رقم التسلسل:

رقم الترتيب:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة علوم بيولوجية

تخصص: التنوع البيئي و فزيولوجيا النبات

الموضوع

دراسة بيولوجية و فيتوكيميائية لنبات الحسك

Tribulus terrestris L.

من إعداد:

- **آمنة تامة**
- **نصيرة بن عمارة**

نوقشت يوم 31/ 05 /2017 من طرف لجنة المناقشة:

بن قدور مونية	أستاذ مساعد(أ)	رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
خراز خالد	أستاذ مساعد(أ)	مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
قادري منيرة	أستاذ مساعد(أ)	ممتحنا	جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

الموسم الجامعي: 2016-2017

بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقدير

نحمد الله العلي القدير حمدا كثيرا الذي أعاننا على انجاز هذا العمل وألهمنا صبرا وأعطانا قوة

نتقدم بأتم وأصدق عبارات الشكر و العرفان و الاحترام إلى الأستاذ خراز خالد الذي أشرف على انجاز هذا العمل ولم يبخل علينا بنصائحه القيمة وتوجيهاته السديدة

وكذلك احترامنا و تشكراتنا للأستاذة بن قدور مونية و قادري منيرة على قبولهما مناقشة هذه المذكرة ، وتشريفهما لنا وإثراء هذا العمل بوجودهما.

نتقدم بالشكر الوافر والامتنان غير المنقطع للأستاذ ربيعي عبد الكريم و طليبة علي مسؤول مخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي على ماقدّموه لنا من مساعدات قيمة،كما نشكرهم على المعاملة الطيبة التي حضينا بها من شخصهم.

والشكر موصول لعمال مخبر البيولوجيا على ما قدموه لنا من مساعدة وتسهيلات

كما علينا دائما أن نشكر ونقدر من قدموا لنا المساعدة ومدو لنا يد العون عند حاجتنا عائلة رشدان و غميمه أحمد الذين ساعدونا في جمع العينات النباتية.

لا يفوتنا أن نتقدم بخالص شكرنا إلى أساتذتنا الكرام الذين ساهموا في تكويننا خلال مسارنا الجامعي،

دون أن ننسى طلبة دفعة ماستر التنوع البيئي و فيزيولوجيا النبات 2017

كما نشكر الوالدين الكريمين على دعمهما المعنوي فجزاهما الله كل خير .

شكرا لكل من ساعدنا ولو بكلمة طيبة

قائمة الإختصارات

PPT Polyphénols total

FV Flavonoïdes

BHA Butylated hydroxylanisole

BHT Butyl hdroxyanisole

AlCl3 Aluminium chloride

AG E/g Acide Gallique Equivalent par Gramme

QU E/g Quercitine Equivalent par Gramme

DPPH• Radical 2,2-Diphényl-1 Picrylhydrazyle

IC_{50} Inihibion Concentration 50%.

HPLC Heigh Performance Liquid Chromatografie.

Ret. Temps retention temps

Eth Ethanolique
Aq Aqueuse
AA% Absorbation Activité
Mg Milligramme
Ml Millilitre
g Gramme
% pourcentage

الملخص

الملخص

الملخص

بغية تثمين النباتات الطبية بالمنطقة، عمدنا إلى دراسة فيتوكيميائية و تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحسكL *Tribulus terrestris*.

بعد عملية الاستخلاص قدر مردود المستخلص المائي بـ 12.53% والمستخلص الايثانولي بـ 5.2%. أظهرت نتائج الكشف الكيميائي تبين تواجد جل المواد الفعالة، ومن خلال التقدير الكمي للفينولات الكلية و الفلافونويدات للمستخلصين أظهرت النتائج احتوائهما على كمية كبيرة من هاته المركبات، حيث كانت أعلى كمية عند المستخلص الايثانولي التي قدرت بـ 0.102 mg AG E/g ± 117.61 أما عند المستخلص المائي فكانت 0.063 mg AG E/g ± 71.05 وهذا بالنسبة للمركبات الفينولية، أما بالنسبة للفلافونويدات احتوى المستخلص الايثانولي كمية قدرها 0.085 mg QU E/g ± 81.19، وعند المستخلص المائي 0.083 mg QU E/g ± 26.18.

وعلى ضوء نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصين فكانت فعالية المستخلص الايثانولي هي المثلى بقيمة IC_{50} مساوية لـ 0.019 mg/ml و بـ 0.023 mg/ml للمستخلص المائي.

أما فيما يخص التحليل النوعي للمركبات الفينولية لكلا المستخلصين باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) أظهر تواجد حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكرستين، الفانلين، الروتين، النارجنين و الفانليك أ و الكومارين في المستخلصين لكن بتراكيز متفاوتة.

الكلمات المفتاحية: نبات الحسك *Tribulus terrestris* L، المستخلص الايثانولي، المستخلص المائي، عديدات الفينول، الفلافونيدات، النشاطية المضادة للأكسدة، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

abstract

For the valorization of medicinal plants in the El Oued region, we conducted a phytochemical study and estimated the antioxidant capacity of the plant *Tribulus terrestris* L. After the extraction processes, the yield of the aqueous extract is 12.53% and the ethanolic extract is 5.2%. The results show that the total phenols were estimated to be 117.61 ± 0.102 mg AGE / g and 71.05 ± 0.063 mg AGE / g for the ethanol extract and the aqueous extract successively. For flavonoids, the ethanolic extract contains 81.19 ± 0.085 mg QU E / g and the aqueous extract is 26.18 ± 0.083 mg QU E / g.

For the antioxidant effect, the results show a preferable efficacy of the ethanol extract IC50 is 0.019 mg / ml and for the aqueous extract IC_{50} is 0.023 mg / ml. Concerning the qualitative analysis of phenolic compounds for both extracts using high performance liquid chromatography (HPLC) has been demonstrated that the presence of gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, quercetin, vanillin, Rutin, naringin, vanillic acid and comarin in both extracts with different concentrations.

Keywords: *TrIbulus terrestris* L, ethanolic extract, aqueous extract, phenol et flavonoids, antioxidant activity, HPLC.

الفهرس

الفهرس

فهرس الجداول	
فهرس الوثائق	
فهرس الأشكال	
قائمة الاختصارات	
المقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: الدراســـــة النباتيـــــــة	
I-1- العائلة الرطراطية Zygophyllacea	06
I-1-1- الوصف النباتي للعائلة الرطراطية Zygophyllacea	06
I-1-2- الجنس Tribulus	06
I-2- نبات الحسك *Tribulus terrestris* L	06
I-2-1- تسمية النبات	06
I-2-2- الوصف المورفولوجي العام لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.	07
I-2- 3-النمو و الإزهار	10
I-2-4- التوزيع الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L في العالم	10
I-2-5- التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	11
I-2-6- التركيب الكيميائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	11
I-2-7- الاستعمالات العلاجية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	12
I-2-8- الأهمية الاقتصادية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	13
I-2-9- الأهمية الغذائية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	13
I-2-10- الدراسات السابقة لنبات الحسك	14
I-2-11- التأثيرات السامة لنبات الحسك	15
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي	
II- مدخل	17
II-1- منتجات الأيض الثانوي	17
II -1-1- المركبات الفينولية	17
II-1-1-1- الفلافونويدات Les Flavonoide	18

II-1-1-2- التانينات Les Tanins	19
II-1-2- الزيوت الطيارة Les Huiles Essentielles	20
II-1-3- التربينات les terpènes	20
II-1-4- القلويدات Les Alcaloïdes	21
II-1-5- الصابونوزيدات	22
II-1-6- الجليكوزيدات les glycosides	22
الفصل الثالث: الفعالية المضادة للأكسدة	
III- الجذور الحرة	24
III-1-1- تعريف الجذر الحر	24
III-1-2- أنواع الجذور الحرة	24
III-1-3- طرق تفاعلات الجذور الحرة	25
III-1-4- مصادر الجذور الحرة	26
III-1-5- أضرار الجذور الحرة	26
III-2- مضادات الأكسدة	26
III-2-1- تعريف مضادات الأكسدة	26
III-2-2- مضادات الأكسدة الطبيعية	27
III-2-3- مضادات الأكسدة المصنعة	27
III-2-4- آلية عمل مضادات الأكسدة	28
III-2-5- طرق تقدير النشاطية المضادة للأكسدة	28
III-3- الإجهاد التأكسدي	30
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: مواد وطرق الدراسة	
I- تقديم منطقة الدراسة	33
II- المواد و الطرق	33
II-1- المادة النباتية	33
II-2- تحضير المستخلص المائي و الايثانولي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L	34
II-3- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	35
II-4- التقدير الكمي للمركبات الفينولية	36

II-1-4- تقدير الفينولات الكلية Dosage des Polyphénols Totaux (PPT)	36
II-2-4- تقدير الفلافونويدات الكلية Dosage des Flavonoïde(FV)	36
II-5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	37
II-1-5- اختبار DPPH	37
II-6- التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	38
II-7- الدراسة التشريحية	39
II-1-7- الدراسة التشريحية للأزهار والثمار	39
II-2-7- الدراسة التشريحية للأوراق	39
II-3-7- تحضير المقاطع النباتية للساق والجذر	39
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
I- النتائج والمناقشة	41
I-1- حساب المرود لمستخلصات النبات	41
I-2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	42
II-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية	45
II-1-3- التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)	45
I-2-3- التقدير الكمي للفلافونويدات (FV)	46
I-4- تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة	47
I-1-4- تحديد مقدار IC_{50}	49
I-5- تحديد بعض المركبات الفينولية لمستخلصي النبات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	51
I-6- الدراسة التشريحية للنبات	52
I-1-6- الدراسة التشريحية للأزهار	55
I-2-6- الدراسة التشريحية للثمار	55
I-3-6- الدراسة التشريحية للساق	56
I-4-6- الدراسة التشريحية للورقة	58
I-5-6- الدراسة التشريحية للجذر	60
الخاتمة	64

المراجع	
الملحق	

فهرس الوثـــــائق

الرقم	عنوان الوثيقة	الصفحة
01	أوراق نبات الحسك Tribulus terrestris L	07
02	أزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L	07
03	ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L	08
04	بذور نبات الحسك *Tribulus terrestris* L	08
05	ساق نبات الحسك *Tribulus terrestris* L	09
06	جذر نبات الحسك *Tribulus terrestris L*	09
07	التوزيع الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L في العالم	10
08	أقسام المركبات الفينولية	17
09	الهيكل العام للفلافونويدات	18
10	أقسام الفلافونويدات	18
11	التركيب الكيميائي للمركبات المكونة للتانينات المتحللة والمتراكمة	19
12	وحدة الايزوبرين	20
13	بعض مضادات الأكسدة المصنعة	27
14	الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$	28
15	تحول الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي	29
16	الموقع الجغرافي لبلدية حاسي خليفة	33
17	تجفيف الأوراق	34
18	طحن الأوراق	34
19	مخطط يوضح مراحل تحضير المستخلص المائي و الايثانولي	34
20	تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابت DPPH	37
21	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء HPLC	38
22	نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلص المائي	47
23	نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلص الايثانولي	47
24	أزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي	55
25	ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي	55
26	مقطع عرضي لثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي	56

27	مقطع عرضي للساق تحت المجهر الضوئي بتكبير 10*10.	57
28	الحزم الوعائية في الساق بتكبير 40*10.	57
29	مقطع عرضي للأوراق بتكبير 40*10.	58
30	البشرة العليا للورقة بتكبير 40*10.	59
31	البشرة السفلى للورقة بتكبير 40*10.	59
32	مقطع عرضي للجذر بتكبير 10*10.	60

فهرس الأشكـــــــــــــال

الرقم	عنوان الشكل	الصفحة
01	01 | مردود المستخلص المائي و الايثانولي لأوراق نبات الحسك *Tribulus terrestris* L.	41
02	0 | كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي و الايثانولي لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من وزن المستخلص الجاف.	45
03	03 | كمية الفلافونويدات في المستخلصرلمائي و الايثانولي لنبات الحسك بالملغ مكافئ للكرستين /غ من وزن المستخلص الجاف.	46
04	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز (mg/ml) للمستخلص الايثانولي.	48
05	نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز (mg/ml) للمستخلص المائي.	48
06	قيم الـ IC_{50} لكل من المستخلص الايثانولي والمائي وحمض الأسكوربيك.	49
08	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الايثانولي.	52
09	المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص المائي.	52
10	مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين.	53

فهرس الجـــــــداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
01	التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.	11
02	التركيب الكيمائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.	12
03	أقسام التربينات.	20
04	الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي أوراق نبات الحسك.	42
05	النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك.	43
06	**06** قيم IC_{50} المتحصل عليها لكل من المستخلص المائي و الإيثانولي وحمض الأسكوربيك.	49
07	المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين.	51
08	تراكيز المركبات الفينولية المعروفة في المستخلصين لنبات الحسك بالملغ/غ من كل مستخلص.	54

المقدمة

مقدمـــــــــة

مند القدم وحتى الآن تمتد العلاقة بين الإنسان والكائنات الحية الأخرى، فالكثير من النباتات المحيطة به والتباين الكبير لهاته النباتات ولد لديه القدرة على تمييز تلك الصالحة للأكل أو تلك التي يستعملها كوقود، و النباتات الطبية من السامة (بن مرعاش.،2012).

فبالرغم من وجود ما يزيد عن 800000 فصيلة من النباتات التي تنمو على سطح الأرض القليل منها هو الذي يعرفه الإنسان (زيدي.،2012)، وهذا ما جعل النباتات تخضع لتصنيفات عديدة وذلك عن طريق الوسائل الحديثة والتقسيم النباتي، قصد التعرف عليها مورفولوجيا وتشريحيا لتحديد أجناسها و أنواعها و أصنافها (زيدي.،2012)، حيث أمكن التعرف على حوالي 450 جنسا نباتيا محتوية على 2500 نوعا و 15000 صنفا مختلف في تركيبه الكيميائي ومتباين في شكله المورفولوجي ونموه الطبيعي (حوة.،2013)، ومن بين هاته الأصناف النباتات الطبية والعطرية التي تمثل حوالي 25 % من المجموع الكلي للمملكة النباتية النامية على سطح المعمورة (بطيحي.،2014).

باعتبار النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان، ازداد الاهتمام بدراستها في العصر الحالي، بل يمكن الجزم على حصول ثورة الطب البديل أو ما يصطلح عليه بالطب الموازي، إذ تسارعت الأبحاث في تحديد المكونات الفعالة لدى هذه النباتات لكشف تأثيرها الطبي من جهة وقيمتها في الصناعات الغذائية (علاوي.،2003) ومن جهة أخرى إلى استبدال الأدوية الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية الجسيمة على الجسم بمستخلصات نباتية و بأقل ضرر (بطيحي.،2014).

فالنباتات في الواقع هي صيدلية كاملة بما تحتويه من مئات إن لم يكن آلاف من المواد الفعالة، حيث تتفاعل بطرق معقدة يمكن للجسم البشر;التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية (علاوي.،2015).

بذلك جاءت توصيات المؤتمرات الطبية والصيدلانية المنعقدة في السنوات الأخيرة لتنادي بالعودة إلى النباتات الطبية و الاهتمام بها وجعلها في خدمة الصحة بطريقة علمية وذلك بتطبيق أسس علمية ثابتة، أين تلعب الكيمياء النباتية دورا حيويا في استخلاص المواد أو العناصر الفعالة من النبتة وهذا باستعمال طرق مختلفة ثم يأتي الدور البيولوجي لإجراء التجارب البيولوجية (بن عربية.،2013)

تمتلك الجزائر ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية (علاوي.،2003)، وهي تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة، وفي بيئات مناخية مختلفة في السواحل والوديان والهضاب والمرتفعات الجبلية والصحاري وفي الحقول الزراعية وغيرها، منها ما هي موسميه تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة والشجيرات (بن مرعاش.،2012).

لتقييم هذه الثروة النباتية وقع اختيارنا على نباتL *Tribulus terrestris* لذي يعرف شعبيا بالحسك وهو ينتمي للعائلة الرطراطية Zygophyllacea، وذلك لكونه لم يأخذ نصيبه الوافر من الدراسات بالمنطقة.

من خلال إشكالية يدور حولها مجهودنا العلمي في هذه الدراسة نعبر عنها بطرح التساؤل التالي:هل الدراسة الفيتوكميائية لنبات L *Tribulus terrestris* والفصل الكروماتوغرافي لمستخلصاته المائية و الإيثانولية يكشف عن مواد فعالة تجعل هذا النبات ذو أهمية حيوية طبيا؟ وهل له القدرة على كبح الجذور الحرة ؟

من اجل إثراء مكتبة النباتات الطبية وإجابة عن هذا التساؤل قمنا بدراسة مستفيضة حول هذا النبات، حيث تمت هندسة هذا البحث وفق المخطط التالي:

الجزء الأول : وهو الجانب النظري ويتكون من ثلاثة فصول

ففي الفصل الأول:عرفنا وثنينا على ذلك بتقديم النوع النباتي المختار من الناحية الوصفية،التصنيفية وغيرها.

الفصل الثاني:استعرضنا فيه دراسة مركبات الأيض الثانوي وذكر أهم أقسامها وبعض خواصها وتأثيراتها البيولوجية.

الفصل الثالث:خصصناه للجذور الحرة، التعريف بها وأنواعها وطرق تفاعلاتها،و كذلك المواد المضادة للأكسدة وآلية عملها ومصادرها.

الجزء الثاني : وهو الجانب العملي حيث تضمن فصلين ففي الفصل الأول تعرفنا على المنطقة المدروسة والطرق العملية التي أنجزناها في هذا البحث والمتمثلة في المسح الفيتوكيميائي للنبات وكذا التقدير الكمي لمركباته الفينولية و الفلافونيدية وتحديد مدى فعاليته المضادة للأكسدة لمستخلصاته المائية و الإيثانولية، كما قمنا بملاحظة الأزهار والثمار والمقطع العرضي للثمار تحت المكبر الضوئي.وإنجاز مقاطع عرضية في الساق والورقة والجذر والقيام بعملية التلوين ثم فحص العينات بالمجهر الضوئي وأخذ صور فوتوغرافية لها.

و أنهينا الجانب العملي في الفصل الثاني بمجمل النتائج العملية المتحصل عليها ومناقشتها مع نتائج بحوث أخرى والتطلعات المستقبلية للنبات.

الجزء النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية

I-1- العائلة الرطراطية Zygophyllacea

I-1-1- الوصف النباتي للعائلة الرطراطية Zygophyllacea

تعتبر العائلة الرطراطية من أهم النباتات التي تنتمي إلى طائفة ثنائيات الفلقة، و تتضمن هذه العائلة حوالي 27 جنسا من بينها: Tribulus, Zygophyllum, Fagonia, Balanites بما لا يقل عن 285 نوع منتشرة في أنحاء العالم (علي.، 1987).

معظم أنواع هذه العائلة حولية وتكون نباتاتها عبارة عن أعشاب أو شجيرات ونادرا ما تكون أشجار، وتتميز النباتات العشبية منها بأنها ذات أوراق مركبة متقابلة بها أذينات قد تكون عصيرية كما في الرطراط أو لحمية، الأزهار خنثى منتظمة سفلية بها كأس مكون من خمس سبلات سائبة و التويج يتكون من خمس بتلات سائبة أو ملتحمة و ذات طلع مكون من 5-15 سداة تكون في محيط أو محيطين أو ثلاثة، ويتكون المتاع من 2-6 كرابل ملتحمة ويوجد أسفل المبيض قرص غدي ويكون عدد غرف المبيض مساوي لعدد الكرابل و يوجد بكل غرفة بويضتان أو أكثر في وضع محوري و يعلو المبيض قلم ينتهي بميسم واحد والثمرة لهذه العائلة عبارة عن علبة تنفتح مسكنيا أو حاجزيا (عبد الفتاح.،2006).

تنتشر نباتات العائلة الرطراطية بشكل عام في المناطق الاستوائية و شبه الاستوائية و المعتدلة،غالبا في المناطق الجافة (شكري.،1994).

I-1-2- الجنس Tribulus

بعض نباتات هذا الجنس معمرة تنمو في المناطق الاستوائية والبعض الآخر حولية تنمو في المناخات الباردة وهناك أنواع تزرع كنباتات للزينة في المناطق الدافئة، ويضم هذا الجنس 25 نوعا من بينها: *Tribulus pentandrus, Tribulus Longipetalus, Tribulus alatus*.

(Quzel ,Santa1963; Ghazi.,2006).

I-2-نبات الحسك *Tribulus terrestris* L.

I-2-1- تسمية النبات

- **الاسم العلمي :** *Tribulus terrestris* L, *Tribulus lanuginosus* L.(Elise.,2002).
- **الاسم الفرنسي :** criox de Malte, tribule couché, escarbote, saligot terrestre Tribule Terrestre (Ghédira et *al*., 2016).
- **الاسم الانجليزي:** puncture vine, Bur nut, bulhead, caltrop (المنظمة العربية للتنمية الزراعية.،1988).

للنبات عدد من الأسماء الشائعة نظرا لانتشار النبات عالمياً ففي الجزائر يسمى بالحسك و في العراق يسمى طب وكذلك عرف بالبستناج، وفي مصر يعرف باخلة (Akhula) وفي مراكش و أندونيسيا يعرف بحمص الأمير (Townsend et Guest.,1980).كما يسمى بضرس العجوز أو ظفيرة العجوز أو إبرة العجوز في سوريا وإفريقيا الجنوبية ويسمى بخُنجره باللغة الكردية و شكوهنج في إيران ويسمى في السعودية بهتراب وحسك (عقيل وآخرون.،1987).

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

- **الأوراق**

يحمل هذا النبات أوراق مركبة ريشية قصيرة طولها 1.25 سم، متقابلة مكونة من 4-7 أزواج واحد من كل زوج اصغر من الآخر (محمد.،1997)، مكون من 8- 16 وريقات بيضاوية مرتبة في صفين اليمين واليسار بدون وريقة نهائية في الجزء العلوي من الورقة، حيث تحمل جميع الوريقات سويقة قصيرة (Elise.,2002).

الوثيقة-01- أوراق نبات الحسك *Tribulus terrestris* L

- **الأزهار**

الأزهار إبطية صفراء اللون منفردة وهي ثنائية الجنس، متناظرة شعاعياً وتتكون من بتلات محمولة على سيقان قصيرة وهي ذات سبلات بيضاوية تكون اقل طولا من البتلات (Yanala et *al*., 2016).

الوثيقة-02- أزهار نبات الحسك*Tribulus terrestris* L

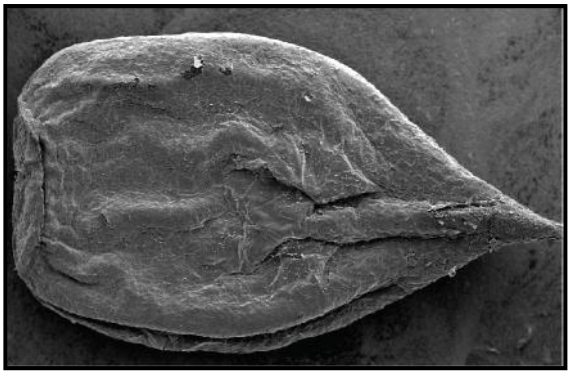
- **الثمار**

ثمار هذا النبات علبة كروية شوكية وهي خضراء تكون طرية و لا تؤذي أما عندما تجف تصبح حادة ومؤذية حيث تلتصق بالأحذية والملابس، و تتكون الثمار من مكورات أو ثميرات وعادة ما تكون شائكة خشبية لكل منها زوج من الشوك الصلب الحاد واحد من هذين الزوجين أطول من الآخر (محمد، 1997)،حيث تنفصل هذه الثمار عند النضج إلى خمسة أجزاء بدءا من المنتصف كل على حدة، كل واحد من 5 أجزاء من الثمار تسقط من دون فتح مع 2 أو 3 من البذور (Jayanthy et *al*., 2013).

الوثيقة-03- ثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L

- **البذور**

البذور مغلفة على شكل نجمة خشبية يصل عدد البذور في كل مكورة إلى ثلاثة بذور ويبلغ طول البذور حوالي 1.5- 3 مم ذات لون مصفر و للبذور نهاية مدببة (Saima et *al*., 2014). و تتوضع هذه البذور واحدة فوق الأخرى في مقصورات صغيرة بينهما فواصل مستعرضة ذات نسيج صلب وعديم الرائحة وطعمها مر ولاذع قليلا فكل نبات واحد يمكن أن يحمل 2000 بذرة (محمد، 1997). تبقى البذور كامنة في التربة لمدة 4 إلى 5 سنوات (Donaldson et *al*.,2011).



الوثيقة -04- بذور نبات الحسك*Tribulus terrestris* L(Semerdjieva et *al*.,2011).

