الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
People's Dimocratic Republic of Algeria
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research
جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي
University of Echahid Hamma Lakhdar – El-Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه .L.M.D
شعبة العلوم البيولوجية
تخصص: تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات

الموضوع:

المساهمة في دراسة فيزيولوجية وفيتوكيميائية وبيولوجية لمستخلصات نباتي الحـــــاد Del *Cornulaca monacontha* والصبـــــاغ الناميان في منطقة الوادي *Salsola richteri* (Moq) Karel ex Liv

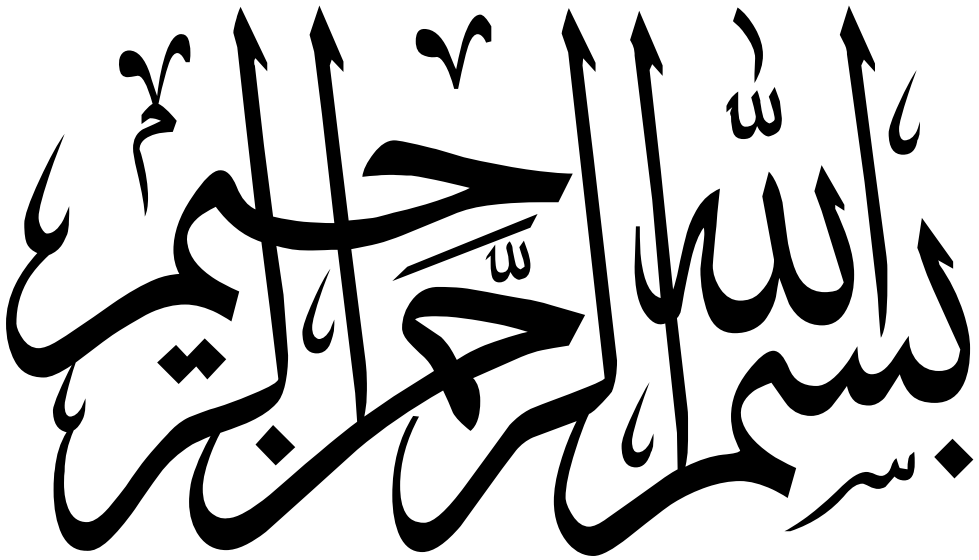
من اعداد الطالب: بيكـي عبد المـالك

نوقشت يوم .../2024/00 من طرف لجنة المناقشة:

لجنة المناقشة

أ.د. جهرة علي بوتليليس	أستاذ	رئيسا	جامعة الوادي
أ.د. غمام عمارة الجيلاني	أستاذ	مشرفا	جامعة الوادي
د. التهامي العايش	أستاذ محاضر أ	مساعد مشرف	جامعة الوادي
أ.د. رزق الله شفيقة	أستاذ	ممتحنا	جامعة تبسة
د. خالد خراز	أستاذ محاضر أ	ممتحنا	المدرسة العليا للأساتذة القبة
د. حسن لعوج	أستاذ محاضر أ	ممتحنا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2024/2023


بسم الله الرحمن الرحيم

شكر وتقديـــر

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات أشكره وأحمده على ما انعم وأصلي وأسلم على المبعوث رحمة للعالمين، معلم الناس الخير وعلى آله وصحابته ومن سار على نهجه الى يوم الدين .

يقول النبي عليه الصلاة والسلام *من لم يشكر الناس لم يشكر الله * وفي هذ السياق وددت واحببت ان أقدم أسمى آيات الشكر والتقدير والعرفان والمحبة الى الذين تحملوا أقدس رسالة في الحياة الى الذين مهدوا لنا سبيل المعرفة والعلم الى جميع اساتذتي الأفاضل ومن دون استثناء .

وانطلاقا من قوله تعالى (**وَلَا تَنسَوُا الْفَضْلَ بَيْنَكُمْ**) . البقرة – الآية 237 .

أتقدم بالشكر والتقدير والاحترام الى الأستاذ الدكتور **غمام عمارة الجيلاني** على قبوله الاشراف على هذا العمل والذي قبله بصدر رحب ومن دون تردد وهو لم يبخل علينا بتوجيهاته ونصائحه القيمة والهادفة طوال مراحل انجازه .

كما أتوجه بالشكر والتقدير الى أعضاء لجنة مناقشة أطروحة الدكتوراه الأفاضل وهم :

رئيس لجنة المناقشة الأستاذ الدكتور **جهرة علي بوتليليس**، و الدكتور التهامي العايش مساعدا مشرفا، والدكتور **خرار خالد** و الأستاذة الدكتورة رزق **الله شفيقة** والدكتور **لعوج حسن** بصفتهم ممتحنين كل باسمه ووسمه على قبولهم المناقشة ومشاركتهم اثراء هذا العمل فلكم جزيل الشكر والامتنان والتقدير .

كما أشكر الدكتور **شمسه أحمد الخليفة** خاصة والدكتورة **مخدمي نور الهدى** والأستاذ **هالي القدمري** وذلك لما قدموه لنا من مساعدات قيمة وتوجيهات صائبة وتشجيعات مستمرة .

كما أتوجه بخالص الشكر والاحترام الى الأستاذتين الفاضلتين **دقاشي نور الهدى ونيهى وفاء** اللتان كانتا عونا لنا وسندا ولم تبخلا عنا بإسداء المساعدة والمراجعة والاثراء ولا أنسى أن أشكر زميلتي الدكتورة **منال عزري** على كل المساعدات والتعاون والتوجيه والاشراف، فجزاهم الله عنا كل خير .

وأخيرا أتوجه بأسمى عبارات الشكر والعرفان الى كل جميع عمال وتقنيي مخبر جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي عن كل مجهوداتهم في توفير جميع الاحتياجات لإكمال واتمام هذا العمل .

إهـداء

بسـم الله الرحمان الرحيـم

{وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا} [سورة طه - الآية: 114]

الى أرواح والدي الكريمين اللذين كان دعاؤهما سر نجاحي الى من ضحيا من أجلنا وكانا السبب بعد الله عزوجل في وصولنا الى هذه المراتب من العلـم والمعرفة اليهما أهدي هذا العمل المتواضع سائلا المولى عزوجل لهما الرحمة والمغفرة وأين يسكنهما فسيح جناته نظير ما قدماه من أجل سعادتي وفرحتي .

الى زوجتي الكريمة التي كانت السند المعنوي والنفسي الذي دفعني للمضي قدما شاقا عباب بحر العلـم والمعرفة وسابرا أغواره دون كلل أو ملل .

الى بناتي الغاليات المؤنسات اللائي ملأن علي الدنيا سعادة واطمئنانا ومراحة البال . .الى ابنتي الكبرى سارة . .والتي كلما رايتها ازددت سرورا وحبورا .الى ابنتي آمال .أمل حياتي .والى عبير . .عطر البيت وشذاه . .الى ابنتي أميرة . .اميرة القلب وضياه . .الى وصال الخير والحنان . .الى ابنتي المدللة . .ندى . .هي المهجة . .التي سكنت القلب واستولت عن الفؤاد وما حوى . .

الى ابني . . عامر المعتز بالله . . أعزه الله . . وحيدي عماد البيت وحسن بهاه . .

الى جميع اخوتي واقاربي والأصدقاء والزملاء . . .الى الذين صاغوا لنا من علمهـم حروفا ومن فكرهـم منارة نهتدي بها سبل العلـم والنجاح الى . . جميع أساتذتي الكرام . . الى كل من أحببناهـم وأحبونا . . الى عائلتي جميعا أهدي هذا العمل سائلا المولى عزوجل التوفيق والسداد . . . . إليكـم جميعا شكرا وألف شكر . .

عبـد المـالك

الملخـــص

الملخص

تهدف هذه الأطروحة إلى تقييم النشاطات البيولوجية المختلفة لمستخلصات نباتي *Salsola richteri* (جذور، أوراق، أزهار) و *Cornulaca monacantha* (جذور، أوراق) من خلال دراسة التركيب الكيميائي والمحتوى من المركبات الفينولية والفلافونويدية (TPC, TFC, TC)، وكذلك تقييم النشاطات المضادة للأكسدة والبكتيريا والفطريات.

أظهرت النتائج أن محتويات المركبات الفينولية والفلافونويدية في مستخلصات الأوراق كانت أعلى مقارنة بالجذور والأزهار. قدرت مستويات المحتوى الفينولي الكلي (TPC) لمستخلصات *S. richteri* ما بين 92.43 و173.79 mg GAE/g، والمحتوى الفلافونويدي الكلي (TFC) ما بين 30.81 و135.93 mg QE/g، ومحتوى التانينات الكلي (TC) ما بين 14.67 و25.75 mg CAE/g. أما في مستخلصات *C. monacantha*، فقد تراوحت قيم TPC بين 139.96 و159.53 mg GAE/g، وTFC بين 39.20 و41.40 mg QE/g، وTC بين 21.54 و29.04 mg CAE/g. كما تم الكشف عن تنوع تركيزات المركبات الفينولية بالتحليل الكروماتوغرافي في أجزاء النباتين المختلفة باستخدام جهاز HPLC.

كشفت الدراسة عن نشاط مضاد للأكسدة لمستخلصات نبات *S. richteri*، حيث أظهرت هذه المستخلصات فعالية أكبر في اختبارات DPPH وABTS وسجلت قيم IC50 منخفضة. بالمقابل، أظهرت مستخلصات نبات *C. monacantha* فعالية أكبر في اختبارات استخلاب الحديد والنشاط الإزاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2.

بينت النتائج أن مستخلص الأزهار من *S. richteri* بتركيز 120 ملغ/مل كان الأكثر فعالية، محققًا أعلى قدر تثبيط بلغ 22±0.01 مم ضد *S. aureus* و20±0.12 مم ضد *B. subtilis*. كما أظهر فعالية جيدة بقطر تثبيط 15±0.5 مم ضد *E. coli* و14±0.8 مم ضد *P. aeruginosa*. لم تُظهر أي من المستخلصات فعالية ملحوظة ضد *Candida albicans*.

تؤكد هذه الدراسة على القيمة العلاجية المحتملة لنباتي *S.richteri* و *C. monacantha*، حيث أظهرت المستخلصات النباتية نشاطات بيولوجية متعددة بما في ذلك النشاط المضاد للأكسدة والبكتيريا، مما يعزز أهمية هذه النباتات في التطبيقات الطبية والصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: *Salsola richteri, Cornulaca monacantha*، المركبات الفينولية، اختبار DPPH، اختبار ABTS، اختبار استخلاب الحديد، اختبار إزالة جذر بيروكسيد الهيدروجين، التحليل الكروماتوغرافي، النشاط المضاد للبكتيريا.

ABSTRACT

This thesis aimed to evaluate the various biological activities of extracts from the plants *Salsola richteri* (roots, leaves, flowers) and *Cornulaca monacantha* (roots, leaves) by studying their chemical composition and contents of phenolic and flavonoid compounds (TPC, TFC, TC), as well as assessing their antioxidant, antibacterial, and antifungal activities.

The results showed that the contents of phenolic and flavonoid compounds in leaf extracts were higher compared to those in roots and flowers. The total phenolic content (TPC) for *S. richteri* extracts ranged from 92.43 to 173.79 mg GAE/g, the total flavonoid content (TFC) ranged from 30.81 to 135.93 mg QE/g, and the total tannin content (TC) ranged from 14.67 to 25.75 mg CAE/g. For *C. monacantha* extracts, TPC values ranged from 139.96 to 159.53 mg GAE/g, TFC from 39.20 to 41.40 mg QE/g, and TC from 21.54 to 29.04 mg CAE/g. The diversity of phenolic compound concentrations was revealed through chromatographic analysis of the different plant parts using an HPLC instrument.

The study revealed antioxidant activity for *S. richteri* extracts, which showed greater efficacy in DPPH and ABTS tests with low IC50 values. In contrast, *C. monacantha* extracts exhibited greater efficacy in iron chelation and hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging assays.

The results showed that the flower extract of *S. richteri* at a concentration of 120 mg/ml was the most effective, achieving the highest inhibition diameter of 22±0.01 mm against *S. aureus* and 20±0.12 mm against *B. subtilis*. It also demonstrated good efficacy with an inhibition diameter of 15±0.5 mm against E. coli and 14±0.8 mm against *P. aeruginosa*. None of the extracts showed significant activity against *Candida albicans*.

This study highlights the potential therapeutic value of *S. richteri* and *C. monacantha* plants, as their extracts exhibited multiple biological activities, including antioxidant and antibacterial activities, thereby reinforcing the importance of these plants in medical and pharmaceutical applications.

Keywords: *Salsola richteri*, *Cornulaca monacantha*, phenolic compounds, DPPH assay, ABTS assay, iron chelation assay, hydrogen peroxide scavenging assay, chromatographic analysis, antibacterial activity.

الفهـــرس

الفهرس

شكر وتقديـر
الملخـــص
الفهرس
قائمة الجداول
قائمة الوثائق
قائمة الاختصارات
المقدمة العامة

الجزء النظري: الفصل الأول

الإجهاد التأكسدي

I- الاجهاد التأكسدي 6
1- تعريف 6
2- المؤكسدات ..... **خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.**
2-1 الأنواع الأكسيجينة النشطة 6
2-2 مصادر الأنواع الأكسيجينية النشطة 8
3-2 الأنواع النتروجينية النشطة 10
4-2 الأنواع الكبريتية النشطة 11
3- نتائج الاجهاد التأكسدي 12
4- مضادات الأكسدة 14
5-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية 14
5-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية 15
5- أهمية بعض المركبات 23
6-1حمض الكافييك 23
6-2 حمض الغاليك 23
6-3 أهمية فيتامين C 24
6-4 مركب النارجنين 24
6-5 حمض التوكوفيرول 25

6-6 أهمية حمض الكريستين 25
6-7 مركب الكاتشين 26
6-8 مركب الرزفيراتول 25

الجزء النظري: الفصل الثاني

الدراسة النظرية للنباتات المدروسة

I- الدراسة النظرية للنباتات المدروسة 32
I-1-عموميات حول العائلة القطيفية 32
I-1-1- تعريف 32
I-1-2 الانتشار الجغرافي للعائلة Amaranthaceae 32
I-1-3 المحتويات الكيميائية للعائلة القطيفية 33
I-1-4 الاستخدامات 33
I-2 الدراسة النظرية لنبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del.) 34
I-2-1 تعريف نبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del.) 34
I-2-2 تصنيف نبات الحاد في المملكة النباتية 35
I-2-3 الوصف النباتي لنبات الحاد 35
I-2-4 دورة حياة نبات الحاد 33
I-2-5 التوزيع والانتشار الجغرافي 36
I-2-6 فوائد واستعمالات نبات الحاد 37
I-2-7 أهم الدراسات السابقة حول نبات الحاد 37
I-3 الدراسة النظرية لنبات الصباغ (*Salsola richteri* Moq.) 38
I-3-1 تعريف نبات الصباغ (*Salsola richteri* Moq.) 38
I-3-2 تصنيف نبات الصباغ 40
I-3-3 الوصف النباتي لنبات الصباغ 39
I-3-4 دورة حياة نبات الصباغ 40
I-3-5 التوزع والانتشار الجغرافي 32
I-3-6 التركيب الكيميائي 32
I-3-7 فوائد واستعمالات نبات الصباغ 33

الجزء التطبيقي: الفصل الأول

المواد والطرق

I- الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف محل الدراسة 45
II- الوسائل والطرق 43
II-1 المواد والأدوات والأجهزة المستعملة 43
II-2 الطرق وخطوات العمل 47
II-3 تحضير المستخلصات المائية للنبات 49
II-4 الدراسة الفيزيوكيميائية للمادة النباتية 50
II-5 الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات النباتية المدروسة 52
II-5-1 الكشف الكيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوية 52
II-5-2 التقدير الكمي للمركبات الفينولية 52
II-6 الكروماتوغرافي للمستخلصات الخام باستعمال الـHPLC 55
II-7 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة 56
II-7-1 اختبار DPPH• free radical scavenging assay 53
II-7-2 استخلاب الحديد 57
II-7-3 اختبار الكسح الجذري ABTS 54
II-7-4 النشاط الازاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 59
II-8 الفعالية المضادة للبكتيريا 60
II-8-1 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقة الانتشار بواسطة الابار في وسط صلب 60
II-8-2 اختبار التخفيف الدقيق في السوائل (Broth Microdilution Assay) 45

الجزء التطبيقي: الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I- النتائج والمناقشة 66
الخاتمة 87
قائمة المراجع 89
الملاحق 106

قائمة الجداول

قائمة الجداول

الجدول 1: التصنيف النباتي لنبات الحاد 27
الجدول 2: التصنيف النباتي لنبات الصباغ. 30
الجدول 3: نسبة المكونات الكيميائية والغذائية في أجزاء النبتتين *C. monacontha* و *S. richteri* 47
الجدول 4: نسبة عائد المستخلصات في أجزاء النبات المختلفة..... 48
الجدول 5: التحليل الفيتوكيميائي لمستخلصات أجزاء النبتتين *C. monacantha* و *S. richteri* 49
الجدول 6: تراكيز المركبات الفينولية المعروفة في المستخلصات المدروسة 53
الجدول 7: نتائج دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا والفطريات لمختلف مستخلصات نبات *S. Richteri* و *C. monacontha* 60
الجدول 8: نتائج اختبار قياس اقل تركيز مثبط واقل تركيز قاتل MIC/MBC لمستخلصات كل من نبـــات *S. Richteri* و *C. monacontha* 62

قائمة الأشكال

قائمة الأشكال

الشكل 1: مسارات تشكل الأنواع الأكسجنية والنتروجينية النشطة وطرق التخلص منها..... 11
الشكل 2: يبين مواقع انتاج الأنواع الأكسيجينية النشطة على مستوى الميتوكوندري..... 8
الشكل 3: طرق التكامل بين مضادات الأكسدة الإنزيمية..... 15
الشكل 4: يوضح أقسام الأحماض الفينولية..... 18
الشكل 5: البنية الأساسية للفلافونويدات 19
الشكل 6: تبين الأقسام المختلفة للفلافونيدات. 20
الشكل 7: اشكال أقسام الدباغيات..... 22
الشكل 8: مواقع استخلاب الحديد من طرف الفلافونيدات..... 24
الشكل 9: آلية التأثير الازاحي للفلافونيدات على الجذور الحرة..... 24
الشكل 10: الموقع ولاية الوادي بالنسبة لولايات الجزائرية..... 37
الشكل 11: صورة لـ *Cornulaca monacontha* من موقع الدراسة 40
الشكل 12: صورة لـ *Salsola richteri (Moq)* من موقع الدراسة..... 40
الشكل 13: المنحنى القياسي لحمض الغاليك (GA) 45
الشكل 14: المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين (QE) 46
الشكل 15: المنحنى القياسي للكاتشين (CA) 47
الشكل 16: اختزال 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل إلى ثنائي فينيل بيكريل هيدرازين 48
الشكل 17: تكوين الكاتيون الجذري $ABTS^{+}$• من ABTS 50
الشكل 18: التقدير الكمي للمركبات الفينولية للمستخلص المائي لأجزاء نبات *C. Monacantha* و*Salsola Richteri*..... 60
الشكل 19: المنحنيات الكروماتوغرافية للمركبات الفينولية في المستخلصات الخام للنباتات المدروسة 62
الشكل 20: DPPH للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri* 65
الشكل 21: ABTS للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri* 66
الشكل 22: استخلاب الحديد للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri*..... 67
الشكل 23: النشاط الازاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين للأجزاء المستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri*..... 69

قائمة الوثائق

قائمة الوثائق

الوثيقة 1: الانتشار الجغرافي لنباتات العائلة القطيفيية في العالم حيث اللون الأحمر يمثل مواقع انتشار العائلة في العالم 26
الوثيقة 2: نبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del)..... 27
الوثيقة 3: خريطة التوزيع الجغرافي لنبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del)..... 29
الوثيقة 4: نبات الصباغ (*Salsola richteri*)..... 31
الوثيقة 5: توزيع نبات الصباغ في مناطق مختلفة من العالم..... 33
الوثيقة 6: الموقع ولاية الوادي بالنسبة لولايات الجزائرية..... 42
الوثيقة 7: صورة لـ *Cornulaca monacontha* من موقع الدراسة..... 45
الوثيقة 8: صورة لـ *Salsola richteri (Moq)* من موقع الدراسة..... 45
الوثيقة 9: تحضير أوساط الزرع البكتيري..... 58
الوثيقة 10: خطوات بروتوكول تجريبي للنشاطية المضادة للبكتيريا 59

قائمة الاختصارات

قائمة الاختصارات

ABTS: 2,2-azino-bis 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique.

BHT: Butyl hydroxy toluene.

CAT: Catalase.

DHLA: Acide a-dihydrolipoique.

DPPH: 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EDTA: Acide éthylène diamine tétra acétique.

GPx: Glutathion peroxydase.

GSH: Glutathion réductase.

GSSG: Glutathion oxydase.

H_2O_2: Peroxyde d'hydrogène.

Hocl: Acide hypochloreux.

LO: Alkyl

LA: Acide lipoïque.

LOX: Lipoxygénase

LOO: Radical peroxide.

O_2: Radical superoxide.

OH: Radical Hydroxyle.

Q10: Ubiquinol 10

ROS: Espèces réactifs de l'oxygène.

SOD: Superoxide dismutase.

XO: Xanthine oxidase.

S.richteri: *Salsola richteri*

المقدمة العامة

المقدمة العامة

(وَهُوَ الَّذِي أَنزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُّخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُّتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَىٰ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ) - الآية 99 سورة الأنعام.

اثبت تاريخيا أن النباتات الطبية لها مكانة كبيرة نظرا لفعاليتها العلاجية الكيميائية والصناعية لكونها مصدرا مهما لمجموعة من الجزيئات الفعالة والنشطة بيولوجيا وهي مركبات كيميائية طبيعية تنتجها النباتات لغرض الحماية من الآفات الميكروبية وعوامل الإجهاد البيئي (Atanova et Lozli, 2015).

تمتلك النباتات نشاطا قويا مضادا للأكسدة يساعد في حماية الخلايا من الأضرار التي تسببها الجذور الحرة التي تتولد داخل جسم الإنسان بشكل طبيعي عبر سلسلة من التفاعلات الحيوية خلال التنفس الهوائي أو من مصادر خارجية، ينتج من وجودها بتراكيز عالية العديد من الأمراض مثل أمراض القلب، الأعصاب، الربو، مرض باركنسون بالإضافة إلى الأمراض الالتهابية والميكروبية بسبب إحداثها لتلف على مستوى بعض الجزيئات البيولوجية الخلوية خاصة الحمض النووي، البروتينات والليبيدات محدثةً ما يسمى بالإجهاد التأكسدي وهو حالة من عدم التوازن بين المواد المؤكسدة ومضادات الأكسدة لصالح المؤكسدات مؤديا بذلك لحدوث خلل جزيئي يكون مصحوبا بأضرار صحية (Singh et *al*., 2016).

اكتسبت الجزيئات النشطة بيولوجيا المشتقة من النباتات اهتماما محوريا في السنوات الأخيرة نظرا لأهميتها في كل من الوقاية من الأمراض وعلاجها (Sharifi-Rad et *al*., 2020)، ويرجع ذلك لقدرتها على حماية الأعضاء الحساسة والمعرضة للتلف التأكسدي الناتج عن مجموع الجزيئات الجذرية (yeni, 2019) عن طريق آليات متعددة تشمل كسح أو قمع تكوين الجذور الحرة أو استخلاب العناصر المشاركة في توليدها أو تثبيط الإنزيمات بواسطة تنظيم وحماية الدفاعات المضادة للأكسدة (Meltim, 2015)، مما يمنع تكوينها وتنظيم عمليه الأكسدة والاختزال (Losada-Barreiro et *al*., 2020).

بالرغم من تطور البحث إلا أن هذا لا يمنع من استخدام الطب التقليدي والحاجة الماسة للأعشاب وعلى هذا الأساس تم اختيار نباتي *C. monacantha* و*S. richteri* في هذه الدراسة وذلك لما تملكانه من خصائص علاجية وكيميائية فعالة في الأجزاء الهوائية (Boumediou et Addoun, 2017) حيث تطرقنا في دراستنا إلى تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي لأوراق نبات الحاد الشوكي والصباغ من العائلة القطيفية من خلال تقدير الفعالية المضادة لجذر DPPH اختبار الكسح الجذري ABTS إزاحة جذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 واختبار استخلاب الحديد بواسطة الفيروزين.

الجزء النظري

الفصل الأول

الإجهاد التأكسدي

I- الاجهاد التأكسدي

1- تعريف

لقد أصبح الاجهاد التأكسدي ظاهرة العصر وهو يؤدي الى العديد من الاضطرابات الخلوية وينتج عن ذلك العديد من المشاكل الصحية، يعرف الاجهاد التأكسدي بأنه خلل في التوازن بين المواد المؤكسدة ومضادات الأكسدة وذلك نتيجة لانخفاض معدل مضادات الأكسدة أو نتيجة الانتاج المفرط للجذور الحرة (Favier, 2003).

2- المؤكسدات

الجذر الحر عبارة عن ذرة أو جزيء يحتوي على الكترون حر غير مزدوج في مداره الخارجي، يطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد على الجذر الحر. ففي الحالات العادية تبقى الالكترونات في الجزيئات على هيئة مزدوجة وحين يفقد الجزيء أحدها يصبح غير مستقر ويؤذي الجزيئات الأخرى المجاورة.

ان بقاء الالكترون حرا ووحيدا في مداره الخارجي يجعله في حالة عدم استقرار وبالتالي فهو يسعى لانتزاع الكترون من الجزيئات المجاورة وهذا ما يسبب تلفا لهذه الجزيئات في خلايا الجسم مما يتسبب في ظهور العديد من الأمراض.

يمكن اشتقاق هذه الجذور من الأكسجين ومنه جاءت التسمية الأنواع الأكسجينية النشطة، أو من النتروجين (الازوت)، وتسمى عندها الأنواع النتروجينية النشطة أومن الكبريت وتدعى بالأنواع الكبريتية النشطة (Droge, 2002).

1-2 الأنواع الأكسيجينية النشطة

1-1-2 جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot -}$)

تستخدم الثدييات نسبة 85-90% من الأكسيجين الذي تأخذه الخلايا من بلازما الدم بواسطة الميتوكوندري وذلك لأكسدة المغذيات من اجل انتاج الطاقة والمعروف بالأكسدة التنفسية وهنا تتم تفاعلات أكسدة وارجاع تلعب نواقل الالكترونات مثل FAD، NAD^+ وFMN وغيرها دورا اساسيا في هذه العملية وينتج عن ذلك انتاج طاقة على شكل ATP (ادينوزين ثلاثي الفوسفات).

حسب التفاعل التالي:

$$O_2 + 4\acute{e} + 4H^+ \longrightarrow 2H_2O \quad (1)$$

يدعى الانزيم النهائي في سلسلة نقل الالكترونات على الغشاء الداخلي للميتوكوندري بـ Cytochrome c oxidase حيث يضيف 4 الكترونات للأكسيجين الا أنه خلال عملية مرحلية تتولد أنواع الأوكسيجين المختزلة جزئيا اي منقوصة الالكترون. وهذا ما يعرف بجذر فوق الأكسيد ($O_2^{\cdot -}$). (تفاعل2).

$$O_2 + é \longrightarrow O_2^{\cdot -} \quad (2)$$

ينتج جذر فوق الأكسيد عن طريق انزيم NADPH oxidase المتواجد على مستوى الخلايا الطلائية الوعائية كما يمكن ان ينتج ايضا عن طريق الأكسدة الذاتية للوسائط العصبية الموصلة مثل (هرمون الادرينالين، الدوبامين .....الخ) وكذلك المركبات الكبريتية ومرافقات الانزيمات المرجعة ($FADH_2$ و$NADH_2$) (Guettridge et Halliwel, 1999).

