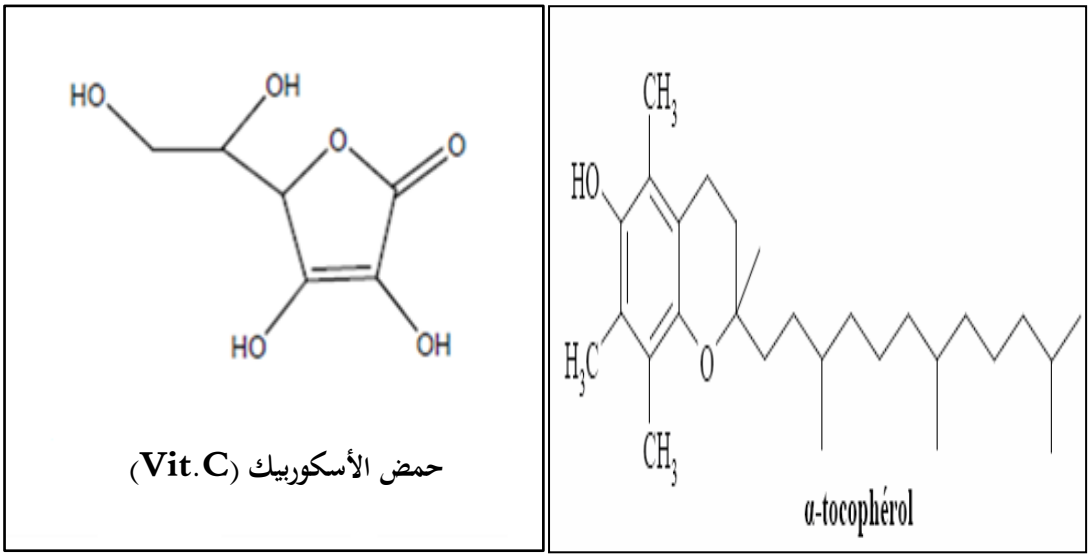
على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية ، معظم هذه المركبات لا تنتج من طرف العضوية وقد يتم الحصول عليها من الأغذية ، حيث نجد ضمن قائمة مضادات الأكسدة كلا من الغليتاثيون المرجع (GSH) وVit C وVit E و الكارتونويدات و الفلافونويدات وغيرها .

1.2.1.1.فيتامين c و فيتامين

يقوم كل من Vit. C و Vit. E بمساعدة النظام الدفاعي للجسم على إزالة سمية بعض المواد الكيميائية وذلك عن طريق عملية الأكسدة و الاختزال في الجسم (CALABRESE *et al*.,2010) .

يمكن لVit. C أن يقوم بإزاحة كل من$O2^{-}$ ، OH^{-} ، NO^{-} الناتجة عن الأيض الخلوي كما يمكنه إستخلاب المعادن ومنع أكسدة LDL ، يعتبر α-tocopherol والمعروف بإسم Vit. E من المركبات المضادة للأكسدة الذائبة في الدهون ، يتواجد على مستوى الأغشية ويثبط سلسلة تفاعلات فوق أكسدة الدهون (TRABER.,2007) ، يتفاعل Vit. E مع الجذور اللبيدية و يمنع إنتشارها حيث على إستخلاب هذه الجذور ويتحول بدوره إلى جذر حر ولكنه أقل فعالية من جذر البيروكسيل (LOO –) ، كما يعمل Vit. C على الرفع من فعالية Vit. E وذلك بإرجاع الجذر .α-tocopheryl (α-TO•)

(RYAN *et al*., 2010).



الوثيقة(02): البنية الكيميائية لفيتامين E (جرموني،2009) وفيتامين C (بكه وحفيان،2016)

2.2.1.1. إنزيم Glutathion

يحتوي هذا البيبتيد الثلاثي على مجاميع الكبريت SH (γ-glutamyl-cystein-glycine) . يتواجد الجليتاثيون في الأنسجة الحيوانية ، تمثل أهم مضادات الأكسدة التي لها دور في الحماية داخل الجسم ، حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي عبر إختزال البيروكسيداز وجذر tocopheryl (α-TO•). (RYBKA *et al.*,2011) .

3.2.1.1. الكاروتنويدات

و هي عبارة عن قسم هام من المركبات النباتية ، تتواجد في الخضر و الفواكه و الحليب من أمثلتها β -caroténe و α-caroténe و lutéine وphytoéne ... إلخ وتعمل كصبغيات في النبات.

(COHEN.,2003) ، تمتلك نشاطية مادة للأكسدة كتلك الموجودة عند tocopherol ، فعن طريق السلسلة الكربونية الطويلة لها والغنية بالروابط المزدوجة يمكنها إزاحة الجذور البيروكسيل وجذر O_2^{1} ، فجزيئة واحدة من الكاروتنويدات تستطيع تثبيت العديد من الجذور الحرة (ROLLAND.,2004) .

4.2.1.1. الفلافونيدات:

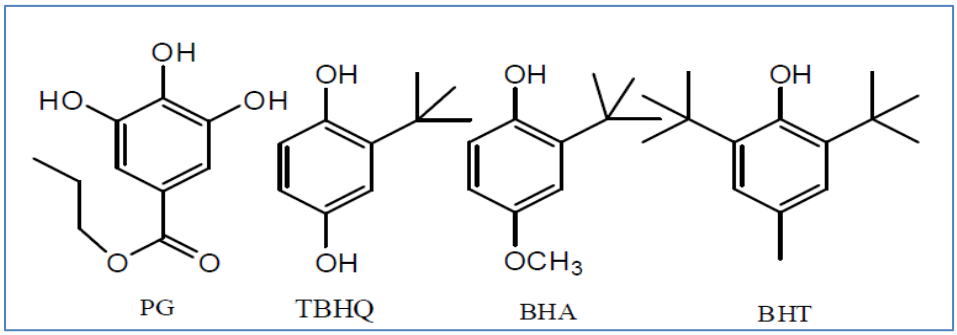
تساهم الفلافونويدات في الدفاع الخلوي المضاد للأكسدة والوقاية من العديد من الأمراض المتعلقة بالإجهاد التأكسدي (MARTINZ *et al.*,2002) ، تقوم الفلافونيدات بالتأثير المضاد للأكسدة عن طريق تثبيط الإنزيمات المنتجة للجذور الحرة أو التقاط بقايا المعادن المنتجة للجذور الحرة أو تحريض تعبير الإنزيمات المضادة للأكسدة ، وتجديد الأنظمة المضادة للأكسدة (HE *et al.*,2010) .

2.1. مضادات الأكسدة المصنعة

تعتبر مضادات الاكسدة المصنعة كعنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إتلافها إلى أقصى حد وذلك لسرعة تأكسدها ومن أمثلتها :

Gallate : (PG) ، Butyl hydroxyl toluene : (BHT) ، Butyl hydroxyl anisole : (BHA)
Tetra-bulhydroquinon : (TBHQ) ، propylée

هذه المركبات واسعة الإستعمال في الصناعة الغذائية لأنها فعالة وقليلة التكلفة بالمقارنة بمضادات الأكسدة الطبيعية كما أنها غير سامة (زينب ، 2015) ; (HAMIA., 2007) .



الوثيقة (03): مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية(بكه وحفيان،2016)

2. آلية عمل مضادات الأكسدة

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنيتروجين والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى لذا فان القليل من جزيئات مضادات الأكسدة كبعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما ، إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان ، رغم ذلك لا يمكن أن نعيش بدون جذور حرة فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم ، وتستخدم أيضا في إنتاج الطاقة ، والمشكلة تكمن في أن معظم الناس يتعرضون لكميات فائضة (زائدة) من الجذور الحرة ، ولكن يمكن تجنب العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أو تزيد من إنتاج أجسامنا لها بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات والفواكه (بكه وحفيان،2016) .

الفصل الثاني

الفلافونويدات

مدخل

نظرا لاستعمال الفلافونيدات في عدة ميادين حيوية ، إضافة لما لها من فوائد صيدلانية ؛ أثارت فضول واهتمام العديد من الباحثين والصيادلة للبحث في اهميتها. حيث تعتبر هذه المركبات من أهم المجموعات الكيميائية الطبيعية التي تقدر بحوالي 4000 بنية في صورة أثيروزيدية أو إجليكونية (HARBORNE *et* WILLIAM. , 1995 ; HARBORNE., 1988) .

تتواجد الفلافونيدات في معظم أصناف النباتية في مختلف أعضائها ؛ إلا أن نسبتها تختلف من صنف لآخر، ومن عضو لآخر (HARBORNE., 1973) .

1- تعريف الفلافونيدات

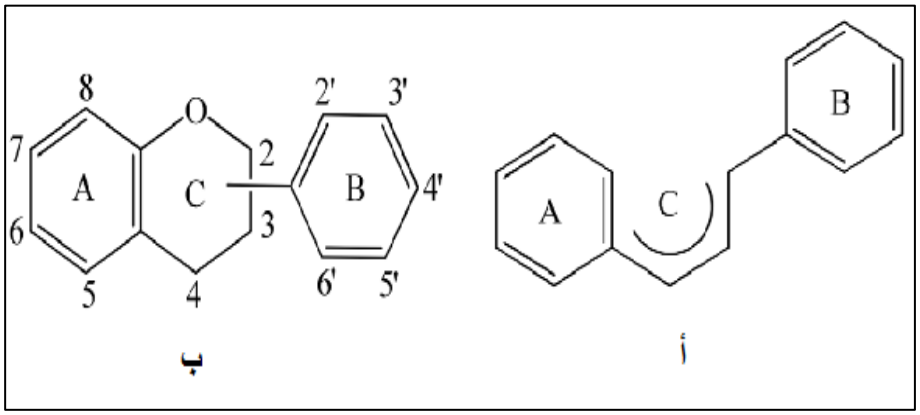
الفلافونيدات عبارة عن مركبات طبيعية تحتل قسما كبيرا من نواتج الأيض الثانوي . عرفت لأول مرة من قبل العالم "Albert Szent-györgyi" والذي صنفها على أساس أنها فيتامين P .

(MABRY *et al*., 1970) .

ومصطلح Flavonoide في اللغة اللاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus وتعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة منتشرة في جميع أجزاء النبات ، خاصة الجزء الهوائي منه ، وهي المسؤولة عن إعطاء الألوان للأزهار، الأوراق والفواكه في بعض الأحيان (HARBORNE., 1975) ، وتتوزع بشكل واسع وبتنوع كبير في النباتات الراقية خاصة كاسيات البذور (Angiospermes) وبصفة متوسطة عند عاريات البذور وشبه منعدمة في الفطريات والطحالب . (HARBORNE .,1989) أما على المستوى الخلوي يمكن العثور على هذه المركبات في شكلها الحر (أجليكونات) أو على شكل جليكوزيدات (مرتبطة بالسكر) (بكه وحفيان،2016) .

تظهر الفلافونيدات في النباتات ببنى كيميائية مختلفة ، إذ تم التعرف على أكثر من 9000 فلافونيد (WILLIAMS *et* GRAYER., 2004) جميعها تشترك في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15 ذرة كربون ، تتوزع على حلقتين عطريتين A وB ترتبطان بسلسلة تحتوي ثلاث ذرات كربون، قد تكون مفتوحة وقد تكون حلقية لتشكل الحلقة (C) التي تمثل حلقة البيران المركزية، وتعطي الهيكل القاعدي للفلافونويدات التي تنحدر منه الوحدة الأساسية المسماة 2-Phenylchromane كما في الوثيقة 04 .

(ATHAMENA.,2009)



الوثيقة (04) : أ : الهيكل القاعدي للفلافونويدات ؛ ب : الوحدة الأساسية للفلافونويدات (HARBORNE.,1988)

2- توزيعها وتواجدها في النباتات و المملكة النباتية

تعد الفلافونيدات من نواتج الأيض الثانوي في جميع النباتات الراقية كما تتواجد في النباتات الدنيا لكن بصيغ بنيوية بسيطة . تتنوع المركبات الفلافوندية في كل أجزاء النبتة حيث تتواجد على شكل ايتروزيدات أكثر ذوبانية في الماء هذا ما يسمح بتخزينها وتمركزها في الخلية النباتية للزهرة و الأوراق و الساق و الجذور . (BRUNETO J., 1999) ، كما تتواجد على شكل أجليكونات السطحية للأوراق . وتتواجد في أوراق بعض النباتات على شكل بلورات في الخلية مثل cactacées و نباتات المناطق الجافة (IWASHINA T ., 2000) .

أما متعددة الميثوكسي فتتواجد في سيتوبلازم الخلية (HARBOME.,1973) (WOLLENWEBER *et* DIETZ., 1980) كما تتواجد الفلافونيدات في قشور الفواكه الحمضية مثل البرتقال و الليمون و كذلك الخضروات و الجوز و البذور بشتى أنواعها و البقوليات الخضراء و الشاي و القهوة و الكاكاو .

3- أهمية الفلافونويدات للنبات

نظر للألوان الزاهية التي يمنحها الفلافونويدات لأعضاء النبات خاصة على مستوى الأزهار فهي تلعب دورا في المحافظة على استمرار الأنواع النباتية ؛ وذلك لأنها تعمل على جذب وجلب الحشرات والطيور التي تساعد في عملية التأبير، ومن أهم الفلافونيدات المسؤولة على هذه الخاصية هي الأنثوسيانات والفلافونولات (HARBORNE *et* SMITH ,. 1978a)

. (HARBORNE *et* SMITH ,.1978b) ;

كما لها دور في حماية النباتات من الجراثيم والطفيليات ، إضافة إلى قدرتها على حماية الخلايا والأنسجة من التلف إثر تعرضها لأشعة الشمس الخطرة .

. (BREHM *et* KRELL ., 1975) ; (MC LURE J .W,. 1975)

4- الكشف عن الفلافونيدات

يمكن الكشف عن المركبات الفلافونيدية بألوان المميزة التي تعطيها مع الكثير من الكواشف التي تستخدم في الدلالة على المركبات الطبيعية من بينها :

- كلوريد الألمنيوم (5%) : يعطي بقع صفراء في وجود المادة الفلافونيدية التي تحمل مجموعة هيدروكسيل في الموضع 5 .

- هيدروكسيد الصديوم : يعطي بقع صفراء أو برتقالية مع جميع الفلافونيدات .

- حمض الكبريت المركز : يعطي في وجود كل الفلافونيدات ألوان صفراء أو برتقالية .

- محلول الفانيلين : 5% (HCL) : يحضر بإضافة HCl المركز الى محلول فانيلين (vanilline) في الإيثانول بنسبة (1:4) على التوالي . ويستدل على وجود جميع الفلافونيدات في الحال أو بعد التدفئة البسيطة ، إلا أن الفلافانونات تعطي إيجابية تجاه هذا الكاشف ولكن بصورة أبطا من الفلافونيدات الأخرى .

- كاشف Neu : يعطي هو الآخر ألوانا صفراء وبرتقالية مع المركبات الفلافونيدية خاصة الفلافونولات و الفلافونات (El HAZIMI H ., 1995) .

5- خصائص الفلافونويدات

ترتبط خصائصها بنوع وقسم الفلافونيد وبحالة وجوده (فلافونويدات حرة ، جليكوزيدية كبريتية...) ؛ لكن يمكن تلخيص أهمها فيما يلي :

• تختلف ألوان الفلافونويدات باختلاف أنواعها فمثلا : الفلافونات ، الفلافونولات و الاورونات تتواجد بالوان تتدرج من الأصفر حتى الأحمر؛ أما الأنتوسيانيدات فتختلف بين الأحمر القاتم، البنفسجي والأزرق .

• تتعلق ذوبانيتها بشكل تواجدها ومستبدلاتها فالفلافونويدات الجليكوزيدية ، الكبريتية والانتوسيانيدات تذوب في الماء والكحول ، بينما الأقل استبدالا تذوب في الإيثر، خلات الإيثيل الأسيتون ، أما الفلافونويدات الأجليكونية متعددة الميثوكسيل فتذوب في المحاليل الأقل قطبية كإيثر البترول والكلوروفورم (HODEK et al., 2002) .

• لها دور في مراقبة نمو وتطور النبات وذلك من خلال تفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية . كما تتكامل فيما بينها لتساهم فيما يسمى بـ: Phytoalexines وهو إنتاج النبتة لأيض يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا و الفطريات (MARFAK., 2003) .

• تحمي نسيج النبات لكونها تمتص الأشعة فوق البنفسجية (250 - 270 ن.م) وعليه فهي تحمي المواد الأساسية (البروتينات والأحماض النووية) من الآثار السامة لهذه الإشعاعات.

(MC. LURE., 1975) ، كما تساعد على الإنقاص من ظاهرة النتح في المناطق الجافة . (WOLLENZEBER.,1980)

• تعتبر مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ، ذوابة في القواعد القوية مثل : هيدروكسيل الصوديوم ويتم هدم معظمها في ظروف قاعدية قوية وهذا بتكسير الحلقة C ، من أجل هذا ثبت أنها ليست سامة للإنسان و الثدييات ، حيث يتم هدمها على مستوى الأمعاء .

• حسب (HALLIWELL., 1994) ، تعتبر من مضادات الأكسدة وذلك لأن لها القدرة على :

- الإحاطة بـ ROS وتثبيطها وذلك وفق التفاعل الموضح في المعادلة التالية :

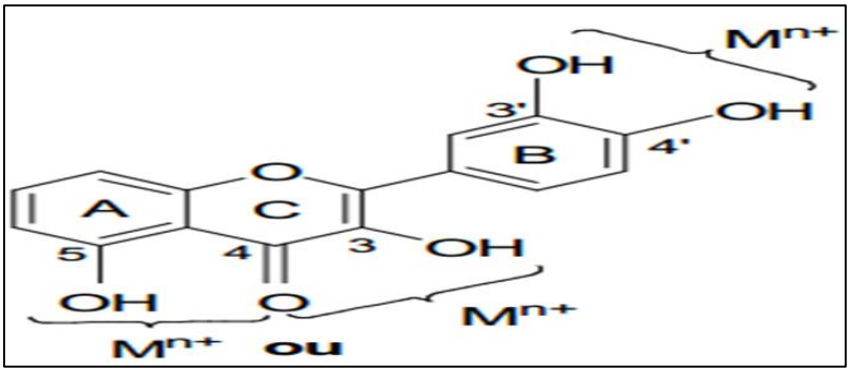
$$Fl\text{-}OH + R^{\cdot} \longrightarrow Fl\text{-}O^{\cdot} + RH$$

- تثبيط بعض الأنزيمات كـ: XO والذي يعتبر المصدر البيولوجي للجذر فوق المؤكسد Superoxyde ، حيث أثبتت دراسة العالم HANASAKI ومساعدوه (HANASAKI *et al.*, 1994) حول مرض La goutte (وهو مرض ناتج عن ارتفاع نسبة حمض اليوريك في الدم) أنّ بعض الفلافونويدات تؤثر على XO وبالتالي تخفيض تركيز حمض اليوريك مما يساعد على السيطرة على هذا المرض . وقد أكدت نتائج أعمال COS ومساعدوه (COS *et al.*, 1998) ذلك ، حيث أثبتوا دور الرابطة C_2-C_3 بالنسبة للفلافونات و الفلافونولات في تثبيط أنزيم XO .