- **الساق**

السيقان مغطاة بالكثير من الشعيرات ذات لون أبيض و أحيانا مخضرة (محمد طه و آخرون.،2008). يصل طول الساق من 2- 4 متر و تنبع من نقطة مركزية في الجذر الرئيسي يتفرع و يتمدد على الأرض في كل الاتجاهات ويتفاوت لونها من الأخضر إلى البني المحمر (Yanala et *al*., 2006).

الوثيقة-05- ساق نبات الحسك *Tribulus terrestris* L

- **الجذور**

الجذور عرضية ليفية، أسطوانية (Husson et *al*.,2010)، وطولها يتراوح من 8- 18 سم وقطرها من0.3- 0.8 سم، في كثير من الأحيان متفرعة تحمل عددا من الجذيرات الصغيرة ذات لون أصفر إلى البني الفاتح تتميز بوجود عقيدات صغيرة لها رائحة عطرية وطعم حلو وقابض الجذر الرئيسي خشبي ويمكن أن تنمو حتى عمق 1.5-2 متر (Gosavi et *al*.,2014).

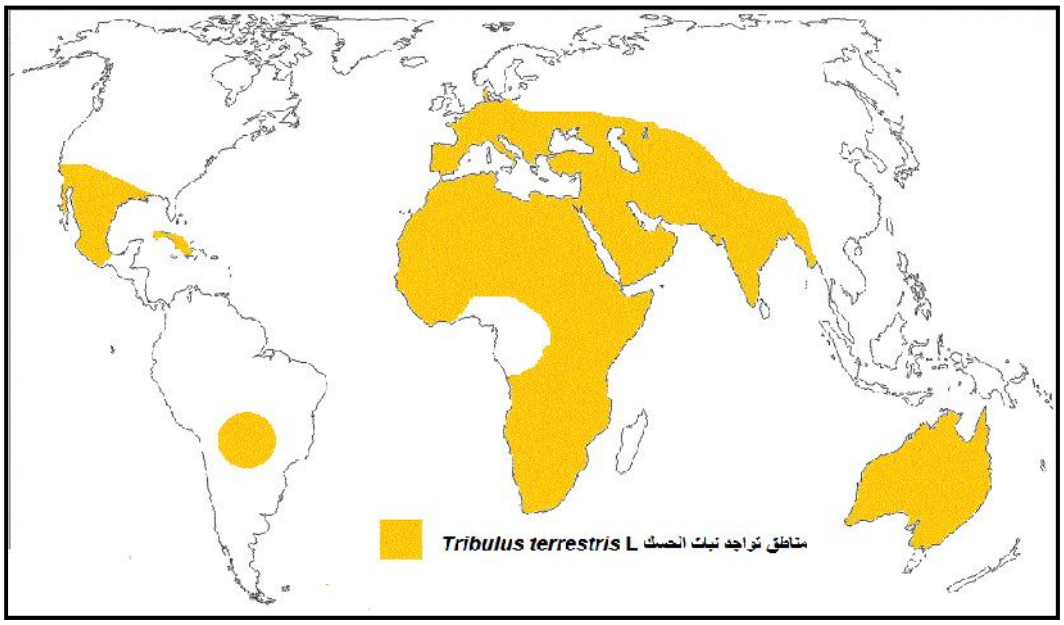
الوثيقة-06- جذر نبات الحسك *Tribulus terrestris* L

I-2-3- النمو و الإزهار

ينمو نبات الحسك في درجات الحرارة الدافئة، و بعد ثلاثة أسابيع تبدأ الزهور في الظهور و يحدث الإثمار بعد أسبوعين (Atheer et Al-Rubii.,2005). وينمو في المناطق الجافة أو الملحية (Bill et *al*.,2009) وفي أنواع كثيرة من التربة الرملية إلى التربة الطينية والتربة الغنية أو الفقيرة (Ramawat., 2010).

I-2-4- التوزيع الجغرافي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L في العالم

ينمو نبات الحسك في حوض البحر المتوسط والمناطق الدافئة من آسيا كلها و الأمريكتين الشمالية والجنوبية واستراليا (Ghazi.,2006).وينمو كذلك في جنوب وشمال الجزيرة العربية وكذلك ينمو في إفريقيا باستثناء نيجيريا، الكونغو، الكاميرون و الغابون.كما ينمو القطب في بلغاريا ورومانيا وهنغاريا وسلوفاكيا، ورأس الرجاء الصالح و جزر القمر (Nasroallah et *al*., 2013).



الوثيقة-07- مناطق تواجد نبات الحسك *Tribulus terrestris* L في العالم

(Scott et Morrison.,1994)

I-2-5-التصنيف النباتي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L

حسب Elise (2002) و Jalpa (2015) فان نبات الحسك يصنف كالتالي:

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

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

I-2-6- التركيب الكيميائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L

يحتوي نبات *Tribulus terrestris* L. على العديد من المركبات الكيميائية، حيث يحتوي على الصابونينات، الفلافونويدات و التانينات (Raja et *al*.,2011). والأحماض الدهنية الغير مشبعة، الفيتامينات، نترات البوتاسيوم، الزيوت الطيارة والثابتة (Abirami.,2011; Sebata et *al*.,2005). و كومارين Scoparon (Mamdouh et *al*.,2016).

الجدول (02): التركيب الكيمائي لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L

المركب	المرجع
25 نوع من الفلافونويدات الجليكوسيدية من بينها: Kaempferol-3-O-Glycoside, Quercetin-3-O- Glycoside	(Marzieh et *al*.,2008) (Ramteke et *al*.,2011)
الصابونينات الستيرويدية dioscin, gitonin, terrestrosin F-gitonin, Protodioscin, A,B,C,D,E, Protodioscin prototribestin, pseudoprotodioscin, tribestin , tribulosin.	(Lubna et *al*.,2015) (Maja et *al*.,2015) (Dragomir et *al*.,2008)
قلويدات perlolyrin ,tribulusterine, β-carboline harmaline, harmalol, .harmol, harman, harmine.	(John et *al*.,2005) (محمد طه وآخرون.،2008)
صابونينات glucopyranosyl, gitogenin hecogenin, ruscogenin, titogenin,diosgénine , galactopyrans.	(Kerharo.,1975)
ستيرولات campesterol, stigmasterol, β-sitosterol glucoside	(Alka et *al*.,2013)

I-2-7- الاستعمالات الطبية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.

يعتبر نبات الحسك مهم طبيا نظرا لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة فهو يستعمل:

✓ **كعلاج**

- البذور الطازجة مع العسل النقي منشطة، وتحسن حيوية ولمعان الجلد وتقلل من التجاعيد.
- تعد السيقان قابضة.
- يعتبر الجذر مدر للطمث وكمنشط جنسي (Karimi et *al*.,2011; Mrinalini.,2015).
- يستخدم مسحوق الثمار الجافة كمسكن وملطف (Deole et *al*.,2011).

حسب (Ghazala et *al*.,2012; Jameel et *al*.,2012) يستعمل:

- عصير الثمار يستخدم لعلاج اضطرابات الجهاز البولي ومضاد للإسهال ولعلاج حصى الكلى.
- البذور المجففة لعلاج أمراض الكبد وانتفاخ البطن.
- مسحوق الثمار الجافة مع العسل لعلاج الوهن العام ويحسن القدرة على التحمل.
- الأوراق كمدرة للبول وهي مفيدة للأمراض الجلدية.
- الجذور والثمار لفتح الشهية وسوء الهضم و كذلك لعلاج الرمد وتقرح اللثة.
- البذور لعلاج الرعاف والروماتيزم.
- تؤخذ الأجزاء الهوائية المجففة عن طريق الفم لتكوين الحيوانات المنوية وكمضادة للالتهابات (Manish et *al*.,2013).

✓ **كمكملات غذائية**

هناك العديد من المكملات الغذائية تحتوي على نبات *Tribulus terrestris* L وهي :

- Acetabolan II (Muscletech) وNimal Star تستخدم من اجل زيادة في مستوى هرمون التستوستيرون وتنظيم هرمون الأستروجين .
- ANIMAL STAk من اجل زيادة مستوى هرمون النمو.
- ANDR09-WAY(SPIRE) و NOTESTEN (MUSCLE TECH) لزيادة قوة وكتلة العضلات والقدرة على التحمل .
- ANDROPLEX 700 (ADVANCED PERFORMANCES) كغذاء للرياضيين .
- METHOXYGEN تثبيط هدم الكورتيزول.
- GEN-TRIBULUS TERRESTRIS زيادة القوة والأداء البدني للرياضيين.
- GROTROPIN (PINNACLE) زيادة الاستجابة المناعية وتخفيض نسبة الدهون .
- TRIBULUS 250 (PVL Nutrients) تخفيض نسبة الكولسترول في الدم.
- TR 30 لعلاج القلق والاكتئاب (Elise.,2002; Anita et *al* .,2015).

I-2-8- الأهمية الاقتصادية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L

نبات الحسك من النباتات المهمة اقتصاديا حيث يستخدم النبات في مجال إنتاج مبيدات الأدغال والآفات الزراعية، لاحتواء البذور على الزيوت التي لها تأثير قاتل للحشرات Insecticide بعد خلطها مع مبيد Deltamethrin (Awwad et *al*.,1988).

نبات الحسك يتحوي على نسبة عالية من الصابونين الاسترويدي الديوسجنين Diosgenin تصل نسبته من 1.6 % إلى 2 % الذي يعتبر مصدر للمادة الأولية في الصناعة الدوائية (محمد طه وآخرون.،2008).

I-2-9- الأهمية الغذائية لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L

يحتوي نبات الحسك على بعض المركبات الغذائية كالنشاء والسكريات كالسكروز والجلوكوز و الفركتوز (Henrici et *al*.,1952).

وهو غني بالكالسيوم و البوتاسيوم (Kerry.,2013; Iqbal et *al*.,2011).

يعتبر نبات الحسك من النباتات المغذية والمسمنة لجسم الإنسان ولم تسجل أعراضا ضارة على الإنسان (Hung et *al*.,1991; Antonio et *al*.,2000).

I-2-10- الدراسات السابقة لنبات الحسك

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

- ✓ في دراسة قام بها Lamba وزملاؤه (2011) أظهر بأن للمستخلص الايثانولي فعالية في تقليل نسبة السكر في الدم لدى الفئران عن طريق تثبيط عمل إنزيم ألفا جليكوزيداز وأرجع ذلك للصابونين.
- ✓ أظهرت المستخلصات الميثانولية لهذا النبات فعالية مضادة للنيماتودا *Caenorhubditis elegans* المتطفلة على النباتات بسبب وجود الصابونينات.كما اظهر المستخلص الايثانولي لثمار الحسك فعالية ضد بكتيريا *Proteus Vulgaris* المسببة لالتهاب المجاري البولية وضد بكتيرياا *Cornbactrium diphtheriae* المتسببة في مرض الخناق (Sepide.,2016).
- ✓ كما بينت الدراسات أن الصابونين المعزول من نبات الحسك نشاط مضاد لفطر *Candida albicans* المتسبب لالتهابات الجلد (Zhang et *al*.,2005).
- ✓ للمستخلص الايثانولي لثمار نبات الحسك نشاط مضاد *Streptococcus mutans* المسؤولة عن تسوس الأسنان (Oh et *al*,.2011).
- ✓ أظهرت الدراسات والأبحاث السريرية على 406 مريضا أن صابونين protodioscin المستخرج من نبات الحسك يلعب دورا في توسيع الأوعية الدموية (James,.2002).
- ✓ في دراسة قام بها Sen وآخرون (1969) أثبتت النتائج قدرة المستخلص الجذري لنبات الحسك تثبيط نمو باذرات *Pennisetum typhoides*. كما بينت الدراسات أن المستخلص المائي لنبات الحسك تأثير على إنبات نبات الحنضل الشائع *Citrullus vulgaris* (EL-Darier.,2016).
- ✓ لوحظ أن تناول جرعات (850 مغ /كغ) من المستخلصات المائية لثمار نبات الحسك تفيد في خفض نسبة الكولسترول والدهون الثلاثية (Khan.,2011; El-Shaibany.,2015).
- ✓ أرجع كل من Hong و زملاؤه (2002) و Baburao و آخرون (2009) النشاط المضاد للالتهابات للصابونينات الستيرويدية و القلويدات و الفلافونويدات المعزولة من المستخلص الميثانولي للثمار.
- ✓ أثبت Bedir و آخرون (2002) أن للصابونينات الستيرويدية لنبات الحسك نشاط مضاد لخطوط الخلايا السرطانية، كما بينت الدراسات أن للمستخلص المائي لنبات دور وفي حث موت الخلايا المبرمج (Kim et *al*.,2011).

- ✓ مستخلص ايثر البترول للأوراق نشاط ضد يرقات البعوض الناقلة لحمى الضنك dengue fever (El-Sheikh et *al*.,2012).
- ✓ كما أعطت دراسة حول المستخلصات المائية للنبات فعاليته السمية ضد الحشرة *Tribolium castaneum* المتسببة في تلف الحبوب المخزونة (Ghulam.,2013).

I-2-11- التأثيرات السامة لنبات الحسك

أظهرت الدراسات السريرية انه لم تسجل أي آثار سلبية على الجهاز العصبي المركزي أو القلب لأوعية الدموية عند تناول نبات الحسك إلا في بعض الحالات النادرة اظهر اضطراب في المعدة لدى بعض الأفراد الحساسة بسبب الصابونين الموجود في النبات (Jameel et *al*.,2012).كما بينت الدراسات انه لا يوجد تأثير سام للنبات (Vir et *al*.,2015; Arcasoy et *al*.,1998). ويعد نبات الحسك من نباتات المراعي الذي تفضله الأغنام والجمال إلا انه إذا تناولته الحيوانات بكميات كبيرة يسبب لها الترنح وفقدان الوزن وبسبب ثماره الشائكة فانه يسبب تخديش أفواه الحيوانات ويقلل قيمة الأصواف بسبب التصاقه فيها (Bourke et *al*.,1992; Devaux.,1973).

الفصل الثاني

منتجات الأيض الثانوي

II- مدخل

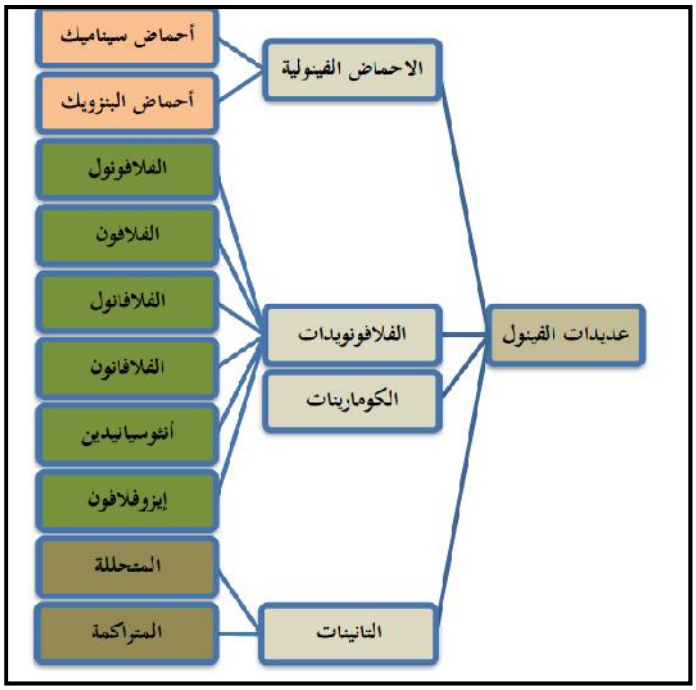
تنتج النباتات العديد من مركبات الأيض الثانوي، حيت تمتاز هذه المركبات بفعاليتها البيولوجية جد المتنوعة والمهمة للوقاية والعلاج ضد أمراض عديدة قد يصاب بها الإنسان أو للتقليل من حدة أعراضها، لذا نجد أغلبية مختصي مجال كيمياء النبات، يهتمون بفصل و تنقية هذه المركبات لاكتشاف فعاليتها العلاجية (بيرش و مبروكي.،2015).

II-1- منتجات الأيض الثانوي

تمثل هذه المنتجات مجموعة هائلة من المركبات الطبيعية المصنعة حيويا من طرف النباتات ابتداء من منتجات الأيض الأولي المتمثلة أساسا في الأحماض الآمينية، السكريات، الدهون البروتينات، وتصنف منتجات الأيض الثانوي إما على أساس مصدرها الطبيعي أو على أساس تأثيراتها البيولوجية والتصنيف الأكثر شيوعا يكون على أساس البنية الكيميائية (بيرش ومبروكي.،2015).

II-1-1- المركبات الفينولية

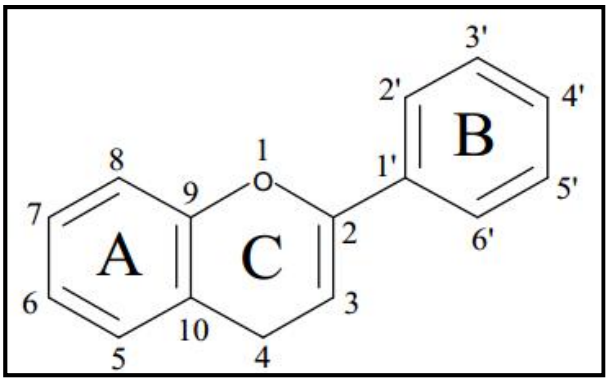
حسب جرموني (2009) تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية حيث تم التعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي، يتكون هيكلها القاعدي من الأحماض الفينولية البسيطة، تتميز بنيتها بوجود حلقة عطرية أو أكثر مرتبطة مع وظيفة أخرى مثل: لأستر أو الإيثر، و الاختلاف في عدد الحلقات وعدد ونوع الوظائف المرتبطة بها يجعلها تقسم إلى عدة مجاميع تتمثل في: الأحماض الفينولية، الفلافونويدات، التانينات، الكومارينات التي تتواجد في جل النباتات.



الوثيقة -08- أقسام المركبات الفينولية (Grotewold.,2006)

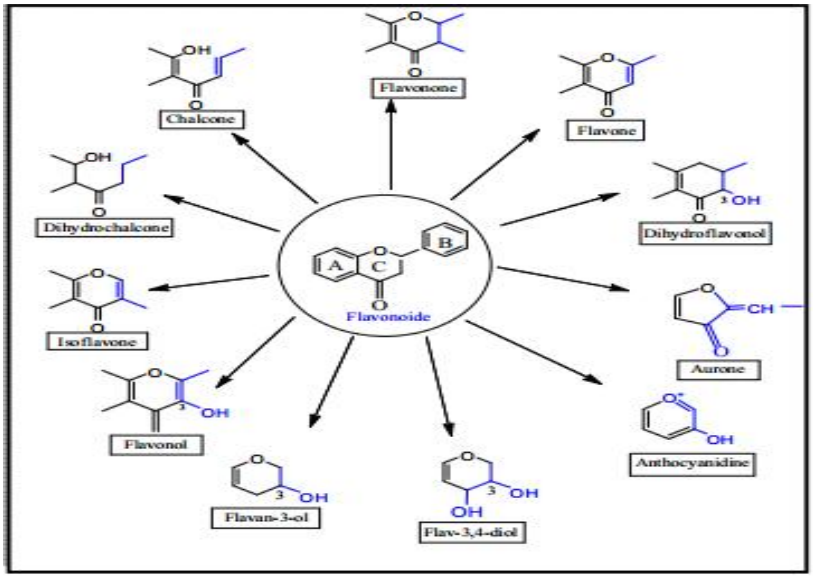
II-1-1-1- الفلافونويدات Les Flavonoide

مصطلح Flavonoide مشتق من الكلمة اليونانية Flavus و تعني أصفر و هي عبارة عن صبغات نباتية صفراء موزعة على جميع أجزاء النباتات الراقية و بشكل أكبر في الجزء الهوائي منها، وهي مسؤولة عن ألوان الأزهار،الفواكه و أحيانا الأوراق، حيث تم استخراج أكثر من 8000 فلافونويد طبيعي (شباح.،2008).



الوثيقة -09- الهيكل العام للفلافونويدات (شباح.،2008).

الفلافونويدات تتكون من 15 ذرة كربون جميعها تتقاسم نفس البنية الأساسية، تتكون من حلقتين عطريتين متصلتين بواسطة ثلاثة كربونات (C6-C3-C6)غالبا ما تكون مغلقة وغير متجانسة الأوكسجين سداسية أو خماسية (علاوي.،2015)، وتقسم الفلافونويدات عادة إلى عدة أصناف وذلك وفقا لجهة ارتباط الحلقة C، ووفقا لدرجة تأكسدها إلى: إيزوفلافونويدات، فلافونول، فلافون، فلافانون وغيرها (بن خناثة.،2014).



الوثيقة -10- أقسام الفلافونويدات (ريسكو،.2011).

للفلافونويدات أهمية في كونها مضادة للسرطان، مضادة للحساسية، مضادة للفيروسات و البكتيريا ومضادة للأكسدة (بن مرعاش.،2012).

II -1-1-2- التانينات Les Tanins

هي عبارة عن مواد قابظة تنتج بشكل طبيعي في النباتات، قابلة لذوبان في الماء، وهي مركبات مستخدمة في الدباغة و لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة لتعفن و قليلة النفاذية ويعزى ذلك إلى قدرتها على الإتحاد بالبروتينات (بن عربية.،2013).

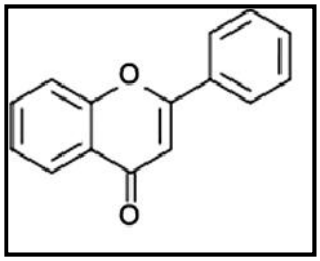
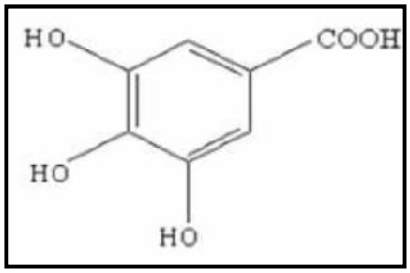
تصنف التانينات حسب بنيتها الكيميائية إلى قسمين: التانينات المتحللة و التانينات المتراكمة.

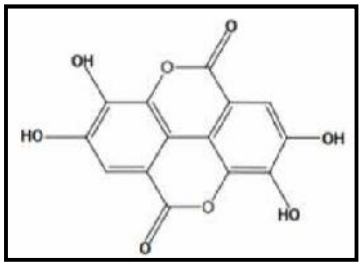
- **التانينات المتحللة Tanins hydrolysables**

هي أسترات لسكر و حمض الفينول، عند إماهتها ينتج جزء سكري في أغلب الأحيان يكون غلوكوزglucose و جزءا فينوليا مشكل من حمض الجاليك (acide gallique) أو حمض الإيلاجيك (acide ellagique) (بن ذهيبة،.2013).

- **التانينات المتراكمة Tanins condensées:**

ي مركبات ناتجة من بلمرة لجزيئات أولية تملك البنية العامة للفلافونويدات، حيث ترتبط فيما بينها بروابط كربون-كربون (c-c) مما يجعلها صعبة الانحلال (بن ذهيبة،.2013).



فلافون Flavone حمض الإيلاجيك acide ellagique حمض الغاليك acide gallique

الوثيقة -11- التركيب الكيميائي للمركبات المكونة للتانينات المتحللة والمتراكمة (بن ذهيبة،.2013).

للتانينات خصائص بيولوجية مهمة، فهي تستخدم طبيا كمضادات للتسمم بالقلويدات والمعادن الثقيلة، كما تستعمل كمواد قابضة في حالات الإسهال و معالجة الأمراض الإشعاعية، و عرفت أيضا بخاصيتها المضادة للالتهابات ولها دورأيضا في وقاية النبات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات (عودة.، 2014).

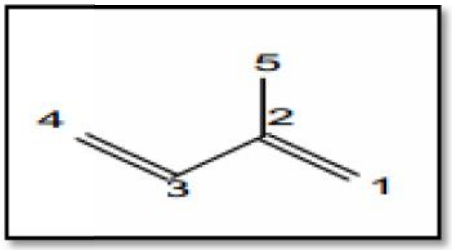
II-1-2- الزيوت الطيارة Les Huiles Essentielles

الزيوت الطيارة مواد زيتية ذات روائح عطرية مميزة، تتجزأ و تتطاير عند درجات الحرارة ادية،على عكس الزيوت الثابتة و تسمى الزيوت الطيارة بعدة أسماء منها الزيوت العطرية، الزيوت الايثرية، الزيوت الأساسية (بن عربية.،2013).

ي عبارة عن خليط من المركبات العطرية والطيارة ذات المصدر النباتي والتي تنجم عن عملية التحول الأيضي في النبات وتتجمع داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية (Glandul haire) كما في العائلة الشفوية والقنوات الزيتية (Oil vittae) كما في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية (Oil gland) كما في العائلة السذبية (بن خناثة.،2014)، وتستعمل لطرد الغازات من المعدة والأمعاء و كدهان لعلاج الروماتزم ، و تعد أيضا من المواد المطهرة (سراج والحسن.، 2002).