2-1-2 بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)

لا يعد بيروكسيد الهيدروجين جذرا حرا وانما جزيئا فعالا ينتج خلال الارجاع غير التام للإلكترونات بوجود انزيمات الأكسدة (Aminoacide oxidase و Glycolate oxidase وUrate oxidase) المتواجدة أساسا في حويصلات الليزوزيم. ومن جهة ثانية يعتبر الغشاء الخارجي للميتوكوندري موقعا لأنزيم Monoacide oxidase القادر على تشكيل **(H_2O_2)** تفاعل (3)

$$O_2 + 2é + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 \quad (3)$$

يتم تنظيم التراكيز المرتفعة لـ H_2O_2 بواسطة انزيم الـ Catalase الموجود في البيروكسيزوم حيث يحفز تحويل H_2O_2 الى O2 و H_2O تفاعل (4) أما انزيم Glutatathion peroxydase المتواجد في الهيولى فيقوم بتحفيز تفاعل أكسدة الـ glutathion (GSH) في وجود H_2O_2 تفاعل (5) (Handy et *al*., 2012).

$$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2 \quad (4)$$

$$H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG \quad (5)$$

3-1-2 جذر الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$)

يمكن أن يتشكل هذا الجذر من بيروكسيد الهيدروجين في تفاعل غير انزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديد و(Fe^{2+}) ويسمى تفاعل Fenton (تفاعل 6)، يعتبر جذر الهيدروكسيل جزيء نشط جدا يمكنه التفاعل مع البروتينات والدهون والأحماض النووية وغيرها من الجزيئات حيث يغير من تركيبها متسببا في تلف الأنسجة رغم تميزه بحياة قصيرة جدا تقدر بحوالي 10^{-9} ثانية. يساهم الـ $O_2^{\cdot -}$ في انتاج هذا الجذر بواسطة تفاعله مع H_2O_2 ويدعى تفاعل Haber-weiss (تفاعل7) (Valko et *al*., 2007).

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^- + OH^- + Fe^{+3} \quad (6)$$

$$H_2O_2 + O_2^- \longrightarrow O_2 + OH^- + OH^- \quad (7)$$

تعتبر الأنواع الأكسجينية النشطة ROS الأكثر نشاطا وانتشارا في الأوساط البيولوجية وبالتالي يمكنها التفاعل مع مركبات كيميائية أخرى منتجة أنواعا أكثر فعالية مثل تفاعل H_2O_2 مع شوارد الكلور لتشكل حمض الايبوكلوريس (HOCl) في وجود انزيم Myeloperoxydase تفاعل (8) (Zhang et Jing, 2013).

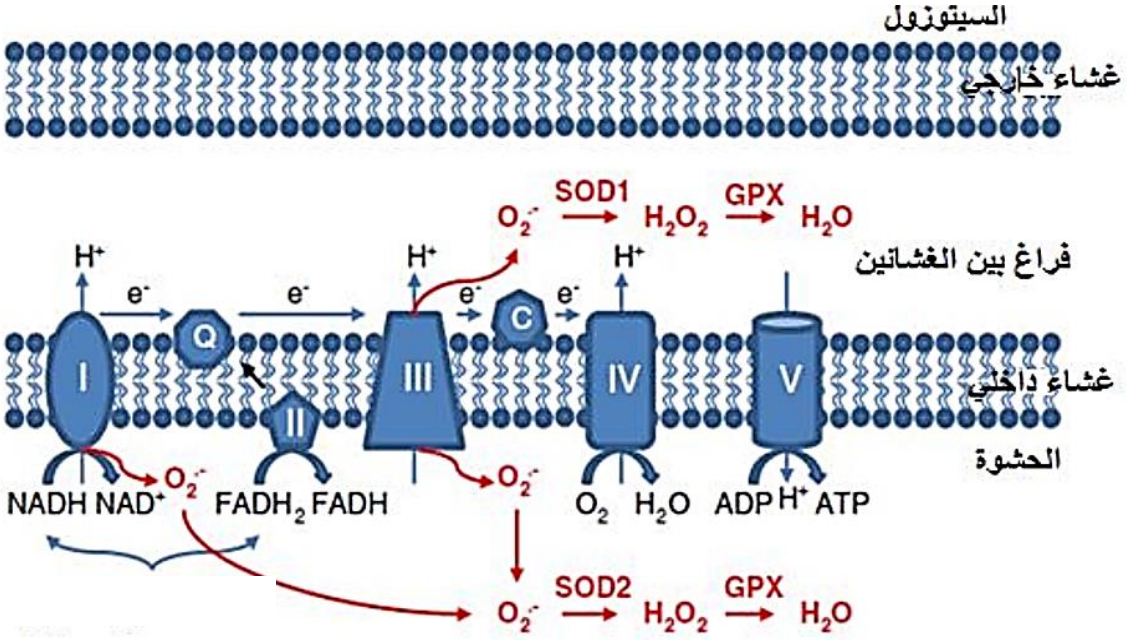
$$H_2O_2 + Cl \longrightarrow HOCl + H_2O \quad (8)$$

2-2 مصادر الأنواع الأكسيجينية النشطة

2-2-1 المصادر الداخلية

يعتبر الميتوكوندري المصدر الرئيسي لإنتاج هذه الأنواع الأكسيجينية (شكل2) اذ أن ما يقدر بـ 1-2 %من كمية الأوكسجين المستهلك يمكن أن يتحول الى O_2^- ويتدخل في ذلك انزيم NADH dehydrogenase المركب (I) و ubiquinone-cytochrome –bc1 (المركب III) (Gutierrez et *al.*, 2006). يكون مستوى $O2^{\cdot-}$ مرتبطا بنشاط انزيم Mn-SOD الموجود في حشوة الميتوكوندري والذي يحوله الى H_2O_2 وO_2 يمكن لأنزيم Monoamine Oxidase الموجود في الغشاء الخارجي للميتوكوندري أن يكون مصدرا آخر لإنتاج H_2O_2 (Noori, 2012).

كما تعتبر الميتوكوندري ايضا موقعا هاما لإنتاج $OH^{\cdot}$ في وجود اجهاد تأكسدي (Thomas et *al.*, 2009).



الشكل 1: يبين مواقع انتاج الأنواع الأكسيجينية النشطة على مستوى الميتوكوندري (Li et *al.*, 2013)

- **انزيم NADPH oxidase**

عند تنشيط الخلايا المناعية البالعة المتعادلة وأحادية النواة والكبيرة في وجود أجسام غريبة كالبكتيريا يقوم هذا الانزيم بإنتاج كميات معتبرة من جذر $O2^{\cdot-}$ وهذا بتحويل الالكترونات من **NADPH** الى الأوكسيجين الجزيئي.

ان جذر $O2^{\cdot-}$ الناتج يمكنه أن يكون طليعة لمركبات أخرى قادرة على أكسدة الجزيئات البيولوجية (Quinn, Schepektin et 2009).

تحتوي الخلايا الليفية وخلايا العضلات الملساء الوعائية على هذا الانزيم الذي يستعمل الـ NADH أو الـ NADPH لإنتاج الـ $O2^{\cdot-}$ (Pagano et Rey, 2002 ; Griendling et *al*., 2000).

- **انزيم Xanthine oxidase (XO)**

يعتبر هذا الانزيم مصدرا مهما لإنتاج جذر $O2^{\cdot-}$ و H_2O_2 من خلال تفاعلات أكسدة Xanthineو Hypoxanthine الى حمض اليوريك خلال الأمراض الالتهابية (Kelly et *al*., 2010).

لقد وجد ايضا ان الـ**XO** يستطيع ان يحول النترات الى نتريت و .NO على التوالي، كما يمكنه أيضا تنشيط تفاعل الـ .NO و $O2^{\cdot-}$ لانتاج الـ .-OONO (Godbar et *al*., 2000).

- **انزيم Nitric oxidase synthase (NOS)**

ينتج في الأنسجة الحيوانية بواسطة انزيم Nitric Oxide Synthase والذي يتواجد على ثلاثة أشكال هي eNOS (Endothelial Nitric Oxide Synthase) وnNOS (neuronal nitric oxide synthase) وiNOS (inducible nitric oxide synthase)، ينظم عمل الشكلين الأول والثاني بوجود شوارد الكالسيوم ويحفزان بدورهما L-arginine في وجود الأوكسجين الجزيئي و tetrahydrobioprotein (BH4) و NADPH كمرافقات انزيمية لإنتاج كميات منخفضة من $NO^{\cdot}$ قصد أداء وظائف فيزيولوجية معينة. بينما يعمل الـ iNOS بطريقة مستقلة عن الكالسيوم ويكون منظما بواسطة NFKB وينشط في وجود وسائط الالتهاب مثل السيتوكينات والنواتج البكتيرية الأخرى فيؤدي الى انتاج كمية من NO أكبر بـ 100 مرة من تلك المنتجة من طرف الانزيمات الأساسية. أما في غياب L-arginine أو tetrahydrobioprotein لوجود اجهاد تأكسدي يحدث ارجاع الأكسجين الجزيئي الى $O2^{\cdot-}$ (Lavie, 2014).

- **انزيم Myeloperoxidasa**

تنتجه الخلايا المناعية المتعادلة واحادية النواة خلال تنشيطها بسبب دخول عناصر غريبة عن العضوية ويستعمل الـ H_2O_2 لإنتاج حمض الـ Hypochlorous (HOCL)، كما يمتلك هذا الانزيم نشاطية انزيم peroxidase الذي يؤكسد عدة مواد عضوية لتشكيل أنواع نشطة أخرى (Wassmann et *al*., 2004).

2-2-2 المصادر الخارجية

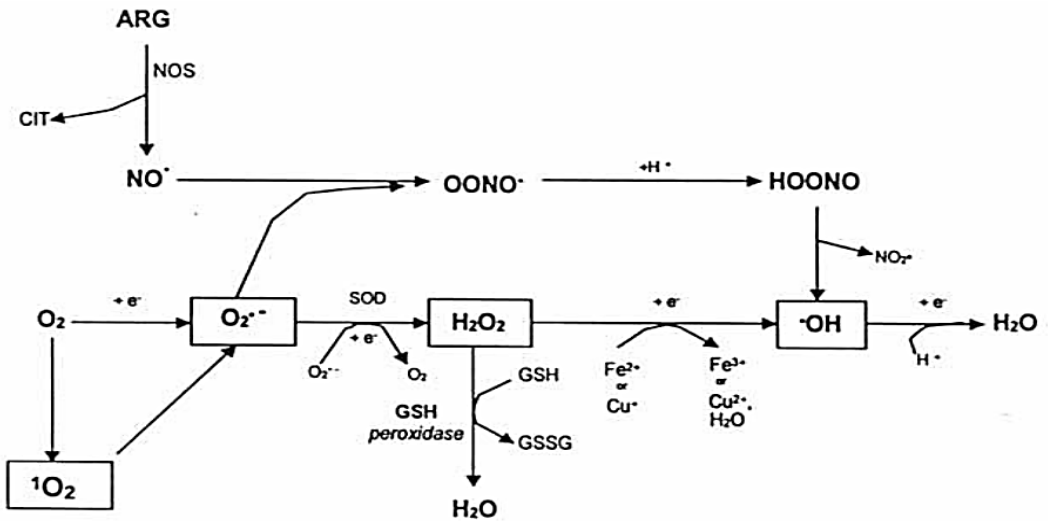
يتعرض الجســـم لمختلف العوامل الخـارجيـة التي يمكن أن تؤدي إلى تكوين الجذور الحرة، حيث تتسبب الأشعة فوق البنفسجية في إنتاج $O_2^{\bullet-}$، $OH^{\bullet}$ و O_2 (Pavlou et *al*., 2009)، كما تؤدي أكسدة الأدوية والكحولات على مســـتوى الكبد إلى زيادة إنتاج الجذور الحرة (Mari et *al*., 2010) تدخل عدة ســـموم منتشـــرة في الغذاء و المحيط (التبغ، المبيدات، الإضـــافات الغذائية ..) في إنتاج الجذور الحر ة عبر تنشـــيط الإنزيمـات (Abdollahi et *al*., 2004) يقوم إنزيم Cyt p450 يتحول (tetrachloride (CCl_4 carbone في خلايـا الكبـد إلى $CCl_3^{\bullet}$، هذا الأخير يتحول إلى $CCl3OO^{\bullet}$ في وجود الأكســـجين ليبدأ الأكسدة الذاتية للأحماض الدهنية غير المشبعة (Lee et *al*., 2004).

تعتبر المعادن السامة مثل الكروم (Cr)، النحاس (Cu) و(V) vanadium محفزات قوية لتفـاعلات الأكســـدة وإنتاج الجذور الحرة (Koivula et *al*., 2011)، كما يمكن للمخدرات مثل الكوكايين أن تســـبب أضرارا تأكسدية على مستوى الجلـد وذلك بتنشيطها الإنزيمي XOR وNOS (Portugal et *al*., 2010).

3-2 الأنواع النتروجينية النشطة

ينتج جذر أكســيد الازوت ($NO^{\cdot}$) في الأنســجة الحيوية بواســطة انزيم Nitric Oxide Synthase (Nos) عن طريق أكســدة L-arginine وهو يلعب أدوارا فيزيولوجية مهمة اذ يعتبر ناقلا عصــبيا ومنظما لضــغط الدم كما له دور في آليات الدفاع المناعي واســترخاء العضــلات الملســاء. يملك هذا الجذر خاصــية الاستقرار في الأوساط منخفضـة الأوكسيجين (أكثر من 15 ثانية) كما انه يذوب في الأوساط المائية وهو ما يجعله أكثر انتشـــارا في الهيولى والأغشـــية الخلوية (Valco et *al*., 2007). يمكنه التفاعل مع كل من الـ $O_2^{\cdot-}$ و H_2O لتشـــكيل النيترات وأيون النتريت على التوالي، اضـــافة الى امكانية اتحاده مع $O_2^{\cdot-}$ خلال التفاعلات الالتهابية لإنتاج كميات معتبرة من أيون $ONOO^{\cdot-}$ والذي يعتبر من أكثر الجذور المؤكســـدة للجزيئات البيولوجية خاصة الدهون والـ ADN (Carr et *al*., 2000).

$$NO^{\cdot} + O_2^{\cdot-} \longrightarrow ONOO^{\cdot-} \quad (9)$$



الشكل 2: مسارات تشكل والقضاء على الأنواع الأكسجنية والنتروجينية النشطة وطرق التخلص منها

(Bandyopadhyay et *al*., 2004)

4-2 الأنواع الكبريتية النشطة

الأنواع الكبريتية النشطة (Reactive Sulfur Species) هي مركبات تحتوي على الكبريت وتتمتع بقدرة على التفاعل مع مكونات الخلايا، مما يؤدي إلى حدوث تفاعلات أكسدة وتأكسد يمكن أن تلحق الضرر بالجزيئات البيولوجية مثل البروتينات والأحماض النووية والدهون (Kowalczyk et *al*., 2016). الأنواع الكبريتية النشطة تعتبر جزءًا من مجموعة أوسع من الجذور الحرة والأنواع التفاعلية. الإجهاد التأكسدي الكبريتي يُحتمل أن يساهم في مجموعة من الأمراض بما في ذلك أمراض القلب والأوعية الدموية، التسمم الكبريتي، والاضطرابات العصبية (Kimura, 2013). الأنواع الكبريتية النشطة تشمل:

1-4-2 كبريتيد الهيدروجين (H_2S)

هو مركب كبريتي يتم إنتاجه في الجسم من خلال تفاعلات إنزيمية وهو معروف بخصائصه السامة عند وجوده بتركيزات عالية. رغم أنه يُعتبر سامًا في تركيزات مرتفعة، إلا أن H_2S يلعب دورًا في العمليات البيولوجية مثل تنظيم الأوعية الدموية والتواصل العصبي (Shao et *al*., 2014).

في الكائنات الحية، يتم إنتاجه عبر إنزيمات مثل Cystathionine-β-synthase و Cystathionine-γ-lyase، حيث يلعب دورًا في تنظيم التوازن الأيوني والتفاعل مع الجذور الحرة. كما يمكن أن يؤدي تراكم H_2S إلى أضرار أكسدة بواسطة التفاعل مع البروتينات، مما يسبب مشاكل في وظائف الخلايا (مثل تعطيل الإنزيمات الخلوية) (Kowalczyk et *al*., 2016).

2-4-2 الجذور الحرة الكبريتية (Sulfanyl Radicals)

هي الجذور الحرة التي تحتوي على الكبريت، مثل الجذور الكبريتية (RS). تعتبر هذه الأنواع تفاعلية للغاية ويمكن أن تتفاعل مع مجموعة واسعة من المركبات البيولوجية، مثل البروتينات والدهون. الجذور الحرة الكبريتية يمكن أن تؤدي إلى أكسدة البروتينات والدهون في الخلايا، مما يؤدي إلى تحلل الخلايا وزيادة الإجهاد التأكسدي (Shao et *al*., 2014).

3-4-2 الثيوسلفات (SO_3^{-2} - Sulfite)

هو أيون كبريتي نشط يمكن أن يتسبب في الإجهاد التأكسدي عند تراكمه في الجسم. يُنتَج عن تفاعلات تكسُّر الكبريت في الجسم. يرتبط الثيوسلفات بالتفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الخلايا، وتؤثر على توازن مضادات الأكسدة في الجسم (Shao et *al*., 2014).

4-4-2 الميثانثيول (CH_3SH) (Methyl Mercaptan)

هو مركب يحتوي على الكبريت ويعتبر من الأنواع الكبريتية النشطة التي يمكن أن تساهم في التفاعلات المؤكسدة داخل الخلايا. يُنتَج الميثانثيول من عمليات استقلاب الكبريت ويعتبر من المركبات السامة عند تركزها في الجسم (Kimura, 2013).

3- نتائج الاجهاد التأكسدي

تقوم مختلف الأنواع الأوكسجينية النشطة بأدوار وظيفية فعالة اذ تستعمل كوسائط تنظم الوظائف البيولوجية كتوسيع الأوعية الدموية أو تستعمل كوسائط عصبية والدفاع عن العضوية، ضد العناصر الغريبة. الا أن الانتاج المفرط لها يتسبب في أضرار للجزيئات الخلوية كأكسدة الدهون والأحماض الدهنية الحرة والكولاجين (Favier, 2003 وMichel et *al*., 2004). وبالتالي فهي تلعب دورا هاما في تطور العديد من الأمراض كالسكري وتصلب الشرايين والأمراض العصبية والروماتيزم خاصة عند تراكيزها العالية (Dröge, 2002).

1-3 فوق أكسدة اللبيديات

تحتوي الأغشية الخلوية على كميات كبيرة من البروتينات الدهنية وفوسفولبيدات غنية بالأحماض الدهنية غير المشبعة، والتي تكون عرضة للجذور الحرة مؤدية إلى حدوث فوق أكسدة اللبيدات (Pratt et *al*., 2011). تتم عملية فوق أكسدة اللبيدات على ثلاثة مراحل (Sachdev et Davies, 2008):

- **مرحلة البداية:** أثناء هذه المرحلة يتشكل جذر alkyl radical ($L^{\bullet}$)، حيث يقوم الجذر $OH^{\bullet}$ بمهاجمة للأحماض الدهنية غير المشبعة LH، وينزع هيدروجين من إحدى ذرتي كربون الرابطة الثنائية.

- **مرحلة الإنتشار:** يتأكسد الجذر $L^{\bullet}$ في وجود الأكسجين إلى جذر Peroxyl ($LOO^{\bullet}$)، هذا التفاعل يدعى بفوق أكسدة الليبيدات والتي تشكل تفاعلات متسلسلة، لأن جذر $LOO^{\bullet}$ المتشكل يتحول إلى حذر Peroxyd (LOOH) عند تفاعله مع حمض دهني آخر مشكلا جذر $L^{\bullet}$ جديد.
- **مرحلة النهاية:** تتوقف تفاعلات عملية فوق أكسدة الليبيدات إما بتدخل مركب مضاد للأكسدة كالفيتامين E لكسر للسلسلة أو تشكل هذه الجذور فيما بينها جزيئات غير جذرية (Maria et *al*., 2010).

ويمكن للبروتينات الليبيدية الجارية في الدم أو الفوسفوليبيدات الغشائية أن تتعرض للهجوم التأكسدي إذ ينتج عن أكسدة هذه الليبيدات LDL المؤكسد الذي يلتهم من طرف البالعات، مشكلا بذلك ترسبات ليبيدية تكون سببا في الأمراض القلبية الوعائية (Sugamura et Keaney, 2011)، كما تسبب فوق أكسدة الليبيدات تغيرات في ميوعة ونفاذية الأغشية الخلوية وبالتالي تغيير وظائف العديد من المستقبلات والنواقل ونقل الإشارات الخلوية (Cazzola et *al*., 2004).

2-3 أكسدة البروتينات

تعتبر البروتينات من المكونات السائدة في الخلية لذا فهي هدف من أهداف الجذور الحرة، إذ تطرأ على الجزيئات البرونيسية تغيرات جوهرية من خلال تفاعلات الأكسدة التي تستهدف الأحماض الأمينية (Negre et *al*., 2008).

ترتبط حساسية البروتينات تجاه الجدور الحرة بأنواع الأحماض الأمينية المكونة لها، حيث أن الأحماض الحاملة للوظيفة thiol (SH) والأحماض الأمينية العطرية أكثر عرضة للأكسدة، بحيث تؤدي أكسدة مجاميع SH إلى تشكيل جسور ثنائية الكبريت، كما تؤدي التغيرات التأكسدية في الأحماض الأمينية العطرية إلى قطع السلاسل عديدات الببتيد (Ghezzi et *al*., 2005) تؤدي أكسدة البروتينات إلى حجب مجموعة الأمين المؤينة أو إظهار المناطق الكارهة للماء المركزية، هذا التغيير يؤدي إلى تشكل كتل بروتينية - ليبيدية تعرف بـ Lipofuscins المميزة للأنسجة المسنة (Hutter et *al*., 2007)، كما أن البروتينات المتغيرة بالأكسدة تفقد نشاطها و خصائصها البيولوجية وتصبح أكثر عرضة للتحلل بواسطة الإنزيمات الحالة للبروتينات (Szweda et *al*., 2002).

3-3 أكسدة الحامض النووي DNA

يعتبر جزيء الـ**DNA** حساس جدا لهجوم الجذور الأكسجينية حيث يتعرض يوميا لحوالي 10000 هجوم وتتمثل معظم الأضرار الناتجة عن هجوم الـ OH^{-} وهي: القواعد المؤكسدة، المواقع اللاقاعدية، الاضافات الداخلية، قطع الأذرع والجسور بين البروتينات والـ**DNA** (Cadet et *al*., 2002).

تتعرض القواعد النتروجينة المكونة للـــــ**DNA** خاصــة قاعدة الغوانين الى الأكسـدة فتتشـكل قواعد متغيرة نـذكر منهـا: 8-oxoguanine، Formamido Uracil، Formamido pyrimidine، 8-oxoadenine، 8-nitro guanine كما قد يسـبب الاجهاد كسـر الرابطة بين القاعدة النتروجينية والسـكر الريبي منقوص الـــــO_2 كما يمكن ان يهاجم السـكر نفسـه. ان الهجوم على البروتينات النووية كالهيسـتونات والانزيمات وعوامل الاسـتنسـاخ والتضـاعف يؤدي الى تشـكل جسـور في هذه البروتينات أو اضـافات على مستوى القواعد النتروجينية Lysinoguanine (Favier, 2003).

4- مضادات الأكسدة

تسـتعمل الخلايا العديد من مضـادات الأكسـدة مسـتهلكة الكثير من الطاقة لمراقبة مسـتوى الأنواع الأكسيجينية النشطة، ان لكل مادة فعالية ضد الأضرار التأكسدية، توجد مضـادات الأكسدة بتراكيز ضـعيفة ورغم ذلك فهي قادرة على تثبيط أكسدة الجزيئات، يمكن تقسيمه الى انزيمية وغير انزيمية (Sacca et *al*., 2013).

1-5 مضادات الأكسدة الإنزيمية

- **انزيم Superoxide dismutase (SOD)**

هنالك ثلاث أنواع من هذا الإنزيم تختلف في العنصـر المعدني المرافق لها وفي المكان المتواجدة فيه وهي CU.ZN-SOD المتواجد في السـيتوزول اضـافة الى الليزوزومات والنواة و MN-SOD الموجود داخل الميتوكروندري بينما يتواجد الشـكل EC-SOD خارج الخلايا (Wu et *al*., 2009). حيث يحفز هذا الإنزيم إرجاع الـ $O_2.-$ الى H_2O_2عن طريق التفاعل التالي:

$$O_2.- + O_2.- + 2H+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

- **انزيم الـ Catalase**

يتواجد هذا الانزيم في معظم انحاء الجسـم بينما يكون تركيزه مرتفعا في الكبد وتكون نشـاطيته عالية في البيروكسيزوم، ففي حالة ارتفاع تركيز الـــH_2O_2 يعمل هذا الانزيم على تحويله الى ماء وأكسجين مبطلا بذلك تأثيره السام (Cemeli et *al*., 2009). حسب التفاعل التالي:

$$H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

- **انزيم Glutathione peroxidase (GPx)**

يتواجد في انسـجة الانسـان والحيوان وتكون مسـتوياته المرتفعة في الكبد والكلية، يعمل على ارجاع H_2O_2 الى ماء وأكسـجين، يحتاج هذا التفاعل الى جزيئتين من GSH والتي تتحول الى GSSG (Cemeli et *al*., 2009) حسب التفاعلين التاليين:

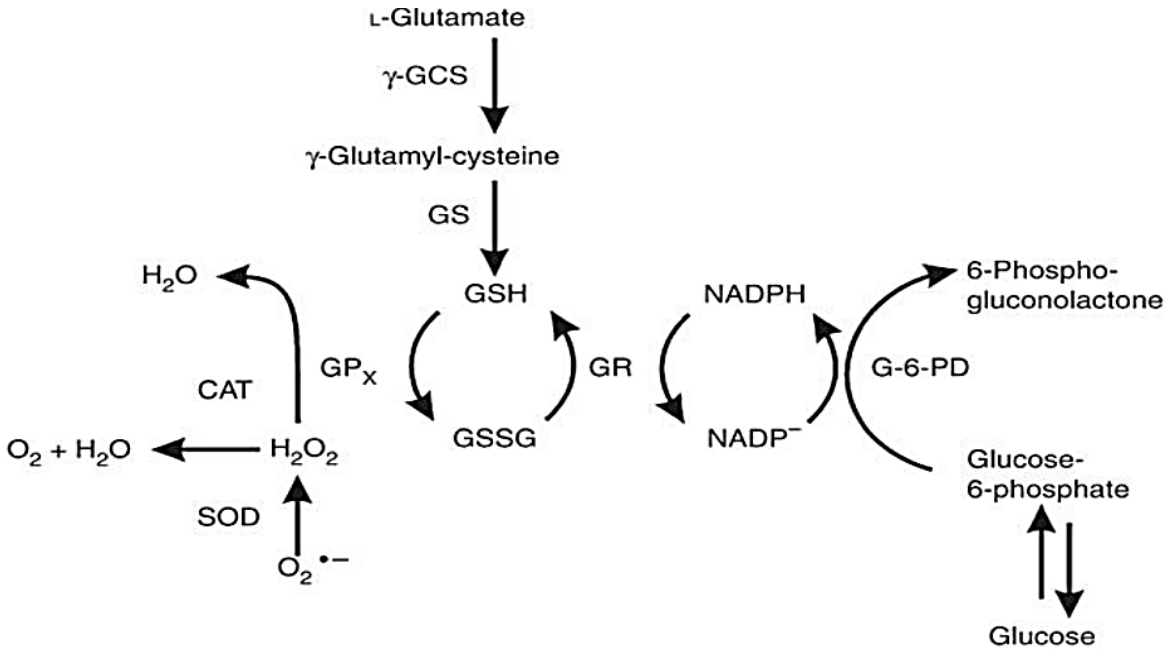
$$H2O2+2GSH \longrightarrow 2H2O+GSSG$$

$$ROOH+2GSH \longrightarrow ROH+H2O+GSSG$$

يتـدخـل إنزيم glutathion reductase ليجـدد GSH انطلاقـا من GSSG بـاسـتعمـال المرافق الانزيمي NADPH كعامل مساعد كما يلي:

$$GSSG+NADPH+H+ \longrightarrow 2\ GSH+NADP+$$

يتدخل انزيم glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6PD) لتحويل الـNADP+ الى NADPH وبذلك يكون هنالك تكامل بين أدوار الانزيمات المضادة للأكسدة الشكل (3).



الشكل 3: طرق التكامل بين مضادات الأكسدة الإنزيمية (Cullent et Weyder, 2010).