• إنّ لبعض الشوارد المعدنية كـ: Fe^{2+} و Cu^{+} دورا هاما في بعض الوظائف الفيزيولوجية إذ تدخل في تركيب بعض البروتينات المتجانسة Hémoprotéines أو كونها Cofacteurs لمختلف أنزيمات الدفاع الذاتي ضدّ المؤكسد ، لكنها في نفس الوقت تساعد على إنتاج بعض الجذور الحرة كما في التفاعل التالي :

$$H_2O_2 + Fe^{2+}(Cu^{+}) \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^{-} + Fe^{3+}(Cu^{2+})$$

ولذلك فإن ارتباط بعض الفلافونيدات بهذه العناصر يحدّ من إنتاج الجذور الحرّة ، والشكل التالي يعطي أهم المواقع لتشكل معقدات بين الأيونات المعدنية كالحديد و الألمنيوم مع الفلافونيدات . (VAN ACKER *et al.*, 1996)



الوثيقة (05) : أهم مواقع المخالب للأيوناتJ المعدنية (VAN *et al* ., 1996)

6- التأثيرات المضادة للأكسدة للفلافونيدات

تمتاز الفلافونيدات بخواصها المقاومة للتأكسد لوجود مجموعات (OH) ويتلخص ذلك في :

- حماية الأنظمة المضادة للأكسدة داخل الخلية (In Vitro) .
- التثبيط الإنزيمي ومخلبة الأثار المعدنية المولدة لـROS المسؤولة عن إتلاف الأحماض النووية وظهور الأورام السرطانية كما تتسبب تفاعلاتها المستمرة مع الفوسفوليبيد الغشائي في اتلاف الخلية (WAGNER et al., 1986) .
- أسر الجذور الأكسجينية النشطة ROS كـــ 'NO ، -O2 ، 'OH... ويتوقف هذا على مدى قابلية تحرير البروتونات من طرف الفلافونيد (PIETTA., 2000) ، وعلى العموم يتوقف اصطياد هذه الجذور على الصيغة الكيميائية للفلافونيدات و مستبدلاتها الهيدروكسيلية (FERRQRI.,1983) .
- أجريت عدة أبحاث ودراسات مستعملة طرق مختلفة لقياس النشاطية المضادة للأكسدة على عدد كبير من الفلافونويدات لأجل تحديد البنية الأكثر فعالية ، وسنتطرق إلى بعض الخصائص والمميزات التي يجب أن يتصف بها الهيكل الفلافونويدي الفعال :

✓ ضرورة وجود جذر حر OH في C-3 على مستوى الحلقة C :

عند مقارنة فعالية Quercétine (5,7,3',4'-tetra-OH) نلاحظ إنخفاضا واضحا جدا للفعالية المضادة للأكسدة ، كما نلاحظ إنخفاضا عند مقارنة Quercetin ب Rutin (OH في C-3 مستبدل ب Rutinoside) إذا فغياب هيدروكسيل حر في الموضع 3 ينقص من الفعالية ضد المؤكسدة بدرجة مهمة .

✓ ضرورة وجود الرابطة الثنائية بين C-2 و C-3 المجموعة الكربونيلية (4-one) :

عند مقارنة فعالية Quercetin مع Taxifoline (لايحتوي على رابطة ثنائية بين C2 وC3) أو مع Catéchine (لا يحتوي على الرابطة الثنائية ولا وظيفة الكربونيل) ، نلاحظ تراجع واضح في قيمة الفعالية المضادة للأكسدة .

✓ ضرورة وجود ثنائي OH على الحلقة B في الموضعين 3' و 4' :

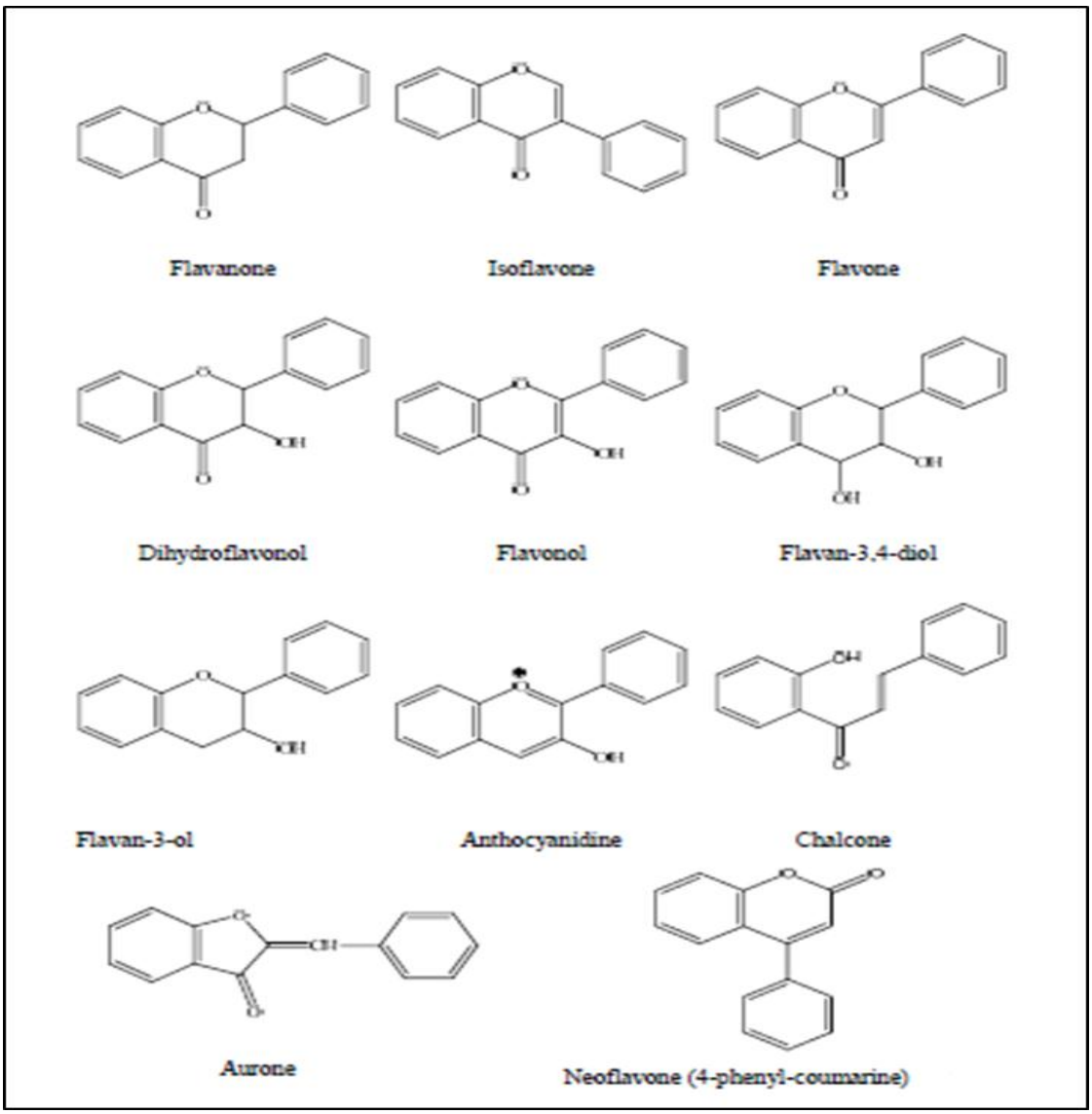
إن غياب أحد الهيدروكسيلات المتواجدة على الحلقة B في الموضعين3' و 4' يخفض كثيرا من الفعالية المضادة للأكسدة للمركب ، ونلاحظ هذا من خلال مقارنة Quercetin ب Kaempférol (3,7,5,4'-tetra-OH) وكذلك عند مقارنة قيمة فعالية Kaempférol ب Chrysine (5,7-di-OH) و Apigénine (5,7,4'-tri-OH) ، إذن فوجود OH منفرد أو غيابه تماما من الحلقة B لا يساهم في ارتفاع الفعالية المضادة للأكسدة (SOERENSEN H .,1976) ; (SUSPLUGAS *et al* .,1984) .

7- تصنيف الفلافونويدات

تصنف الفلافونيدات إلى عدة مجموعات ، كل مجموعة حسب درجة تأكسد الحلقة المركزية C3 (نواة البيران pyrane) ، في حين يحدد نوع الفلافونيد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين A و B (BRUNETON., 1999) .

- **الفلافون** : يمكن للحلقة B المشار إليها سابقا أن تتواجد في الموضع 2 ، و تكون الرابطة C2-C3 غير مشبعة ، سمى المركب حينئذ فلافون .
- **الفلافونول** : إذا وجدت في الموضع 3 مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) لمركب الفلافون ، وهو يشكل نواة أساسية للعديد من المركبات الفلافونويدية .
- **الفلافانون** : هي المركبات التي تكون فيها الرابطة C2-C3 في هيكل الفلافون مشبعة .
- **نيوفلافون** : إذا وجدت الحلقة B في الموضع 4 و مجموعة الكربوكسيل في الموضع 2 و الرابطة C2-C3 كانت غير مشبعة سمي المركب نيوفلافون (EYTON.,1965) .
- **إيزوفلافون** : تختلف في بنائها عن الفلافونات في موضع ارتباط الحلقة B إذ ترتبط هذه الأخيرة في الموضع رقم 3 بدلا من الموضع 2 .
- **الشالكون** : هي مركبات مخايلة للفلافونويدات وتكون مفتوحة أي غياب الحلقة C ، كما يمكن أن تكون فيها الرابطة C3-C2 مشبعة لتعطي ثنائي الهيدروشالكونات .
- **الأورون** : وهي مركبات تتميز بكون الحلقة C خماسية
- **الأنتوسيانات Anthocyanes** : تتميز هذه المركبات بغياب الوظيفة السيتونية في الموقع 4 ، ووجود رابطة ثنائية في الموقع C3-C4 وتتواجد على شكل أملاح .

وهي مركبات فلافونيدية تعطي بعد تأينها ألوان مختلفة من أجل قيم متنوعة لل pH : من أحمر- برتقالي في و سط حامض إلى أزرق – نيلي في وسط قاعدي ، و في حقيقة الأمر يرجع اللون كذلك إلى عدد المجموعات الهيدروكسيلية (OH) غير الميثلية التي يحملها هيكل ال anthocyanes ، فال Pélagonidine التي تحمل مجموعة (OH) واحدة ذات لون احمر- برتقالي ، بينما cyanidine التي تملك مجموعتين (OH) فلونها أحمر أرجواني- قرميزي ، أما Delphinidine ذات ثلاث مجموعات (OH) فلونها أزرق- نيلي ، و الجزيء السكري للإيثيروزيدات فليس له أي علاقه باللون (El HAZIMI H., 1995) .



الوثيقة (06) : الهياكل الأساسية للفلافونويدات

8- الفعالية البيولوجية للفلافونويدات

زاد الإهتمام في السنوات الأخيرة بالمركبات الفلافونيدية بحيث بينت نتائج ابحاث مكثفة في ميدان الطب و البيولوجيا فعاليتها المضادة للسرطان ، المضادة للحساسية ، المضادة للفيروسات والبكتيريا والمضادة للأكسدة و فعاليات اخرى (HAVSTEEN., 2002) .

✓ **النشاطية المضادة للأكسدة**

الفلافونويدات عبارة عن مركبات قادرة على إلتقاط العديد من الانواع المؤكسدة مثل : ايونات فوق الأكسيد ، الجذر الهيدروكسيلي والاكسجين الاحادي (NIJVELDT *et al.*,2001) ، ركزت دراسات عديدة حول العلاقة بين بنية الفلافونويد والنشاطية المضادة للأكسدة حيث أكد Williams و Harborne . (2000) أن المركبات التي تملك مجموعات هيدروكسيلية في C4' و C3' والرابطة الثنائية بتُ C2 و C3 تمتاز بنشاطية مضادة للأكسدة كبيرة.

التأثير المضاد للسرطان :

اثبتت تجارب عديدة ومكثفة الدور الوقائي للفلافونويدات ضد ظهور السرطان ، ويعتبر النشاط المضاد للأكسدة لهذه المركبات إحدى الآليات الأولى التي تمت دراستها . تعمل الفلافونيدات على اقتناص الجذور الحرة التي تؤدي إلى إحداث تشوهات بالحمض الريبي النووي ADN المنقوص الأكسجين وبالتالي حدوث طفرات في المورثات الورمية أو الكابحة لظهور الأورام ، التي تعتبر بادرة لظهور هذا المرض (عمر،2010) .

✓ **التأثير المضاد للحساسية :**

يعود هذا الفعل الى تأثير الفلافونيدات على إنتاج الهيستامين ، حيث تثبط الإنزيمات التي تساعد على تحرير الهيستامين إبتداءا من Mastocyte و Basophyle وهي : AMPc phosphodiestérase وCa++ATPase (بن مرعاش،2012).

✓ **التأثير المضاد الإلتهاب :**

إن إستقلاب حمض الأراشيدونيك arachidonoc acide تحت تأثير كل من إنزيمي cyclooxygénase و lipooxygénas يؤدي إلى إنتاج كل من Leucotriènes و prostaglandines المسؤولة على مظاهر الإلتهاب . وقد بين LANDOFI و فريقه أن بعض الفلافونيدات قادرة على تغيير مسار حمض الأراشيدونيك داخل الصفائح الدموية ، حيث ثبت أن كل من myricètine و quercetine بتراكيز عالية يثبطان كل من cyclooxygénase و lipoxygénase أما عند التراكيز المنخفضة فيثبطان إنزيم lipooxygénase في حين كل من chrysin و apigénine يوقفان نشاط cyclooxygenase (LANDOFIL *et al.*,1984) .

✓ **التأثير المضاد للقرحة المعدية :**

في تجارب أجريت على فئران المختبرات التي تم تحريض القرحة فيها بفعل الإيثانول ، ثبت أن quercétine و naringénine يلعبان دورا هاما في معالجة القرحة وحماية خلايا المعدة منها وبشكل خاص ثبت أن quercétine يمتلك تأثيرات واقية للخلايا وتثبط إنتاج Leucotriènes . وذلك بإنتاج مخاط مضاد للأكسدة (MARTIN *et al.*,1994) .

✓ **النشاط المضاد للفيروسات والبكتيريا :**

اكثر ما ركزت عليه الأبحاث فيما يخص نشاط الفلافونيدات المضاد للفيروسات هو دراسة تأثير هذه المركبات على فيروس HIV المسؤول عن اعراض العوز المناعي المكتسب (السيدا) (HARBONE *et* WILLIAMS.,2000) وقد تم إثبات فعالية الفلافونيدات على كبح تضاعف فيروس السيدا وذلك بتثبيطها لإنزيم الإستنساخ العكسي

revers . لكن تأثيرها الكابح على كل من إنزيمي ADN و ARN بوليمراز للخلية العائل أكبر من ذلك الملاحظ على الفيروسي (ONO *et al*.,1990) .

✓ **فعاليات بعض الفلافونويدات :**

الجدول (02) : الفعالية البيولوجية لبعض الفلافونويدات

إسم الفلافونويد	الفعالية البيولوجية	المرجع
Merolloflavone Volkensiflavone	Anti-cancer مضاد للأورام السرطانية	(زعيتر،2006)
Nobilitime	Anti-allergique مضاد الحساسية	(عاشوري ،2006)
3-méthylquercentime	Antiviral مضاد الفيروسات	(SHARMA, 2006)
8-glucosyle hypolatine	Anti inflammatoire مضاد للالتهاب Anti-ulcére مضاد القرحة	(KHOLKHAL, 2014)
7-4'-dihydroxyisoflavon	Contraceptif مانع الحمل	(ميثاق ،2010)
Quercétine	Antispasmodique مضاد التشنج Anti-inflammatoire مضاد للإلتهاب	(BOUTAOUI.,2012)
Morine 3-méthylkaempférol	Antipollivirus مكافح لفيروس شلل الأطفال	(عاشوري ،2006)

الفصل الثالث

دراسة تصنيفية لنبات ورد الجمال

Hisbicus Rosa- Sinensis

1. دراسة العائلة الخبازية (Famille Malvaceae)

العائلة الخبازية ، تنتشر على نطاق واسع وتتركز خاصة في جنوب أمريكا الشمالية و أمريكا الجنوبية وهي ذات أهمية إقتصادية . تضم هذا العائلة 80 جنس و 1000 نوع ، و أكبر هذا الأجناس وأكثرها إنتشارا الخباز أو الخبيز (*Malva*) ، و الخطمي الذي من أهم أنواعه الخطمي الشجرية *Hisbicus rosa-sinensis* أو ما يدعى بورد الجمال وهي نباتات للزينة تزرع في الحدائق و المنتزهات ، كما تضم جنسي القطن *Gossypium* والبامية *Abelmoschus esculentus* اللذان يعتبران من نباتات المحاصيل (الموساوي، 1987) .

1.1. الخصائص العامة للعائلة

- نباتاتها اعشاب وشجيرات وأشجار ذات عصير غروي أو لزج وهي مكسوة بشعيرات نجمية الشكل.
- الأوراق متبادلة و بسيطة و كفية التعرق وذات أذينات حرشفية أو مفقودة .
- الأزهار شعاعية التناظر، ثنائية الجنس ومرتبة في نورات زهرية إبطية مفردة أو محدودة النمو وهي ذات قطع زهرية خماسية العدد عادة .
- الكأس مؤلف من خمس سبلات ملتحمة قاعديا عادة وله ما يسمى الكؤيس.
- التويج مؤلف من خمس بتلات منفصلة أو متحدة جزئيا عند القاعدة وتتحد مع قاعدة العمود السدوي و تكون أوراق التويج ملفوفة داخل البرعم الزهري.
- الأسدية عديدة ومتحدة عن طريق الخويطات في مجموعة سدوية واحدة مكونة أنبوب يحيط بالمدقة أما المتوك فهي كلوية الشكل .
- جهاز التأنيث مكون من مدقة واحدة ، الكربلات متحدة و المبيض علوي وذو غرف بعدد الكرابل القلم مفرد و يخترق العمود السدوي متفرعا بفروع تنتهي بمياسيم بعدد الكربلات المكونة للمدقة.
- الثمرة منشقة أو علبة ونادرا ما تكون طرية.
- البذرة محاطة بشعيرات كليا أو جزئيا أو عديمة الشعيرات وهي ذات جنين مستقيم أو منحني وسويداء زيتية أو معدومة (الموساوي ، 1987) .