II-1-3- التربينات les terpènes

حسب بن خناثة (2014) تنتمي معظم مكونات الزيوت الطيارة إلى مجموعة التربينات، التي تمثل القسم الأكبر من منتجات الأيض الثانوي للنباتات وهناك حوالي 12222مركب تربيني تم عزله من النباتات، والصيغة العامة للتربينات هي $(C5H8)_n$ حيث: nعدد وحدات الأيزوبرين.



الوثيقة -12- وحدة الايزوبرين (بن عربية.،2013).

تقسم التربينات حسب عدد وحدات الايزوبرين إلى عدة أقسام:

جدول (03): أقسام التربينات (بن عربية.،2013).

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايرزبرين
10	تربينات أحادية Monterpènes	2
15	سيسكوتربينات Sesquiterpènes	3
20	التربينات الثنائية Ditepènes	4
25	سيسترتربينات Sesterterpènes	5
30	التربينات الثلاثية Triterpènes	6
40	التربينات الرباعية Caroténoïdes	8
أكثر من 40	متعدد التربينات polyterpénes	أكثر من8

تستخدم العديد من التربينات كإضافات في الصناعات الغذائية و مستحضرات التجميل وتعتبر كمضادة للميكروبات،مضادة للسرطان ومضادة للالتهابات (Ayad., 2008).

II-1-4- القلويدات Les Alcaloïdes

مصطلح قلويد أدخل في عام 1818 من طرف العالم Meissner و القلويد عبارة عن مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية (شبوعات.،2003).

عزل أول مركب قلويدي هو الأفيون من طرف العالم ديرسون والذي أستخدم كمسكن، و صفة عامة القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة البنية، تحتوي على وظيفة حمضية أمينيه واحدة أو عدة وظائف (بن ذهيبة.،2013). و تنقسم القلويدات إلى ثلاث أقسام رئيسية هي :

- القلويدات الحقيقية (Pseudoalkaloids)

هـ قلويدات سامة ولها تأثيرات فيزيولوجية متباينة ومختلفة في القاعدية وتحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الأمينية وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية، لكن هذه الخواص ليست دائما محققة فمثلا الكولشيسين فهو غير قاعدي (شبوعات، 2003).

- القلويدات الأولية (Protoalkaloids)

عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدية يتم تخليقها داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية و غالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية (علاوي،.2003).

- القلويدات غير الحقيقية (Pseudoalkaloids) (شبوعات.،2003).

قلويدات قاعدية لا تشتق من الأحماض ينـدرج تحت هذا القسم القلويدات السيتيرودية و القلويدات بيورينات (شبوعات، 2003).

للقلويدات تأثير طبي يختلف حسب نوع القلويدات فمثلا الكودايين Codaine قلويد مسكن ومخدر، والكافيين Caffeine يعتبر منبها و مزيل التعب، الكولشيسين Colchicine يستعمل لعالج الروماتيزم (حوة.،2013). الإفدرين Ephedrine يسبب ارتفاع ضغط الدم، ويستعمل قلويد الأتروبين Atropine في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين (العابد.،2009).

II-1-5- الصابونوزيدات

كلمة الصابونوزيدات مشتقة من الكلمة اللاتينية (sapo) بمعني صابون لأنها تعطى رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لمدة طويلة، وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من إثنين إلى عشرة، وعليه فالصابونوزيدات تنقسم إلى قسمين هما: الصابونوزيدات ذات نواة ثلاثية التربين (Group des triterpènes) و الصابونوزيدات ذات نوات تربينية إستيرويدية (Group des steroids) (بوقافلة.،2013).

تستخدم الصابونوزيدات كمضادة للبكتيريا و الفطريات، وكمضادة للالتهابات، ولها آثار سامة لغذاء الإنسان و الحيوان (Bruneton.,2009).

II-1-6- الجليكوزيدات les glycosides

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي، وكلمة الغليكوزيدات مشتق من ارتباط نوع خاص من المواد العضوية الناتجة من عمليات التمثيل و الأيض مع جزئ أو أكثر ن السكريات البسيطة، و هذه الغليكوزيدات تتحلل سريعا بفضل الأحماض المعدنية و النشاط الإنزيمي المتخصص مكونة نوعين من المواد العضوية إحداهما سكري يعرف بالغليكون (glycon) و الثاني غير سكري يدعى بالأغليكون (aglycone) أو(genine)، وبذلك تنقسم إلى قسمين هما: الجليكوزيدات الكحولية و الجليكوزيدات الفينولية (زمالي.،2007).

تدخل الجليكوزيدات في العديد من العمليات البيولوجية، فالجليكوسيدات الصابونية تعتبر كمواد مضادة للأكسدة و للسرطان وكذا للإلتهابات، وتستخدم الجليكوسيدات الأنثوسيانينية في الصناعات الصيدلانية كمواد ملونة و كأدوية للقلب، و الأنثراكوينونية كمسهلات (شويخ.، 2004).

الفصل الثالث

الفعالية المضادة للأكسدة

III- الجذور الحرة

من المعروف أن الجذور الحرة يتم التغلب عليها بما يسمى المواد المضادة للأكسدة والتي تقوم بمعادلة الجذور الحرة في الخلايا الحيوانية و الأنسجة النباتية، ولكن هذه المواد يقل محتواها تدريجيا وذلك بزيادة ظروف الإجهاد أو التقدم في العمر (بن عربية.،2013).

III-1-1- تعريف الجذر الحر

الجذر الحر هو عبارة عن جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر(بوبلوطة.،2009).إن بقاء الإلكترون وحيداً في مداره الخارجي يجعله في حالة بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون زوجاً من الإلكترونات المستقرة، وهذا ما يجعله ينتزع إلكتروناً من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية في الجسم .وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذرا حراً واحداً قد يسبب نشوء العديد من الأمراض الحادة والمزمنة (جيدل.،2015).

III-1-2- أنواع الجذور الحرة

تنقسم الجذور الحرة من حيث استقرارها إلى نوعين:

III-1-2-1- الجذور الحرة النشطة (غير المستقرة)

وهي الجذور الحرة غير المستقرة في الظروف العادية، ويشمل هذا النوع ذرات العناصر مثل الهيدروجين و النتروجين و الكلور والفلور و الجذور التي لها وزن جزيئي صغير مثل : $OH^{\cdot}$, $CH_3^{\cdot}$ و تقدر أعمار حياة هذه الجذور بالميكروثانية أو أقل حتى تصل إلى البيكوثانية (بكه و حفيان.،2016).

III-1-2-2- الجذور الحرة المستقرة

هي الجذور التي تقدر أعمارها بالثواني أو الدقائق أو الساعات و حتى الأيام، مثل جذر triphenylméthyl ذو لون أصفر و مستقر بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات، وجذر*DPPH ذو لون بنفسجي مسود وهو عبارة عن مادة صلبة ومحلوله مستقر لعدة أيام (بكه و حفيان.،2016).

II-1-3- طرق تفاعلات الجذور الحرة

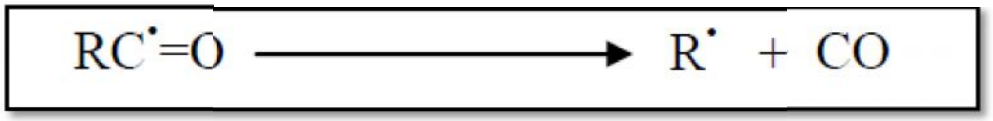
تتفاعل الجذور الحرة بكافة أنواعها المستقرة أو النشطة المشحونة و المتعادلة بتفاعلات سريعة جدا ومختلفة وهي حسب قمولي (2011):

- **تفاعلات التبادل الإلكتروني**

يتم في هذا التفاعل إنتقال إلكترون من المادة المستقرة المتواجدة بالمحيط إلى الجذر الحر وبذلك يتكون أيون سالب مشتق من الجذر الحر وجذر حر جديد مشتق من الأيون السالب.

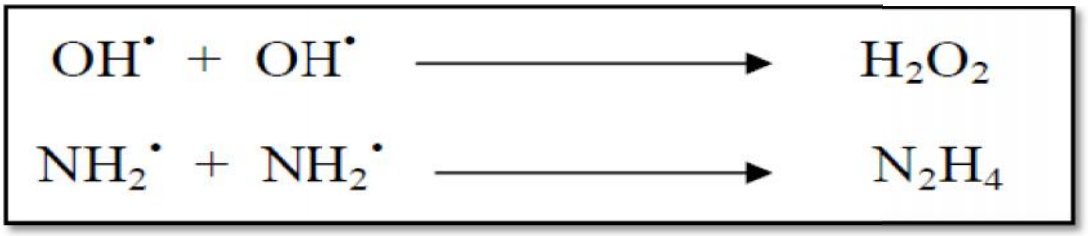
- **تفاعلات تفكك الجذور الحرة**

تتفكك الجذور الحرة بصورة مختلفة معتمدة بدلك على طبيعة الجذر الحر ومثال ذلك تفكك جذور الأسيل بواسطة فقدان جزيئة أول أكسيد الكربون.



- **تفاعلات اتحاد الجذور الحرة**

إن تفاعلات الجذور الحرة مع بعضها البعض تعد من التفاعلات المهمة جدا حيث ينتهي وجود هذه الجذور بنظام ما بهده التفاعلات مع تكوين مركبات مستقرة ويطلق على هذه التفاعلات بتفاعلات الاتحاد.



III-1-4- مصادر الجذور الحرة

تُنتج الجذور الحرة بشكل مستمر من خلال آليات مختلفة:

- **المصادر الداخلية**

تنتج الجذور داخل العضوية كآلية للحماية ضد الجزيئات الغريبة أو كجزء من نواتج العملية الأيضية عبر العديد من الآليات الموجودة داخل الجسم (السلسلة التنفسية) (بن سلامة.،2012).

- **المصادر الخارجية**

يمكن أن تنتج الجذور الحرة عند التعرض لمختلف العوامل البيئية الفيزيائية والكيميائية منها، الإشعاعات فوق البنفسجية و تحت الحمراء و الحرارة و الموجات فوق الصوتية و بعض المعادن مثل الحديد و التدخين و أثناء تعرض الخلايا للمواد الكيمائية (حوة.،2013).

III-1-5- أضرار الجذور الحرة

تقوم الجذور الحرة بتراكيز ضعيفة بأدوار فيزيولوجية مهمة ، حيث تستعمل كوسائط منظمة للوظائف البيولوجية مثل توسع الأوعية الدموية أو استعمالها كسيالة عصبية، كما تنتج من أجل الدفاع عن الجسم ضد الأجسام الغريبة، إلا أن الإنتاج المفرط لها يؤدي إلى أضرار على مستوى العديد من الجزيئات الخلوية محدثة تغيرات في شكل ووظيفة ونمو الخلية مثل أكسدة الدهون والأحماض الدهنية الحرة، وهذا ما يؤدي إلى تطور العديد من الأمراض مثل مرض السكري وأمراض القلب و الأوعية والأمراض العصبية الانحلالية والروماتيزم وأمراض أخرى عديدة مثل أمراض الجهاز الهضمي و السرطان، الشيخوخة، مرض الزهايمر وتصلب الشرايين (جبالي.،2012).

III-2- مضادات الأكسدة

III-2-1- تعريف مضادات الأكسدة

هي كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية و يعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج الجذور الحرة أو منع انتشارها أو هدمها فالدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة (عمراني.، 2013). فمضادات الأكسدة عبارة عن مواد مانحة لذرات الهيدروجين أو أنها تتحد مع الجذر و تحول إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\bullet}$$

$$AH^{\bullet} + AH \longrightarrow A + AH_2$$

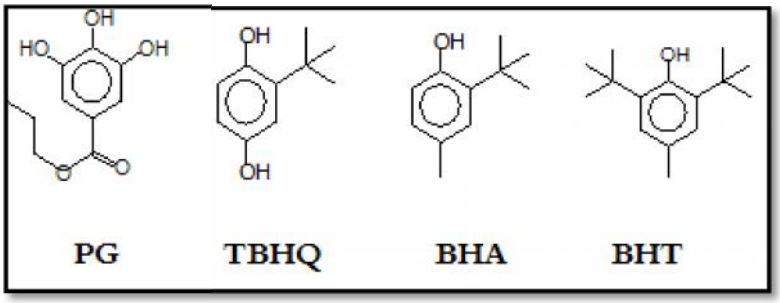
إذا من المهم وجود مضادات الأكسدة داخل الكائن الحي للحد من خطورة الجذور الحرة وذلك بتناول واستهلاك مجموعة كبيرة من الأطعمة الغنية بمضادات الأكسدة (العابد،2009). وتقسم مضادات الأكسدة من حيث مصادرها إلى الطبيعية و المصنعة (بن سلامة،2012).

III-2-2- مضادات الأكسدة الطبيعية

وهي ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالإنزيمات الجلوتاثيون و الكتالاز و البيروكسيداز وبعض المركبات الغير الإنزيمية لا تنتج من طرف العضوية وقد تأتي من الأغذية تشمل هذه المركبات كل من الجزيئات الصغيرة مثل فيتامين E (توكوفيرول) وفيتامين C (حمض الأسكوربيك) والفيتامينات ذات الأصل بيتاكاروتين و هي حوالي 600 مركب، و تتعداها إلى المعادن الطبيعية كالزنك و غيرها وهناك العديد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الأخرى مثل الفلافونويدات Flavonoids و البوليفينول polyphenol التي توجد في العديد من الأطعمة كالفواكه والخضروات (بن سلامة،2012).

III-2-3- مضادات الأكسدة المصنعة

إن مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعياً داخل الخلايا غير كافية مما أدى إلى تصنيع مجموعة من المركبات التي تعمل كمضادات للتأكسد أطلق عليها مسمى مضادات الأكسدة المصنعة والتي يضاف بعضها إلى الأطعمة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات والبروتينات(بن عربية،2013). ومن هده المركبات Butylhydroxytoluene (BHT) و Butylhdroxyanisole (BHA) و يعتبر BHA مضاد تأكسد جيد للزيوت الأساسية اد يحافظ على نكهتها ولونها، ويمنع BHA عملية تأكسد الحموض الدسمة ذات السلسلة القصيرة الموجودة في زيوت جوز الهند وبذر النخيل المستخدمة في المنتجات الحبيبية القوام والحلويات وtetre-butylhydroquinone (TBHQ) و gallate propylée (PG)هي مضادات أكسدة تحضر و تستعمل تجاريا لحفظ المنتجات الطبيعية و كذا في الصناعة كصناعة المطاط (بوبطيمة،2012).



الوثيقة -13- بعض مضادات الأكسدة المصنعة (Lisu et *al*,.2003).

III-2-4- آلية عمل مضادات الأكسدة

تلعب المواد المضادة للأكسدة دورا مهما في إزالة سمية الجذور الحرة الناتجة بإفراط في العضوية عن طريق منع تكوين أو منع تأثير أصناف الأكسجين والنتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان إلى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات والجزيئات الحيوية الأخرى.وتصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها المادة التي لديها القدرة على تثبيط الجذور الحرة أو تقليلها، لذا فان القليل من جزيئات مضادات الأكسدة كبعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما، إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، رغم ذلك لا يمكن أن نعيش بدون جذور حرة، فالجسم يستخدم الجذور الحرة لتحطيم الجراثيم، وتستخدم أيضا في إنتاج الطاقة، والمشكلة تكمن في أن معظم الناس يتعرضون لكميات فائضة (زائدة) من الجذور الحرة، ولكن يمكن تجنب العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أو تزيد من إنتاج أجسامنا لها بتناول الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة كالخضروات والفواكه (بكه و حفيان.،2016).

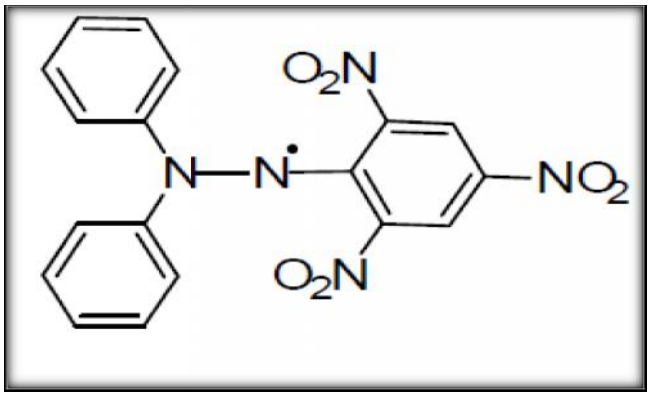
III-2-5- طرق تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

النشاطية المضادة للأكسدة هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة (Kholkhal., 2014). حاليا توجد عدة اختبارات لتقدير النشاطية المضادة للأكسدة من بينها:

- **اختبار مركب (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) ($DPPH^{\bullet}$)**

يعد هذا الاختبار من أهم الاختبارات استخداما، يحدد الاختبار قدرة مضادات الأكسدة على تثبيط الجذور الحرة (بوبطيمة.،2012).

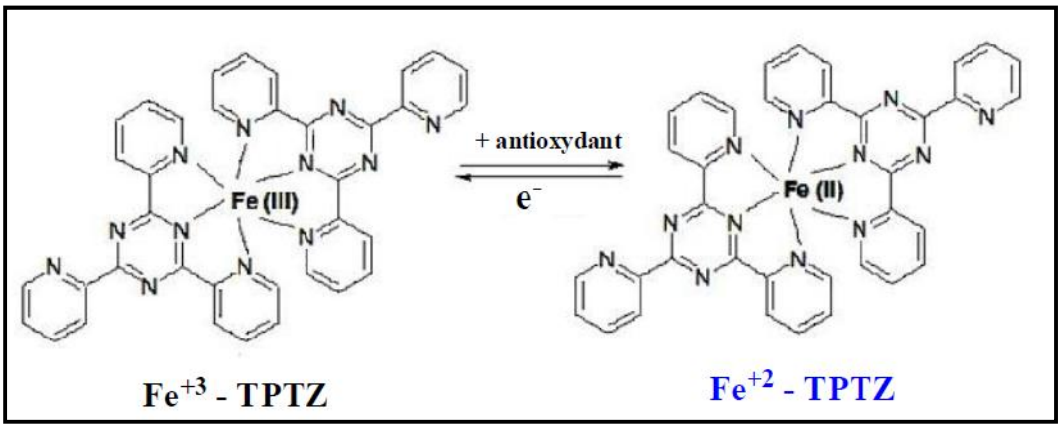
يتميز الجذر الحر لجزئ DPPH بالاستقرار وذلك لأن له إلكترون واحد مفرد على ذرة واحدة لجسر نيتروجين (بوبطيمة.،2012) كما هو موضح في الوثيقة التالية:



الوثيقة-14- الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ (Pionita.,2005)

اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) (Ferric Reducing Antioxidant Power)

يستخدم كثيرا إرجاع الحديد الثلاثي كمؤشر يبين فاعلية الإلكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة الفينولية.في اختبار القدرة الإرجاعية للحديد، تمنح المضادات الأكسدة الكترونات تعمل على إرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي. يمكن تحديد كمية معقد الحديد الثنائي بقياس طول موجة تشكل اللون الأزرق الداكن عند 700 nm حسب التفاعل الآتي (بوبطيمة.،2012).



الوثيقة- 15- تحول الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي (بوبطيمة.،2012).

اختبار ABTS

يستعمل هذا الاختبار بشكل واسع لتعيين القدرة الآسرة الجذرية للجزيئات على الجذر $ABTS^{\cdot+}$ الكاتيوني المستقرل 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiozoline-6-sulfonic acid) يتأكسد جزئ ABTSعديم اللون إلى جذر كاتيوني $ABTS^{+\cdot}$ أزرق مخضر، وبخلطه مع أي مادة يمكن أن تتأكسد يرجع إلى شكله الأصلي ABTS عديم اللون وهذا الجذر الكاتيوني له طول موجة أعظمي 734nm و لكن الأكثر استعمالا عند طول موجة أعظمي 415 nm، وتستعمل هذه الطريقة للمواد المضادة للأكسدة القابلة الذوبان في الماء، و القابلة الذوبان في اللبيدات، المستخلصات الغذائية (بالفار.،2016) .

اختبار موليبدات الفوسفات

غالبا ما يعتبر هذا الاختبار في بعض الدراسات طريقة لحساب إجمالي القدرة المضادة للأكسدة وهو اختبار يسمح بقياس القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات المراد دراستها في وجود عامل اختزال، وهذا بإرجاع حمض فسفوموليبدات ذو اللون الأزرق إلى فوسفوموليبدات عند طول الموجة 695 nm (بالفار.،2016). حسب التفاعل التالي:

$$MO+6 \longrightarrow Mo^{+5}$$

III-3- الإجهاد التأكسدي

يعرف الإجهاد التأكسدي على انه إختلال التوازن ما بين الأليات التي تؤدي إلى إنتاج الجذور الحرة و الميكانيزمات التي تعمل على التخلص منها أو ما تسمى مضادات الأكسدة و قد يرجع ذلك الإختلال إما إلى تنشيط الأليات الأولى أو إلى تثبيط الميكانيزمات الثانية أو الإثنين معا (عمراني،2013). ويؤدي عدم التوازن هذا إلى تراكم الجذور الحرة و التي تتميز بقدرة عالية على إتلاف الأنسجة (بوبلوطة.،2009).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

مواد وطرق الدراسة

I- تقديم منطقة الدراسة

I-1- الموقع الجغرافي لبلدية حاسي خليفة

تقع بلدية حاسي خليفة بولاية الوادي بين خطي طول °33 و°35 شمالا ودائرتي عرض °2 و°7 وهي تتربع على مساحة 1112 كم^2 ويحدها شمالا بلدية الطالب العربي ومن الشرق بلدية دوار الماء وغربا بلدية المقرن ومن الجنوب بلدية الدبيلة (Aggab,.2009). تم اختيار موقع الدراسة على أساس توفر النبات المدروس بصورة تسمح بجمعه بكميات معتبرة،حيث تم جمعه من مناطق زراعية مختلفة وعلى جانب الطرقات بالمنطقة.

الوثيقة -16- الموقع الجغرافي لبلدية حاسي خليفة (Google Earth).

II- المواد والطرق

II-1- المادة النباتية

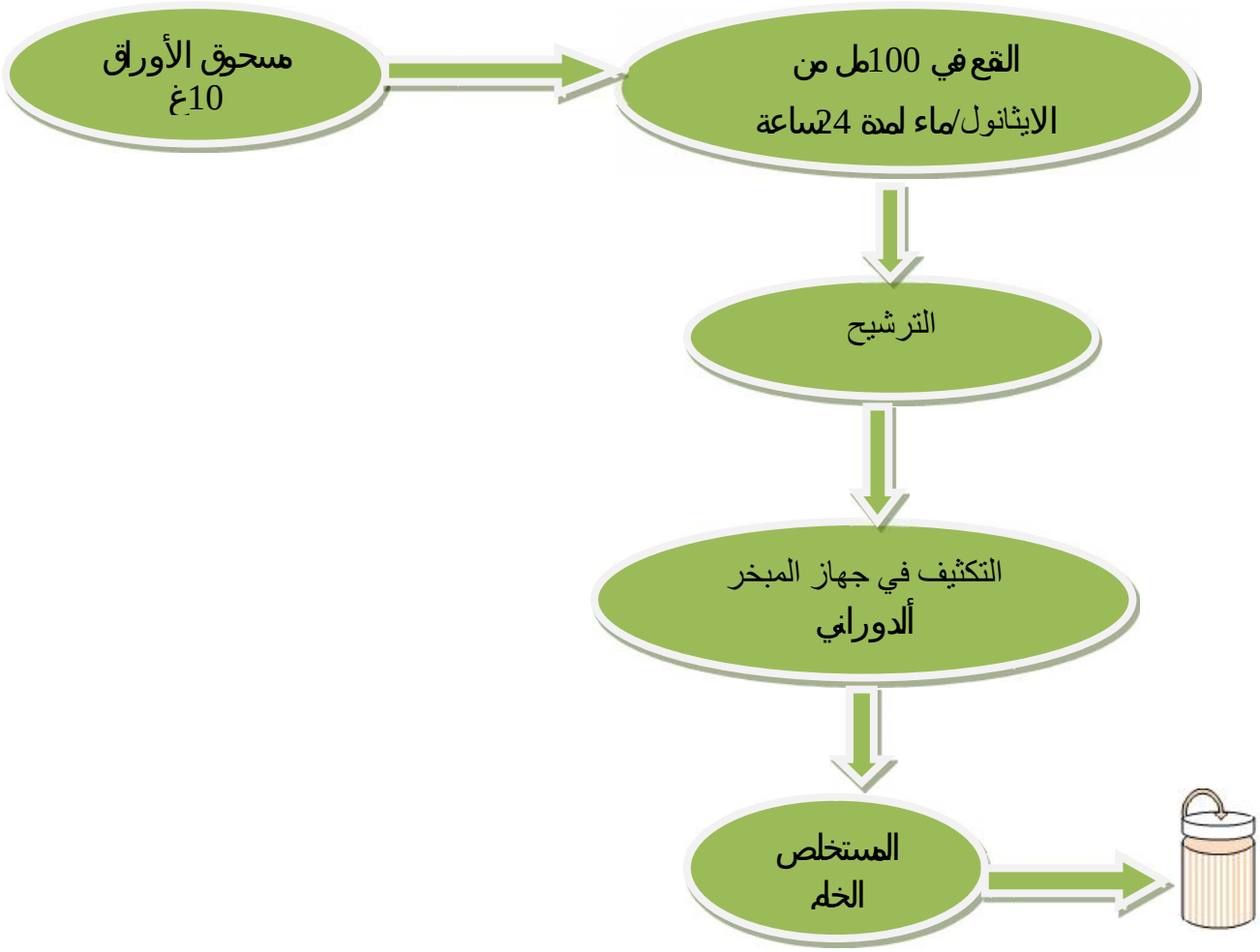
تم تجميع نبات الحسك من منطقة حاسي خليفة بولاية الوادي في شهر ديسمبر2016 في الصباح حيث تم فصل الأجزاء الهوائية عن بعضها (أوراق وسيقان وثمار) وكذلك المجموع الجذري ووضعها في أكياس ورقية، وثم غسلها بالماء البارد لإزالة الشوائب و الرمل والحشرات الرقيقة منها, ويتم تجفيف الأوراق في مكان مهوى بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة فوق قطعة قماش مع ترك مسافات بين الأجزاء و تقلب من حين إلى آخر بمعدل مرتين في اليوم لمدة ثلاثة أسابيع للتأكد من الجفاف التام للأوراق، بعد إتمام عملية التجفيف تقوم بطحن الأوراق بآلة طحن كهربائية وغربلة المسحوق الناتج وبعد ذلك نضعه في أكياس ورقية ونقوم بغلقها وتخزينها إلى حين استعماله.

