الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علوم فلاحية

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة وحياة

شعبة: علوم فلاحية

تخصص: انتاج بناتي

الموضوع

استخلاص وتقدير الفعالية البيولوجية لاوراق نبات الحسك

Tribulus terrestris L

من إعداد:

✓ مقدود يسرى

✓ العمري نور الهدى

نوقشت يوم 2024/06/06 أمام لجنة المناقشة:

سليماني نور الدين	أستاذ محاضر	رئيسا	جامعة الوادي
حجاب نعيمة	أستاذة مساعدة	مناقشا	جامعة الوادي
حني مريم	أستاذة مساعدة	مؤطرا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2024/2023

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

بسم الله والصلاة والسلام على رسول الله محمد بن عبد الله خاتم الأنبياء عليه أفضل الصلاة والتسليم وبعد :

جميعا لما تحملوه معنا من عناء وتقصير منا وعلى عبارات التشجيع والتحفيز التي كانت سببا في مواصلة مسيرتنا العلمية. وإلى من ساهم في إنجاح هذا العمل:

الأستاذة حني مريم

نتقدم بالشكر الوافر والامتنان على مجهوداته ومساعدته وحسن معاملته الطيبة ***"للأستاذ ربيعي عبد الكريم"***

الذي شاركنا عناء البحث وكما نتوجه بالشكر الى أعضاء لجنة المناقشة :

كما لا يفوتنا في هذا المقام أن نتقدم بعظيم الشكر والامتنان إلى كل من سند في مد العون لنا ونخص بالذكر :

صديقتي دردوري نذيرة

وزملائي شيباني عبد الرحيم وفاضل محمد الامين

ومسؤول المخابر بالأخص
لطيفة وامنة

ومسير مكتبة الباحث " ***بصيرة بوبكر*** *"*

وإلى كل من ساهم وساعد في إنجاز هذا البحث أو أسدى نصيحة أو توجيها جزاهم الله عنا كل الخير

اهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

الى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة ونصح الامة الى نبي الرحمة ونور العالمين

سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى من أطفئ من شموع قيامه كي يبقى الطريق أمامنا نورا ساطعا أعلى

الى من علمني العطاء بدون انتظار الى من احمل اسمه بكل فخر

والدي مقدود إبراهيم

الى معنى الحب ومعنى الحنان والتفاني الى بسمة حياتي وسر الوجود الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي

امي الحبية مقدود نزيهة

الى من حبهم يجري في عروقي ويلهج ذكراهم فؤادي الى

اخوتي احمد عمار ومحمد طه وعبد المؤمن واحمد ياسين

الى من عرفت معهم معنى الحياة

اختي مريم وبناتها ومروة وبناتها

إلى رفقاء الدرب الطويل والمشوار الدراسي الصعب **"أصدقائنا الأعزاء"**

إلى منبر العلم الذي أفخر به وأتمنى أن يرفع رأسه بي.

جامعتي جامعة الشهيد حمه لخضر -الوادي.

إلى كليتي المبدعة كلية علوم الطبيعة والحياة

إلى هؤلاء الذين غمرونا برحاب صدورهم

وألانوا لنا الصعاب في إعداد هذه المذكرة

إلى كل من مر من هذا وزين عملي بنظراته، إليكم جميعا

نهدي ثمرة جهدنا هذا

اهداء

من قال أنا لها" نالها"

وإنا لها وان أبت رغما عنها أتيت بها

الحمد الله حبا وشكرا وامتنانا ما كنت لأفعل هذا لولا فضل الله فالحمد الله على البدء والختام اهدي ثمرة جهدي إلى

إلى من كلل العرق جبينه ومن علمني أن النجاح لا يأتي أيلا بالصبر ولإصرار إلى النور الذي أنار دربي وسراج الذي لا ينطفئ نوره بقلبي أبدا منبع الغالي والنفيس وستمديت منه قوتي واعتزازي بذاتي **" أبي الغالي"**

إلى من جعل الجنة تحت أقدامها وسهلت لي الشدائد بدعائها إلى الإنسانة العظيمة التي لطالما تمنت أن تقر عينها برؤيتي في يوم كهذا **"والدتي حفظها الله".**

إلى صديق الدرب إلى من جاد علي بوقته وأكرمني بفضله إقرارا مني بفضله واعترافا بحقه لي من أراه خالدا وسط قلبي وصدري أعلاه إلى خيرة أيامي وصفوتها إلى عوني بعد الله وضلعي الثابت الذي لا يميل

"زوجي "

إلى الأيادي الطاهرة التي أزالت من طريقي أشواك الفشل إلى ملاكي في الحياة أول ضناي أول شمعة أول شعور أول فرحة ابنتي **"جوري"**

إلى من شددت غظدي بهم فكانوا لي أنابيع ارتوي منها عشت معهم أجمل لحظات حياتي إلى شموع دربي إلى من شهدوا معي متاعب الدراسة وسهر الليالي" إخوتي "

إلى رياحين حياتي وسر سعادتي كتاكيت

" معتز بالله، أسيد، محمد نوفل، شهد، عبد العزيز، ادم "

وختاما ممتنة لنفسي على لحظات الإحباط التي كدت أن استسلم فيها ولم افعل وبقيت أقاوم

فهرس المحتويات

شكر وتقدير.....
اهداء.....
فهرس المحتويات.....
قائمة الوثائق.....
قائمة الجداول.....
قائمة المختصرات .....
الملخص.....
مقدمة..... 1

الجزء النظري

الفصل الأول: دراسة نظرية للنبتة

1- العائلة الرطراطية ZYGOPHLLACEA..... 6
1-1- الوصف النباتي للعائلة الرطراطية..... 6
1-2-الجنس Tribulus..... 6
2- نبات الحسكTribulus terrestris L 6
2-1- تسمية نبات..... 6
2-2- الوصف المورفولوجي لنبات الحسك .Tribulus terrestris L 7
2-2-1- الأوراق..... 8
2-2-2-النمو والازدهار..... 8
2-3-التوزيع الجغرافي لنبات الحسك Tribulus terrestris L في العالم الموطن والانتشار الجغرافي:..... 8
2-4 التصنيف النباتي لنبات الحسك Tribulus terrestris L..... 9
2-5- التركيب الكيميائي لنبات الحسك Tribulus terrestris L..... 9
2-6-الاستعمالات الطبية لنبات الحسك Tribulus terrestris L..... 9
2-7-الدراسات السابقة لنبات الحسك Tribulus terrestris L..... 10
2-8-الدراسة التشريحية لأوراق لنبات الحسك Tribulus terrestris L..... 11

الفصل الثاني: المركبات الفينولية

1- تعريف المنتجات الطبيعية الايض الأولي والثانوي..... 14
1-1- تمهيد..... 14
1-2- تعريف الايض الأولي..... 14
1-3- تعريف الايض الثانوي..... 14
1-4- القلويدات:..... 14
1-4-1- تصنيف القلويدات:..... 15
1-4-2- تواجد وتوزيع القلويدات:..... 16
1-4-3-الاصطناع الحيوي للقلويدات..... 16
1-4-5-الكشف عن القلويدات..... 17
1-4-6-خصائص القلويدات..... 17
1-4-7- فوائد القلويدات وأهميتها:..... 18
1-4-8- استخلاص القلويدات..... 19

1-5- التربينات..... 19
1-5-1-تصنيف التربينات 19
1-5-2- اصطناع الحيوي للتربينات..... 20
1-5-3- استخلاص التربينات:..... 21
1-6- الفلافونويداتLes flavonoids 21
1-6-1-تعريف الفلافونيدات..... 21
1-6-2-تصنيف الفلافونيدات..... 22
1-6-3-الاصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات:..... 23
1-6-4-خواص الفلافونيدات..... 24
1-6-5- الكشف عن الفلافونيدات..... 25
1-6-6-الفعالية البيولوجية للفلانويدات:..... 25
1-6-7- استخلاص الفلافونيدات 25
1-6-8-أهمية الفلافونيدات..... 26
1-7-الفينولات..... 27
1-7-1-المركبات الفينولية..... 27
1-7-2-أهمية الفينولات:..... 29
1-7-3- استخلاص مركبات الفينولية..... 29
1-7-4-الخصائص البيولوجيا للفينولات الفلافونيدات: [31] 30

الفصل الثالث: دراسة الفعالية البيولوجية

1- البكتيريا..... 32
1-1- تعريف البكتيريا 32
1-2- أشكال البكتيريا..... 32
1-3- تصنيف البكتيريا..... 33
1-4- الخصائص العامة للبكتيريا 33
1-5- العوامل التي تؤثر على نمو البكتيريا 33
1-6- أهمية البكتيريا 34
1-7- مقاومة البكتيريا..... 35
2- مضادات الأكسدة..... 36
2-1- تعريف الإجهاد التأكسدي:..... 36
2-2- تعريف مضادات الأكسدة..... 36
2-3- أنواع مضادات الأكسدة 36
2-3-1- مضادات الأكسدة المصنعة:..... 36
2-3-2- مضادات الأكسدة الطبيعية:..... 36
2-3-3- مضادات الأكسدة الغذائية:..... 37
2-3-4- مضادات الأكسدة الذاتية:..... 37
2-4-آلية عمل مضادات الأكسدة..... 37
2-5- مصادر مضادات الأكسدة..... 37
2-6- أهمية مضادات الأكسدة..... 39
2-7- شروط إضافة مضادات الأكسدة:..... 39

2-8- سلبيات مضادات الأكسدة 40
3- الجذور الحرة 40
3-1- تعريف الجذور الحرة:..... 40
3-2-أنواع الجذور الحرة..... 40
3-3-مصادر الجذور الحرة 41
3-4-متابعة حركية الجذور الحرة..... 41
3-5- أضرار الجذور الحرة 42
3-6- دور الجذور الحرة 42
3-7- آلية تشكل الجذور الحرة: 42
3-8-أسباب زيادة الجذور الحرة: 43

الجزء التطبيقي

الفصل الأول: مواد وطرق الدراسة

1- تقديم منطقة الدراسة: 46
1-1- الموقع الجغرافي الوادي: 46
2- الطرق المتبعة في الميدان..... 46
2-1-وقت الجمع: 46
2-2- التجفيف:..... 47
2-3- الطحن والتخزين: 47
3- المواد والطرق:..... 47
3-1- تعريف الاستخلاص: 47
3-2- تحضير مستخلص الايثانولي و المائي و مزيج الايثانول مع مائي لأوراق نبات Tribulus terrestris L : 48
3-3- حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات:..... 48
4- الاختبارات الفيتو كيمائية الأولية: 49
4-1-التقدير الكمي للمركبات الفينولية (PPT) الكلية للمستخلصات:..... 50
5- التقدير الكمي للفلانويدات (FV)الكلية للمستخلصات:..... 50
6-تقدير نشاط مضاد للأكسدة:..... 51
6-1-اختبار DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl)..... 52
7- اختبار FRAP:..... 54
8- الفعالية المضادة البكتيريا: 54

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة

1-النتائج والمناقشة..... 57
1-1-حساب المردود لمستخلصات النبات 57
1-2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية..... 58
1-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية..... 59
1-3-1-لتقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)..... 59
1-3-2- التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدات(FV) 61
1-4- تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة 62
1-4-1- -نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحرDPPH..... 62

1-4-2-منحنيات DPPHمستخلص الميثانولي ومستخلص مائي ومستخلص المزيج (ميثانول+ماء)..... 63
1-4-3-نتائج اختبار FRAP 65
1-5-نتائج الفعالية المضادة البكتيريا: 66
الخاتمة..... 69
قائمة المصادر والمراجع..... 71

قائمة الوثائق

الشكل (1): مردود مستخلص المائي ومستخلص الايثانولي ومستخلص ماء+ايثانول..... 57

الشكل (2): المنحنى القياسي لحمض الغاليك كمرجع لفينولات. 60

الشكل (3): كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي والايثانولي ومزيج الماء والايثانول لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من وزن المستخلص الجاف..... 60

الشكل (4): منحنى قياسي لحمض الكرستين كمرجع للفلافونويدات. 62

الشكل (5): كمية المركبات الفلافونويدات لمستخلصات النبتة المدروسة..... 62

الشكل (6): منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك كمرجع ل DPPH..... 63

الشكل (7): منحنيات اختبار DPPHللعينات المدروسة..... 64

الشكل (8): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار DPPHللعينات المدروسة. 64

الشكل (9): منحنى قياسي لحمض اسكوربيك كمرجع ل FRAP..... 65

الشكل (10): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار FRAPللعينات المدروسة..... 65

قائمة الجداول

جدول(01): التصنيف النباتي لنبات الحسكL *Tribulus terrestris* . 9

الجدول (2): تصنيف التربينات. 20

الجدول (3): يمثل قائمة الإنزيمات الداخلة في تصنيع الحيوي 24

الجدول (4): يوضح آلية عمل مضادات الأكسدة 37

الجدول (5): يوضح نتائج مردود المستخلصات. 57

الجدول (6): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي أوراق نبات الحسك. 58

الجدول (7): النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك 59

(+): وجود مادة فعالة (كلما زادت زاد التواجد) (-): عدم وجود مادة فعالة (كلما نقصت نقص التواجد)

59

الجدول (8): كمية مركبات الفينولية في المستخلصات النبتة المدروسة. 61

الجدول (9): كمية المركبات الفلافونيدات لنبتة المدروسة. 62

الجدول (10): يمثل نتائج قيم IC50للعينات المدروسة. 64

الجدول (11): يمثل نتائج اختبار FRAP 66

الجدول (12): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص الايثانولي. 66

الجدول (13): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص مائي. 67

الجدول (14): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص ماء+ايثانول. 68

قائمة المختصرات

Mg	Milligrame
Ml	Millilitre
Nm	Nanométre
%	Pourcentage
DPPH	2.2- diphényl-1-picrylhydrazy
UV	Rayons ultraviolets
FRAP	Ferric reducing ability of plasma
IC50	Inihibion Concentration 50%
I%	النسبة المئوية للتثبيط
PH	درجة الحموضة
G	غرام
λ max	طول الموجة الاعظمية
M	كتلة العينة
AA	حمض الاسكوربيك
A	الامتصاصية الضوئية
TCA	حمض ثلاثي كلورو أسيتيك
$K_3Fe(CN)_6$	Potassium ferrcianure
$Fecl_3$	كلور حديد الثلاثي

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص وتقدير فعالية البيولوجية لأوراق نبات الحسك ***TRIBULUS TERRESTRIS L***. نبات الحسك هو نبات طبي من العائلة الرطراطية تم حصاده في جامعة الشهيد حمه لخضر بالولاية الوادي في شهر ديسمبر 2023، حيث تم استخلاص أوراق نبات مع المذيبات التالية: الماء المقطر، الايثانول، مزيج ماء مقطر (30%) والايثانول (70%) قمنا بالكشف عن مركبات الايض الثانوي لكل من القلويدات والفينولات والفلافونيدات والتربينات. بعد عملية الاستخلاص أظهر مردود المستخلص المائي أكبر نسبة قدرت ب 18.55% ، من خلال التقدير الكمي للفينولات الكلية و الفلافونويدات للمستخلصات أظهرت النتائج احتوائها على كمية كبيرة من هاته المركبات، حيث كانت أعلى كمية للفينولات الكلية عند المستخلص المائي ب 580(EqAG mg\g) وعند مركبات الفلانويدات احتوى مستخلص مزيج ماء+ايثانول على اكبر كمية قدرها 490 (EqAG mg/g) أما تقدير الفعالية المضادة للأكسدة تم في اختبارين: اختبار DPPH و اختبار FRAP حيث وجدنا أكبر قيمة للفعالية المضادة للأكسدة عند المستخلص مزيج ماء+ايثانول. وفي الأخير تمت دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا حيث ثم اختبار أربع سلالات من البكتيريا عند تراكيز مختلفة أظهرت النتائج أن البكتيريا تمتلك مقاومة ضد بعد المستخلصات المدروسة.

كلمات مفتاحية

نبات الحسك *Tribulus terrestris* L، مركبات الايض الثانوي، القلويدات، الفينولات، الفلانويدات، التربينات، اختبارDPPH ، اختبارFRAP ، دراسة فعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا.

Summary

The aim of this study is to extract and estimate the biological effectiveness of the leaves of the Hasak plant, TRIBULUS TERRESTRIS L. The Hasak plant is a medicinal plant from the Tarataceae family that was harvested at the University of Shahid Hama Lakhdar in the El Oued Province in the month of December 2023, where the leaves of the plant were extracted with the following solvents: distilled water, Ethanol, a mixture of distilled water (30%) and ethanol (70%). We detected secondary metabolites of alkaloids, phenols, flavonoids and terpenes. After the extraction process, the yield of the aqueous extract showed the highest percentage, estimated at 18.55%. Through quantitative estimation of the total phenols and flavonoids of the extracts, the results showed that they contain a large amount of these compounds, as the highest amount of total phenols in the aqueous extract was EqAG mg\g) 580 As for the flanoids, the water + ethanol mixture extract contained the largest amount (490 EqAG mg/g). As for the antioxidant activity, it was estimated in two tests: the DPPH test and the FRAP test, where we found the largest value of the antioxidant activity in the water + ethanol mixture extract. Finally, the biological antibacterial activity was studied, where four strains of bacteria were tested at different concentrations. The results showed that the bacteria possessed resistance to some of the studied extracts.

Keywords

Thistle plant Tribulus terrestris L, secondary metabolites, alkaloids, phenols, flanoids, terpenes, DPPH test, FRAP test, study of biological antibacterial activity.

مقدمة

تركز اهتمام الجنس البشري في الفترة الأخيرة على مصادر الطبيعية خاصة النباتية من اجل التداوي والتجميل وصناعة الغذاء.

طب الأعشاب فرع من فروع الطب البديل، الآن النباتات تؤدي دور مهما في حماية صحة الإنسان وتحسين مسار حياته، وما زالت العديد من الثقافات التقليدية تثمن عاليا قيمة الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية ومنافعها الأخرى، وهذا راجع لكلفتها المنخفضة، وسهولة الحصول عليها، والاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا ونفعا من العقاقير المصنعة.

في واقعنا الزمني زاد اهتمام الناس بالطب والعلاج الطبيعي والتداوي بالأغذية الطبيعية والأعشاب والنباتات الطبية والوصفات الشعبية المجربة من أهل الخبرة.

استعمل الإنسان النباتات والأعشاب في علاج بعض الإمراض التي كانت تصيبه وتصيب حيواناته الأليفة واستعملها أما على طبيعتها أو استخلصها كالزيوت الأساسية زيوت عطرية وهذا الفترة الزمنية تقارب ستة الاف سنة[1] .

تستخدم النباتات الطبية والعطرية في الطب الشعبي وتعددت هذه المجالات إلى التعطير، مواد التجميل التتبيل وحافظات الغذاء حيث تعزى النشاطية إلى وجود مضادات الأكسدة والمضادات الميكروبية في أنسجتها فهي تعتبر المصدر الطبيعي لمضادات الأكسدة الطبيعية.

نظرا لتعدد مناخات الجزائر إلى أنها تمتلك ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة اكسبها وفرة غطاء نباتي خاصة بالنسبة للنباتات منها البرية حيث يصل عدد النباتات إلى 3000 نبتة تنتمي إلى مختلف العائلات النباتية 15% منها محلية وفي بيئات مناخية متنوعة في سواحل والوديان والهضاب والمرتفعات الجبلية والصحاري وفي الحقول الزراعية وغيرها منها ما هي موسمية تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة والشجيرات.

اندرجت توصيات المؤتمرات الطبية والصيدلانية المنعقدة في السنوات السابقة لتنادي بضرورة الحد من تناول هذه العقاقير المصنعة التي ثبتت أن استخدامها لها أثار جانبية ضارة وشددت بالعودة إلى النباتات الطبية والاهتمام بها لكونها مصدر امن لصناعة الأدوية وجعلها في خدمة الصحة بطريقة علمية لتطبيق أسس علمية ثابتة أين تلعب الكيمياء النباتية دورا حيويا في استخلاص العناصر النشطة من النبتة وهذا استخدما الطرق الكيميائية التحليلية والفيزيائية المختلفة بعدها يأتي دور البيولوجي والصيدلاني لإجراء التجارب البيولوجية.

يعتبر معرفة النبتة معرفة حقيقية بوصفها وخصائصها وضبط مميزاتها واسمها أساس البحث العلمي الصحيح فكل نبتة أو عشبه هيا صيدلة كاملة في الواقع لاحتوائها على مواد فعالة وتوزعت بنسب وضعها الله سبحانه وتعالى بحكمته وتقديره[2] .

ولتقيم هذه الثروة النباتية وقع اختيارنا على العائلة Zygophllacea المعروفة بالعائلة الرطراطية التي تعتبر أرقى العائلات النباتية المتواجدة في الجزائر[1].

لذا هدفت دراستنا إلى دراسة استخلاص وتقدير الفعالية البيولوجية للأوراق نبات *Tribulus Terrestris L*

ولقد ارتأينا إلى تقسيم هذا العمل إلى جزئين حيث:

الجزء النظري ثلاث فصول:

الفصل الأول: دراسة نظرية للنبتة من حيث العائلة والوصف النباتي للعائلة والجنس والوصف المورفولوجي والتوزيع الجغرافي والتصنيف النباتي والتركيب الكيميائي والاستعمالات العلاجية.

- ✓ **الفصل الثاني:** فقدمنا دراسة حول المركبات الفينولية من حيث تعريف المنتجات الطبيعية الايض الأولي والثانوي وعديدات الفينولات الفلافونيدات.
- ✓ **الفصل الثالث:** قدمنا دراسة نظرية للفعالية البيولوجية من حيث البكتيريا والجذور الحرة ومضادات الأكسدة(اختبارDPPH) (اختبار FRAP).

الجزء التطبيقي فصلين:

- ✓ **الفصل الاول:** المواد وطرق الدراسة.
- ✓ **الفصل الثاني:** النتائج والمناقشة.
- ✓ ختمنا عملنا بخلاصة عامة

قائمة المصادر والمراجع

[1] شكري ب، س -، 1994النباتات الزهرية، دار الفكر العربي الإسكندرية، ص:446

[2] بن مرعاش عباس، دراسة نواتج الايض الثانوية الفلافونيدي والفعالية المضادة الأكسدة للنبتة جامعة، ماجستير مذكرة .Convolvulus supinus Coss. & karal Convolvulaceae منتوري قسنطينة ,2012. ص91.

الجزء النظري

الفصل الأول:
دراسة نظرية للنبتة

1- العائلة الرطراطية ZYGOPHLLACEA

1-1- الوصف النباتي للعائلة الرطراطية

تعتبر العائلة الرطراطية من اهم النباتات التي تنتمي الى طائفة ثنائية الفلقة، وتتضمن هذه العائلة حوالي 27 جنسا من بينها: بما Tribulus, Zygophyllum, Fagonia, Balanites لا تقل عن 285 نوع منتشرة في أنحاء العالم [3].