2. دراسة النوع *Hibiscus rosa-sinensis*

نبات *Hibiscus rosa-sinensis* ينتمي إلى الفصيلة الخبازية *Malvaceae* والتي تزرع على نطاق واسع كنباتات للزينة في الأماكن العامة والحدائق المنزلية (JADAV *et al.*,2009) . يدعى أيضا بالكركدية الإستوائية ، الكركدية الصينية (GILMAN., 1999) . يحتوي جنس الكركدية على حوالي 200 نوع موزعة في جميع أنحاء المناطق الإستوائية وشبه الإستوائية ، تزرع عادة في حدائق الزينة على ارتفاع 500 متر من سطح البحر (VINCENTA *et* PATEL.,2007) .

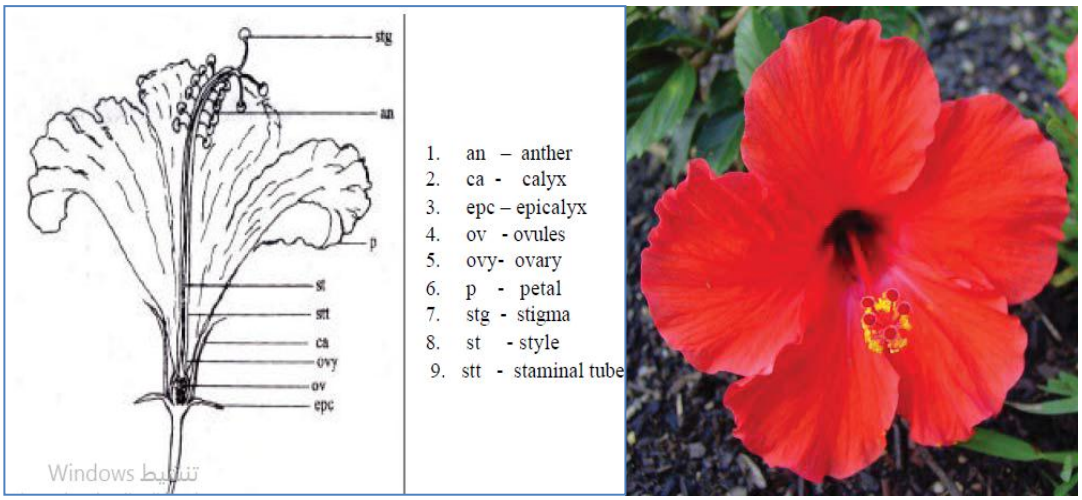
1.2. الخصائص العامة *Hibiscus rosa-sinensis*

شجيرة مزهرة دائمة الخضرة سريعة النمو يمكن أن تنمو ويصل إرتفاعها إلى4.7 متر.

(VINCENTA *et* PATEL.,2016)

- **التفرع:** ذات تفرعات كثيرة تبدأ من القاعدة، الفروع طويلة نحيلة تصل الى حوالي 6 أمتار يتم ترتيب الفروع حلزونيا على الجذع.(IVAN A ، بدون سنة).
- **الساق:** سيقانها طويلة تصل إلى طول 15سم وعرض 10 سم
- **الأزهار:** أزهارها ثنائية الجنس (JADAV.,2009) متفتحة وذات شكل بوقي منعدمة الرائحة ، تكون محمولة على إبط الأوراق العليا، مكونة من 5 بتلات أو أكثر، وهي ذات أشكال وأنواع متعددة فمنها ما هو ملون بالأحمر ،البرتقالي، الزهري، والأصفر.
- **أسدية:** مرتبة بشكل حلزوني على طول مدقة منفصلة (PEARLINE *et al.*,2015).
- **الأوراق:** ذات أوراق بسيطة متبادلة بيضاوي(أوسع في القاعدة من النهاية) وتبلغ طول الأوراق من 5-15 سم، يمكن أن تتلون باللون الأخضر الداكن وأما الهوامش فتكون مسننة ذات بقع أخف وداكنة.
- **الثمار:** ثمرة الكركدية الحمراء(نادرة جدا) هي عبارة عن كبسولة من خمسة فصوص تحتوي على ما يصل الى ثلاثة بذور، كل منها على شكل كلية تصل إلى2.5 سم.

. (VINCENTA et PATEL.,2016)



الوثيقة(07) : زهرة نبات *Hisbicus rosa-sinensis* ورسم تخطيطي لمقطع طولي في الزهرة **.** (JADHAV *et al.*,2009)

2.2. الوضعية التصنيفية :Position Systématique .

الجدول (03): وضعية التصنيفية لنبات *Hisbicus rosa-sinensis*. **(PEKAMWAR *et al*.,2013)**

Règne	Végétal	المملكة
Embranchement	Spermaphytes	الشعبة
Sous Embranchement	Angiospermes	تحت الشعبة
Class	Dicotylédons	الطائفة
Ordre	Malvales	الرتبة
Famille	Malvaceae	العائلة
Genre	Hisbicus	الجنس
Espèce	***Hisbicus rosa-sinensis***	**النوع**

3.2. ظروف الزراعة

- **الحرارة :** الصلابة هي المصطلح المستخدم لوصف قدرة النبات على تحمل البرد ودرجات الحرارة ، ونبات الكركدية يستطيع تحمل درجات الحرارة المنخفضة في المناطق 9-11، وهناك بعض الاصناف يمكن ان تتضرر في درجات الحرارة اعلى من +20 درجة فهرنهايت .
- **التربة :** يفضل النبات استنزاف التربة و أفضل نوع تربة تتأقلم معه التربة قليلة الحموضة ، وفي التربة الرملية تستعمل كميات من المواد العضوية المتحللة بدقة لضبط التهوئة والصرف . أما في التربة الطينية الثقيلة ينصح بإستخدام أسرة مرفوعة لتجنب فترات من الرطوبة الزائدة .
- **الضوء :** يحتاج النبات إلى أشعة الشمس الكاملة ولكن تتحمل الظل الجزئي ، النباتات التي تزرع في مناطق ظلية جدا تصبح طويلة ، وكما أن عدم كفاية الضوء يحد من الإزهار .
- **الأسمدة :** لا يحتاج الى اخصاب منتظم ولكنه يستفيد من الإستخدام العرضي للنتروجين N . ينصح بإستخدام الأسمدة المنخفضة الفوسفور P لتجنب تراكمات الفوسفور المحتملة في التربة .
- **الري:** يتحمل النبات الجفاف إلى حد ما ولكن تتطلب المزيد من الري خلال أشهر السنة الأكثر حرارة. ويجب أن توجه المياه الى النظام الجذري كما يجب أن تبقى أوراق الشجر جافة قدر الإمكان.
- **الأفات والأمراض :** نبات الهيسبيكيس عرضة لمجموعة متنوعة من الآفات الحشرية بما في ذلك المن البق الدقيقي ، تربيس والعث . بالإضافة إلى ذلك يمكن أن يكون مصابا بالعديد من الأمراض الورقية

من بينها البياض الدقيقي ، العفن الفطري و البوتريتيت الأكثر شيوعا . ومع ذلك فإن العديد من أصناف الكركدية تتحمل حتى حالات الإصابة البالغة وتستمر في الازدهار والنمو .

وإضطرابات الأوراق شائعة جدا في الكركدية وقد تظهر الأوراق على شكل أوراق صفراء مزركشة باللون الأصفر الذهبي والأسباب المباشرة كثيرة ويصعب تحديدها ترتبط معظمها بشكل من اشكال الاجهاد. (C .WILKERSON and WM.M.JOHNSON Don ، بدون سنة) .

. http://aggie-horticulture.tamu.edu/Galveston

الوثيقة (08) : توضح مناطق التحمل لدرجة الحرارة حسب USDA(GILMAN.,1999)

4.2. أهمية النبات

- - توفر أزهار نبات *Hibiscus Rosa-Sinensis* الرحيق للملحقات مثل الطائر الرنان .
- - العديد من الحشرات تستغل هذه الازهار كمصدر للغذاء .
- - كما انها معروفة بقيمتها الجمالية غالبا ما تزرع في حدائق المنازل والأماكن العمومية .
- - يستخدم هذا النبات ايضا لتحضير الشاي التجاري ، والذي يتميز بالسعرات الحرارية المنخفضة لذا هو مناسب للأشخاص الذين يتبعون حمية غذائية .
- - كما شرعت مصانع الادوية و مستحضرات التجميل في إستعمال المواد الملونة المستخلصة من أزهار النبات في منتجاتها بعد أن إستبعدت الالوان الكيميائية لما لها من آثار جانبية على الصحة . (PRARLINE *et al*.,2015)

5.2. المواد الفعالة في النبات

بعد الدراسة الدقيقة لنبات *Hisbicus rosa-sinensis* وجد أنه يحتوي على التانينات (Tanins) ، الفلافونويدات (Flavonoids) ، الستيرويدات (Stéroïdes) ، القلويدات (Alcaloïdes) ، الصابونيدات (Saponines) ، عديدات الفينولات (Total phénols) ، برانتوسيانيدين (TotalProanthocyanidin) ، وقد أفيد كذلك أنه يحتوي بشكل رئيسي على الأنتوسيانين (Anthocyanins) و الفلافونويدات :-cyanidin-3,5 diglucoside , quercetin-3 , 7-diglucoside , cyanidin-3-sophoroside-5-glucoside , quercetin-3- diglucoside .

ونبات *Hibiscus Rosa- Sinensis* هو مصدر للكثير من مضادات الأكسدة النشطة والمركبات المضادة للسرطان مثل : كيرستين (quercetin) ، جليكوسيدات (glycosides) ، ريبوفلافين (Riboflavin) النياسين (niacin) ، كاروتينويدات (caroténoïdes) ، حمض الماليك (acid maleique) ، حمض الجنيتيسيك (acide genetisique) و حمض اللوريك (acide laurique)

. (VINCENTA *et* PATEL.,2016)

الجدول (04): توزع المواد الفعالة في كامل أجزاء النبات **: (VINCENTA *et* PATEL.,2016)**

	أجزاء النبات	المواد الفعالة
01	الأزهار	Thiamine , Riboflavin , Niacin acid Ascorbic , fructose , glucose , vitamins , quercetin , flavonoides et diglucoside cyanidin .
02	الأوراق	Alcaloïdes , glycosides , resin et sterols , acids gras , alcool gras , et hydrocarbure , sterculique et acid maléique .
03	السيقان	Teraxeryl acetate , ß-sitosterol , stigmasterol et acids malvalic.
04	الجذور	Glycosides , tannins , phytosterols , composées phénolique , tritérpenoids , flavonoids , Saponins , gums et mucilage.

6.2. الإستعمالات الطبية التقليدية :

الجدول (04) يوضح بعض الإستعمالات التقليدية لنبات *Hibiscus rosa-sinensis* حسب (JADAV *et al.*,2009) .

الجدول(05) : بعض الاستعمالات الطبية التقليدية حول العالم لنبات *Hisbicus rosa-sinensis*

	المكان	الأجزاء المستعملة	الفعالية
1	بنغلادش	الإستخلاص عن طريق الغلي لأزهار الكركدية	تنظيم الدورة الشهرية عند النساء
2	الصين	مستخلص الماء الساخن من الأزهار والأوراق	مطمث
3	جزر آيسلاندا	مستخلص الماء الساخن من الأزهار والأوراق	الأطفال الرضع ، علاج مرض السيلان
4	شرق الهند	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	تنظيم الحيض الناتج عن الإجهاض
5	فيجي	عصير الأوراق	تسهيل الهضم ، الإسهال
6	غيانا الفرنسية	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	علاج الأنفلونزا
7	غانا	تقشير الغصن	عود المسواك لتنظيف الأسنان
8	غوادلوب	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	معرق ، مضاد للسعال
9	جزيرة غوام	الأوراق	إستنزاف الدمل
10	هايتي	الإستخلاص عن طريق الغلي للأوراق و الأزهار	السعال ، الانفلونزا ، آلام المعدة ، مشاكل العين
11	هاواي	الأزهار	الرضع
12	الهند	مستخلص الماء الساخن للأوراق والأزهار	الإجهاض ، مانع الحمل ، مدر للبول ، غزارة الطمث ، إلتهاب الشعب الهوائية ، السعال
13	أندونيسيا	عصير الأوراق و الأزهار	الإجهاض ، مطمث
14	اليابان	الاستخلاص عن طريق الغلي للأوراق	مضاد الإسهال ، علاج ضغط الدم
15	ماليزيا	مستخلص الماء الساخن من الجذور والازهار	مقشع يساعد على التخلص من المخاط في المسالك التنفسية ، الحمى ، مطمث .

	المكان	الأجزاء المستعملة	الفعالية
16	ماكسيكو	نقع الأوراق واللحاء	الإسهال
17	نيبال	مستخلص الماء الساخن من الجذور	السعال
18	بريطانيا الجديدة	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	الحيض
19	كاليدونيا	الاستخلاص عن طريق الغلي للأزهار	الإجهاض
20	إيرلندا الشمالية	الماء المستخلص من الأزهار	تحريض المخاض
21	بيرو	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	مطمث ، مانع للحمل
22	الفيليبين	مستخلص الماء الساخن من الأزهار	الربو، مرطب للبشرة ، علاج الأورام ، سرطان الجلد .
23	فانواتو	الاستخلاص عن طريق الغلي للحاء و السيقان	غزارة الطمث
24	الفيتنام	نقع الأزهار	عسر الطمث ، مجهض .
25	مصر	الأوراق	مرطبات لعلاج الحساسية والأمراض الجلدية والإمساك

7.2. الدراسات السابقة عن النبات

- بينت الدراسة المنجزة من طرف (PEKAMWAR *et al.*,2013) أن نبات *Hibiscus Rosa-Sinensis* يستعمل للوقاية و علاج العديد من الأمراض و الإضطرابات المختلفة فقد أثبت فعاليته كمضاد لداء السكري ، مضاد للخصوبة ، مضاد للإلتهاب ، مخفض للحرارة...، كما أظهر الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في نبات زهرة الجمال وجود العديد من المركبات أهمها : القلويدات ، التربينات ، الفلافونويدات ، الجليكوزيدات ، الصابونوزيدات ، أحماض دهنية....الخ

- أظهرت الدراسة التي قام بها (SHIVANANDA *et al*.,2007) على الجرذان أن نبات *Hisbicus Rosa-Sinensis* يمتلك خصائص تجعله قادرا على تعزيز نشاط التئام الجروح، إذ لوحظ أن الحيوانات المعالجة بالمستخلص الإيثانولي لنبات *Hisbicus Rosa- Sinensis* سجلت انخفاض بنسبة 49 % في منطقة الإصابة مقارنة بالحيوان الشاهد .
- أشار (ZULFIQAR *et al* .,2014) في دراسته حول النشاطية المضادة للأكسدة والفعالية البكتيرية ، أن المستخلص الإيثانولي الخام لزهرة نبات *Hisbicus Rosa- Sinensis*

أظهر تثبيط فعال كمضاد للأكسدة والذي فسر لاحتوائه على مركبات الفينول و الفلافونويدات التي تتميز ضمن بنيتها الكيميائية بمجموعات وظيفية حلقية و كربوكسلية أثبتت فعاليتها ضد بيروكسيد حمض اللينوليك ، كما أكدت نتائج هذه الدراسة فعالية المستخلص الإيثانولي الخام لزهرة نبات *Hibiscus Rosa-Sinensis* كمضاد للبكتيريا ، حيث يمكن ان تلعب دورا علاجيا ضد عدد من الامراض والاوبئة .

الفصل الأول

المواد المستعملة والطرق المتبعة

I-المواد المستعملة

1- في الميدان

1.1.المادة النباتية

تم جمع أوراق وأزهار نبات *Hisbicus rosa-sinensis* في شهر مارس 2016 وذلك من منطقة عين زعطوط (ولاية بسكرة ، الجزائر) وهي منطقة تقع بين ولايتي بسكرة وباتنة (35.14° شمالا و5.83° شرقا) (الوثيقة 09) ، من أجل الدراسة المخبرية التي تهدف لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة من الأوراق والأزهار.

الوثيقة (09) : الموقع الجغرافي لمنطقة عين زعطوط

(https://www.google.dz/maps/place/عين+زعطوط) .

2.1.الأدوات والطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية

حضرت المادة النباتية باستعمال الأدوات والطرق حسب الخطوات التالية :

- **الجني :**

- قمنا بجني النبات في مرحلة الإزهار حيث قمنا بفصل الأوراق والأزهار عن باقي أجزاء النبات الأخرى باستعمال مقص ووضعناها في أكياس ورقية.

- **التجفيف :** قمنا بتجفيف النبتة وفق الخطوات التالية :

- بعد عملية الجمع تم غسل العينات بماء الحنفية وتنقية النبات من الشوائب والأتربة غير مرغوب فيها .
- تجزئة النبات ثم وضع الأجزاء المراد إستعمالها على رداء نظيف وذلك بغرض تجفيفها .
- جففنا النبات في الظل عند درجة حرارة الغرفة لمدة عشرين يوما بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة وفي ظروف تهوية ملائمة .

- **الطحن و التخزين**

- بعد التأكد من الجفاف التام للأجزاء النبات ، نقوم بطحن النبات باستعمال آلة طحن كهربائية .
- احتفظنا بالمسحوق في قارورة زجاجية عتمة محكمة الإغلاق بعيدة عن الحرارة والرطوبة والضوء إلى حين استعماله .

2. في المخبر

1.2.الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة

قصد تحضير المستخلص النباتي ، والتقدير النشاطية المضادة للأكسدة والتحليل الكروماتوغرافي استعملنا الأجهزة والمحاليل المدونة في الجدول (06).

جدول (06) : الأدوات والأجهزة والمحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري.

خطوات العمل	الأدوات	المحاليل والمواد	الأجهزة
تحضير المستخلص	- بيشر Becher - ورق ترشيح Papier Filtre - قمع Entonnior - ملعقة Spatule - ورق ألمنيوم Paipier aluminuim - أنبوب مدرج - Para-Film - Ballon - Erlenmayer - قمع الترسيب والفصل	- ميثانول Méthanol - المادة النباتية	- ميزان حساس - جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur
اختبار DPPH	- أنابيب اختبار Tubes a essayés - حامل أنابيب الاختبار Portes des Tubes a essayés	- المستخلصات النباتية Extrais de plante	ميزان حساس Balance analytique

	- بيشر Becher - ملعقة Spatule - ورق ألمنيوم Paipier aluminuim - أنبوب مدرج - Para-Film - Micropipette - Les cuves	- ميثانول Méthanol - حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique - محلول جذر DPPH*	- جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométre
اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	- أنابيب اختبار Tubes a essayés - حامل أنابيب الاختبار Portes des Tubes a essayés - Micropipette - حقنة Seringue	المستخلصات النباتية Extrais De plante - ماء مقطر Eau distillé - محلول البروكسيد H_2O_2 (30ml/mol) - محلول ثلاثي كلور الحديد $FeCl_3$ (80 ml mol) - محلول حمض الاسكوربيك Solution d'acide ascorbique 50 ml (mol)	جهاز الطرد المركزي Centre fugueuses - حاضنة Etuve - جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotométre

- **التحليل الكروماتوغرافي (High Performance Liquide Chromatographie)**

وفيه إستعملنا جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC الموصول بجهاز الحاسوب Ordinateur.