الوثيقة -17- تجفيف الأوراق

الوثيقة -18-طحن الأوراق

II-2- تحضير المستخلص المائي و الايثانولي لأوراق نبات *Tribulus terrestris* L

نزن بالميزان الالكتروني كمية قدرها 10غ من مسحوق الأوراق الجافة، ثم ننقعها في حجم قدره 100مل من الايثانول في حالة المستخلص الايثانولي والماء المقطر في حالة المستخلص المائي لمدة 24 ساعة وتقوم بتغطيته بورق الألمنيوم، بعدها نقوم بعملية الترشيح وثم توضع في جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)عند درجة حرارة 45°C بالنسبة للمستخلص الايثانولي وعند 55°C بالنسبة للمستخلص المائي للتخلص من المذيب والحصول على المستخلص الخام (Rebiai et *al*., 2014).



الوثيقة -19- مخطط يوضح مراحل تحضير المستخلص المائي و الايثانولي

ثم يتم وزن المستخلصات الناتجة لنتحصل على مردود الاستخلاص،حيث يقدر المردود بالعلاقة التالية:

المردود = (وزن المستخلص/وزن المادة الابتدائية الجافة)× 100

II-3- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

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

❖ **الكشف عن القلويدات (Les Alcaloïdes)**

نحضر أنبوبي إختبار نضع في كليهما 1مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي ثم نضيف لكل أنبوب 5قطرات من كاشف ويغنرWagner.

- ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات (Azzi.,2013).

❖ **الكشف عن الصابونوزيدات (Les Saponosides)**

نضع 2 مل من المستخلص في أنبوب إختبار ونضيف له كمية قليلة من الماء، ثم نقوم برج الأنبوب لمدة 15 ثانية.

- ظهور رغوة وبقائها لمدة 20 دقيقة يدل على وجود الصابونوزيدات (Trease et Evans.,1989)

❖ **الكشف عن الستيرولات والتربينات (Les Stérols et Triterpénes)**

- **اختبار Liberman - Bucharis**

نضع في بيشر 10مل من المستخلص ثم نتركها تتبخر كليا وبعدها نضيف لها 5 مل من حمض الخليك الثلجي و 5 مل من الكلوروفورم، و بواسطة ماصة Pipette نضيف و بحذر على حافة الأنبوب1 مل من حمض الكبريت H_2SO_4 وننتظر 30 دقيقة.

- ظهور حلقة حمراء بنية في منطقة المماس بين المحلولين يدل على وجود الستررولات و التربينات (Trease et Evans.,1989).

❖ **الكشف عن التانينات (Les Tanins)**

نضع في أنبوب إختبار 2 مل من المستخلص ونضيف له 0.4 مل من محلول كلوريد الحديد الثلاثي المخفف $FeCl_3$ (1%).

- ظهور لون أزرق مسود يدل على وجود tanins gallique.

- ظهور أزرق مخضر يدل على وجود tanins cathéchique (Trease et Evans.,1989).

❖ **الكشف عن الفلافونويدات (Les Flavonoïdes)**

يتم الكشف عن الفلافونويدات بمزج 2 مل من المستخلص المائي أو الإيثانولي مع 1مل من هيدروكسيد الصوديوم NaoH بتركيز 0.5 مولاري، فإذا لاحظنا ظهور اللون الأصفر فهذا دليل على وجود الفلافونويدات في العينة النباتية (نعمه و آخرون.،2007).

❖ **الكشف عن المركبات المرجعة (Les Composés Réducteurs)**

نضع في أنبوب اختبار 2 مل من المستخلص ونضيف له 1 مل من كاشف فهلنج ونقوم بتسخين المزيج في حمام مائي Bain marie عند ظهور ر اسب أحمر أجوري دليل على وجود المركبات المرجعة في النبات (Trease et Evans.,1989).

II-4- التقدير الكمي للمركبات الفينولية

II-4-1- تقدير الفينولات الكلية Dsage des Polyphénols Totaux (PPT) o

تم تقدير محتوى المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات باستعمال Folin–Ciocalteau حسب طريقة Singleton و آخرون (1996) حيث تعطي هذه المركبات لونا أزرقا بارتباطها مع حمض phosphomolybdic–phosphotungstic الذي يتم قياس امتصاصيته عندطول موجة 765nm.

نمزج 1 مل من المستخلصات النباتية مع 1 مل من محلول Folin-ciocaltu المخفف 10مرات، وترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق, ثم نضيف 0.8 مل من كربونات الصوديوم بتركيز (7.5%) ثم نرج ونترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة 30 دقيقة، وتقاس امتصاصية المزيج عند طول الموجة 765nm في جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre).

يستعمل حمض الغاليك المذاب في الماء والمذاب في الايثانول كمعيار، ويحدد تركيز المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات بعدد الميلغرمات المكافئة لحمض الغاليك لكل غ من الوزن الجاف للمستخلص (mg AGE/g).

II-4-2- تقدير الفلافونويدات Dosage des Flavonoïde (FV)

تم تقدير كمية الفلافونويدات الكلية في مختلف المستخلصات حسب طريقة Ordonez و آخرون (2006) باستعمال AlC_3 حيث يشكل هذا الأخير معقدات مع الفلافونويدات ذات لون اصفر، يتم قياس كمية هذه المعقدات لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية عندطول الموجة 420nm.

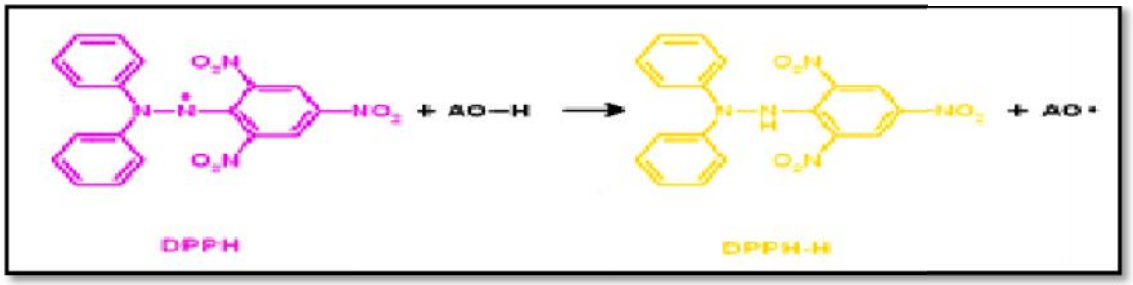
أخذنا 0.5 مل من كل مستخلص ونضيف لها 0.5 مل من محلول AlC_3 ذو تركيز(2%) المذاب في الايثانول ثم ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة واحدة وبعد ذلك نقيس الامتصاصية في طول موجة 420 نانومتر.

يستعمل Quercetin المذاب في الايثانول و المذاب في الماء كمعيار، ويعبر عن النتائج بعدد الميليغرامات المكافئة للكرستين لكل غ من الوزن المستخلص الجاف (mg QE/g).

II-5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

II-5-1- اختبار DPPH

هو اختبار مضاد للجذور الحرة سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف Blois سنة1958، هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH$^{\bullet}$ وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المركبات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين أو إلكترون حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذرDPPH لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية و ذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة و كفاءة المركبات من تثبيط الجذور، ويعتمد هذا الاختبار على قدرة المستخلص على أسر الجذر المستقر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة، و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر(بن عربية،.2013).



الوثيقة -20- تفاعل مضاد أكسدة مع جذر ثابت DPPH (Molyneux,.2004)

يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمة IC_{50} و هي تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذر DPPH و يتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط (I%) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية (بن عربية،2013).

- **طريقة العمل**

نقوم بتحضير محلول DPPH° و ذلك بإذابة 4 مغ من مسحوق DPPH في 100 مل من الايثانول للحصول على تركيز 0.1 ميلي مول / ل (mmol/L) ثم الرج جيدا قبل استعماله في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة.

ثم نقوم بتحضير مجموعة من التراكيز لمختلف المستخلصات (0.01mg/ml،0.02mg/ml، 0.03mg/ml،0.04mg/ml،0.05mg/ml).

نأخذ 1 مل من كل تركيز ونضيف له 1 مل من محلول الـ DPPH ويرج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر، ثم نقيس الامتصاصية عندطول موجة 517 nm بواسطة جهاز قياس الامتصاصية، ومن خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I % وذلك وفق العلاقة التالية:

$$I\%=(A_0-A_i/A_0)\times 100$$

A0: امتصاصية DPPH في غياب المستخلص.

Ai: امتصاصية DPPH في وجود المستخلص بعد 30 دقيقة.

ثم نقوم برسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز I%=f(C).

II-6- التعرف على بعض المركبات الفينولية للمستخلصات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

كرماتوغرافيا العمود ذات الكفاءة العالية هي تقنية متطورة حيث تطبق في الدراسات التحليلية للجزيئات الغير قابلة للتبخر ذات القطبية العالية كما تعتبر من أدق وأنجع الطرق لفصل و تحليل الخلائط المعقدة في وقت قصير، وتسمح هذه التقنية بتحديد المحتوى الفينولي للعينة المراد تحليلها، و هي تتطلب استخدام ضغوط عالية لدفع المذيب خلال العمود (لكحل،.2008). وهي تتكون من طورين: الطور المتحرك فيها سائل غالبا ما يكون مذيب عضوي أو الماء، أما الطور الثابت صلب (عمود مملوء بمادة صلبة) (أحمد خميس.،2006).

مبدأ عمل الجهاز يعتمد على حقن العينة (المستخلصات) المراد تحليلها (20µl) بتركيز10ملغ/مل في مجرى تدفق الطور المتحرك injecteur مع مراعاة الضغط العالي الذي تحدده المضخة pompe والتي تعمل على دفع الطور المتحرك colonne نحو الطور الثابت هذا الأخير يستطيع فصل المركبات المحقونة حسب قطبيتها و وزنها الجزيئي، هاته الأجزاء موصولة بالكاشف détecteur الذي يقوم بكشف و تحديد المركبات الموجودة في العينات و تقديمها لجهاز الكمبيوتر الملحق بالجهاز لإعطاء النتائج على شكل منحنيات تحتوي على قمم pics تحدد لنا عدد ونوع المركبات في كل مستخلص (KUPIEC.,2004).

الوثيقة -21- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء HPLC

II-7- الدراسة التشريحية

III-7-1- الدراسة التشريحية للأزهار والثمار

قمنا بملاحظة أزهار وثمار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي، وبعدها أجرينا مقطع عرضي للثمار.

II-7-2- الدراسة التشريحية للأوراق

قمنا بإجراء مقاطع عرضية للأوراق ونزع طبقة البشرة، ثم وضعها فوق صفيحة زجاجية وتغطيتها بساترة وبعد ذلك قمنا بملاحظتها تحت المجهر الضوئي.

III-7-3- تحضير المقاطع النباتية للساق والجذر

تم انجاز مقاطع دقيقة على أجزاء نباتية فتية تشمل: الساق والجذر لنبات الحسك وذلك بواسطة شفرة حادة، ثم توضع المقاطع في مصفاة خاصة والتي بدورها تكون موضوعة في حوض به ماء مقطر لتجنب جفاف المقاطع وذلك لحين استخدامها.

ويتم تلوين المقاطع باستخدام طريقة التلوين المضاعف (بوغديري.، 2000) وفق المراحل التالية :

- ✓ وضع المقاطع في ماء جافيل لمدة 20 دقيقة.
- ✓ ثم نقوم بغسلها بالماء المقطر.
- ✓ وضع المقطع في حمض الخل لمدة دقيقة واحدة.
- ✓ تغسل المقطع بالماء العادي.
- ✓ توضع المقاطع في أخضر الميثيل مدة 5 دقائق.
- ✓ تغسل المقطع بالماء العادي.
- ✓ توضع المقطع في احمر الكونغو مدة 10دقائق.
- ✓ تغسل المقاطع جيدا بالماء العادي، ثم نختار مقطعا رقيقا ونضعه و على شريحة زجاجية مع قطرة ماء ونغطي بساترة، ثم نفحص العينة بالمجهر الضوئي.

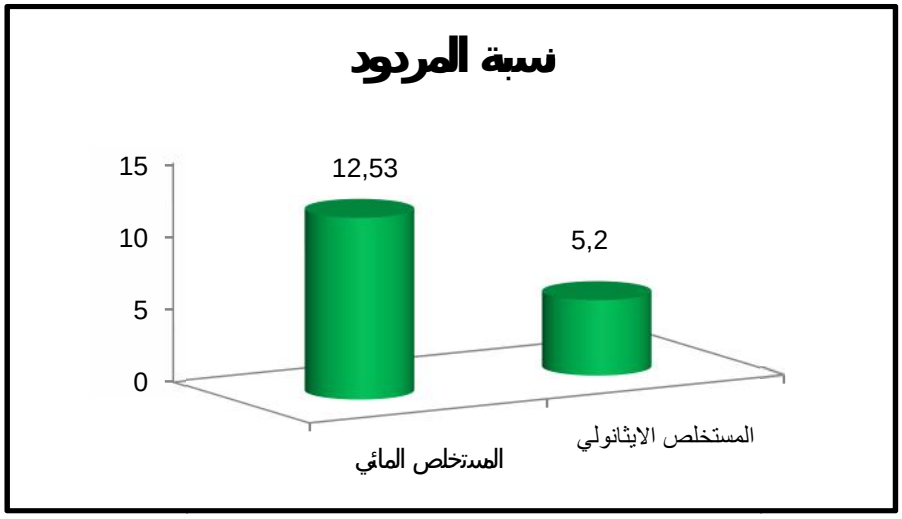
الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I- النتائج والمناقشة

I-1- حساب المردود لمستخلصات النبات

بعد عملية الاستخلاص تم تقدير المردود بـ (%) والنتائج مدونة في الشكل (01):



الشكل (01): مردود المستخلص المائي و الايثانولي لأوراق نبات الحسك *Tribulus terrestris* L.

أظهر تقدير مردود الاستخلاص بالنسبة لـ 10غ من الوزن الجاف لأوراق النبات أن المستخلص المائي يمتلك المردود الأعلى والذي قدر بنسبة 12.53% في حين أظهر المستخلص الايثانولي مردود أقل بنسبة 5.2%.

أظهرت نتائجنا أن كمية المردود للمستخلص المائي اكبر من المستخلص الايثانولي، حيث كانت مقاربة لنتائج (Raja et Venkataraman.,2011) في دراسة سابقة على نفس النبات لكن من منطقة مختلفة،حيث قدر مردود المستخلص المائي بـ 10.52% أما بالنسبة للمستخلص الايثانولي قدر بـ 6.46%.

يعود هذا الاختلاف إلى عمر النبات، الظروف المناخية للمنطقة، مرحلة نمو النبات و الجزء النباتي المدروس (Raja et Venkataraman.,2011).

إذ يرتبط الاختلاف في نسبة مردود الاستخلاص بقطبية المحلول ونوعيته الذي يحدد كمية المركبات المستخلصة وهذا ما أثبته العديد من الدراسات التي بيّنت أن المحاليل القطبية من أكثر وأحسن الأنظمة استعمالا للإستخلاص، ا أن لوقت الاستخلاص ودرجة الحرارة ونسبة العينة بالنسبة للمحلول والتركيب الكيميائي للنبات لها دور مهم في عملية الاستخلاص (Robards.,2003).

I-2- الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية

بعد الكشف عن المواد الفعالة التي أجريت على المستخلصين المدروسين تحصلنا على النتائج التالية:

الجدول (04): الكشف عن المواد الفعالة في مستخلصي أوراق نبات الحسك

مركبات الأيض الثانوي	المستخلص المائي	المستخلص الايثانولي	الملاحظة
الصابونوزيدات			بقاء رغوة في المستخلص المائي وعدم بقاءها في المستخلص الايثانولي.
المركبات المرجعة			ظهور راسب أحمر أجوري في المستخلص الايثانولي و عدم ظهوره في المستخلص المائي
الفلافونويدات			ظهور اللون الأصفر في المستخلص المائي و الايثانولي
القلويدات			ظهور راسب بني في المستخلص المائي وعدم ظهوره في المستخلص الايثانولي
الستيرولات والتربينات الثلاثية			ظهور طبقة بنية حمراء تفصل بين طبقتين في المستخلص الايثانولي وعدم ظهورها في المائي
التانينات			ظهور اللون الأزرق المخضر في المستخلص المائي وعدم ظهوره في الايثانولي

الجدول (05): النتائج المتحصل عليها من الكشف عن المواد الفعالة لأوراق نبات الحسك

مركبات الأيض الثانوي	المستخلص المائي	المستخلص الايثانولي
الصابونوزيدات	+++	-
المركبات المرجعة	-	++
الفلافونويدات	+++	++
القلويدات	+	-
الستيرولات والتربينات الثلاثية	-	+
التانينات	+	-

(+): وجود المادة الفعالة بكمية قليلة

(++): وجود المادة الفعالة بكمية متوسطة.

(+++): وجود المادة الفعالة بكمية عالية.

(-): عدم وجود المادة الفعالة.

من خلال نتائج الجدولين (04) (05) يتضح لنا أن المستخلص المائي للأوراق يحتوي على كمية عالية من الصابونوزيدات و لفلافونويدات وبكمية قليلة من التانينات و لقلويدات وعدم احتواءه على المركبات المرجعة، الستيرولات والتربينات الثلاثية.

أما بالنسبة للمستخلص الايثانولي فنلاحظ تواجد المركبات المرجعة و لفلافونويدات بكمية متوسطة، وبكمية قليلة لكل من الستيرولات والتربينات الثلاثية وعدم احتواءه على التانينات، القلويدات و الصابونوزيدات.

من خلال النتائج المحصل عليها من الكشف الفيتوكيميائي تبين لنا أن أوراق نبات الحسك غنية بمنتجات الأيض الثانوي وهذا ما أكدته (El-Shaibany et *al*.,2015).

نفسر تواجد المركبات المرجعة في أوراق النبات لكونها مقر عمليات التمثيل الضوئي حيث تخزن السكريات البسيطة على هيئة جليكوسيدات يمكن إعادة استعمالها خلال مراحل حياته (هيكل وعمر.، 1993).

تتوزع الفلافونويدات على كافة الأعضاء النباتية تقريبا،فتوزعها على المساحات الورقية يشكل طبقة واقية تعمل على حماية النبات من الظواهر النتحية، ولكون نبات الحسك ينمو في الأوساط الجافة وهذا ما

يفسر وجود الفلافونويدات في النبات إضافة لدورها الواقي للنباتات من الأمراض التي تسببها الفطريات و البكتيريا،فبعض النباتات تفرز بعض الأنواع من المركبات الفلافونويدية في مستوى الأوراق و الجذور لاستعمالها كمواد سامة تمنع نمو النباتات المتطفلة (Marfak.,2003).

إن وجود القلويدات ضروري للنبات فهي بمثابة مخزون احتياطي لعنصر النيتروجين لإمداده به وقت الحاجة إليه وعند نقصه بالتربة و لها أيضا دور دفاعي فهي تستعمل كمنظمات للنمو و بهذا نفسر تواجدها في نبات الحسك (العابد.،2009).

نفسر وجود التانينات في أجزاء مختلفة من النبات لدورها الهام في عملية البناء التركيبي للنبات، وفي التخلص من بعض نواتج العمليات الحيوية خارج أنسجة النبات، فهي أيضا تعتبر مواد مطهرة تحمي النبات من الحشرات الضارة فوجودها ضروري لحماية النبات لينمو نموا طبيعيا (عميرة.، 2005).

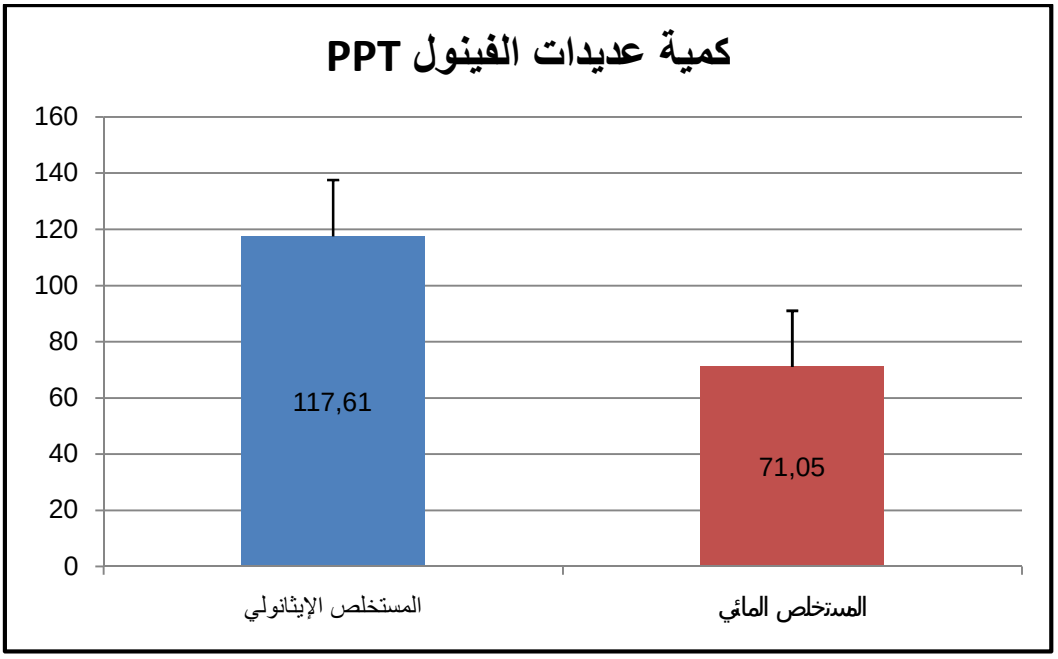
التربينات و الستيرولات هي مركبات هيدروكربونية تتميز بالرائحة العطرة من هذا المنطلق نستطيع تفسير وجودها في النبات كونها مركبات يستعملها النبات استعدادا لمرحلة الإزهار نظرا لرائحتها الجاذبة للحشرات بهدف مساعدة النبات في عملية التلقيح (Messai., 2011).

I-3- التقدير الكمي للمركبات الفينولية

I-3-1- التقدير الكمي لعديدات الفينول (PPT)

قدرت كمية المحتوى الفينولي بإستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك في الايثانول و الماء، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية للمستخلصين المائي و الايثانولي بالمليغرام (mg) على أساس حمض الغاليك المكافيء / غرام (g) من وزن المستخلص الجاف.

حيث يظهر جليا التمايز في كمية عديدات الفينول بين كلا المستخلصين ففي المستخلص الإيثانولي كانت كمية عديدات الفينول تقدر بـ 117.61 ± 0.102 mg AG E/g أما بالنسبة للمستخلص المائي فقد أظهر نسبة أقل من عديدات الفينول حيث قدرت قيمتها بـ 71.05 ± 0.063 mg AG E/g.