2-5 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

تعمل بعض المركبات داخلية المنشـــأ على ازاحة وتثبيط عمل الجذور الحرة وهي تتميز بأوزان جزيئية صـغيرة مثل Glutathion وحمض اليوريك وUbiqinol10 وأخرى من مصـادر غذائية كالفيتامين C والفيتامين E وعديديات الفينول والكاروتنويدات (Alok et *al*., 2014).

- **حمض اليوريك**

يعتبر ناتجا نهائيا لأكسدة قواعد البيورين في الأنسجة الحية فهو يتفاعل مع الأنواع الأكسيجينية النشطة خاصة جذر الهيدروكسيل، وهو كذلك يحمي حمض الأسكوربيك (vit c) من اكسدته داخل البلازما (Bandyopdhuyaya et *al*., 2004).

يعتبر حمض اليوريك من أقوى مضادات الأكسدة البلازمية حيث يمكنه إزاحة جذور البيروكسيل و$O_2{}^1$وO_3 و $NO^{\cdot}$ وجذور ازوتية أخرى، كما يستطيع حماية البروتينات من الأكسدة بواسطة استخلاب شوارد الحديد والنحاس التي تعتبر من المصادر المهمة لإنتاج الجذور الحرة (Kohen et Nyska, 2002 2002).

- **جزيئة الغلوتاثيون Glutathion (GSH)**

عبارة عن ثلاثي بيبتيد (L-γ-glytamyl-L-Cyesteinyl-glycine) وزنه الجزيئي منخفض جدا، يتواجد بشكل مرجع (GSH) وشكل مؤكسد (GSSG) يتميز بتأثيره المضاد للأكسدة لوجود الوظيفة الكبريتية SH للحمض الاميني سيستئين (Lobo et *al*., 2010).

يتواجد GSH داخل خلايا الانسان والحيوان والبكتيريا الهوائية، تتراوح تراكيزها بين 0,5 الى 10 ميلي مولر في خلايا الكلى والكبد وكريات الدم الحمراء والبيضاء (أكثر من 10 ميلي مولر).

يعمل ايضا على تجديد حمض الأسكوربيك وحماية أكسدة البروتينات الحاملة للوظيفة SH ونقل شوارد النحاس (Shah et *al*., 2013 ; Gul et *al*., 2000).

يعمل GSH على ازاحة الكثير من الجذور الحرة مثل شوارد $O_2{}^{\cdot-}$ و$OH^{\cdot-}$ و$O^1{}_2$ والجذور المؤكسدة للبروتينات والـ DNA (Shah et *al*., 2013).

- **الفيتامين C**

من الفيتامينات التي تذوب في الماء تركبه النباتات وبعض الحيوانات، يمتلك عدة وظائف بيوكيميائية اضافة الى نشاطه ككاسح للجذور الحرة حيث يمكنه ان يمنحها الكترون محولا اياها الى مركبات مستقرة.

يلعب هذا الفيتامين دورا في نقل الالكترونات بين الهيولى والوسط خارج خلوي، كما يمكنه المشاركة في اعادة تشكل فيتامين E وهو بذلك يساهم في تثبيط أكسدة الدهون (Bandyopadhuyaya et *al*., 2004)، يتواجد فيتامين C في الهيولى والليزوزومات ويمكنه التفاعل مباشرة مع الأنواع الأكسيجينية النشطة مثل $OH^{\cdot-}$ و$O_2{}^{\cdot-}$ و.ROO مشكلا بذلك جذر Semidehydroascorbate الأقل فاعلية والذي يتحول بسرعة الى Dehydroascorbate في وجود انزيم NADPH réductase.

يتعاون هذا الفيتامين مع فيتامين E في حماية LDL من الأكسدة وينتج عنه الوقاية من مرض تصلب الشرايين (Du et *al*., 2012).

- **الكاروتينويدات**

تشـــكل الكاروتينويدات مجموعة من المركبات الذائبة في الدهون والمتواجدة في النباتات خاصـــة الثمار، تمتلك نشاطية مضادة للأكسدة كتلك الموجودة عند المركب Tocopherol، اذ يمكنه بواسطة السلسلة الكربونية الطويلة ان يزيح جذور البيروكسيل وجذر O^1_2 حيث أن جزيئة واحدة من الكاروتينويدات تستطيع تثبيت العديد من الجذور الحرة (Rolland, 2004).

- **المركبات الفينولية**

تمثل هذه المركبات مجموعة واســـعة من المنتجات النباتية مجموعة ناتجة عن الأيض الثانوي تدافع ضد تأثير الأشعة فوق البنفسجية والأجسام الغريبة، تصنف الى مجموعات مختلفة حسب عدد حلقات الفينول المكونة لها اضـــافة الى عدد مجاميع الميثيل والهيدروكســـيل المرتبطة ينتج عن هذا الاختلاف العديد من هذه المركبات وهي: أحماض فينولية، فلافونيدات، تانينات، Stilbens، Lignans (Manach et *al*., 2004).

- **الأحماض الفينولية**

جزيئات بسيطة تمثل الوحدة الأساسية لبناء المركبات الفينولية الأخرى (Morton et *al*., 2000).

تنتشـر بشـكل واسـع في النباتات الطبية خاصـة (Psotova et *al*., 2003)، وتنقسـم الى قسـمين رئيسيين هما: قسم مشتق من حمض Hydroybenzoic وقسم مشتق من حمض Hydroxycinnamic (شكل 4).

- **الأحماض المشتقة من حمض Hydroybenzoic**

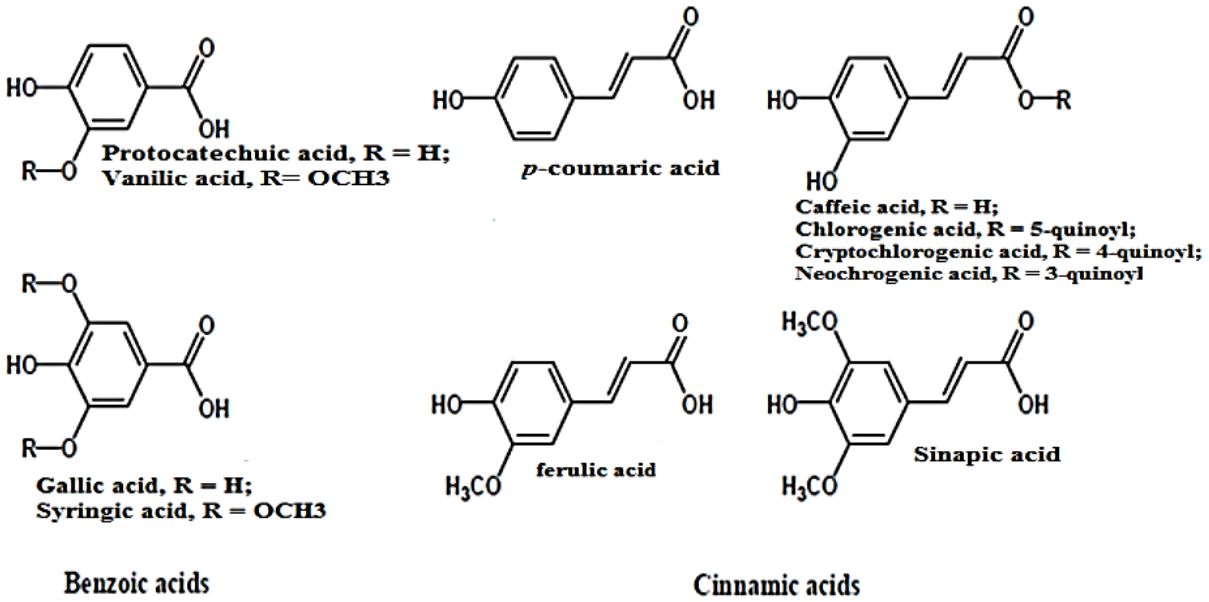
لها هيكل يتكون من C6-C1 وهي موجودة بكميات ضـــعيفة في النباتات المأكولة عدا بعض الفواكه الحمراء والبصـل، حيث تمتلك حوالي 10ملغ/كغ من الوزن الطازج، يمثل الشـاي اهم مصـدر لحمض الغاليك اذ تحتوي أوراقه على كميات تصل الى 4,5غ/كغ من الزن الطازج (TOMAS-Barberan et Clifford, 2000). تعتبر الأحماض المشـــتقة من حمض هيدروبنزويك المركبات الأســـاســـية لبناء التانينات المميهة بنوعيها Gallotanins و Ellagitanins (Clifford et Scalbert, 2000).

- **الأحماض المشتقة من حمض Hydroxycinnamic**

هو القســم الأكثر تواجدا من الســابق يشــتمل على حمض P-coumaric وحمض Cafeic وحمض Sinapic ونادرا ما تكون حرة ما عدا في حالات التجميد والتخمير والتعقيم، ان الأشكال المرتبطة عبارة عن مشتقات سكرية أو أسترات لأحماض الكينيك والشيكميك والطرطريك.

يتحد حمض الـــ Cafeic مع حمض الـــ Quinic لتشكيل حمض الـــ Chlorogenic المتواجد في العديد من الفواكه وبتراكيزعالية في القهوة حيث يحتوى الكوب منها على 70-350 مغ من هذا الحمض (Manach et *al*., 2004). يمثـل حمض Cafeic الحر والمرتبط نســبـة 75-100% من مشـــتقـات Hydroxycinnamic في اغلب الفواكه.

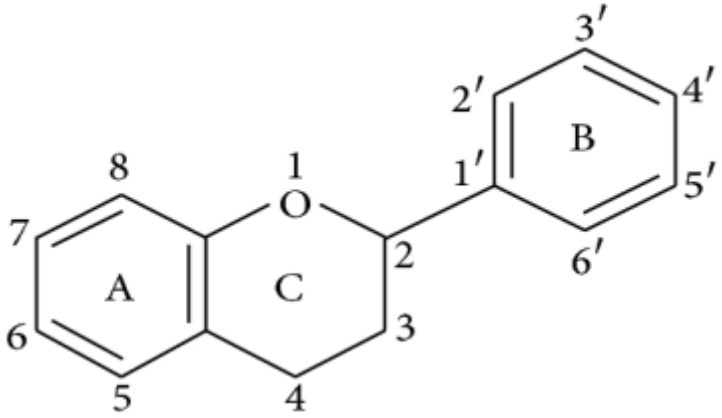
يعتبر حمض الـــ ferulic من أكثر الأحماض الفينولية تواجدا في البذور اذ يحتوي القمح مثلا على حوالي 0,8 الى 2 غ /كغ من الوزن الجاف ويوجد بكثرة في الأجزاء الخارجية للبذور (Manach et *al.*, 2004).



الشكل 4: يوضح أقسام الأحماض الفينولية

- **الفلافونيدات**

تنتشـــر بشـــكل واســـع في المملكة النباتية حيث تم تحديد حوالي 8000 مركبا فلافونيديا. تمتلك الفلافونيدات بنية موحدة تتمثل في C6-C3-C6 وتمثل الوحدتين C6 الحلقة و B أما الوحدة C3 فتمثل حلقة Pyranne الشكل(5). وحسب درجة اضافة المجاميع الهيدروكسيلية والتغيرات الحاصلة على مستوى الحلقة C تقســم الفلافونيدات الى مختلف المجاميع وهي: Flavone، Flavanols، Flavonols، Flavanones Anthocyanin تتكون أغلب الفلافونيدات بارتباط الحلقة B بذرة الكربون رقم 2 لكن قد ترتبط احيانا بذرتي الكربون رقم 3 و 4 كتلك المتمثلة في Isoflavonoids و Neoflavonoids **(الشكل5)** (Tsao, 2010).



الشكل 5: البنية الأساسية للفلافونويدات (Kumar et Pandy, 2013).

- **الفلافونولات**

تمتلك رابطة مزدوجة بين C2 وC3 مع وجود مجموعة هيدروكسيل في ذرة الكربون رقم 3 للحلقة C تنتشر بكثرة في الأغذية من امثلتها Quercetin يعتبر البصل من أهم مصادر Flavonols (أكثر من 1,2غ/كغ من الوزن الطازج). تخزن في الأجزاء الهوائية للفاكهة (Cortell et Kemdy, 2006).

- **الفلافونات**

تتميز هذه المركبات بغياب الرابطة المزدوجة في الحلقة C ووجود ذرة أوكسجين في ذرة الكربون رقم 4 لنفس الحلقة كما تتميز بإضافات سكرية ثنائية على مستوى الكربون رقم 7. تتواجد هذه المركبات بتراكيز عالية في ثمار الليمون وفي الطماطم والنباتات العطرية (D'archivio, 2007).

من أهم المركبات غير السكرية المجموعة نجد مركبات الـ Naringenin وHesperetin و Eriodectyol و Isosakurantin (Peterson et *al*., 2006).

- **الايزوفلافونات**

تشبه بنيتها بنية الاستروجينات Estrogens وتميزها مجموعة هيروكسيل في ذرتي الكربون رقم 4 و7 مثل جزيئة Estradiol، لها القدرة على الارتباط بمستقبلات الاستروجين لذلك كانت تصنف ضمن الاستروجينات النباتية. تتواجد Isoflavones في البقوليات والصويا أهم مصدر لها.

من أهم مركباتها نذكر Genisteinو Daidzein وGlycilein. وهي تتواجد غالبا بشكل مركبات غير سكرية (Sacks وآخرون, 2006).

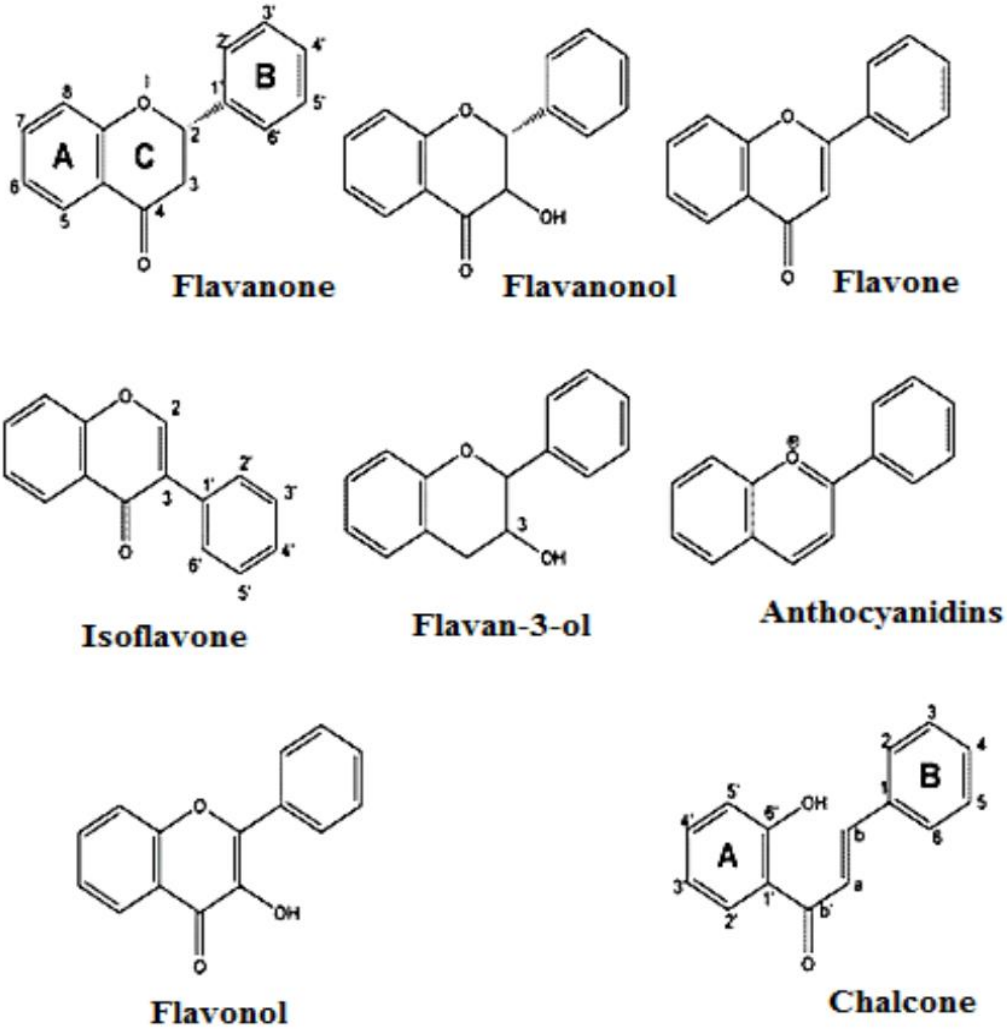
- **الأنثوسيانينات Anthocyanins**

هي اصبغة نباتية منحلة في الماء مسؤولة عن أغلب الألوان الحمراء والزرقاء والبنفسجية المتواجدة في الفواكه والخضر والأزهار (Mazza et *al*., 2004).

تظهر على شكل مركبات سكرية ترتبط أساسا في ذرة الكربون رقم 3 للحلقة C أو في ذرة الكربون رقم 5 و7 للحلقة A. ونادرا ما تضاف سكريات على مستوى الذرات 3'و4'و5' للحلقة B .تنتشر هذه المركبات بشكل واسع في الغذاء وخاصة بعض الحبوب وفي الخضر مثل الكرنب والفاصولياء والبصل لكنها تتواجدبكميات أكبر في الفاكهة (D'archivio, 2007).

- **الفلافانولات**

تحتوي على رابطة مشبعة على مستوى الحلقة C وهي تتواجد بشكل أحادي أو متعدد الوحدات مثل الكاتيشين والـ Proanthocyanidinعلى التوالي. تنتشر مركبات هذه المجموعة بشكل غير سكري ومن أمثلتها نذكرالـ Catechin وEpicatechin المنتشرة بكثرة في الفاكهة بينما تنتشر Gallocatechin وEpigallocatechin Gallate في الشاي (Arts et *al*., 2000). الأشكال (6) الموالية توضح ذلك.



الشكل 6: تبين الأقسام المختلفة للفلافونيدات (Lago et *al*., 2014).

- **الستلبنويدات**

تتواجد بكميات قليلة في أغذية الإنسان ويمثلها أساسا مركب Resvératrol وهي تتحد غالبا مع السكريات وتنتجها النباتات وتستعملها للدفاع ضد العناصر الغريبة (Delmas et *al*., 2006)، وقد تنتج نتيجة للإجهاد التأكسدي (Bavaresco, 2003).

- **اللجنينات**

تنتج عن طريق أكسدة وحدتين من Phenyl Propane، غالبا ما تتواجد بشكل حر وقلما ترتبط بالسكريات، يمثل هذه المجموعة مركب Scoisolariciresinol (Adlercrentz et *al*., 1997).

تتفكك هذه المركبات على مستوى الأمعاء الى مركبي Enterodiol و Enterolactone ونظرا لأهمية هذه المركبات ومشتقاتها وخاصة امتلاكها قدرة مضادة لمرض السرطان وتأثيرات أخرى لذلك ازداد الاهتمام بها مؤخرا (Saleem et *al*., 2005).

- **الدباغيات Tannins**

متعددات فينولية تتمتع بأوزان جزيئية عالية تتراوح بين 500 و3000 دالتون، لها القدرة على تشكيل معقدات مع البروتينات والسكريات والقلويدات والأحماض النووية والمعادن.

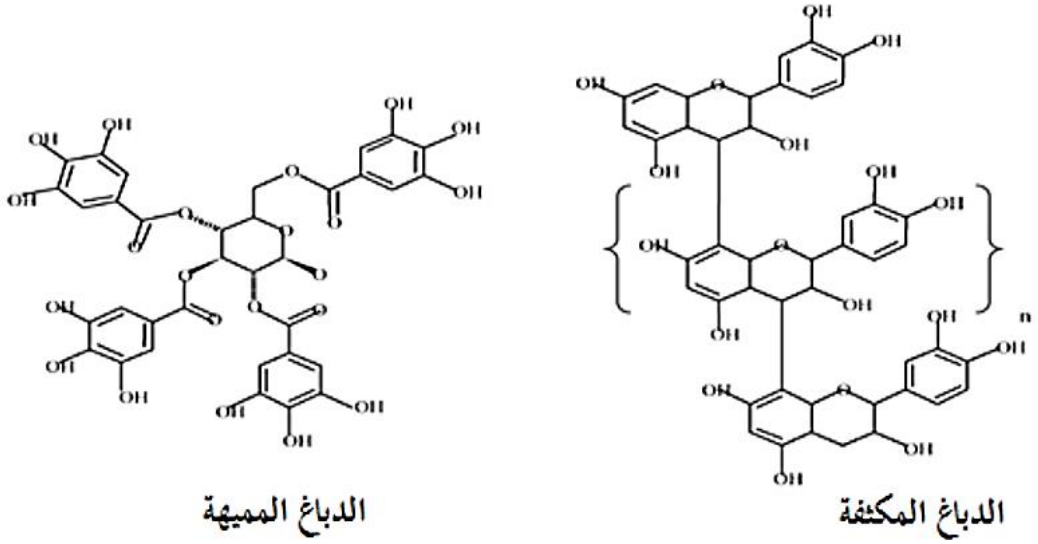
تنقسم التانينات الى مكثفة ومميهة شكل (7) (Frutos وآخرون ,2004).

- **الدباغيات المميهة**

عبارة عن متعددات وحدات غير متجانسة تنتج عن أسترة المجاميع الهيروكسيلية للغلوكوز بأحماض فينولية سواء كان حمض Gallic ويسمى الدباغ في هذه الحالة بـــ Gallotanins أو حمض Ellagic وتسمى عندئذ Ellagitanins. تتفكك التانينات المميهة بسهولة في الأوساط القاعدية والحامضية وبواسطة بعض الإنزيمات لتحرير الغلوكوز وأحماض فينولية (Chung et *al*., 1998).

- **الدباغيات المكثفة**

تمثل مركبات flavan-3-ols (Catechin)، ومركبات flavan-3 - 4-dilos وحدات الأساسية المشكلة للدباغ المكثفة، ترتبط فيما بينها بروابط c-c وما يجعلها أكثر مقاومة للإماهة (He et *al*., 2008).



الشكل 7: اشكال أقسام الدباغيات (Krause et *al*., 2005).

- **الخصائص البيولوجية للفلافونيدات**

اضـــافة الى دورها في اعطاء لون ورائحة النبات تعمل أيضـــا على مراقبة نمو وتطور النباتات من خلال تداخلها مع هرمونات النمو النباتية هذا اضـافة الى دورها في حماية النباتات من الاصـابات الميكروبية ,تمتلك الفلافونيدات قدرة للتدخل في العديد من النشـاطات البيولوجية حيث تعدل الاسـتجابات البيولوجية من خلال تثبيط واختزال مختلف الإنزيمات مثل انزيم Lipo-Oxygenase و Telomerase و Cycloxygenase والمســـاهمة في مســـارات نقل الاشـــارة الخلوية الى جانب تنظيمها للدورة الخلوية (D'archivio et *al*., 2007). كما تعمل ايضـا على خفض كمية السيتوكينات الالتهابية المفرزة من طرف الخلايا المناعية (Gao et *al*., 2001).

للفلافونيدات خاصـــية الوقاية من الاصـــابة بأمراض الأوعية الدموية وأمراض القلب كما أنها تعمل على تحفيز ظاهرة الموت الخلوي المبرمج وتمنع تكاثر الخلايا السرطانية (Hirota et *al*., 2005). كما أن لها تأثيرات مضـــادة للالتهاب المزمن والحاد حيث تبين أن مركب Rutin هو الأكثر تأثيرا في التفاعلات الالتهابية المزمنة والتهاب المفاصـــل، بينما لوحظ قدرة مركب Flavanones على خفض حدة الالتهابات العصبية المحرضة بمحلول Xylène (Rotelli et *al*., 2003).

لقد بين Paradkar وآخرون (2004) أن مركبات isoflavones ومشـتقاتها السـكرية باسـتطاعتها تعديل التفاعلات الالتهابية على مســـتوى كبد وأمعاء الفئران، كما وجد أن الفلافونويد Rutin له القدرة على الحماية من تقرحات المعدة المحرضـة بواسـطة الايثانول (Izzo et *al*., 1994). كما وجد ان الفلافونولات أكثر فعالية من الفلافونات ضد فيروس Herpes simplex (Tim cushine et Andrew, 2005).

لقد تبين أن استهلاك الفواكه والخضار الغنية بالفلافونيدات من نوع فلافونول خاصة Quercetin يقي من أنواع كثيرة من السرطانات، كسرطان المعدة، القولون والبروستات وذلك بتثبيها للتعبير المورثي لمورثة P53 (kumar et pandy, 2013).

- **النشاطية المضادة للأكسدة لمتعددات الفينول**

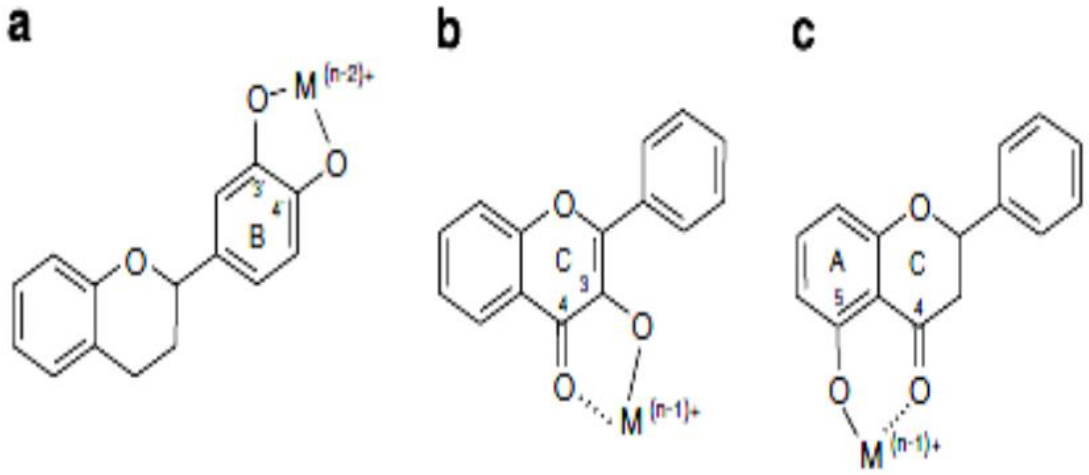
لقد لوحظ أن الأنظمة الغذائية الغنية بمركبات الفينول تلعب دورا هاما في حماية الإنسان من العديد من الأمراض حيث ان تناول الفاكهة والخضار والحبوب مرتبط بخفض أخطار الاصابة من هذه الأمراض كالسرطان والالتهابات وأمراض القلب والأوعية الدموية وأمراض انحلال الدم (Scalbert et *al*., 2005 ; Duthie et Brohn, 1994). وجد أن عديدات الفينول هي مضادات أكسدة قوية لها القدرة على تعديل سمية الجذور الحرة بمنحها الكترونات أو ذرات هيدروجين كما يمكن للفينولات ازاحة الجذور الحرة المتسببة في أكسدة الدهون (Guo et *al*., 2009 ; Rice-evans et *al*., 1996).

كما ان لها القدرة على استخلاب الحديد وبهذا فهي تحد من تفاعلات fenton المتسببة في انتاج جذر الهيدروكسيل والذي يعد من أخطر انواع الجذور الحرة (Brumaghim et Perron, 2009).

كما يمكنها العمل كمساعدات لمضادات الأكسدة الأخرى عن طريق تجديد الفيتامينات (Zhou et *al*., 2005). كما ان لها القدرة على تثبيط نشاط انزيمات Xanthine Oxidase وبالتالي الرفع من مضادات الأكسدة الداخلية (Disilvestro, 2001). تقوم بتحفيز الانزيمات المضادة للأكسدة: Glutathion Peroxydase Catalase و Superoxide-Dismutase التي تخلص من جذور الهيدروبيروكسيد H_2O_2 و $O^{2.-}$ على التوالي (Du et *al*., 2007).

- **علاقة البنية الفراغية بالنشاطية المضادة للأكسدة**

ترتبط بنية الفينولات بنشاطها المضاد للأكسدة فقد وجد أن الفلافونيدات لها القدرة على خلب المعادن نظرا لامتلاكها مجموعة o-diphenol-**4',3'** في مواقع Dihydroxy للحلقة B (شكل a8) وبنية 4-Keto مع 3-hydroxyl للحلقة C (شكل b8) أو 4-keto مع 5-hydroxy للحلقة C والحلقة A (شكل c8) (Rice-evans et *al*., 1997)، غير أن إضافة السكريات على المجاميع الهيدروكسيلية يؤدي الى التقليل من قدرتها على خلب المعادن.