II.الطرق المتبعة

1. تحضير المستخلص الفلافونويدي من أزهار وأوراق نبات *Hibiscus rosa-sinensis*

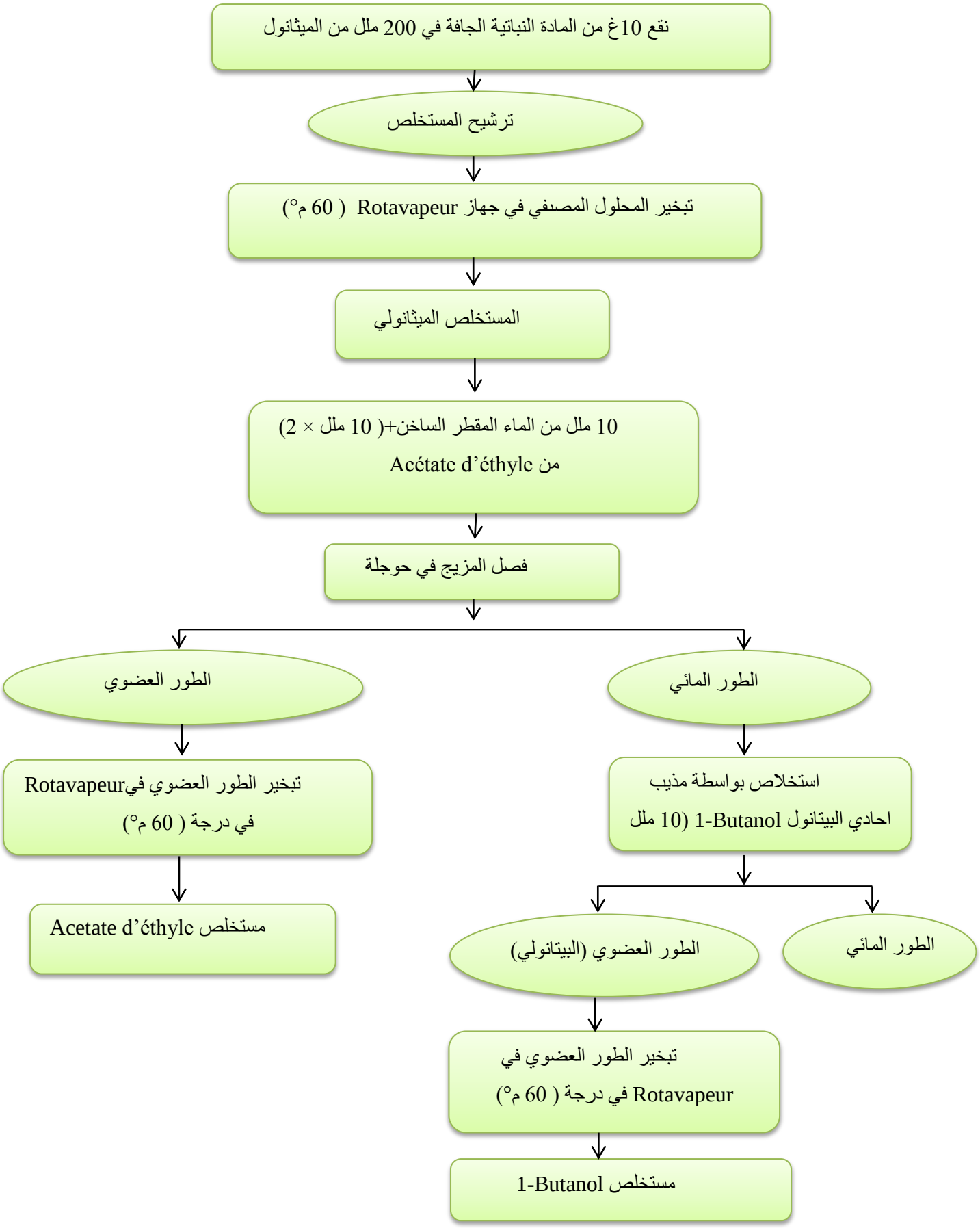
- نقوم بنقع (10 غ) من مسحوق المادة النباتية الجافة في 200 ملل من الميثانول لمدة 24 ساعة ، بعد مرور24 ساعة ، نقوم بترشيح المزيج بواسطة ورق الترشيح ونركز الراشح وذلك بتبخير أكبر كمية ممكنة من المحلول الهيدروكحولي المصفى في جهاز Rotavapeur تحت درجة حرارة (60 م°) الى غاية الحصول على المستخلص الميثانولي الخام .
- تتم إذابة المستخلص الميثانولي بالماء المقطر الساخن ثم يترك لمدة ، يستخدم جهاز التسخين بهدف الحصول على مزيج متجانس ثم يرشح من جديد بورق الترشيح ، بعد عملية الترشيح نقوم لعملية فصل المركبات .
- إضافة (10 ملل × 2) من Acétate d'éthyle للمستخلص المثيانولي الخام ، بعد ذلك يفصل المزيج بإستعمال حوجلة الترسيب حيث لوحظت طبقتين :

- الطور العضوي : نقوم بتبخيره في جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur) عند درجة (60 م°) بهدف الحصول على مستخلص Acetate d'éthyle والمركبات القابلة للذوبان فيه .
- الطور المائي : يعامل بواسطة مذيب احادي البيتانول 1-Butanol (10 ملل ×2)

فنحصل على طبقة عضوية بعد ذلك نقوم بتبخيره في جهاز التبخير الدوراني (Rotavapeur) بهدف الحصول على مستخلص 1-Butanol والمركبات القابلة للذوبان فيه .

- نقوم بمزج الطورين للحصول على المستخلص الفلافونويدي لكل من الأزهار FFRH والأوراق FFLH .

والشكل (10) يوضح مختلف المراحل المتبعة في عملية الإستخلاص .



الوثيقة (10): مراحل عملية إستخلاص الفلافونويدات من ازهار وأوراق النبات .

3.تقدير نسبة المردودية

المردودية هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي وكتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الإستخلاص (كتلة المادة الإبتدائية جافة) وتحسب بالعلاقة التالية :

(*al*.2016 GUETTAF et)

$$\%R = Mf/MI * 100$$

حيث :

%R : نسبة المردودية

Mf : الكتلة النهائية للمستخلص الخام

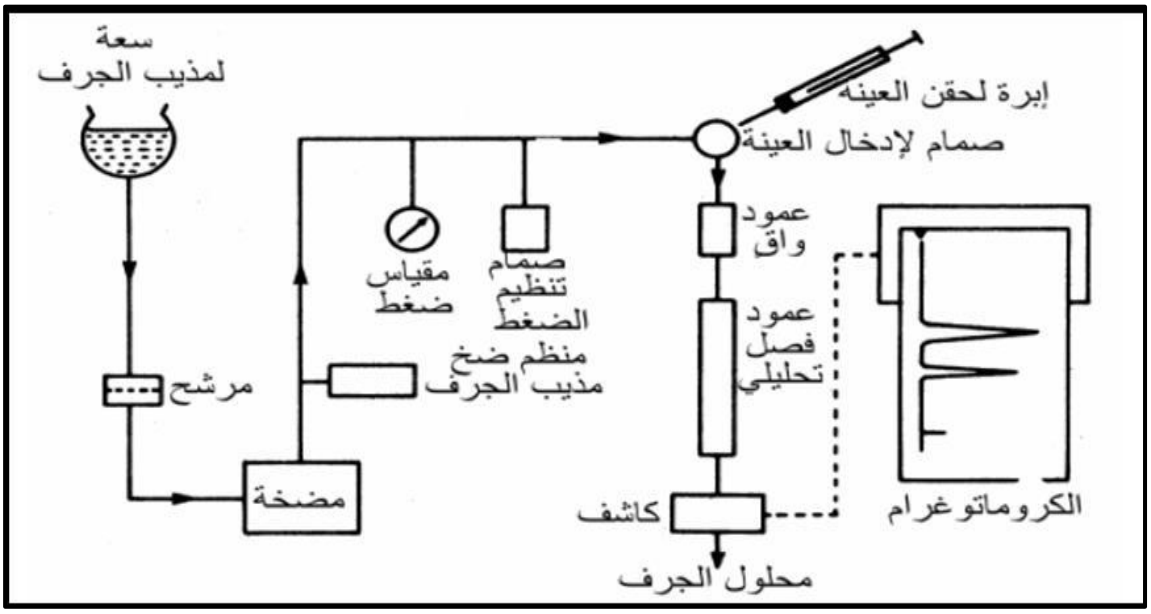
MI : الكتلة الإبتدائية للمادة النباتية جافة

4.التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC

قصد التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات الكحولية استخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ، تسمح هذه التقنية بتحديد المحتوى الفينولي للعينة المراد تحليلها وهي نوع من أنواع التحليل الكروماتوغرافي التجزيئي الذي يتطلب استخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود ، وهي التقنية الأفضل لفصل وتحليل الخلائط المعقدة في وقت قصير (مرزاق،2010) .

وهذه التقنية تتطلب إستخدام ضغوط عالية لدفع المذيب (الطور المتحرك) عبر عمود رفيع مصنوع بدقة عالية من مكونات ذات طبيعة صلبة غالبا، متجانسة الشكل والأبعاد تمثل أساسا الطور الثابت (طويل،2009) . حيث يعتمد في فصل المركبات على جاذبيتها بالنسبة لطور ثابت أو قطبيتها بالنسبة للطور المتحرك ، الذي يكون عادة عبارة عن سائل مكون من مزيج من : الماء المقطر الأسيتونتريل و حمض الخل بنسب متفاوتة (خطاف ،2011) .

و يتألف جهاز الHPLC من مضخة ذات قدرة ثابتة للضخ Waters isocratic HPLC poump وكاشف يعمل في مجال الأشعة المرئية و فوق البنفسجية UV-VIS ونموذج λ Waters2487 Dual Absorbance Detecteur مربوط مع جهاز حاسوب يحوي البرامج الخاصة بهذا التحليل ، أما العمود المستخدم C18 أو مايعرف وفق دستور الأدوية الأمريكي USP بالعمود L1 وهو يحوي الحشوة المطعمة كيميائيا بالسيليس الذي يستعمل كدعامة ثابتة لفصل العديد من المركبات (محفوظ ، 2007) .



الوثيقة (11) : مخطط لجهاز HPLC (طاهر وميراز،2008)

- **مبدأ عمل الجهاز**

حسب ما ذكر عند (LAURENCON.,2013) ; (OJEIL *et al*.,2010) و (LUSAKIBANZA MANZO.,2012) فإن مبدأ عمل الجهاز كالتالي :

- يحقن مقدار 20 (ميكرولتر) من محلول المستخلصات النباتية في مجرى تدفق الطور المتحرك (Injecteur) .
- يضبط الضغط العالي الذي يعمل على دفع مذيب الطور المتحرك (Phase mobile) في العمود (Colonne) المكون أساسا من جزيئات السيليس ، والتي تمثل عادة الطور الثابت (Phase stationnaire) ، الذي يعمل على فصل وتحليل مركبات المزيج ، وذلك إعتمادا على وزنها الجزيئي ودرجة قطبيتها بواسطة المضخة الآلية (Pompe) .
- تحدد المركبات المفصولة انطلاقا من الكاشف (Détecteur) الموصول بالعمود من جهة وبجهاز الحاسوب من جهة أخرى ، الذي يعمل على تسجيل النتائج على شكل منحنيات مميزة ب les pics (قمم) المحدد لنوع و عدد مركبات العينة المدروسة .

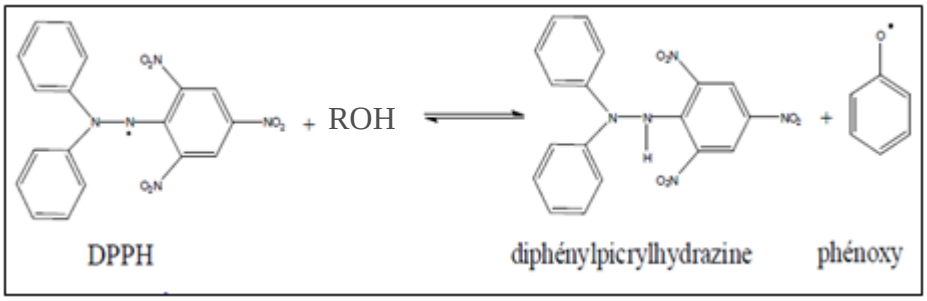
5. طرق تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

قصد دراسة تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص النباتي ، قمنا باستعمال اختبار التأثير الإزاحي المضاد للتأكسد DPPH (in vitro) واختبار انحلال الكريات الدموية الحمراء Hémolyse .

1.5.اختبار إزاحة الجذور الحرة (DPPH)

يسمح هذا الإختبار بتقييم قدرة المستخلصات على أسر و إلتقاط الجذور الحرة بالطريقة اللونية وذلك بإستعمال الجذر الحر الثابت DPPH الذي يعتبر من أهم الإختبارات المعتمدة في تقييم النشاطية المضادة للأكسدة .

حيث يتم إرجاع جذر DPPH باقتناصه لذرة الهيدروجين من الجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين (الجزيئات المضادة للأكسدة) إلى مركب DPPH-H ، ويصاحب ذلك تغير في اللون من البنفسجي إلى الأصفر وهذا حسب التفاعل التالي : (BELGUIDOUM *et al* .,2015) .



الوثيقة (12) : تفاعل DPPH مع الفينول (بكه وحفيان ، 2016) .

- **طريقة العمل**

- إستعملنا في دراستنا حمض الأسكوربيك (VIT.C) كأساس مرجعي في تثبيط الجذور الحرة ، حيث قمنا بتحضير تراكيز ممددة من (VIT.C) تتراوح ما بين (0,03 -0,003) غ/ل .
- أخذنا 0.5 ملل من تراكيز مختلفة المستخلصات النباتية المذابة في الميثانول و أضفنا له 1 مل من محلول DPPH المحضر في الميثانول ، ثم ترج الأنابيب جيدا وتترك في الظلام لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة .
- بعد مرور الوقت اللازم تقاس الإمتصاصية للمحاليل بجهازالمطيافية UV عند طول موجة 517 نانومتر، ثم نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز I%=f (c) ، حيث تحسب نسبة التثبيط وفق العلاقة التالية :

$$I\% = [(Ac - As)] / Ac \times 100$$

حيث :

I% : نسبة تثبيط الجذر الحر .

Ac : الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص .

As : الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلص .

- تحدد القدرة المضادة للأكسدة بتحديد قيمة IC_{50} والذي يعرف على أنه تركيز المركب (المضاد للأكسدة) اللازم لتثبيط (كسح) 50 % من الجذر الحر DPPH والذي يحسب من خلال منحنيات تغير نسبة التثبيط I% بدلالة تركيز الجذور الحرة f (c) .

2.5. اختبار النشاطية ضد انحلال الكريات الدموية الحمراء (Hémolyse)

يهدف هذا الاختبار الى التعرف على مدى حماية المستخلص النباتي كريات الدم الحمراء من الإنحلال عقب تعرضها للمواد المؤكسدة والجذور الحرة و ذلك من خلال قياس نسبة الكريات المنحلة .

حيث تعتمد هذه الطريقة على تعريض عينة من كريات الدم الحمراء السليمة للإنسان الى هجوم من طرف جذر AAPH ، حيث يتم الحصول عليها بعد عملية التخفيف بالماء المقطر وباستعمال جهاز الطرد المركزي عند سرعة 3000دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق (علية وسعدون ،2017) .

- **طريقة العمل**

- يؤخذ (40 ميكرو لتر) من كريات الدم الحمراء لكائن بشري ، ثم نضيف اليها2 مل من مستخلص النبات و يحفظ لمدة 5 دقائق في درجة حرارة 37م° .
- يضاف للمزيج (40 ميكرو لتر) من محلول من فوق الأكسيد H_2O_2 بتركيز (30 ملل مول) ، ثلاثي كلور الحديد FeCl3 بتركيز (180ملل مول) و محلول حمض الاسكوربيك بتركيز (50 ملل مول) .
- ثم يترك الخليط لمدة ساعة في الحاضنة عند درجة حرارة 37م° .
- بعدها ينقل لجهاز الطرد المركزي ويوضع في سرعة 700 دورة /الدقائق لمدة 10 دقائق ، نتتبع انخفاض الإمتصاصية نتيجة انحلال كريات الدم الحمراء عند طول موجة λ = 540 نانو متر .

وتحسب نسبة انحلال كريات الدم الحمراء وفقا للقانون الاتي :

$$\%\text{Hémolyse} = (\text{Abs control} / \text{Abs échantillon}) \times 100$$

حيث :

- Abs controle : شدة امتصاص الخليط في غياب المستخلص النباتي .
- Abs échantillon : شدة امتصاص في غياب وجود المستخلص النباتي .

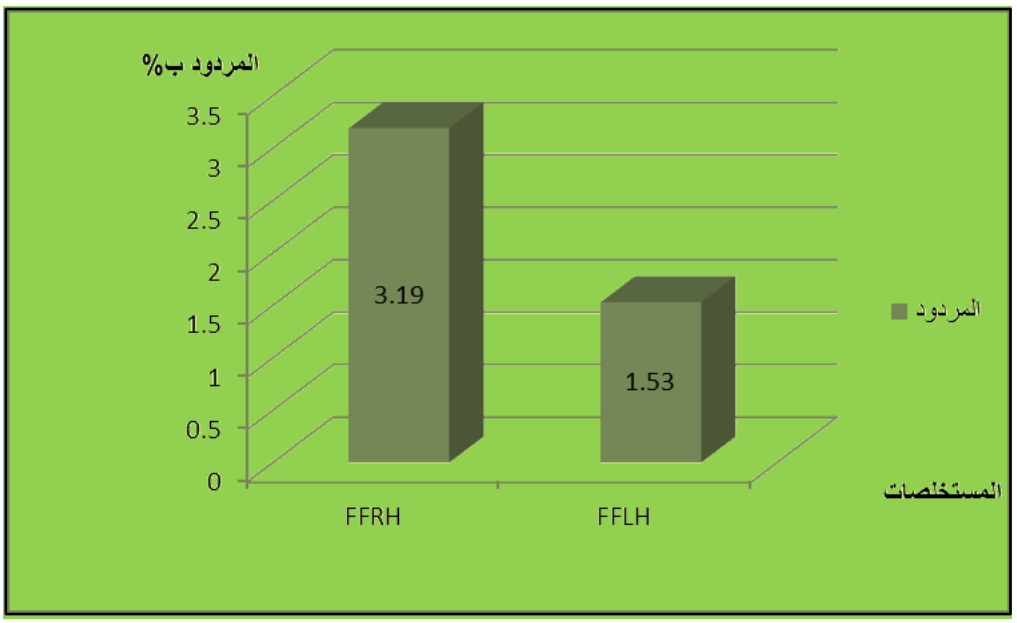
الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I.النتائج

1.1. حساب نسبة المردود (R%)

تم حساب مردودية المستخلصين (الأوراق ، الأزهار) حيث كانت النتائج كما هي موضحة في الوثيقة (12) :



الوثيقة (13) : مردود مستخلصات الاوراق والازهار لنبات ورد الجمال *Hibiscus rosa-sinensis*

FFRH : المستخلص الفلافونويدي للأزهار .