الشكل (02): كمية عديدات الفينول في المستخلص المائي و الايثانولي لنبات الحسك بالملغ مكافئ لحمض الغاليك /غ من وزن المستخلص الجاف.

الكثير من الدراسات السابقة إهتمت بدراسة المحتوى الفينولي للنبات من مناطق جغرافية متعددة، كالدراسة التي أجرها Mishra **و** Singh Bisht (2012) على أوراق نبات الحسك في منطقة اوريسا بالهند حيث تحصل على كمية من الفينولات 25.67±0.044 mg AG E/g.

ودراسة Kratchanova و آخرون (2010) حول المستخلص الأسيتوني للجزء الهوائي لنبات الحسك من منطقة بلغاريا قدرت كمية عديدات الفينول 56.81±2 mg AG E/g أما المستخلص المائي فكانت كميتها 27.90 ±1.01mg AG E/g.

يرجع التباين في الكميات المعتبرة لعديدات الفينول إلى المنطقة المختارة وكذلك لطبيعة المناخ بالإضافة إلى اختلاف نوعية التربة وكذلك وقت جمع النبات (Atmani et *al*.,2009).

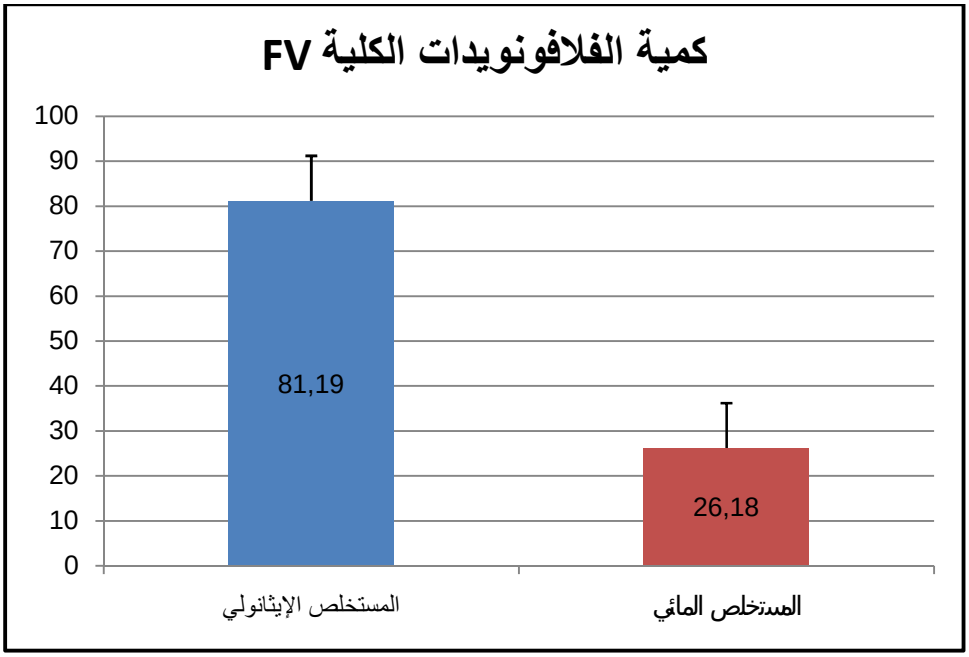
كما قام Jayanthy و آخرون (2013) بتقدير عديدات الفينول من المستخلص الميثانولي للثمار من منطقة الهند، فكانت قيمتها 28 mg AG E/g.

يمكن أيضا تفسير الاختلاف الملاحظ في كمية الفينولات الكلية إلى قطبية مختلف هاته المركبات المتواجدة في النبات (Wojcikowski et *al*.,2007).

I-2-3- التقدير الكمي للفلافونويدات(FV)

قدرت كمية الفلافونولات بإستعمال المنحنى القياسي للكريستين في الايثانول وفي الماء، حيث حسبت كمية الفلافونويدات بالمليغرام (mg) على أساس حمض الكرستين المكافيء /غرام (g) من وزن المستخلص الجاف.

أظهرت النتائج المبينة في الشكل (03) أن كلا المستخلصين يحتويان على كميات معتبرة من الفلافونويدات غير أن المحتوى الفلافونويدي للمستخلص الايثانولي كانت اكبر حيث وصلت قيمتها إلى 81.19 ± 0.085 mg QUE/g وسجلت كميتها في المستخلص المائي 0.083 ± 26.18 mg QUE/g.



الشكل (03): كمية الفلافونويدات في المستخلص المائي والايثانولي لنبات الحسك بالملغ مكافئ للكرستين /غ من وزن المستخلص الجاف.

تعتبر كمية الفلافونيدات التي تحصلنا عليها كبيرة بالمقارنة بكمية لفلافونيدات لنفس النبتة في دراسة قام بها Mishra و Singh Bisht (2012) على الأوراق حيث تحصل على 0.45±0.004 mg QU E/g.

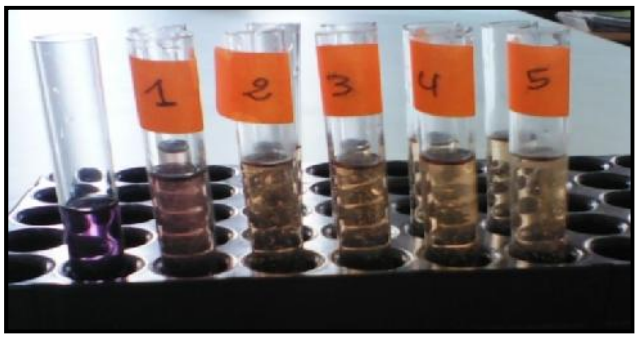
كما قام Jayanthy و آخرون (2013) بتقدير الفلافونويدات الكلية للمستخلص الميثانولي للثمار من منطقة الهند، فكانت قيمتها 0.785 mg AG E/g.

يعزى الإختلاف في كمية الفلافونويدات إلى طريقة الإستخلاص ودرجة الحرارة ومدة الإستخلاص ونوع المذيب المستعمل (Khoddami et *al*.,2013; Cai et *al*.,2010).

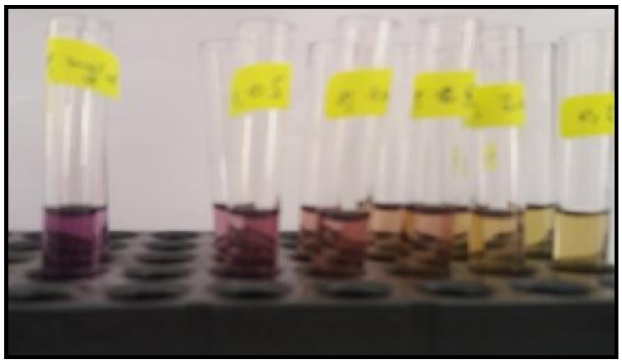
I-4- تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

تم تقدير التأثير الإزاحي للمستخلصين عن طريق اختبار تثبيط الجدر الحر DPPH$^{\bullet}$ وعموما تستعمل هذه الطريقة بكثرة في تحديد التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية وذلك لسرعته وفعاليته (Mosquera et *al*.,2007).

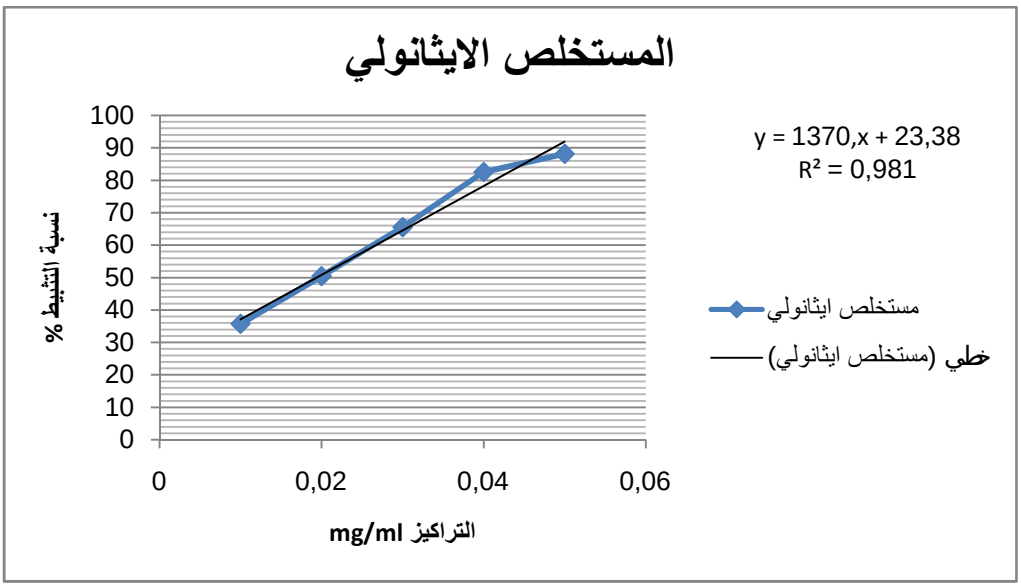
من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة (22) و(23) نلاحظ درجة التغير من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر، إذ ترتبط ذلك بالتراكيز المختلفة للمستخلص.



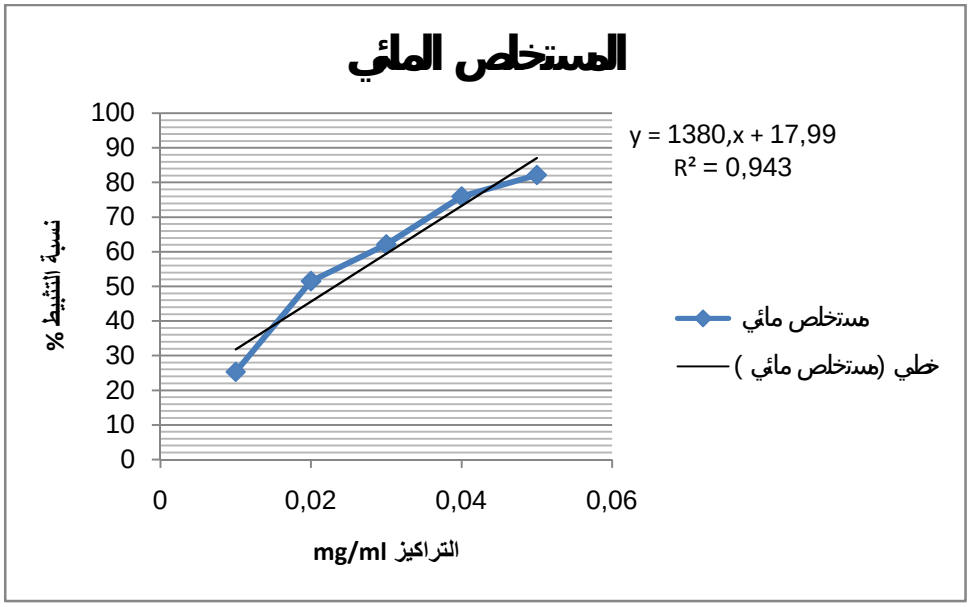
الوثيقة-22- نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلص المائي



الوثيقة -23- نتائج اختبار DPPH بالنسبة للمستخلص الايثانولي



الشكل (04): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز (mg/ml) للمستخلص الايثانولي



الشكل (05): نسبة التثبيط I% بدلالة التركيز (mg/ml) للمستخلص المائي

من خلال نتائج الشكلين (04) و (05) نلاحظ أن كلا المستخلصين لهما القدرة على إزاحة جذر DPPH بشكل يتوافق مع تركيز المستخلص المائي و الإيثانولي ي هناك علاقة طردية بين تركيز المستخلصين ونسبة تثبيط الجذر الحر.

بالنسبة للمستخلص الايثانولي عند التركيز(0.05 mg/ml) أعطى أفضل نشاطية مضادة للأكسدة كانت مساوية لـ 88.20% مقارنة بالمستخلص المائي حيث كانت 82.16% أما عند التركيز

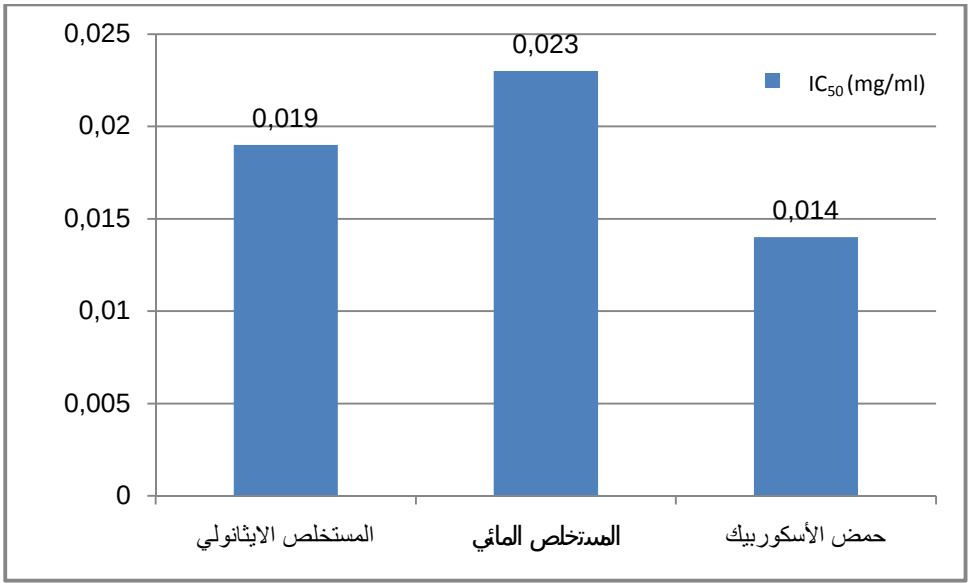
(0.01mg/ml) فكانت النشاطية عند المستخلص الايثانولي 35.72% وعند نفس التركيز للمستخلص المائي 25.35%.

I-4 -1- تحديد مقدار IC_{50}

تم تعيين قدرة المستخلصين المدروسين على كبح الجذر الحرDPPH من خلال منحنيات التثبيط بدلالة التركيز وذلك بحساب قيمة IC_{50} من المعادلات الخطية لكل من منحنيات التثبيط (I%) وهذه القيم تعبر عن تراكيز المستخلصين المدروسين اللازمة لإنقاص نصف تركيز الجذر الحرDPPH عند 517nm، ومن المعروف أنه كلما كانت قيم IC_{50} صغيرة تكون الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلص جيدة.

الجدول (06): قيم IC_{50} المتحصل عليها لكل من المستخلص المائي و الإيثانولي وحمض الأسكوربيك

المستخلص	الإيثانولي	المائي	حمض الأسكوربيك
IC50 (mg/ml)	0.019	0.023	0.014



الشكل (07): قيم الـ IC_{50} لكل من المستخلص الايثانولي والمائي وحمض الأسكوربيك

أظهر المستخلص الإيثانولي القدرة الإزاحية الأكبر بقيمة IC_{50} مساوية لـ 0.019 mg/ml في حين كان المستخلص المائي الأقل تأثيرا بـ 0.023 mg/ml.

بمقارنة قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك و التي تقدر ب 0.014mg/ml مع قيمة IC_{50} للمستخلصين نجد أن الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي والمائي أقل من فعالية حمض الأسكوربيك و هذا يدل على أن الفعالية المضادة الأكسدة للمستخلصين المائي والايثانولي لنبات الحسك متوسطة.

يعزى هذا التأثير المضاد للأكسدة للمستخلصين للكمية المعتبرة للمركبات الفينولية و الفلافونويدات التي يحتويها هذين المستخلصين، فقد أكدت دراسات عديدة أن هناك رتباط وثيق بين المحتوى الفينولي و الفلافونويدي والتأثير الإزاحي للمستخلصات النباتية (Nowak et Gawlik-Dziki.,2007).

في حين أشارت Lokhande و آخرون 2014 أن IC_{50} للمستخلص المائي قدرت بـ 0.439mg/ml أما بالنسبة للمستخلص الايثانولي فكانت 0.416mg/ml في دراسة أجرتها على أوراق نبات الحسك في منطقة الهند.

يمكن أن تعزى الاختلافات في النشاط المضاد للأكسدة بين نفس النبات إلى بعض العوامل البيئية مثل المناخ والموقع الجغرافي ودرجة الحرارة والتي يمكن أن تؤثر بشكل كبير على تراكم المركبات المضادة للأكسدة في المادة النباتية (Vangalapati et *al*.,2014).

كما بينت Sathisha و آخرون 2011 أن IC_{50} للمستخلص الميثانولي لنبات الحسك المنتج لأغراض تجارية تقدر بـ 0.65mg/ml.

تعرف المركبات الفينولية بقدرتها المضادة للأكسدة، ويرجع ذلك لاحتواء الفلافونويدات على مجموعات الهيدروكسيل التي تساهم مباشرة في التأثير المضاد للأكسدة. حيث يزيد النشاط المضاد للأكسدة مع زيادة درجة الهيدروكسيل، وعند ارتباطها بمجموعة أخرى كالميثيوكسيل يقل من النشاط (Hatano et *al*.,1989).

تعتبر الفينولات كعوامل مرجعية، و معطية للهيدروجين و كآسرات للأكسجين الأحادي وهي عبارة عن مانحات جيدة للإلكترونات (Rice-Evans et *al*.,1997).

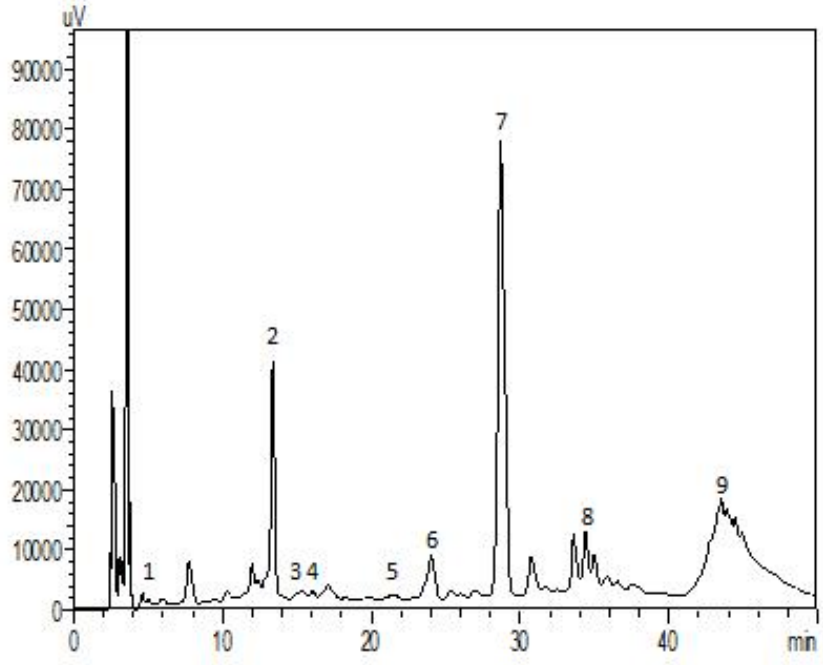
I-4- تحديد بعض المركبات الفينولية لمستخلصي النبات عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء(HPLC)

بعد التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصين المائي و الايثانولي لنبات الحسك باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)، بينت النتائج احتواء كل مستخلص على عدد من المركبات الفينولية، حيث تم الحصول على 63 مركبا فينوليا عند تحليل المستخلص المائي بينما تم الحصول على 47 مركب في المستخلص الإيثانولي و يرجع الاختلاف في عدد المركبات غالبا إلى قطبية المذيب و قدرته على استخلاص معظم عديدات الفينولات الهشة (أنظر الملحقIII).

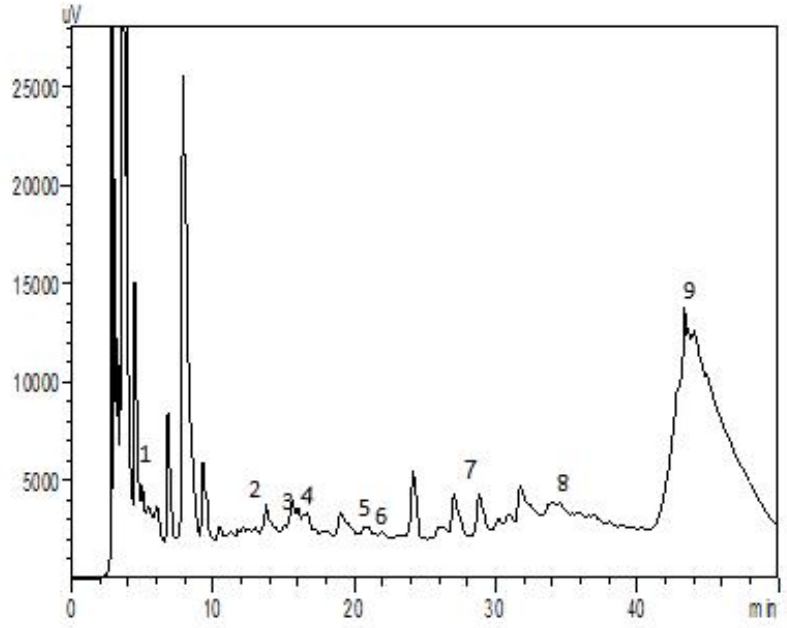
حيث حددنا 9 مركبات في كل مستخلص من خلال مقارنة زمن مكوثها مع زمن المركبات الفينولية المرجعية (الجدول (07))، وهي مبينة على المنحنيات الكروماتوغرافية للمستخلصين الشكلين (08) (09).

الجدول (07): المركبات الفينولية المتواجدة في المستخلصين

رقم المركب	المركبات المرجعية	زمن المكوث للمركب المرجعي (min)	زمن المكوث في المستخلص الإيثانولي (min)	زمن المكوث في المستخلص المائي (min)
1	حمض الغاليك	5.29	5.03	5.41
2	حمض الكلوروجنيك	13.39	13.37	13.70
3	الفانليك أ	15.53	15.35	15.60
4	حمض الكافييك	16.27	16.03	16.41
5	الفانلين	21.46	21.39	21.41
6	الكومارين	23.81	24.01	23.50
7	الروتين	28.37	28.68	28.82
8	النارجنين	34.78	34.37	34.47
9	الكرستين	45.04	44.89	44.89

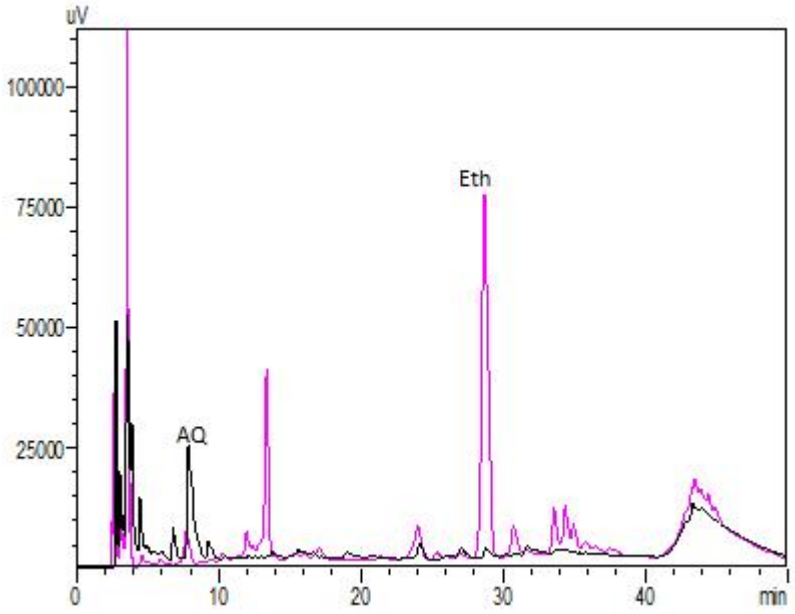


الشكل (08): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص الايثانولي



الشكل (09): المنحنى الكروماتوغرافي للمستخلص المائي

يمكن القول أن كلا المستخلصين يحتويان نفس المركبات الفينولية المرجعية لكن كميتها تختلف بدليل اختلاف مساحة القمم فقد كانت كميتها في المستخلص الايثانولي أكبر من المستخلص المائي، كما هو مبين في الشكل (10).



الشكل (10): مقارنة بين كميات المركبات الفينولية في المستخلصين

من خلال الجدول (08) يمكن القول أن المستخلصين يحتويان على نفس المركبات الفينولية المرجعية (حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الفانيليك أ، النارجنين، الكريستين، الفانيلين، الروتين و الكومارين) لكن بتراكيز مختلفة، أبدى المستخلص الايثانولي تراكيز كبيرة للروتين بقيمة 17.03مغ/غ، تليها تراكيز حمض الكلوروجنيك، الكريستين، النارجنين و الكومارين بتراكيز 8.77 مغ/غ، 5.05 مغ/غ، 2.9 مغ/غ، 1.1مغ/غ من المستخلص على التوالي. و بتراكيز منخفضة لحمض الغاليك 0.16 مغ/غ، الفانليك أ 0.15 مغ/غ وحمض الكافييك 0.05 مغ/غ من المستخلص.