معظم أنواع هذه العائلة حولية وتكون نباتاتها عبارة عن اعشاب او شجيرات أوراق ونادرا ما تكون أشجار، وتتميز النباتات العشبية منها بأنها ذات مركبة متقابلة بها اذينات قد تكون عصرية كما في الرطراط او لحمية ، خنثي منتظمة سفلية بها كاس مكون من خمس سبلات سائبة والتويج يتكون من بتلات سائبة او ملتحمة و ذات طلع مكون من 5-15 سداة تكون في محيط محيطين او ثلاثة ،ويتكون المتاع من 2-6 كرابل ملتحمة ويوجد اسفل المبيض قرص غدي ويكون عدد غرف المبيض مساوي لعدد الكرابل ويوجد بكل غرفة بويضتان او اكثر في وضع محوري ويعلو المبيض قلم ينتهي بميسم واحد والثمرة لهذه العائلة عبارة عن علبة تنفتح مسكنيا او حاجزيا [4]

تنتشر نباتات العائلة الرطراطية بشكل عام في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمعتدلة، غالبا في المناطق الجافة [5]

1-2-الجنس Tribulus

بعض نباتات هذا الجنس معمرة تنمو في المناطق الاستوائية وبعض الاخر حولية تنمو في المناخات الباردة وهناك أنواع تزرع كنباتات للزينة في المناطق الدافئة، ويضم هذا الجنس 25نوعا من بينها *Tribulus pentandrus*, *Tribulus Longipet alus*, *Tribulus alatus*.: [6]

2- نبات الحسك *Tribulus terrestris L*

2-1- تسمية نبات

الاسم العلمي:

Tribulus terrestrisL, Malte Tribulus lanuginosus L.

Criox de Malte, tribule couché, escarbote**,** saligot terrestre [7]

الاسم الفرنسي

[8] Tribule Terrestre

الاسم بالإنجليزية: puncture vine, Bur nut, bulhead, caltrop [9]

وله عدة أسماء: الحسك الشوكي بالإنجليزية (Puncturevine) وأشهر أسماءه القُطِّبة وقد تنطق أو تكتب بأشكال مختلفة مثل القطب وقرطب أو قُطْرَب، والحسك أو حسكة من الكلمة الإنجليزية (Tribulus) وهو أيضاً حمص الأمير أو حمص الجبل وأضراس العجوز وضُرَيْسَة وعرمط وحماض الأسد ومن الفارسية شكوهج.

2-2- الوصف المورفولوجي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L.*

عشب حولي، تكسوه أوبار خشنة منطبقة، يتراوح طوله بين 30-60 سم. السوق عديدة، مستلقية على الأرض. الاوراق مركبة ريشية، طولها 4 - 8 سم، تتوضع في اندفاع غير متساوية في الحجم غالبا، الورقة الأصغر تضم 5 اشفاع من الوريقات، والورقة الأكبر تضم 6 - 8 اندفاع. الاذنات 4 مم، رحمية. الوريقة 6 - 12 مم، بيضوية — مستطيلة، اسلية القمة. الازهار خنثوية، مفردة أو تجتمع في نورات سيميه عقربية، شمراخيه، قطرها نحو 1.5 سم. السبلات خمس، حرة، طولها نحو 6 مم، رحمية. البتلات خمس، حرة، طولها ضعفا طول السبلات، صفراء، مستطيلة ـ خطيه.

الأسدية عشر، حرة، أقصر من البتلات. المأنث خماسي الكرابل، **المبيض خماسي الحجيرات**، الميسم شعبه لاطيء (يغيب القلم) ومخروطي الشكل. الثمرة فصومه، تتألف من 5 أقسومات (ثميرات). الثميرة غير متفتحة، قاسية، قطرها نحو 1 سم، تكسوها أوبار رمادية، تحتوي بذرة واحدة، وتمتلك 4 اشواك قوية، يمكن للشوكتين السفليتين ان تجهضا أو تختزلا إلى درينات. الإزهار من نيسان / إبريل إلى أيلول / سبتمبر. [10]

الصورة 1: الحسك الأرضي *Tribulus terrestris L*

2-2-1- الأوراق

يحمل هذا النبات أوراق مركبة ريشية قصيرة طولها 1,25 سم متقابلة مكونة من 4_7 ازواج واحد من كل زوج أصغر من الاخر [11] مكونة من 8_16 وريقات بيضاوية مرتبة في صفين اليمين واليسار بدون وريقة نهائية في الجزء العلوي من الورقة، حيث تحمل جميع الوريقات سويقة قصيرة [12]

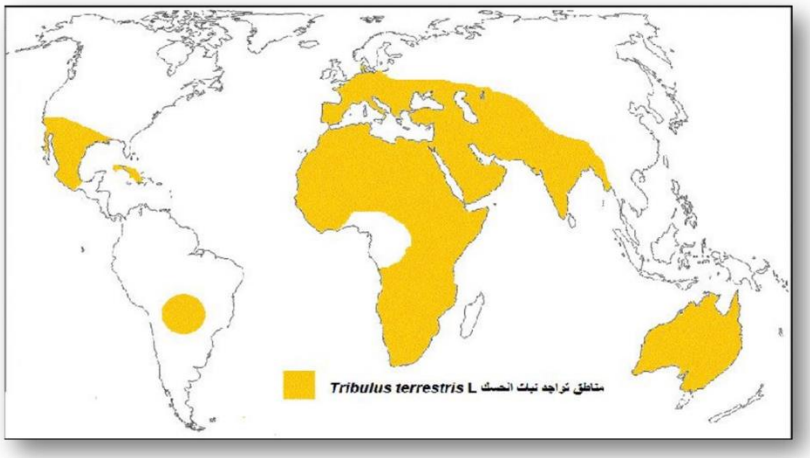
الصورة 2: أوراق نبات الحسك الأرضي *Tribulus terrestris L*

2-2-2-النمو والازدهار

ينمو نبات الحسك في درجات الحرارة الدافئة، وبعد ثلاثة أسابيع تبدأ في الظهور ويحدث الثمار بعد أسبوعين [13]. وينمو في المناطق الجافة او الملحية [14] وفي أنواع كثيرة من التربة الرملية الى التربة الطينية والتربة الغنية او الفقيرة [15].

2-3-التوزيع الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* في العالم الموطن والانتشار الجغرافي:

المناطق المعتدلة والمدارية من العالم القديم، حيث تنتشر طبيعيا في جنوبي اوروبا وجنوبي اسيا وشرق المتوسط وفي افريقيا واستراليا. [10]



الصورة 3: مناطق تواجد نبات الحسك *Tribulus terrestris* L في العالم [16].

4-2 التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

حسب المرجعين [7] و[17] فان نبات الحسك يصنف كالتالي:

جدول(01): التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L* .

المملكة	النباتية	Végétal	Régne
الشعبة	النباتات لبذرية	Spermatophytes	Embranchment
القسم	مغطاة البذور	Angiospermes	Division
الطائفة	ثنائية الفلقة	Dicotylédones	Classe
الرتبة	زيغوفيلال	Zygophyllales	Ordre
العائلة	الرطراطية	Zygophyllaceae	Famille
الجنس	تريبيلوس	Tribulus	Genre
النوع	الحسك	Tribulus terrestris L	Espéce

5-2- التركيب الكيميائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

يحتوي نبات ***Tribulus terrestris L*** على العديد من المركبات الكيميائية، حيث يحتوي على الصابونينات، الفلافونيدات والتانينات [18] والاحماض الدهنية غير مشبعة، الفيتامينات، نترات البوتاسيوم، الزيوت الطيارة والثابتة[19] وكومارين [20].

6-2-الاستعمالات الطبية لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

1. يفيد في ضبط قدرة الجسم على التحكم بخروج البول ويفتت حصى الكلى والمثانة وهذا أشهر استخدام شعبي معروف للقطبة في اليمن والجزيرة العربية، كما تمنع القطبة تكون الحصوات داخل الجهاز البولي [21].
2. كما أن هذا النبات بأوراقه وجذوره وبذوره التي عليها نتوءات شوكية مقوٍ وفاتح للشهية ومعالج للدوسنتاريا وآلام المثانة[21] .

3. جيد للكحة وتقليل نسبة الكولسترول المرتفع في الدم وخفض ضغط الدم المرتفع. لزيادة قوة عضلة القلب وتقلل من احتجاز السوائل داخل الجسم[21] .
4. يستعمل الحسك لزيادة كفاءة الاداء الرياضي وأصبح له شعبية وصيت مرتفع بين الرياضيين في رفع قيمة الجهد المبذول أثناء التمارين والرياضة فهو يحسن من كفاءة العضلات لكي يصل الرياضي إلى مستويات قياسية[21] .
5. يستخدم في علاج اضطرابات المزاج لدى المدخنين بسبب الاقلاع عن التدخين وذلك بعمل شاي من هذا النبات وشربه بصفة منتظمة[21] .

2-7-الدراسات السابقة لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

يعتبر نبات الحسك ذو أهمية بالغة في الكثير من الدراسات المخبرية، مما أدى إلى دراستها من قبل بعض الباحثين، وفيما يلي أهم الدراسات المتعلقة بهذا النبات حيث:

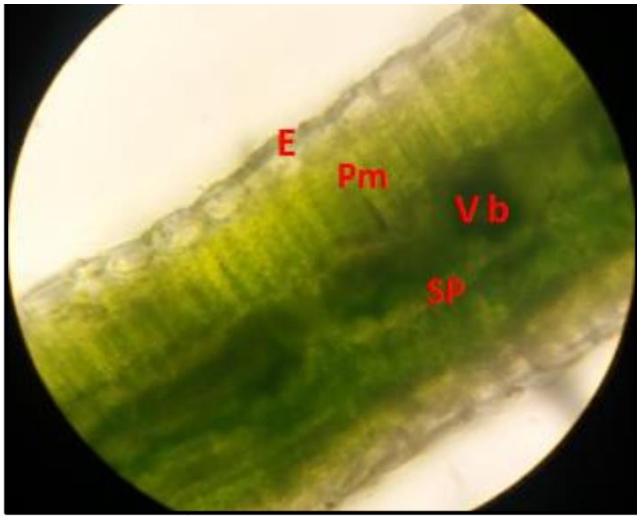
- ✓ حسب الدراسات الحديثة يزيد من نسبة هرمون التستوستيرون وبالتالي زيادة اعداد الحيوانات المنوية من حيث العدد والحيوية وذلك من خلال زيادة هرمون الاستراديول في الدم، وعند كبار السن من الرجال فانه يخفض من أعراض الاندروبوز المماثل لسن اليأس عند المرأة. [22]
- ✓ ومن الدراسات التي تمت على هذه النبتة في بلغاريا والتي أكدت على ان النبتة يزيد من نسبة هرمون التبويض LH بنسبة 82% ويزيد من نسبة هرمون التستوسترون الحر في الدم بنسبة 71% وذلك في الرجال ذوي الحالة الصحية الجيدة في خلال مدة 5 ايام فقط من تناول العشبة. [22]
- ✓ تمت الدراسة العلمية على حيوانات التجارب. وتبين ان الحيوانات التي تناولته كان لها اداء مرتفع في السلوك الجنسي، وأيضا في زيادة ضغط الدم داخل الاعضاء الذكري لتلك الحيوانات مما يؤدي الى تضخم العضو الذكري وتمدده اثناء الممارسة الجنسية ويعزى ذلك الاداء المرتفع الى زيادة هرمون التستوسترون. [22]
- ✓ للمستخلص الايثانولي لثمار نبات الحسك نشاط مضاد mutans Streptococcus المسؤولة عن تسوس الاسنان [23]
- ✓ مستخلص ايثر البترول للأوراق نشاط ضد يرقات البعوض الناقلة لحمى الضنك fever dengue [24]
- ✓ أعطت دراسة حول مستخلصات المائية للنباتات فعالية السمية ضد حشرة castaneum Triboliumالمتسببة في تلف الحبوب المخزنة [25]
- ✓ لوحظ ان تناول جرعات (850 مع| كغ) من مستخلصات المائية لثمار نبات الحسك تفيد في خفض نسبة كولسترول والدهون الثلاثية [26]
- ✓ أظهرت الدراسات والأبحاث السريرية 406 مريضا ان صابونين protodioscin المستخرج من نبات الحسك يلعب دورا في توسيع الاوعية الدموية [27]

- ✓ بينت الدراسات ان الصابونين المعزول من نبات الحسك نشاط مضاد لفطر albicans candidaالمسبب في التهابات الجلد [28].

2-8-الدراسة التشريحية لأوراق لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*

من خلال ملاحظة المقاطع العرضية للأوراق، نلاحظ مايلي:

- ✓ الورقة تحاط بطبقتين من نسيج البشرة، البشرة السفلى والعليا، فالبشرة تتكون من صف واحد من الخلايا، فكلا طبقتي البشرة السفلى والعليا بطبقة رقيقة من الكيوتيكيل تحت البشرة يوجد النسيج اليخضوري العمادي ومن ثم خلايا النسيج الاسفنجي [29].
- ✓ المقطع العرضي للورقة يظهر أيضا وجود عرق رئيسي و10عروق ثانوية في هذه العروق توجد حزم وعائية بين النسيج الاسفنجي والعمادي متغايرة في الحجم، حيث نلاحظ وجود حزمة وعائية كبيرة وسيطة الموقع وعلى جانبيها تتريب حزم وعائية متغايرة في الحجم الخشب الى البشرة العليا واللحاء الى بشرة الأدنى ويحيط بهذه الحزم الاوعية خلايا كلور انشيمية [29].



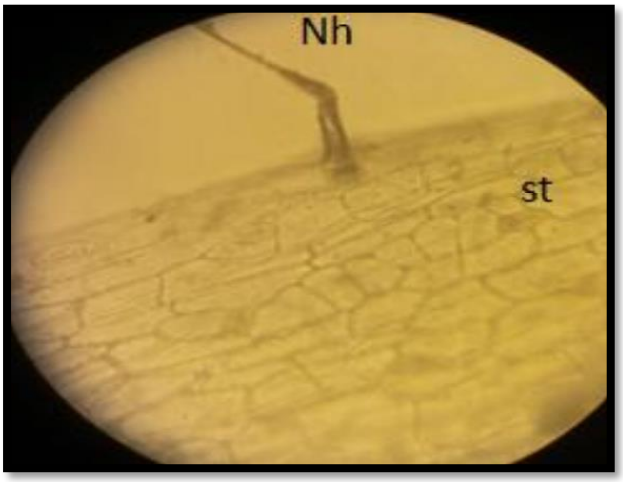
الصورة 4: مقطع عرضي للأوراق تحت المجهر الضوئي بتكبير400.

E : Epidermis, **Pm :** palisade mesophyll, **Vb :** Vascular bundles,

Sp : Spongy mesophyll

❖ **البشرة السفلى للورقة:**

تتكون البشرة السفلى من الخلايا ذات حجم أصغر من الخلايا البشرة العليا، وتكون مغطاة بعدد اقل من شعيرات أحادية الخلية، بسيطة وغير غدية، وبها عدد كبير من الثغور [29].

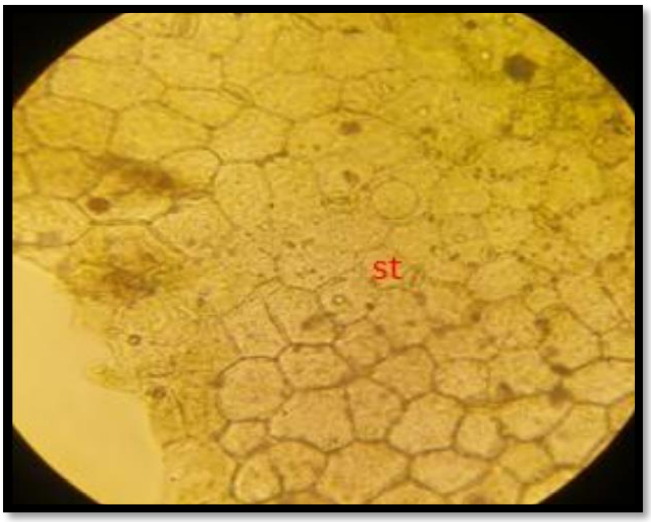


الصورة5: البشرة العليا للورقة تحت المجهر الضوئي بتكبير400.

Nh : Nonglandular hairs, **St** : stomata

❖ البشرة السفلية للورقة:

- تتكون البشرة السفلى من الخلايا ذات حجم أصغر من الخلايا البشرة العليا، وتكون مغطاة بعدد اقل من الشعيرات أحادية الخلية، بسيطة وغير غدية، وبها عدد كبير من الثغور [29].



الصورة6: البشرة السفلى للورقة تحت المجهر الضوئي بتكبير.400

St : Stomata.

الفصل الثاني:
المركبات الفينولية

1- تعريف المنتجات الطبيعية الايض الأولي والثانوي

1-1- تمهيد

جميع الكائنات الحية لديها الايض الأساسي الذي يوفر لها الجزيئات الأساسية (الأحماض النووية، الدهون، البروتينات، الأحماض الأمينية والكربوهيدرات) في المملكة النباتية كما تنتج النباتات عدد كبير من المركبات والتي تأتــي نتيجة للتفاعلات الكيميائيــة اللاحقة [30]

هذه المركبات تلعب دورا مهم في مختلف التفاعلات الحيوية وكذالك لها دور فعال في التفاعلات الايضية وتنقسم إلى نوعين مختلفين من المركبات الكيميائية التي تنتجها النباتات خلال دورات حياتها منها الايض الأولي والايض الثانوي آذا يحوي الايض الأولي على مركبات تدخل في تفاعلات الأولية منتجة أحماض كربوكسيلية وأحماض امينية والتي تنطلق منها مركبات الايض الثانوي [31]

1-2- تعريف الايض الأولي

هو مجموعة من العمليات البيوكيميائية يتم إنتاجها بشكل مستمر خلال مرحلة النمو وتساهم في عمليات التمثيل الغذائي والضوئي، وتصنف حسب مصادرها إلى حيوانية ونباتية، وهي متشابها في معظم الكائنات الحية (سكريات، أحماض امينية، البروتينات)

1-3- تعريف الايض الثانوي

مجموعة من العمليات الكيميائية التي تحدث داخل النبات تنتج من نواتج الايض الأولية هي جزيئات كبيرة العدد، لها شكل بنيوي ولها استعمالات دوائية عديدة وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة تشمل كل من القلويدات والفينولات والتربينات، تلعب ادوار مهمة في تفاعل النبات مع بيئته وتصنف على حسب مصادرها إلى حيوانية ونباتية، وعلى حسب التركيب الطبيعية الفعالة، إذ تعتبر مركبات القسم الأول هي المواد البادئة لها، فهي تمثل مركبات الايض الثانوي، وهناك ثالث مواد أولية وهي: حمض الشيكميك، الاسيتات، والأحماض الامنية. ومن أهم منتجات الايض[32][33]

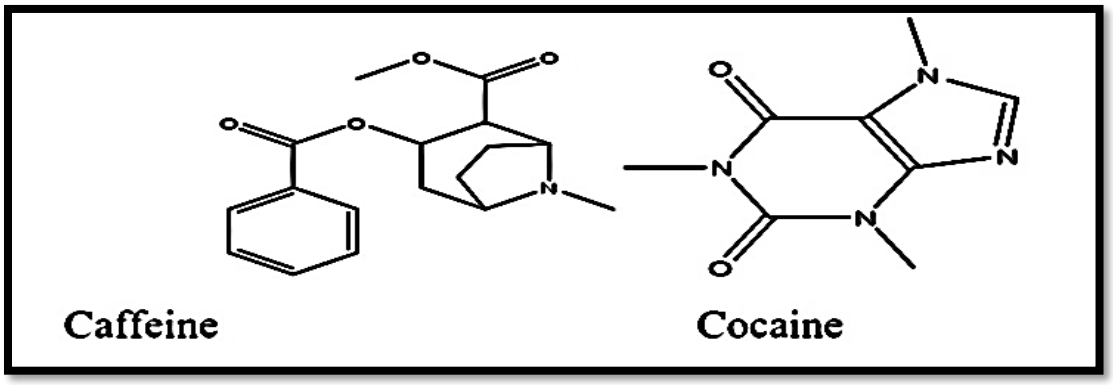
1-4- القلويدات:

تمكن العالم derone سنة 1803من استخلاص قلويد من نبات الأفيون أما في سنة 1805تمكن العالم strummer بعزل ودراسة مادة المورفين لتولى بعدة عدة دراسات [34]

ثم اقترح مصطلح القلويد من طرف الباحث meisser عام 1818[35] وهي مواد عضوية ذات تراكيب كيميائية مختلفة وتحوي ذرة النيتروجين ذرة واحدة أو أكثر المرتبطة في الحلقات الغير متجانسة للقلويد ناتجة عن عمليات الاستقلاب الثانوي في النبات. كما تعرف كيميائيا باحتوائها لمجموعة من القواعد الازوتية ذات الحلقة غير المتجانسة وهذا الذي

يكسبها خصائص فيز وكيميائية واضحة، حيث توجد في جميع جزاء النبات مثل الجذور والثمار، البذور وأوراق، من بين أشهر القلويدات نجد: الكافيين، الكوكايين. [36]

وقد يحتوي النبات على أكثر من 100 من القلويدات المختلفة إلا أن تركيزها 10بالمئة من الوزن الجاف للنبات[37] .



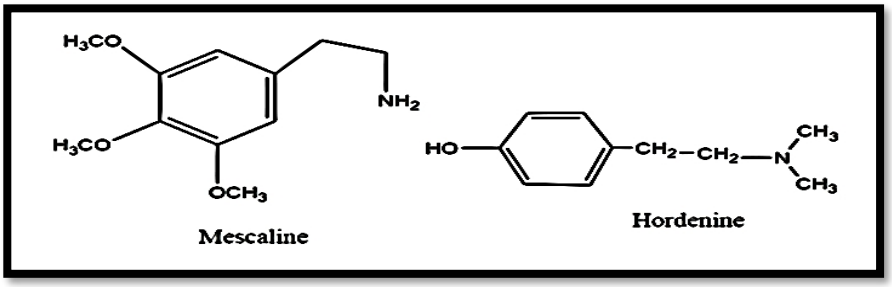
الصورة7: بنية بعض القلويدات

1-4-1- تصنيف القلويدات:

تختلف جميع القلويدات في تركيبها ولهذا يصعب تصنيفها في مجموعات تعتمد على التماثل في تركيبها كما هو الحال للمركبات الاخرى ولذالك فان تصنيف القلويدات يعتمد على الخصائص الكيميائية , البنية الكيميائية , أصل الحلقة غير المتجانسة و الخصائص الدوائية , التوزيع النباتي أو مصدر التركيب الحيوية الذي يظهر تجانس البيوكيميائي[38]وهناك تصنيف اخر لأنواع المختلفة من القلويدات الذي وضعه هيجانور"Heganauer",وتنقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسة هي: القلويدات الاولية, القلويدات الحقيقة, و القلويدات الغير الحقيقة . [40],[39]

أ-القلويدات الاولية (Protoalkaloids)

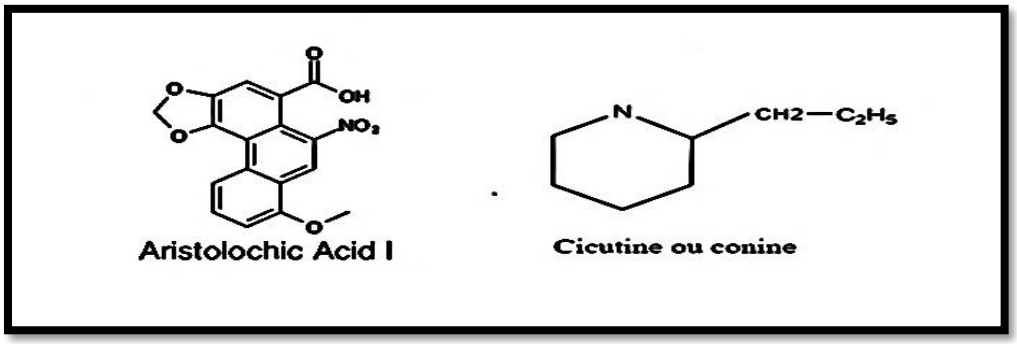
تشتق من الأحماض الامنية وهذه المجموعة تتضمن امينات بسيطة تكون فيها ذرة الازوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدة, ٌ تم تخلقها في داخل الانسجة النباتية من الاحماض الامينية وغالبا ما يطلق عليها بالامينات الحيوية [41] .