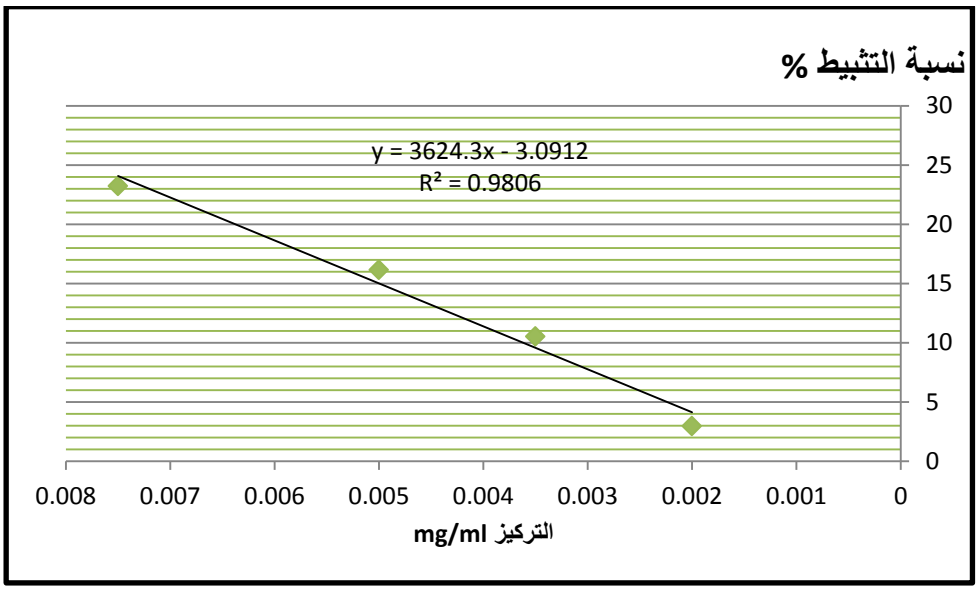
FFLH : المستخلص الفلافونويدي للأوراق .

من خلال النتائج المتحصل عليها والموضحة في الشكل (1) نلاحظ ان مستخلص الأزهار سجل به اعلى مردود ، حيث قدرت نسبته بـ 3.19% ، مقارنة بمستخلص الاوراق الذي سجل ادنى مردودية حيث قدرت نسبته بـ 1.53%.

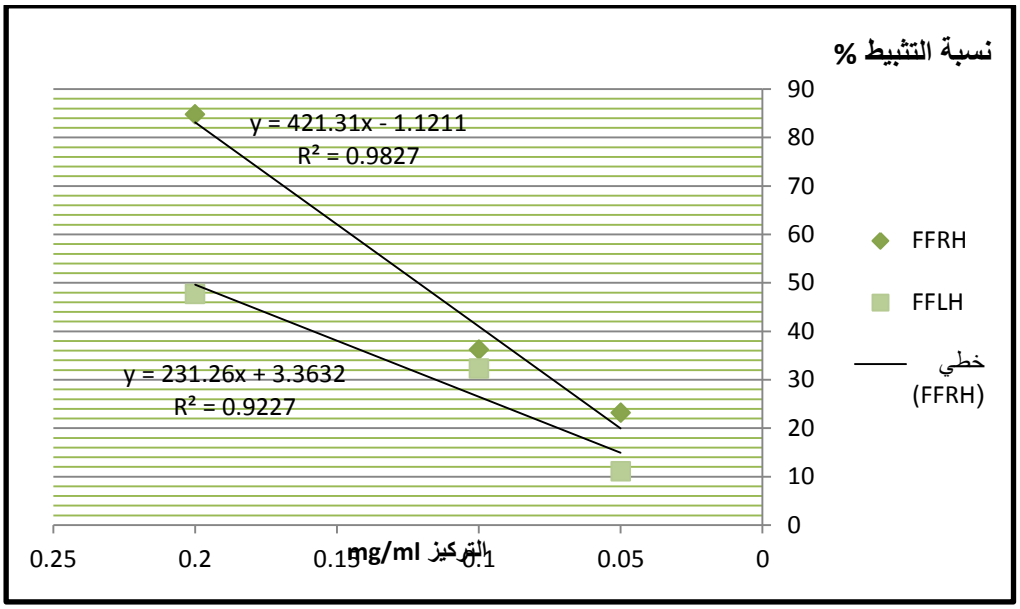
2.1.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

1.2.1.اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH• :

تم تقدير التأثير الازاحي للمستخلصات النباتية عن طريق اختبار DPPH (BURITS *et* BUCAR.,2000) ، وعموما تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تحديد التأثير المضاد للأكسدة سوآءا للمركبات النقية او المستخلصات النباتية وذلك لسرعتها وفعاليتها (MOSQUERA *et al.*, 2007) ، تم قياس شدة الإمتصاصية عند طول موجة 517 نانومتر لكل من المستخلص الفلافونويدي للأزهار المستخلص الفلافونويدي للأوراق ، حمض الأسكوربيك الذي أعتمد كمرجع لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة ، تنظم النتائج المتحصل عليها في منحنيات عيارية (الوثيقة 16.15.14) موضحة كالتالي :



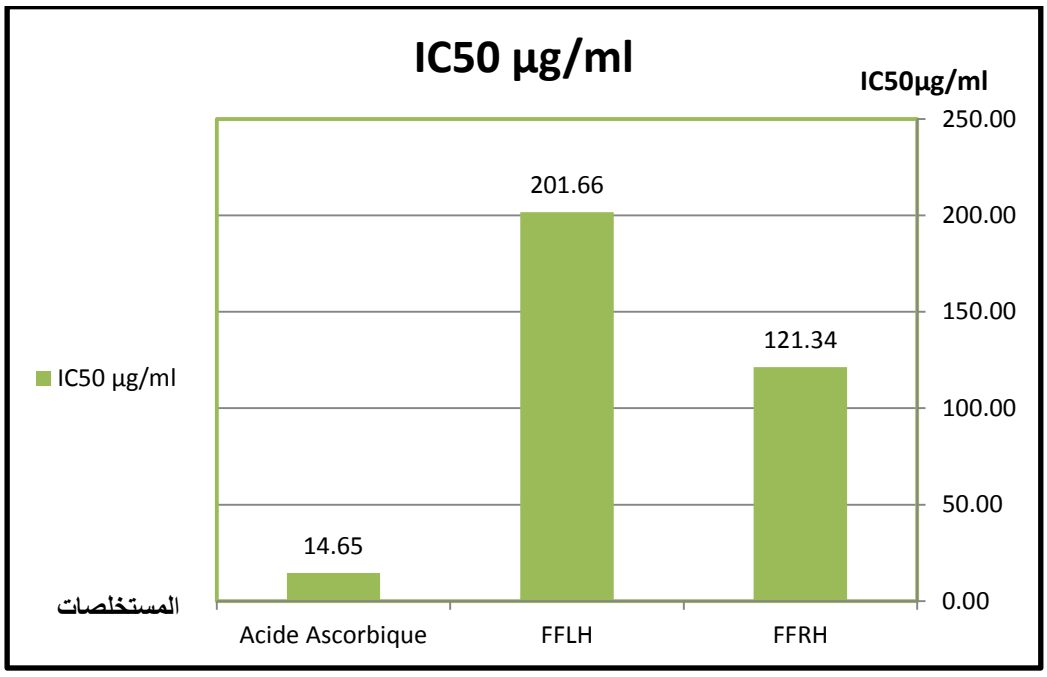
الوثيقة (14) : المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار الجذر الحر •DPPH.



الوثيقة (15) : نسب التثبيط لجذر •DPPH لمستخلصات أوراق وأزهار النبات.

قدرت نشاطية المستخلصات على ازاحة الجذر DPPH عبر ارجاع هذا الجذر للون البنفسجي الى الاصفر وقيست الامتصاصية عند طول الموجة $\lambda = 517$ nm ، يتضح من خلال النتائج المتحصل عليها في الشكل (3) ان قدرة المستخلصات المدروسة على ازاحة الجذر DPPH تتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز .

من خلال الأشكال تمكنا من حساب قيم IC_{50} لكل من حمض الأسكوربيك والمستخلص الفلافونويدي للأزهار والأوراق كما هو موضح في الوثيقة (16).



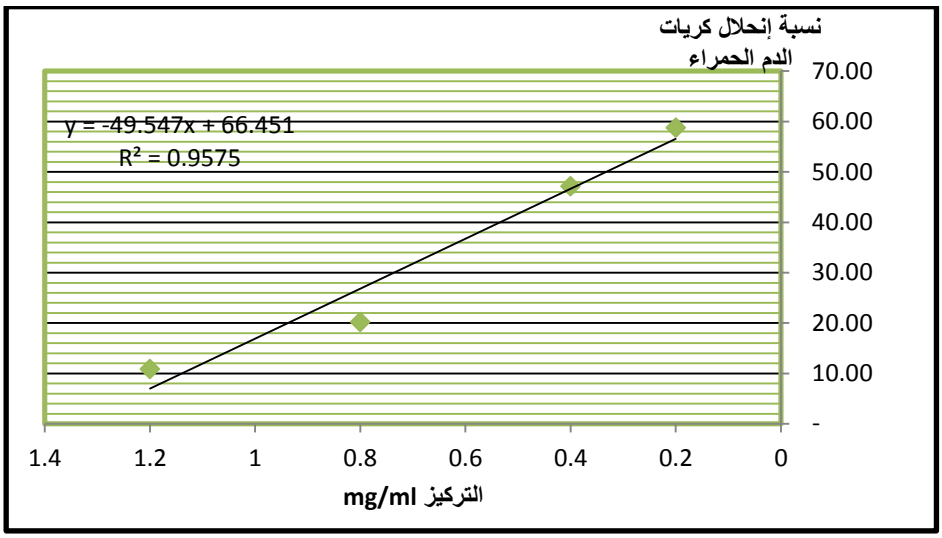
الوثيقة (16): قيم IC_{50} في إختبار DPPH لكل من حمض الأسكوربيك و المستخلص الفلافونويدي للأزهار والاوراق .

ومن المعروف ان الفعالية المضادة للأكسدة تتناسب عكسيا مع قيم IC_{50} ، فكلما كانت قيم IC_{50} اقل كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة افضل ، أظهرت النتائج الموضحة لقيم IC50 ان لحمض الاسكوربيك تأثيرا ازاحي على جذر ال DPPH يفوق التأثير الإزاحي لباقي المستخلصات حيث قدرت قيمته (14.65 µg/ml) .

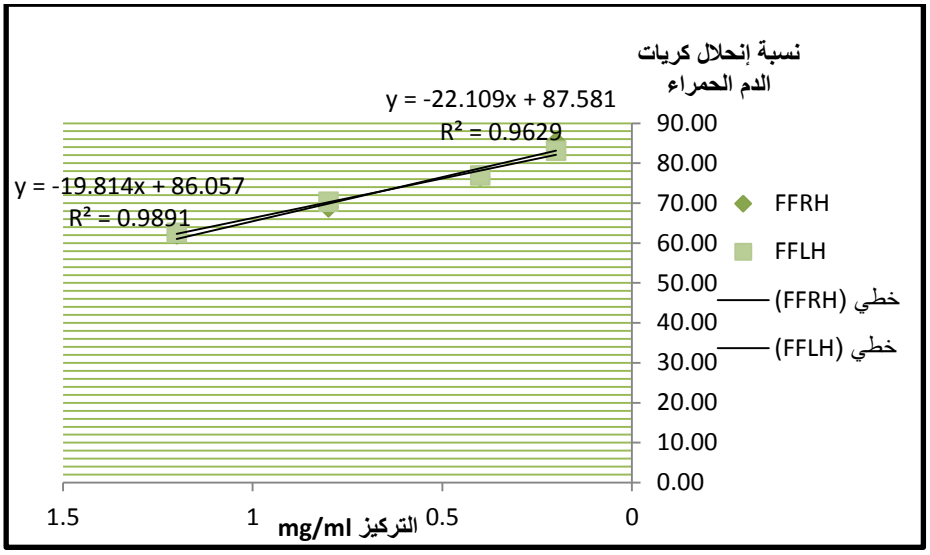
كما نلاحظ ان مستخلص الفلافونويدي للأزهار (FFRH) سجل اعلى قيمة لـ IC_{50} للجذر الحر DPPH حيث قدرت قيمته ب (121.34µg/ml) مقارنة ب المستخلص الفلافونيدي للأوراق (FFLH) الذي سجل تأثيرا اقل قدرت قيمته ب (201.66 µg/ml) .

2.2.1.اختبار إنحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse :

تم قياس النشاطية المضادة لانحلال كريات الدم الحمراء لكل من مستخلصات الأوراق والأزهار ويتم تحديد الفعالية استنادا لنتائج النشاطية عند حمض الأسكوربيك لغرض المقارنة السلبية بإعتباره مرجعا قياسيا والنتائج المتحصل عليها موضحة في الوثائق 17 و18.

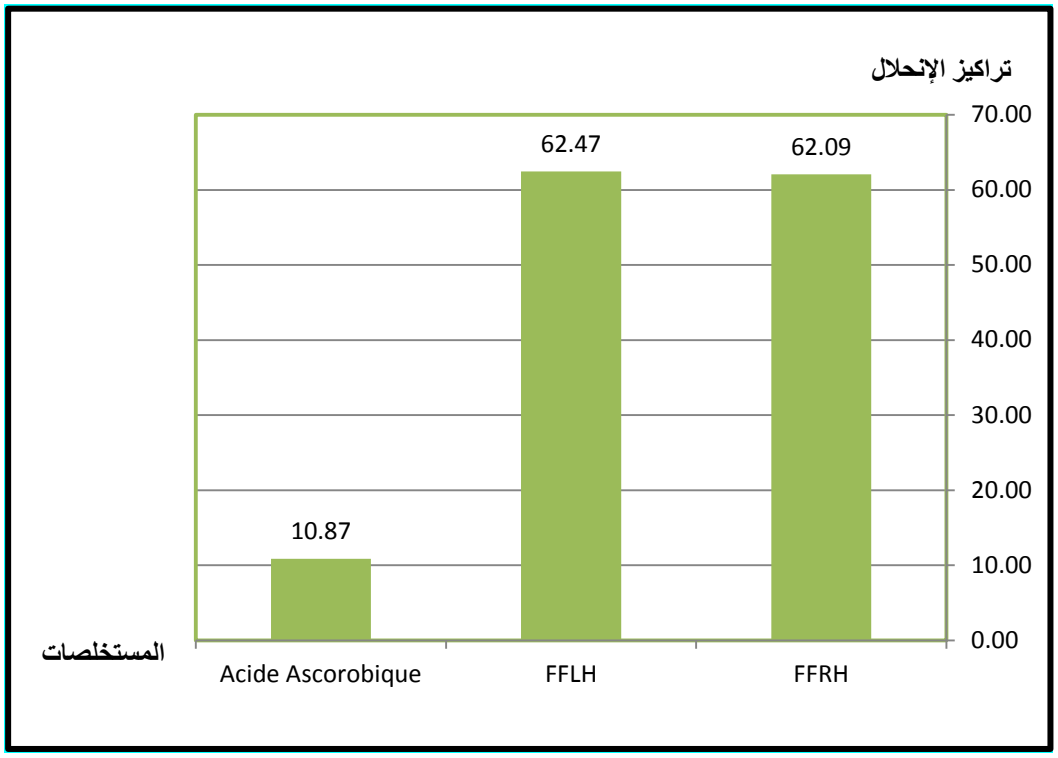


الوثيقة (17) : المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse).



الوثيقة (18) : منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص الأوراق والأزهار.

قمنا بدراسة تأثير مستخلصي الاوراق والازهار لنبات *Hibiscus rosa-sinensis* على حماية كريات الدم الحمراء من التحلل المحفز بواسطة العوامل المؤكسدة ، من خلال الوثيقة (16 و17) والتي تمثل نسب انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز حمض الأسكوربيك ومستخلصات النبات ، نلاحظ تناسب عكسي بين نسب الانحلال وتراكيز المستخلصات ، حيث كلما زاد تركيز المستخلصات تقل نسبة انحلال كريات الدم ، والوثيقة (19) يوضح مقارنة بين نسب التثبيط عند التركيز (1.2 mg/ml) لكل من حمض الاسكوربيك و الفلافونويدات المستخلصة من اوراق وأزهار النبات .

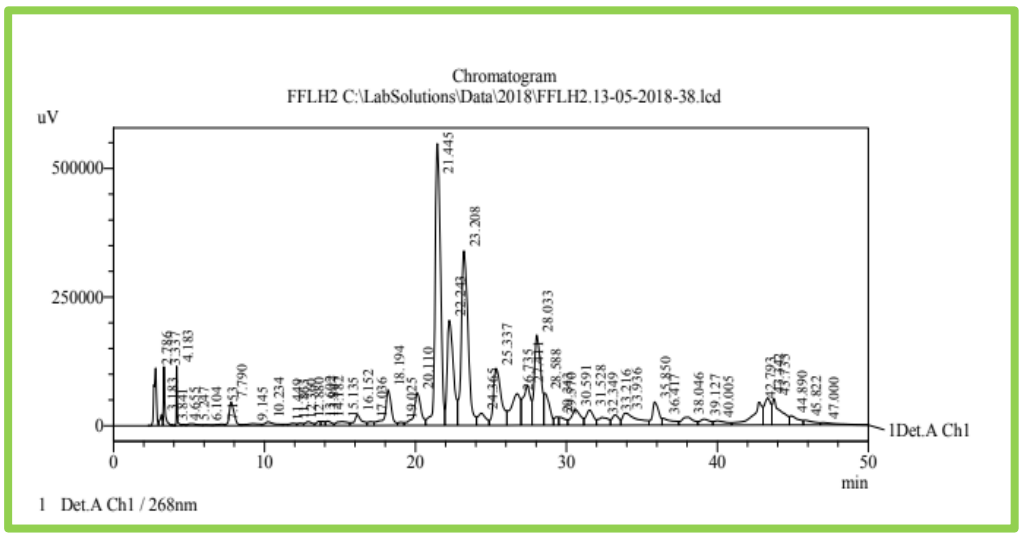


الوثيقة (19) : نسب إنحلال كريات الدم الحمراء بـ % عند التركيز 1.2mg/ml لكل من حمض الاسكوربيك و الفلافونويدات المستخلصة من اوراق وأزهار النبات .