أما بالنسبة للمستخلص المائي فكان أكبر تركيز للكريستين بقيمة 4.54 مغ/غ، ويليه الروتين بـ 0.46 مغ/غ، حمض الغاليك بـ 0.3 مغ/غ، حمض الكلوروجنيك0.31 مع/غ و النارجنين 0.23 مغ/غ، وبأقل تركيز للكومارين و الفانلين بـ 0.009 مع/غ من المستخلص.

الجدول (08): تراكيز المركبات الفينولية المعروفة في المستخلصين لنبات الحسك بالملغ/غ من كل مستخلص

	التراكيز بملغ/غ (mg/g) من المستخلص	
المركبات الفينولية	**المستخلص الايثانولي**	**المستخلص المائي**
حمض الغاليك	0.16	0.3
حمض الكلوروجنيك	8.77	0.31
الفانليك أ	0.15	0.11
حمض الكافييك	0.05	0.03
الفانيلين	0.1	0.009
الكومارين	1.1	0.009
الروتين	17.03	0.46
النارجنين	2.9	0.23
الكريستين	5.05	4.54

I-6- الدراسة التشريحية للنبات

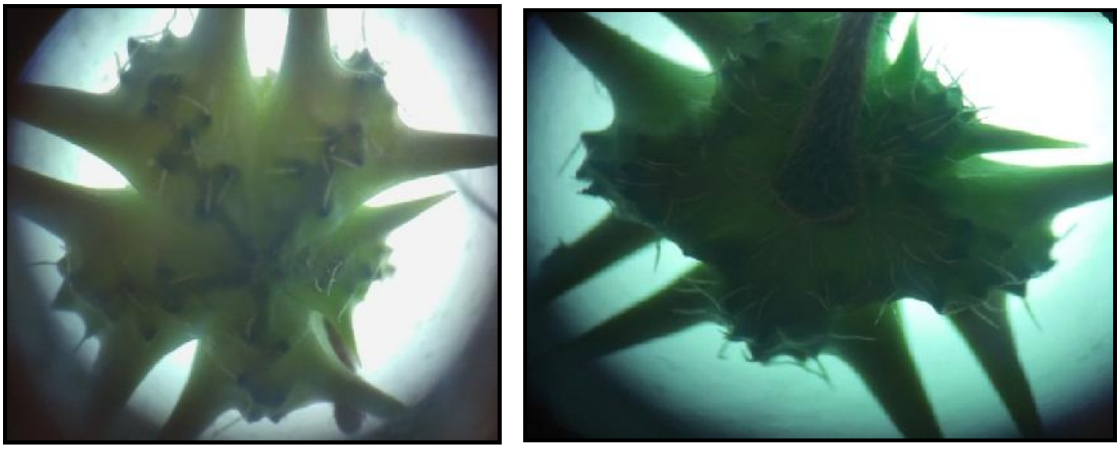
I-6-1- الدراسة التشريحية الأزهار

من خلال الملاحظة المجهرية لأزهار نبات الحسك *Tribulus terrestris* L نلاحظ أن الكأس يتكون من 5 سبلات منفصلة طولها يتراوح من 3- 5 ملم، ذات لون اخضر شاحب كثيرة الشعيرات على السطح السفلي. أما التويج يتكون من 5 بتلات بيضاوية منفصلة تكون واسعة ومتعرجة في القمة وطولها يتراوح بين 0.6- 1 سم، ذات لون أصفر،وتتكون من 10 أسدية حرة، ذات خيط رفيع ضامر ينتهي بمأبر صغير كامل و المبيض يكون لاطئ يتكون من بويضة واحدة.

الوثيقة -24- أزهار نبات الحسك*Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي

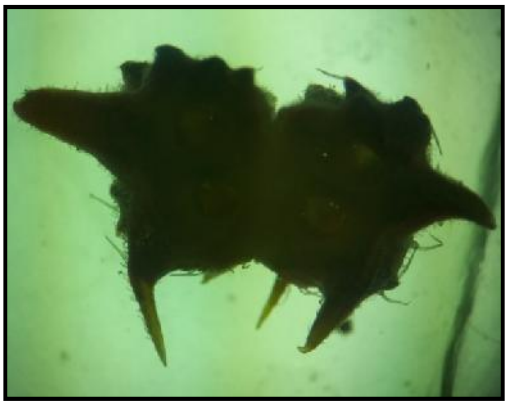
I-6-2- الدراسة التشريحية للثمار

الثمار ذات شكل خماسي مضلع أو نجمة مغطاة بالكثير من الشعيرات،و بها خطوط عريضة وتحتوي الثمرة على خمسة أزواج بارزة من الأشواك وهي تتكون من 5 مكورات.



الوثيقة-25- ثمار نبات الحسك*Tribulus terrestris* L تحت المكبر الضوئي

وعند ملاحظة المقطع العرضي للثمار نلاحظ أن كل مكورة تتكون من غرفتين بينها فاصل و بها أربعة بذور.



الوثيقة-26- مقطع عرضي لثمار نبات الحسكL *Tribulus terrestris* تحت المكبر الضوئي

I-6-3- الدراسة التشريحية للساق

من خلال المقاطع العرضية التي أنجزت لسيقان نبات الحسك *Tribulus terrestris* L لاحظنا أنها ذات شكل دائري متعرج قليلا و لوحظ التسلسل النسيجي التالي من الخارج نحو الداخل يتمثل في أربع مناطق نسيجية متباينة في اللون وشكل الخلايا تتمثل في البشرة ،القشرة ، الحزم الوعائية والنخاع.

- **البشرة**

البشرة تتكون من طبقة واحدة من الخلايا الصغيرة لها نفس الحجم ذات جدران رقيقة الجدار الخارجي تبرز منه أوبار أو أشعار طويلة غير غدية توجد في مواقع متعددة، بسيطة تتكون من خلية واحدة متطاولة.

- **القشرة**

تتكون القشرة من 5-7 طبقات من خلايا برانشيمية صغيرة وأخرى كبيرة الحجم شبه كروية،حيث الخلايا التي تتواجد تحت البشرة تكون صغيرة الحجم أما الخلايا التي تليها تكون كبيرة الحجم ذات فراغات صغيرة بين الخلايا،وتكون متواجدة بين البشرة والحزم الوعائية.

- **النخاع**

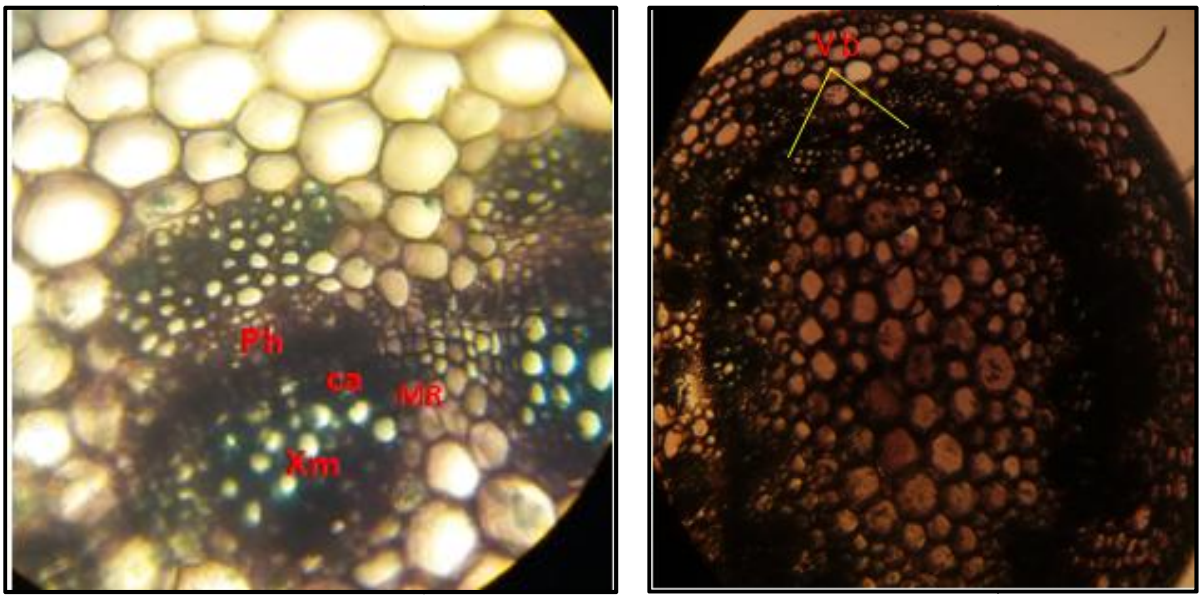
النخاع يحتل الجزء الأكبر من مساحة المقطع، يتكون من خلايا برانشمية صغيرة في الطرف و كبيرة الحجم في مركز المقطع رقيقة الجدران ذات مسافات بينية صغيرة بين الخلايا.

الوثيقة -27- مقطع عرضي للساق تحت المجهر الضوئي بتكبير 10*10.

E: Epidermis, **C:** Cortex, **Vb:** Vascular bundles, **P:** pith, **Nh :**Nonglandular hairs.

- **الحزم الوعائية**

نلاحظ أن ترتيب الحزم الوعائية يكون دائري في شكل حلقة بالقرب من محيط الساق وتكون قريبة من بعضها البعض، ويكون عددها 13حزمة وعائية،تتكون كل حزمة من خشب في جهة الداخل يقابله اللحاء نحو الخارج ويوجد بينهما الكامبيوم cambium، وهي من النوع المفتوح.



الوثيقة- 28- الحزم الوعائية في الساق تحت المجهر الضوئي بتكبير 40*10.

Ph: phleom, **X:** xylem, **ca:** cambium, **MR:** Medullary rays

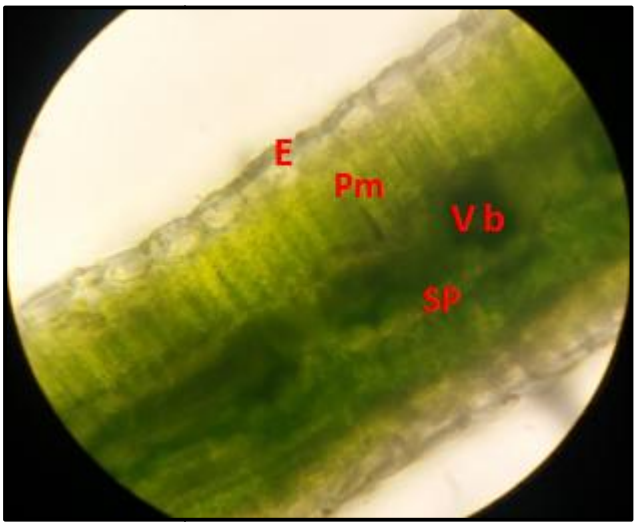
I-4-6- الدراسة التشريحية للورقة

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 تغلف بطبقة رقيقة من الكيوتيكيل تحت البشرة يوجد النسيج اليخضوري العمادي ومن ثم خلايا النسيج الإسفنجي.

المقطع العرضي للورقة يظهر أيضا وجود عرق رئيسي و 10عروق ثانوية في هذه العروق توجد حزم وعائية بين النسيج الاسفنجي و العمادي متغايرة في الحجم, حيث لوحظ وجود حزمة وعائية كبيرة وسطية الموقع وعلى جانبيها تترتب حزم وعائية تغ [redacted] كبيرة وسطية الموقع وعلى جانبيها تترتب حزم وعائية متغايرة في الحجم

الخشب إلى البشرة العليا واللحاء إلى البشرة الأدنى ويحيط بهده الحزم الأوعية خلايا كلورانشيمية.



الوثيقة -29- مقطع عرضي للأوراق تحت المجهر الضوئي بتكبير 40*10.

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

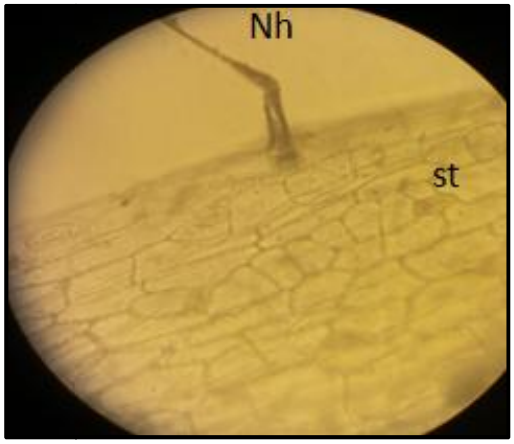
Sp: Spongy mesophyll.

❖ **البشرة العليا للورقة**

تتكون من صف واحد من الخلايا المتطاولة متعددة الأضلاع مختلفة الأحجام وعدم وجود

تتكون من صف واحد من الخلايا المتطاولة متعددة الأضلاع مختلفة الأحجام وعدم وجود

شكلها كلوي متطاول وتغطى البشرة بشعيرات أحادية الخلية غير غدية، بسيطة لها رأس حاد ومدبب.

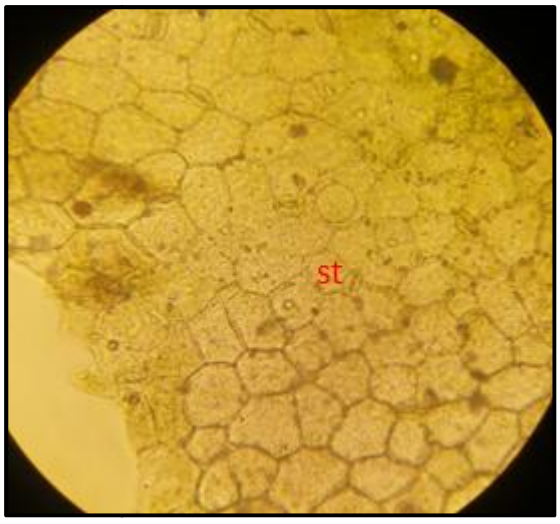


الوثيقة-30- البشرة العليا للورقة تحت المجهر الضوئي بتكبير 40*10.

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

❖ **البشرة السفلى للورقة**

تتكون البشرة السفلى من خلايا ذات حجم أصغر من خلايا البشرة العليا، وتكون مغطاة بعدد أقل من الشعيرات أحادية الخلية، بسيطة وغير غدية، و بها عدد كبير من الثغور.



الوثيقة-31- البشرة السفلى للورقة تحت المجهر الضوئي بتكبير 40*10.

St: Stomata.

I-6-5-الدراسة التشريحية للجذر

أظهرت المقاطع العرضية التي تم إجراؤها على مستوى الجذر أنه ذو شكل دائري تقريبا يتكون من:

- **طبقة فليلنية** نسيج واقي يتكون من طبقتين إلى ثلاث طبقات من الخلايا المتفللنة
- **القشرة**

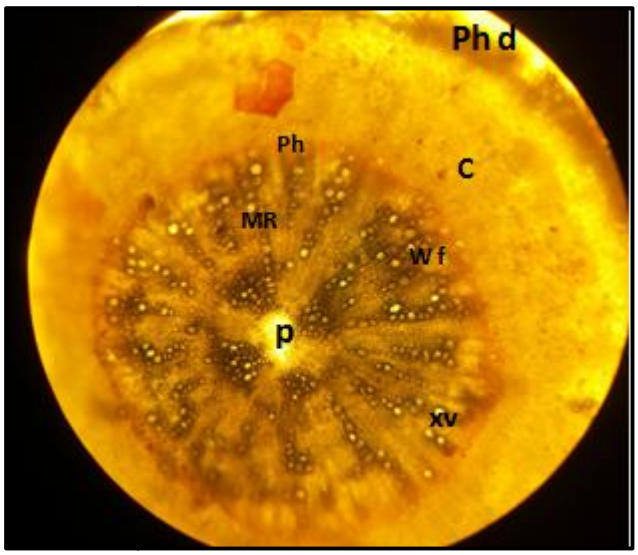
القشرة تشغل حيزا كبيرا من المقطع العرضي للجذر حيث تتكون من عدة طبقات من الخلايا البرانشمية ذات جدران رقيقة، و بها مسافات صغيرة بين الخلايا.

- **الحزم الوعائية**

نلاحظ أن ترتيب الحزم الوعائية يكون شعاعي وتتكون من خلايا غير متجانسة في الشكل و الحجم، ويتراوح شكلها من الكروي إلى البيضاوي. وعددها 8 حزم وعائية مع وجود مسافات صغيرة بين الخلايا.

- **النخاع**

النخاع يشغل مركز الجذر ويتركب من خلايا برانشيمية ويكون النخاع ضيق جدا، كما يوجد تجويف في مركز النخاع.



الوثيقة-32- مقطع عرضي للجذر تحت المجهر الضوئي بتكبير 10*10.

Ph d: Phylodermis, **C:** Cortex, **Ph:** phloem, **MR:** Medullary rays, **Wf:** wood fiber, **xv:** xylem vessel, **P:** pith.

من خلال دراسة المقاطع العرضية التي تم إجراؤها في السيقان، الجذور والأوراق لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.لاحظنا أن الأوراق تغلف بطبقة رقيقة من الكيوتيكيل و تنتشر ثغور صغيرة الحجم في كلا السطحين السفلي والعلوي للبشرة، لكن كثافتها في السطح السفلي أكثر، وتتميز بعدم وجود فراغات بين خلايا البشرة، كما تنتشر الشعيرات الغير غدية وحيدة الخلية في الجهة العليا للورقة لكنها جد نادرة على الجهة السفلية.كما تتميز بوجود حزمة وعائية جانبية وسطية وعلى جانبيها تترتب حزم وعائية أخرى صغيرة الحجم وهذا ما أشارت إليه دراسة (Semerdjieva.,2011) بعد قيامها بفحص المقاطع العرضية للأوراق.

نقص تواجد الثغور وصغر حجمها في البشرة العليا شابهت نتائج (Perveen.,2007) الذي أفاد بأن ثغور نبات الحسك صغيرة الحجم وبذلك تقل مساحة سطح الورقة وهذا ما يقلل فقدان المزيد المياه وللتكيف مع البيئة الجافة.

انخفاض كثافة الشعيرات هي خاصية لتكيف النباتات في المناطق ذات درجات الحرارة العالية ومحدودة المياه، فطبقة الكيوتيكيل للبشرة تقلل من فقدان المياه ولها دور في السيطرة على درجة حرارة السطح من خلال عكس أو تغيير الإشعاع الوارد. وتواجد خلايا النسيج العمادي و النسيج الإسفنجي بين طبقتي البشرة، حيث هذا الترتيب يزيد من معدل كفاءة التمثيل الضوئي وذلك لوجود الخلايا في الزاوية المثلى لتلقي مستويات عالية من الضوء (Anna et Andon.,2011).

أما فيما يخص الساق حيث أظهر التركيب التشريحي له بأنه ذو شكل دائري ويكون مغطى بطبقة سميكة من الكيوتيكيل تبرز منها شعيرات طويلة، وأن القشرة تتكون من خلايا برانشيمية متفاوتة الأحجام، وتنتشر 13حزمة وعائية على شكل دائري.كما أن النخاع يحتل غالبية المقطع وهذا ما أكده (Mamdouh et *al*.,2013).

أشار Elkamali و آخرون (2016) أن نباتات المناطق الجافة تتميز بوجود طبقة من الكيوتيكيل السميكة وذلك للتقليل من فقدان الماء ولتأقلم النبات مع الظروف الجافة، كما أن لوجود الشعيرات دور في وقاية النبات وتدعيمه ضد المؤثرات الخارجية.

أما بالنسبة للجذر فبينت المقاطع العرضية له أن القشرة تحتل معظم مساحة المقطع و بها عدة طبقات من خلايا برانشمية ذات مسافات صغيرة بين الخلايا وهذا ما بينته الدراسة التي أجراها (Mamdouh et *al*.,2013) حول جذر نبات االحسك.

تشير Bejenaru (2016) أن الحزم الوعائية تترتب شعاعيا، النخاع يشغل مركز الجذر ويكون ضيق جدا وهذا ما لاحظناه في المقاطع العرضية التي قمنا بانجازها على مستوى الجذر.

النباتات التي تتميز بوجود منطقة قشرية واسعة في الجذروهذا لتخزين كمية كبيرة من المياه، و تكيفها بشكل جيد مع الظروف المناخية القاسية للمنطقة،والخلايا البرانشيمية التي تشغل مركز النخاع هي مقر تخزين المواد الغذائية والفراغات التي بينها لها دور في تهوية الأنسجة الجذرية وتوصيل الماء والأملاح إلى أنسجة الخشب (Bibi et *al*.,2015).

الخاتمة

الخاتمـــــــة

لمواكبة الاهتمام المتزايد بالنباتات الطبية ولاكتشاف مدى القيمة العلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها هاته النباتات، قمنا بدراسة نبات مهم من العائلة الرطراطية هو الحسك *Tribulus terrestris* L.

تبرز أهمية البحث في كونه تضمن دراسة هذا النبات من الناحية الفيتوكيميائية وذلك بإجراء مسح فيتوكيميائي أولي للتعرف على مختلف المواد الفعالة المتواجدة به، وتقدير المحتوى الفينولي و الفلافونويدي وكذا الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصين المائي و الايثانولي للأوراق، وأخضعنا كلا المستخلصين للتحليل النوعي للمركبات الفينولية باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)، ودعمنا عملنا هذا بإجراء دراسة تشريحية للنبات.

على ضوء النتائج المحصل عليها يمكننا أن نستنبط النقاط التالية :

- مردود المستخلص المائي لأوراق نبات الحسك أكبر من المستخلص الايثانولي.
- بات من المؤكد أن نبات الحسك ذو أهمية حيوية طبيا لكونه غني بالمواد الفعالة، ويستدل على ذلك من نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الايجابية.
- أن مستخلصي النبات غنية بعديدات الفينول والفلافونويدات لكن أعلاها سجل عند المستخلص الايثانولي مقارنة بالمستخلص المائي.
- المستخلص الايثانولي للأوراق له قيمة IC_{50} صغيرة مقارنة بـ IC_{50} للمستخلص المائي وهذا يعني أن له القدرة الازاحية الأكبر.
- أن كلا المستخلصين المستعملين في هذه الدراسة يحتويان على 9 مركبات فينولية مرجعية، لكن تركيز هاته المركبات يختلف ففي المستخلص الايثانولي كان تركيزها أكبر من المستخلص المائي.
- أن أزهار نبات الحسك ثنائية الجنس وثماره تكون مغطاة بالكثير من الشعيرات، و أن البشرة العليا للورقة تكون مغطاة بشعيرات أحادية الخلية البسيطة غير غدية، وتواجد القشرة، الحزم الوعائية والنخاع لكل من الساق والجذر.

في الأخير نرجو أن نكون قد وفقنا في انجاز هذا البحث والمساهمة ولو بقليل في إثراء الرصيد البحثي بخصوص النباتات الجزائرية بصفة عامة و الصحراوية بصفة خاصة.

التطلعات المستقبلية

التطبيق الميداني لمستخلصي الأوراق يتطلب انضمام تخصصات أخرى مكملة وأبحاث ودراسات تشمل:

- إخضاع المستخلصات المائية و الايثانولية لاختبار انعدام السمية حتى نحتاط من كيفية استعمالها والعلاج بها من طرف الإنسان لأمراض مختلفة.
- توسيع دائرة هذا البحث على هذه المستخلصات بإجراء الاختبارات الفيزيولوجية على الكائنات الحية ثم تعميمها أكثر فأكثر حتى تشمل الإنسان.
- التحليل النوعي والكمي للمستخلصين باستعمال طرق وتقنيات أكثر حداثة والبحث عن المركبات النشطة و فصلها ومن بعدها تحديد الصيغ الكيميائية لها ودراسة تأثيرها.
- اختبارالفعالية المضادة للأكسدة باستعمال طرق تقديرية أخرى من أجل إمكانية استعمال المستخلصين كمصدر طبيعي مضاد للأكسدة سهل الوصول إليه وذلك لحماية الأغذية من الأكسدة لزيادة عمر تخزينها مثلا .
- أن ألا تتوقف هذه الدراسة بل نقترح مواصلة هذا العمل إلى دراسة تأثير المستخلص المائي والايثانولي خاصة في مجال الفعالية البيولوجية، وكذلك دراسة جل أجزاء النبات.