الصورة8: امثلة عن القلويدات الاولية

ب- القلويدات الحقيقية (Les alcaloides vrais)

ذرة النيتروجين في الحلقة الكربونية (heterocyclique)تشتق من احماض امنية سامة ولها نشاط فيزيولوجي محدد في توزيعها النباتي . [41]



الصورة9:امثلة عن القلويدات الحقيقية

ج- القويدات الغير الحقيقة(les pseudo-alcalaoide)

هي قلويدات قاعدية لها كل خصائص القلويدات, لا تشتق من أحماض أمينية. هذا القسم يحكم القلويدات الستيرويدية والقلويدات بيورينات [39],[41].

1-4-2- تواجد وتوزيع القلويدات:

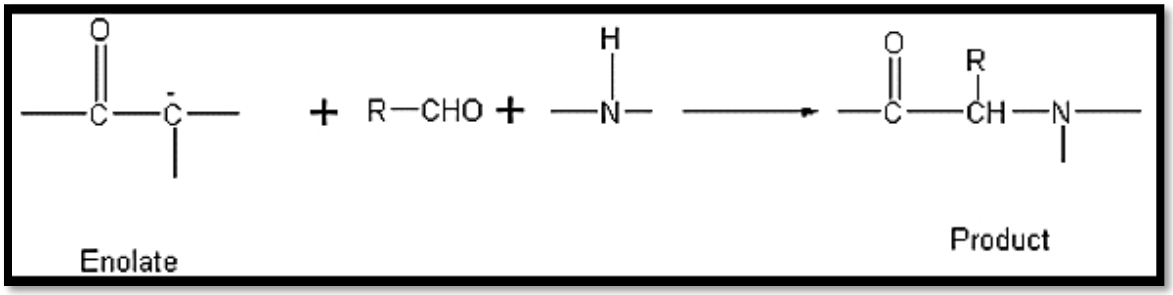
تتواجد القلويدات في الماضي على مستوى النباتات الزهرية، الا انه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل: الحشرات، الكائنات البحرية الدقيقة، ومزال عدد القلويدات التي تم استخالصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخالصها من المصادر الاخرى، وتنتشر هذه المركبات في الكثير من الاجناس المختلفة في فصائل نباتية مختلفة

1-4-3-الاصطناع الحيوي للقلويدات

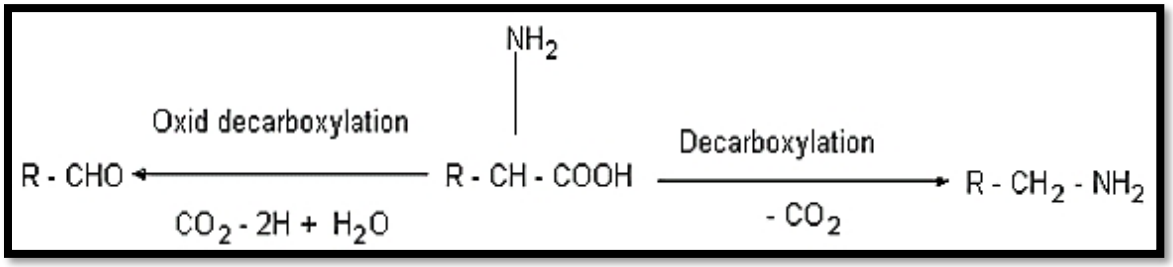
يتم الاصطناع الحيوي للقلويدات انطلاقا من طلائع القلويدات (الاحماض الامينية مثل الفينيل الانين والتريبتوفان) ويمكن أن تتكون داخل المصدر الطبيعي من عديد الاسيتات و يشمل تحويل الأحماض الامينية داخل النبات إلى قلويدات , على تفاعلات عديدة أهمها تفاعل مانيخ وتفاعل انتزاع ثاني اكسيد الكربون[42] .

❖ **تفاعل مانيخ:**

يطلق اسم قاعدة مانيخ على المركب الناتج من تفاعل الدهيد مع مركب اميني إلى جانب كيتون يحوي درة هيدروجين الفا ويمكن تمثيله بالمعادلة التالية :



ويمكن أن ينشأ كل من الدهيد واالامين داخل المصدر الطبيعي من الاحماض الامينية :



1-4-5-الكشف عن القلويدات

❖ **كاشف مايز Mayers reagent :**

وهو يعطي راسب اصفر غير بلوري عادة ثم يتحول إلى بلوري بعد فترة قصيرة من تكوينه.

❖ **كاشف دراجندروفdragendorff reagent :**

ويعطي راسبا برتقاليا مع القلويدات ويجب ان يحفظ بعيدا عن الضوء .

❖ **كاشف واجنرWagners reagent :**

يعطي لون بني غير بلوري

1-4-6-خصائص القلويدات

- تمتاز القلويدات انها مركبات سامة لذالك فان وجودها في النبات يحميها من الحشرات والحيونات لاكلة الاعشاب .
- تعتبر مخزونا للعناصر التي قد يحتاجها النبات في اطوار نموه المختلفة فيستفيد منها وقت الحاجة اليها واهم هذه العناصر النيتروجين.

- القلويدات مواد صلبة متبلورة ماعدا القلويدات التي تحتوي على الاكسجين فانها سائلة مثل النيكوتين.
- تتكون القلويدات كيميائيا من عناصر الكربون والهيدروجين. والنيتروجين والاكسجين والقليل منها لايحتوي على الاوكسجين.
- معظم القلويدات عديمة اللون والرائحة مرة الطعم والقليل منها ملون مثل البربرين لونه اصفر .
- كل القلويدات الحرة قاعدية ولذالك فان تاثير محلولها قلوي في حين محلول املاحها حامضي .
- تذوب القلويدات الحرة في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والاثير ولاتذوب في الماء في حين املاح القلويدات تذوب في الماء ولاتذوب في المذيبات العضوية ويشذ عن القاعدة قليل من القلويدات مثل الكافيين والكوليشسين والقلويدات رباعية الامين تذوب في واملاحها في الماء هذا وتذوب القلويدات الحرة واملاحها في كحول الميثانول والايثانول.
- لمعظم القلويدات خاصية التناظر Stéréo isomérie
- تشتق القلويدات من خمسة احماض امينية أساسية هي:

Tyrosine –Tryptamine –Phenylalanine –Lysine Ornithine

1-4-7- فوائد القلويدات وأهميتها:

أ/ في النبات:

- تعتبر مواد مخزنة للنتروجين ولمواد اخرى يحتاجها النبات في نموه.
- تلعب دور دفاعي للنبات لما تحتويه من مواد سامة بحيث تقوم بحمايته من الحشرات اكالت الأعشاب والكائنات الدقيقة.
- تحمي القلويدات النبات من التلف الذي تسببه اشعة الشمس فوق البنفسجية UV.

ب/ في الطب:

ان التأثير الطبي للقلويدات يختلف حسب نوع القلويدات حيث:

- يعد المورفين والكودايين قلويدان مسكنان ومخدران.
- الكافيين يعتبرمنبها ومزيل للتعب.
- يعتبر البابافيرين مخفف لآلام.
- يعد الفلفلين مقو للمعد
- يستعمل الكولشيسين لعالج الروماتيزم.

- الافديرين يسبب ارتفاع ضغط الدم.
- يستعمل قلويد الاتروبين في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين.

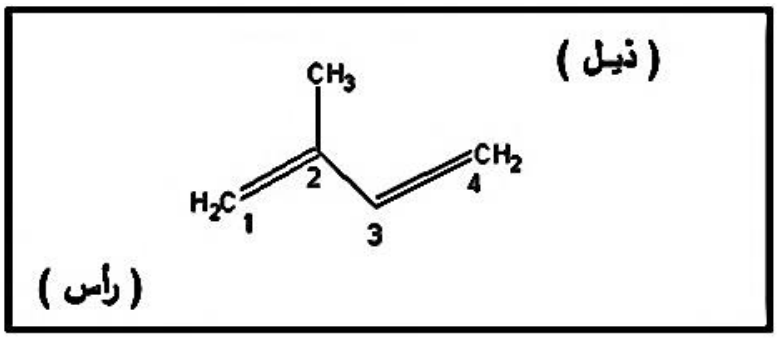
1-4-8- استخلاص القلويدات

إن استخلاص القلويدات يعتمد على اختلاف ذوبانيتها في الوسط الحمضي والوسط القاعدي وهذي الذوبانية تكون بدلالة PHوهناك 3 طرق عامة للاستخلاص القلويدات [40] :

- استخلاص بالمذيبات العضوية القطبية.
- استخلاص بالمذيبات العضوية القطبية.
- استخلاص بالماء الحمضي

1-5- التربينات

هي مركبات كيميائية عضوية ذات أهمية وانتشار في العالم الطبيعة الحية وقد اشتق اسمها أساسا من زيت التربنتين. حيث تعتبر هذه الأخيرة من المكونات الأساسية للزيوت العطرية وهي عبارة عن مجموعة مركبات هيدروكربونية, تنتجها النباتات والحيوانات حيث بلغ عدد المركبات التربينية المكتشفة حوالي 2000 مركب, وهي المسؤولة عن الرائحة واللون بالإضافة إلى هذا تشكل مصدرا مهما للمركبات النشيطة حيويا والتي نجحت كأدوية فعالة وأهمية تجارية كبيرة .وقد أظهرت الأبحاث ان الكثير من التربينات مبيدات زراعية طبيعية بامتياز وهي من ثم مبيدات صديقة للبيئة تتركب وحدتها من 5 ذرات كربون هي الايزوبرين (C5H8)وهي ناتجة عن تجمع وحدات الايزوبرين[42] .



الصورة 10: بنية التربين

1-5-1-تصنيف التربينات

تصنيف التربينات حسب عدد الوحدات الايزوبرين الداخلة في الجزيئة، ولذالك وحدة التربين الواحد تعادل وحدتي التربين، وفق لقانونها العام (C5H8)n حيث n هو عدد وحدات الايزوبرين. ويشمل هذا التصنيف على أكثر من 8تصنيفات فرعية .[43]

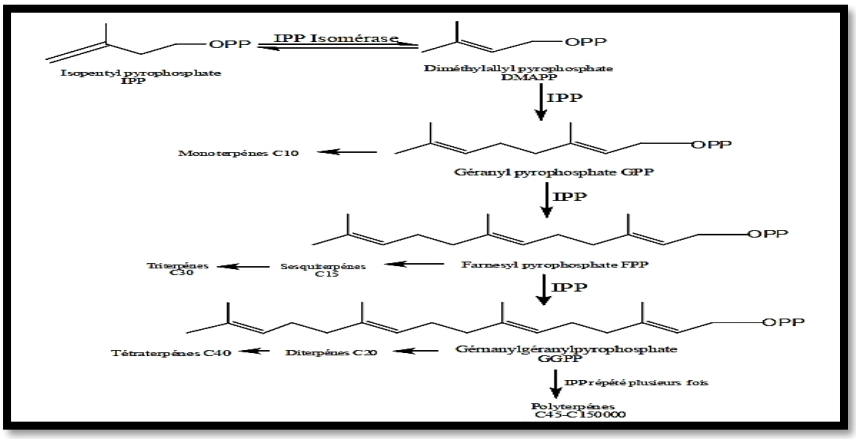
حسب الجدول الموضح أدناه:

الجدول (2): تصنيف التربينات.

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	احادي تربين Mono Terpens	2
15	سيسكوتربينات Sesqui Terpens	3
20	ثنائي تربين Diterpenes	4
30	ثلاثي تربين Tri Terpens	6
40	رباعي تربينTetra Terpens	8
أكبر من 40	متعدد تربينPoly Terpens	أكبر من 8

1-5-2- اصطناع الحيوي للتربينات

لا يساهم الايزوبرين مباشرة في عملية الاصطناع الحيوي للتربينات وإنما عن طريق أحد الشكلين مركبين مشتقين منه هما isopentenyl pyrophosphateوثنائي dimethylallyl diphosphate وهذا تتكون التربينات بيولوجيا من اتحاد جزئيتين من حمض الخل لتكوين حمض المفالونيك ثم يتحول هذا الأخير إلى ايزوبنتنيل البيروفسفات الذي يحوي خمس ذرات كربون



الصورة 11: الاصطناع الحيوي للتربينات.

1-5-3- استخلاص التربينات:

طرق الاستخلاص التقليدية للتربينات ترتكز على استعمال الطرق المستمرة والغير مستمرة:

- ✓ غير مستمرة فتشمل استخدام المذيبات العضوية مثل الخلط السريع والنقع البارد.
- ✓ المستمرة فتشمل التقطير البخاري والتقطير تحت الفراغ.

حيث تعتبر الطريقة الثانية أكثر الطرق استخداما، لكن من عيوبها تؤدي إلى تحطيم بعض التربينات بعد سحق أجزاء النبتة جيدا، وبتالي نلجأ إلى طريقة أخري يستخدم فيها أيثر البترول فالاستخلاص عند 50 درجة مئوية حتى نتمكن من استخلاص أغلب التربينات [40]

1-6- الفلافونويدات Les flavonoids

1-6-1-تعريف الفلافونيدات

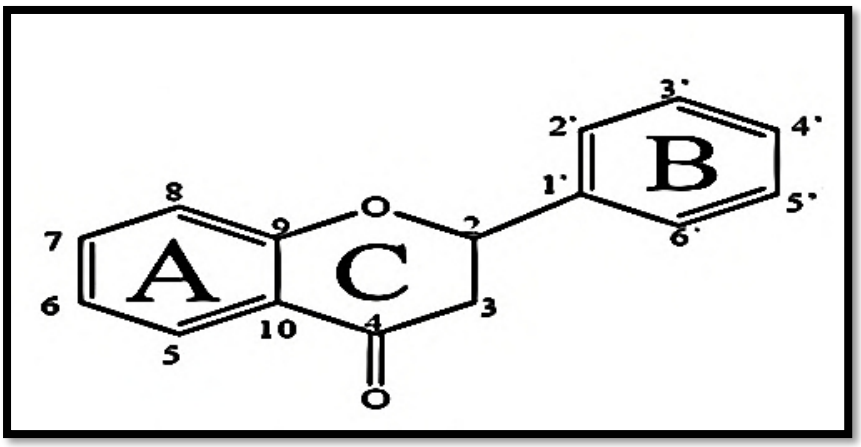
اكتشفت مـن طـرف العالم(زينب جيورجي) الحاصل على جائزة نوبل سنة 1936 ولقــد توصـل الباحثون إلى استخراج أكثر من 6000 مركب فلافونيدي من النبات [44].

عرف مصطلح الـ flavonoïde وهو في اللغة الاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus والتي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة على جميع أجزاء النبات فهي المسوؤلة عن ألوان الإزهار والثمار وأحيانا الأوراق وتحوي جميع الفلافويدات 15ذرة كربون في بنائها موزعة على ثلاث حلقات في شكلها الحر (أجليكونات) أو على شكل (جليكوزيدات) مرتبطة بالسكر[45] ،[46].

تظهر الفلافونيدات في النباتات ببنية كيميائية مختلفة، إذا تم التعرف على أكثر من 9000فلافونيد [47].

تشترك جميعا في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15ذرة كربون، تتوزع على حلقتين عطريتين AوBمرتبطان بسلسلة جانبية مكونة من 3 ذرات كربون قد تكون مفتوحة وقد تكون حلقية لتشكل الحلقة C التي تمثل حلقة Chromane (حلقة البيران المركزية) وتعطي الهيكل القاعدي للفلانويدات التي تنحدر منه

2-phenylchromane [48]والتي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة على جميع أجزاء النبات فهي المسؤولة عن ألوان الإزهار والثمار وأحيانا الأوراق وتحوي جميع الفلافونيدات 15ذرة كربون في بنائها موزعة على ثلاثة حلقات كما في صيغة التالية : [49]



الصورة 12: الأساسية للفلافونيدات

1-6-2-تصنيف الفلافونيدات

تصنـف الفلافونيـدات إلى عدة مجموعات، كل مجموعة حسب درجة تأكسد الحلقة C وكذلك حسب نوع التحلق، في حين يحـدد نوع الفلافونيدات داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدلات على الحلقتين AوB. [41] [50].

❖ **الفلافونـات**

يمكن للحلقة B المشار إليها سابقا أن تتواجد في الموضع 2 وتكون الرابطة C2-C3 غير مشبعة، يسمي المركب بالفلافون.

❖ **الفلافونول**

إذا وجدت في الموضع 3 مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) لمركب الفلافون حيث يتم تثبيت مجموعة الهيدروكسيل في مرحلة الشاكون سمي المركب بالفلافونول، يشكل هذا لأخير نواة أساسية للعديد من المركبات الطبيعية.

❖ **الفلافانون :**

هي مجموعة من الكيتونات العطرية عديمة اللون مشتقة من الفلافون التي تكون فيها الرابطة C2-C3 في هيكل الفالفون مشبعة, الفواكه الحمضية هي المصدر الرئيسي لفالفونات.

❖ **نيوفالفون :**

إذا وجدت الحلقة B في الموضع 4 و مجموعة الكربوكسيل في الموضع 2 و الرابطة C2-C3 كانت غير مشبعة سمي المركب نيوفالفون فهو قليل الإنتشار في الطبيعة خالفا عن الفالفونات والفالفونوالت المنتشرة على نطاق واسع.

❖ **ايزوفلافون Isoflavones :**

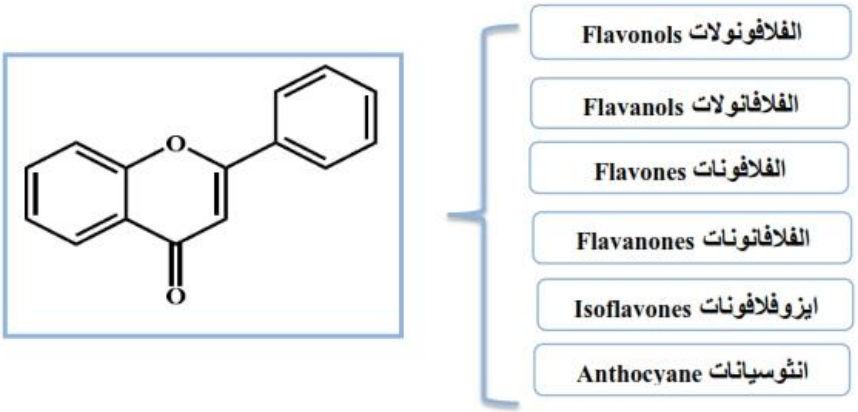
تختلف في بنائها عن الفالفونات في موضع إرتباط الحلقة B إذا ترتبط هذه الاخيرة في الموضع رقم 3 بدلا من الموضع 2.

❖ **الشالكون Chalcone :**

هي مركبات تكون مخايلة للفالفونويدات تكون مفتوحة أي غياب الحلقة C كما يمكن أن تكون فيها الرابطة C3-C2 مشبعة لتعطي تنائي الهيدروشالكونات.

❖ **انثوسيانات :**

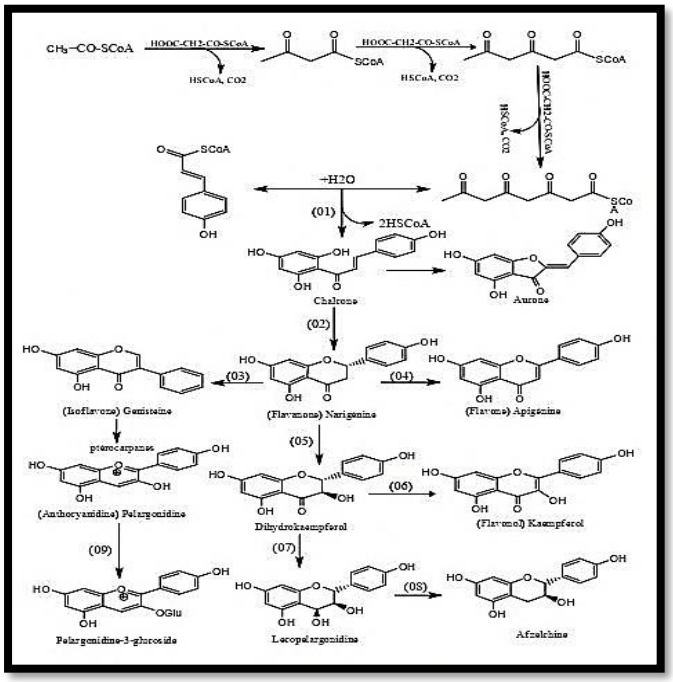
تتميز هذه المركبات بغياب الوظيفة السيتونية في الموقع4 .وجود رابطة ثنائية في الموقع C1-C2 و كذلك في الموقع C3-C4. وتتواجد على شكل أملاح .



الصورة13: تصنيف الفلافونويدات

1-6-3-الاصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات:

يحدث تكثيف لثلاث جزيئات من مالونيل مرافق الانزيم Aالمتاتية من تثبيت مجموعة لبكربونيل على استيل CoA على P-coumaro حيث تعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تنحدر منها مختلف هياكل الفلافونويدات. [46]



الصورة14: اصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات انطلاقا من الشالكون

الجدول (3): يمثل قائمة الإنزيمات الداخلة في تصنيع الحيوي

الانزيم	الرقم
Chalcone Synthase	**1**
Chalcone isomérase	**2**
2-hy-droxyisoflavanone	**3**
Flavone Synthase	**4**
(2S) - Flavnone -3hydroxylase	**5**
Flavonol Synthase	**6**
Dihydrofavonol 4- réductase	**7**
Favan -3,4-cis -4 réductase	**8**
Anthocyanidine\Flavonol 3-0glucosyltrasyltranferase	**9**

1-6-4-خواص الفلافونيدات

الفلافونيدات هي مركبات هيدروكسيديه تتصف بخواص وصفات الفينــولات , فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ذوابه في القواعد القوية كا هيدروكسيد الصوديوم, وتتصف الفلافونيدات التي تحمل اكبر عدد من المجموعات الهيدروكسيل الحرة والتي تحوي

بقية السكر بالصفة القطبية وعليه فهي تذوب في المذيبات القطبية كالميثانول والايثانول والماء ووجود بقية السكر في جزء المركب يجعله أكثر ذوبان في الماء أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الايزوفلافونات والفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات المثوكسيل فإنها تذوب في الكلورفورم أو الأثير حيث تعمل الفلافونيدات على حماية نسيج النبات تمتص الأشعة فوق البنفسجية وعليه فهي تحمي المواد الأساسية من الآثار السامة لهذه الإشعاعات[51].

1-6-5- الكشف عن الفلافونيدات

يمكن الكشف عن المركبات الفلافونيدية بالألوان المميزة التي تعطيها مع الكثير من الكواشف التي تستخدم في الدلالة على المركبات الطبيعية من بينها: [51]

- كلوريد الالومنيوم (5): يعطي بقع صفراء في وجود المادة الفلانودية التي تحمل مجموعة هيدروكسيل في الموضع[52] .
- هيدروكسيد الصوديوم: يعطي بقع صفراء أو برتقالية مع جميع الفلافونيدات.
- حمض الكبريت المركز: يعطي في وجود كل الفلافونيدات ألوان صفراء أو برتقالية.