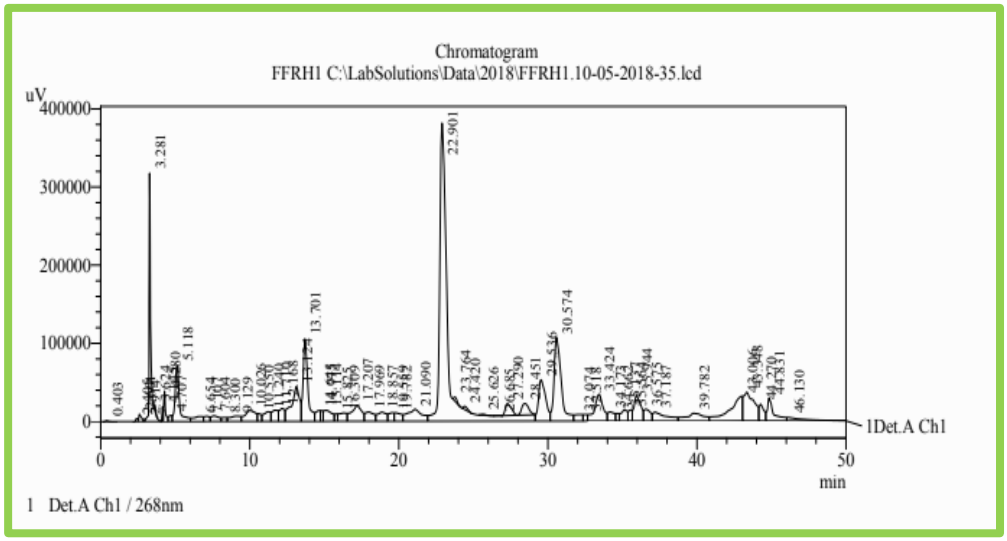
يلاحظ من خلال نتائج الوثيقة (19) ان كلا من المستخلص الفلافونيدي للأوراق والازهار قامت بحماية كريات الدم الحمراء من التحلل في التركيز(1.2مل/ مغ) إذ اظهرت اعلى نسبة تحلل قدرت ب (62.47 %) و (62.09 %) على التوالي في حين دونت ادنى قيمة انحلال كريات الدم الحمراء عند حمض الاسكوربيك (AA) قدرت ب (10.87 %) .

3.2.1. نتائج التحليل الكروماتوغرافي عن طريق HPLC :

تم تحديد نوع المركبات الموجودة في مستخلصات أوراق وأزهار نبات *Hibiscus rosa-sinensns* بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء HPLC عند طول الموجة 268 نانومتر، النتائج مدونة في الجداول (07) (08) (09) والوثائق (20) (21) .



الوثيقة (20) : المنحنى الكروماتوغرافي لمستخلص الفلافونويدي للأوراق نبات *Hibiscus rosa-sinensns*



الوثيقة (21) : المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الفلافونويدي للأزهار *Hibiscus rosa-sinensns*

الجدول (07) : بعض المركبات الفينولية لمستخلص الأوراق (FFLH)

Peak	Ret . time	Area	Height	Area %	Height %	Name of compound	Concentration (µg/mg)
1	2.786	1282247	111867	1.704	4.186	Indéfinie	/
2	3.183	242912	21796	0.323	0.816	Indéfinie	/
3	3.337	765134	114771	1.017	4.295	Indéfinie	/
4	3.841	5027	807	0.007	0.030	Indéfinie	/
5	4.183	471564	115372	0.627	4.318	Indéfinie	/
6	4.655	37244	2205	0.049	0.082	Indéfinie	/
7	5.247	158776	3474	0.211	0.129	Gallic acid	0.58
8	6.104	57731	1690	0.077	0.063	Indéfinie	/
9	7.153	99655	2675	0.132	0.100	Indéfinie	/
10	7.790	1035087	45443	1.376	1.701	Indéfinie	/
11	9.145	219738	3538	0.292	0.132	Indéfinie	/
12	10.234	326736	7129	0.434	0.267	Indéfinie	/
13	11.449	46358	2409	0.062	0.090	Indéfinie	/
14	11.863	127568	4217	0.170	0.158	Indéfinie	/
15	12.360	107828	4412	0.143	0.165	Indéfinie	/
16	12.880	227466	7351	0.302	0.275	Indéfinie	/
17	13.602	157118	8154	0.209	0.305	Indéfinie	/
18	13.847	142921	8028	0.190	0.300	Indéfinie	/
19	14.182	219275	8530	0.291	0.319	Indéfinie	/
20	15.135	394917	7639	0.525	0.286	Cafiac acid	1.50
21	16.152	692395	20341	0.920	0.761	Indéfinie	/
22	17.036	189707	7249	0.252	0.271	Indéfinie	/
23	18.194	2002486	68912	2.661	2.579	Indéfinie	/
24	19.025	152383	6224	0.203	0.233	Indéfinie	/
25	20.110	2052082	63274	2.727	2.368	Indéfinie	/

26	21.445	13685153	547691	18.187	20.496	Vanillin	46.44
27	22.243	5882396	204252	7.817	7.644	Indéfinie	/
28	23.208	10544655	339195	14.013	12.694	Indéfinie	/
29	24.365	862990	23462	1.147	0.878	Indéfinie	/
30	25.337	3998613	110717	5.314	4.143	Indéfinie	/
31	26.735	2581180	61324	3.430	2.295	Indéfinie	/
32	27.411	2641312	76993	3.510	2.881	Indéfinie	/
33	28.033	5290028	175354	7.030	6.562	Indéfinie	/
34	28.588	1569918	62121	2.086	2.325	Indéfinie	/
35	29.343	318003	16032	0.423	0.600	Indéfinie	/
36	29.570	460958	15529	0.613	0.581	Indéfinie	/
37	30.591	1292047	30516	1.717	1.142	Indéfinie	/
38	31.528	1012980	29509	1.346	1.104	Indéfinie	/
39	32.249	723188	15182	0.961	0.568	Indéfinie	/
40	33.216	630553	19727	0.838	0.738	Indéfinie	/
41	33.936	1596512	23354	2.122	0.874	Indéfinie	/
42	35.850	1322431	44984	1.757	1.683	Indéfinie	/
43	36.417	615090	13074	0.817	0.489	Indéfinie	/
44	38.046	837271	15381	1.113	0.576	Indéfinie	/
45	39.127	541427	11386	0.720	0.426	Indéfinie	/
46	40.005	481742	8405	0.640	0.315	Indéfinie	/
47	42.793	2013996	44227	2.676	1.655	Indéfinie	/
48	43.342	1576387	52893	2.095	1.979	Indéfinie	/
49	43.733	2039973	51748	2.711	1.937	Indéfinie	/
50	44.890	721522	17918	0.959	0.617	Quercetin	3.18
51	45.822	444643	9078	0.591	0.340	Indéfinie	/
52	47.000	349567	4637	0.465	0.174	Indéfinie	/
total		75248891	2672170	100.00	100.000	Indéfinie	/

الجدول(08) : بعض المركبات الفينولية لمستخلص الأزهار (FFRH)

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %	Name of compound	Concentration (µg/mg)
1	0.403	15348	1084	0.031	0.062	Indéfinie	/
2	2.405	32809	3068	0.067	0.211	Indéfinie	/
3	2.601	113556	9287	0.231	0.535	Indéfinie	/
4	2.914	16161	2835	0.033	0.163	Indéfinie	/
5	3.281	2328052	317720	4.738	18.313	Indéfinie	/
6	3.624	40553	6722	0.083	0.387	Indéfinie	/
7	4.145	36841	11781	0.075	0.679	Indéfinie	/
8	4.280	312937	38974	0.637	2.246	Indéfinie	/
9	4.707	123099	7615	0.251	0.439	Indéfinie	/
10	5.118	1460503	71745	2.972	4.135	Indéfinie	/
11	6.654	288744	6339	0.588	0.365	Indéfinie	/
12	7.107	167984	6558	0.342	0.378	Indéfinie	/
13	7.604	260218	7047	0.530	0.406	Indéfinie	/
14	8.300	119670	4826	0.244	0.278	Indéfinie	/
15	9.129	337600	6716	0.678	0.387	Indéfinie	/
16	10.026	684643	13962	1.393	0.805	Indéfinie	/
17	10.550	168104	9924	0.342	0.572	Indéfinie	/
18	11.240	401022	12302	0.816	0.709	Indéfinie	/
19	11.710	404462	14252	0.823	0.821	Indéfinie	/
20	12.168	409730	16360	0.834	0.943	Indéfinie	/
21	13.124	1701429	44561	3.462	2.568	Indéfinie	/
22	13.701	2315756	105737	4.713	6.095	Indéfinie	/
23	14.645	292614	13625	0.595	0.785	Indéfinie	/
24	14.775	145578	13579	0.314	0.783	Indéfinie	/
25	15.114	534719	13951	1.088	0.804	Indéfinie	/

26	15.825	124805	9291	0.254	0.535	Indéfinie	/
27	16.309	385698	10609	0.785	0.611	Cafeic acid	0.92
28	17.207	964627	20174	1.963	1.163	Indéfinie	/
29	17.969	479640	11780	0.976	0.679	Indéfinie	/
30	18.857	482840	11565	0.983	0.667	Indéfinie	/
31	19.559	271283	10796	0.552	0.622	Indéfinie	/
32	19.782	341909	10724	0.696	0.6187	Indéfinie	/
33	21.090	1046924	15292	2.130	0.881	Indéfinie	/
34	22.901	14508575	381568	29.565	21.993	Indéfinie	/
35	23.764	76003	5025	0.155	0.290	p-coum	0.31
36	24.420	81636	4080	0.166	0.235	Indéfinie	/
37	25.626	25995	11878	0.05	0.068	Indéfinie	/
38	26.685	3181	201	0.006	0.012	Indéfinie	/
39	27.290	428947	15216	0.873	0.877	Indéfinie	/
40	28.451	473783	14360	0.964	0.828	Rutin	3.37
41	29.563	1784486	52870	3.361	3.047	Indéfinie	/
42	30.547	3577052	107182	7.279	6.178	Indéfinie	/
43	32.074	312116	8332	0.635	0.480	Indéfinie	/
44	32.518	153319	8333	0.312	0.480	Indéfinie	/
45	33.424	1383572	34090	2.816	1.965	Indéfinie	/
46	34.173	355530	11558	0.724	0.666	Indéfinie	/
47	34.662	148314	9616	0.302	0.554	Narging	1.53
48	35.137	418239	147283	0.851	0.823	Indéfinie	/
49	35.564	237398	14272	0.483	0.823	Indéfinie	/
50	35.944	1010108	32828	2.056	1.892	Indéfinie	/
51	36.575	459189	14915	0.934	0.860	Indéfinie	/
52	37.187	727166	11216	1.480	0.646	Indéfinie	/
53	39.782	817406	9729	1.663	0.561	Indéfinie	/

54	43.006	1845407	31524	3.755	1.817	Indéfinie	/
55	43348	1822200	36581	3.708	2.108	Indéfinie	/
56	44.270	464993	21248	0.946	1.225	Indéfinie	/
57	44.831	881277	29107	1.793	1.678	Indéfinie	/
58	46.130	325383	4233	0.662	0.244	Indéfinie	/
Tatal		49140028	1734953	100.000	100.000	Indéfinie	/

الجدول(09): تركيز بعض المركبات الفينولية المعروفة في مستخلص الأزهار والأوراق.

FFLH	FFRH	تركيز المستخلص (mg/g) / إسم المركب الفينولي
/	0.92	**caf acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)**
/	0.31	**p- coum (4-hydroxycinnamic acid)**
/	3.37	**Rutin (5,7,3´,4´,tetrahydroxy flavonol-3-rhamnoglcoside)**
/	1.53	**Naringine 7,4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)**
0.58	/	**Gallic acid (3,4.5-Trihydroxybenzoic acid)**
1.50	/	**caf acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)**
46.44	/	**Vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde)**
3.18	/	**Quercetin 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one**

من خلال النتائج المتحصل عليها بالتحليل النوعي للمستخلصات الكحولية لنبات *rosa-sinensns Hibiscus* بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) والممثلة في المنحنيات الكروماتوغرافية استطعنا معرفة عدد من المركبات الفينولية في كل من مستخلص الاوراق و الازهار عن طريق مقارنتها بزمن الاستبقاء (Ret Time) و القمة (Peak) ، حيث لاحظنا تباين في عدد المركبات الفينولية في المستخلصات المدروسة ، حيث ان المستخلص الفلافونويدي للأزهار بلغت اعلى نسبة لاحتوائه على (58 مركب) في حين سجلت عند المستخلص الفلافونويدي للأوراق اقل قيمة لعدد المركبات الفينولية والتي قدرت (52مركب) .

ولوحظ ايضا تباين في عدد ونوع المركبات الفينولية المعروفة في المستخلصين ، مع العلم ان الأحماض الفينولية القياسية المعروفة عبارة عن 05 مركبات (Caffiec Acide , Acide Gallic , Vanillin , Acide p-coumarine) و الفلافونويدات القياسية المعروفة ثلاث مركبات وهي (Quercetine , Naringenin , rutin) حيث كانت النتائج كالآتي :

- في المستخلص الفلافونيدي للأزهار لاحظنا ظهور 04 مركبات وهي ب-كومارين (p- coumarine Acid) و نارجينين (Naringenin) و الروتين (rutin) بتراكيز (0.31mg/g extrait) (mg/g 1.53extrait) (3.3 7mg/g extrait) على التوالي .
- في المستخلص الفلافونيدي للأوراق لاحظنا ظهور 04 مركبات وهي حمض الغاليك (Gallic Acid) و الفانيلين (Vanillin) و الكرستين (Quercetine) بتراكيز (0.58 mg/g extrait) (mg/g 46.44 extrait) (3.18 mg/g extrait) على التوالي .
- بينما ظهر حمض الكافييك (Caffiec Acide) في كلا المستخلصين ، فظهرت اعلى قيمة له عند مستخلص الاوراق بتركيز قدر قيمته بـ (1.50 mg/g extrait) وأقلها في مستخلص الأزهار حيث قدرت قيمته بـ (0.92 mg/g extrait) .

II. المناقشة

❖ المردود

بينت النتائج المتحصل عليها في عملية تقدير المردود الكلي للمستخلصات الفلافونويدية لنبات *Hibiscus rosa-sinensis* اختلافات كمية فيما بينها وفي نفس شروط التجربة حيث يمكن ان نرجع سبب التذبذب في المردود إلى :

- يرجع الاختلاف البسيط في قيم المردودية للإختلاف في درجة الذوبانية والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة (DJEMAI.,2009) .
- أيضا يرجع الى الجزء النباتي المستعمل في الاستخلاص وشروط التجفيف ومحتوى كل نوع من المستقلبات ، اضافة لهذا قد يعود السبب الى مدى تعرض النبات الى الاجهادات المختلفة التي تلعب دورا في التغيير من فسيولوجيته مؤديا بذلك الى التغير في طبيعة ونوعية المركبات التي ينتجها كما ونوعا (IBRAHIMI *et al*., 2008 ; MADI., 2010).

❖ تقدير الفعالية المضادة للأكسدة (AAO)

✓ إختبار الجذر الحر DPPH

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ تباين في نسب التأثير الإزاحي بين مختلف المستخلصات حيث أبدى المستخلص الفلافونويدي للأزهار أفضل تأثير كابح للجذر الحر DPPH مقارنة بالمستخلص الفلافونويدي للأوراق ، ومن المعروف على أنه كلما نقصت قيمة IC_{50} زادت النشاطية المضادة للأكسدة (NOTO *et al.*, 2016) ، فإنه يمكن القول أن القدرة الكاسحة للجذر الحر في المستخلصات النباتية المدروسة ضعيفة مقارنة بقدرة المركب القياسي (AA) ، هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (BAKKA., 2016) ، حيث بعد مقارنة قيم IC_{50} لمستخلصات نبات *Z. gatulum* وجد أن الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص البوتانولي (بإعتبار فعالية هذا المستخلص هي المثلى بالمقارنة مع باقي المستخلصات) كانت أقل حوالي 6 مرات مقارنة مع فعالية حمض الاسكوربيك ، توصل في النهاية إلى أن هناك علاقة طردية بين محتوى المركبات الفينولية في المستخلصات النباتية والنشاطية المزيحة للجذور الحرة .

ومن هنا يمكن التخمين أن ضعف التأثير الإزاحي للمستخلصات النبات المدروسة إلى تدني محتواه من عديدات الفينول و الفلافونويدات كما ونوعا .

- كما بين العديد من الباحثين أن النشاطية الإزاحية للجذور الحرة لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية فعلى سبيل المثال بين (WILLIAMS *et al*.,2004) أن وجود المجموعة 3-4-dihydroxylated في الحلقة B والرابطة المزدوجة بين 2-3 مع وجود الوظيفة (4-oxo) في الحلقة C و وجود مجاميع OH إضافية على كربون C3 و C5 يرفع من النشاطية المزيحة للجذور الحرة ، أما وجود المجاميع

(OH)3′ .4′ مع مجموعة الميثيل أو مجموعة 3-O-rutinoside يخفض من القدرة الإزاحية للجذور الحرة .

- كما يمكن للفلافونويدات السكرية المميزة لمستخلص الايثيل اسيتات ان تكون مسؤولة عن التأثير الإزاحي للجذر DPPH حيث اثبتت دراسة قام بها (MISHRAL *et al.*,2003) ان اضافة الوحدات السكرية للفلافونويدات يرفع من التأثير الإزاحي لجذور DPPH اكثر من الفلافونيدات غير السكرية.
- كذلك وجود المجاميع الهيدروكسيلية المرتبطة بالفلافونويدات يوفر خاصية منح الإلكترونات لتعديل الجذور الناتجة عن أكسدة الليبيدات (LOO–) محولة إياها إلى مركبات أكثر استقرارا (LOOH) وبذلك تعتبر هذه المجاميع من أهم العوامل المؤثرة في النشاطية المضادة للأكسدة (ZHANG *et al.*, 2011) .

سجل المستخلص الفلافونويدي للأزهار تأثيرا أفضل من المستخلص الفلافونويدي للأوراق وعليه يمكن إرجاع سبب تباين التأثير الإزاحي بين المستخلصات إلى احتمالية إحتوائه على بعض المركبات الفينولية الفعالة التي تملك القدرة على إرجاع الجذر الحر DPPH• أفضل أو تتواجد بتراكيز أكثر من نسبتها في المستخلص الفلافونويدي للأوراق .

✓ **إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse**

إن سبب اختيار كريات الدم الحمراء كنموذج لدراسة التفاعلات الحاصلة بين المؤكسدات ومضادات الأكسدة لأنها تتميز بغشاء غني بالأحماض الدهنية غير المشبعة التي تكون أكثر حساسية للجذور الحرة مؤدية بذلك إلى أكسدتها (REDDY., 2007) .