المراجع

مراجع اللغة العربية

- المنظمة العربية للتنمية الزراعية.،1988- النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي. الخرطوم،477 ص.
- العابد إ.، 2009 - دراسة الفعالية المضادة للبكتريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*. مذكرة ماجستير،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،105ص.
- أحمد خميس م س.،2006- أجهزة التحليل الطيفي و الكروماتوغرافي.
- بن خناثة م.، 2014 - المساهمة في دارسة مستخلصات نبتة الكلخة *Ferula Vesceritensis*. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 83 ص.
- بن ذهيبة خ.،2013 - دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء من ولاية ورقلة. مذكرة ماستر،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 74ص.
- بن مرعاش ع.،2012- دراسة نواتج الايض الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Convolvulus supinus* Coss . مذكرة ماجيستر، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، 102ص.
- بن سلامة ع.، 2012 - النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertiac heirifolia* L.مذكرة ماجستير،جامعة فرحات عباس، سطيف،64 ص.
- بن عربية ع.،2013- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis*لولاية أدرار. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،54 ص.
- بكه ش.حفيان خ.،2016- الدراسة الفيتوكيميائية والفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة *Zygophyllum gaetulum*. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،44 ص.
- بوبلوطة ح.، 2009 - النشاط المضاد للتاكسد و إمكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتتي *Centaurea Incan* و *Matricaria pubescens* على السمية الكبدية. مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، ص 125.ص
- بوبطيمة ش.،2012- مقارنة بين الطريقة الفيتوكيميائية والطريقة الالكتروكيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر،جامعة قاصدي مرباح ورقلة،62 ص.
- بوغديري ع.،2000- دروس وتطبيقات في علم النبات. ديوان المطبوعات الجامعية،بن عكنون،الجزائر.

- بوقافلة ر.، 2013 - دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis* لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، بورقلة، ص 78.
- بيرش ك، مبرروكي س.،2015- المساهمة في التعرف على طبيعة المستخلص الكلوروفورمي لأحد نباتات الفصيلة القرعية المحلية ،مذكرة ماستر أكادمي ،جامعة قاصدي مرباح ورقلة،56ص.
- بالفارم أ.،2016- المساهمة في دراسة القدرة المضادة للأكسدة لبروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية و الكهروكيميائية.أطروحة دكتوراه،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،231ص.
- جرموني م.، 2009- النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium*. مذكرة لماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف،الجزائر،95ص.
- جيدل ص.،2015 - تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Pistacia lentiscus* L. و *Artemisia campestris* L. و*Argania spinosa* L. أطروحة دكتوراه، جامعة فرحات عباس،سطيف1،121ص.
- حجاوي غ، حسين ح، محمد.، 2009- علم العقاقير و النباتات الطبية، دار الثقافة للنشر و التوزيع، الطبعة الأولى، 259 ص.
- حوة إ.،2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 98 ص.
- جبالي ه.،2012- التقدير المخبري للنشاطية المضادة للأكسدة و الجذور الحرة لبعض المركبات الكبريتية. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،38ص.
- ريسكو ف.،2011- الدراسة فيتوكيميائية و تقدير الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الرقيق *(Hélianthemum lippii)* مذكرة ماستر،جامعة قاصدي مرباح ورقلة،92 ص.
- زاوش ز، محجوبي آ .، 2015- المساهمة في الاستخلاص و الكشف الكروماتوغرافي للمركبات الفعالة لأحد نباتات الفصيلة النجيلية. مذكرة ماستر،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 50 ص.
- زمالي ج.،2007- الدراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة الصحراوية *Solanum Nigrum*. **مذكرة** ماجستير، جامعة ورقلة ،140ص.
- لكحل ه.، 2008- فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة *Stach.ys ocymastrum(*L).Briq.(Lamiaceae). مذكرة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة، 142ص.

- ميثاق ج.،2010- بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات (*Catha edulis*) من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jauberti* من العائلة (Asteraceae)، رسالة دكتوراه، جامعة منتوري، قسنطينة ،142 ص.
- قمولي ص.، 2011- دراسة الكتروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 69 ص.
- سراج م، الحسن.، 2002- تأثير استزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكيميائية والحيوية،جامعة الملك فيصل،المملكة العربية السعودية ، 39 ص.
- شباح ك.،2007- فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي Phoenix dactylifera (Degla beida).مذكرة ماجستير،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، 98 ص .
- شبوعات ي.، 2003- دراسة القلويدات في نبات السدر *zizyphys Mauritiana* .مذكرة ماجستير، جامعة ورقلة، 124ص.
- شويخ ع.،2004- تعداد النباتات الطبية في ولايتي أم لبواقي والوادي.مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا في بيولوجيا النبات، المركز الجامعي أم لبواقي، الجزائر.
- عودة س.م .، 2014- محاضرات في النباتات الطبية والعطرية، قسم البستنة و هندسة الحدائق، كلية الزراعة، المحاضرة الثالثة ،11ص.
- نعمه ج, أبو مجداد, جبر م.،2007- تقيم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر *Ziziphus spina- christi* (L) Desf.مجلة البصرة للعلوم (ب)، مجلد (25)، العدد(1)،1- 16.
- عميرة إ.،2005- علم العقاقير الطبية النظرية والعملية, الطبعة الاولى، دار البداية للنشر، الاردن، 364 ص.
- هيكل م،عمر ع.، 1993- النباتات الطبية و العطرية (كيمياؤها- انتاجها- فوائدها) الطبعة الثانية، دار منشأة المعارف، الاسكندرية، مصر،510 ص.
- عبد الفتاح ب.، 2006- تصنيف النباتات الزهرية الطبعة الاولى، كلية العلوم، جامعة طانطا، دار الأندلس، جمهورية مصر العربية، 430 ص.
- علي ح.، 1987- علم تصنيف النبات. طبعة مشابهة للطبعة الأولى، حقوق الطبع فقط محفوظة لجامعة بغداد، 379ص.
- شكري إ.، 1994- النباتات الزهرية نشأتها، تطورها، تصنيفها، دار الفكر العربي، القاهرة،
- 619 ص.

- عقيل ع، طارق م، جابر س، محمد ع، سليمان م.، 1989- النباتات السعودية المستعملة في الطب الشعبي.إدارة البحث العلمي، مرتبة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية،الرياض.
- عمراني أ.،2013- دور فيتامين C،E والمستخلص البوتانولي لنباتي *Rhantherium suaveolens* و *Chrysanthemum fontanesii* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproate لدى الفئران الحوامل دراسة In vitro و In vivo.رسالة دكتوراه علوم ،جامعة قسنطينة 1،ص 106.
- محمد طه م.،مثنى ج.، 2008- فصل المركبات القلويدية من ثمار نبات القطب *Tribulus t terrestris* L. ودراسة تأثيرها البايولوجي في نمو عدد من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام،جامعة الموصل، العراق،5ص.
- محمد احمد ع.، 1997- النباتات السعودية المستعملة في الطب الشعبي .إدارة البحث العلمي، مرتبة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية،الرياض، 354 ص.
- زيدي م.، 2012 - المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات *Deverra scoparia* البسباس البري - الزيوت الطيارة و الليبيدات-. مذكرة ماستر،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،50ص.

مراجع اللغة الأجنبية

- Abirami P., A. Rajendran.,2011- GC-MS Analysis of *Tribulus terrestris* L. Asian Journal of Plant Science and Research, Vol.1. 4.13-16P.
- Aggab A.,2009 - Caractéristique de la faune arthropodologique dans la région de Souf (Debila et Hassi Khalifa), Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques, Universite Kasdi Merbah ,Ouargla,124p.
- Ahmad.,2011- Analysis of inorganic profile of *Tribulus terrestris*. International Journal of the Physical Sciences, Vol. 6. 25 p.
- Alka J., Padma K., 2013- Extraction and quantification of Sterols from *Tribulus Terrestris* L. *Sida Acuta Burm* f. and *Tridax Procumbens* L. International Journal of Current Pharmaceutical Research,Vol 5 .Issue 2.95-97p.
- Anita P., Bipin D., Lade.,2015- Pharmacological Aspects of *Tribulus terrestris* Linn. (Goksura):Progress and Therapeutic Medicinal Plants: From Lab to the Market. University Amravati India Prospects, 376-391p.
- Anna N., Andon V.,.2011- A Study on *Tribulus Terrestris* L Anatomy and Ecological Adaptation. Biotechnology & Biotechnological Equipment. Vol.25.2. 2369-2372.
- Antonio J., Uelmen J., Rodriguez R., Earnest C., 2000 - The effects of *Tributus terrestrs* on body composition and exercise performance in resistance trained male. Int,J, sport, Nutr, Exerc, Metab. Vol. 10.(2): 208-215P.
- Arcasoy HB., Erenmemisoglu A., Tekol Y., Kurucu S., Kartal M.,1998- Effect of *Tribulus terrestris* L. saponin mixture on some smooth muscle preparations: A preliminary study. Boll, Chim Farm, Vol. 137:473-5P.
- Atheer K., Al-Rubii M., 2005- Effect of *Tribulus terrestris* L Extract on Prostatic and Testicular Functions of Castrated Rabbits M. Sc Degree in Science of Animal Physiology,University of Baghdad,80p.

- 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.
- Awwad S.D., Al- Mallah N.M., Al- Sharok M., Al- Jamel K.,1988 - Synergistic effect some oils of weed seeds on synthesis Pyrethoids and organ orphorus insecticides,Weed, vol .2070,37-46p.
- Adaay M. H., Mosa A.,2012- Evaluation of the effect of aqueous extract of *Tribulus terrestris* on some reproductive parameters in female mice, J. Mater. Environ. Sci. Vol. 3. (6) . 1153-1162p**.**
- Azzi R.,2013 - Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéte ethnopharmacologique ; 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.
- Baburao B., Rajyalakshmi G., Venkatesham A., Kiran G.,Shyamsunder A., Gangarao B.,2009 -Anti-inflammatory and antimicrobial Activities of methanolic extract of *Tribulus terrestris* linn plant. International Journal Chemie,vol .7.1867-72p.
- Boudaoud h., Debbache N.,2009 - Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chem, 112: 303-309.
- Bedir E., KhanI A., Walker LA., 2002- Biologically active steroidal glycosides from *Tribulus terrestris*. Pharmazie.vol, 57.(7):491-3p.
- Bejenaru C., Mogoşanu G,. Andrei B.,2016- histo-anatomical and preliminary tlc investigations on *tribulus terrestris* l. (zygophyllaceae) species. annals of the university of craiova - agriculture, montanology,19-25p.

- Bruneton J., 2009- Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. (4ème éd.). Paris: Editions médicales internationnales, éditions Tec & Doc Lavoisier. p: 353.
- Boros B., Jakabova S., Dornyei A., Horvath G., Pluhare F, Felingera A., 2010- Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography masss pectrometry in Thymus species. Journal of Chromatography A, p1217:
  7972-7980 .619.
- Bibi H., Afzal M., Kamal M., Ullah I., Shujaul M., Ayaz A.,2015 - Morphological and Anatomical Characteristics of Selected Dicot Xerophytes of District Karak, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. Middle-East Journal of Scientific Research,vol. 23 (4). 545-557.
- Bill S., Barry J., Johnson A.,Caffery A.,Birgitte V.,2009 - Tribulus: Caltrop and yellow vine.p6.
- Bourke C.A., Stevens G.R., Carrigan M.J., 1992- Locomotor effects in Sheep of alkaloids identified in Australian *Tribulus terrestris*. Aust, vet, J,Vol. 69. 7. 5P.
- 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.
- Chhatre S., Nesari T., Somani G., Kenjale R., Sathaye S.,2012 - Comparative Evaluation of Diuretic Activity of Different Extracts of *Tribulus terrestris* L Fruits in Experimental Animals. Int, J, Res Phytochem Pharmacol, vol. 3:129-133p.
- Deole YS., Chavan SS., Ashok BK., Ravishankar B., Thakar AB., Chandola HM.,2011- Evaluation of anti-depressant and anxiolytic activity of Rasayana Ghana Tablet (Acompound Ayurvedic formulation) in albino mice. Ayu, Vol 32.(3). 9P.

- Devaux C.,1973-Plantes toxiques ou réputées toxiques pour en le betail Afrique d e tinstitut d'elevage et de medecine veterinaire des pays tropicaux. 10, rue Pierre Curie, p141.
- Donaldson S., Dawn R.,2011- Identification and Management of Puncturevine (*Tribulus terrestris* L).University of Nevada, Cooperative Extension Fact Sheet, Vol .3.34p.
- Dragomir D., Bogdan J., Liuba ., Wieslaw., Mohammad R., Aslani., Ivanka K.,2008 - Distribution of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* from different geographical regions Phytochemistry. Vol. 69.176-186P.
- EL-Darier SM., YOUSSEF R., 2016- Does salinity enhance allelopathic effects of *Tribulus terrestris* L. in *Citrullus vulgaris* schrad Agroecosystems at Nobaria, Egypt?. International Standard Journal, Vol.5. N (1). 1-8p.
- Elise J.,2002 - contribution a l'étude *tribulus terrestris*. diplôme d'état de docteur en pharmacie. universite henri poincare , nancy, 79p.
- Elkamali H., Eltahir S., Yousif S., Khalid H., Elneel E., 2016 - Comparative Anatomical Study of the Stems and Leaflets of *Tribulus longipetalous, T. pentandrus* and *T. terrestris* (Zygophyllaceae). Open Access Library Journal, vol.3. 2810.
- 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.
- El-Sheikh TM., Bosly HA., Shalaby NM.,2012- Insecticidal and repellent activities of methanolic extract of *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae) against the malarial vector Anopheles arabiensis (Diptera: Culicidae) Egypt Acad ,J, Biolog Sci. Vol. 5.13-22P.

- Ghazala S., Irshad A., Khan U., Naveed A., Mukhtiar A., Sabira S.,Akram M., 2012- Monograph of Tribulus terrestris. Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 6.(5). 641-644p.
- Ghédira K.,Goetz P,. 2016 - *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae). Matière médicale. Phytothérapie, (14). 258-263p.
- Gosavi r. , Sameer M., Tejashree S., Tikes.,2014 –Pharmacognostical Evaluation of Gokshura (*Tribulus Terrestris* linn). An international peer reviewed ayurved Journal., Vol.2 .ISSUES: 4.6p.
- Grotewold E., 2006- The Science of Flavonoids 1ST ed . Columbus, Ohio,USA, Springer Science_Business Media, Inc. 123P.
- Ghulam D., Farrukh H.,2013-phytotoxic and insecticidal activity of plants of family Zygophyllaceae and EUphorbiaceae. Sarhad J, Agric,Vol 29.(1): 83-91p.
- Hatano T.,Ogawa N.,Kira R.,Yasuhara T.,Okuda T., 1989 -Tannins of cornaceous plants. I. Cornusiins A, B and C, dimeric monomeric and trimeric hydrolysable tannins from *Cornus officinalis*, and orientation of valoneoyl group in related tannins. Chem Pharm Bull (Tokyo).vol. 37: 2083-90.
- Henrici M., Veld R., Fauresmith.,1952- Comparative Study of the Content of Starch and Sugars of Tribulus terrestris. Lucerne, some Gramineae and Pentzia incana under different Meteorological, Edaphic and Physiological Conditions. Onderstepoort Journal of Veterinary Research,vol. 25. N .3.45-92p.
- Harborne J., 1988- The Flavoniods. Chapman and hall, Ltd, p:53.
- Hong CH., Hur SK., Oh J,.2002- Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. J, Ethnopharmacol,Vol .83:153-9P.

- Hung X.L., ZhangY.S., Liang,Y.S., 1991- Studies on water soluble Polysaccharides isolated from *Tribulus terrestris*.Yao, Hsuch Po, Vol .26(8). 578-83P.
- Iqbal H., Farhat A., Naeem K., Murad ., Hamayun K., Khurram M., Shan Z., Riaz U., Majed A., 2011- Analysis of inorganic profile of *Tribulus terrestris*. International Journal of the Physical Sciences, Vol. 6. 25p.
- Jameel M., Ansari J., Akhtar., Abuzer A., Ahamad J., Ali M., Tamboli E.,2012- Pharmacological scientific evidence for the promise of *Tribulus terrestris.* International Research Journal of Pharmacy, Vol.3(5).403-406P.
- James M.,2002-*Tribulus Terrestris* (Puncture Vine) Natural Health Products Compendium.2p.
- Jayanthy A., Deepak M., Remashree A., 2013 - Pharmacognostic characterization and comparison of fruits of *Tribulus terrestris* L.and *Pedalium murex* L. International Journal of Herbal Medicine,Vol .1. (4).29-34p.
- John B., Waya S.,2005-The Alkaloids of *Tribulus terrestris*: A Revised Structure for the Alkaloid Tribulusterine wocmap III, Vol. 3. Perspectives in Natural Product Chemistry,11-17P.
- 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.
- Quzel P, Santa S., 1963- Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales. ed. C.N.R.S. Paris. 1170p.
- Karimi ., H, Malekzadeh S., Hoshmand F.,2011- The effect of the *Tribulus terrestris* extract on spermatogenesis in the rat. Journal of Jahrom ,University of Medical Sciences, Vol. 9. No. 4.7-11p.

- Kerharo J.,1975- la medecine et la pharmacopee traditionnelles senegalaises la medecine traditionnelle .Faculté de Médecine et de Phermacle, Dakar,54p.
- Kerry B., Simon M.,2013 -Principles and Practice of Phytotherapy: Modern Herbal Medicine. Churchill Livingstone, Elsevier.894p.
- Khan S., Kabir H., Jalees F., Asif M., Naquvi K., 2011- Antihyperlipidemic potential of fruits of *Tribulus terrestris* linn. Int J BiomedRes,Vol.2:98-101P.
- Khoddami A., Wilkes MA., Roberts TH., 2013-Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*,18: 2328-2375.
- Kholkhal F.,2014-Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* ssp et euciliatus. Thèse de Doctorat, Université Abou Baker Belkaid ,Tlemcen,164p.
- Kim HJ., Kim JC., Min JS., Kim MJ., Kim JA., Kor MH.,2011-Aqueous extract of *Tribulus terrestris* Linn induces cell growth arrest and apoptosis by down-regulating NF-Kb signaling in liver cancer cells. J Ethnopharmacol, vol.136.(1):197-203p.
- Kratchanova M., Petko D., Milan C., Antonin L., Atanas M.,.2010 - Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems.Biochimica. Vol. 57. No 2. 229–234p.
- Kupiec T., 2004- Quality-Control Analytical Methods: High-Performance Liquid Chromatography.International Journal of Pharmaceutical Compounding, Vol. 8. No, p: 223- 227.
- Lamba HS., Bhargava CH., Thakur M., Bhargava S.,2011- α-glucosidase and aldose reductase inhibitory activity in vitro and antidiabetic activity in vivo of *Tribulus terrestris*. Int J Pharm Pharma Sci,Vol. 3:270-2P.

- Lisu W., Hung Y.,Hsiao L.,Wul M.,2003-Antioxidant effect of methanol extrats from Lotus plumule and (Nelumbo mucifera Gertn),J. food Drug Anal.vol(11) :60-66.
- Lokhande K.,Kulkarni C., Shinkar C., Jadhav S.,Salunkhe S.,2014- Evaluation of antioxidant potential of Indian wild leafy vegetable Tribulus terrestris.international journal of advances in pharmacy, biology and chemistry.Vol. 3(3).703-708.
- Maja Sh., Zorica A-S., Shaban M.,2015- A Simple Method for Determination of Protodioscin in *Tribulus Terrestris* L. and Pharmaceuticals by High Performance Liquid Chromatography Using Diode-Array Detection. Journal of Chemical Engineering Research Updates, vol .2.12-21p.
- Mamdouh S., Mokhtar M., Bishr A., Ahmed H., 2013 - Pharmacognostical Studies on Root of *Tribulus terrestris* L. Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol.5(6).280-283.
- Mamdouh S., Mokhtar M., Bishr A., Ahmed H., 2013- Pharmacognostical Studies on Stem of *Tribulus terrestris* L. Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. Vol.5(4).171-177.
- Mamdouh S., Mokhtar M., Bishr A., Mohamed S., 2016 - A review of non-steroidal phytoconstituents of Tribulus Terrestris international journal of pharmacognosy vol. 3(5). 212-216p.
- Manish M., Sundaramoorthy S.,2013- Ethnopharmacological studies of *Tribulus Terrestris* (linn). in relation to its aphrodisiac properties. j tradit complement altern med, vol. 10.(1).83-94p.
- Marzieh M Y., Seyed H., Reza A., Reza H., Ajani Y.,2008- Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L.orientalis. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences,Vol .4.(3). 231-236p.

- 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.
- Mosquera OM., Correa YM., Buitrago DC., Niö J., 2007-Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 102: 631-634.
- Mrinalini K., Praveen K.,poonam s.,2015-Safety Evaluation of *Tribulus Terrestris* on the Male Reproductive Health of Laboratory Mouse. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research ,vol. 4. (5): 281-287p.
- Marfak A., 2003- Radiolyse gamma des flavonoides, Etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. thèse de Doctorat, Université de LIMOGES, biophysique, 187p.
- Messai L., 2011- Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algerien (*Artemisia herba alba*). thèse de Doctorat Chimie Organique, Option Phytochimie, Universite Mentouri Constantine, Algérie, p:118.
- Nasroallah M., Jalal B. Z., Moradi kor Z.,2013.Physiological and pharmaceutical effects of Tribulus Terrestris as Multipurpose and Valuable Medicinal Plant. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research,vol. 1. Issue 5.556-562p.
- Noori M., Dehshiri M-M., Zolfaghari MR.,2012- *Tribulus Terrestris* L. (Zygophyllaceae) Flavonoid Compounds International Journal of Modern Botany, Vol .2.(3). 35-39p.
- Nowak R., Gawlik-Dziki U., 2007 - Polyphenols of Rosa L. leaves extracts and their radical scavenging activity. *Z. Naturforsch*. 62: 32-38P.
- Oh HK., Park SJ., Moon HD., Jun SH., Choi NY., You YO.,2011 *Tribulus terrestris* inhibits caries-inducing properties of *Streptococcus mutans.* J Med Plants Res,Vol .5:606.1-6P

- Ordonez A., Gomez J., Vattuone M., lsla M. I., 2006- Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry, vol .99. 452–458p.
- Perveen A., Rubina A., Rabab F., 2007 Stomatal types of some dicots within flora of Karachi, Pakistan. Pakistan Journal of Botany, vol. 39.(4): 1017-1023.
- Phurpa w.,2004-Bioactive Alkaloids from Medicinal plants of Bhutan. Memoire master of science, University of Wollongong,192p.
- Pionita A.,2005-Is DPPH Stable Free Radical a Good Scaven ger for oxygen Active Species?.Chem, pap, vol.59.(1).11-16.
- Raja M., Venkataraman R., 2011- Pharmacognostical studies on *Tribulus Terrestris* and *Tribulus Alatus*. Der Pharmacia Sinica, vol. 2. (4): 136-139p.
- Ramawat K.G.,2010- Desert Plants Biology and Biotechnology. Ed , Springer Heidelberg Dordrecht , London New York.497p.
- Ramteke R., Thakar AB., Shukla VJ., Harisha CR.,2011- A preliminary physico-chemical assay of gokshura-punarnava basti–a pilot study.International journal of Research in Ayurveda et Pharmacy,vol. (2).2.343-349p.
- Rice-Evans CA., Miller NJ., Paganga G., 1997- Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci, 2: 152-159.
- Robards K., 2003- Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *J Chromatogr A*, 1000: 657-691.
- REBIAI A., LANEZ T., BELFAR M., 2014- Total polyphénols contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis. Academic science. 6:396-400.
- Saima H., Tamana B., Khan ., Asad J.,2014. Medicinal properties, phytochemistry and pharmacology of *Tribulus Terrestris* L. (Zygophyllaceae) .pak. j. bot, vol .46.(1). 399-404p.

- Sathisha A., Lingaraju b., Sham k., 2011 -Evaluation of antioxidant activity of medicinal plant extracts produced for commercial purpose. e-journal of chemistry, vol .8.(2). 882-886.
- Semerdjieva I., Yankova E,. 2011- Pollen and Seed Morphology of *Tribulus Terrestris* L.(Zygophyllaceae). Biotechnology & Biotechnological Equipment, vol.25:2. 2379-2382.
- Sebata A., Ngongon N.T., Mupangwa J.F., Nyakudya I.W., Dube J.S.,2005-chemical composition and degradation characteristics of puncture vine(*Tribulus terrestris*)Tropical and Subtropical Agroecosystems. Vol.5 .85 – 89p.
- Semerdjieva I., 2011- Studies on Leaf Anatomy of *Tribulus Terrestris* L. (Zygophyllaceae) in Populations from the Thracian Floristic Region. Biotechnology and Biotechnological Equipment, vol .25. 2373-2378.
- Sen D., Chawan D., Sharma K., 1969- Preliminary observations on the influence of certain weeds on germination and growth of *Pennisetum typhoideum* Rich.Proceedings of the Indian. Academy of Science, 60.(section B).111-117p.
- Sepide M.,2016. *Tribulus terrestris*: Chemistry and pharmacological properties. Der Pharma Chemica, vol. 8.(17).142-147p.
- Scott J, 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.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., 1999 - Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A), 299. San Diego, CA: Academic Pres.. 152–78p.
- Trease E., Evans W., 1987- A textbook of Pharmacognosy Bacilluere Tinal Ltd, London. 13 th Edition. 62P.