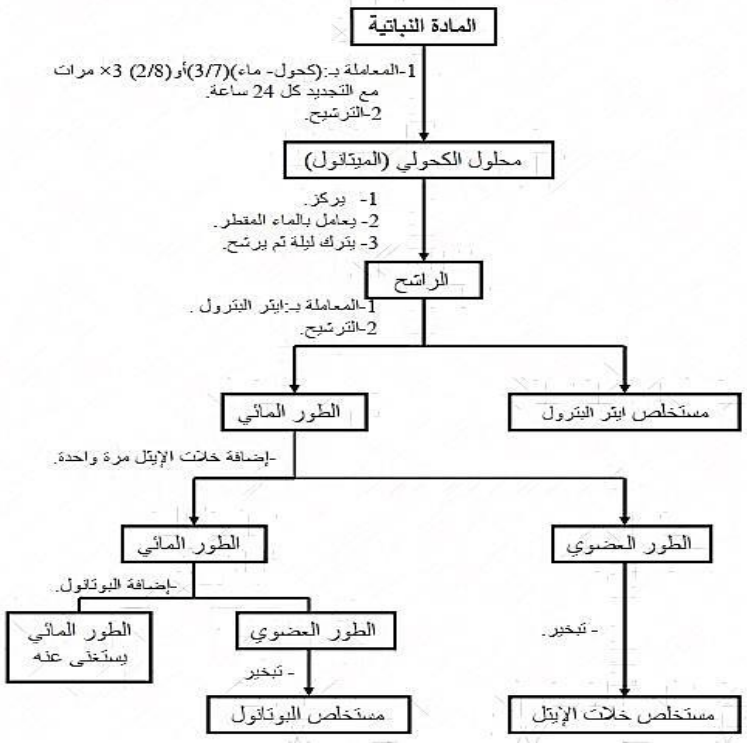
1-6-6-الفعالية البيولوجية للفلانويدات:

1. يقوي الجهاز المناعي وذلك بمساعدته على مقاومة وتدمير الخلايا السرطانية.
2. اقتناص الجذور الحرة المؤكسدة، فهي ذات خاصية مضادة للأكسدة، وأن البعض منها لها تأثيرات مضادة لالتهاب، مضادة للحساسية، مضادة للتشنج، مضادة لتشحم الكبدي، مضادة للبكتريا، مضادة للفيروسات والميكروبات، وتستعمل أيضا كمسكنات ومدارات للبول ومخفضة للكولسترول.

وقد لوحظ أن هناك عالقة بين التركيبة الكيميائية للفلانويدات وتأثيراته العلاجية حيت توصلت الأبحاث إلى أن الزيادة في عدد مجاميع الهيدروكسيل على الحلقتين ينتج عنه زيادة في النشاط المضاد للورم كما تعتبر الرابطة المضاعفة بين (C2-C3) المسؤولة على هذا [53]

1-6-7- استخلاص الفلافونيدات

للاستخلاص الفلافونيدات اليك الطرق المبينة في الشكل التالي:



الصورة 15: مراحل استخلاص الفلافونيدات

1-6-8-أهمية الفلافونيدات

أ/ في عالم النبات

الفلافونيدات لها دور في حماية النباتات ضد الأشعة فوق البنفسجية، وكذلك من الحيوانات الآكلة للأعشاب ومن الحشرات.

الفلافونيدات مسؤولة أيضا عن إعطاء اللون للنبات وبصفة خاصة الأزهار مما يمنحها الصفة الجاذبة لمختلف ملقحات النبات.

ب/ دورها العلاجي:

1- للفلانويدات العديد من الخصائص العلاجية منها :

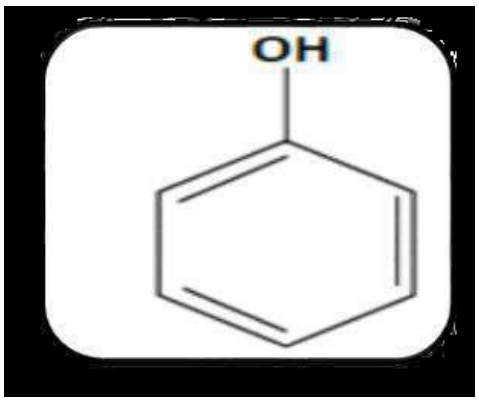
- مضادة للأكسدة إذ تعمل على منع تشكل الجذور الحرة وتكوين مركبات أكثر استقرار وهذا بفضل بنيتها.
- تتميز الفلافونيدات مثل Scutellarein,Amentoflavone بنشاطها المضاد للفيروسات، حيث تم إثبات فعاليتها على كبح تضاعف فيروس HIV وذلك من خلال تثبيط إنزيم الإستنساخ العكسيADN polymérase ، كما أن لها تأثيرات مضادة للبكتيريا .

- تمتلك الفلافونيدات نشاط مضاد للإلهاب حيث ثبت أن كل من Hesperidin,Quercetineلهما دور في تثبيط الإنزيمات المسؤولة عن مظاهر الالتهاب.
- لها القدرة على منع انتشار الخلايا السرطانية.
- أظهرت الدراسات المكثفة للفلانويدات في المجال الطبي الفعاليات التالية :مضادة للحساسية، مضادة للتسمم الكبدي ومضادة لارتفاع الضغط.

1-7-الفينولات

بدأ تاريخ المركبات الفبنولية المستخلصة من النباتات في مجال الصناعة من الأصناف الأكثر شهرة لهذه المركبات هي التانينات والتي استعملت مند القديم في دباغة الجلود وصناعة الحبر وكذلك تدخل بعض المركبات الفبنولية في صناعة البلاستيك والمواد الملونة وتعرف المركبات الفبنولية على أنها مركبات فعالة ذات أوزان جزيئية منخفضة حاوية على حلقة عطرية تحمل واحدا أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل.

تنتمي المركبات الفبنولية الى نواتج الأيض الثانوي. تتميز بوجود نواة بنزن واحدة على الاقل مرتبطة بها مجموعة هيدروكسيل واحدة حرة أو مرتبطة في مجموعة وظيفية أخرى (ايثر، استر، هتيروسيد.....) وهي مشتقات غير آزوتية حيث تركب الحلقات العطرية بشكل أساسي من تفاعلات لحمض الشكميك ومتعدد الأسيتات. وتكسب الفينولات النباتات مقاومة نسبية ضد الآفات مثل الحشرات إذ تعد عوامل مقاومة طبيعية فضلا عن كونها عوامل مضادة



الصورة16: بنية الفينول

1-7-1-المركبات الفينولية

تمثل المركبات الفينولية أهمية كبيرة في حقل منتجات الأيض الثانوي وذلك لتعددها وتباين هياكلها البنائية. وتعرف الفينولات على أنها مركبات غير آزوتية يتم تخليقها من أيض حمض الشكميك أو من متعدد الأسيتات، حيث يستند تصنيف مركباتها على:

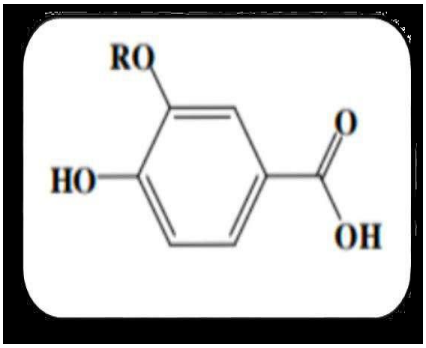
- عدد مجموعات الهيدروكسيل
- التركيب الكيميائي: أحادية، ثنائية ومتعددة الفينولات.
- بدائل في الهيكل الكربوني: عدد الحلقات وذرات الكربون في السلسلة الجانبية. مما يميزها في تقسيمها إلى عدة مجموعات منها: الفينولات البسيطة، الأحماض الفينولية، الفلافونيدات، الكومارينات [54, 56,55].

1-7-1-1-الأحماض الفينولية البسيطة

هي مركبات أيضية ثانوية تنتشر على نطاق واسع في المملكة النباتية تتواجد في النباتات الطبية، وتمتلك حلقة عطرية(بنزينية) متصلة بمجموعة كربوكسيلية(COOH) وتستبدل على الأقل واحدة من الهيدروجين بمجموعة هيدروكسيل (OH) قابلة لذوبان في المذيبات العضوية 5وتنقسم اغلب الفينولات الموجودة في النبات إلى مجموعتين رئيسيتين هما: مشتقات حمض البنزويك ومشتقات حمض السينامیك [52] .

1-7-1-2-حمض البنزويك

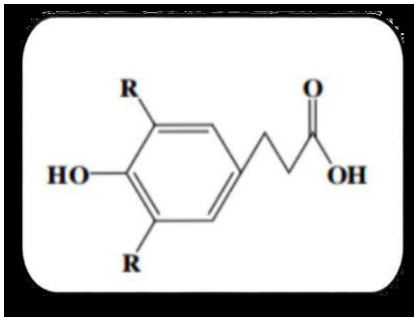
هو حمض كربوكسيلي عطري عضوي مكون من C_6-C_1، وهي تتواجد بكميات ضعيفة في النباتات ماعدا بعض الفواكه الحمراء والبصل قابلة لذوبان في الماء حيث تعتبر البنية الأساسية في تكوين الهياكل الهامة من امثلتها Salicylic acid, p-hydroxyl acid, Protocatechic, Galic acid.[55، 57]



الصورة 17: هيكل البنزويك

1-7-1-3-حمض السينامیك

هو مركب عضوي أكثر وفرة مقارنة بأحماض البنزويك صيغته C6-C3، تشمل أربع مركبات تتواجد بكثرة في الفواكه، تتمثل في:p-coumaric, sinapic, cafeic, ferulic ، ونادرا ماتتواجد هذه الأحماض بشكل حر ماعدا في حالات التجمد والتخمر شحيح الذوبان في الماء ويصنف كحمض كربوكسيلي غير مشبع [54].



الصورة 18: هيكل السيناميك

1-7-2-أهمية الفينولات:

- تلعب الفينولات دورا هام في تكوين للجنين
- التخلص من ضرر الضوء الزائد وذلك بامتصاص الطاقة الضوئية وحماية المواد الحيوية تدخل في عملية التنفس
- مواد مخزنة للنبات وقت الحاجة
- تؤثر على عملية التجذير في العقل مثبط او محفز
- تعطي بعض الإزهار والألوان زاهية تؤدي إلى جذب الحشرات وحدوث تلقيح
- تنظم نمو وتطور النبات وذالك بالتأثير على فعالية الهرمونات
- تكيف بيئة الخلية بتنظيم درجة الغليان وتنظيم المحتوى الازموزي
- تسيطر على فعالية لتكوين بعض الإنزيمات
- تقوم بدورSolublization الإذابة لبعض المواد الحيوية
- -تقوم بدورAntioxidant حيث تعرقل أكسدة الكلوروفيل أو الهرمونات

1-7-3- استخلاص مركبات الفينولية

1.استخلاص صلب – سائل: يتميز بعدة أشكال ترتبط بعوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط، كيفية استعمال المذيب.

- -**استخلاص على البارد (التنقيع) :** تعتمد هذه التقنية علي وضع المادة الخام في إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب ، بحيث يكون مستوي السائل فوق المادة الخام في الظروف العادية مع الرج المتداول للمزيج ،تترك مدة زمنية معينة ،خالها يتم انتقال المادة أو المواد المراد فصلها من المادة الخام إلى المذيب ، ثم بعد ذلك نرشح لفصل الطور السائل عن المادة الصلبة وتستعمل هذه الطريقة للمواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة.
- -**استخلاص على الساخن**. هي تقنية سريعة نسبيا عن استخلاص على البارد حيث يتم غمس المادة الخام في المذيب مع التسخين وهذه الطريقة تستعمل للمواد الصلبة التي لا

تطلق عناصرها الفعالة إلا تحت تأثير درجة حرارة عالية وتطبق لفصل المواد المتبخرة وغير قابلة للتبخر.

2.استخلاص سائل – سائل : تسمي أيضا بطريقة استخلاص بالمذيب ، يتمثل مبدأ هذه طريقة على توزيع مذاب معين بين مذيبين بنسبة لذوبانية في كل منها. الحالة الأكثر استعمال هي عندما يكون أحد المذيبين هو الماء، وهذه طريقة تستعمل في المخبر أكثر منها في حالة الصناعة ويمكن التأثير بعدة عوامل هيا اختيار المذيب العضوي- إل PH(حمضية المحلول .) -تشبع الوسط المائي أو عدم تشبعه. [40]

1-7-4-الخصائص البيولوجيا للفينولات الفلافونيدات: [31]

- ✓ مضادة الأكسدة
- ✓ مضادة للحساسية
- ✓ مضادة للفيروسات
- ✓ مضادة للميكروبات
- ✓ مضادة لالتهاب والجراثيم
- ✓ مضادة للسرطان

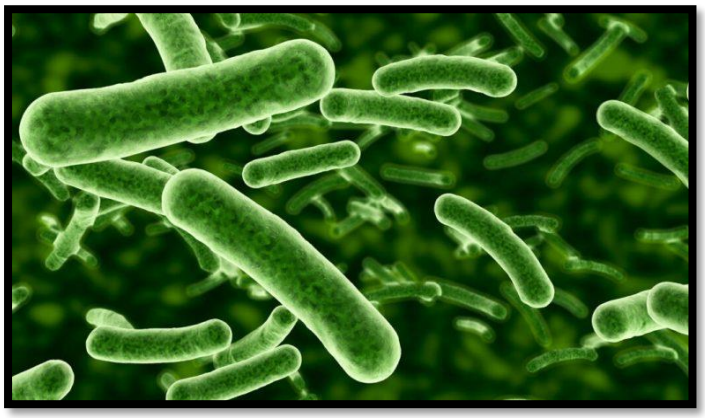
الفصل الثالث:
دراسة الفعالية البيولوجية

1- البكتيريا

1-1- تعريف البكتيريا

أبسط الكائنات الحية التي تعيش على الأرض اليوم هي البكتيريا وعلماء الإحياء يعتقدون أنهم يشبهون إلى حد بعيد الكائنات الحية التي تطورت على الأرض تعتبر البكتيريا الأكثر وفرة من بين جميع الكائنات الحية وهي الوحيدة التي تتميز بالتنظيم الخلوي بدائية النواة [58].

هي كائنات حية مجهرية دقيقة وحيدة عديمة اللون تتشابه في بعض صفاتها مع الطحالب الخضراء المزرقة وتوجد على سطح التربة وفي أعماقها وفي الماء العذب والمالح وفي الاغذية أي أنها تنتشر في كل مكان كما أن بعضها له سرعة تكاثر، وتنوع غذائها، وقدرتها على التكيف مع مختلف ظروف المعيشة[59] .



الصورة19: شكل البكتيريا

1-2- أشكال البكتيريا

❖ **البكتيريا الكروية:**

يبلغ قطرها 0،5-1 ميكرون تقريبا وتوجد فرادى أو في شكل أزواج أو في مجموعات أو في مكعبات أو على هيئة سلسلة أو سبحة أو على شكل عنقود العنب ومنها الانواع التي تسبب الالتهاب الرئوي السيلان، والتقيحات كالدمامل والخرجات والحمى القرمزية.

❖ **البكتيريا العضوية:**

تعتبر أسطوانة أطرافها مستديرة قليلا أو كثيرا حسب أنواعها ويبلغ طولها من 2-3 ميكرون وعرضها حوالي 0.5 ميكرون وتوجد إما فرادى أو في أزواج أو على هيئة سلسلة أو عصوية سبحية ومن الامراض التي تسببها حمى التيفود والدفتيريا الدوسنتاريا الباسيلية.

❖ **البكتيريا اللولبية:**

وهي لولبية الشكل وتختلف من حيث الشكل والتركيب وطريقة التحرر البكتيريا اللولبية لديهم بنية معقدة داخل أغشية الخلايا الخاصة بهم تسمح لها بتدوير أجسامهم ذات الشكل اللولبي [60].

1-3- تصنيف البكتيريا

يمكن الاعتماد على الصفات التالية للتعرف على البكتيريا:

- الظاهرية مثل شكل البكتيريا تحت المجهر والتباين في تجمعاتها ووجود أو عدم وجود بعض التراكيب مثل الاصوات والسبورات والكبسولة وأماكن وجود هذه التراكيب .
- الصفات المزرعية وتشمل شكل المزارع البكتيرية على البيئات المتطلبة في الاطباق وكذلك ومن حيث شكل المستعمرة على الآكر المائل في أنابيب الاختبار كذلك من حيث قدرة البكتيريا على الحركة وتأثير ظروف البيئة على نموها كعلاقة البكتيريا بالأكسجين والرقم الهيدروجيني.
- الصفات المصلية serologyوالطرز الفاجية phage typingوالتصنيف الكيميائي للبروتينات والدهون الموجودة في الخلايا علاوة على دراسة تركيب الجدار الخلوي والتصنيف الوراثي الذي يعتمد على النسب بالتقارب بين القواعد النيتروجينية في DNA الخلية.[61]

1-4- الخصائص العامة للبكتيريا

- إحياء مجهرية دقيقة بدائية النواة.
- تتميز ببساطة التركيب.
- يتميز جذورها الخارجية بالصلابة لوجود مادة متعددة البيبتيد وكلايكات.
- تختلف الخلية البكتيرية في حجمها وشكلها. 5-تتكاثر بالانشطار الثنائي البسيط.
- تتغذى على المواد العضوية واللاعضوية.
- تتحرك بالأسواط إن وجدت.
- تنتشر على سطح خلاياها السالبة لصبغة كرام تراكب تدعى بالأهداب[62] .

1-5- العوامل التي تؤثر على نمو البكتيريا

تؤثر العديد من العوامل على نمو البكتيريا مثل الاكسجين، وثاني أكسيد الكربون، والضوء، ودرجة الحموضة، والرطوبة، وتركيز الملح:

أ/ التغذية:

المكونات الرئيسية للخلايا هي الماء والبروتينات والسكريات الدهون والحمض النووي والبيتيدات المخاطية يمكن تصنيف البكتيريا من ناحية التغذية بناء على احتياجاتها من الطاقة وعلى قدرتها على تصنيع المستقبلات الاساسية، البكتيريا التي يمكن أن تصنع كل شيء تسمى ذاتية التغذية وتلك التي لا تستطيع توليف نواتج الايض الخاصة بهم هي كائنات غير ذاتية التغذية.

ب/ الاكسجين:

اعتماد على تأثير الاكسجين على النمو والحيوية تكون البكتيريا مقسمة إلى الهوائية واللا هوائية تتطلب البكتيريا الهوائية وجود الاكسجين بينما تموت اللاهوائية عند التعرض للأكسجين.

ج/ الرطوبة والتجفيف:

الماء عنصر أساسي في البروتو بلازم البكتيري وبالتالي التجفيف مميت بالخلايا يختلف تأثير التجفيف باختلاف الأنواع.

د/ الضوء:

تنمو البكتيريا بشكل جيد في الظلام باستثناء الانواع ذات التغذية الضوئية هم حساسون للأشعة فوق البنفسجية والاشعاعات الاخرى.

ه/ تركيز pH :

البكتيريا حساسة للتغيرات في درجة الحموضة كل نوع له نطاق الهيدروجيني حيث تنمو غالبية البكتيريا المسببة للأمراض بشكل أفضل عند درجة الحموضة المحايدة أو القلوية[63] .

1-6- أهمية البكتيريا

- ✓ كانت البكتيريا مسؤولة إلى حد كبير عن خلق روابط الغلاف الجوي والتربة على مدى بلايين السنين فهي أكثر تنوع من الناحية الايضية من حقيقيات النوى وهذا هو سبب قدرته على الوجود في مثل هذا النطاق الواسع من الموائل.
- ✓ إن العديد من البكتيريا ذاتية التغذية سواء كانت ضوئية أو مغذية كيميائية تقدم مساهمات كبيرة في توازن الكربون في الموائل الارضية، والمياه العذبة، والبحرية.
- ✓ تلعب البكتيريا غير التغذية الاخرى دورا أساسيا في البيئة العالمية من خلال هدم المركبات العضوية تتعلق أحد أهم أدوار البكتيريا في النظام البيئي العالمي بحقيقة أن عددا قليلا فقط

من أجناس البكتيريا وليس هناك كائنات أخرى لديها القدرة على تثبيت النيتروجين من الغلاف الجوي وبالتالي جعله متاحا للاستخدام قبل الكائنات الحية الاخرى[64] .

1-7- مقاومة البكتيريا

يعيش عدد كبير من البكتيريا على الجلد، وداخل الفم، والامعاء، والممرات الهوائية، وتخلوا بقية أنسجة الجسم عادة من البكتيريا التي تبطن يمنع الجلد والاغشية التي تبطن الجهازين التنفس والهضمي معظم البكتيريا الضارة من الدخول إلى بقية أجزاء الجسم. لقد دل التشريح أن لكل جهاز من أجهزة الجسم خلقه الله وسائل المناعة وهي إما تمنع دخول الميكروبات وإما تكاثرها.

- ✓ الجلد له دور بالغ الاهمية فهو حاجز حماية أولي لكل أعضاء الجسم الداخلية وكما أنه يفرز العرق لقتل الميكروبات أو منعها من التكاثر.
- ✓ *الأنف به شعيرات ومواد مخاطية لاصطياد الميكروبات.
- ✓ إن الردود الفعلية المنعكسة مثل الكحة والعطس دور في طرد الميكروبات إلى الخارج عبر القصبة الهوائية والمبطنة بغشاء مخاطي يحتوي ملايير الهدبيات التي تتحرك لدفع المواد والاجسام الغريبة إلى خارج الفم وما يحتويه من لعاب وإنزيمات تعمل على قتل البكتيريا أو طردها كما يحدث عند البصق.
- ✓ المعدة تحتوي على عصارة هاضمة حامضة لا تسمح بنمو البكتيريا.
- ✓ *الامعاء تحتوي عصارة هامة قلوية تنقل البكتيريا.
- ✓ العين تعمل رموش العين على درء الاجسام الغريبة ولها دفاع آخر تتمثل في الدموع والتي تغسل العين باستمرار بما تحتويه من مواد كيميائية تمنع تكاثر الميكروبات
- ✓ *وعندما تدخل البكتيريا الضارة الجسم تطوقها كريات الدم البيضاء وتهاجمها كما يكون الدم أجساما مضادة وهي مواد تقتل وتضعف البكتيريا غير أنه ما يجلب الانتباه أن البكتيريا تبدي مقاومة للأجسام المضادة ومقاومة البكتيريا نوعان:

أ/ المقاومة الطبيعية:

تكون بوجود مقاومة تبديها البكتيريا بشكل طبيعي لأي مضاد حيوي ومن أمثلة ذلك احتواء الجدار الخلوي على غشاء غير نفوذ للبنسلين.

ب/ المقاومة المكتسبة:

هنا يجدر الاشارة إلى أن الاستعمال المفرط لمضادات البكتيريا يعزز من مقاومتها للمضادات إذ تتأقلم مع الظرف الجديد.[65]

2- مضادات الأكسدة

2-1- تعريف الإجهاد التأكسدي:

الإجهاد التأكسدي هو ظاهرة غير طبيعية تحدث داخل خلايا أو أنسجة عندما يتجاوز إنتاج جذور الأكسجين قدرتها للأكسدة، تؤدي زيادة الجذور الحرة إلى إتلاف الجزئيات الكبيرة الأساسية للخلية، فائض الجذور الحرة التي لا تحيدها التفاعلات ضار جدا للجزيئات الكبيرة الأساسية للخلايا، مما يؤدي إلى حدوث حالات شاذة في التعبير عن الجينات ومستقبلات الأغشية تكاثر الخلايا أو موتها، اضطرابات المناعة، الطفرات، ورواسب البروتين، أو الدهون في الأنسجة.[66]

2-2- تعريف مضادات الأكسدة

هي مجموعة من العناصر والمركبات الموجودة بصورة طبيعية في معظم الخضروات والفاكهة ومعظم الاعشاب الطبية، حيث جرى التعرف على تركيب وآلية عمل عدد قليل منها، وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الاولى كما نحات الهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة وعليه فإن الدور الاساسي لمضادات الأكسدة هو كسر تفاعل السلسلة للأكسدة الذاتية بالتفاعل مع جذور الهيدروبيروكسيدات ويمكن تقسيم مضادات الأكسدة إلى قسمين طبيعية ومصنعة [67].

2-3- أنواع مضادات الأكسدة

2-3-1- مضادات الأكسدة المصنعة:

تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد وذلك لتأكسدها قبل غيرها، منها butylhydroxyanisole (BHA)و(BHT) butylhydroxytoluene(PG)و gallat propylée و (TBHQ)- trtra butylhydroquioneهذه المركبات واسعة الاستعمال في الصناعة الغذائية، لأنها فعالة وقليلة التكلفة بالمقارنة مع المضادات الأكسدة الطبيعية والغير سامة، ولكن لها أضرار جانبية على المدى البعيد.