يؤدي الإجهاد التأكسدي في العموم إلى حدوث فوق الأكسدة الليبيدية لأغشية كريات الدم الحمراء مما يسبب اختلال وظائفها من خلال التأثير على ميوعتها وعلى وظائف المستقبلات والإنزيمات المدمجة في الاغشية ، إذ أن هذه الإختلالات هي المسببة في تحلل كريات الدم الحمراء ، في هذه الدراسة إستعملنا H_2O_2 و $FeCl_3$ كعوامل محرضة للإجهاد التأكسدي على مستوى كريات الدم الحمراء ، فأكسدته في درجة حرارة فيزيولوجية تشكل جذور البيروكسيل (ROO^-) ، يتم متابعة قدرة كريات الدم على مقاومة الجذور الحرة في وجود المستخلصات النباتية ، من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ تذبذب طفيف فيما بينها ، في حين ظهر فرق ملحوظ مقارنة بالمرجع القياسي (حمض الاسكوربيك) وهذه النتائج تتوافق نوعا ما مع النتائج المتحصل عليها في اختبار الجذر الحر DPPH• .

وعليه يمكن إرجاع قيم النشاطية المضادة للأكسدة في هذه الحالة إلى كمية ونوعية و الكفاءة الوظيفية للمركبات الفينولية للعينات المدروسة حيث :

- حسب ما أشار(CHAUDHURI *et al.*,2007) أن تأخير الإنحلال الدموي للمستخلصات المدروسة قد يعود إلى وجود الفلافونويدات التي لها القدرة على الإندماج ضمن أغشية كريات الدم الحمراء وتعمل على حمايتها من عملية الاكسدة .
- أظهرت العديد من الدراسات الحديثة قدرة المركبات الفينولية على حماية كريات الدم الحمراء من أضرار الإجهاد التأكسدي (VALENTE *et al.*, 2011) ويمكن أن يكون ذلك نتيجة تموقع الفلافونويدات ضمن الأغشية الخلوية التي تعتبر موقعا لأكسدة اللبيدات (FENALI *et al.*, 1997) .
- أثبتت نتائج الدراسة التي قام بها (DAI *et al.*,2006) ، أن مركبات الفلافونول (flavonol) ومشتقاتها السكرية لها القدرة على حماية الكريات الحمراء من الإنحلال ويعود ذلك لإحتوائها على بنية ortho-dihydroxyl ، حيث يمكن أن تتفاعل مع الفيتامين E لترفع من قدرته المضادة للأكسدة (ZHOU *et al.*, 2000) .

✓ **التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات بإستعمال الHPLC**

من خلال النتائج المتحصل عليها في التحليل الكروماتوغرافي باستخدام الـ HPLC للمستخلصات المدروسة ، نلاحظ وجود اختلاف كمي ونوعي لعديدات الفينول عامة و الفلافونويدات خاصة ، إضافة إلى ظهور بعض المركبات في مستخلص وغيابها في الآخر . وعليه يمكن تفسير هذا التباين الملاحظ إلى اختلاف العضو النباتي المدروس (BELKHIRI., 2009) ; (OJEIL et *al*., 2010) . كما يمكن إرجاع ذلك إلى الدور الفسيولوجي الذي تلعبه هذه المركبات في عضوية النبات ، وهذا استناد لما أشار إليه كل من حجاوي وآخرون ، (2009) ؛ صحراوي وبيسي (2017) ، حيث بينوا أن تواجد وتركز المركبات الفينولية في النبات يتعلق بالوظيفة الحيوية التي تؤديها في العضو النباتي .

- إذ يعزى ظهور الأحماض الفينولية (حمض الغاليك ، الفانيلين إضافة حمض الكافييك) في مستخلص الأوراق إلى الوظيفة الفسيولوجية لهذه المركبات ؛ حيث أن تواجدها في الأجزاء الخضرية يهدف إلى تأمين النمو الخضري والحماية للنبات (DIXON *et* PAIVA., 1995).
- أما فيما يخص ظهور المركبات الفلافونويدية (الرتين ، و النارجين) في مستخلص الأزهار فيمكن أن يعود إلى دورها في إعطاء اللون للأزهار المسؤولة عن اعطاء اللون للأزهار والثمار وجلب الحشرات والطيور من اجل المساهمة في التلقيح وانتشار البذور (NETO et *al*., 2016) ؛ (آيت كاكي ، 2013) و(تبوب ، 2010) .
- ان ظهور حمض ب-كومارين في المستخلص الفلافونويدي للأزهار فقط كونه يعتبر وسيط في تركيب العديد من الفينولات منها الفلافونيدات المسؤولة عن إعطاء اللون للأزهار.

(LUCERI *et al*., 2007).

وعموما ووفقا لما تحصلنا عليها من نتائج يمكن القول أن تركيز وتواجد المركبات الفينولية عامة و الفلافونويدات خاصة يختلف من عضو نباتي لآخر (BELKHIRI., 2009) و (OJEIL *et al*., 2010) ، كذلك يتغير من مرحلة نمو عمرية لأخرى (علية وسعدون ، 2017) و (KSOURI *et al*., 2008) ، كذا تتأثر بالعوامل الخارجية من إجهادات حيوية ولاحيوية (DELGADO *et al*., 2008)؛ إضافة إلى العوامل المناخية والبيئية (BOUZID *et al*., 2010) .

الخلاصة

الحمد لله الذي تتنزل به البركات والرحمات وتتم بنعمته الصالحات والصلاة والسلام على خير خلق الله محمد ﷺ .

تناولنا في ثنايا هاته الدراسة مساهمة في تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونيدات المستخلصة من اوراق وازهار نبات *Hisbicus rosa-sinensis* حيث أن اهم النتائج التي توصلنا اليها ما يلي :

- بعد القيام بعملية استخلاص المواد الفعالة من النبات وذلك باستعمال المذيبات n-Butanol ، d'ethyl Acetat ، Méthanol ، تمكنا من خلال ذلك تقدير مردود المستخلصات حيث سجل اعلى مردود في مستخلص الازهار بقيمة (3.19%) بينما سجل اقل مردود في مستخلص الاوراق حيث قدرت نسبته (1.53%) .
- تمت دراسة النشاطية المضادة للأكسدة باستعمال اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH• حيث اظهرت النتائج ان مستخلصات نبات *Hisbicus rosa-sinensis* تملك نشاطية بنسب متفاوتة ، ومن خلال حساب IC_{50} المعبر عن التركيز اللازم لتثبيط 50% من الجذر الحر ابدى مستخلص الازهار أعلى نسبة تثبيط للجذور الحرة بقيمة قدرت (121.34ميكرو غرام / ملل) اما مستخلص الاوراق سجل ادنى قيمة قدرت بـ (201.6634 ميكرو غرام / ملل) .
- أما بالنسبة لإختبار انحلال كريات الدم الحمراء(Hémolyse) ، فقد اظهرت النتائج تقارب في نسب التأثير التثبيطي للانحلال عند مستخلصات الاوراق والازهار في تركيز (1.2ميكرو غرام / ملل) قدرت قيمته بـ (62.47 %) و (62.09 %) على التوالي .
- أيضا قمنا بالتعرف على بعض المركبات الفينولية في المستخلصات النباتية المدروسة وذلك عن طريق التحليل النوعي بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) . والتي كشفت عن وجود (58 مركب) في مستخلص الازهار تم التعرف على 4 مركبات فينولية منها وهي :

ب-كومارين ، نارجينين ، الروتين و حمض الكافييك ، في حين احتوى مستخلص الاوراق على (52 مركب) حيث تسنى لنا التعرف على 4 مركبات فينولية وهي حمض الغاليك ، الفانيلين ، الكرسيتين و حمض الكافييك .

توج عملنا من خلال هذه الدراسة بإستنتاج وجود علاقة ارتباط بين المحتوى الكمي والنوعي لعديدات الفينول و الفلافونيدات والنشاطية المضادة للأكسدة ، حيث ابدت المستخلصات النباتية المدروسة للأوراق والازهار نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة نوعا ما وهذا يعود الى ضعف المحتوى الكمي والنوعي لها .

وأخيرا نوصي المهتمين بدراسة النبات باستغلال الوسائل الحديثة لاستخلاص المواد الفعالة في النبات و فصلها والتعرف على بنيتها بغية اختبارها مخبريا وتثمينها على أكمل وجه.

قائمة المصادر والمراجع

- **القرآن الكريم**
- **المراجع باللغة العربية**

1. آيت كاكي ف .، 2013 - فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا لمستخلص خلات الإثيل لنبتة - origanum vulgare l. sbsp. glandulousm (desf) letswaart . مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماجيستر في الكيمياء العضوية، جامعة منتوري – قسنطينة ، 150 ص.

2. بكه ش و حفيان خ ، 2016- الدراسة الفيتوكيميائية و الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة . zygophyllum gaetulum - مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة ، 23 ص .

3. بن مرعاش ع .، 2010 - دراسة نواتج الأيض الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Convolvulus Supinuscoss . مذكرة ماجيستير ، جامعة منتوري . قسنطينة ،102 ص .

4. تبوب ع .، 2010- فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونويدي لنبات mentha arvensis . مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماجيستر في العلوم ، جامعة منتوري – قسنطينة ، 120 ص .

5. جرموني م .، 2009 - دراسة التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نبتتي الحرمل tvphj peganum harmala و الجعدة santolina chamaecyparissu . أطروحة لنيل شهادة الدكتوراة ، جامعة فرحات عباس سطيف .ص 24 .

6. جيدل ص .، 2015 - تقدير المحتوي الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات. pistacia lentiscus l و aretemisia campestris l و argania spinosa l .أطروحة مقدمة لنيل شهادة دكتورا، جامعة فرحات عباس سطيف1، ص4-7-20-23.

7. حجاوي غ . حسين السيمي ح . محمد جميل قاسم ر.، 2009- علم العقاقير والنباتات الطبية. دار الثقافة للنشر والتوزيع ، ص : 253 – 259.

8. حوة إ .، 2013 - دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة . مذكرة ماجستير . ورقلة : جامعة قاصدي مرباح ، 69 -71 - 70 ص .

9. خطاف ع .،2011 - فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة salasola tetragona del .(chenopodiaceae) .مذكرة لنيل شهادة الماجستير ، جامعة منتوري ، قسنطينة ، ص 20 .

10.زعيتر لحسن .،2006 - تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم و الزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة (compositasea) و السيستية . (citacea) رسالة دكتوراه . قسنطينة : جامعة منتوري ، 21- 25 - 26 ص .

11.صحراوي ح . بيسي و .، 2017 - المساهمة في دراسة العلاقة الكمية والنوعية للمحتوى الفينولي ودراسة النشاطية المضادة للأكسدة لعسل ونبات المرخ genista saharae coss. et dur. المنتج بمنطقة وادي سوف . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي، 100 ص.

12.طاهر ح و ميراز ج .، 2008 - كيمياء المنتجات الطبيعية . الجزاء العملي . منشورات جامعة البعث كلية العلوم . ص25.

13.طويل أ.، 2009- دراسة نواتج الميتابوليزم الثانوي لبعض نباتات منطقة الهقار . رسالة لنيل شهادة الدكتوراة ، جامعة منتوري ، قسنطينة ، ص23 -105 .

14.عاشوري آ.، 2006- فصل و تحديد منتجات الأيض الفلافونيدي ، pulicaria crispa (forsk) . . مذكرة ماجستير . جامعة منتوري قسنطينة ، ص 21 -26-36.

15.علية ف . سعدون ن .، 2017- مساهمة في تتبع المحتوى الفينولي و دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لنبات المرخ genista saharae coss. et dur. النامي في منطقة وادي سوف خلال مراحل النمو المختلفة . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي ، جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي ، 138 ص.

16.عمر ل .،2010 – دراسة بعض الخصائص الكيميائية لنبات الشيح aretemisia herba alba asso ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس . سطيف . ص13.

17.محفوظ ج .، 2007- استخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC في تحليل بعض الفيتامينات ، مجلة دمشق للعلوم الأساسية ، العدد الأول . ص24 .

18.مرزاق ع .،2010 - فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات ononis angustissima (fabaceae) لطور خلات الايثيل ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري قسنطينة ، ص44 .

19.الموسوي ع.ح.ع .، 1987- علم تصنيف النبات . الطبعة الأولى ، دار الكتب للطباعة والنشر، بغداد ، العراق .ص 196.

20.ميثاق ج .،2010 - بحث و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات catha (celastraceae) edulis ونبات البوليكاريا jaubertin pulicaria من العائلة (asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية . رسالة دكتوراه . قسنطينة : جامعة منتوري ، قسنطينة ، ص 54.

➢ **قائمة المراجع باللغة اللاتينية**

21.https://www.google.dz/maps/place/عين+زعطوط

22.*Articulata*.activité biologique et biochimique de la plante *tetraclinis articulata*. Mémoire de magister. Oran : université d'oran, 2009, 17-18p.

23.ATHAMENA. S . Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique . Mémoire de magister. Batna : université hadj lakhdar , 2009, 19-20p.

24.B. SHIVANANDA N., S. SIVACHANDRA R., A V CHALAPATHI R., F A ORETTE., AND M PINTO P.,(2 009). Evaluation of the hibiscus rosa-sinensis flower extract for wound wound-healing activity in rats. The international journal of lower extremity wounds.

25.BALABAN R. S., NEMOTO S. AND FINKEL T. (2005). Mitochondria, oxidants , and aging . Cell. 120: 483-495.

26.BELKHIRI F., 2009- activite antimicrobienne et antioxydante des extraits du tamus communis l. et carthamus caeruleus l. memoire de magister , Universite Ferhat Abbas , Setif, P: 87.

27.BONNEFONT-ROUSSELOT, D. THÉROND, P. DELATTRE, J. (2003). radicaux libres et anti-oxydants. in borges, f. fernandes, e. roleira, f. (2002).

progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. curr. med. chem. 9, 195–217.

28. BOUZID W. YAHIA M. ABDEDDAIM M. ABERKANE C. AYACHI A., (2010)- evaluation de l'activite antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'aubepine monogyne*. journal of lebanese science.

29. BREHM B.G ., KRELL D . (1975) flavonoide localization in epidermal papillae of flower petals . a specialized adaptation for ultra-violet absorbtion . science , New York ,1 90 ,1221-1223.

30. BRUNETO J. (1999). pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales .Lavoisier technique & documentation . Paris.

31. BRUNETON, J. (1999). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales, ed. Lavoisier , Paris.

32. BURITS, M., BUCAR, F. (2000). Antioxidant activity of nigella sativa essential oil. *phytotheraphy research* 14, 323-328.

33. CALABRESE V., CORNELIUS C., MAIOLINO L., LUCA M., CHIARAMONTE R., TOSCANO M. A. AND SERRA A.(2010). oxidative stress, redox homeostasis and cellular stress response in meniere's disease: role of vitagenes. *neurochem res*. **35**: 2208-2217.

34. CHOI E. Y., STOCKERT A. L., LEIMKUHLER S. AND HILLE R . (2004). Studies on the mechanism of action of xanthine oxidase . *J inorg biochem* . **98**: 841-848.

35. COS, P., YING, L., CALOMME , M., HU, J.P.,CIMANGA, K., VAN-POEL , B-PIETERS , L., VLIETINCK , A.J., VANDEN BERGHE , D . (1998) . « Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers » J. Nat . Prod . 61: 71-76 .

36. DAI F, MIAO Q, ZHOU B, YANG L, LIU ZL. (2006). Protective effects of flavonols and their glycosides against free radical-induced oxidative hemolysis of red blood cells. *Life sci*. 78: 2488 - 2493.

37.DEFRAIGNE, J.O., PINCEMAIL, J. (2007). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités . *Revue médicale de li ège*. 62, 4.

38.DELGADO M. HAZA A. & ARRANZ H., 2008- dietary polyphenols protect against nitrosamine benzopyrene induced and damage in human hepatoma cell. eue. j. nutr., 30: 328.

39.DIANA P, NANDITA K AND PADMA T., 2015. *Rosa sinensis (hibiscus)* -a versatile indian origin plant . Journal of chemical and pharmaceutical sciences. India . Pages ., 970.

40.DIXON R.A. PAIVA N.L., 1995- stress induce phenyl propanoid metabolism. plant cell 7, 1085–1097.

41.DJEMAI S ., (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *zizyphus lotus* l . Thèse magister. Université El Hadj Lakhder . Batna.61p.

42.EL HAZIMI, H. (1995). Les produits naturelles . Universite Du Roi Saoud, Djadda . Ed. Arabe.

43.EYTON, W. B., OLLIS, W. D., SUTHERLAND, I. O., GOTTLIEB, O. R., TAVIRA MAGALHAES, M. (1965). proc. Tetrahedron , 21, 2683.

44.FAVIER A. (2003). Le stress oxidant . Intéret conceptuel et expérimental dans la comprehension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanisme biochimique*. 108-115.

45.FERRALI M, SIGNORINI C, CACIOTTI B, SUGHERINI L, CICCOLI L, GIACHETTI D, COMPORTI M. (1997). protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *febs lett*. 416: 123-129.

46. FERRARO, G. E. (1983). acta farm . bonaerense , 2, 97.

47.FILOSTO M., SCARPELLI M., COTELLI M. S., VIELMI V., TODESCHINI A., GREGORELLI V., TONIN P., TOMELLERI G. AND PADOVANI A. (2011). The role of mitochondria in neurodegenerative diseases . *J neurol*. 258:1763-74.

48.FINAUD, J., LAC G., FILAIRE, E. (2006). Oxidative stress relationship with exercise and training . Sports médicine. 36(4), 327-358.

49.FUKAI T. AND USHIO-FUKAI M . (2011). Superoxide dismutases : role in redox signaling , vascular function , and diseases . Antioxid redox signal . 15: 1583-1606.

50.GILMAN .E. F., (1999) . *Hibiscus rosa-sinensis*. Environmental horticulture department , florida cooperative extension service , institute of food and agricultural sciences , university of florida . Educational publishing inc. London. Http://edis.ifas.ufl.edu.

51.GUETTAF S. ABIDLI N. KARICHE S. BELLEBCIR L. & BOURICHE H., 2016- phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of genista saharae . (coss. & dur.). Scholars research library, 8 (1): 51.

52.GUEYE, P.M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. These présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences de l'université . Louis pasteur-strasbourg i. Domaine : biochimie. P 252.

53.GUTIERREZ J., BALLINGER S. W., DARLEY-USMAR V. M. AND LANDAR A.(2006). Free radicals, mitochondria , and oxidized lipids : the emerging role in signal transduction in vascular cells . *Circ res*. 99: 924-932.

54.HALLIWELL , B. (1994) « free radicals and antioxidants» : a personal view nutr. Rev. 52: 253-265.

55.HALLIWELL , B. GUTTERIDGE , J.M.C. (1989). Free radical in biology and medicine. 2nd ed. *Clarendon press*, oxford university.

56.HAMIA C., contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile du fruit de l'arganier « *argania spinosa* ». mémoire de magister . Ouargla : Université Kasdi Merbah , 2007, 80-82 P.

57.HANASAKI , Y., OGAWA, S., FUKUI, S. (1994) «the correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids » free radic . Biol. Med. 16: 845-850.

58.HARBORNE J . B . (1973) in « pytochemistry » . ed . lawrence , p.l . litton educational publishing inc . vol ii, 334.