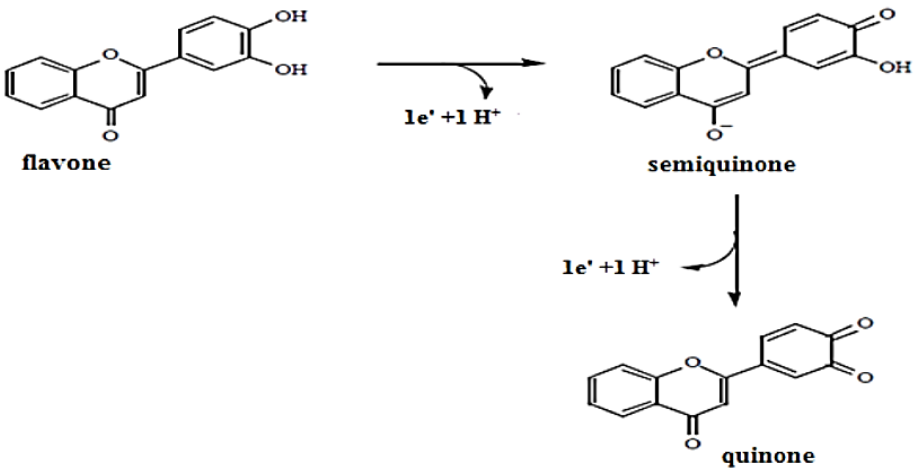
الشكل 8: مواقع استخلاب الحديد من طرف الفلافونيدات (Laguerre et *al*., 2007).

ان القدرة الازاحية للفلافونيدات مرتبطة ببنية الحلقة C ونوع وعدد المجاميع المرتبطة بالحلقة B وC حيث تمنح الكترون حر وتسمى بجذر Semiquinone ثم Quinone (Cotelle et *al*., 2001). **(شكل 8)**. ان أغلب المواقع المؤثرة في الإزاحة هي:

1- البنية Ortho-dihydroxy في الحلقة B والتي تملك خاصية منح الالكترونات معطية بذلك استقرارا أكبر وتساهم في تنقا الالكترونات بين مجاميع الهيدروكسيل للحلقة B (Balasandram, 2006).

2- الرابطة المزدوجة بين C2 و C3 المرتبطة بالوظيفة 4-OXO في الحلقة C والمسؤولة عن تحويل الالكترونات من الحلقة B (Balasandram, 2006).

3- اتحاد مجموعتي الهيدروكسيل في 3 و5 مع 4-OXO للحلقتين A وC بغية نشاطية قصوى ومنه فان الفعالية القوية المضادة للأكسدة تتطلب توفر 3-OH المتحدة مع الرابطة المزدوجة (2-3)، ووظيفة الكربونيل في الحلقة C (Rice- Evans et *al*., 1996) الشكل (9).



الشكل 9: آلية التأثير الازاحي للفلافونيدات على الجذور الحرة

تستطيع الفلافونيدات تثبيط انتاج الجذور الحرة بتثبيط الانزيمات المنتجة لها , حيث بينت الدراسات التي اجريت على المستخلصات النباتية انها يمكن ان تكون مصدرا لتثبيط نشاط انزيم Xanthine Oxidase، حيث قام Cos وآخرون (1998) بتقدير نشاط 30 مركبا فلافونيديا وتأثيرها على انتاج حمض اليوريك بواسطة انزيم Xanthine Oxidase فوجد علاقة بين البنية الكيميائية للفلافونيدات ونشاطيتها المثبطة لإنزيم XO كما أظهرت نفس الدراسة أن مركبات Flavonols وFlavones لها القدرة على تثبيط الانزيم مما يبين اهمية وجود الرابطة المزدوجة (2-3) وبقارنة نشاطية Flavonols وFlavones تأكد ان غياب مجموعة الـOH في ذرة الكربون رقم 3 يرفع قليلا من قدرتها على التثبيط كما لوحظ ان الفلافونيدات المرتبطة بالسكريات تملك نشاطية أقل من المركبات غير السكرية في عملية التثبيط (Cos et *al*., 1998).

- **التأثير المؤكسد لعديد الفينول**

تعتبر عديدات الفينول من المركبات المضادة للأكسدة والالتهابات وأمراض السرطان الا أن التركيز المرتفع لها وفي ظروف معينة يمكن أن تؤثر سلبا كمحفزات للأكسدة (Rucinska et *al*., 2007).

كما لاحظ Galati وآخرون (2002) أن التناول المفرط لهذه المركبات يمكن ان تتحول تحت تأثير انزيم البيروكسيداز الى الشكل المؤكسد (جذر Phenoxyl). والذي يكون في بعض الحالات فعالا بشكل كاف لأكسدة كل من GSH وNADH المرتبط باستهلاك كبير للأكسجين وبالتالي تشكل أنواع أكسجينية نشطة . تقوم عديدات الفينول الحاوية لحلقات Catechol بأكسدة حمض الأسكوربيك بتدخل جذر Semi quinone الناتج عن أكسدة الفلافونيدات، كما بينت تجارب أخرى ان حضن الخلايا الكبدية في وجود عديدات الفينول ذات حلقات فينولية متعددة يؤدي الى الأكسدة الجزئية لـGSH الى GSSG المتواجد في هذه الخلايا في حين ان المركبات الفينولية ذات حلقات Catechol تؤكسد جميع GSH متحولا الى GSH مزدوج (conjugate GSH) (Rietjens et *al*., 2002).

تعمل الفينولات متعددة الحلقات على أكسدة بروتين Oxyhemoglobin الموجود في كريات الدم الحمراء للإنسان متسببة في تحللها بشكل أكبر وأسرع من تأثير الفينولات ذات حلقة Catechol واحدة وبهذا تعتبر الفينولات ذات حلقات الفينول المتعددة أكثر تحريضا على الأكسدة من ذات حلقة Catechol الواحدة، ومن خلال نتائج دراسات أخرى تبين أن الفلافونيدات تستطيع أن تحفز الإجهاد التأكسدي على مستوى الـADN عن طريق انتاج جذور حرة في وجود شوارد النحاس والأوكسجين الجزيئي، كما يمكن أن تحفز فوق أكسيد الدهون في وجود معادن الألمنيوم والمغنيزيوم والزنك والكالسيوم (Sakihama et *al*., 2002).

5- أهمية بعض المركبات الكيميائية الفينولية والفلافونويدية

1-6 حمض الكافييك

هو مركب فينولي طبيعي يوجد في العديد من النباتات وله أهمية كبيرة نظرًا لخصائصه البيولوجية والفسيولوجية. يتمتع حمض الكافييك بخصائص مضادة للأكسدة، مضادة للالتهابات ومضادة للسرطان ويُستخدم في العديد من التطبيقات الطبية والصيدلانية.

- **خصائص مضادة للأكسدة:** حمض الكافييك يعمل كمضاد للأكسدة، مما يساعد في حماية الخلايا من الضرر الناتج عن الجذور الحرة. هذا يُقلل من خطر الأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **خصائص مضادة للالتهابات:** يمكن أن يساهم حمض الكافييك في تقليل الالتهاب والألم في الجسم، مما يجعله مفيدًا في علاج الحالات الالتهابية مثل التهاب المفاصل.
- **خصائص مضادة للسرطان:** أظهرت الدراسات أن حمض الكافييك يمكن أن يثبط نمو الخلايا السرطانية، وقد يكون له دور في الوقاية من السرطان أو كعلاج مساعد.
- **حماية الجلد:** يُستخدم حمض الكافييك في مستحضرات التجميل لحماية الجلد من الأضرار الناتجة عن الأشعة فوق البنفسجية والتلوث.

2-6 حمض الغاليك

هو مركب فينولي طبيعي يوجد في العديد من النباتات وله أهمية كبيرة بفضل خصائصه البيولوجية المتنوعة. إليك بعض من أبرز فوائد حمض الغاليك:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** حمض الغاليك يعمل كمضاد للأكسدة قوي، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة، وبالتالي تقليل خطر الإصابة بأمراض مزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **خصائص مضادة للبكتيريا والفطريات:** يُظهر حمض الغاليك فعالية ضد مجموعة متنوعة من البكتيريا والفطريات، مما يجعله مفيدًا في مكافحة العدوى البكتيرية والفطرية.
- **خصائص مضادة للالتهابات:** يمكن أن يساعد حمض الغاليك في تقليل الالتهابات، مما يجعله مفيدًا في علاج الحالات الالتهابية مثل التهاب المفاصل وأمراض الالتهاب الأخرى.
- **خصائص مضادة للسرطان:** أظهرت الدراسات أن حمض الغاليك يمكن أن يثبط نمو الخلايا السرطانية ويحفز موت الخلايا المبرمج في بعض أنواع السرطان.
- **حماية الكبد:** أظهرت بعض الأبحاث أن حمض الغاليك يمكن أن يساعد في حماية الكبد من التلف الناتج عن السموم المختلفة.

3-6 اهمية فيتامين C

فيتامين C، المعروف أيضًا بحمض الأسكوربيك، هو فيتامين ضروري لصحة الإنسان وله العديد من الفوائد المهمة. إليك بعض من أبرز فوائده:

خصائص مضادة للأكسدة: فيتامين C يعمل كمضاد للأكسدة قوي، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة. هذا يمكن أن يقلل من خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.

تعزيز جهاز المناعة: يلعب فيتامين C دورًا مهمًا في دعم جهاز المناعة، مما يساعد في الوقاية من العدوى والأمراض. يزيد من إنتاج خلايا الدم البيضاء ويعزز فعاليتها.

تحسين امتصاص الحديد: يساعد فيتامين C في تحسين امتصاص الحديد غير الهيمي (الحديد من المصادر النباتية) في الجسم، مما يقلل من خطر الإصابة بفقر الدم.

تعزيز صحة الجلد: يساهم فيتامين C في إنتاج الكولاجين، الذي هو بروتين أساسي لصحة الجلد والأوعية الدموية والعظام والمفاصل. يساعد أيضًا في التئام الجروح والحفاظ على بشرة صحية.

قليل خطر الإصابة بالأمراض المزمنة: تناول كميات كافية من فيتامين C يرتبط بتقليل خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والأوعية الدموية.

4-6 مركب النارنجنين

وهو مركب فلافونويد يوجد بكثرة في الحمضيات مثل الجريب فروت والبرتقال. يتميز النارنجينين بعدة فوائد صحية بفضل خصائصه البيولوجية المتنوعة. إليك بعض من أبرز فوائده:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** يعمل النارنجينين كمضاد للأكسدة قوي، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة، ويقلل من خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **خصائص مضادة للالتهابات:** يُظهر النارنجينين تأثيرات مضادة للالتهابات، مما يساعد في تقليل الالتهاب والألم في الجسم، ويمكن أن يكون مفيدًا في حالات الالتهابات المزمنة مثل التهاب المفاصل.
- **خصائص مضادة للسرطان:** أظهرت الأبحاث أن النارنجينين يمكن أن يثبط نمو الخلايا السرطانية ويحفز موت الخلايا المبرمج في بعض أنواع السرطان، مما يجعله واعدًا في الوقاية من السرطان أو كعلاج مساعد.
- **تحسين صحة القلب:** يساعد النارنجينين في تحسين صحة القلب من خلال خفض مستويات الكوليسترول الضار (LDL) وزيادة مستويات الكوليسترول الجيد (HDL)، كما يساعد في تحسين وظيفة الأوعية الدموية.

- **تحســـين التمثيل الغذائي:** يلعب النارنجينين دورًا في تحســـين التمثيل الغذائي للجلوكوز والدهون، مما يمكن أن يكون مفيدًا في إدارة الوزن والوقاية من السمنة وداء السكري من النوع .2.

5-6 حمض التوكوفيرول (فيتامين E)

حمض التوكوفيرول، المعروف بفيتامين E، هو فيتامين قابل للذوبان في الدهون وله أهمية كبيرة لصحة الإنسان بفضل خصائصه المضادة للأكسدة ودوره في العديد من العمليات البيولوجية. إليك بعض من أبرز فوائده:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** فيتامين E يعمل كمضاد للأكسدة قوي، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة. هذا يمكن أن يقلل من خطر الإصـــابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **تعزيز صحة الجلد:** فيتامين E يساعد في الحفاظ على صحة البشرة ويعزز شفاء الجروح. يُستخدم في العديد من مستحضرات التجميل لترطيب الجلد وتقليل علامات الشيخوخة.
- **دعم جهاز المناعة:** يعزز فيتامين E وظيفة الجهاز المناعي، مما يســـاعد الجســـم على محاربة العدوى والأمراض.
- **تحســـين صـــحة العين:** فيتامين E يمكن أن يســـاهم في الوقاية من الأمراض المرتبطة بتقدم العمر مثل التنكس البقعي.
- **دعم الوظائف الإنجابية:** يلعب فيتامين E دورًا مهمًا في الصحة الإنجابية ويمكن أن يساعد في تحسين الخصوبة.

6-6 اهمية حمض الكريستين

حمض الكريستين، المعروف أيضًا بالكيرسيتين، هو فلافونويد طبيعي يوجد في العديد من الفواكه والخضروات مثل التفاح والبصل والشاي الأخضر. يتميز الكيرسيتين بعدة فوائد صحية بفضل خصائصه البيولوجية المتنوعة. إليك بعض من أبرز فوائده:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** الكيرسيتين يعمل كمضاد قوي للأكسدة، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة. هذا يمكن أن يقلل من خطر الإصـــابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **خصـــائص مضـــادة للالتهابات:** يُظهر الكيرســـيتين تأثيرات مضـــادة للالتهابات، مما يســـاعد في تقليل الالتهاب والألم في الجسم، ويمكن أن يكون مفيدًا في حالات الالتهابات المزمنة مثل التهاب المفاصل.
- **تعزيز صحة القلب:** يساعد الكيرسيتين في تحسين صحة القلب من خلال خفض ضغط الدم، تحسين وظيفة الأوعية الدموية، وتقليل مستويات الكوليسترول الضار (LDL).

- **خصائص مضادة للسرطان:** أظهرت الأبحاث أن الكيرسيتين يمكن أن يثبط نمو الخلايا السرطانية ويحفز موت الخلايا المبرمج في بعض أنواع السرطان، مما يجعله واعدًا في الوقاية من السرطان أو كعلاج مساعد.
- **تحسين أداء الجهاز التنفسي:** يمكن أن يساعد الكيرسيتين في تحسين صحة الجهاز التنفسي من خلال تقليل الأعراض المرتبطة بالربو وأمراض الحساسية الأخرى.
- **تعزيز المناعة:** يدعم الكيرسيتين جهاز المناعة، مما يساعد الجسم على محاربة العدوى والأمراض.

7-6 مركب الكاتشين

مركب الكاتشين هو فلافونويد طبيعي يتواجد بكثرة في الشاي الأخضر وبعض الفواكه والخضروات. له العديد من الفوائد الصحية بفضل خصائصه البيولوجية. إليك بعض من أبرز فوائده:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** الكاتشين يعمل كمضاد قوي للأكسدة، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة، ويقلل من خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.
- **تعزيز صحة القلب:** أظهرت الدراسات أن الكاتشين يمكن أن يحسن صحة القلب عن طريق خفض مستويات الكوليسترول الضار (LDL) وتحسين وظيفة الأوعية الدموية، مما يقلل من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية.
- **دعم فقدان الوزن:** قد يساعد الكاتشين في تعزيز عملية الأيض وزيادة حرق الدهون، مما يمكن أن يساهم في إدارة الوزن والوقاية من السمنة.
- **تحسين الأداء العقلي:** أظهرت بعض الدراسات أن الكاتشين يمكن أن يحسن الأداء العقلي والتركيز، ويعزز الذاكرة.
- **مكافحة الالتهابات:** للكاتشين خصائص مضادة للالتهابات يمكن أن تساعد في تقليل الالتهاب والألم، ويمكن أن يكون مفيدًا في علاج حالات الالتهابات المزمنة مثل التهاب المفاصل.
- **حماية الجلد:** يمكن أن يساعد الكاتشين في حماية الجلد من الأضرار الناتجة عن الأشعة فوق البنفسجية والتلوث، ويساهم في تحسين مرونة الجلد وتقليل التجاعيد.

8-6 مركب الرزفيراتول

و هو بوليفينول طبيعي يوجد في العديد من النباتات، أبرزها العنب الأحمر، التوت، والفول السوداني. يُعتبر الريزفيراترول ذو أهمية كبيرة بفضل خصائصه الصحية المتنوعة. إليك بعض من أبرز فوائده:

- **خصائص مضادة للأكسدة:** الريزفيراترول يعمل كمضاد قوي للأكسدة، مما يساعد في حماية الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة، وبالتالي تقليل خطر الإصابة بالأمراض المزمنة مثل أمراض القلب والسرطان.

- **تحسين صحة القلب:** أظهرت الدراسات أن الريزفيراترول يمكن أن يحسن صحة القلب من خلال خفض مستويات الكوليسترول الضار (LDL)، تحسين وظيفة الأوعية الدموية، وتقليل الالتهابات.
- **خصائص مضادة للالتهابات:** يمكن أن يساعد الريزفيراترول في تقليل الالتهاب في الجسم، مما يجعله مفيدًا في علاج الحالات الالتهابية المزمنة مثل التهاب المفاصل.
- **تحسين التحكم في نسبة السكر في الدم:** أظهرت بعض الدراسات أن الريزفيراترول يمكن أن يحسن حساسية الأنسولين ويقلل من مستويات السكر في الدم، مما يساعد في إدارة مرض السكري من النوع 2.
- **تأثيرات مضادة للشيخوخة:** يُعتقد أن الريزفيراترول يمكن أن يساهم في إبطاء عملية الشيخوخة بفضل تأثيراته المضادة للأكسدة ومساهمته في تحسين صحة الخلايا.
- **دعم صحة الدماغ:** قد يساعد الريزفيراترول في تعزيز صحة الدماغ من خلال تحسين الذاكرة والوظيفة المعرفية، وربما يساهم في الحماية من الأمراض العصبية مثل مرض الزهايمر.

الفصل الثاني

الدراسة النظرية للنباتات المدروسة

I- الدراسة النظرية للنباتات المدروسة

I-1-عموميات حول العائلة القطيفية (Amaranthaceae)

I-1-1- تعريف

تعني التسمية اللاتينية Amaranthaceae القطيفية التي لا تَذبل (الرميثي، 2022)، تضم عائلة Amaranthaceae أنواعًا حولية ومعمرة، ومعظمها من الأعشاب، بالإضافة إلى الشجيرات والأشجار الصغيرة (Mroczek, 2015)، يوجد أكثر من 165 جنسًا و2040 نوعًا من النباتات المزهرة (Christenhusz & Byng, 2016)، عالمية الانتشار فيما عدا المناطق القطبية (الرميثي، 2022).

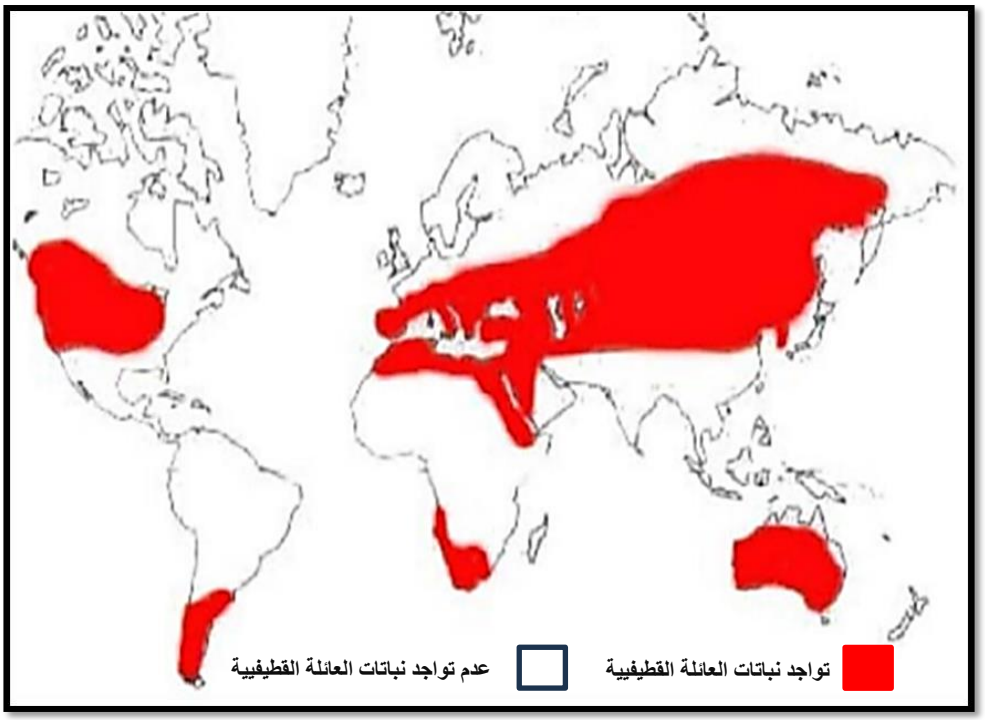
تم مؤخرًا توسيع عائلة Amaranthaceae لتشمل عائلة Chenopodiaceae (Bremer et *al*., 2009)، حيث في السابق تم التعامل مع العائلتين على أنهما كيانان منفصلان، لكن العديد من الدراسات المورفولوجية والتشريحية، كشفت عن العديد من الخصائص المشتركة بينهما (Mroczek, 2015)، وتعتبر العائلة القَطيفية (Amaranthaceae) فصيلة نباتية ضمن رتبة القرنفليات (Caryophyllales) من ثنائيات الفلقة (Christenhusz & Byng, 2016 ; الرميثي، 2022).

من أبرز الأجناس والأنواع من عائلة القطيفة هي القطيفة (Amaranthus)، والأعشاب المخنوقة (Bassia)، والسلق (*Beta vulgaris*)، والديوك (Celosia)، والنبات الزجاجي (Salicornia)، والقطيفة الكروية (*Gomphrena globosa*)، وجوز الأوز (Chenopodium)، والأوراك (Atriplex) والسبانخ (*Spinacia oleracea*) (Petruzzello, 2022; Vincken et *al*., 2007).

I-1-2 الانتشار الجغرافي للعائلة Amaranthaceae

يمكن العثور على العائلة القطيفية Amaranthaceae في جميع أنحاء العالم، موطنها الأصلي أمريكا الاستوائية وأفريقيا، وتتراوح بين المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية إلى المناطق المعتدلة الباردة، يُعتقد أن العائلة نشأت إما في المنطقة الجنوبية الغربية من الولايات المتحدة أو أمريكا اللاتينية أو إفريقيا(Basu et *al*., 2014; Christenhusz & Byng, 2016) .

كما تنتشر نباتات العائلة القطيفية على نطاق واسع خاصة في المناطق الحارة والجافة، وتنمو بكثرة على الشواطئ البحرية أو المناطق قليلة الملوحة، كما تنمو العديد من الأنواع في السهوب والصحاري (Dupont, 2007).



الوثيقة 01: الانتشار الجغرافي لنباتات العائلة القطيفية في العالم حيث اللون الأحمر يمثل مواقع انتشار العائلة في العالم (Plantes-botanique website)

I-1-3 المحتويات الكيميائية للعائلة القطيفية

تحتوي العائلة القطيفية على مواد نشـــطة بيولوجيًا مثل Betacyanins، ومركبات الفلافونويد، والفينولات، والزيوت الطيارة وما إلى ذلك (Mroczek, 2015; Biella et *al*., 2008, Vincken et *al*., 2007).

I-1-4 الاستخدامات

- **من الناحية الدوائية**

أظهرت الدراســات الدوائية الحديثة أن مســتخلصــات العائلة القطيفية (Amaranthaceae) تحتوي على مضادات الأكسدة (Steffensen et *al*., 2011; Escudero, et *al*., 2011)، مضادة لمرض السكر (Girija et *al*., 2011; Rahmatullah, et *al*., 2013)، منبهة للمناعة، مضـــادة للأورام، مضـــادة للميكروبات، مســكنة (Sun et *al*., 2006)، مضـــادة للالتهابات (Kambouche et *al*., 2009)، مدرة للبول (Metwally et *al*., 2012)، خافضة للضغط، ونقص السكر في الدم (Biancardi et *al*., 2012).

- **من الناحية الغذائية والاقتصادية**

توجد أنواع عشبية تستخدم كخضروات في أجزاء مختلفة من العالم، مثل *Beta vulgaris* var الشائع (الشمندر والسلق) وبنجر العلف وبنجر السكر يستخدمان في الصناعة الزراعية، بذور القطيفة (Amaranthus sp) والكينوا (*Chenopodium quinoa*) صالحة للأكل وتستخدم كحبوب.

- **من الناحية الرعوية**

من أهم نباتاتها السبانخ إضافة إلى نباتات رعوية مثل القطيفة والقطف والصباغ واللبلب الأحمر (الرميثي، 2022).

I-2 الدراسة النظرية لنبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del.)

I-2-1 تعريف نبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del.)

يعد نبات *Cornulaca monacantha* Del من النباتات البرية الصحراوية **(الوثيقة 01)**، وتعرف باللغة العربية باسم الحد أو الجوري (Benhouhou, 2005; Mhiri et *al*., 2020)، وعند دول الخليج بالحاذ أو تلع (الخطيب و آخرون، 2015) ويطلق عليه بدولة الامارات وعمان نبات السلي (الرميثي، 2022) وتسمى في منطقة سوف نبات الحاد (حليس، 2007)، يعد نبات الحاد الآن عضوًا في العائلة القطيفية (Amaranthaceae) وينتمي إلى جنس (Cornulaca) حيث كان سابقا ينتمي الى عائلة الرمرامية (Chenopodiaceae) (Hussien et *al*., 2023)، كما يعتبر هذا النبات غذاءا أساسيا لعدة حيوانات صحراوية خاصة الجمال (حليس، 2007).

الوثيقة 02: نبات الحاد (*Cornulaca monacantha* Del.) (بيكي، 2024)

I-2-2 تصنيف نبات الحاد في المملكة النباتية

الجدول التالي يوضح التصنيف النباتي لنبات الحاد:

الجدول 01: التصنيف النباتي لنبات الحاد (Hussien et *al*., 2023؛ محمد، 2003)

التصنيف		Taxonomy	
المملكة	نباتية	Plantae	Kingdom
الشعبة	نباتات وعائية	Tracheophyta	Phylum
القسم	مغطاة البذور (زهرية)	Angiospermae	Division
الطائفة	ثنائيات الفلقة	Dicotyledonae	Class
تحت الطائفة	الكاريوفيليديات	Caryophylladae	Subclass
الرتبة	القرنفليات	Caryophyllales	Order
العائلة	القطيفية سابقا الرمرامية	Amaranthaceae Chenopodiaceae سابقا	Family
الجنس	/	Cornulaca	Gender
النوع	الحاد	*Cornulaca monacantha* Del.	Specie

I-2-3 الوصف النباتي لنبات الحاد

نبات الحاد هو عبارة عن جنبات برية خشبية معمرة، قصير وشوكي به عدة أفرع قاعدية، يصل ارتفاعها من 10 الى 60 سم (الخطيب وآخرون، 2015 ;الرميثي، 2022; Chehma, 2006).

السيقان قائمة متخشبة والافرع تحمل اوراق صغيرة، قاسية صلبة، مدببة، أوراقها متبادلة، جالسة، ثلاثية الزوايا (حليس، 2007 ; بابا عيسى وآخرون، 2002; Chehma, 2006)، بها انحناءات للخلف (الرميثي، 2022) وتتخذ الشكل الحرشفي بقاعدة عريضة تحتضن الساق منتهية برأس شوكي معقوق نحو الأسفل (حليس، 2007 ; بابا عيسى وآخرون، 2002).