2-3-2- مضادات الأكسدة الطبيعية:

وفي الحالة الفيسيولوجية العادية فإن تركيز الجذور الحرة مثل: .O2,HOO, OHتكون مراقب من طرف خلايا التي تستعمل العديد من الاستراتيجيات المضادة للأكسدة وتستهلك طاقة كبيرة من أجل مراقبة مستوى تفاعلات الاكسجين باستعمال وسائل دفاع طبيعية ذاتية داخلية [68].

والجزيئات والتي تستخلص من الغذاء فتشكل فخ للجذور الحرة وتقبض على الالكترونات الحرة وتحولها إلى مركبات ثابتة.

2-3-3- مضادات الأكسدة الغذائية:

تعتبر النوع الاساسي لمضادات الاكسدة تتمثل في الاسكوربات والتروكوفيل والكاروتينات المعروفة جيدا حيث نجد هذه المركبات في الاطعمة النباتية بالإضافة إلى مكملات غذائية وهي ضرورية للصحة.

2-3-4- مضادات الأكسدة الذاتية:

إضافة إلى مضادات الأكسدة الغذائية يعتمد الجسم على العديد من الآليات للدفاع الذاتية للمساعدة في حماية تلف الخلايا الناجمة عن الجذور الحرة.[69]

2-4-آلية عمل مضادات الأكسدة

يؤدي تعرض خلايا الأنسجة والمصفوفة خارج الخلية للتأثيرات الضارة للجذور الحرة إلى سلسلة من التفاعلات الحرة ومشتقاتها بناء على طريقة عملها تعمل جزيئات مضادات الاكسدة التي تشكل شبكة الدفاع المضادة للأكسدة في الانظمة الحية على مستويات مختلة لكن هذه المستويات وقائية جذرية وإصلاح الضرر الناجم عن الجذور وعلى أساس خط الدفاع يمكن تصنيف مضادات الاكسدة على أنها مضادات الاكسدة الدفاعية للخط الاول، والخط الثاني، والخط الثالث، والخط الرابع للدفاع[70] .

الجدول (4): يوضح آلية عمل مضادات الأكسدة

خطوط الدفاع	آلية عمل مضادات الأكسدة
خط الدفاع الاول	منع تكوين الجذور الحرة في الخلايا بواسطة مضادات الأكسدة الانزيمية مع مشاركة مواد غير إنزيمية تنتمي إلى مضادات الأكسدة الوقائية
خط الدفاع الثاني	تأمين مضادات الأكسدة غير الانزيمية
خط الدفاع الثالث	يشمل مضادات الأكسدة الانزيمية التي تقوم بإصلاح الاضرار الناجمة عن ROSوالجذور الحرة
خط الدفاع الرابع	الإشارة المتولدة من الجذور الحرة المتكونة تؤدي إلى تكوين ونقل مضادات الأكسدة مناسبة إلى الموقع الصحيح.

2-5- مصادر مضادات الأكسدة

❖ مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

تعتبر الإنزيمات المضادة للأكسدة مهمة كجزء من آليه الدفاع الخلوي ضد توليد الجذور الحرة وفي منع وإصلاح الضرر الجزئي الناتج عن الجذور الحرة إن الانزيمات المضادة للأكسدة ضرورية للحفاظ على توازن وتعديل توازن الاكسدة والاختزال.

- **Superoxide dismutase (sod) :**

ينتشر انزيم ديسمتاز الفائق بشكل عام في الجسم إذ يحفز تفكيك الأكسيد الفائق(O2) وكمنتج ثانوي لهذا التفاعل يتم إنتاج بيروكسيد الهيدروجين (H2O2) ويصاحب هذا التفاعل التفاعلات الاكسدة والاختزال للأيونات المعدنية الموجودة في المواقعsod النشطة تتضمن الآلية الجزئية لنقل الإلكترون من الأكسيد الفائق إلى أيون معدني في الموقع النشط للإنزيم ينتج عن هذا تكوين بيرو كسيد الهيدروجين.

- **إنزيم catalase:**

يعد إنزيمcatalase أحد أهم إنزيمات مضادات الأكسدة إنه موجود في جميع الكائنات الحية الهوائية تقريبا يعمل كمحفز لتحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى أكسجين وماء. Catalaseالبشري هو إنزيم مضاد للأكسدة داخلي المنشأ يبلغ حوالي 60 كيلو دالتون.

- **Glutathione peroxidase (GPX) :**

إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيدgpx المضاد للأكسدة يحفز اختزال بيروكسيد الهيدروجينh2o2 والبروكسيدات العضوية مثل بروكسدات الدهون باستخدام الجلوتاثيون gsh كعامل مختزل.

- **Thioredoxin :**

عبارة عن بولي بيبتيد تبلغ كتلته الجزئية حوالي 12 كيلو دالتون موجودة في كل من حقيقيات النوى وبدائيات النواة وموزعة على نطاق واسع في خلايا الثدييات يلعب نظام thioredoxin دورا مهما في تنظيم العديد من الوظائف الخلوية مثل تكاثر الخلايا والتمايز تعملthioredoxin كما تحين الالكترون لعدد من الانزيمات والتي تخضع للأكسدة.

❖ **مضادات الأكسدة غير الانزيمية**

- **Vitamine c :**

فيتامين c حمض الاسكوربيك القبل الذوبان في الماء يمكن العثور عليه في شكله المختزل أو المؤكسد ويلعب دورا مهما طارد للجذور الحرة وكعامل مساعد للعديد من الانزيمات بما في ذلك تخليقcatecholamine يأتي تأثيره كمضاد للأكسدة كمختزل غير إنزيمي.

- **Vitamine e :**

إن فيتامين e قد يحمل مكونات الخلايا الرئيسية عن طريق تقليل الجذور الحرة وكسر تفاعل بيروكسيد الدهون المتسلسل فإن أغشية الخلايا محمية عن طريق إصلاح واستبدال الدهون هو ماده رئيسيه قابله للذوبان في الدهون مع نشاط مضاد للأكسدة يقضي على الجذور

البيروكسيل عن طريق التبرع بالهيدروجين من المجموعة الفينولية على حلقة الكرومانول الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة.

- **الجلوتاثيون:**

يوجد الجلوتاثيون في جميع الخلايا النباتية والحيوانية ويتكون من ثلاثة أحماض أمينية الجلايسين والسيستين وحمض الجلوماتيك يتم تصنيعه بشكل اساسي في الكبد ويوجد العديد من أشكال الماء الموجود بتركيزات خلوية في النواة والميتوكوندريا والسيتيوبلازم.

- **COQ10 :**

يعتبر أيضا أحد مضادات الاكسدة القوية القابلة للذوبان في الدهون يوجد CQO10في جميع أغشية الخلايا ويتم تصنيعه حيويا في جميع الانسجة من سلائفه شكله المختزل ubiquinol هو الاكثر انتشارا في جسم الانسان وهو عامل مضاد للأكسدة.

- **مركبات الفينول:**

مركبات الفينول من مضادات الأكسدة القوية التي تكمل وتضيف إلى وظائف الفيتامينات والانزيمات المضادة للأكسدة كدفاع ضد الاجهاد التأكسدي الناجم عن أنواع الاكسجين التفاعلية الزائدة وهي أكثر مضادات الأكسدة وفرة في النظام الغذائي[71] .

2-6- أهمية مضادات الأكسدة

- يمكن أن تساعد في تعزيز جهاز المناعة.
- تحمي من العديد من الامراض عن طريق القضاء على الجذور الحرة في الاجسام
- يسهل الحصول عليها من خلال المكملات الغذائية في حالة عدم تناول ما يكفي من الفاكهة والخضار.
- تحمي من العديد من الامراض عن طريق القضاء على الجذور الحرة في الأجسام .*يمكن أن تحمينا من الامراض العقلية وتقلل من الأعراض المرتبطة بالشيخوخة[72].

2-7- شروط إضافة مضادات الأكسدة:

لإضافة هذه المواد في الأغذية يجب أن يشترط فيها ما يلي:

- درجة السمية ضعيفة وفعالة بتركيز منخفض في أنواع عديدة من الدهون.
- عدم إضافة رائحة غير مرغوب فيها.
- نزع نكهة مرغوب فيها.
- إضافة نكهة غير مرغوب فيها.

إن إضافة فائض من مضادات الأكسدة في الغذاء ينتج عنه تسمم أو طفرات وبالتالي تعرض صحة الإنسان للخطر

لهذا في معظم البلدان تكون إضافة مضادات الأكسدة في الأغذية المصنعة محدودة بدقة

2-8- سلبيات مضادات الأكسدة

- يمكن أن تؤدي الكثير منها إلى إتلاف جسمك وتقليل جهاز المناعة لديك.
- قد يكون من الصعب الحصول على جميع الكميات المطلوبة لأنه ليست كل الفواكه والخضروات متشابهة.
- يمكن أن يكون تناول المكملات الغذائية للتعويض عن الاطعمة أمرا خطيرا اعتمادا على الجرعة لأنه يمكن أن يتعارض مع الحالة الطبيعية لجسمنا.
- يتم التخلص من الجذور الحرة فقط على أساس واحد لكل حصة من الفاكهة أو الخضار يتم تناولها يتم التخلص من كمية صغيرة فقط من الجذور الحرة[73] .

3- الجذور الحرة

3-1- تعريف الجذور الحرة:

هي ذرات أو مجموعات ذرات بها عدد غير زوجي من الالكترونات ذات نصف عمر قصير وهي مواد شديدة التفاعل يمكن أن تؤدي إلى تفاعلات متسلسلة تسمح بتشكل جذور حرة تشمل أنواع الجذور الحرة أنواع الأكسجين التفاعلية Rosوأنواع النيتروجين التفاعلي Nos أهم فئة تم إنشائها في الأنظمة الحية[74] .

الجذور الحرة هي الجزيئات التي تمتلك إلكترون حر فردي وتكون نشطة جدا حيث يتم تشكيلها خلال تفاعلات الأكسدة التي تحدث كجزء طبيعي من الاستقلاب إلا أنه في بعض الحالات مثل الاجهاد البيئي أو الاصابة بجروح أو الاصابة بعامل ممرض يرتفع تركيز الجذور الحرة عن المستوى العادي مما يؤدي إلى أضرار بالغة في حالة عدم إزاحتها وتعود هذه النتائج إلى نشاطها العالي خاصة تجاه الحمض النوويDNA وأغشية الدهون والبروتينات وفي جزء التفاعلات التي تبدئها حيث يتفاعل الجذر الحر مع جزيئة أخرى يعطي إلكترون وبالتالي ينتج جذر آخر الذي يتفاعل بدوره مع جزيئات أخرى[75].

3-2-أنواع الجذور الحرة

الجذور الحرة مستمدة من ثلاث عناصر من الاكسجين والنيتروجين والكبريت وبالتالي تخلق أنواعا أو مشتقات تفاعلية التالية:

❖ **مشتق الأكسجين التفاعليROS:**

من أهم هذه الجذور هي الاكسجين الاحاديO2، فوق الاوكسيد O2، والجذرOH فوق أكسيد الهيدروجين HO2Oوالاوزون O3.

❖ **المشتق النيتروجين التفاعليRNS:**

وتشمل الجذور الحرة التالية جذرNO, وجذرNO2, وجذرN2O3 النوع الأهم بالنسبة للإنسان هوROS الذي ينتج في الجسم إما مصادر فيزيولوجية منها الأكسدة الذاتية أو من تنشيط الخلايا المناعية أو مصادر غير فيزيولوجية منها الأشعة فوق البنفسجية[76].

❖ **- جذر الهيدروكسيل:**

ويسمى هذا التفاعل بتفاعل 2+ يمكن أن يتكون من H2O2 في تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات Fenton Fe، ويعتبر جذر الهيدروكسيل (˙OH) ، أكثر نشاطا وأقل استقرارا من بين مجاميع ،حيث يملك نصف عمر صغير جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض الأمينة والأحماض النووية وليبيدات الأغشية الخلوية وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلف للأنسجة.

3-3-مصادر الجذور الحرة

توجد الجذور الحرة في جسم الانسان وتعتبر مصادر داخلية وأخرى خارجية وهي كما يلي:

❖ **المصادر الداخلية:**

تنتج الانواع الاكسجينية النشطة داخل العضوية كآلية للحماية ضد الجزيئات الغريبة أو كجزء من نواتج العملية الايضية عبر العديد من الآليات الموجودة داخل الجسم.

❖ **المصادر الخارجية:**

بالإضافة إلى المصادر الداخلية التي تنتجها العضوية توجد مصادر أخرى خارجية تتسبب في إنتاجROS أهمها الاشعة فوق البنفسجية والاشعة تحت الحمراء وكما تعتبر الكحولات والادوية من المصادر المنتجة لRos وكذلك المعادن السامة مثل الكرومcr والنحاسcu والفاناديوم vكلها محفزات قوية لتفاعلات الاكسدة وإنتاج الجذور الحرة كما تدخل عدة سموم منتشرة في الغذاء والمحيط (التبغ، المبيدات، والاضافات الغذائية) في إنتاج الجذور الحرة عبر تنشيط الانزيمات[77] .

3-4-متابعة حركية الجذور الحرة

إن الجذور الحرة إما أن تكون ذات أعمار طويلة أو قصيرة، القصيرة منها لا يمكن متابعة حركية تفاعلاتها إلا بالطرق الطيفية السريعة مثل أطياف تجزأ الكتلة وأطياف رنين البرم الالكتروني، إما الجذور المستقلة نسبيا فيمكن متابعة حركية تفاعلاتها في الطرق التقليدية

مثل قياس التغيير بالتوصيل الكهربائية بوحدة الزمن، أو التغير بالتركيز المولاري بوحدة الزمن، أو التغيير بحجم الغاز عن طريق التصحيح بالحامض أو القاعدة ولكن أدق هذه الطرق هي قياس تغيير كثافة الضوء الممتص بوحدة الزمن بواسطة أجهزة قياس أطياف الاشعة فوق البنفسجية المرئية uv-vشرط أن يمتص الجذر الحر منطقة تختلف عن منطقة امتصاص المادة الناتجة فمثلا يمتص الجذر الحر الثلاثي فينيل المثيل ph3cالضوء عند nm345 وعند nm510 بينما يمتص ثلاثي فينيل ميثان ph3,ch2 الضوء عند nm262 فقط [78].

3-5- أضرار الجذور الحرة

إن التأثيرات التي تحدثها الجذور الحرة على العديد من الجزيئات البيولوجية يمكن أن تؤدي إلى تغييرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية حيث تنتج الجذور الحرة من أجل الدفاع عن جسم الانسان ضد الاجسام الغريبة إلا أن الانتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى الجزيئات الخلوية. وأساسها ثلاثة إما ضرر وقع على الحمض النووي والذي يؤدي إلى الطفرات والتي تسبب موت الخلايا أو ضعف المناعة إما ضرر وقع على البروتينات ومن ثم تحويل وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية وأخيرا ضرار وقع على الدهون أو الاكسدة الفوقية للدهون وهو الأخطر إذا نتج عنها جذور لها شراهة تكسبها عمر أطول وانتشارا أوسع مسببا بتلك خلايا سرطانية كما يمكن أن تنجم أضرار أخرى كأمراض القلب والأوعية الدموية.[79]

3-6- دور الجذور الحرة

الجذور الحرة لها دور مزدوج إما أن تكون ضارة أو نافعة للأنظمة الحية ففي حالة انخفاضها وفي شروط معتدلة تلعب الجذور الحرة دورا حيويا:

- قتل الجراثيم باستخدام إنزيم الميليوبروكسيداز وذلك عن طريق تحفيز من بيرو كسيد الهيدروجين
- تمايز الخلايا بشكل عام تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد
- للحفاظ على الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم أساسا في الجهاز المناعي، إنضاج هيكل الخلية، آليات عمل الخلايا.

3-7- آلية تشكل الجذور الحرة:

الجذور الحرة يمكن أن تتشكل كما يلي:

- انشطار الرابطة التساهمية من الجزيء الطبيعي مع احتفاظ كل شظية بالإلكترونات المقترنة $A\cdot + X\cdot _____ AX\cdot$

-إضافة إلكترون منفرد لجزيء طبيعي $X _____ X\cdot + e\cdot$

3-8-أسباب زيادة الجذور الحرة:

- يزيد تشكل الجذور الحرة بازدياد سرعة الاستقلاب كما يحدث في حالة التوتر والشدة
- يزيد بزيادة عوامل التلوث البيئي المختلفة التي يتم تحطيمها في الجسم لتتحول إلى جذور حرة.
- استهلاك كميات كبيرة من الأوكسجين.
- يزيد بالتدخين ولأسباب عديدة.

الجزء التطبيقي

الفصل الأول:
مواد وطرق الدراسة

1- تقديم منطقة الدراسة:

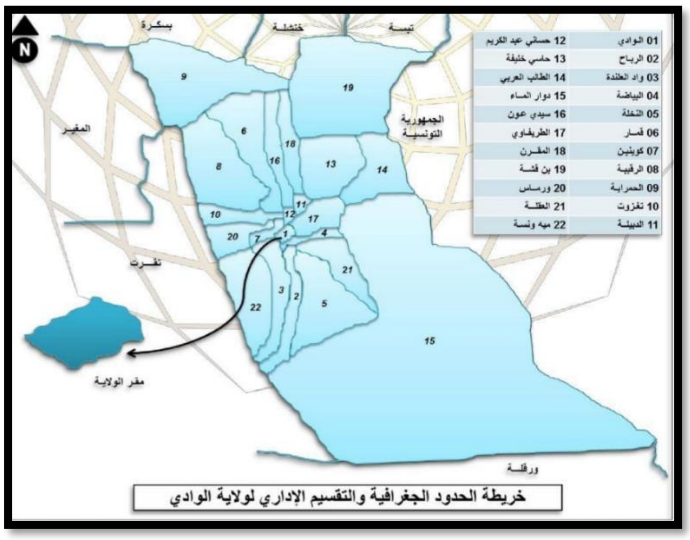
1-1- الموقع الجغرافي الوادي:

ولاية الوادي كانت ملحقة سابقًا بولاية الواحات تابعة لولاية بسكرة قبل إعادة التنظيم الإقليمي لسنة 1974، بعد هذا التاريخ أصبحت ولاية رسمية بفضل التقسيم الإداري سنة 1984وتضم 30 بلدية و12 دائرة، وهي تتكون حال ًيا من 22بلدية و10دوائر بعد التقسيم الإداري الأخير لسنة2020 .

تبلغ مساحة الولاي35752 كلم ² ويقدر عدد سكانها في نهاية سنة 2021بـ 716905 نسمة (أي بمعدل كثافة سكانية يبلغ 20،05٪)

ولاية الوادي الواقعة جنوب شرق الوطن وحدودها كما يلي:

- ✓ شمالا ولاية خنشلة
- ✓ شمال شرقي ولاية تبسة
- ✓ شمال غرب ولاية المغير
- ✓ غرب ولاية تقرت
- ✓ بالجنوب الغربي ولاية ورقلة
- ✓ شرقا الحدود التونسية (شريط حدود 260كلم).



الصورة 20: خريطة الحدود الجغرافية والتقسيم الإداري لولاية الوادي.

2- الطرق المتبعة في الميدان

2-1-وقت الجمع:

تم قطف نبتة الحسك ***Tribulus terrestris* L** منطقة الوادي عند الاحداثيات التالية N 6°51'38,473"E"47,482'23°33من شهر ديسمبر لعام 2023 ,حيث تم فصل الأجزاء

الهوائية عن بعضها (أوراق وسيقان وثمار) وكذلك المجموع الجذري ووضعها في أكياس ورقية، وثم غسلها بالماء البارد لإزالة الشوائب والرمل والحشرات الرقيقة منها، في هاته الدراسة قمنا باستعمال أوراق من النبتة.

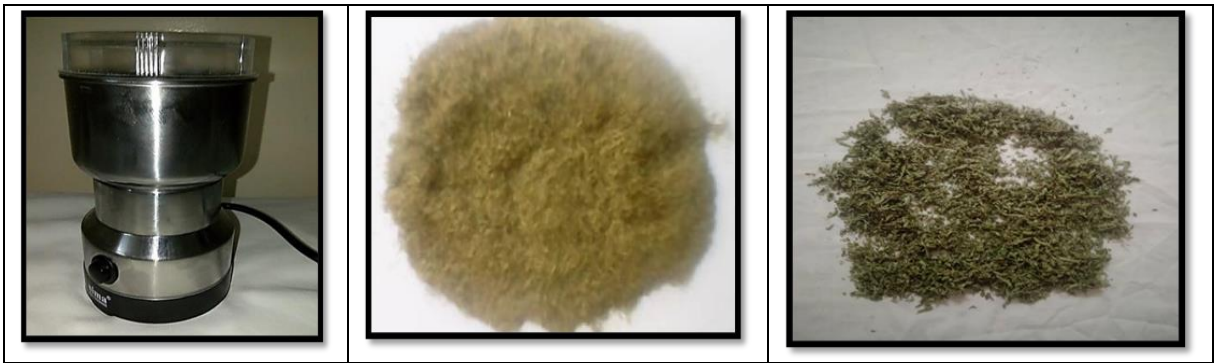
2-2- التجفيف:

قمنا بتجفيف أوراق نبات الحسك ***Tribulus terrestris* L** في مكان مهوى بعبدا عن أشعة الشمس والرطوبة فوق قطعة قماش مع ترك مسافات بين الأجزاء وتقلب من حين إلى آخر بمعدل مرتين في اليوم لمدة شهر للتأكد من الجفاف التام للأوراق تحت درجة حرارة الغرفة. قمنا بتجفيف النبات لعدة أسباب نذكر منها:

- التخلص من النسبة العالية للرطوبة في النبات الطازج لمنع تعفنه ولإيقاف مفعول الإنزيمات وعمليات تحلل المائي وابطال التغيرات الكيميائية والمحافظة على مكوناته الفعالة .
- تسهيل عملية سحق وطحن النبات.
- تقليل وزن العقار وحجمه بغرض تسهيل عمليات الحفظ والتخزين والنقل

2-3- الطحن والتخزين:

بعد التجفيف الجيد والتام لأوراق النبات، نقوم بعملية الطحن بواسطة الة كهربائية نظيفة ومعقمه، مع الاخذ بعين الاعتبار تفادي الطحن الدقيق وذلك لتجنب كسر الروابط الكيميائية للنبتة، وغربلة المسحوقة الناتج وضعها في أكياس ورقية محكمة الغلق، وذلك لمنعها من التعفن أو تعرضها لأشعة الشمس المباشرة.



الصورة 21: صور لعملية الصحن والتجفيف.

3- المواد والطرق:

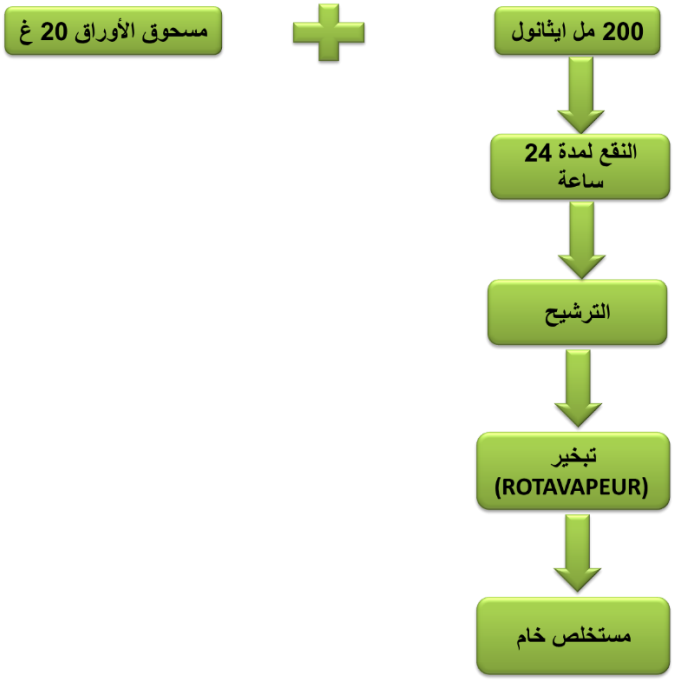
3-1- تعريف الاستخلاص:

وهو فصل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية أن كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطبق عليها استخلاص (سائل - سائل) وان كانت المادة صلبة

فنطبق استخلاص (صلب -سائل) ولهذا الاخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة والضغط وكيفية استعمال المذيب [80].