- Townsend C., Guest C., 1980 -Flora of Iraq. vol .4.part one, Baghdad, Botany directorate, ministry of agriculture and agrarian reform Iraq, 288-293p.
- Vangalapati B., Poornima A., Anupama H., 2014 - Total phenolic content and free radical scavenging activity of *Pterocarpus marsupium* heartwood & *Tribulus terrestris* dry fruits: An *in vitro* comparative study. Journal of Pharmacy Research. Vol. 8(5).610-613.
- Vir V., Sandeep K.,2015- High dosage toxicity testing of medicinal herbs *Momordica charantica, Emblica officinalis, Tribulus Terrestris* and *Trigonella foenum graecium* in albino mice: a pilot Study. International Journal of Herbal Medicine,vol.3.(4).25-28p.
- Wojcikowski K., Stevenson L., Leach D., Wohlmuth H., Gobe G., 2007- Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. *J Alt* Compl Med, vol.13: 103–110p.
- Yanala S.R., Sathyanarayana D., Kannan K.,2016 - A Recent Phytochemical Review – Fruits of *Tribulus Terrestris* Linn.Journal of pharmaceutical sciences and Research, Vol. 8.(3). 132-140p.
- Zhang., Yong-Bing cao., Zheng XU., A Hui-Hua S.,Mao-Mao an, A Lan Y.,2005 -In Vitro and in Vivo Antifungal Activities of the Eight Steroid Saponins from *Tribulus Terrestris* L. with Potent Activity against Fluconazole-Resistant Fungal Jun-Dong Biol. Pharm,Bull, vol .28.(12).2211-2215p.

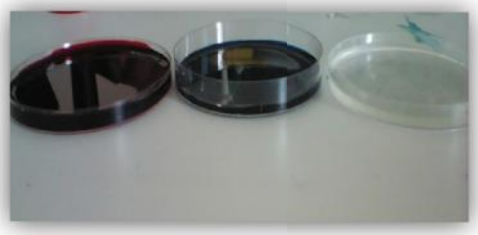
الملاحق

الملحق I

منطقة الدراسة

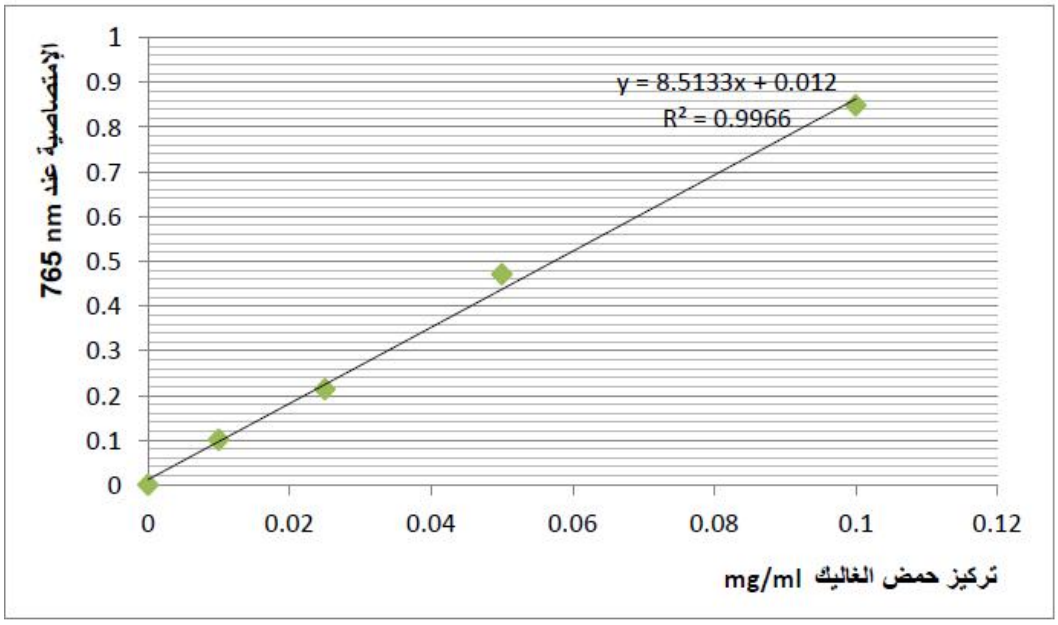
جهاز التبخير الدوراني **جهاز قياس الامتصاصبة الضوئية** **ميزان حساس**

المجهر الضوئي **المكبر الضوئي**

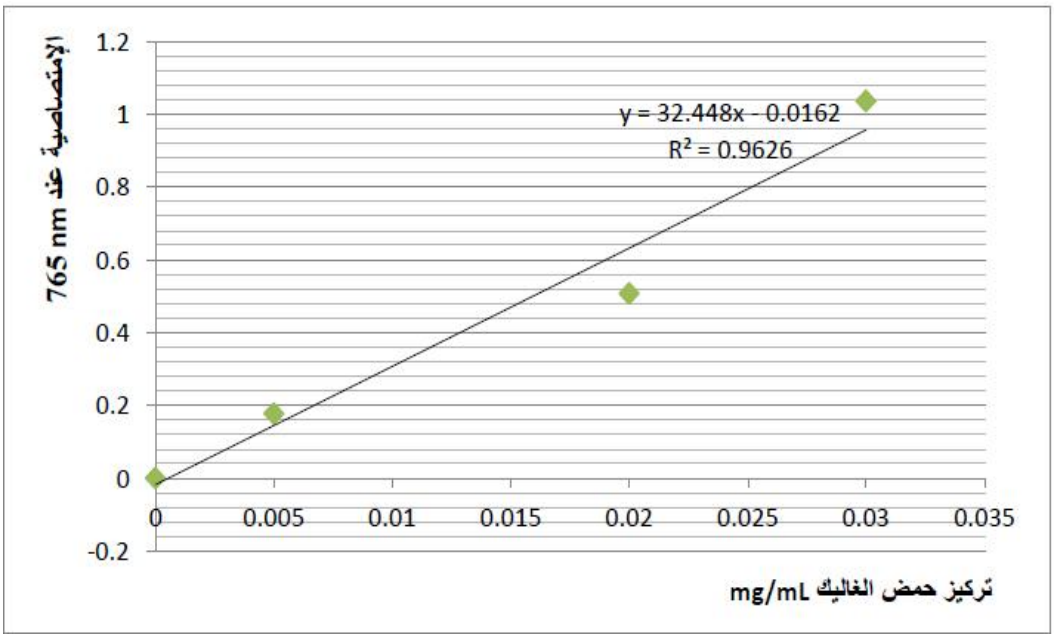


مراحل تلوين المقاطع النباتية **المستخلص المائي الخام** **المستخلص الايثانولي الخام**

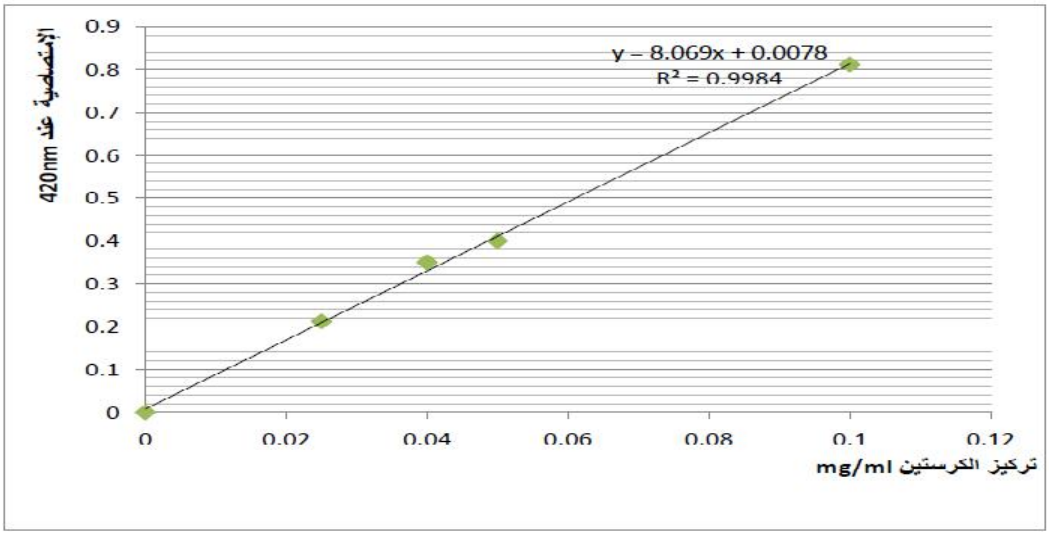
الملحق II



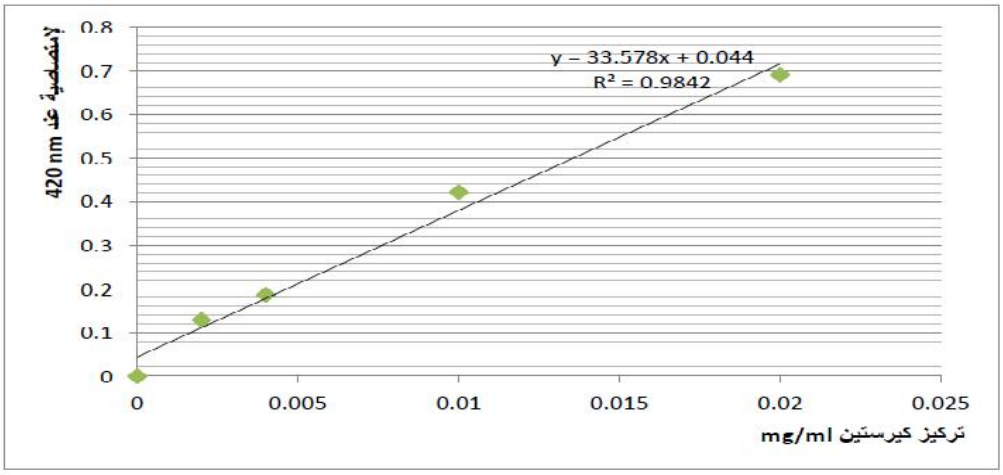
المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول عند المستخلص الايثانولي



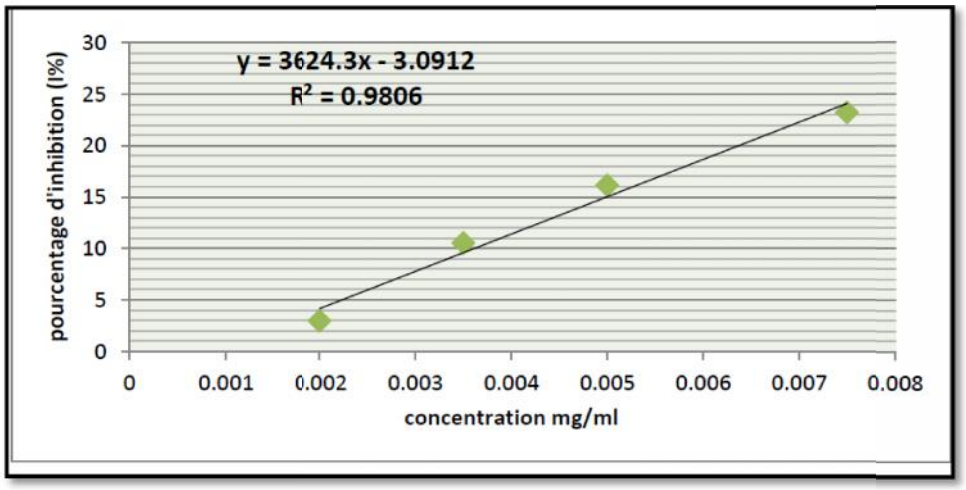
المنحنى القياسي لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول عند المستخلص المائي



المنحنى القياسي للكرستين Quercitine للتقدير الكمي للفلافونويدات عند المستخلص الايثانولي



المنحنى القياسي للكرستين Quercitine للتقدير الكمي للفلافونويدات عند المستخلص المائي



منحنى النشاطية **في** تثبيط **الجذر الحر** DPPH• لحمض الاسكوربيك

الملحق III

التحليل الكروماتوغرافي للمستخلص الايثانولي

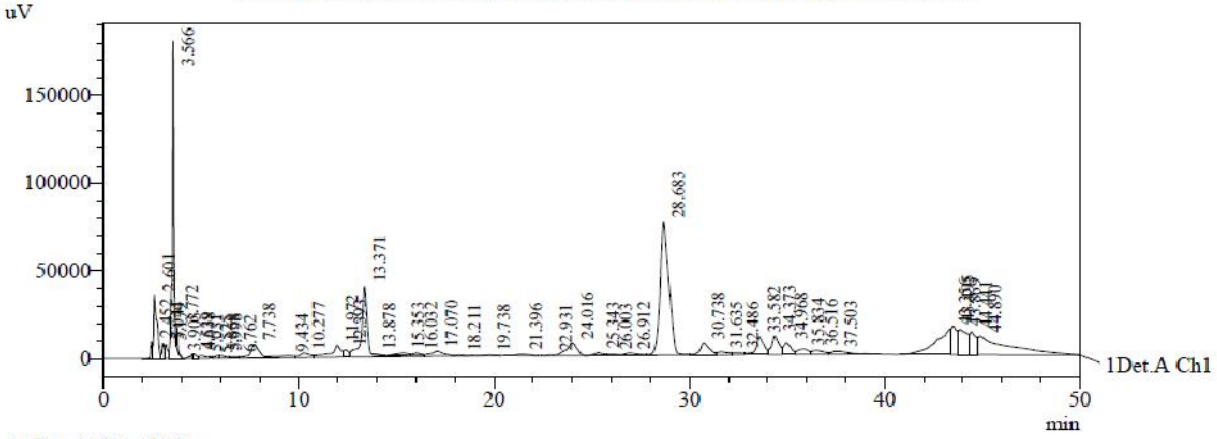
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية ترقيتها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Extret eth.1
Sample ID	: Et.Extret eth.1
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Extret eth.1
Method Filename	: Noumia21 mx
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 03-05-2017 1
Data Processed	: 03-05-2017 1

Chromatogram

Et.Extret eth.bio C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Extret eth.bio.03-05-2017.53.1cd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.452	66631	9676	0.592	1.797
2	2.601	440992	36387	3.920	6.756
3	3.044	60950	8801	0.542	1.634
4	3.179	81578	8089	0.725	1.502
5	3.566	1241746	180923	11.038	33.595
6	3.772	37931	12039	0.337	2.235
7	3.903	2065	515	0.018	0.096
8	4.539	26587	2560	0.236	0.475
9	4.638	30294	2620	0.269	0.487
10	5.031	42471	1679	0.378	0.312
11	5.525	8451	812	0.075	0.151
12	5.858	24643	1646	0.219	0.306
13	5.998	35189	1634	0.313	0.303
14	6.762	22217	789	0.197	0.146
15	7.738	232996	7565	2.071	1.405
16	9.434	81748	1150	0.727	0.213
17	10.277	93684	2504	0.833	0.465

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	11.972	234025	6739	2.080	1.251
19	12.393	78092	4048	0.694	0.752
20	13.371	950810	40351	8.452	7.492
21	13.878	2256	142	0.020	0.026
22	15.353	51192	1239	0.455	0.230
23	16.032	23101	1060	0.205	0.197
24	17.070	133253	2783	1.185	0.517
25	18.211	14197	451	0.126	0.084
26	19.738	11561	266	0.103	0.049
27	21.396	32192	765	0.286	0.142
28	22.931	8033	398	0.071	0.074
29	24.016	274505	7191	2.440	1.335
30	25.343	47867	1510	0.425	0.280
31	26.003	22605	788	0.201	0.146
32	26.912	59383	1291	0.528	0.240
33	28.683	2397136	75885	21.309	14.091
34	30.738	225239	6857	2.002	1.273
35	31.635	66346	1723	0.590	0.320
36	32.486	39180	1055	0.348	0.196
37	33.582	278176	10305	2.473	1.914
38	34.373	278167	10709	2.473	1.988
39	34.968	178125	6764	1.583	1.256
40	35.834	117110	3025	1.041	0.562
41	36.516	95281	2376	0.847	0.441
42	37.503	95338	1698	0.847	0.315
43	43.356	773491	14732	6.876	2.736
44	43.495	316082	16465	2.810	3.057
45	43.869	462561	14474	4.112	2.688
46	44.441	306507	13278	2.725	2.465
47	44.890	1147639	10789	10.202	2.003
Total		11249619	538548	100.000	100.000

التحليل الكروماتوغرافي للمستخلص المائي

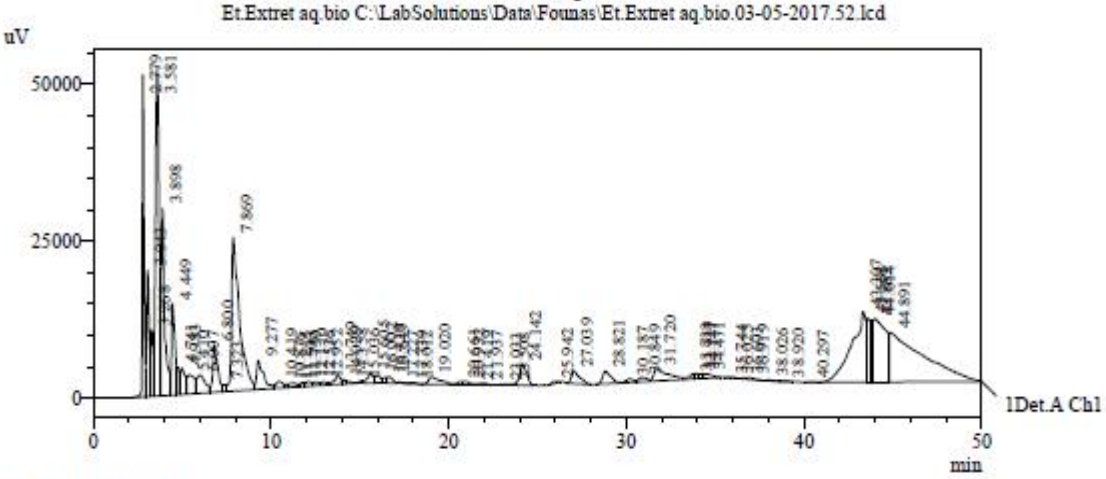
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL Oued
مخبر الموارد الصحراوية تثمينها وتكنولوجيتها
Laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

Sample Information

Acquired by	: Admin
Sample Name	: Et.Extret aq.b
Sample ID	: Et.Extret aq.b
Vail#	:
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Et.Extret aq.b
Method Filename	: Noumia21 mc
Batch Filename	:
Report Filename	: dis0.lcr
Date Acquired	: 03-05-2017 1
Data Processed	: 03-05-2017 1

Chromatogram

Et.Extret aq.bio C:\LabSolutions\Data\Founas\Et.Extret aq.bio.03-05-2017.52.lcd



1 Det.A Ch1 / 268nm

PeakTable

Detector A Ch1 268nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.779	339075	51347	5.193	16.479
2	3.043	201473	20133	3.086	6.461
3	3.268	104689	10618	1.603	3.408
4	3.581	758987	52285	11.625	16.780
5	3.898	398389	29866	6.102	9.585
6	4.449	193052	14628	2.957	4.695
7	4.741	43653	4354	0.669	1.397
8	4.983	72197	4136	1.106	1.327
9	5.410	83703	3021	1.282	0.970
10	6.007	98942	2902	1.515	0.931
11	6.800	141568	7549	2.168	2.423
12	7.323	15396	1122	0.236	0.360
13	7.869	766429	24457	11.739	7.849
14	9.277	122164	4592	1.871	1.474
15	10.419	28226	1075	0.432	0.345
16	10.876	4564	489	0.070	0.157
17	11.215	18296	640	0.280	0.205

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
18	11.500	2865	436	0.044	0.140
19	11.750	9664	660	0.148	0.212
20	12.110	15805	737	0.242	0.236
21	12.536	13290	571	0.204	0.183
22	12.952	12108	541	0.185	0.174
23	13.749	33864	1587	0.519	0.509
24	14.039	9650	705	0.148	0.226
25	14.358	4569	344	0.070	0.111
26	15.036	4870	317	0.075	0.102
27	15.605	37181	1630	0.569	0.523
28	16.002	24817	1280	0.380	0.411
29	16.419	15547	976	0.238	0.313
30	16.649	22177	1043	0.340	0.335
31	17.227	2458	188	0.038	0.060
32	17.739	1942	128	0.030	0.041
33	18.012	3788	183	0.058	0.059
34	19.020	55735	1197	0.854	0.384
35	20.661	10059	494	0.154	0.158
36	20.932	12171	516	0.186	0.165
37	21.419	2818	180	0.043	0.058
38	21.937	9173	303	0.140	0.097
39	23.033	3552	160	0.054	0.051
40	23.508	2300	137	0.035	0.044
41	24.142	91029	3380	1.394	1.085
42	25.942	6716	326	0.103	0.105
43	27.039	64743	1991	0.992	0.639
44	28.821	65467	2006	1.003	0.644
45	30.187	16263	559	0.249	0.179
46	30.849	22729	683	0.348	0.219
47	31.720	105289	1952	1.613	0.626
48	33.733	15038	750	0.230	0.241
49	33.937	11982	794	0.184	0.255
50	34.117	10870	758	0.166	0.243
51	34.471	22787	687	0.349	0.220
52	35.744	1442	97	0.022	0.031
53	36.025	1541	113	0.024	0.036
54	36.603	2390	150	0.037	0.048
55	36.919	6983	268	0.107	0.086
56	38.026	2841	121	0.044	0.039
57	38.920	2126	107	0.033	0.034
58	40.297	1250	56	0.019	0.018
59	43.307	609657	11234	9.337	3.605
60	43.568	154674	10226	2.369	3.282
61	43.883	102700	9854	1.573	3.162
62	44.014	479144	10108	7.339	3.244
63	44.891	1030291	7851	15.780	2.520
Total		6529156	311596	100.000	100.000

الملخص

بغية تثمين النباتات الطبية بالمنطقة، عمدنا إلى دراسة فيتوكيميائية و تقدير الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحسك *Tribulus terrestris* L.

بعد عملية الاستخلاص قدر مردود المستخلص المائي بـ 12.53% والمستخلص الايثانولي بـ 5.2%. أظهرت نتائج الكشف الكيميائي تبين تواجد جل المواد الفعالة، ومن خلال التقدير الكمي للفينولات الكلية و الفلافونويدات للمستخلصين أظهرت النتائج احتوائهما على كمية كبيرة من هاته المركبات، حيث كانت أعلى كمية عند المستخلص الايثانولي التي قدرت بـ 117.61 ± 0.102 mg AG E/g أما عند المستخلص المائي فكانت 71.05 ± 0.063 mg AG E/g وهذا بالنسبة للمركبات الفينولية، أما بالنسبة للفلافونويدات احتوى المستخلص الايثانولي كمية قدرها 81.19 QU E/g ± 0.085 mg، وعند المستخلص المائي 26.18 ± 0.083 mg QU E/g.

وعلى ضوء نتائج اختبار الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصين فكانت فعالية المستخلص الايثانولي هي المثلى بقيمة IC_{50} مساوية لـ 0.019 mg/ml و بـ 0.023 mg/ml للمستخلص المائي.

أما فيما يخص التحليل النوعي للمركبات الفينولية لكلا المستخلصين باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) أظهر تواجد حمض الغاليك، حمض الكلوروجينيك، حمض الكافييك، الكرستين، الفانلين، الروتين، النارجنين و الفانليك أ و الكومارين في المستخلصين لكن بتراكيز متفاوتة.

الكلمات المفتاحية: نبات الحسك *Tribulus terrestris* L.، المستخلص الايثانولي، المستخلص المائي، عديدات الفينول، الفلافونيدات، النشاطية المضادة للأكسدة، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

Abstract

For the valorization of medicinal plants in the El Oued region, we conducted a phytochemical study and estimated the antioxidant capacity of the plant Tribulusterrestris L. After the extraction processes, the yield of the aqueous extract is 12.53% and the ethanolic extract is 5.2%. The results show that the total phenols were estimated to be 117.61 ± 0.102 mg AGE / g and 71.05 ± 0.063 mg AGE / g for the ethanol extract and the aqueous extract successively. For flavonoids, the ethanolic extract contains 81.19 ± 0.085 mg QU E / g and the aqueous extract is 26.18 ± 0.083 mg QU E / g.

For the antioxidant effect, the results show a preferable efficacy of the ethanol extract IC50 is 0.019 mg / ml and for the aqueous extract IC50 is 0.023 mg / ml. Concerning the qualitative analysis of phenolic compounds for both extracts using high performance liquid chromatography (HPLC) has been demonstrated that the presence of gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, quercetin, vanillin, Rutin, naringin, vanillic acid and comarin in both extracts with different concentrations.

Keywords: *TrIbulus terrestris* L, ethanolic extract, aqueous extract, phenol et flavonoids, antioxidant activity, HPLC.