أزهاره خنثى صغيرة جدا، تتجمع في نورة إبطية مكونة 3 الى 5 أزهار مغطاة بكومة من الشعيرات الكثيفة ذات لون ضارب للبياض. تتكون كل زهرة من خمس تبلات، حيث تتميز فيها تبلة واحدة أو تبلتين بقمة طويلة حادة، أما الطلع فيتألف من 5 أسدية و5 حوامل أسدية نصفها صغيرة عقيمة، ويكون المتاع مؤلف من كربلتين ملتحمتين أما الثمرة تكون جافة وذات بذور عمودية (بابا عيسى وآخرون، 2002 ; Quezel et Santa, 1962) بيضاوية الشكل، فقيرة، ملساء وتكون مزودة بشعيرات (Palici, 2016).

الإزهار يكون من بداية فصل الصيف حتى فصل الخريف (حليس، 2007 ; Benhouhou, 2005).

I-2-4 دورة حياة نبات الحاد

المرحلة الأولى: الانبات، تبدأ بذور الحاد الشـــوكي في الإنبات خلال أشـــهر الربيع، حيث تكون الظروف المناخية ملائمة للرطوبة ودرجات الحرارة.

المرحلة الثانية: النمو الخضري، في هذه المرحلة يبدأ النبات بتطوير أوراقه وأجزائه الخضرية، مستفيدًا من الموارد المائية المحدودة في البيئة الصحراوية.

المرحلة الثالثة: الازهار والاثمار، يزهر الحاد الشوكي في الفترة من أغسطس إلى نوفمبر. أزهاره صغيرة وغير واضحة، ولكنها تلعب دورًا مهمًا في عملية التكاثر.

المرحلة الرابعة: النضـج وانتاج البذور، بعد الإزهار ينتج النبات بذورًا صـغيرة تنتشـر بواسـطة الرياح أو الماء، وتكون قادرة على البقاء لفترات طويلة حتى تجد الظروف الملائمة للإنبات (بابا عيســـى وآخرون، 2002).

I-2-5 التوزيع والانتشار الجغرافي

في الجزائر: ينتشر نبات الحاد في الجزائر بشكل واسع وينمو في قطاع الصحراء الشمالية بجزئيها الغربي والشرقي وكذلك في الصحراء الوسطى وصولا الى الهقار، حيث نجده في بيئات العرق ومناطق الصحن كما يمكن أن ينمو قرب الترب المالحة (Quezel et Santa, 1962 ; حليس، 2007).

في الدول العربية: وهو نوع من النباتات البرية الصحراويـــة المنتشرة في منطقـــة البحر الأبيض المتوسط والجزيرة العربيــة، والتي يمكـن العثور عليهـا في جميع أنحاء الشرق الأوسط والصحراء (Hussien et *al*., 2023; Batanouny et *al*., 2005).

في دول العالم: يتواجد في شمال إفريقيا، شبه الجزيرة العربية، الشرق الأوسط، إيران وبلوشستان. وهو نبات صـحراوي ينمو في الأراضـي الرملية والصـخرية. وفي مصـر، على طول سـاحل البحر الأبيض المتوسـط، وفي الصـــحراء الغربية بالقرب من الواحات وعلى الكثبان الرملية وفي المنخفضـــات الرملية **(الوثيقة 02)** (Boulos *et al*., 1992).

الوثيقة 03: خريطة التوزيع الجغرافي لنبات الحاد *Cornulaca monacantha* Del (Hussien et *al*., 2022)

I-2-6 فوائد واستعمالات نبات الحاد

من الناحية الطبية: يستخدم مغلي الجزء الهوائي من نبات *Cornulaca monacantha* في الطب الشعبي لعلاج أمراض الكبد واليرقان، كما أن أوراقه الشوكية تستخدم في علاج الجرب لدى الجمال (بابا عيسى وآخرون، 2002; Batanouny et *al*., 2005; Mhiri et *al*., 2020).

من الناحية الصيدلانية: لا توجد أبحاث علمية حول إمكانية استغلاله في هذا المجال مع التأكد من عدم سميته (Benhouhou, 2005).

من الناحية الغذائية: يعتبر نبات الحاد مرعى ممتازاً للجمال، وذلك لتأثيره على زيادة إدرار الحليب (Batanouny et *al*., 2005).

من الناحية البيئية: يعتبر نبات الحاد من النباتات المقاومة لدرجات الحرارة العالية والجفاف؛ وله دور مهم في تثبيت التربة الرملية ومنع التآكل، ويُستخدم أحيانًا كعلف للحيوانات الصحراوية مثل الإبل (حليس، 2007).

I-2-7 أهم الدراسات السابقة حول نبات الحاد

أبدت الدراسة التي قام بها Abd El-Maboud, (2016) على أن نبات *Cornulaca monacantha* قادرًا على التغلب على إجهاد الجفاف من خلال تراكم إجمالي الكربوهيدرات والأوسموليتات

العضوية مثل البرولين والجليسين بيتين. بالإضافة إلى تراكم +Na على شكل أسموليت غير عضوي، والذي قد يحل محل +K في بعض العمليات الأيضية.

كما تم إجراء تقييم النشاط المضاد للميكروبات لأجزاء مختلفة من نبات *C. monacantha* باستخدام طريقة الانتشار، لسلالتان فطريتان *Candida albicans* و*Aspergillus fumigatus*، واثنين من البكتيريا سالبة الجرام *Proteus vulgaris* و*Escherichia coli*؛ وتم استخدام نوعين من البكتيريا إيجابية الجرام *Staphylococcus aureus*، و *Bacillus subtilis*، حيث تبين من اختبار النشاط المضاد للميكروبات التأثير الفعال لمستخلص أسيتات الإيثيل من نبات *C. monacantha* حيث أظهر مناطق تثبيط ضد كل من *C. albicans*، *S. aureus*، *B. subtilis*، *P. vulgaris* و *E. coli* على التوالي، مقارنة بالمستخلص الأسيتوني الذي أبدى التأثير المعتدل وأظهر فقط مناطق تثبيط ضد كل من *S. aureus* و *E. coli* (Mohamed et Bader, 2016).

وقام Ashour وAlsuwayt (2019) بدراسة بيولوجية لأجزاء مختلفة من نبات الحاد الشوكي حيث تمت في هذه الدراسة تجزئة إجمالي المستخلص الكحولي إلى أربع أجزاء وهي: الإيثر، أسيتات الإيثيل، الصابونين وأجزاء الأسيتون، ومقارنة لمختلف أنشطتها البيولوجية حيث أوضحت النتائج عن تفوق جزء أسيتات الإيثيل بينما أظهر جزء الصابونين أقل تأثير في جميع اختبارات الفحص البيولوجي، كما كشفت هذه الدراسة عن وجود 13 نوع صابونين، 6 مركبات من مشتقات الفلافونويد و4 مركبات من الغالوتانينات.

I-3 الدراسة النظرية لنبات الصباغ (*Salsola richteri* Moq.)

I-3-1 تعريف نبات الصباغ (*Salsola richteri* Moq.)

يعتبر جنس Salsola أحد أهم أجناس المملكة النباتية حيث تكمن فائدته في تطبيقاته التقليدية والصناعية والبيئية المتنوعة (ElNaggar et *al*., 2022)، أما نوع *Salsola richteri* فهو من النباتات المستوطنة الصحراوية تتحمل نسبة الملوحة العالية **(الوثيقة 4)** (Kalbaeva, 2021).

اسمها العلمي *Salsola richteri* (Moq.) Karel ex Litv (بهادران وآخرون، 1993) لها عدة أسماء شائعة حيث تسمى بالعربية روثا وبالإنجليزية Richter's saltwort، بالروسية هناك اسمين شائعين هما *Xylosalsola tevelev* أو *Solyanka richtera* أما اسمها المحلي في أماكن تواجدها فهو Ak cherkez. تكون فترة ازهارها في الربع الأول من شهر أفريل (Akopian et *al*., 2020) ويتم حصادها في نهاية سبتمبر إلى الربع الأول من نوفمبر (Shaniyazov, 2023).

الوثيقة 04: نبات الصباغ *Salsola richteri* (بيكي، 2024)

I-3-2 تصنيف نبات الصباغ في المملكة النباتية

يشمل جنس Salsola من 80 الى 150 نوع *Salsola richteri* من النباتات Glushchenko (et *al*., 2018)، يصنف نوع *Salsola richteri* كالتالي El Naggar et *al*., 2022; Abid et Kanwal., 2017):

الجدول 02: التصنيف النباتي لنبات الصباغ (El Naggar et *al*., 2022; Abid et Kanwal., 2017)

Taxonomy		التصنيف	
Kingdom	Plantae	نباتية	المملكة
Division	Magnoliophyta	كاسيات البذور	القسم
Class	Magnoliopsida	ثنائيات الفلقة الحقيقية	الفئة
Order	Caryophyllales	القرنفليات	الرتبة
Family	Amaranthaceae سابقا Chenopodiaceae	القطيفية سابقا الرمرامية	العائلة
Gender	Salsola	سلسولا	الجنس
Specie	*Salsola richteri (Moq.) Kar. ex Litv.*	الصباغ	النوع

I-3-3 الوصف النباتي لنبات الصباغ

هي عبارة عن شجرة أو شجيرة يصل ارتفاعها إلى 3-5 أمتار (Shaniyazov, 2023) ذات لحاء رمادي فاتح في السيقان وأبيض في الفروع، أوراقها أسطوانية غضروفية قصيرة الرؤوس ضيقة في القاعدة ومتضخمة عند نقطة التعلق بالفرع، قطرها حوالي 40-80 ملم، طولها 2-9 سم (Волынский et *al.*, 1967) وسمكها 1-2 مم (Tonyapona, 1997) زهورها ثنائية الجنس، صغيرة ومستديرة قصيرة مقارنة مع الأوراق (Shaniyazov, 2023) قطرها حوالي 3-4 مم تحتوي كل منها على 5 بتلات (Гончарова, 1997).

I-3-4 دورة حياة نبات الصباغ

تبدأ دورة حياة النبات من البذور التي تكون قادرة على الانبات في التربة المالحة يبدأ هذا الظهور في فصل الربيع ويستمر طيلة فصل الصيف حيث تتحمل درجات الحرارة العالية والظروف الجافة بفضل تكيفاتها الفيزيولوجية والمورفولوجية الخاصة (Teimouri & Jafari, 2010)، حيث تمر بالمراحل التالية:

المرحلة الأولى: البذور والإنبات، -تبدأ دورة حياة النبات بإنبات البذور في بيئات تحتوي على تربة ملحية مما يجعلها مناسبة للنمو في الأراضي الجافة والمالحة.

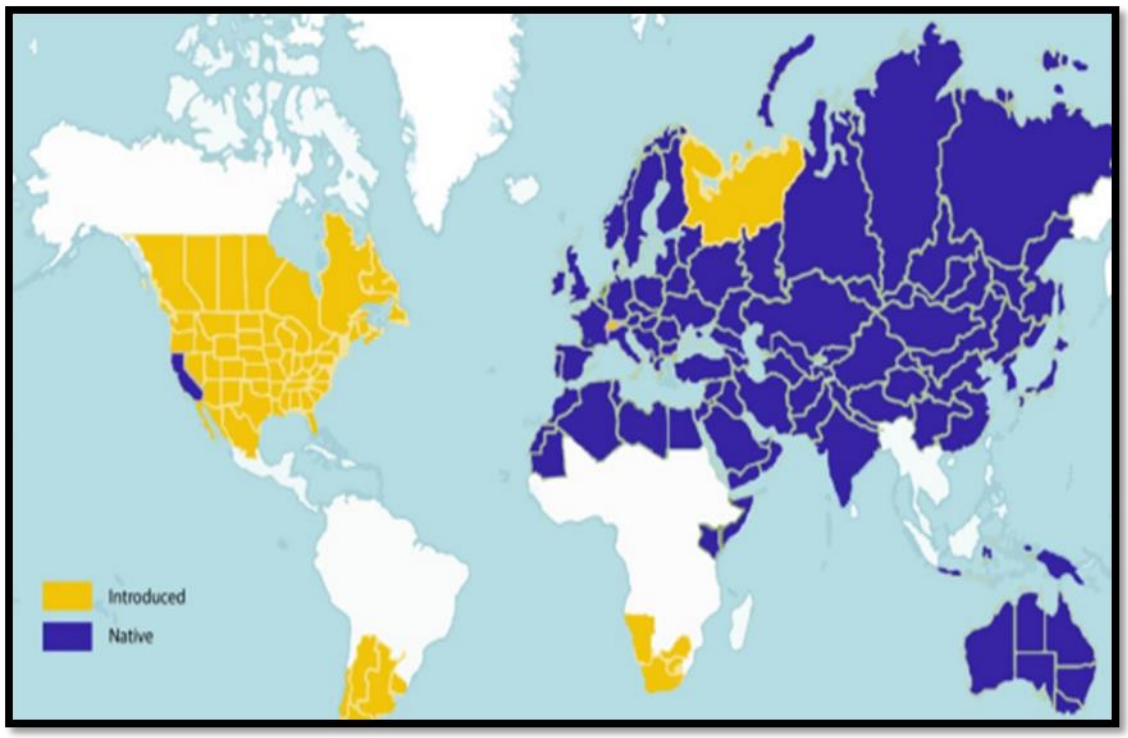
المرحلة الثانية: النمو الأولي، عند الإنبات، يبدأ النبات في النمو بسرعة، حيث ينمو جذوره بعمق للوصول إلى المياه المتاحة في التربة المالحة. يساعد هذا النمو الجذري القوي في تحمل الظروف البيئية القاسية.

المرحلة الثالثة: النمو النباتي، ينمو النبات ليصبح شجيرة متعددة الفروع. يتميز بأوراقه الضيقة واللحمية التي تقلل من فقدان الماء وتساعد على التكيف مع البيئات الجافة. يكتسب النبات خصائص ملحية تمكنه من النمو في التربة المالحة بفعالية.

المرحلة الرابعة: الإزهار والتكاثر في أواخر الصيف إلى الخريف، تزهر هذه النباتات أزهارا صغيرة غير بارزة، وتنتج البذور التي تنتشر عن طريق الرياح. هذا يسمح للنبات بالانتشار في مناطق واسعة (Teimouri & Jafari, 2010).

I-3-5 التوزع والانتشار الجغرافي

ينتشر هذا النبات في الصحاري وشبه الصحاري في آسيا الوسطى خاصة في كازاخستان، أوزباكستان وطاكجستان بالإضافة إلى أفغانستان وايران (Pyankov et *al.*, 2000)، وينمو بشكل رئيسي في بيئات الأراضي الجافة والشجيرات الجافة (Teimouri & Jafari, 2010).



الوثيقة 05: توزيع نبات الصباغ في مناطق مختلفة من العالم

I-3-6 التركيب الكيميائي

أثبتت الدراسات أن جنس Salsola مصدر غني جدا بالأنواع الكيميائية النباتية مثل القلويدات، الفلافونويدات، كومارين، إيزوفلافونويد بالإضافة إلى الأحماض الفينولية (El Naggar et *al*., 2022) وعند دراسة نوع *Richteri* تبين أن الجزء الهوائي للنبات الثمار، البراعم والأوراق تحتوي على كميات معتبرة من الأنواع الكيميائية الفلافونويد حيث بلغت كميتها 2.32 غرام (بهادران وآخرون، 1993). لكنها مصدر خام للقلويدات منها قلويد Salsolin وقلويد Salsolidin (Pakanaev et ; Kalbaeva, 2021 *al*., 1980) ، حيث تبلغ نسبة القلويدات 1.5% نصف الكمية أي 50% منها Salsolin (Akopian et *al*., 2020) أكثر الأجزاء تأثير هي الثمار التي يتم قطعها على الفور دون كسر الفروع والسيقان (Волынский et *al*., 1967) بالإضافة الى قلويد Orekhov et Carnegine (Tundis et *al*., 2009; proskurnina, 1937).

I-3-7 فوائد واستعمالات نبات الصباغ

من الناحية الطبية: يستعمل هذا النبات منذ القدم في الطب التقليدي الصيني لعلاج السرطان وارتفاع ضغط الدم والالتهابات (Seo et *al*., 2020). كما يستخدم كمضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات، مسكن للآلام (ElNaggar et *al*., 2022)، خافض ضغط الدم الشرياني من الدرجة الأولى والثانية، مقلل لتشنجات

الأوعية الدماغية، مهدي للجهاز العصبي المركزي (Эльяшевич et *al*., 2022)، طارد للديدان (Akopian et *al*., 2020) خافض ضغط الدم الكلوي الخبيث يوصف للصداع والدوخة (Glushchenko et *al*., 2018).

من الناحية الغذائية: يعتبر نبات الصباغ مصدر علف للمواشي في فترة الخريف والشتاء (Kalbaeva, 2021).

من الناحية البيئية: بفضل النمو القوي لجذر النبات تم استعماله كدعامة لتثبيت الرمال (Baltabaev et Embergenov, 2019).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

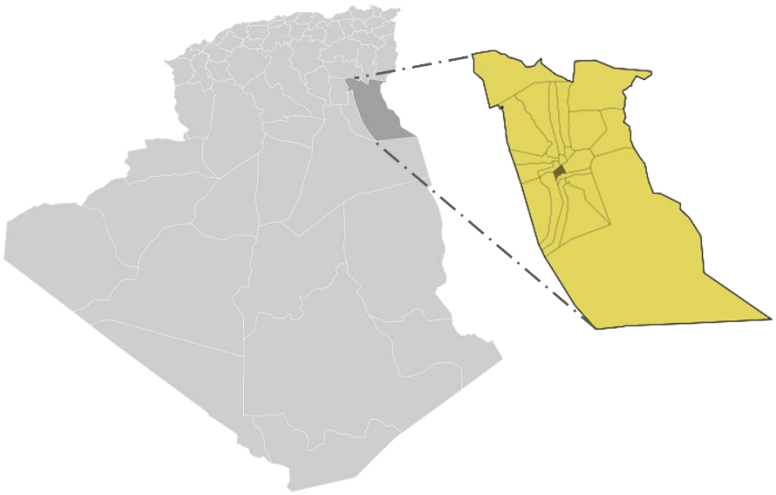
المواد والطرق

I- الموقع الجغرافي لمنطقة وادي سوف محل الدراسة

تقع ولاية الوادي في الجزء الجنوبي الشرقي من الجزائر، وفي منتصف الصحراء الكبرى حيث يمثل وادي سوف أو الوادي جزءًا من الصحراء الشماليّة الشرقيّة وتنتمي إلى منطقة العرق الشرقي الكبير، تبعد عن عاصمة الجزائر حوالي 630 كلم ويحدها من الشرق الجمهورية التونسية، ومن الغرب كل من محافظتي المغير وتقّرت، ومن الشمال محافظات تبسة وخنشلة وبسكرة، ومن الجنوب ولاية ورقلة (العزيز & حسونة).

تقع أراضي الوادي بين خطي عرض 31°-34° شمالا وبين خطي طول 6°-8° شرقا وتبلغ مساحتها 82,800 كلم^2 (ضيف، 2014)، يحدها شمالًا منطقة الشطوط المالحة (شط ملغيغ وشط مروان) ومن الجنوب الكثبان الرملية الحمراء لولاية ورقلة وأما شرقًا فيحدها مناطق الشطوط المالحة لدولة تونس (شط الجريد وشط الغرسة) وأما غربًا فتنتهي عند الأراضي المنبسطة لمنطقتي وادي ريغ وتقّرت (Nadjah, 1971; طه، 2007). كما تتميز المنطقة بمظهر الكثبان الرملية التي تغطي ثلاثة أرباع المساحة الاجمالية وتتخللها منخفضات، كما تعد سوف أخفض نقطة في العرق الشرقي الكبير (بن موسى، 2006).

يسود منطقة وادي سوف مناخ جاف يتميز بدرجة حرارة عالية صيفا ومنخفضة شتاء كما تتميز المنطقة بنسبة رطوبة وكمية تساقط ضعيفة لا تتعدى معدل 100 مم سنويا، من أهم مميزات الأمطار أن توزعها غير منتظم في المنطقة خلال العام (حليس، 2007).



الوثيقة 06: الموقع ولاية الوادي بالنسبة لولايات الجزائرية (العزيز & حسونة)

II - الوسائل و الطرق

1.II. المواد والأدوات والأجهزة المستعملة

1.1.II. المواد الكيميائية

- ماء مكرر التقطير
- الميثانول (CH_3-OH) ذو نقاوة (99%) إنتاج (BIOCHEM CHEMOPHARMA)
- (DPPH) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- ($K_3Fe(CN)_6$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- حمض ثلاثي كلورو أسيتيك (TCA) أو ($C_2HCl_3O_2$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (BIOCHEM CHEMOPHARMA)
- حمض الأسكوربيك ($C_6H_6O_6$) ذو نقاوة (99.7%) إنتاج (MERCK)
- حمض الغاليك ($_3C_6H_2COOH,H_2O$ ((OH)) ذو نقاوة (99%) إنتاج (PROLABO)
- كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) ذو نقاوة (99%) إنتاج (MERCK)
- ثنائي ميثيل سلفوكسيد DMSO (**C_2H_6OS**)
- وسط ميلر-هينتون Mueller-Hinton culture media
- محلول ملحي فيزيولوجي معقم (كلوريد الصوديوم 0.9%)
- خميرة الخبز التجارية Saf-Instant® (*Saccharomyces cerevisiae*)
- محلول الجلوكوز ($C_6H_{12}O_6$)
- الميثانول
- الإيثانول
- جذر DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl))
- بيروكسيد كبريتات البوتاسيوم ($K_2S_2O_8$)
- بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)
- ثنائي كلوريد الحديد ($FeCl_2$)
- الأمونيوم (NH_4)
- الفيروزين
- الفينوثرولين
- BHT (Butylated hydroxytoluene)
- EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)

- (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) ABTS

2.1.II. الأدوات والأجهزة

- جهاز التبخير الدوار(Rotavapor) نوع (RV 06-ML) صنع (IKA)
- جهاز (UV-Visible) نوع (PRIM Advanced Spectrophotometers)
- أطباق بتري
- حاضنة على درجة حرارة 37 درجة مئوية
- جهاز تعقيم بالبخار (Autoclave)
- موقد بنزن
- ميزان حساس
- عصا معقمة
- مسحة معقمة
- ماصة دقيقة (Micropipette)
- أنابيب
- قمع مخروطي الشكل
- قطارات باستير معقمة
- جهاز قياس كثافة عكارة VITEK® DENSICHEK® McFarland
- جهاز الطرد المركزي
- جهاز المزج (vortex)

2.II. الطرق وخطوات العمل

1.2.II. تحضير المادة النباتية

في هذا البحث، اســـتخدمنا نبتتين صـــحراويتين هما *Salsola richteri* (Moq) Karel ex و*Cornulaca monacontha* Del، اللتين تنموان في منطقة ســوف والمعروفتين محلياً بالصـــباغ والحاد على الترتيب.

الوثيقة 07: صورة لـ *Cornulaca monacontha* من موقع الدراسة

الوثيقة 08: صورة لـ *Salsola richteri (Moq)* من موقع الدراسة

بالنسبة لنبات *S. richteri* قمنا باستخدام ثلاثة أجزاء مختلفة: الجذور، الأوراق، والأزهار. أما بالنسبة للنبات الثاني *C. monacontha*، فقد استخدمنا جزئين فقط هما الجذور والأوراق، نظراً لتعذر الحصول على الأزهار عند جمع العينات، وأيضاً بناءً على نتائج دراسات سابقة التي أشارت إلى أن الأزهار ليست ذات قيمة بيولوجية كبيرة. تم جمع العينات من مناطق مختلفة، حيث جمعت النبتتان *C.* monacontha و *S. richteri* من المنطقة المحاذية لجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي نظراً لانتشارها الكبير في هذه المنطقة وتم بدء الدراسة المخبرية في أوائل شهر جانفي من العام 2022. وبعد ذلك اتبعنا الخطوات التالية في تحضير العينات:

- **التنظيف والتجفيف و تخزين العينات النباتية**

تم تنظيف أجزاء النبتتين، وتنقيتها من الشوائب وغسلها جيدا بالماء المقطر البارد للتخلص من الأتربة والعوالق، لتجفف هذه الأخيرة في غرفة مهواة بعيدا عن الرطوبة و الشمس وفي درجة حرارة الغرفة، ثم طحنت جميع العينات على شكل مسحوق ناعم بواسطة مطحنة كهربائية، حفظت في علب زجاجية نظيفة جافة وعاتمة اللون محكمة الإغلاق إلى حين إستخدامها (Romelle et *al.*, 2016).

2.2.II. تحضير المستخلصات المائية

- **الاستخلاص:** ينقع 50 غ من المسحوق النباتي لكل جزء من نبتتي الدراسة المطحونة في وعاء مناسب ويضاف له حجم 500 مل من الماء المقطر حيث يكون كافي لتغطية المسحوق بالكامل لمدة 24 ساعة مع التقليب الخفيف للمحلول كل فترة لتحسين عملية الاستخلاص.
- **التصفية:** بعد انتهاء فترة الاستخلاص يرشح الخليط بواسطة Whatman paper 0.65 µm ثم يرشح
- مرة أخرى في ورق ترشيح أدق Whatman Paper 0.45 µm، ثم ينقل المنقوع للتجفيف في جهاز Rotavapor لتركيز المستخلص والحصول على شكل صلب جاف يمكن ان يتحلل في الماء بسهولة ويتم التحكم في تركيزه المستعمل.
- **التخزين:** ينقل المستخلص المائي إلى وعاء نظيف ومحكم الإغلاق ومظلم للحفاظ على استقراريته ونشاطه الحيوي، و يتم تخزينه في مكان بارد (4 ±° م) (Mphahlele et *al*., 2016).
- **مردود الاستخراج:** لقد مكنتنا عملية استخلاص المركبات الأكثر وفرة في العينات باستخدام الماء المقطر من حساب مردود المستخلص المائي.

يتم حساب المردود باستخدام المعادلة التالية:

المردود % = (الكتلة النهائية / الكتلة الاولية) X 100

حيث تمثل:

- **الكتلة الأولية:** الكتلة الجافة الأصلية للمادة النباتية (لكل جزء نباتي) قبل الاستخلاص.
- **الكتلة النهائية:** الكتلة الجافة للمستخلص الناتج بعد التبخير والتركيز.

تم التعبير عن المردود كنسـبة مئوية بناءً على 10 غرام من العينة الأصـلية، أي أن الكتلة الأولية في المعادلة هي 10 غرام.

3-II تحضير المستخلصات المائية للنبات

- **الاستخلاص:** ينقع 50 غ من المسحوق النباتي لكل جزء من نبتتي الدراسة المطحونة في وعاء مناسب ويضاف له حجم 500 مل من الماء المقطر حيث يكون كافي لتغطية المسحوق بالكامل لمدة 24 ساعة مع التقليب الخفيف للمحلول كل فترة لتحسين عملية الاستخلاص.
- **التصفية:** بعد انتهاء فترة الاستخلاص يرشح الخليط بواسطة Whatman paper 0.65 µm ثم يرشح مرة أخرى في ورق ترشيح أدق Whatman Paper 0.45 µm، ثم ينقل المنقوع للتجفيف في جهاز Rotavapor لتركيز المستخلص والحصول على شكل صلب جاف يمكن ان يتحلل في الماء بسهولة ويتم التحكم في تركيزه المستعمل.

- **التخزين:** ينقل المستخلص المائي إلى وعاء نظيف ومحكم الإغلاق ومظلم للحفاظ على استقراريته ونشاطه الحيوي، و يتم تخزينه في مكان بارد (4 ±° م) (Mphahlele et *al*., 2016).
- **مردود الاستخراج:** لقد مكنتنا عملية استخلاص المركبات الأكثر وفرة في العينات باستخدام الماء المقطر من حساب مردود المستخلص المائي.

يتم حساب المردود باستخدام المعادلة التالية:

المردود % = (الكتلة النهائية / الكتلة الاولية) X 100

حيث تمثل:

- **الكتلة الأولية:** الكتلة الجافة الأصلية للمادة النباتية (لكل جزء نباتي) قبل الاستخلاص.
- **الكتلة النهائية:** الكتلة الجافة للمستخلص الناتج بعد التبخير والتركيز.

يتم التعبير عن المردود كنسبة مئوية بناءً على 10 غرام من العينة الأصلية، أي أن الكتلة الأولية في المعادلة هي 10 غرام.