3-2- تحضير مستخلص الايثانولي و المائي و مزيج الايثانول مع مائي لأوراق نبات *Tribulus terrestris* L :

نزن بالميزان الالكتروني كمية قدرها 20غ من مسحوق الأوراق الجافة، ثم ننقعها في حجم قدره 200مل من الإيثانول في حالة المستخلص الايثانولي والماء المقطر في حالة المستخلص المائي و140مل من الايثانول و60 مل من الماء المقطر في حالة مزيج الايثانول مع ماء مقطر ونقوم بتغطيتها بورق الألمنيوم، وثم توضع في جهاز المبخر الدوران (Rotavapeur) عند درجة حرارة 25°C وبعد 24 ساعة نقوم بعملية الترشيح والحصول على مستخلص خام [81].



الشكل22: مخطط يوضح مراحل الاستخلاص العام لمستخلصات النبتة.

3-3- حساب مردود الإنتاجية للمستخلصات:

مردود الانتاجية للمستخلصات هي النسبة بين وزن المادة المستخلصة والتي نرمز لها m_f على وزن المادة الابتدائية للنبتة ونرمز لها ب m_i حسب العلاقة التالية:

$$R\% = (mf/mi)*100$$

حيث:

R% :المردودية الانتاجية للمستخلصات ب % [82].

m_i : الكتلة الابتدائية.

m_f :الكتلة النهائية.

4- الاختبارات الفيتو كيمائية الأولية:

وهي جملة من الاختبارات وذلك لتحديد وحصر مختلف المواد الفعالة التي يحتويها النبات ونلخص مجمل هذه الاختبارات فيما يلي:

❖ **الكشف عن القلويدات:**

اختبار Mayer	**نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Mayer ظهور راسب ابيض.[83] .**
اختبار Waynce negent	نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشفً Waynce negentظهور راسب احمر بني[83] .
اختبار Acide picrique	نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Acide picriqueظهور راسب اصفر[83] .

❖ **الكشف عن التربينات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Terpeneظهور راسب بني على السطح[84] .

❖ **الكشف عن المركبات الفينولية:**

اختبار $Fecl_2$ كلور حديد الثنائي	**نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي او من مستخلص و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Fecl2ظهور راسب اخضر غامق[85] .**
اختبارAcetate	نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي والماء المقطر و3مل من ماء المقطر و1مل من كاشف Acetateظهور راسب ابيض كثيف[85] .

❖ **الكشف عن الفلافونيدات:**

نضع في أنبوب اختبار 1مل من مستخلص مائي او مستخلص الايثانولي و3مل من ماء المقطر و1مل من NaoH dilierظهور راسب اصفر بني[86] .

4-1-التقدير الكمي للمركبات الفينولية (PPT) الكلية للمستخلصات:

يتم تقدير كمية المركبات الفينولية الكلية باستخدام الطريقة اللونية Singleton) 1965 (Rossi وذالك باستعمال كاشف الفولين(Folin ciocalteu) حيث أن هذا أخير يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3PW_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك**($H_3PM_{o12}O_{40}$)** الذي يرجع بواسطة الفينولات الي أكسيد التغنستين**(WO_3)** والموليبدين**(M_oO_3)** ذات اللون الأزرق[87] .

تيم تقدير المركبات الفينولية كميا بواسطة جهاز طيف الاشعة الفوق بنفسجية والمرئية - **UV visible**باستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند الطول الموجي $\lambda max=760$[88].

❖ **تحضير مركبات الفينولية**

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره1ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز0.1مل ونضيف له 0.5مل من كاشف الفولين ثم نضيف له 2مل من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3بتركيز75% ونتركه في الظلام لمدة 30دقيقة فنتحصل على اللون الأزرق، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موجي$\lambda max = 760nm$.

الصورة 22- محلول بعد إضافة كاشف فولين.

يستعمل حمض الغاليك المذاب في الإيثانول كمحلول قياسي، ويحدد تركيز المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص.

5- التقدير الكمي للفلانويدات (FV)الكلية للمستخلصات:

تمثل الفلافونيدات مجموعة كبيرة من المركبات الفنولية، حيث يتم تحديد كمية الفلافونيدات الكلية وفق الطريقة اللونية لكلوريد الالمنيوم التي وصفها Chang et al واعتمدنا

على طريقة Woisky and salation مع بعض التعديلات الطفيفة، ويمكن تقديرها كميا عن طريق التفاعل مع كلوريد الالمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل(OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلانويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل واورثوهيدركسي الموقع 5و ،3كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثوهيدركسي، ذو معامل امتصاص عال. ويمتص عند طول موجه $\lambda max=430$ nm [89].

يستعمل حمض الغاليك المذاب في الإيثانول كمحلول قياسي، ويحدد تركيز المركبات الفلانويدات الكلية في مختلف المستخلصات بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص.

❖ **تحضير مركبات الفلانويدات**

نحضر من كل مستخلص عضوي تركيز قدره 0.1ملغ/مل، نأخذ من كل تركيز 1مل ونضيف له 1مل من محلول ثلاثي كلور الالمنيوم($AlCl_3$) ذو تركيز 2%، ونتركه في الظلام لمدة 30دقيقة فنتحصل على اللون الأصفر، ثم تقرأ الامتصاصية عند طول موج $\lambda_{max} = 430nm$.

الصورة23-المحاليل بعد اضافة كلوريد الالمنيوم.

يستعمل حمض الكرستين المذاب في الإيثانول كمحلول قياسي، ويحدد تركيز المركبات الفلانويدات الكلية في مختلف المستخلصات بعدد المليغرامات المكافئة لحمض الكرستين لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص.

6-تقدير نشاط مضاد للأكسدة:

على مدى العقود الماضية اقترحت العديد من الطرق التي تهدف الى تحدد مستوى النشاط المضاد للأكسدة، منها ما كانت تعتمد على كواشف كيميائية او تجهيزات ونظم آلية، فقد نشرت العديد من الدراسات التي تتناول هذا الميدان حيث أعتمد فيه طرق كيميائية وفيزيائية لتحديد النشاط المضاد للأكسدة، هذه الطرق مبنية على القياس المباشر أو الغير مباشر لسرعة التفاعل ونسبته.

6-1-اختبار DPPH (Diphenyl picrylhydrazyl)

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر(DPPH · ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل diphenyl picrylhydrazyl)المستقر نسبيا وذو اللون البنفسجي حيث يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور الحرة ويتحول إلى (DPPH-H ثنائي فينيل بكريل هايدرازين 2,2-diphényl-1- picrylhydrazine) يتبع ذلك نقصان الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمية λ max=517nm المذيب المستعمل هنا الميثانول.

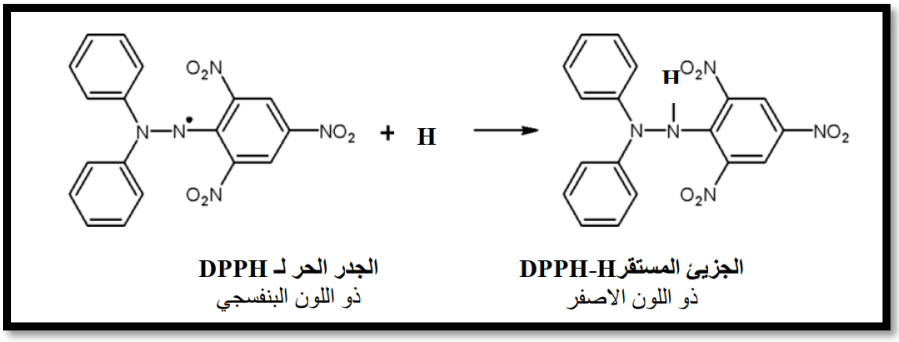
ارجاع جذر (DPPH· ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل diphenyl picrylhydrazyl)واكتسابه بروتون يؤدي الى تشكل (DPPH-H ثنائي فينيل بكريل هايدرازين2,2-diphényl-1- picrylhydrazine (picrylhydrazine ذو اللون الأصفر.

المركب المراد اختباره يضاف الى محلول (DPPH·) المحضر في الميثانول، بعد ترك الخليط في الظلام لمدة 30دقيقة، يتم قياس الامتصاصية الضوئية عند طول موجي λ max=517 nmبجهاز قياس الاشعة فوق البنفسجية والمرئية،**UV-visible** قياس تهافت اللون البنفسجي للخليط مع الزمن تسمح لنا بالحصول على،IC 50 زمن يتهافت فيه 50 %من لون الخليط.

عموما النتائج تعتمد على كمية مضادات الاكسدة اللازمة لتثبيط 50 %من اجمالي الجذور الحر (DPPH·)الابتدائية،IC 50 يعني أن النتائج متعلقة بالتركيز الابتدائية (DPPH) حيث نستطيع تعريف النشاط المضاد للأكسدة والموسوم بالرمز AAو المعبر عنه بالنسبة

$$\mathbf{AA}\% = [DPPH^{\cdot}]\ \text{initial} / IC50$$

.[90][91]

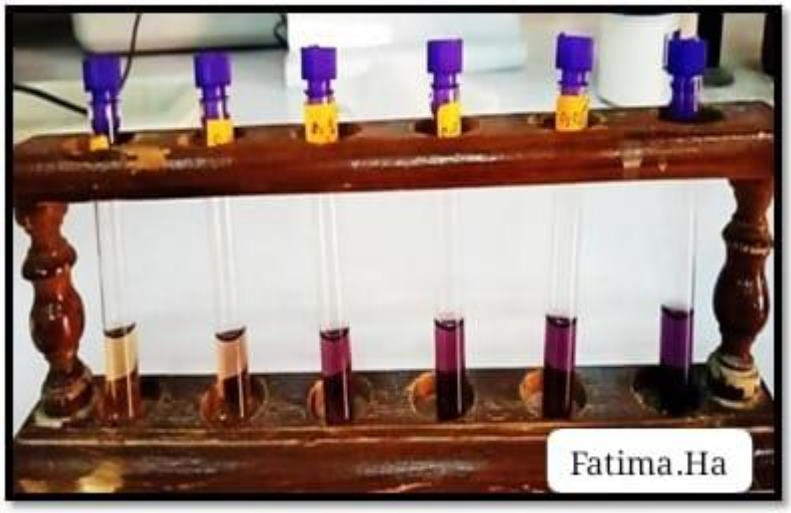


الصورة 24- -تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابت

❖ تحضير اختبار DPPH

نقوم بتحضير محلول DPPHتركيز 0.04 mg\mlوذالك بإذابة 4 ملغ في 100مل من الميثانول نتحصل على محلول بنفسجي داكن يغلف بالألمنيوم ويحفظ في الظلام.

نقوم بتحضير تراكيز مختلفة من المستخلصات المخففة بالميثانول نأخذ 1مل من كل تركيز ونضعها في أنابيب اختبار ثم نقوم بإضافة كمية تقدر ب 1مل من محلول، DPPH نتركها في الظلام لمدة 30دقيقة ثم نقوم بقراءة الامتصاصية في جهاز الاشعة فوق البنفسجية والمرئية **UV-visible**عند الطول الموجي المقدر ب.λ max=517 nm



الوثيقة24-المحاليل بعد إضافة DPPH

نقوم بنفس الخطوات مع حمض الاسكوربيك قصد مقارنة الفاعلية المضادة للجذور الحرة والأكسدة للعينات المدروسة مع حمض الاسكوربيك **AA**.

❖ **تقدير النشاط المضاد للأكسدة**

لتقدير النشاط المضاد للأكسدة، حددت القدرة المستخلصات على تثبيط والتقاط الجذور الحرة بالنسبة المئوية لإرجاع الجذور الحرة DPPHومقارنة هذه النسب بتلك الخاصة بحمض الاسكوربيكAA .

$$I\% = (A0 - AI / A0) * 100$$

حيث أن :

A_0 :لامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

A_I : الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر +المستخلصات)بعد مرور 30دقيقة.

❖ **تحديد قيمة IC 50**

تحدد قيم IC 50من خلال المنحنيات البيانية لتثبيط الجذر الحر بدلالة التركيز، حيث يتم حساب قيمة التركيز الموافق ل 50 %اعتمادا على المنحنى البياني:

$$Y = a .X + b$$

إذا كانت **Y**نسبة الارجاع المقدرة ب 50 %تكون قيمة IC 50كما يلي:

$$X = (50 - b) /a$$

7- اختبار FRAP:

اختبار(Ferric Reducing/AntioxydantPower) يدرس فعالية مضادات الأكسدة الارجاعية في تفاعل الارجاع اللوني، أي تدرس مدى قدرة المستخلصات كمثبطات لعملية الأكسدة

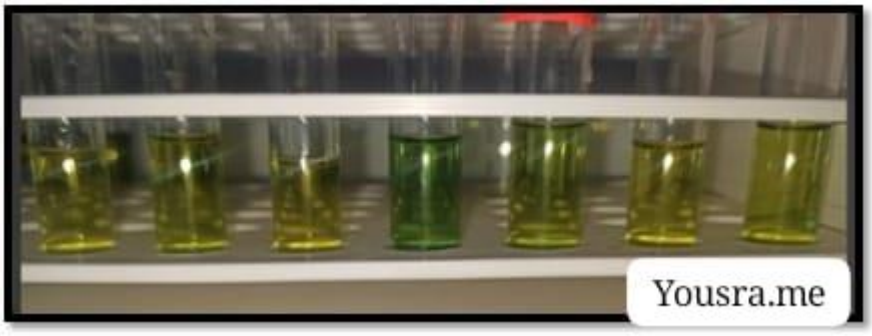
❖ **تحضير اختبار FRAP:**

نأخذ في أنبوب اختبار 2.5 ml من كل محلول ممدد، نضيف 650mlمن

المحلول $K_3Fe\ (CN)_6$ (1%)ثم نضيف 650mlمن محلول الفوسفات منظم (phosphate tampon) (pH=6.6)نضع المحاليل في حمام مائي لمدة 20دقيقة عند درجة

حرارة 50°Cبعدها نضيف650mlمن حمض ثلاثي كلورو أسيتيك(TCA 10%) ثم نضعه في جهاز طرد المركزي عند 3000 دورة لمدة 10 دقائق ونأخذ 650ml من المحلول المحضر +650 mlمن الماء المقطر+ 0.125mlمن $FeCl_3$(0.1%) نحسب الامتصاصية عند طول موجة.λ max=700 nm [80]

نقوم بنفس الخطوات مع حمض اسكوربيك قصد مقارنة الفاعلية المضادة للجذور الحرة والأكسدة للعينات المدروسة مع حمض الاسكوربيك **AA**.



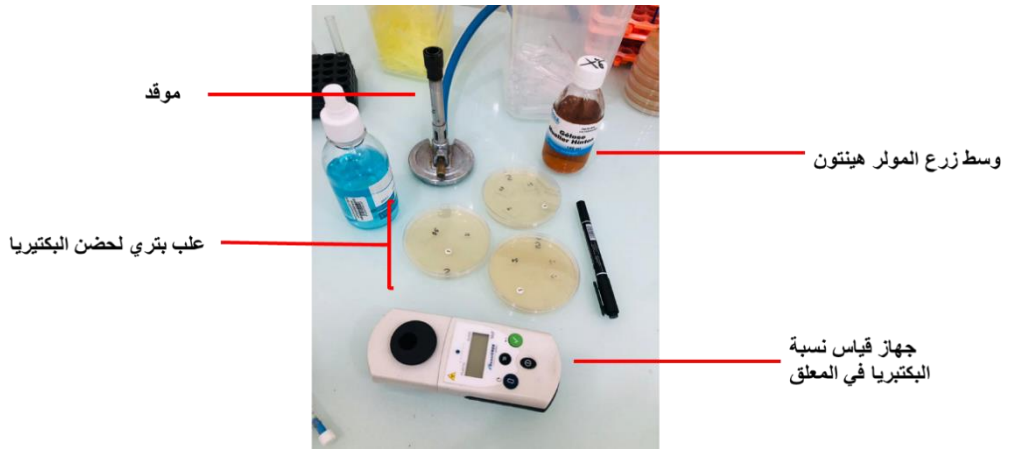
الصورة 25-محاليل اختبار FRAP

8- الفعالية المضادة البكتيريا:

تعد طريقة انتشار القرص المعيار الذهبي لتأكيد حساسية البكتيريا. وقد تم إدخال انتشار القرص الموحد من خلال تجارب باور وكيربي عام 1956 [93][92].

❖ **اختبار انتشار الآبار:**

تم تحديد الاختبار المضاد للبكتيريا للمركب باستخدام طريقة انتشار الآبار (WD) ضد أربعة أنواع من البكتيريا، وهي الباسيلس جوني *Bacillus subtilis* ATCC 25973، والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، والمكورات الذهبية *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، والإشريكية القولونية *Escherichia coli* ATCC 25922. أعدت العينة بتركيز (100، 50، 25، و12.5 ملجم/مل) في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO). تم استخدام وسط أغار مولر-هينتون. تمت زراعة البكتيريا على وسائط الأجار وحضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. تم خلط المحاصيل البكتيرية مع محلول كلوريد الصوديوم 9٪ وتم مقارنة العكارة بمعيار عكارة ماكفارلاند 0.5 (10 ^ 8 وحدة تشكيل مستعمرة / مل). بعد ذلك، صُب الأجار فوق أطباق بتري وتم تسويا تعليق البكتيريا على الأجار. تم وضع 60 ميكرولتر من المركب في آبار بقطر 6 مم، والتي تم وضعها في الأجار الملقح بالسلالة البكتيرية. ثم تم حضان اللوحات عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة. تم استعمال المضاد. تمثل منطقة التثبيط الفعل المضاد للبكتيريا.



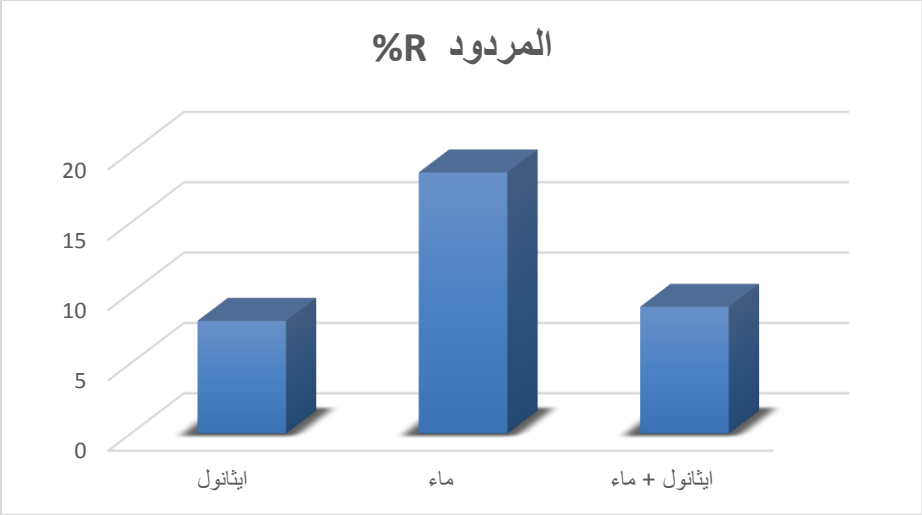
الصورة 26: الأدوات المستعملة في تجربة قياس تأثير المستخلص على عدة انواع من البكتيريا

الفصل الثاني:
النتائج والمناقشة

1-النتائج والمناقشة

1-1-حساب المردود لمستخلصات النبات

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود بـ (%) والنتائج مدونة في الشكل (1):



الشكل (1): مردود مستخلص المائي ومستخلص الايثانولي ومستخلص ماء+ايثانول.

الجدول (5): يوضح نتائج مردود المستخلصات.

مستخلص النبتة المدروسة	المردود%
ايثانولي	9
مائي	18.55
ماء+ايثانول	8

من خلال الشكل 1 والجدول (5) أظهر تقدير مردود الاستخلاص بالنسبة لـ 20غ من الوزن الجاف لأوراق النبات أن المستخلص

المائي تمتلك المردود الأعلى بنسبة % 18.55والذي قدر بنسبة في حين ان مستخلص مزيج من ماء المقطر والايثانول مردود متوسط بنسبة % 9 وان مستخلص الايثانولي مردود اقل نسبته % 8.

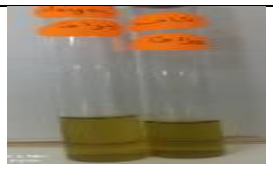
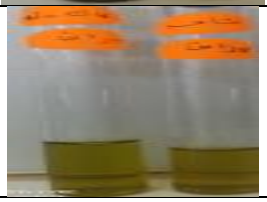
أظهرت نتائجنا ان كمية المستخلص المائي أكبر من مستخلص الايثانولي ومستخلص مزيج من الايثانول والماء المقطر وكانت مطابقة مع الدراسات السابقة على نفس النبات بمناطق مختلفة.

يعود هذا الاختلاف إلى عمر النبات، الظروف المناخية للمنطقة، مرحلة نمو النبات والجزء النباتي المدروس [94].

2-1- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

بعد الكشف عن المواد الفعالة التي أجريت على المستخلصات المدروسة تحصلنا على النتائج التالية:

الجدول (6): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي أوراق نبات الحسك.

مركبات الايض الثانوية	المستخلص المائي	المستخلص الايثانولي	الملاحظة
القلويدات			تشكل راسب ابيض في مستخلص مائي ولم يتشكل في مستخلص الايثانولي
القلويدات			تشكل راسب احمر بني في مستخلص مائي والايثانولي
القلويدات			تشكل راسب اصفر في مستخلص مائي والايثانولي
التربينات			تشكل راسب بني على السطح في مستخلص مائي والايثانولي
الفينولات			تشكل لون ابيض كثيف في مستخلص مائي والايثانولي
الفينولات			تشكل لون اخضر غامق في مستخلص مائي والايثانولي
الفلافونيدات			تشكل لون اصفر بني في مستخلص مائي ولم يشكل في مستخلص الايثانولي

الجدول (7): النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك

(+): وجود مادة فعالة (كلما زادت زاد التواجد) (-): عدم وجود مادة فعالة (كلما نقصت نقص التواجد)

مركبات الثانوية	الايض	مستخلص مائي	مستخلص ايثانولي
القلويدات		+	_
القلويدات		+++	+++
القلويدات		++	+
التربينات		+++	+++
الفينولات		+++	++
الفينولات		+++	+++
الفلافونيدات		+++	-

من خلال نتائج الجدولين (6)(7) يتضح لنا ان المستخلص المائي يحتوي على نسبة عالية من التربينات الفلافونيدات والقلويدات بثلاثة كواشف مختلفة لتأكد من ذالك والمركبات الفينولية بكاشفين مختلفين لتأكد من ذالك.

اما بالنسبة للمستخلص الايثانولي فنلاحظ تواجد كمية من القلويدات وكمية عالية من التربينات وكمية من مركبات فينولية وعدم وجود الفلافونيدات.