59.HARBORNE J . B ., SMITH , D . M . (1978a). anthochlor and other flavonoids as honey guides in the compositae biochem . syst .& ecol .6 (4) , 287-291.

60.HARBORNE J . B ., SMITH , D.M . (1978b). Correlations between anthocyanin chemistry and pollination ecology in the polemoniaceae . biochem . sys .& ecol . 6 (2) , 127-130.

61.HARBORNE , J. B. (1973). Flavonoids in phytochemistry, eds, j. B. Litton

62.HARBORNE , J. B. (1988). The flavonoids, advances in research sinc

63.HARBORNE , J. B., (1988) « the flavonoids », chapman and hall ltd , 539

64.HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A. (2000). advances in flavonoid research since (1992). phytochemistry. 55, 481-504.

65.HARBORNE, J.B. (1973). Phytochemistry (lawrenc,p.l.ed) vol ii.p334. Litton educational publishing inc.

66.HARBORNE, J.B. (1989). The flavonoids , advances in research since (1980). Eds chapman and hall , new york.

67.HARBORNE, J.B. AND WILLIAM , C. A.(1995). Natural product report, 639.

68. Havsteen , b. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids . Pharmacol & therapeutics . 96, 67-202.

69.HE J., YU Y., CHEN X., SUN W., FANG F., LI N. AND ZHENG J. (2010). Research progress on drug metabolism of flavonoids . *Zhongguo zhong yao za zhi*. 35.2794 -2789 .

70.HERBETTE S., ROECKEL-DREVET P. AND DREVET J. R. (2007) . seleno-independent glutathione peroxidases . more than simple antioxidant scavengers. *febs j*. 274: 2163-2180.

71.HODEK, P., TREFIL, P., STIBOROVA, M . (2002) « flavonoids-potent and versatile ».

72.IBRAHIMI N. S. HADIAN J. MIRJALILI M. H. SONBOLI A. & YOUSEFZADI M., 2008- Essential oil composition and antibacterial activity of Thymus caramanicus at different phonological stages. Journal of Food Elsevier Chemistry, 110: 929.

73.IVAN A . chemical constituents , traditional and modern medicinal uses. medicinal plants of the world . totowa . pages , 253-254.

74.IWASHINA T . (2000) . the structure and distrubution of the flavonoids in plants . j . plant res .113 (3) , 287-299.

75.JADHAV .V.M , R .M. THORAT, V.J. KADAM 1AND N. S. SATHE,. Traditional medicinal uses of *hibiscus rosa-sinensis* . Journal of pharmacy research .2009. Mumbai . Pages ,1220-1222 .

76. KASHIHARA N., HARUNA Y., KONDETI V. K. AND KANWAR Y. S. (2010) . oxidative stress in diabetic nephropathy. *curr med chem*. 17: 4256-4269.

77.KHOLKHAL. F . Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de *thymus ciliatus* ssq *coloratus* et ssq *euciliatus*. Thèse de doctorat . Tlemcen : université abou bekr belkaid, 2014, 45 p.

78.KOIVULA M. J., KANERVA M., SALMINEN J. P., NIKINMAA M. AND EEVA T. (2011) . Metal pollution indirectly increases oxidative stress in great tit (parus major) nestlings . *Environ res*. 111.370 -362

79.KOSHIISHI I. (2009) . Lipid-derived radicals in lipoxygenase reactions. *Seikagaku* . **81**: 793-797.

80.KSOURI R. MEGDICHE W. FALLEH H. TRABELSI N.BOULAABA M. SMAOUI A. ABDELLY C., 2008- influence of biological environmental

and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of tunisian halophytes . c, r, boil , 331: 865-873.

81. LAKSHMI S. V., PADMAJA G., KUPPUSAMY P. AND KUTALA V. K. (2009). Oxidative stress in cardiovascular disease. *Indian j biochem biophys*. **46**: 421-440.

82. LANDOLFI, R., MOWER, R. L., STEINER, M. (1984). Modiication of platelet functin and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations . Biochem . Pharmacol . 33, 1525-1530.

83. LAURENÇON L., 2013- contribution à l'étude phytochimique de solidago virgaurea , application dans le domaine bucco-dentaire et etude de la variabilité phytochimique pour la création d'une filière . thèse de doctorat , Université Nice Sophia Antipolis , p: 65.

84. LI Y. J., TAKIZAWA H. AND KAWADA T. (2010) . Role of oxidative stresses induced by diesel exhaust particles in airway inflammation , allergy and asthma: their potential as a target of chemoprevention . *Inflamm allergy drug targets* . **9**: 300-305.

85. LUSAKIBANZA MANZO M., 2012- etude phytochimique et pharmacologique de plantes antipaludique utilisées en médecine traditionnelle congolaise . thèse de doctorat , Université De Liège, p: 136.

86. M .HDJADJ. Antioxidant activities, phenolic, flavonoid and tannin contents of endemic *zygophyllum cornutum coss*.from algerian sahara. Pharma chemica, 2015, vol.7, pp 313.

87. M.BELGUIDOUM, H.DENDOUGUI, Z.KENDOUR, A.BELFAR, C.BENSACI,

88. MABRY, T. J., THOMAS, M. B., MARKHAM, K. R. (1970). The systematic

89. MADI A., 2010- caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux médicinales (thym et sauge) et la mise en évvidence de leurs activités biologiques . mémoire de magister , Université Mentouri , Constantine , P: 55-78.

90. MARFAK , A .G. (2003). These de doctorat , Universite De Limoges

91.MARI M., COLELL A., MORALES A., VON M. C., GARCIA-RUIZ C. AND FERNANDEZ-CHECA J. C. (2010) . Redox control of liver function in health and disease . *Antioxid redox signal*. **12**: 1295-1331.

92.MARTINEZ-FLOREZ S., GONZALEZ-GALLEGO J., CULEBRAS J. M. AND TUNON M. J. (2002). Flavonoids : properties and anti-oxidizing action. *nutr hosp*. **17**: 271-278.

93.MARTINEZ-OUTSCHOORN U. E., BALLIET R. M., RIVADENEIRA D. B., CHIAVARINA B., PAVLIDES S., WANG C., WHITAKER-MENEZES D., DAUMER K. M., LIN Z., WITKIEWICZ A. K., FLOMENBERG N., HOWELL A., PESTELL R. G., KNUDSEN E. S., SOTGIA F. AND LISANTI M. P.(2010). Oxidative stress in cancer associated fibroblasts drives tumor-stroma co-evolution : a new paradigm for understanding tumor metabolism , the field effect and genomic instability in cancer cells . *Cell cycle*. **9**: 3256-3276

94.MC LURE J .W. (1975). physiology and function of flavonoids ed . HARBONE J.B.,MABRY T.J.M. the flavonoids . Chapman and hall , London .970-1055.

95.MEDOW M. S., BAMJI N., CLARKE D., OCON A. J. AND STEWART J. M. (2011) . reactive oxygen species (ROS) f rom nadph and xanthine oxidase modulate the cutaneous local heating response in healthy humans . *j appl physiol*. **301**: r763-r768.

96.MIQUEL J. (2002). Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage , *ann n y acad sci* . 959: 508-516.

97.MISHRA B , PRIYADARSINI KI , KUMAR MS , UNNIKRISHNAN MK , MOHAN H . (2003). Effect of o-glycosilation on the antioxidant activity and free radical reactions of a plant flavonoid , chrysoeriol . *Bioorg med chem*. 11: 2677–2685.

98.MOSQUERA OM , CORREA YM , BUITRAGO DC , NIÖ J . (2007) . Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. *Mem inst oswaldo cruz*. 102: 631-634.

99.N .ZERROUKI. Contribution à l'étude phytochimique de la plante *tetraclinis*

100. N.BOUTAOUI. Recherche et determination structural de metabolites secondaires de Matricaria Chamomilla (Asteraceae) .étude de la phase acétate d'éthyle . Mémoire de Magister. Constantine : Université de Constantine, 2012, 27p.

101. NEPPOLIAN B ., PARK J . S . AND CHOI H . (2004) . Effect of fenton-like oxidation on enhanced oxidative degradation of para-chlorobenzoic acid by ultrasonic irradiation . *Ultrason sonochem* . **11**: 273-279.

102. NETO L. UCHOA A. MOURA A. FILHO B. TENORIO G. GOMSE A. XIMENES R. VANUSA M. & CORREIA M. T., 2016- phytochemical screening , total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian Flora . journal of medicinal plants research , 10 (27): 412.

103. NIJVELDT, R . J., NOOD , E. V., EC VAN HOORN, D., BOOELENS, P. G., NORREN, K. V. (2001). Leeuwen pav . Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potentiel applicatins . Am . J. Clin . Nutr . 74, 418-425.

104. ODAJIMA N., BETSUYAKU T., NAGAI K., MORIYAMA C., WANG D. H., TAKIGAWA T., OGINO K. AND NISHIMURA M. (2010). The role of catalase in pulmonary fibrosis . *Respir res*. **11**: 183.

105. OJEIL A . EL DARRA N . EL HAJJ Y . BOU MOUNCEF P . RIZK T., ET RICHARD M., 2010- identification et caractérisation de composes phénoliques du raisin château ksara . Lebanese Science Journal , 11 (2): 118-120.

106. ONO, K., NAKANE , H., FUKUSHIMA , M., MANN , J. C., BARRE-SINOUSSI , F. (1990). Differential inhibitory effect of various flavonoids

on the activities of reverrse transcriptase and cellular dna and rna polymerases. eur. j.biochem . 190 (3), 469- 76.

107. PAVLOU P., RALLIS M., DELICONSTANTINOS G., PAPAIOANNOU G. AND GRANDO S. A . (2009). *In-vivo* data on the influence of tobacco smoke and uv light on murine skin . *Toxicol ind health*. **25**: 231-239.

108. PEKAMWAR S. S., KALYANKAR T. M., JADHAV A .C,. 2013. *Hibiscus rosa-sinensis:* a review on ornamental plant . World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. India . Pages , 4720-4724.

109. PIETERS , L., VLIETINCK , A.J., VANDEN BERGHE , D. (1998) .«Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers » j. Nat . Prod . 61: 71-76.

110. PIETTA , P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants , j. Nat. Prod, 63, 1035-1042.

111. PORTUGAL-COHEN M., NUMA R., YAKA R . AND KOHEN R . (2010). Cocaine induces oxidative damage to skin via xanthine oxidase and nitric oxide synthase . *J dermatol sci*. **58**: 105-112 .

112. REIS A , SPICKETT, CM . (2012) . Chemistry of phospholipid oxidation . *Biochim. Biophys acta* . 1818: 2374–2387.

113. ROLLAND Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux . *ocl*. 11: 419-424.

114. ROMANI A , PINELLI P, CANTINI C, CIMATO A, HEIMLER D. (2006). Characterization of violetto di Toscana , a typical italian variety of artichoke (*cynara scolymus l.). J food chem*. 95: 221-225.

115. ROMANO A. D ,. SERVIDDIO G., DE M. A., BELLANTI F. AND VENDEMIALE G. (2010) . Oxidative stress and aging . *J nephrol* . **23 s 15** : s29-s36.

116. RYAN M. J., DUDASH H. J., DOCHERTY M., GERONILLA K. B., BAKER B. A., HAFF G. G., CUTLIP R. G. AND ALWAY S. E . (2010). Vitamine and supplementation reduces oxidative stress , improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Exp gerontol*. 45: 882-895.

117. RYBKA J., KUPCZYK D., KEDZIORA-KORNATOWSKA K., MOTYL J., CZUCZEJKO J., SZEWCZYK-GOLEC K., KOZAKIEWICZ M., PAWLUK H., CARVALHO L. A. AND KEDZIORA J. (2011). Glutathione-related antioxidant defense system in elderly patients treated for hypertension. *Cardiovasc toxicol* . **11**: 1-9.

118. SHARMA D. K. pharmacological properties of flavonoids including - integrations of petrocrops with development from plants. Journal of scientific industrial research, 2006, vol. 65, pp. 477-478.

119. SHINDE , A., GANU, J., NAIK , P. (2012) . Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress : a review. *Journal of dentistry and allied science* 2, 63-66.

120. SOERNSEN H . (1976) . Saccharopine and 2-aminoadipic acide in reseda odorata . Phytochemistry .15(10) ,1527-9.

121. SORG , O. (2004). oxidative stress : a theoretical model or a biological reality. *Comptes rendus biologies* .327, 649-662.

122. SUSPLUGAS C ., SUSPLUGAS P ., MASSE J. P. ,BERTEZ C . (1984) . The chemical composition of reseda phyteuma l .k. , plant . Med . phytother.18(2) ,62-7.

123. THOMAS C, MACKEY MM , DIAZ AA , COX DP. (2009). Hydroxyl radical is produced via the fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress : implications for diseases associated with iron accumulation. *Redox report* .14: 102-108.

124. TRABER M . G. (2007) . Heart disease and single-vitamin supplementation . *Am j clin nutr*. **85 s 11**: s293- s299

125. VALENTE MJ, BALTAZAR AF, HENRIQUE R, ESTEVINHO L, CARVALHO M. (2011) . Biological activities of Portuguese propolis : protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro . *Food chem toxicol*. 49: 86–92.

126. VAN ACKER , S.A.B.E., VAN DEN BERG , D.J., TROMP, M.N.J.L., GRIFFIOEN , D.H VAN BENNEKOM , W.P., VAN DER VIJGH , W.J.F., BAST, A .(1996) «structural aspect of antioxidant activity of flavonoids » free rad. biol. med. 20: 331-342.

127. VAN BENNEKOM , W.P., VAN DER VIJGH , W.J.F., BAST, A . (1996) « structural aspect of antioxidant activity of flavonoids » free rad. biol. med. 20: 331-342.

128. VANIN A. F., BEVERS L .M., SLAMA-SCHWOK A . AND VAN FAASSEN E. E . (2007). Nitric oxide synthase reduces nitrite to no under anoxia . *Cell mol life sci*. **64**: 96-103.

129. VANSANT, G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base . Symposium « antioxydants et alimentation ». Institut danone .

130. VINCENTA K , VH P., 2016 , therapeutic potential of hibiscus *rosa sinensis* . International journal of nutrition and dietetics . India . Pages , 105-123.

131. WAGNER , H., WIRER , M., BAUER , R . (1986). planta med , 184-187.

132. WERZ O., SZELLAS D . AND STEINHILBER D . (2000). Reactive oxygen species released from granulocytes stimulate 5-lipoxygenase activity in a b-lymphocytic cell line . *Eur j biochem*. **267**: 1263-1269.

133. WILLIAMS, C. A., GRAYER , R. J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids . Nat prod . Rep . 21, 539-573.

134. WOLLENWEBER , E., DIETZ , V.H. (1980). Biochemical systematic sv and ecology. 8, 21.

135. WRUCK C. J., FRAGOULIS A., GURZYNSKI A., BRANDENBURG L . O., KAN Y. W., CHAN K ., HASSENPFLUG J., FREITAG-WOLF S.,

VAROGA D., LIPPROSS S .AND PUFE T. (2011) . role of oxidative stress in rheumatoid arthritis : insights from the nrf 2-knockout mice . *ann rheum dis*. **70**: 844-850.

136. ZHANG J , YUAN K , ZHOU WL , ZHOU J , YANG P. (2011). Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of mimosa pudica linn . From southern china . *Pharmacogn mag*. 7(25): 35–39.

137. ZHOU B , JIA ZS , CHEN , ZH , YANG L , WU LM , LIU ZL. (2000). Synergistic antioxidant effect of green tea polyphenols with a-tocopherol on free radical initiated peroxidation of linoleic acid in micelles . *J chem soc perkin trans*. 2: 785- 791.

138. ZULFIQAR A., S.A. RAZA, A MUKHTAR., Z. HUSSAIN., S. A.SHAHZA, A. MANSHA, M. AHMAD, A.F.ZAHOOR, I. H. BUKHARI, M.R.S.A. JANJU, N. MAHMOOD AND M. YAR . 2014. Antioxidant and antibacterial activities of *hibiscus rosa-sinensis* linn flower extracts . Interdisciplinary research center in biomedical materials , comsats institute of information technology . Pakistan . Pages , 469-474 .

الملخص :

تهدف هذه الدراسة الى تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للفلافونويدات المستخلصة من أوراق (FFLH) وأزهار (FFRH) نبات *Hibiscus rosa-sinensis* المقطوف من منطقة عين زعطوط (بسكرة).

سجل مردود المستخلصات تباين في القيم ، حيث تفوق مردود عينة الازهار (3.19%) على المردود عند عينة الأوراق بقيمة (1.53%) .

أبدت نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للجذر الحر DPPH• أعلى نسب تثبيط عند مستخلص FFRH حيث قدرت قيمة IC_{50} بـ (121.34 µg/ml) أما مستخلص FFLH الأوراق فسجل القيمة المقدرة بـ (201.66 µg/ml).

أما في اختبار إنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) فأظهرت النتائج قدرة المستخلصات على تثبيط الانحلال الدموي ، حيث سجل كل من المستخلص (FFRH) و (FFLH) عند التركيز (1.2mg/ml) نسب إنحلال لكريات الدم الحمراء متقاربة قدرت بـ (62.09 %) و (62.47%) على التوالي .

مكنت نتائج التحليل النوعي للمستخلصات بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) التعرف على نوعية وتركيز بعض الأحماض الفينولية على غرار الفلافونويدات : حمض ب-كومارين ، حمض الكافييك ، حمض الغاليك ، الفانيلين ، نارجينين ، الروتين ، الكرستين .

الكلمات المفتاحية : *Hibiscus rosa-sinensis* ؛ الفلافونويدات، النشاطية المضادة للاكسدة، اختبار DPPH، اختبار Hémolyse.

Résumé :

Le but de cette étude est de comparaison entre les flavonoïdes extraits des feuilles (FFLH) et des fleurs (FFRH) de *Hibiscus rosa-sinensis* collecté dans la région d'Ain Zaatout (W. BISKRA).

Les résultats ont montré que la plus grande valeur des rendements dans l'extrait de fleurs FFRH (3.19%) supérieur à l'extrait de feuilles FFLH (1.53%).

L'activité antioxydants avec le test DPPH a montré que l'extrait de les fleurs (FFRH) avait la valeur élevée d'inhibition (IC_{50} = 121.34 µg/ml) comparée à l'extrait de les feuilles (FFLH) où était la valeur de IC_{50} (201.66 µg/ml).

Les résultats du test d'hémolyse ont montré une similitude des taux d'hémolyse (62.09% dans l'extrait de fleurs (FFRH) et 62.47% chez (FFLH)) avec la concentration 1,2 mg/ml.

L'analyse qualitative des extraits par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) a montré les différences de concentration et de qualité de certains acides phénoliques et flavonoïdes tels que l'acide Gallique , l'acide Caffiec , Vanilline , l'acide p-Coumarine , Rutine , Naringin et Quercitine.

Mots-clés: *Hibiscus rosa-sinensis* ; Flavonoïdes ; L'activité antioxydants ;test DPPH ; test Hémolyse .