II-4 الدراسة الفيزيوكيميائية للمادة النباتية

تم تحديد محتوى الرطوبة، الألياف الخام، النيتروجين، البروتينات، المواد الدهنية، الكربوهيدرات، المعادن (المغنيسيوم، الكالسيوم، الصوديوم، البوتاسيوم) باستخدام البروتوكولات القياسية ISO التالية:

II.1.4. تحديد محتوى الرطوبة

تم تحديد محتوى الرطوبة باستخدام بروتوكول (JOA N0 08/2013) ، مبدأ هذا البروتوكول هو تجفيف العينة في فرن عند 105 درجة مئوية حتى الوصول إلى وزن ثابت.

تبدأ العملية بوزن العينة الأولية (حوالي 5 غرام) وتوضع العينة في فرن عند 105 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، ثم يتم وزن العينة المجففة.

تحسب نسبة الرطوبة باستخدام الصيغة:

$$\frac{\text{الوزن النهائي} - \text{الوزن الأولي}}{\text{الوزن الأولي}} \times 100$$

II.4.2. تحديد محتوى الألياف الخام

تم استخدام طريقة (AOAC Method 978.10) لتحديد محتوى الألياف الخام، تعتمد الطريقة على استخراج الألياف من العينة باستخدام أحماض وقلويات محددة.

تبدأ العملية بوزن العينة الأولية، ثم غلي العينة في محلول حمض الكبريتيك (1.25% w/v) لمدة 30 دقيقة، بعد ذلك تتم عملية الترشيح وغسل العينة بماء مقطر، تليها عملية غلي العينة في محلول هيدروكسيد الصوديوم (1.25% w/v) لمدة 30 دقيقة، ثم ترشيح وغسل العينة مرة أخرى وبعد التجفيف، يتم وزن العينة وحساب نسبة الألياف الخام باستخدام الصيغة:

$$\frac{\text{الوزن النهائي}}{\text{الوزن الأولي}} \times \mathbf{100}$$

II.4.3. تحليل النيتروجين والبروتينات

تم تحليل النيتروجين باستخدام طريقة كيلدال (Kjeldhal) ، تعتمد الطريقة على تحويل النيتروجين العضوي إلى أمونيا ثم تحديد كمية الأمونيا الناتجة. تبدأ العملية بهضم العينة باستخدام حمض الكبريتيك المركز ومحفزات مثل كبريتات البوتاسيوم وكبريتات النحاس، بعد الهضم يتم تقطير الأمونيا الناتجة ثم معايرتها باستخدام محلول قياسي.

تم تحديد محتوى البروتينات وفقًا لمعيار2-ISO 5983 ، يتم حساب نسبة البروتينات باستخدام عامل التحويل الملائم لمحتوى النيتروجين.

II.4.4. تحديد محتوى المواد الدهنية

تم استخراج الدهون وتحليلها وفقًا لمعيار ISO 6492، في هذا البروتوكول، يتم تجفيف العينة ثم استخلاص الدهون باستخدام مذيب عضوي مثل الإيثر البترولي أو الهكسان وبعد الاستخلاص يتم تبخير المذيب ووزن المادة الدهنية المتبقية، يتم حساب نسبة الدهون المستخلصة بناءً على وزن العينة الأصلية.

II.4.5. تقدير محتوى الكربوهيدرات

تم تقدير محتوى الكربوهيدرات باستخدام طريقة (Dubois)، تعتمد هذه الطريقة على تفاعل الكربوهيدرات مع حمض الكبريتيك المركز ومحلول الفينول لتكوين لون يمكن قياسه باستخدام مقياس الطيف الضوئي عند طول موجي محدد حيث يتم إعداد منحنى معايرة باستخدام محاليل قياسية للجلوكوز، ثم تقاس امتصاصية العينة ويتم حساب محتوى الكربوهيدرات بناءً على منحنى المعايرة.

II.4.6. تحليل محتوى العناصر المعدنية

تم تحليل محتوى المغنيسيوم، الكالسيوم، الصوديوم، والبوتاسيوم باستخدام معايير(NA 752، NA 1655، NA 1653)، تعتمد هذه البروتوكولات على تقنيات التحليل الطيفي للامتصـــاص الذري أو التحليل الطيفي للانبعاث الذري.

تبدأ العملية بتحضير العينة وتحليلها باستخدام جهاز الامتصاص الذري لتحديد تركيز كل معدن في العينة بناءً على منحنيات المعايرة المعدة باستخدام محاليل قياسية معروفة التركيز.

II-5 الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات النباتية المدروسة

تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات باستخدام الإجراءات القياسية التي Evans وصفها (1989). تم إجراء الاختبارات النوعية التالية:

II.5.1 الكشف الكيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوية

- **الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات النباتية المدروسة**

تم إجراء التحليل الفيتوكيميائي على المستخلصات المحضرة على النحو التالي حسب (Evans, 2009).

- **الكشف عن الفلافونيدات**

يتم هذا الكشف بإضافة 5 مل من الأمونياك المخفف إلى 5 مل من المستخلص ثم إضافة بعض القطرات من حامض الكبرتيك المركز (H_2SO_4)، وظهور اللون الأصفر الداكن دلالة على وجود الفلافونويدات.

- **الكشف عن الفينولات**

نأخذ 1 مل من كل مستخلص ونضيف إليه 2 مل من الماء المقطر، ثم نضيف 10% من كلوريد الحديد (FeCl3) يظهر لون أزرق يدل على وجود الفينولات.

- **الكشف عن التربينويدات**

يتم هذا الكشف عن طريق إضافة 2 مل من الكلوروفورم مع 3 مل حمض الكبريتيك المركز إلى 5 مل من المستخلص، وظهور اللون الأحمر إلى البني الغامق دلالة على وجود التربينويدات.

- **الكشف عن القلويدات**

نأخذ 0.5 مل من كل مستخلص نباتي ونمزجه مع 8 مل من 1% حمض كلور الماء (HCl)، ثم نرشح. نأخذ 2 مل من الرشاحة ونعالجها مع كاشف Mayer، فيظهر راسب أبيض داكن يدل على وجود القلويدات.

II.5.2 التقدير الكمي للمركبات الفينولية

- **التقدير الكمي لعديدات الفينول**

قُدرت الفينولات للعينات النباتية وفقا لطريقة Beretta (Beretta et *al*., 2005) بمساعدة كاشف Folin Ciocalteau، يتكون هذا الكاشف من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3P_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يُرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستن (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق.

تقدر المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، وباستعمال حمض الغاليك كمركب مرجعي عند الطول الموجي λ_{max}=760 nm.

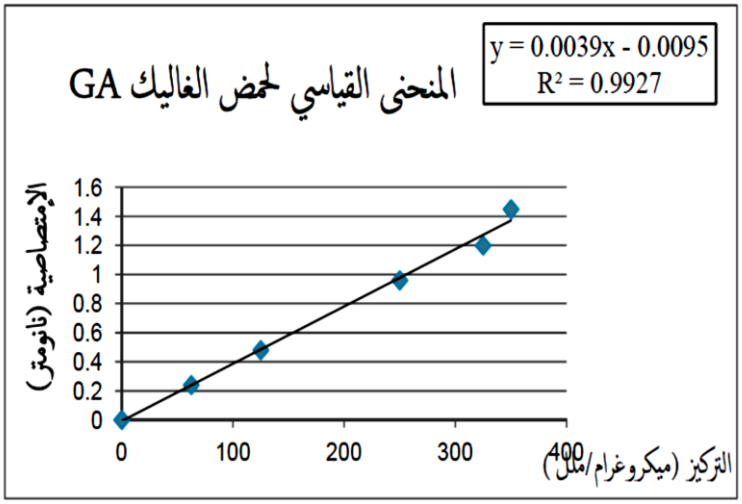
- **طريقة العمل**

يتم تحضير عدة تراكيز ممددة لكل مستخلص (10 – 1.0 غ/ل)، نأخذ 100 ميكرولتر من كل مستخلص يضاف لها 0.5 مل من كاشف الفولين المدد (10 %)، نضيف للمزيج 2 مل من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3, 20%)، يرج المزيج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة. بعد انقضاء المدة الزمنية تقرأ الامتصاصية بواسطة جهاز UV-vis عند الطول الموجي الاعظمي λ_{max}=760 nm.

- **تحضير المحلول القياسي لحمض الغاليك ورسم المنحنى**

يتم بنفس الطريقة تحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك بتراكيز مختلفة محصورة بين (0.01-0.05 غ/ل)، ثم تتم قراءة الامتصاصية الضوئية عند الطول الموجي λ_{max}=760 nm.

نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك والذي يوضح العلاقة بين تغير الامتصاصية (nm) بدلالة التركيز (ميكروغرام /مل) كما هو موضح في الشكل 13، ومن ثم حساب المكافئ الغرامي لعديد الفينول في المستخلصات لكل 1 غ من المستخلص، يوضح **الشكل 10** المنحنى القياسي لحمض الغاليك (GA) بدلالة التركيز مقابل الامتصاصية.



الشكل 10: المنحنى القياسي لحمض الغاليك (GA)

- **التقدير الكمي للفلافونيدات**

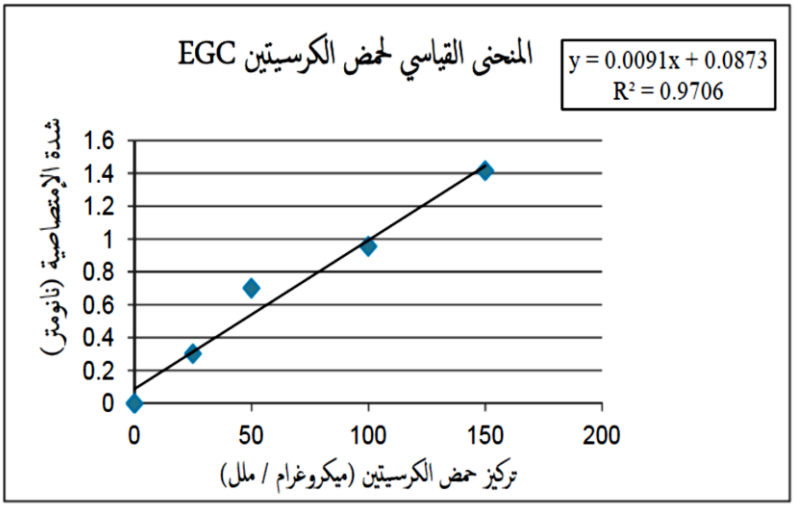
يتم تقدير كمية الفلافونويدات وفقا لطريقة Lianda (Lianda et *al*., 2012)، حيث تعتمد على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل وهيدروكسي الموقع 5 و3، كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثوهيدروكسي، ذو معامل امتصاص عال يمتص عند طول الموجة λ_{max}=420 nm ، وبالإستعانة بالكريستين كمركب مرجعي عند طول موجي λ_{max}=420 nm.

- **طريقة العمل**

يتم تحضير عدة تراكيز ممددة لكل مستخلص (10 – 1.0 غ/ل)، ثم يمزج 1 مل من كل مستخلص مخفف للعينات مع 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد الألمونيوم (2%)، يرج المزيج قليلا ثم يترك في الظلام 30 دقيقة، تتم قراءة الامتصاصية بواسطة جهاز UV-vis عند طول موجي λ_{max}=420 nm.

- **تحضير المحلول القياسي للكريستين ورسم المنحنى**

بنفس طريقة العمل نقوم بتحضـــير المركب المرجعي بتراكيز مختلفة محصـــورة بين (25-150 (ميكروغرام /مل) للحصول على الشكل 14 والتي توضح منحنى الإمتصاصية الضوئية (nm) بدلالة تركيز المحلول القياسي، ومن ثم حساب المكافئ الغرامي للفلافونويدات في المستخلصات لكل 1 غ من المستخلص. يوضح **الشكل 11** المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين (QE) بدلالة التركيز مقابل الامتصاصية.



الشكل 11: المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين (QE)

- **التقدير الكمي للتانينات**

تحديد محتوى التانين باســـتخدام محلول Folin-Ciocalteu يتم عبر بروتوكول يعتمد على عدة خطوات بسيطة. تبدأ العملية بتحضير المحلول القياسي لحمض الجاليك بتركيز 1 ملغ/مل وتخفيفه للحصول على محاليل قياســـية بتركيزات مختلفة (مثل 0، 50، 100، 150، 200، و250 ميكروغرام/مل). ثم يتم تحضـــير محلول العينة بوزن كمية معلومة من العينة (مثلاً 0.1 غرام) وإذابتها في كمية مناســـبة من الماء المقطر للحصول على محلول متجانس، ثم يتم ترشيحه لإزالة أي شوائب.

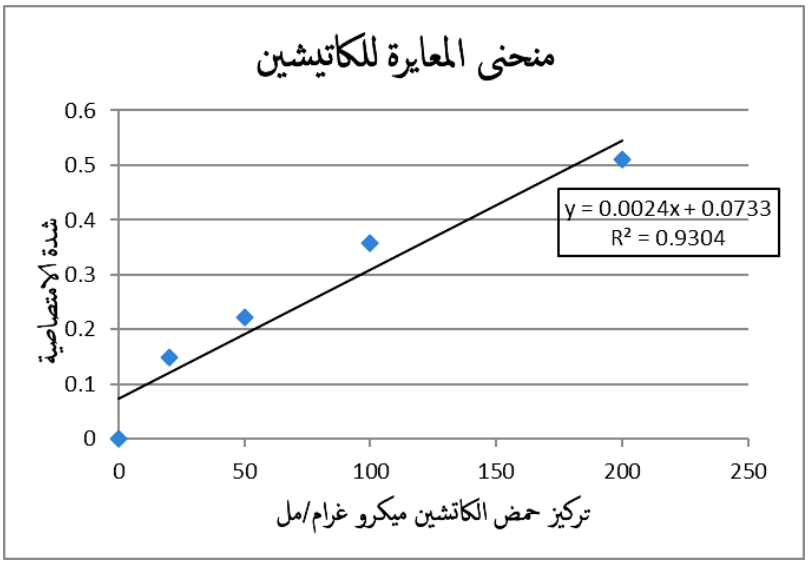
بعد ذلك، يتم أخذ 1 مل من كل من محلول حمض الجاليك القياســـي ومحلول العينة في أنابيب اختبار منفصـــلة، ويضـــاف إليها 5 مل من محلول Folin-Ciocalteu ويخلط جيداً ثم يترك لمدة 5 دقائق.

بعد ذلك، يتم إضـــافة 4 مل من محلول كربونات الصـــوديوم (20% وزن/حجم) إلى كل أنبوب، ويخلط جيداً ويترك عند درجة حرارة الغرفة أو في حمام مائي عند 30 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة.

بعد فترة الحضانة، يتم قياس الامتصاصية لكل محلول عند طول موجي 765 نانومتر باستخدام جهاز الطيف الضوئي، مع استخدام الماء المقطر كفراغ. يتم رسم منحنى المعايرة بأخذ تركيز حمض الجاليك على المحور السيني والامتصاصية المقابلة على المحور الصادي. ثم يتم حساب محتوى التانين في العينة باستخدام منحنى المعايرة وتحديد التركيز بناءً على قيم الامتصاصية التي تم الحصول عليها. يُعبر عن محتوى التانين بوحدات مكافئ الكاتشين بمقدار ملغ/غم من المادة الجافة (Galvão et *al.*, 2018).

- **تحضير المحلول القياسي للكاتشين ورسم المنحنى**

بنفس طريقة العمل نقوم بتحضـــير المركب المرجعي بتراكيز مختلفة محصـــورة بين (25-200 (ميكروغرام /مل) للحصول على الشكل 15 والتي توضح منحنى الإمتصاصية الضوئية (nm) بدلالة تركيز المحلول القياسـي، ومن ثم حسـاب المكافئ الغرامي للتانينات في المسـتخلصـات لكل 1 غ من المسـتخلص. يوضح **الشكل 12** المنحنى القياسي لحمض الكاتيشين (CA) بدلالة التركيز مقابل الامتصاصية.



الشكل 12: المنحنى القياسي للكاتشين (CA)

II-6 التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات الخام باستعمال الـHPLC

تم استخدام نظام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) نوع Shimadzu LC20 AL مجهز بحاقن عالمي (Hamilton 25 µL)، أما العمود التحليلي المستخدم في هذه العملية فهو من نوع Shim-pack Vp-ODS C18 (4.6 x 250 ميكرومتر) من شركة Shimadzu، وتم استخدام كاشف UV-VIS SPD 20A (Shimadzu).

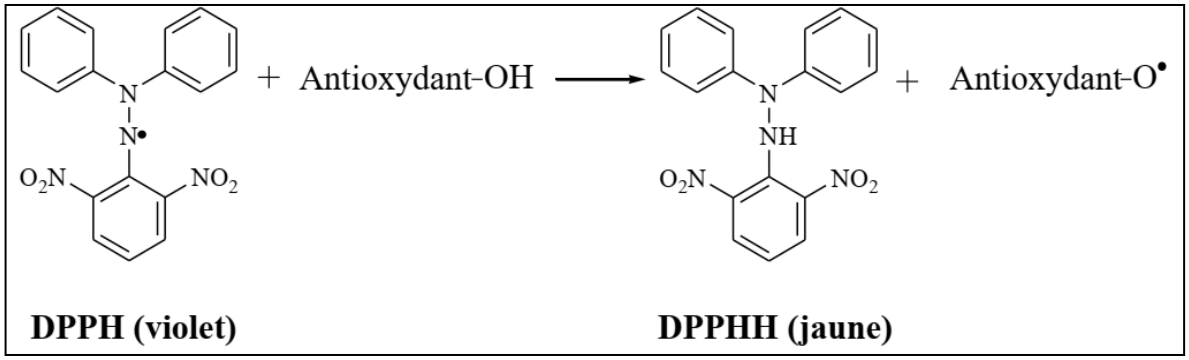
كان الطور المتحرك عبارة عن خليط من الأسيتونيتريل وحمض الأسيتيك بتركيز 0.1%، حيث تم ترشيح محتويات الطور المتحرك قبل الاستخدام من خلال مرشح غشاء بقطر 0.45 ميكرومتر، وتم ضخه من خزان المذيب إلى العمود بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة وفقًا لشويخ (Chouikh *et al.*, 2018). تم حقن 20 ميكرولتر من محلول المستخلص النباتي في تدفق الطور المتحرك وتعديل الضغط العالي الذي يحرك الطور المتحرك باستخدام المضخة. تم تحديد المركبات المنفصلة باستخدام العمود لمدة 50 دقيقة، مع اكتشاف الطور المتحرك في التدفق عند طول موجي λ_{max}= 268 nm.

II-7 تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

II.7.1. اختبار DPPH• free radical scavenging assay

من أجل تقدير الفاعلية المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات النباتية تم إستعمال اختبار DPPH، والذي يعتبر من أكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثير الإزاحي للجزيئات المضادة للأكسدة باتباع الطريقة الموضحة لـ (Cheng et *al.*, 2006).

يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذر DPPH (ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل) المستقر نسبيا ذو اللون البنفسجي حيث يتفاعـل هذا الأخير مع الجزيئــات المضادة للجذور الحرة في المستخلص ويتحول إلى DPPH-H ذو اللـون الأصفـر، ويتبـع ذلـك نقصـان في الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمي λ_{max}= 517 nm.



الشكل 13: اختزال 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل إلى ثنائي فينيل بيكريل هيدرازين

- **طريقة العمل**

تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المائية من نباتي *C.* monacontha و *S. richteri* باستخدام طريقة DPPH كما وصفها (Amara, 2020) مع بعض التعديلات. تم تحضير خليط يحتوي على 180 ميكرولتر من المستخلص (1 ملغ/مل) مع 1500 ميكرولتر من محلول DPPH (0.2 مل مولار) للحصول على تركيز 50 ميكروغرام/مل في العينة.

تم ترك الخليط في ظروف المختبر في الظلام لمدة 30 دقيقة، ثم تم قياس الامتصاصية عند طول موجة 570 نانومتر باستخدام جهاز مطياف الضوء، باستخدام حمض الأسكوربيك كمرجع. تم حساب نسبة التثبيط (DPPH) باستخدام المعادلة التالية:

تحسب النسبة المئوية للتثبيط (I%) بالعلاقة التالية:

$$\boldsymbol{I\%} = \left(\frac{(\boldsymbol{A_0} - \boldsymbol{A_I})}{\boldsymbol{A_0}}\right) \times \mathbf{100}$$

حيث أن:

- A_0 : الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في غياب المستخلص.
- A_I : الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في وجود المستخلص.

تم تقدير إمكانية التثبيط الجذري لـلـ DPPH لكل مستخلص باستخدام معادلة المستقيم في كل منحنى عن طريق اشتقاق قيم IC_{50} ثم مقارنتها مع IC_{50} المحلول القياسي.

II-7-2 اختبار استخلاب الحديدIron Chelation assay

لتقييم القدرة الاستخلابية لمستخلص معين، يستخدم عادة مركب الفيروزين Ferozine، حيث يتفاعل هذا المركب مع الحديد الثنائي +Fe2 الموجود في الوسط ليشكل معقدًا بنفسجي اللون الداكن. كلما زاد وضوح اللون في المحلول الذي يحتوي على المستخلص المختبر، زادت قوة الاستخلاب في المستخلص (Khadhri et *al.*, 2013).

- **طريقة العمل**

تم قياس نشاط استخلاب الحديد للمستخلصات النباتية بقياس تثبيط تشكل معقد $Ferozine\text{-}Fe^{2+}$، وفقًا لطريقة Le وآخرون (2007). يتم إضافة 50 ميكرولتر من مركب $FeCl_2$ إلى 250 ميكرولتر من مختلف تراكيز المستخلص النباتي، و450 ميكرولتر من الميثانول، ثم يخلط المزيج جيدًا ويترك لمدة 10 دقائق في درجة حرارة المختبر. بعد ذلك، يتم إضافة 50 ميكرولتر من الفيروزين، وتقرأ الامتصاصية بعد 10 دقائق عند الطول الموجي 562 نانومتر. تُقارن النتائج المحصلة مع شاهد يحتوي على جميع المحاليل باستثناء المستخلص النباتي. بعد ذلك، تُقارن النتائج مع شاهد EDTA المحضر بنفس طريقة تحضير عينات المستخلص. تُحسب نسبة استخلاب الحديد بواسطة العلاقة التالية:

$$\boldsymbol{Chelation\%} = \left(\frac{(\boldsymbol{A_C} - \boldsymbol{A_E})}{\boldsymbol{A_C}}\right) \times \mathbf{100}$$

حيث:

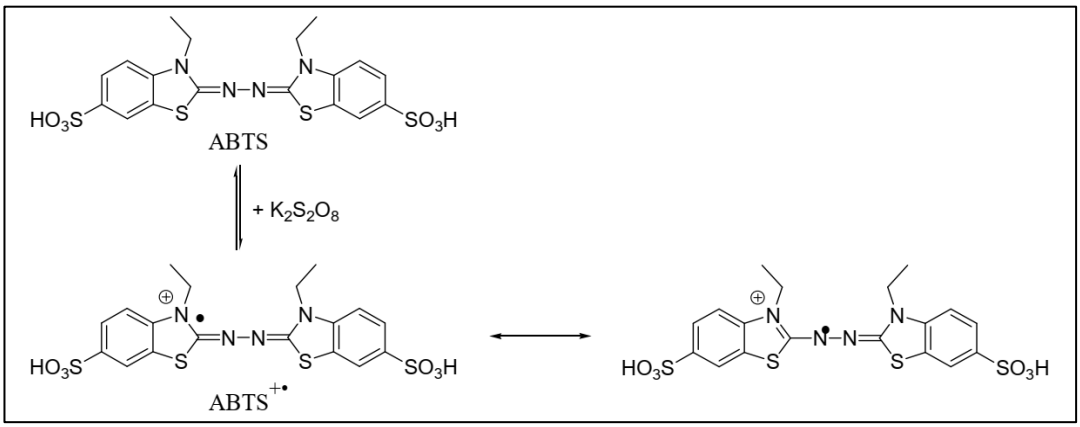
A_C: الامتصاصية الشاهد التي تحتوي على كل المحاليل باستثناء المستخلص.

A_E: الامتصاصية في وجود المستخلص.

يتم حساب التركيز الفعال الذي يوافق تثبيط 50% من الجذر الحر (IC_{50}) من منحنى تثبيط النسب (I%)، مع تراكيز المستخلصات، والقيمة الأقل لـ IC_{50} تمثل التأثير الاستخلابي الأقوى للمستخلص المدروس.

II-7-3 اختبار الكسح الجذري ABTS

تم تطوير التحليل بواسطة ABTS كطريقة بسيطة لقياس القدرة الكلية على مضادات الأكسدة، حيث يتم أكسدة ABTS عديم اللون مسبقًا باستخدام بيركسيد سلفات البوتاسيوم ($K_2S_2O_8$) لتكوين الكاتيـــون الجذري $ABTS^{\bullet+}$ ذو اللون الأزرق-الأخضر (الشكل 14). حيث يقيس قدرتها على تثبيط الجذور الحرة، والذي يُظهر لونًا أزرقًا أخضر ثابتًا عند خلطه مع أي مادة قادرة على أكسدته، عندما يتم تخفيضه يعود المحلول إلى لونه الأصلي عديم اللون (Erel, 2004).



الشكل 14: تكوين الكاتيون الجذري $ABTS^{+\bullet}$ من ABTS

- **طريقة العمل**

تم تحضير الجذر $ABTS^{\bullet+}$ عن طريق خلط محلول ABTS (7 ملي مول) مع محلول بيروكسيد سولفات البوتاسيوم (2.45 ملي مول)، تم مزج المحلول في الظلام عند درجة حرارة الغرفة لمدة 16 ساعة.

تم تخفيف هذا المحلول بالميثانول للحصول على امتصاصية 0.7 عند طول موجي 734 نانومتر. بعد ذلك، تم إضافة 1 مل من محلول ABTS الميثانولي إلى 50 ميكرولتر من مختلف تراكيز مستخلص النبات. تم استخدام BHT كمعيار للمقارنة.

بعد ذلك، تم تحضين المزيج عند درجة حرارة الغرفة في الظلام لمدة 30 دقيقة. تم قياس الامتصاصية ومقارنتها بالشاهد، الذي يحتوي على جميع مكونات التفاعل باستثناء مستخلص النبات. تم حساب نسبة التثبيط (I%) بنفس طريقة تثبيط جذر الـDPPH، باستخدام المعادلة التالية (Erel, 2004):

$$\boldsymbol{I\% = \left(\frac{(A_0 - A_I)}{A_0}\right) \times 100}$$

حيث أن:

- $\boldsymbol{A_0}$ **:** الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في غياب المستخلص.
- $\boldsymbol{A_I}$ **:** الإمتصاصية الضوئية للمحلول الجذري في وجود المستخلص.

II-7-4 النشاط الازاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2

يعتبر من أهم الاختبارات التي تقيم امكانية ازاحة الجذور الحرة حيث يعتمد مبدأ هذا التجريب على دراسة امكانية ازاحة الجذر H_2O_2 للعلم فان هذا المركب له القدرة على تخريب الـ ADN وعلى تخريب الغشاء البلازمي مما يؤدي الى تحرير شوارد الكالسيوم من داخل الخلايا، مما يؤدي الى تنشيط الإنزيمات المحللة للبروتينات المرتبطة في نشاطها بالكالسيوم (Guetens *et al.*, 2002).

لقد تم قياس قدرة المستخلص على ازاحة جذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بحسب طريقة (Mukhopadhyay *et al.*, 2016)، حيث يؤخذ 380 ميكرو لتر من المستخلص النباتي بتراكيز مختلفة يضاف اليها 62.5 ميكرو لتر من محلول الأمونيوم وتخلط جيدا يضاف اليها مقدار 17.5 ميكرولتر من محلول بيروكسيد الهيدروجين، ثم تحضن هذه المحاليل لمدة 5 دقائق بعد الخلط جيدا، بعد انتهاء المدة يضاف للمحلول 380 ميكرو لتر من مركب الفينوثرولين ويعاد للحضن مرة ثانية لمدة 10 دقائق.

بعد ذلك تقاس الامتصاصية عند الطول الموجي λ_{max} = 710nm وتقارن النتائج المتحصل عليها مع الشاهد حمض الأسكوربيك (فيتامين C) والذي تم تحضيره بنفس الطريقة السابقة.