من خلال النتائج المحصل عليها من الكشف الفيتوكيميائي تبين لنا أن أوراق نبات الحسك غنية بمنتجات الأيض الثانوي وهذا ما أكده [95].

ان وجود القلويدات ضروري لنبات فهي مثابة مخزنة احتياطي لعنصر النيتروجين لإمداده به وقت الحاجة اليه وعند نقصه بالتربة لها دور دفاعي فهي تستعمل كمنظمات للنمو وبهذا نفسر تواجدها في نبات الحسك[96] .

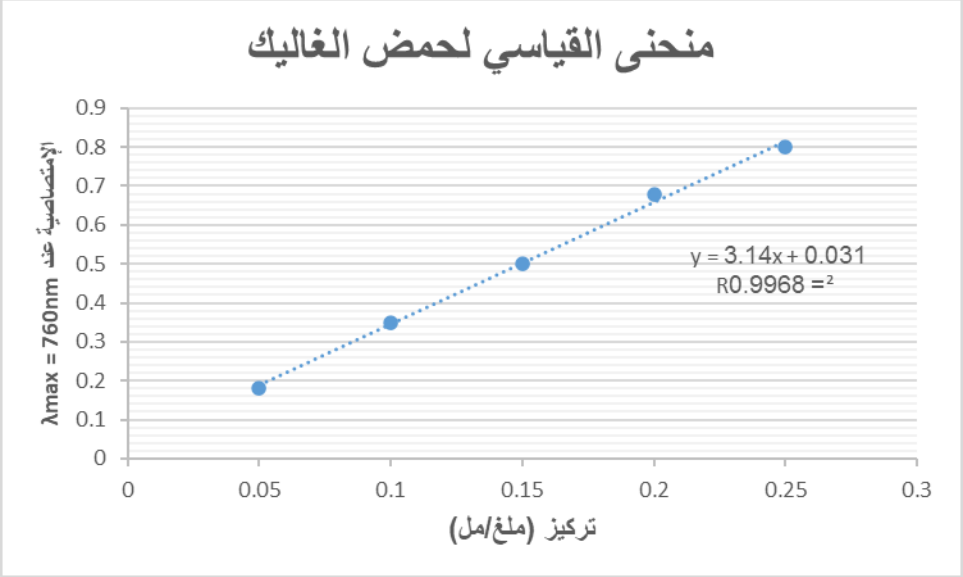
نفسر وجود التانينات في أجزاء مختلفة من النبات لدورها الهام في عملية البناء التركيبي للنبات، وفي التخلص من بعض نواتج العمليات الحيوية خارج انسجة النبات، فهي أيضا تعتبر مواد مطهرة تحمي النبات من الحشرات الضارة فوجودها ضروري لحماية النبات لينمو نموا طبيعيا[97] .

1-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية

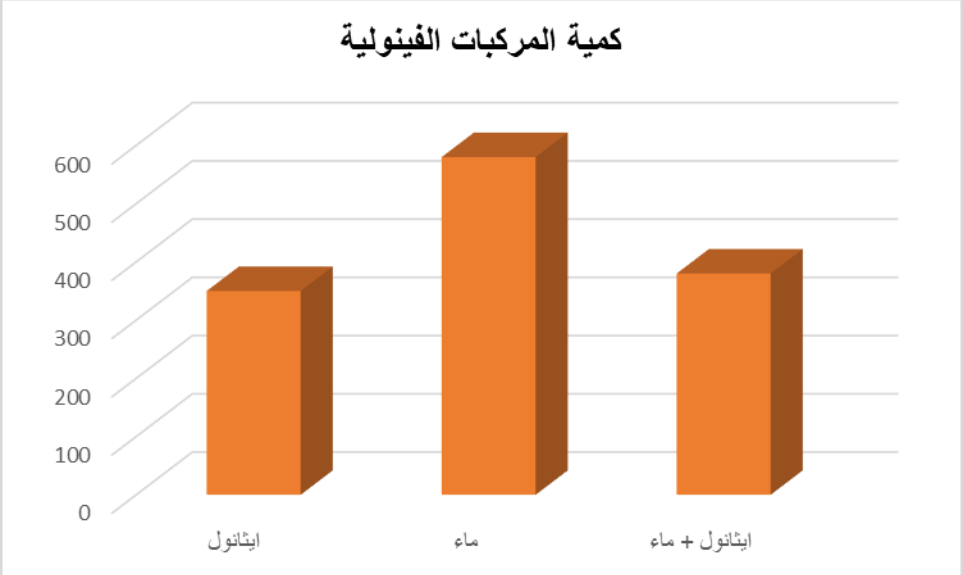
1-3-1-لتقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)

قدرت كمية المحتوى الفينولي باستعمال معادلة دالة خطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الايثانول والماء ومزيج ماء والايثانول، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية

للمستخلصات المائي والايثانولي ومزيج ماء والايثانول بالميليغرام (mg) على أساس الحمض الغاليك المكافئ \غرام(g)من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (2): المنحنى القياسي لحمض الغاليك كمرجع لفينولات.



الشكل (3): كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي والايثانولي ومزيج الماء والايثانول لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من وزن المستخلص الجاف.

الجدول (8): كمية مركبات الفينولية في المستخلصات النبتة المدروسة.

مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات الفينولية EqAG (mg/g)
ايثانول	350
ماء	580
ايثانول + ماء	380

من خلال الشكل (3) والجدول (8) نلاحظ ان هناك تمايز في كمية المركبات الفينولية حيث في المستخلص المائي كانت أكبر قيمة حيث قدرة ب (EqAG mg/g) 580 وفي مستخلص ايثانول +ماء قدرة ب (EqAG mg/g) 380 وفي مستخلص الايثانولي قدرة ب (EqAG mg/g) 350.

الكثير من الدراسات السابقة إهتمت بدراسة المحتوى الفينولي للنبات من مناطق جغرافية متعددة

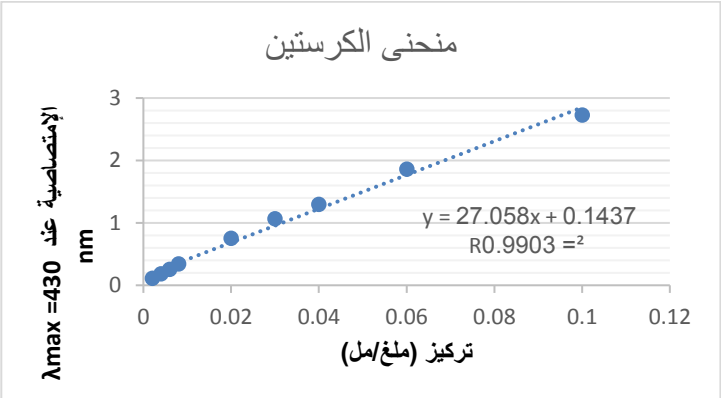
كالدراسة التي أجرها [98] على أوراق النبات الحسك في منطقة اورسيا بالهند حيث تحصل على كمية من الفينولات 25.67±0.044 mg AG E/g.

الكثير من الدراسات السابقة إهتمت بدراسة المحتوى الفينولي للنبات وهناك اختلاف وهذا راجع الى

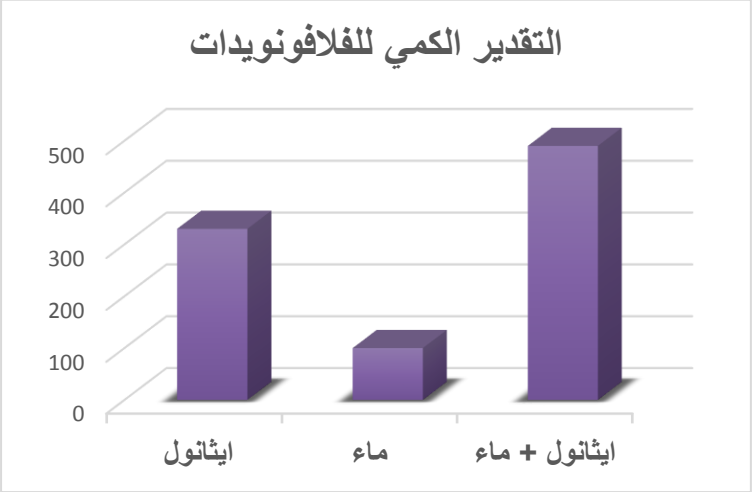
التباين في الكميات المعتبرة لعديدات الفينول إلى المنطقة المختارة وكذالك لطبيعة المناخ بالإضافة إلى اختلاف نوعية التربة وكذلك وقت جمع النبات [99].

1-3-2- التقدير الكمي للمركبات الفلافونويدات(FV)

قدرة كمية الفلافونيدات باستعمال حمض قياسي للكريستين في المستخلصات المائي والايثانولي ماء+ايثانول حيث حسبت كمية الفلافونويدات بالمليغرام (mg)على أساس حمض الكرستين المكافئ /غرام (g)من وزن المستخلص الجاف.



الشكل (4): منحنى قياسي لحمض الكرستين كمرجع للفلافونويدات.



الشكل (5): كمية المركبات الفلافونويدات لمستخلصات النبتة المدروسة.

الجدول (9): كمية المركبات الفلافونيدات لنبتة المدروسة.

مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات الفلافونويدية EqQr (mg/g)
ايثانول	330
ماء	100
ايثانول + ماء	490

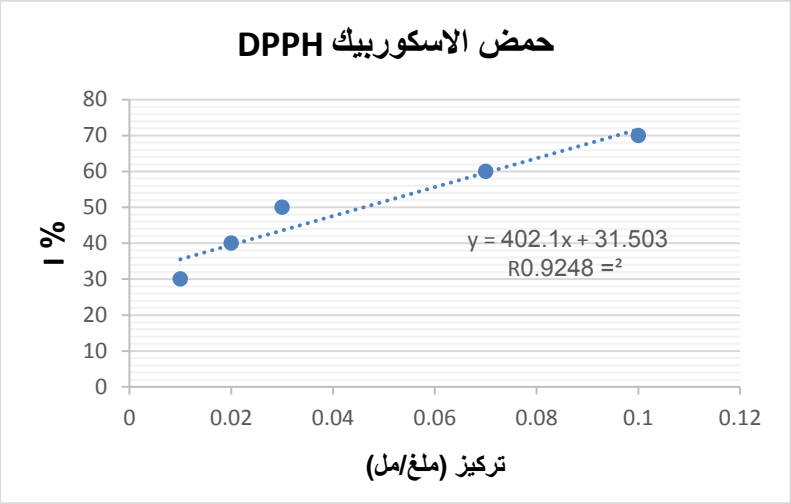
من خلال الشكل (4) والجدول (9) نلاحظ ان هناك تمايز في كمية المركبات الفلافونيدات حيث في المستخلص الماء+ ايثانول كانت أكبر قيمة حيث قدرة ب(EqQr mg/g) 490 وفي مستخلص ايثانول قدرة ب(EqQr mg/g) 330 وفي مستخلص مائي قدرة ب EqQr (mg/g) 100.

هناك تباين في كمية الفلافونيدات مع الدراسات السابقة هذا راجع الطريقة الاستخلاص ودرجة الحرارة ومدى الاستخلاص ونوع المذيب المستعمل [100][101].

1-4- تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

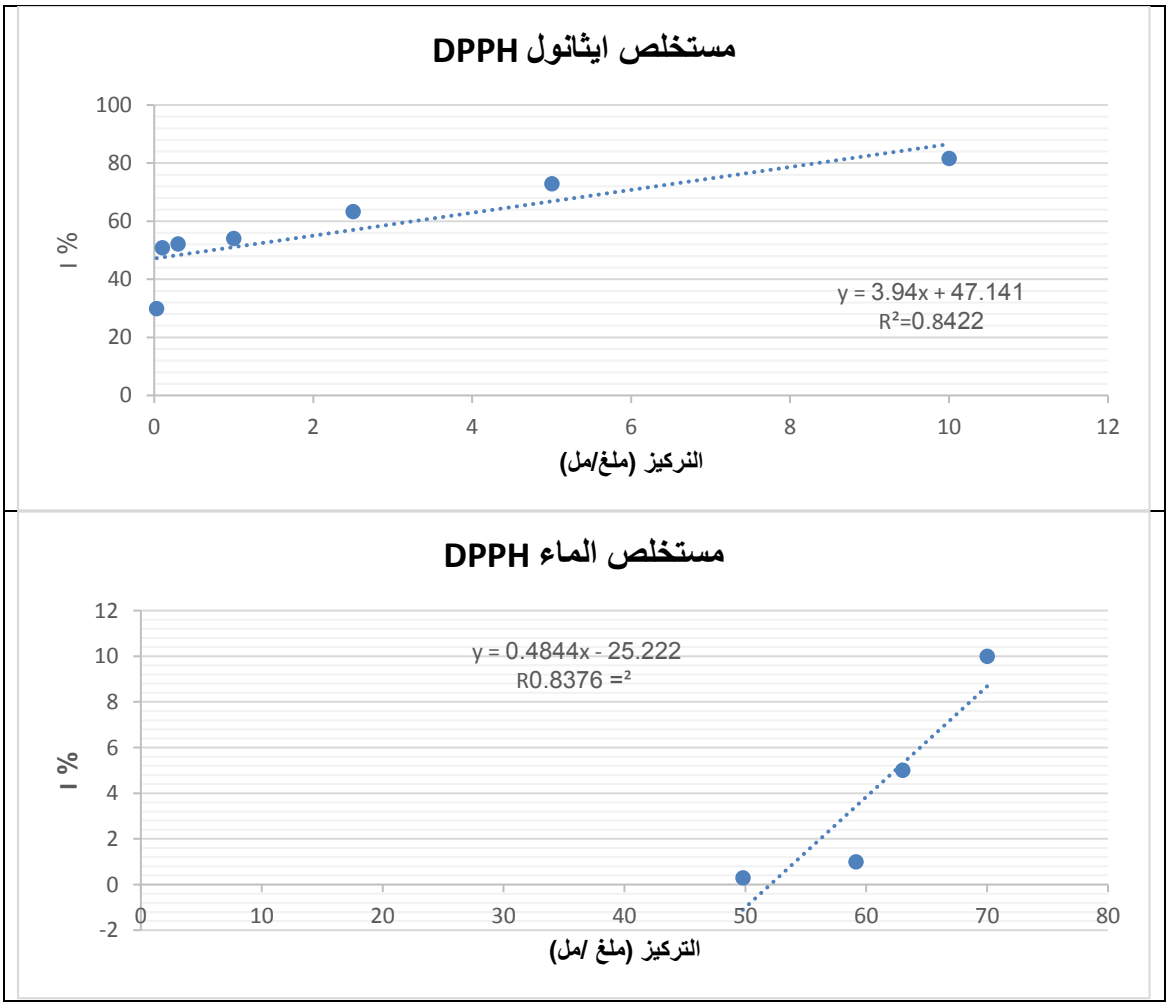
1-4-1- -نتائج القدرة التثبيطية للجذر الحرDPPH

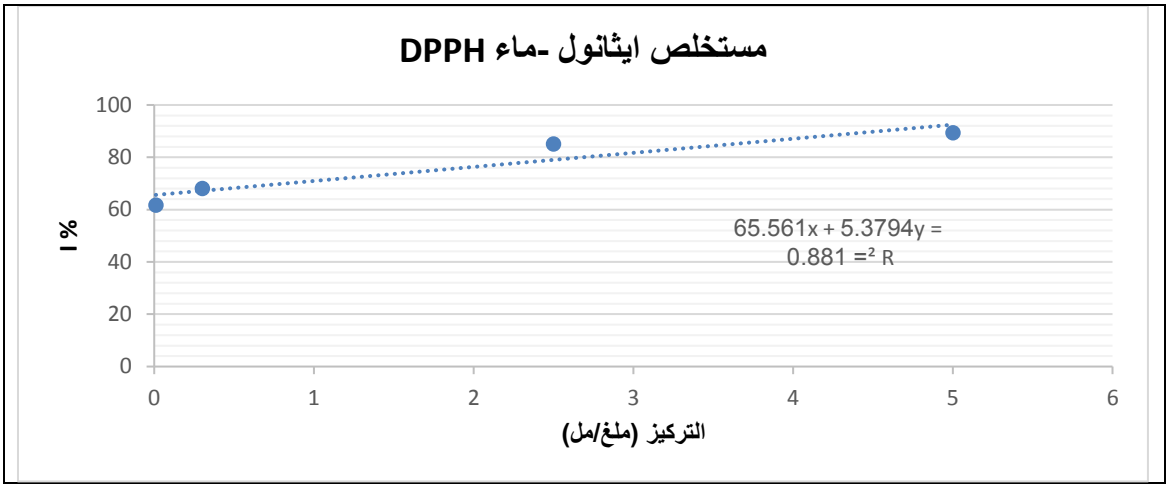
تم تقدير نشاطية المستخلصات النباتية المضادة لجذر DPPHومقارنتها بنشاطية حمض الاسكوربيك باعتباره مركبا قياسيا، وذلك بحساب IC50بعد رسم المنحنى البياني للنشاطية المضادة للأكسدة بدلالة التركيز، ومنه نستخرج المعادلة وقيمة، R^2ويتم تعويض قيمة Yبـ 50واستخراج قيمة Xوهي التي تمثلIC50.



الشكل (6): منحنى قياسي لحمض الاسكوربيك كمرجع ل DPPH

2-4-1-منحنيات DPPHمستخلص الميثانولي ومستخلص مائي ومستخلص المزيج (ميثانول+ماء)

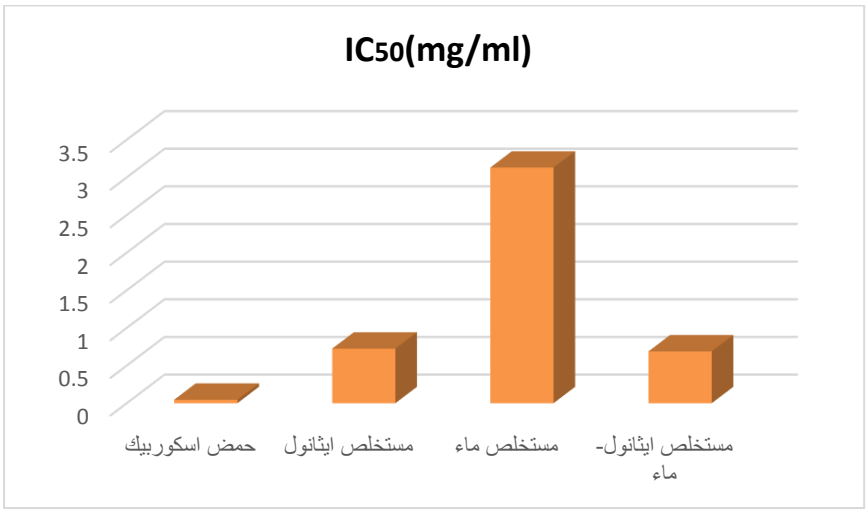




الشكل (7): منحنيات اختبار DPPHللعينات المدروسة.

الجدول (10): يمثل نتائج قيم IC50للعينات المدروسة.

العينة	معادلة المستقيم	IC50(mg/ml)
حمض اسكوربيك	y = 402.1x + 31.503	0.046
مستخلص ايثانول	x + 47.141 =3.94 y	0.725
مستخلص ماء	+y = 3.146x 40.133	3.13
مستخلص ايثانول-ماء	y = 4.9282x + 46.605	0.688



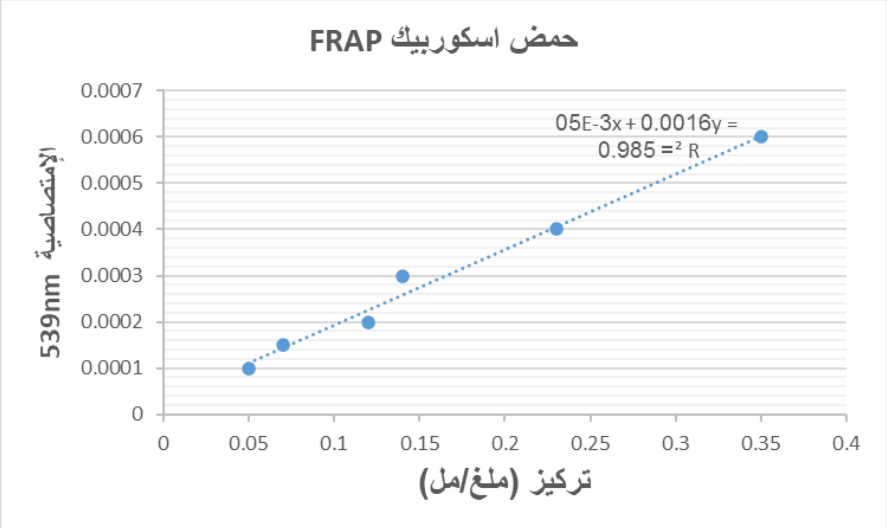
الشكل (8): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار DPPHللعينات المدروسة.

من خلال قيم IC50المثبطة للجذر الحر DPPHفي المستخلص لأوراق نبات الحسك المتمثلة في الشكل (8)، حيث نجد ان مستخلص مائي أكبر فعالية في تثبيط الجذر الحر DPPHاذ قدرت قيمة IC ب(mg/ml) 3.13علما أن التركيز الأقل لها تعني التأثير التثبيطي

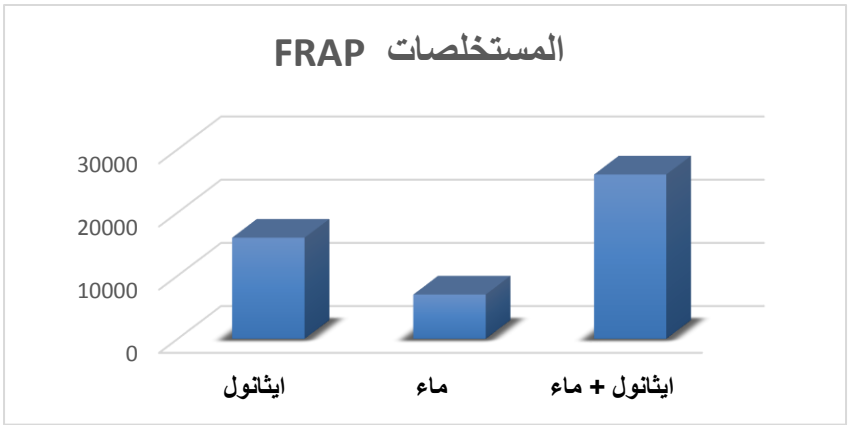
الافضل، بينما قدرت قيمة IC50في المستخلص الميثانولي ب(mg/ml) 0.725 وفي مستخلص ماء+ايثانول قدرت ب (0.688(mg/ml.

بين العديد من الباحثين أن القدرة التثبيطية للمركبات النباتية على جذر DPPH لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، والفعالية المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات يمكن ربطها بمحتواها من المركبات الفينولية، وتعتمد كفاءة هذه المركبات الفينولية كمضادات أكسدة على عدد المجموعات الهيدروكسيل المرتبطة في الحلقة العطرية[102] وكذلك بمحتواها من الفلافونيدات حيث أظهر في دراسة للتأثير التثبيطي ل 13فلافونويد على جذر DPPH، أن عدد مجموعات الهيدروكسيل وموقع تموضعها له دور كبير في التأثير التثبيطي، إذ أن وجود مجموعة هيدروكسيل في C3و بنية ال ortho-dihydroxylيعطي أفضل فعل تثبيطي على جذر DPPH [103].

1-4-3-نتائج اختبار FRAP



الشكل (9): منحنى قياسي لحمض اسكوربيك كمرجع ل FRAP.



الشكل (10): مخطط أعمدة بيانية يوضح نتائج اختبار FRAPللعينات المدروسة.