لقد تم حساب نسبة إزاحة جذر بيروكسيد الهيدروجين كالتالي:

$$\boldsymbol{1\% = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100}$$

حيث:

- A_C :تم امتصاصية الشاهد الذي يحتوي على جميع المتفاعلات ماعدا المادة المختبرة.
- A_E: تمثل الامتصاصية في وجود المستخلص.

يحسب التركيز الفعال الموافق لتثبيط 50% من الجذر الحر(IC_{50}) من منحنى نسب التثبيط (I%) مع تراكيز المستخلصات والقيمة الأقل لـIC_{50} تمثل التأثير الإزاحي الأكبر للمستخلص المعاين.

II-8 الفعالية المضادة الميكروبات

- **العينات البيولوجية**

تم استخدام سلالة مرجعية من فطر المبيضات البيضاء *Candida albicans* ATCC 10231 وأربعة سلالات بكتيرية، بما في ذلك سلالتين من البكتيريا سالبة الجرام، وهما الزائفة النخامية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 والإشريكية القولونية *Escherichia coli* ATCC 25922، وسلالتين من البكتيريا موجبة الجرام، وهما العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 والجراثيم العصوية *Bacillus subtilis* ATCC 25973.

II-8-1 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقة الانتشار بواسطة الابار في وسط صلب

تُعتبر الطريقة المستخدمة في تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من خلال نشر المستخلصات على وسط الزرع تقنية أساسية في الأبحاث الميكروبيولوجية. هذه التقنية تعتمد على التفاعل بين المستخلصات البكتيرية والوسط الزرعي لتحديد فعالية المواد الفعالة ضد مختلف الأنواع البكتيرية. تهدف هذه العملية إلى تقديم تقييم شامل لقدرة المستخلصات على تثبيط نمو البكتيريا، مما يساهم في فهم إمكانياتها كمضادات ميكروبية محتملة وتمت الطريقة العملية حسب (Kiehlbauch *et al.*, 2000; Bonev, Hooper et Parisot, 2008).

- **طريقة النشر على الهلام**

لضمان العمل في ظروف آمنة وحماية التجارب من التلوث الخارجي، تم العمل في ظروف معقمة وآمنة.

- جميع التجارب تم تنفيذها تحت الغطاء أو في المنطقة المعقمة لبنزن بمسافة 20 سم.
- جميع الأدوات تم تعقيمها في الأوتوكلاف عند 120 °C لمدة 20 دقيقة، بما في ذلك الأنابيب التجريبية، الأنابيب الدقيقة، أوراق واتمان، وكذلك الماء الفسيولوجي ووسط الزرع.

- **إعادة الزرع لأنواع البكتيريا**

تم إعادة زرع الأنواع البكتيرية المختلفة باستخدام طريقة الخطوط في أطباق بتري تحتوي على وسط مولر هينتون (MH)، ثم تم حضنها عند 37 °C لمدة 24 ساعة، هذه الخطوة تتيح الحصول على مستعمرات منفصلة ونقية وصغيرة.

- **تحضير المستخلصات**

في أنابيب دقيقة معقمة تحتوي على حجم محدد من DMSO، نضـيف كمية محددة من المسـتخلص. بعد ذلك، يتم تحضـير تخفيفات مختلفة من المحلول الأم (SM) لكل مسـتخلص بتركيزات (120، 60، 30، و15 ملغم/مل). تم إثبات أن DMSO لا يمتلك نشاطًا مضادًا للبكتيريا، لذلك تم اختياره كعامل جيد للتخفيف.

- **تحضير وسط الزرع**

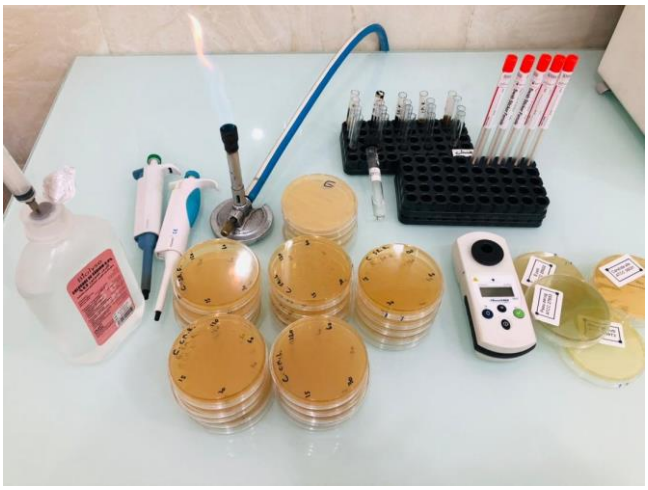
تم صـب الهلام المعقم لمولر هينتون الجاهز للاسـتخدام في أطباق بتري معقمة، بسـمك 3 مم موزعة بالتساوي في الأطباق. تم ترك الأطباق في درجة حرارة الغرفة حتى يتصلب الهلام قبل استخدامه.

- **تحضير اللقاح (المعلق البكتيري)**

تم تحضـير المعلق البكتيري لكل سـلالة في 9 مل من الماء الفسـيولوجي، في أنابيب تجريبية معقمة باسـتخدام مسـتعمرات جديدة عمرها من 18 إلى 24 سـاعة. يجب أن يكون تعتيم هذا المعلق معادلاً لـــ 0.5 McFarland، ما يعادل كثافة بصـرية بين 0.08 – 0.1 عند 625 نانومتر. يمكن تعديلها بإضـافة الكثافة إذا كانت ضعيفة جدًا، أو بإضافة الماء الفسيولوجي إذا كانت قوية جدًا.

- **تحضير الآبار**

تم تحضير الآبار بقطر 6 مم باستخدام أنابيب معقمة، وتم ملؤها بكل مستخلص عند تخفيفات مختلفة. كما تم ملء بعض الآبار بـDMSO كعينة سالبة.



الوثيقة 09: تحضير أوساط الزرع البكتيري

- **التلقيح**

تم تلقيح أطباق بتري المعقمة سـابقًا بواسـطة المسـحة القطنية، باسـتخدام المعلق البكتيري المحضـر حديثًا. لا يجب اســتخدام المعلق بعد مرور أكثر من 15 دقيقة لأن التركيز قد يزيد بســبب نمو البكتيريا. يتم غمر المســحة القطنية المعقمة في المعلق البكتيري، ثم يتم عصــرها بإحكام على الجدار الداخلي للأنبوب لتفريغها قدر الإمكان، ثم يتم مســحها على كامل ســطح الهلام في خطوط متقاربة، أربع مرات، مع تدوير الطبق بحوالي 60° بعد كل تطبيق. في حال تلقيح عدة أطباق بتري، يتم إعادة تحميل نفس المســحة في كل مرة.

بعد ذلك، باستخدام ملقط معقم، يتم وضـع الآبار المحتوية على المستخلصـات المراد اختبارها بلطف على سـطح الهلام. يجب توزيع الآبار بشـكل متسـاوٍ لتجنب تداخل مناطق التثبيط حول الآبار وضـمان قياس منطقة التثبيط بدقة. وأخيرًا، تُغلق الأطباق بإحكام وتوضع مقلوبة في الحاضنة عند 37 °C لمدة 24 ساعة.

- **عرض النتائج**

يتم قراءة النتائج من خلال قياس منطقة التثبيط التي تظهر كحلقة حول البئر حيث لا تُلاحظ أي نمو ميكروبي.

الوثيقة 10: خطوات بروتوكول تجريبي للنشاطية المضادة للبكتيريا

2.8.II. اختبار التخفيف الدقيق في السوائل (Broth Microdilution Assay)

تعتبر طريقة اختبار التخفيف الدقيق في الســـوائل طريقة موحدة لتحديد تركيز الحد الأدنى للتثبيط (MIC) وتركيز الحد الأدنى للقتل البكتيري (MBC) لمســـتخلصـــات النبات ضـــد مجموعة متنوعة من البكتيريا.

- **التركيز المثبط الأدنى (MIC)**

- يعتبر التركيز المثبط الأدنى (MIC) هو أدنى تركيز للمســتخلص النباتي أو المركب الكيميائي الذي يمنع النمو المرئي للبكتيريا أو الفطريات في الاختبار *in vitro* .
- يتم تحديد قيمة MIC عن طريق إعداد سـلسـلة تخفيف للمسـتخلص الكيميائي ثم إضـافة مواد زرع (مثل الآغار أو الســـوائل)، ثم التلقيح بالبكتيريا أو الفطريات ومن ثم التحضـــين في درجة حرارة مناسبة.
- قيمة MIC تعتمد بشـــكل كبير على قدرة الميكروب على الاســـتجابة للمســـتخلص النباتي وفعاليته المضادة للميكروبات، ولكن هناك عوامل أخرى يمكن أن تؤثر على النتائج أيضًا.
- يتم تعبير قيمة MIC عادة بالميكروغرام لكل ميليلتر (µg/mL) أو بالمليغرام لكل لتر(mg/L).

- **التركيز القاتل الأدنى (MBC)**

- يعتبر التركيز القاتل الأدنى (MBC) هو أدنى تركيز للمسـتخلص النباتي أو المركب الكيميائي الذي يؤدي إلى موت البكتيريا.
- يتم تحديد قيمة MBC عن طريق تحديد عدم قدرة البكتيريا على النمو مرة أخرى بعد التعرض للتركيز القاتل للمستخلص النباتي.
- كلما كانت قيمة MIC أقرب إلى قيمة MBC، كان المستخلص النباتي أكثر فعالية في قتل البكتيريا.

يتم تنفيذ الاختبار وفقًا للمبادئ التوجيهية التي وضـــعتها معهد المعايير الســـريرية والمختبرية (CLSI)، الخطوات المتبعة في هذا الاختبار هي كالتالي (PA, 2002; Qaiyumi, 2007):

- **تحضير معلقات البكتيريا والخميرة**

يتم زراعة البكتيريا على وســـط مولر هينتون (MHA) ثم يتم تطعيمها في محلول مولر هينتون المعدل بالكاتيونات (MHB). يتم تكاثر البكتيريا حتى تصبح عكرة بصريًا ثم يتم تخفيفها لتصبح عكرة تعادل 0.5 ماكفارلاند (1.5×10^8 CFU/mL) باسـتخدام جهاز BioMerieux DensiCHEK Plus لأنظمة VITEK.

- **تحضير محلول مستخلص النبات**

يتم حل المستخلص في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) بتركيز 80 ملغ/مل، يتم تجانس المحلول عن طريق التقليب بالهزاز لمدة نصف دقيقة.

- **إعداد لوحة المايكروتيتر**

يتم إضافة 100 ميكرولتر من محلول مستخلص النبات إلى كل بئر. ثم يتم إضافة 50 ميكرولتر من معلق البكتيريا إلى كل بئر، يتم تضمين شاهد للنمو (بوجود البكتيريا وبدون مستخلص) وشاهد (MHB فقط) لجميع العزلات.

- **حضن وقراءة اللوحة**

توضع لوحة المايكروتيتر في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة. بعد الحضن يتم تحديد تركيز الحد الأدنى لمستخلص النبات الذي يثبط نمو البكتيريا ويعتبر MIC. بالملاحظة العينية المباشرة حيث ان نقاوة البئر تدل على تثبيط نمو البكتيريا عن طريق تأثير المستخلص وتعكر البئر يدل على تكاثر البكتيريا رغم وجود المستخلص النباتي.

- **تحديد التركيز**

يتم تحديد التركيز الحد الأدنى للقتل البكتيري (MBC by spot test method) بواسطة طريقة اختبار البقعة (Wayne, 2011; Suppi *et al.*, 2015).

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

I- النتائج والمناقشة

1. الدراسة الفيزيوكيميائية للمادة النباتية

تبين النتائج الموضحة في **الجدول 3** تحليل كيميائي لبعض العناصر الغذائية والكيميائية في جذور وأوراق وأزهار النبتتين الصباغ والحاد **(الملحق 01، 02، 03، 04 والملحق 05)** ويشمل نسب الرطوبة الألياف الخام، الآزوت، البروتينات، المواد الدهنية، الكربوهيدرات، المغنزيوم، الكالسيوم، الصوديوم والبوتاسيوم. يُعتمد في القياسات على طرق تحليل معتمدة مثل JOA، AOAC، ISO وDuboi.

الجدول 03: نسبة المكونات الكيميائية والغذائية في أجزاء النبتتين *C. monacontha* و *S. richteri* (تم اجراء هذه التجارب والحصول على نتائجها من مخبر التحاليل ومراقبة النوعية والمطابقة بحي 19 مارس – الوادي)

العنصر	جذور الصباغ	أوراق الصباغ	أزهار الصباغ	جذور الحاد	أوراق الحاد	المرجع
الرطوبة	%3.30	% 4.45	% 4.69	% 4.06	% 5.85	JOA N0 08/2013
ألياف خام	% 39.50	% 7.16	% 4.82	% 67.73	% 10.95	AOAC Method 978.10
آزوت	% 1.01	% 2.67	% 2.16	% 2.16	%1.46	Kjeldhal
بروتينات	%6.42	%17.00	%13.77	%6.41	%9.28	ISO 5983-2
مادة دهنية	%5.81	%6.12	%3.62	%5.76	%5.84	ISO 6492
كربوهيدرات	%6.12	% 12.64	%12.92	%9.41	%15.65	Duboi
مغنزيوم	%0.15	%1.29	%2.10	%1.02	%1.43	NA 752
كالسيوم	%0.95	%2.32	%2.75	%2.26	%3.99	NA 1655
صوديوم	%0.49	%1.60	%1.64	%0.26	%0.74	NA 1653
بوتاسيوم	%0.46	%3.42	%3.34	%0.62	%2.61	NA 1653

يظهر من **الجدول 3** أن نسبة الرطوبة تتراوح بين 3.30% في جذور الصباغ إلى 5.85% في أوراق الحاد، مما يشير إلى تفاوت في محتوى الماء بين الأجزاء المختلفة للنباتين. نسبة الألياف الخام كانت الأعلى في جذور الحاد بنسبة 67.73% والأدنى في أزهار الصباغ بنسبة 4.82%، مما يدل على أن جذور الحاد تحتوي على كمية كبيرة من الألياف الغذائية. أما بالنسبة للآزوت والبروتينات، فقد كانت أوراق الصباغ الأعلى بنسبة 2.67% و17.00% على التوالي، مما يشير إلى أن أوراق الصباغ غنية بالبروتينات.

في ما يتعلق بالمادة الدهنية، كانت النسبة تقريباً متقاربة في جميع الأجزاء حيث تراوحت بين 3.62% و6.12%. أما الكربوهيدرات، فقد كانت أوراق الحاد هي الأعلى بنسبة 15.65%. المعادن المختلفة مثل المغنزيوم والكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم أظهرت تفاوتاً ملحوظاً بين الأجزاء المختلفة للنباتين، حيث كانت أوراق الصباغ الأكثر غنى بالمغنزيوم والكالسيوم والبوتاسيوم يمكن أن نستنتج من هذا الجدول أن هناك اختلافات كبيرة في التركيب الكيميائي بين الأجزاء المختلفة للنباتين، مما يمكن أن يؤثر على استخداماتها المختلفة في المجالات الطبية والغذائية.

2. مردودية المستخلصات

يوضح **الجدول 4** مردود المستخلص الخام المائي لنباتي *S. richteri* و *C. monacontha*، حيث أظهرت النتائج أن الجذور أعلى نسبة استخلاص (34%)، بينما كانت الأوراق أقل نسبة استخلاص عند 13% بالنسبة لنبات *S. richteri*. ويعود ذلك إلى تموضع الجذور مما يجعلها أكثر كفاءة في استخلاص المركبات العضوية، حيث تعتبر الأعضاء التي تخزن وتنتج أكثر المركبات النشطة بيولوجيًا، مما يسهل استخراجها من النبات. يشير هذا إلى أن أعضاء النبات تلعب دورًا في كمية ونوعية المركبات الثانوية وطرق استخلاصها.

أما بالنسبة لنبات *C. monacontha* فأظهرت النتائج أن هنالك تقاربا كبيرا في هذه القيم حيث كانت نسبة مردود الأوراق 9 % بينما كانت نسبة المردود في الجذور 8 % ويعود هذا الاختلاف الطفيف إلى تركيز أكبر للمركبات القابلة للذوبان في الأوراق مقارنة بالجذور.

وجدت دراسات أخرى اختلافات بين الأوراق الفتية والناضجة للنباتات (Anwar *et al.*, 2017) وذكرت تقارير أخرى أن مردودية الاستخلاص تتأثر بعدة عوامل، بما في ذلك عمر النبات، نوع العضو النباتي، والممارسات الزراعية (García-Mier *et al.*, 2013).

الجدول 04: نسبة عائد المستخلصات في أجزاء النبات المختلفة

	نبات الصباغ			نبات الحاد الشوكي	
نوع المستخلص	أزهار SRF	أوراق SRL	جذور SRR	أوراق CML	جذور CMR
نسبة عائد المستخلصات %	% 22	% 13	% 34	% 9	% 8

3. الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات النباتية المدروسة

1.3. الكشف الكيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوية

يظهر **الجدول 5** نتائج الفحوصات الفيتوكيميائية لمستخلصات الجذور والأوراق لـ *C. monacantha* و *S. richteri*. أظهرت النتائج وجود الفلافونويدات، الفينولات، التربينويدات، والقلويدات في مستخلصات الجذور والأوراق من *C. monacantha*، مما يتماشى مع الدراسة التي أجريتها مريم وآخرون (Boussadia *et al.*, 2024) وعاشور والسويط (Ashour, 2019)، الذين حددوا أيضًا الستيرولات و/أو التريتيربينات، الصابونين، التانينات، والفلافونويدات و الكومارينات ومع ذلك، على عكس دراستنا، تم لم يتم العثور على القلويدات في هذه الدراسات في الأجزاء الهوائية من *C. monacantha* . كشفت دراسة فيتوكيميائية عن *C. monacantha* التي تم جمعها عن مركبات فيتوكيميائية مماثلة، بما في ذلك الفلافونويدات، التربينات، الستيرولات، والصابونين (Salah *et al.*, 2018). يشير هذا التكوين، الغني بشكل خاص بمركبات الفلافونويد، إلى أن النبات قد يمتلك أنشطة بيولوجية هامة مثل مضادات الأكسدة، مضادات الالتهاب، وخصائص الشفاء من الجروح (Osonga *et al.*, 2019; Mssillou *et al.*, 2022; Alshehri, *et al.*,2021).

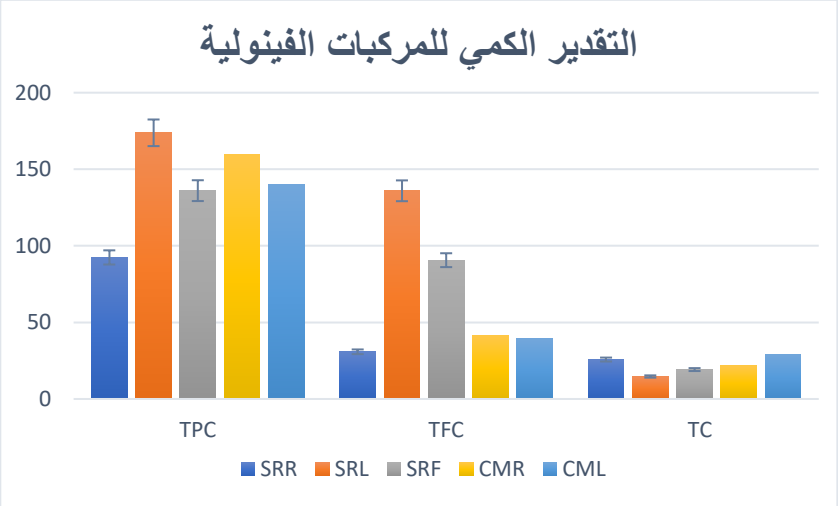
أما بالنسبة لـ*S. richteri*، فقد أظهرت النتائج وجود الفلافونويدات، الفينولات، والتربينويدات في مستخلصات الجذور والأوراق والأزهار، بينما كانت القلويدات غائبة فقط في مستخلص الجذور. على الرغم من عدم وجود دراسات سابقة محددة حول *S. richteri*، فإن التركيب الكيميائي المشابه للنباتات الأخرى في نفس الفصيلة يشير إلى أن *Salsola richteri* قد يمتلك أيضًا خصائص بيولوجية مشابهة.

الجدول 05: التحليل الفيتوكيميائي لمستخلصات أجزاء النبتتين *C.monacantha* و *S. richteri*.

الاختبار / المستخلصات	الفلافونيدات	الفينولات	التربينويدات	القلويدات
مستخلص الجذور (CMR) Cornulaca monacantha	+	+	+	+
مستخلص الأوراق (CML) Cornulaca monacantha	+	+	+	+
مستخلص الجذور (SRR) *Salsola richteri*	+	+	+	-
مستخلص الأوراق (SRL) *Salsola richteri*	+	+	+	+
مستخلص الأزهار (SRF) *Salsola richteri*	+	+	+	+

2.3.التقدير الكمي لعديدات الفينول، الفلافونيدات والتانينات

يظهر **الشكل 15** القيم المختلفة للمحتوى الفينولي الكلي (TPC)، المحتوى الفلافونويدي الكلي (TFC)، والمحتوى التانيكي الكلي (TC) لمستخلصات نباتات *S. richteri* و *C. monacantha*. بالنسبة لمستخلصات *S. richteri*، يتراوح المحتوى الفينولي الكلي (TPC) من 92.43 إلى 173.79 mg GAE/g، والمحتوى الفلافونويدي الكلي (TFC) من 30.81 إلى 135.93 mg QE/g، والمحتوى التانيني الكلي (TC) من 14.67 إلى 25.75 mg CAE/g. أما بالنسبة لمستخلصات C. monacantha، يتراوح المحتوى الفينولي الكلي (TPC) من 139.96 إلى 159.53 mg GAE/g، والمحتوى الفلافونويدي الكلي (TFC) من 39.20 إلى 41.40 mg QE/g، والمحتوى التانيني الكلي (TC) من 21.54 إلى 29.04 mg CAE/g. بشكل عام، تبين أن مستخلصات الأوراق تحتوي على أعلى قيم للمحتويات الفينولية والفلافونويدية.



الشكل 15: التقدير الكمي للمركبات الفينولية للمستخلص المائي لأجزاء نبات *C. Monacantha* و*Salsola Richteri*

مقارنة بمستخلصات الجذور والأزهار تتراوح قيم الفلافونويدات بين 13.5 إلى 20 mg/g في المستخلص الميثانولي لنبات *S. richteri* كما أورده Abbas *et al.*, (2021). كشفت النتائج أن أعلى محتوى من الفينولات كان موجودًا في مستخلصات الأوراق، يليه مستخلصات الزهور والجذور، مما يشير إلى أن الأجزاء الهوائية من النبات أكثر تعرضًا للضغوط البيئية مثل الحرارة والرطوبة وأشعة الشمس والرياح وهجمات الكائنات الدقيقة. وهذا يشير إلى أن الأوراق هي مركز تكوين المستقلبات الثانوية قبل أن تنتقل هذه المركبات إلى الجذور النتائج أظهرت أيضًا أن مستخلصات *Salsola Richteri* تحتوي على كمية كبيرة من التانينات، تتراوح من 14.69 إلى 25.75 ملغ/غ، مقارنةً بالنتائج التي توصلت إليها (Maryana, Rahman et Liew, 2019)، التي وجدت في أوراق *Hibiscus cannabinus*، حيث كانت أعلى نسبة في مستخلصات

الجذور (25.75 ملغ/غ)، تليها مستخلصات الزهور والأوراق. وقد تم تفسير هذا التفاوت في المحتوى بواسطة (Igual *et al.*, 2011; Maryana, Rahman et Liew, 2019) الذين لاحظوا أنه يعود إلى وظيفة كل عضو نباتي محدد، حيث تكون الجذور موقع تراكم وتخزين التانينات، بينما الأجزاء الهوائية تعمل كمركز لإنتاج ونقل المركبات إلى أجزاء النبات الأخرى (Boulaaba *et al.*, 2019).

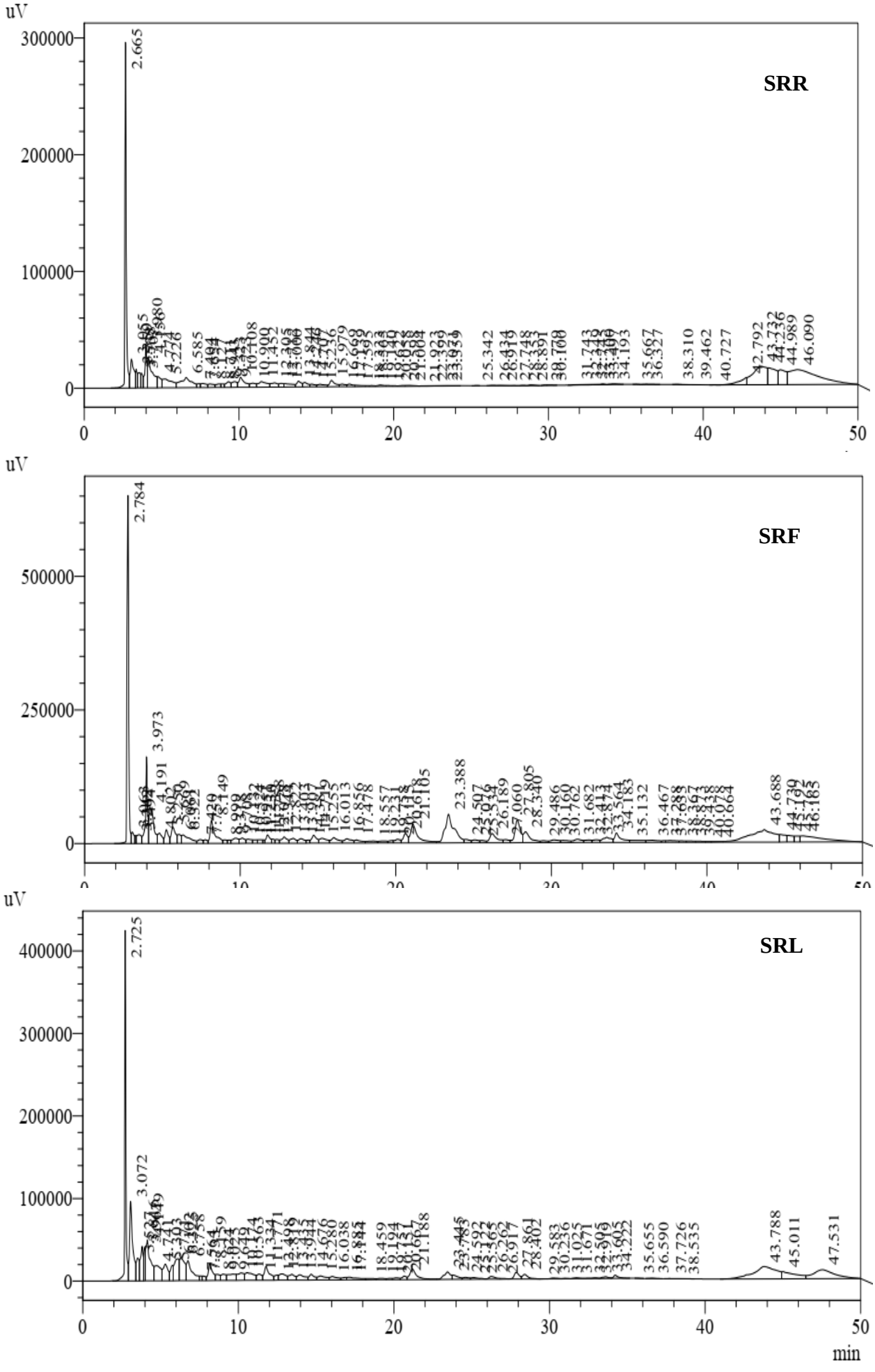
وهذا يتماشى مع نتائج أخرى تشير إلى أن النبات يحتوي على مركبات ذات مجموعات وظيفية كربوكسيلية، مسؤولة عن النشاط المضاد للأكسدة والنشاط البيولوجي، بينما تعمل أيضًا كمبيدات حشرية وتساعد في تقليل بعض المشاكل الصحية البشرية. النبات يساهم في امتصاص العناصر الغذائية من خلال المساعدة في تمعدن وتفتيت المعادن في التربة إلى أشكال قابلة للامتصاص (Um, Han et Lee, 2017; Chen *et al.*, 2020)