الجدول (11): يمثل نتائج اختبار FRAP

مستخلص النبتة المدروسة	كمية المركبات المضادة للأكسدة EqAG (mg/g)
ايثانول	390.62
ماء	178.12
ايثانول + ماء	635.62

بعد تقدير كمية المواد المضادة للأكسدة من خلال اختبار **FRAP** للعينات المدروسة، لاحظنا من خلال الشكل (9) والجدول (11) ان المستخلص ايثانول+ماء ذات فعالية عالية حيث قدرت ب(EqAG mg/g) 635.62 ومستخلص الايثانولي قدرت ب (EqAG mg/g) 390.62

ومستخلص مائي قدرت ب(EqAG mg/g) 178.12.

نفسر هذا الى ان مزيج الايثانولي +الماء قد يكون له القدرة أكبر على التخلص من الجذور الحرة مقارنة بالمستخلص الايثانولي بمفرده او مستخلص مائي بمفرده.

1-5-نتائج الفعالية المضادة البكتيريا:

الجدول (12): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص الايثانولي.

النشاط المضاد للميكروبات					
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
***Escherichia coli* ATCC 25922**	14	7	NI	NI	32
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	NI	NI	NI	NI	28
***Bacillus subtilis ATCC* 25973**	NI	NI	NI	NI	27
***Staphylococcus aureus* ATCC 25932**	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	NI	NI	NI	NI	/

NI = لا يوجد تثبيط، CN = أقراص الجنتاميسين 30 (CN)ميكروغرام.

من خلال الجدول (12) نلاحظ ان مستخلص الايثانولي أعطت قيم تثبيطية متوسط مع البعض سلالات البكتيرية المختبرة ولم يعطي أي تثبيط مع البعض الاخر

حيث عند Escherichia coli ATCC 25922: نلاحظ عند التركيزين الاولين 120mg/mlو

60mg/ml أعطت قيم تثبيطية متوسطة يقدر قطرهما 14 و7 على التوالي وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

اما بالنسبة للبكتيريا الأخرى لم تظهر اقطار تثبيطية عند مختلف التراكيز.

الجدول (13): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص مائي.

النشاط المضاد للميكروبات					
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
***Escherichia coli* ATCC 25922**	18	13	NI	NI	32
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	NI	NI	NI	NI	28
***Bacillus subtilis ATCC* 25973**	NI	NI	NI	NI	27
***Staphylococcus aureus* ATCC 25932**	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	8	NI	NI	NI	/

NI = لا يوجد تثبيط، CN = أقراص الجنتاميسين 30 (CN)ميكروغرام.

من خلال الجدول (13) نلاحظ ان مستخلص المائي أعطت قيم تثبيطية متوسط مع البعض سلالات البكتيرية المختبرة ولم يعطي أي تثبيط مع البعض الاخر

حيث عند Escherichia coli ATCC 25922: نلاحظ عند تركيز 120 mg/ml يقدر قدرها عالي 18وعند تركيز60mg/ml أعطت قيم تثبيطية متوسطة يقدر قطرها13 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

عند Candida albicans ATCC 10231: نلاحظ عند تركيز 120mg/mlيقدر قدرها متوسط 8 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

اما بالنسبة للبكتيريا الأخرى لم تظهر اقطار تثبيطية عند مختلف التراكيز.

الجدول (14): نتائج الاختبارات النشاط المضاد للبكتيريا لـمستخلص ماء+ايثانول.

النشاط المضاد للميكروبات					
الانواع البكتيريا	120mg/ml	60mg/ml	30mg/ml	15mg/ml	CN
***Escherichia coli* ATCC 25922**	14	7	NI	NI	32
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	NI	NI	NI	NI	28
***Bacillus subtilis ATCC* 25973**	NI	NI	NI	NI	27
***Staphylococcus aureus* ATCC 25932**	NI	NI	NI	NI	20
Candida albicans ATCC 10231	13	NI	NI	NI	/

NI = لا يوجد تثبيط، CN = أقراص الجنتاميسين 30 (CN)ميكروغرام.

من خلال الجدول (14) نلاحظ ان مستخلص الماء+ايثانول أعطت قيم تثبيطية متوسط مع البعض سلالات البكتيرية المختبرة ولم يعطي أي تثبيط مع البعض الاخر

حيث

عند Escherichia coli ATCC 25922: نلاحظ عند التركيزين الاولين 120mg/mlو60mg/ml أعطت قيم تثبيطية متوسطة يقدر قطرهما 14 و7 على التوالي وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

عند Candida albicans ATCC 10231: نلاحظ عند تركيز 120mg/mlيقدر قدرها متوسط 8 وغير تثبيطية عند التراكيز الأخرى.

اما بالنسبة للبكتيريا الأخرى لم تظهر اقطار تثبيطية عند مختلف التراكيز.

الخاتمة

يندرج هذا العمل في إطار تثمين نبات الحسك Tribulus terrestris L حيث كان هدفنا من خلال هذا العمل هو استخلاص وتقدير الفعالية البيولوجية لأوراق نبات الحسك، فنبات الحسك ينتمي إلى العائلة الرطراطية،

يتميز بأنه نبتة معمرة، له العديد من الاستخدامات في الطب الشعبي والحديث لما يحتويه من مواد فعالة. النتائج المتحصل عليها أظهرت ما يلي:

- أن نبات الحسك هو مصدر طبيعي غني بالمواد الفعالة لديه أهمية كبيرة في المجالات الطبية، الصناعية، الغذائية، جدير للاهتمام لكثرة استعماله في الطب التقليدي.
- أن مستخلص النبات غني بعديدات الفينول الفلافونيدات.
- نبات الحسك ذو أهمية حيوية لكونه غني بالمواد الفعالة ويستدل على ذالك من خلال نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية.
- أن مردود المستخلص المائي لنبات الحسك أكبر من مردود المستخلص الايثانولي ومن مستخلص ماء+ايثانول.
- تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستعمال اختبار DPPH واختبار FRAP حيث كانت نسبة ايثانول صغيرة بمقارنة مع مستخلص مائي ومستخلص الايثانولي هذا بالنسبة اختبار DPPH وبالنسبة الى اختبار FRAP كان مستخلص ماء+ايثانول له فعالية أكثر بمقارنة من نستخلص مائي ومستخلص الايثانولي.
- تم دراسة الفعالية البيولوجية المضادة للبكتيريا حيث ثم اختبار أربع سلالات من البكتيريا عند تراكيز مختلفة حيث في مستخلص الايثانولي ظهور نواع واحد من البكتيريا وعند تركزين فقط وعند مستخلصين الايثانولي ماء+ايثانول ومستخلص مائي ظهور نوعين من البكتيريا عند تركيزين فقط.
- نتمنى أن نكون قد وفقنا في انجاز هذا البحث والمساهمة في إثراء الرصيد البحثي ونأمل في لأخير مواصلة هذا العمل وإجراء دراسات إضافية عليه.

قائمة المصادر والمراجع

اللغة العربية

[1] شكري ب، س -، 1994النباتات الزهرية، دار الفكر العربي الإسكندرية، ص:446

[2] بن مرعاش عباس، دراسة نواتج الايض الثانوية الفلافونيدي والفعالية المضادة الأكسدة للنبتة جامعة، ماجستير مذكرة .Convolvulus supinus Coss. & karal Convolvulaceae منتوري قسنطينة ,2012. ص91.

[3] علي ح.، 1987-علم تصنيف النبات. طبعة مشابهة للطبعة الأولى، حقوق الطبع فقط محفوظة

لجامعة بغداد، 379ص.

[4] عبد الفتاح ب-،2006-تصنيف النباتات الطبية النظرية والعلمية، الطبعة الأولى، دار البداية للنشر، الأردن، ص430

[5] شكري ا،1994-النباتات الزهرية نشأتها ،تطورها ،تصنيفها ،دار الفكر العربي ،القاهرة ،ص619

[9] -المنظمة العربية للتنمية الزراعية.، 1988-النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. الخرطوم، ص477

[10] المركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة- اكساد، أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي، القسم: علم الاحياء /النبات /النباتات الطبية ،2021

[11] محمد احمد ع.، 1997-النباتات السعودية المستعملة في الطب الشعبي. إدارة البحث العلمي،

مرتبة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية، الرياض، ص354

[21] دكتور سليم طلال الاغبري العلاج الامراض الأعشاب الطبية ،2022

[22] إبراهيم نحال (2009). معجم نحال في الأسماء العلمية للنباتات: لاتيني - عربي (دراسة نباتية لغوية بيئية وتاريخية) مع مسارد ألفبائية (بالعربية واللاتينية) (ط. 1). بيروت: مكتبة لبنان ناشرون. .ISBN:978-9953-86-550-8
QID:.OCLC:1110134190. OL:45257084M.: Q115858440

[29] آمنة تامة، نصيرة بن عمارة،2017، دراسة بيولوجية و فيتو كيميائية لنبات الحسك Tribulus terrestris L، مذكرة لنيل شهادة الماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، كلية علوم الطبيعة والحياة ،قسم البيولوجيا،تخصص التنوع البيئي و فزيولوجيا النبات ص 17.

[31] ك.البار و ا. نوحة 2020 "دراسة استقصائية في الفصل الكروماتوغرافية لمستخلصات نبات

العضيد، ونمذجة اهم المركبات الفعالة وحساب شروط استقرارها وخصائص ال QSAR" مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، قسم كيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

[33] طاهر ح ،. 9002 - كيمياء المنتجات الطبيعية. الجزاء النظري. منشورات جامعة البعث كلية العلوم. ص319.

[34] أبو زيد 2005 فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية.

دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع. القاهرة ص496.

[35] حوة إ., دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة, مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح: ورقلة ,2013. ص 7.

[36] الحازمي ح 1995 - المنتجات الطبيعية. مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية - 25, 120 ص

[38] سعيد ز م, الكيمياء و أثارها في دراسة النباتات الطبية, مجلة العلوم والتكنولوجية, معهد الكويت لأبحاث العلمية، الكويت ,2001.

[39] شبوعات ياقوت, دراسة القلويدات في شجرة السدر (zizyphus mauritiana,) مذكرة ماجستير, ورقلة قاصدي مرباح ,2003 , ص 9-11- 23.

[40] زمالي جعفر, دراسة فيتو كيميائية وبيولوجية لنبتة الصحراوية, Solanum Nigrum "

مذكرة الماجستير، ورقلة: جامعة قاصدي مرباح، 2007.ص 41-16.

[41] تامة نور الدين, الدراسة الفيتو كيميائية للمنتوجات الفعالة والنشاط المضاد لأكسدة والمضاد للميكروبات لنبات الباقل والحمير الذي ينمو في جنوب شرق الج ازئر، مذكرة دكتورة علوم، جامعة العربي بن التمهيدي، ام البواقي :2018, ص 68.

[42] العابد إبراهيم, دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة لأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum, مذكرة ماجيستير، جامعة قاصدي مرباح: ورقلة,2009.

[43] بوديار طارق, فصل وتحديد نواتج أأليض الثانوي ود ارسة الفعالية المضادة لأكسدة لنبتة

Euphorbia guyoniana. مذكرة ماجستير. قسنطينة: جامعة منتوري, 2008 , ص22.

[44] علاوي مسعودة, الدراسة الفتو كيمائية ئ والتقييم المكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعمالن في الطب التقليدي الصح اروي (Haloxylon scoparium Pomel (Remth. :(Traganum nudatum (Thamran. رسالة دكتوراه. ورقلة: جامعة قاصدي

مرباح,2015,ص 4.

[46] عاشوري أمال, فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي pulicaria crispa, مذكرة

ماجستير، قسنطينة: جامعة منتوري ,2004, ص [29;21]

[47] ح.م. محسن، محمود علي2006"الفلافونويدات وخواصها الدوائية" مجلة العلوم الطبية والصيدلانية-مجلة العلوم العربية للعلوم ونشر الابحاث.

[48] غيابة زينب, در اسة تحليلية للبيدات وفينوالت ومكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية. رسالة دكتوراه. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح, 2015, ص40.

[50] بن مرعاش عباس, دراسة نواتج الايض الثانوية الفلافونيدي والفعالية المضادة الأكسدة للنبتة

جامعة، ماجستير مذكرة(Convolvulus supinus Coss. & karal. (Convolvulaceae))

منتوري قسنطينة ,2012. ص91.

[54] آمال بن بوحا، مطبوعة من دروس: الجزيئات الحيوية عند حقيقيات النواة، جامعة أم البواقي،2017.

[56]مخلوفي الهاني، دراسة فيتو كيميائية لنوعين من النباتات الطبية ذات الأصل الجزائري من العائلة الخيمية مع دراسة فعاليتها البيولوجية (Reutera lutea (Apiaceae و Doucus aureus ، أطروحة دكتوراه ،قسنطينة ،جامعة قسنطينة1- 2004.

[58] مجيد نخيلاع. 2009.الفطريات. ط1. دار دجلة. الاردن. ص325.

[59] شحادة خضر والزليطي خليفة. 2001.علم النباتات لطلبة الثانوية العامة وثانويات العلوم الاساسية ومعاهد المعلمين. ص28.29

[60] مدلل ابتسام وآخرون. 2022/2021.التعايش بين النباتات الفصلية القرنية والبكتيريا المثبتة للأوزون الهوائي دراسة حالة نبات الفول. دراسة مقارنة ومراجعة. جامعة الوادي. ص31.32.

[61] علي أمين ياسين. 2021.محاضرات أحياء الأغذية المجهرية. كلية الزراعة. قسم علوم الأغذية. العراق. ص1.

[62]جاسم محمود. 2020.محاضرات مبادئ علم الاحياء المجهرية. كلية الزراعة. قسم التربية والموارد المائية. العراق. ص2.

[63] قرح لويزة ومسعي بلقاسم كنزة. 2021/2020.أثر فطريات معززة النمو على نمو نبتة الفول. مذكرة ماستر. جامعة الوادي. ص 8.9.

[64] محمد عبد الله. 2003.الفطريات الفيسيولوجية. التكاثر وعلاقتها بالبيئة والانسان. ج2. ط1. الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة. ص17.

[65] حوة ابراهيم. 2013.دراسة فعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة ماستر. جامعة ورقلة. ص37.

[67] عزري خضرة. 2013/2012.دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي. مذكرة ماستر. جامعة ورقلة. ص123.

[68]سعيد المظفر. 1981.الكيمياء الحياتية. ج2. ط1. فرنسا. ص23.25.

[69] علي الفغولي. 2002.الاسس الإلكترونية لميكانيكيات التفاعلات العضوية. ط1. دار الفجر للنشر والتوزيع. عمان. ص80.

[70] بن قولي ذكرة وبوقرة رحمة. 2026/2022.دراسة التأثيرات المضادة للأكسدة العسل اللبنية أحادي الازهار. مذكرة ماستر. جامعة الوادي. ص33.40.

[71] بن قولي ذكرة وبوقرة رحمة. دراسة التأثيرات المضادة للأكسدة العسل اللبنية أحادي الازهار. نفس المرجع. ص41.

[72] بونقاب سارة وبوزيان جمعة. 2022/2021.دراسة نجاعة قياس الفاعلية لمضادات الأكسدة بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية لمستخلصات كيميائيّة مذكرة ماستر. جامعة ورقلة. ص11.

[73] بونقاب سارة وبوزيان جمعة. 2022/2021.دراسة نجاعة قياس الفاعلية لمضادات الأكسدة بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية لمستخلصات كيميائيّة. نفس المرجع ص11.

[74]علاوي محمد. 2015.دراسة الكيمياء النباتية والتقييم الميكرو بيولوجي لإثنين من النباتات تشينو بوديكا المستخدمة في الطب الصحراوي التقليدي. مذكرة دكتوراة. جامعة ورقلة. ص23.

[75] إراتني نجاة. 2008.دراسة التأثير المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة. مذكرة ماستر. جامعة سطيف. ص33.

[76]عاد منى وحوري مسعودة. 2020/2019.تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لنبات helianithemun lippv(l). pers.مذكرة ماستر. جامعة الوادي. ص26.

[77] مضادات الأكسدة الطبيعية. .http//: hpure hpu. Sy10/8/2019

[78]رضوان صدقي فرج. 1991.كيمياءالبيبيدات. دك. مركز النشر جامعة القاهرة. مصر. ص107.

[79] بنغين عبد الغني النسر. 2013.دور مضادات الأكسدة وعلاقتها بالصحة العامة. مجلة أسيوط للدراسات البيئية. العدد38.مصر. ص97.98.

[80] ربيعي عبد الكريم، "المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بربوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية،" مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،2010.

[86] نعمه ج, أبو مجددا, جبر م.، 2007-تقيم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدرZiziphus *spina- Christi* (L) Deaf .مجلة البصرة للعلوم (ب)، مجلد (25) ،العدد(1) ،1-16.

[96] العابد ا.،2009-دراسة الفالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*. مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،105ص

[97] عميرة إ.، 2005-علم العقاقير الطبية النظرية والعملية, الطبعة الاولى، دار البداية للنشر،

الاردن، 364ص

[103]ع. أ. بن سلامة, "النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia ", Cheirifolia L مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء, . جامعة فرحات عباس. سطيف. الجزائر90 .ص201. ,

اللغة الأجنبية

[6] Quzel P, Santa S., 1963- Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales. Ed. C.N.R.S. Paris. 1170p.

[7]Elise J.,2002 - contribution a l'étude *tribulus terrestris*. Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Universite henri poincare, nancy, 79p.

[8]Ghédira K., Goetz P,. 2016 - *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae). Matière médicale. Phytothérapie, (14). 258-263p.

[12] Elise J.,2002 - contribution a l'étude *tribulus terrestris*. Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Universite henri poincare, nancy, 79p.

[13]Atheer K., Al-Rubii M., 2005- Effect of *Tribulus terrestris* L Extract on Prostatic and Testicular Functions of Castrated Rabbits M. Sc Degree in

[14]Bill S., Barry J., Johnson A.,Caffery A.,Birgitte V.,2009 - Tribulus:

Caltrop and yellow vine. p6.

[15]Ramawat K. G.,2010- Desert Plants Biology and Biotechnology. Ed,

Springer Heidelberg Dordrecht, London New York.497p.

[16] ScottJ, Ms. S. M. Morrison. 1994- Project CSE 1 Identification of

species and the origin of Tribulus found in areas of dried vine fruit
production, CSIRO Division of Entomology Western Australia, p90.

[17]Jalpa R., Pooja M., Sumitra Ch.,2015- Phytochemical screening and

reported biological activities of some medicinal plants of Gujarat region.

Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, vol .4(2). 192-198p.

[18] Raja M., Venkataraman R., 2011- Pharmacognostical studies on *TribulusTerrestris* and *Tribulus Alatus*. Der Pharmacia Sinica, vol. 2. (4):136-*139p.*

30] MOHAMMEDI Z, Etude phytochimique et activités biologiques de [

l'algérie. Thèse doctorat. Tlemcen : Université Abou Bekr

Belkaid,2013, 170 p.

[32] ATTOU A., 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Ruta chalepeusis (fidjel de la region d'ain témouchent). Mémoire de magister. Université Aboubekr elkaid Tlemcen. 119p.

[37] MAURO NM., 2006 - Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+) - anatoxine-a et la (±) camptothécine. Thèse doctorat, Université Joseph fourier. 195p.

ZERROUKI. N, Contribution à l'étude phytochimique de la plante [45]

Tetraclinis articulata.Activité biologique et biochimique de la plante

Tetraclinis articulata. Mémoire de Magister. Oran : Université d'Oran,

2009 18-17 ,p

[49] ATHMENA.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

[50] El Hazimi; H ,Les produits Naturelles. Université du Roi Saoud, Djada

.1995, [51] youngsheng chen, phytovhemical profiling, antioxidant and HepG2 cancer cells antiproliferation [52] potential in the kernels of apricot cultivars, journal of biological science, 2020, vol27, pp.163-172.

[53] Got.N, L'Abricotier, 3ème edition, La maison rustique, Paris,

1958

[55] Wilfred Vermerris and Ralph Nicholson,Phenolic compound Biochemistry, springer USA,2006.

[57] Alan Crozier, plant secondary Metabolites (Occurrence,structure and role in the human

diet),Blackwell Publishing Ltd,2006

[66] favier A. 2006.stress oxydant et pathologies humains. Annales pharmaceutiques français. 64(6)، 390-396http//: doi.org/10.10.16. S003-4509(06)75334-2.

[81] REBIAI A., LANEZ T., BELFAR M., 2014- Total polyphénols contents,radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis.Academic science. 6:396-400.

[82] N. H. Boukri, "Contribution à l’étude phytochimique des extraits bruts des épicescontenus dans le mélange Ras-el-hanout," Thème Master Academique, Université Kasdi Merbah Ouargla, 2014.

[83] Azzi R.,2013 - Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dansle -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéteethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de figuire

Ficus carica et de coloquinte(*Citrullus colocynthis*) chez le rat wister.these

doctrorat en biologie , Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,169p

[84] Trease E., Evans W., 1987- A textbook of Pharmacognosy Bacilluere

Tinal Ltd, London. 13 th Edition. 62P.

[85] - Kissoum A., Khalfaoui K. (2015). Evaluation phytochimique et étude des activitésbiologiquesd'une plante médicinale Algérienn (Foeniculumvulgare). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplômede Maste.34-35p

[87] S. Asadi. e. al, "In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six Salvia species from Iran: a comparative study," Food and chemical toxicology, vol. 48(5), pp. 1341-1349, 2010.

[88] J. Ito. et al, "Anti-AIDS agents. 48. 1 Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferonerelated triterpenoid isolated from Brazilian propolis," Journal of Natural Products, vol. 64(10), pp. 1278- 1281, 2001

[89] J. Zhishen. et. al, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals," *Food chemistry*, vol. 64(4), pp. 555-559, 1999.

[90] V. Bondet, Brand-Williams, W., &Berset, C, " Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. ," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 30(6), pp. 609-615, 1997.

[91] S. Dudonne, Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., &Mérillon, J. M, "Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using

DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57(5)، pp. 1768.2009 ,1774−

[92] Bauer, A., et al., turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology, 1966. 45(4): p. 493.

[93] Bauer, A.W., D.M. Perry, and W.M. Kirby, Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci. Journal of the American Medical Association, 1960. 173(5): p. 475-480.

[94] Raja M., Venkataraman R., 2011- Pharmacognostical studies on *Tribulus Terrestris* and *Tribulus Alatus*. Der Pharmacia Sinica, vol. 2. (4): 136-139p.

[95] El-Shaibany A., AL-Habori M., Al-Tahami B, Al- Massarani S,.2015-

Anti-hyperglycaemic Activity of *Tribulus terrestris*L Aerial Part Extract

in Glucose-loaded Normal Rabbits, Tropical Journal of Pharmaceutical

Research, vol.14 (12), 2263-2268p.

[98] Mishra R., Singh Bishts., 2012- Characterization of few medicinal plants

from southern orissa for their free radical scavenging property.

International Journal of Pharma and Bio Sciences.vol.3(4). 669 – 675.

[99] Atmani D., CHaher N., Berboucha M., Ayouni k., Lounis H., Boudaoud

H., Debbache N.,2009 - Antioxidant capacity and phenol content of

selected Algerian medicinal plants. Food Chem, 112: 303-309.

[100] Cai W., Gu X., Tang J., 2010 - Extraction, Purification, and

Characterisation of the Flavonoids from *Opuntia milpa alta* Skin. Czech

J, Food, Sci. 28 (2): 108–116.

[101] Khoddami A., Wilkes MA., Roberts TH., 2013-Techniques for Analysis

of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*,18: 2328-2375

[102] M. DEBOUBA. et. al, "Antioxidant capacity and total phenols richness of Cistancheviolacea hosting Zygophyllum album," International Journal of Phytomedicine, vol.4(3), pp. 399-402, 2012.