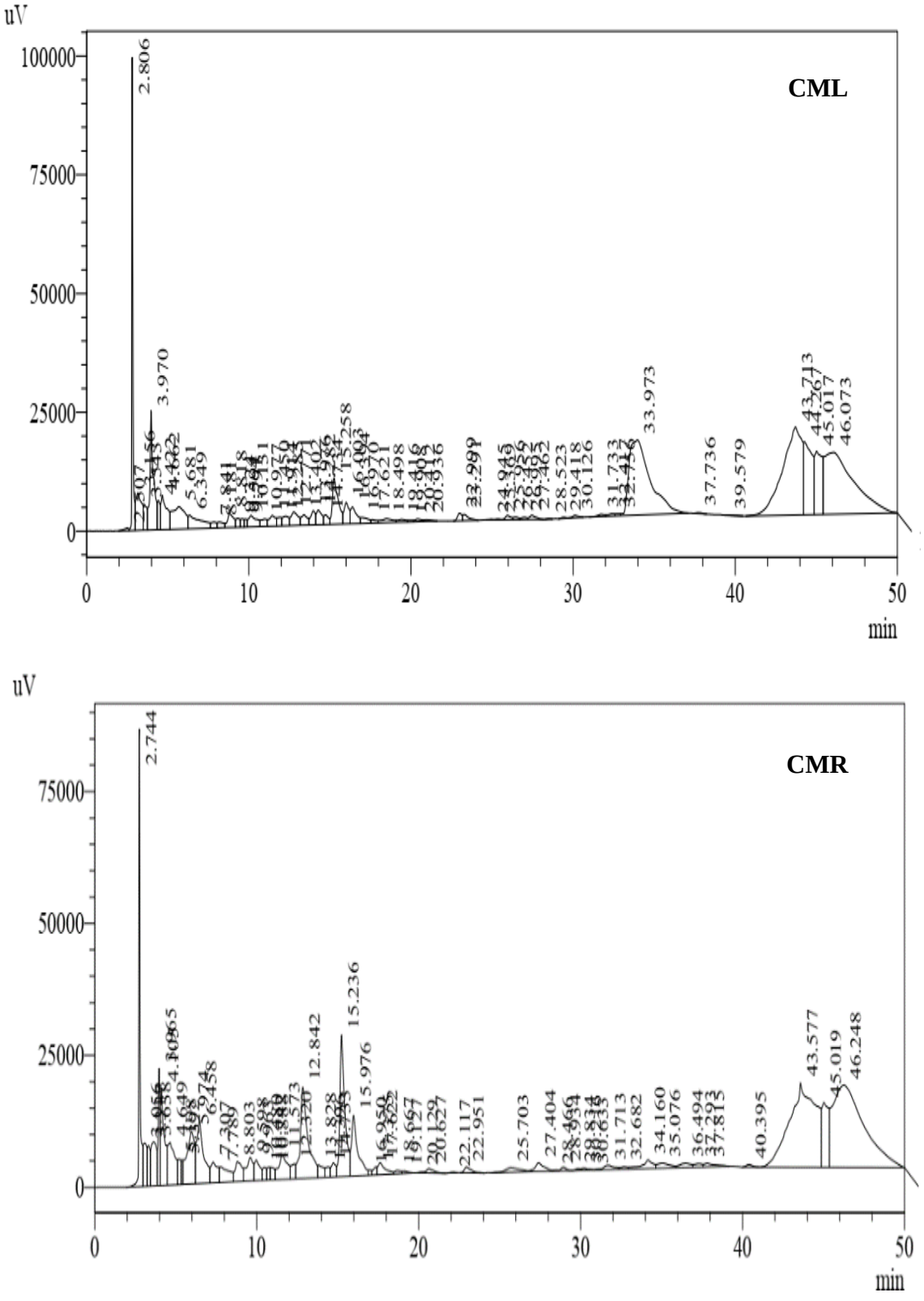
Salsola Richteri غني بالمركبات الثانوية مقارنةً بـ *Salsola Kali*. (Boulaaba *et al.*, 2019) أفادوا بأن محتواه كان الأعلى بين خمس مناطق في تونس من حيث البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات، بمستويات 17.23، 15.282، و 2.03 ملغ/غ، على التوالي. من ناحية أخرى، Nizar (2023) سجل مستويات 46.55، 13.17، و 11.23% لـ *Salsola Tetragonia*، بما يتوافق مع (Lisiewska, Boulaaba et al Kmiecik et Korus, 2006; Boulaaba *et al.*, 2019). و لـ *Salsola Kali*. البوليفينولات تلعب دورًا حيويًا في حماية الأعضاء التركيبية الضوئية من خلال تقليل الأكسجين النشط الناتج أثناء التمثيل الضوئ (Naczk et Shahidi, 2004). أظهرا أن المركبات الفينولية تتراكم في النباتات التي تعيش تحت ظروف قاسية، بينما (Sokolowska-Krzaczek, Skalicka-Wozniak and Czubkowska, 2009) أكدا أن أنواع Salsola تنمو بسهولة في التربة الجافة ويمكن أن تتحمل تقلبات درجة الحموضة والمناخات القاسية. بالإضافة إلى ذلك (Dixon et Paiva, 1995)، لاحظا أن وجود المستقلبات الثانوية في الجذور يساعد في امتصاص الحديد والنترات والفوسفور. كما نجد بالنسبة لنبات C. monacantha حيث سُجِل محتويات الفينولات والفلافونويدات الكلية في الأجزاء الهوائية من نبات C. monacantha 64.03 ± 0.04 ملغ مكافئ جالليك/غرام مستخلص و 6.82 ± 0.04 ملغ مكافئ كيرسيتين/غرام مستخلص جاف على التوالي (Boussadia *et al.*, 2024)، كما أبلغ جهرة وآخرون (Salah *et al.*, 2018) ، حيث سجلوا محتوى فينول كلي بلغ 31.33 ملغ مكافئ جالليك/غرام مستخلص في نبات *C. monacantha* المُجمع في الوادي.

4. التحليل الكروماتوغرافي للمستخلصات الخام باستعمال الـHPLC

تم إجراء التحليل النوعي للمستخلصات الخام باستخدام جهازHPLC، حيث تعرض المنحنيات الكروماتوغرافية في الشكل العدد الإجمالي بالإضافة إلى نوع وكمية المركبات الفينولية الموجودة في كل مستخلص، تم تحديد تراكيز بعض هذه المركبات اعتمادًا على زمن الاحتجاز (Retention Time) لكل مركب.

تم استخدام المركبات الفينولية Gallic Acid وChlorogenic Acid و Vanilic Acidو Caffeic Acid و Vanillin و p-Coumaric Acid و Naringin و Quercetin ، *Cornulaca monacantha* و*Salsola richteri* كمعايير في تحليل المستخلصات النباتية.


uV
SRR
2.665
uV
SRF
2.784
3.973
uV
SRL
2.725
3.072
min



الشكل 16: المنحنيات الكروماتوغرافية للمركبات الفينولية في المستخلصات الخام للنباتات المدروسة

الجدول 06: تراكيز المركبات الفينولية المعروفة في المستخلصات المدروسة

التركيز (µg/g)					
Cornulaca monacantha		*Salsola richteri*			المستخلصات / المركبات الفينولية
الأوراق CML	الجذور CMR	الأوراق SRL	الأزهار SRF	الجذور SRR	
950.2387	241.8354	1640.438	1509.892	1195.71	**Gallic Acid**
529.2592	-	1760.812	2059.709	932.9425	**Chlorogenic Acid**
745.3355	1755.066	550.0038	903.8216	223.8456	**Vanilic Acid**
213.0088	-	328.1945	699.6645	127.7187	**Caffiec Acid**
-	90.9961	1340.859	3839.036	88.91227	**Vanilin**
131.5204	134.2681	527.5361	8751.7	69.78887	**p-Comaric Acid**
16.03894	21.29051	1008.272	4446.084	43.83883	**Rutin**
14832.51	-	850.8076	5263.192	-	**Naringin**
1862.74	1558.055	2385.892	1558.055	-	**Quercetin**

أظهرت النتائج الواردة في **الجدول 6** تباينًا ملحوظًا في تركيز هذه المركبات بين أجزاء النباتين المختلفة. في أوراق *C. monacantha* ، كانت تركيزات Gallic Acid ، Naringin و Quercetin مرتفعة بشكل ملحوظ، في حين كانت تركيزات المركبات الفينولية الأخرى مثل Vanillin و Rutin أقل في الجذور. أما في نبات *Salsola richteri*، فقد أظهرت أوراقه وأزهاره تركيزات عالية من Chlorogenic Acid، Vanillin وp-Coumaric Acid ، مما يشير إلى غنى هذه الأجزاء بالمركبات الفينولية. كما لوحظ غياب بعض المركبات مثل Vanillin في أوراق *C. monacantha* وغياب الـ Naringin و الـ Quercetin في جذور *S. richteri* ، كما نلاحظ غياب Caffiec Acid، Naringin، Chlorogenic Acid. في جذور *C. monacantha*، مما يعكس تباين التوزيع الفينولي بين النباتين وأجزائهما المختلفة.

تلقى التركيب الكيميائي لـ *C. monacantha* و*S. richteri* اهتمامًا محدودًا، مما أدى إلى معرفة محدودة بمكوناتهم الكيميائية النباتية. أظهرت الأبحاث السابقة وجود مجموعة من المركبات النشطة البيولوجياً المستمدة من *C. monancantha* المجمعة من مناطق مختلفة. تم اكتشاف ستة فلافونويدات، بما في ذلك مشتقات من الكيرسيتين واللوتيولين (Kandil et Hussieny, 1998; Kandil et Grace, 2001) ومشتقات من الغالوتانين، بما في ذلك monacanthin A - monacanthin B في *C. monacantha* (Kandil et Grace, 2001) المجمعة من مصر. بالإضافة إلى ذلك، تم العثور vanillic acid, N-cis-feruloyltyramine, N-trans-feruloyltyramine في *C. monacantha* المجمعة من تونس (Mhiri et *al.*, 2020).

تم اجراء دراسات لتوضيح التركيب الفيتوكيميائي للعديد من النباتات التي تنتمي إلى جنس Salsola .في دراسة أجرتها (Iannuzzi *et al.*, 2020)، تم التحليل الكروماتوغرافي للأعشاب وجذور نبات *Salsola kali* L. باستخدام تقنيات TLC ثنائية الأبعاد وHPLC، وتم تحديد عدة أحماض فينولية من بينها caffeic, gentisic, protocatechuic, p-hydroxybenzoic, p-coumaric, ferulic, vanillic كما تم تحديد أحماض الـ p-coumaric, ferulic , في المستخلص الكحولي لنبات ا لـ *Salsola collina* .(Xiang *et al.*, 2007)

معظم هذه المكونات لها قيمة دوائية معروفة وتمت دراسة الأنشطة البيولوجية للمركبات الفينولية بشكل واسع ، على سبيل المثال الحمض الغاليك يمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومكافحة الجذور الحرة في استمرار تكاثر الخلايا الدهنية (Devi et Mittal, 2023) ويتمتع بأنشطة موثقة مثل العلاج المضاد للسرطان، والمضاد للبكتيريا، والمضاد للالتهابات، والمضاد للفطريات (Tan *et al.*, 2022; Gong *et al.*, 2023). أظهر حمض الكافييك تأثيرات تشابه الفعالية المضادة للاكتئاب، والتي تتضمن أنظمة الناقلات العصبية الهامة (Monteiro *et al.*, 2020). يعزز حمض البارا-كوماريك أكسدة الأحماض الدهنية في الكبد وإفراز الدهون في البراز، كما يؤثر على الأديبوكينات المتعلقة بالالتهابات ومقاومة الأنسولين. بالإضافة إلى ذلك، يحفز حمض البارا-كوماريك عوامل كهربائية في الأغشية البيولوجية والنموذجية للدهون (Naumowicz *et al.*, 2019). باستناد إلى هذه النتائج، يمكن أن تكون المستخلصات من *C. monacantha* و *S. richteri* مصدرًا غنيًا بالمركبات الفينولية، مما يبرز أهمية دراسات المستقبلية لفهم الاستخدامات العلاجية المحتملة أو الفوائد الصحية لهذه النباتات.

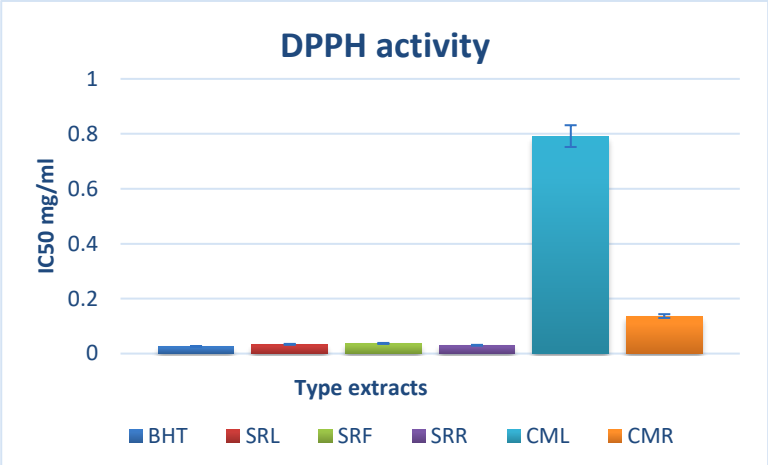
5. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

1.5. اختبار الجذر الحر DPPH•

جذر DPPH هو جذر حر مستقر يتميز بلونه الأرجواني الذي يتحول إلى اللون الأصفر عند قبول إلكترون أو بروتون من مركب مضاد للأكسدة، مصحوباً بانخفاض في الامتصاص عند 517 نانومتر(Mishra, Ojha et Chaudhury, 2012).

تم قياس النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH لمستخلصات الأوراق، الأزهار، والجذور من نباتات *C. monacantha* و*S. richteri*، مع استخدام مركب BHT كمقياس مرجعي لمضادات الأكسدة. تم التعبير عن النشاط المضاد للأكسدة بواسطة قيم IC_{50} (ملغ/مل)، حيث تشير القاعدة إلى أنه كلما كانت قيمة IC_{50} أقل، كانت النشاطية المضادة للأكسدة أعلى (Noto *et al.*, 2016).

تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات جذور، أوراق، وأزهار *S. richteri* بحوالي 30، 36، و33 ميكروغرام/مل على التوالي في حين بلغ نشاط BHT حوالي 26 ميكروغرام/مل. بالنسبة لنبات *C. monacantha*، تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة لجذوره وأوراقه بحوالي 136 و791 ميكروغرام/مل على التوالي، في حين بلغ نشاط BHT حوالي 26 ميكروغرام/مل **الشكل 17**. مما نلاحظ على تثبيط الجذور الحرة DPPH• كانت أقل فعالية مقارنة بـ BHT، ولكن نشاط مستخلصات *S. richteri* كانت قريبة جدا من نشاط الـBHT.



الشكل 17: DPPH للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و*S. richteri*

في دراسة قام بها (Mhiri *et al.*, 2020) على المستخلص الميثانولي لنبات *C. monacantha* نجد أن المستخلص يمتلك نشاطية مضادة للأكسدة مثبطة لجذر DPPH مقدرة بـ 0.08مغ/مل مقارنة بالشاهد فيتامين E الذي أبدى نشاطية مثبطة مقدرة بـ 0.019 مغ/مل.

أشار (Akopian *et al.*, 2020) إلى أن *S. richteri* تحتوي على القلويدات سالسولين وسالسولودين، التي تمثل 50٪ من المحتوى النشط الكلي للنبات، وهذه المركبات تسهم بشكل كبير في النشاط المضاد للأكسدة. علاوة على ذلك، انخفض محتوى القلويدات في الأزهار وزاد في الجذور. أظهرت النتائج أن مستخلصات هذا النبات تمتلك قدرة عالية جدًا على جمع الجذور الحرة، مما يفوق ما وجده (Cherrada *et al.*, 2023) في *Salsola Tetragona* (478.3 ± 0.66) ، و (Mohammed et *al.*, 2021) في المستخلص الميثانولي لـ *Salsola Cyclophylla* (1350 ± 0.16) و (Amin *et al.*, 2022) في المستخلص الميثانولي لـ *Salsola villosa* (1050 ميكروغرام/مل). وذكر (Abdelgawad et Elazab, 2023) أن المستخلصات الميثانولية لـ *Salsola Kali* كان لها قيم IC_{50} بلغت 8064 ± 4.53.

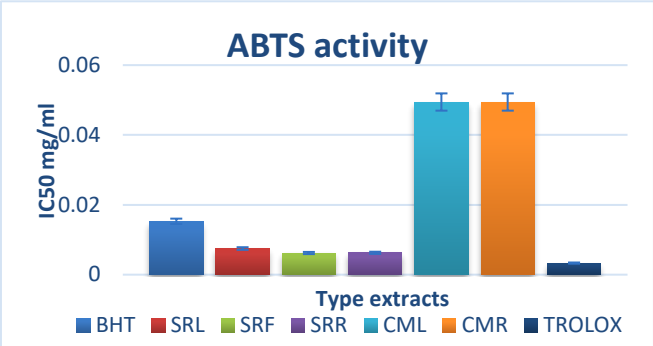
يمكن أن يُعزى ارتفاع النشاط المضاد للأكسدة بشكل عام في مستخلصات الجذور، مع قوة اختزال أكبر ونشاط جمع الجذور الحرة الأكثر قوة مقارنة بالأوراق والأزهار، إلى وجود مركبات مضادة للأكسدة قوية مثل المركبات الفينولية والفلافونويدية (Liazid *et al.*, 2007; Magalhães *et al.*, 2009) يؤثر عدد مجموعات الهيدروكسيل الفينولية ومواقعها بقوة على النشاط المضاد للأكسدة العالي(Rodríguez-Bonilla *et al.*, 2017)، حيث يمكن لهذه المركبات أن تتبرع بذرة هيدروجين لجذر الـDPPH ، مما يشكل جزيئًا غير جذري (Ak et Gülçin, 2008).

2.5. إختبار الكسح الجذري ABTS

قدرت نشاطية المستخلصات على إزالة جذر ABTS عبر إرجاع هذا الجذر ذي اللون الأزرق المخضر إلى عديم اللون. يُعتبر هذا الجذر فعالًا تجاه معظم المركبات المضادة للأكسدة، كما أنه يذوب في كل من المذيبات العضوية والمائية. لذلك يمكن استعماله لتقدير نشاطية كل من مضادات الأكسدة التي تذوب في الماء والدهون. تُعد هذه الطريقة ثاني أكثر الطرق استخدامًا في القياس اللوني بعدDPPH (Çelik *et al.*, 2010)

يظهر **الشكل 18** أن أوراق *S. richteri* سجلت قيمة IC50 بلغت 7.49 ملغ/مل، في حين سجلت أزهار *S. richteri* وجذورها قيمًا بلغت 6.20 ملغ/مل و 6.26 ملغ/مل على التوالي، هذه النتائج تشير إلى قدرة مضادة للأكسدة متقاربة بين أجزاء *S. Richteri* بالمقابل، أظهرت أوراق *C. monacantha* وجذورها قدرة مضادة للأكسدة أعلى بكثير حيث سجلت كل منها قيمة IC50 بلغت 49.44 ملغ/مل، مما يشير إلى فعالية أقل في تثبيط الجذور الحرة مقارنة بمستخلصات *S. richteri* .

عند مقارنة هذه النتائج بالمعايير المرجعية مثل BHT و TROLOX، والتي سجلت قيم IC50 بلغت 15.28 ملغ/مل و 3.32 ملغ/مل على التوالي، يتضح أن مستخلصات أوراق وجذورو أزهار *S. richteri* تتمتع بقدرة مضادة للأكسدة أكبر من BHT وأقل قليلا من TROLOX.



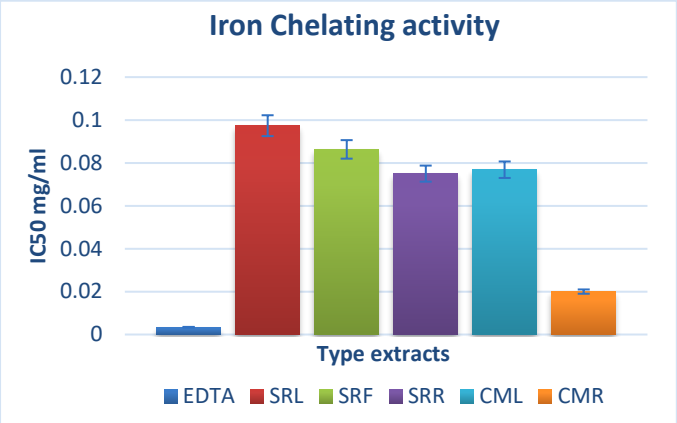
الشكل 18: ABTS للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri*

أما النتائج المتحصل عليها من طرف (Bouajila et Jannet, 2017) التي أجريت على جذور مستخلص نبات *S. imbricata* فقد أظهرت أن قيمة تثبيط جذر ABTS بالمستخلص بلغت 0.0951 ملغ/مل، مقارنة مع الشاهد فيتامين C الذي سجل نشاطية أفضل قدرت بـ 0.0224 ملغ/مل. أظهرت دراسات على المستخلص الإيثانولي لنبات *Aerva Javanica* من نفس العائلة أن قيمة IC50 قدرت بـ 3.21 ± 0.1 ملغ/مل، مما يشير إلى أن المستخلص يملك قدرة مضادة لجذر ABTS عالية مقارنة مع مستخلص Hexane ومستخلص Chloroform التي قدرت قيمتهما على التوالي بـ 6.21 ± 0.3 ملغ/مل، و4.45 ± 0.4 ملغ/مل (Malini *et al.*, 2022). توصل Muniz-Marquez وزملاؤه (2014) في نتائج دراستهم التي أجريت على نبتة *Amaranthus graecizans* من نفس العائلة إلى أن التأثير الكسحي لجذر ABTS قدر بـ 14.96 ± 4.93 ملغ/مل.

3.5. إستخلاب الحديد

الاختبار يستخدم لتقييم القدرة الاستقلابية لمستخلص معين عن طريق استخدام Ferrozine. يتكون مركب (+) Ferrozine-Fe_2+ ذو اللون الأحمر عندما يتفاعل مع أيونات الحديد الثنائي (Fe_2+). يمكن قياس تغير في شدة اللون بعد إضافة المستخلص، و هذا يعكس نشاط الجزيئات المضادة للأكسدة بالمنافسة على الرابطة مع أيونات الحديد الثنائي Fe_2+ والتي تعتبر مؤشراً على قدرة المستخلص على إزالة الجذور الحرة والمساهمة في الوقاية من التأكسد (Bristi et Rafiquzzaman, 2013).

تُظهر النتائج الموضحة في **الشكل 22** أن قدرة استخلاب الحديد في مستخلص جذور *C. monacantha* كانت أعلى من تلك الموجودة في مستخلص أوراقها و في مستخلصات الأوراق والأزهار والجذور من نبتة *S. richteri*، ولكنها كانت أقل من المركب المرجعي EDTA.



الشكل 19 : استخلاب الحديد للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ *C. Monacantha* و *S. richteri*

أظهرت دراسة (Boulaaba *et al.*, 2019) أن قدرة استخلاب الحديد من قبل المستخلص الفينولي لأوراق نبات *S. kali* كانت 5.58 مغ/مل، في حين أن EDTA أظهرت أعلى قيمة بـ 0.03 مغ/مل كقيمة IC50 تملك *S. Kali* 9.77 مغ مكافئ كاتشين/غ من الوزن الجاف من الفلافونويدات و 11.90 مغ مكافئ حمض الغاليك/غ من الوزن الجاف كإجمالي لعديدات الفينول، إلا أن قدرتها الضعيفة على استخلاب الحديد تشير إلى عدم وجود توافق بين محتوى المستخلص من عديدات الفينول والفلافونويدات وقدرته على استخلاب الحديد، نتيجة لعدم توفر المجاميع الوظيفية الضرورية لهذا الغرض (Van Acker *et al.*, 1996)، على الرغم من أن دراسات سابقة أثبتت أن عديدات الفينول تعتبر مستخلبة للمعادن (Banjarnahor et Artanti, 2014).

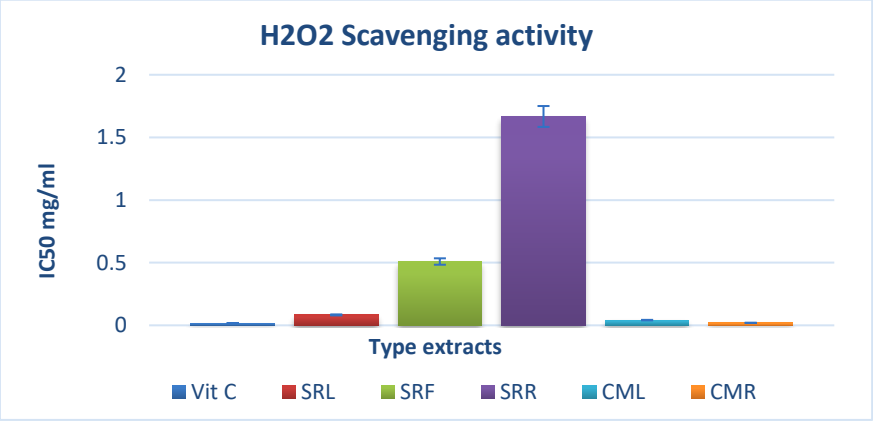
أظهرت دراسة Chen وآخرون (2022) على المستخلص الميثانولي لنبات *Amaranthus viridis*، الذي ينتمي لعائلة Amaranthaceae، قدرة استخلاب تقدر بـ 8.46 مغ/مل في حالة النيتروجين المنخفض، مقارنة بـ EDTA الذي سجل قدرة استخلاب 0.17 مغ/مل. هذا يفسر ضعف استخلاب *مستخلص S. richteri*، إلا أنه يحتوي على جزيئات قادرة على التبرع بالإلكترونات للجذور الحرة، مما يؤدي إلى تحويلها إلى منتجات ذات استقرارية أعلى، وبالتالي ينهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة المحفزة لأكسدة الليبيدات.

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة أخرى قام بها Meltem وآخرون (2015) على المستخلص المائي لنبات *Petrosimonia nigdeensis* من نفس العائلة أن قيمة IC_{50} للمستخلص كانت 98.88٪، مما يشير إلى قدرته العالية على استخلاب الحديد مقارنةً بـ BHA، BHT، Trolox، الفيتامين C، وEDTA.

4.5. النشاط الازاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2

تم إنتاج جذور بيروكسيد الهيدروجين داخل الخلايا بوجود أيونات المعادن، خاصة الحديد والنحاس، وهو يلعب دوراً في إنتاج الجذور الحرة التي ترتبط بعدة أمراض. كما يمتلك القدرة على التسلل عبر الأغشية (Benmeziane, 2017) ، تعتبر قيمة النشاط الإزاحي لهذه الجذور أمراً هاماً لتقدير نشاطية المستخلصات النباتية بشكل عالٍ للأكسدة (Azantsa *et al.*, 2019)

يوضح **الشكل 20** نتائج IC_{50} لاختبار القدرة على إزاحة جذر بيروكسيد الهيدروجين لمستخلصات نبات*C. monacantha* و *S. richteri*، وفيتامين C. أظهر مستخلص أوراق *S. richteri* فعالية جيدة بقيمة0.83 مغ/مل ، بينما مستخلص أزهارها أقل فعالية بقيمة 0.509 مغ/مل ، ومستخلص الجذوراظهر فعالية ضعيفة بقيمة 1.66 مغ/مل. في المقابل، كانت أوراق *C. monacantha* أكثر فعالية من جذورها بقيم IC_{50} تساوي 0.041 مغ/مل و0.020 مغ/مل على التوالي. أظهر فيتامين C قيمة IC_{50} تساوي، مما يعزز دوره المعروف كمضاد أكسدة قوي. بالمقارنة، تظهر المستخلصات من أوراق وجذور *C. monacantha* وأوراق *S. richteri*



الشكل 20: النشاط الازاحي لجذر بيروكسيد الهيدروجين للأجزاء للمستخلصات النباتية لـ C. Monacantha و*S. richteri*

أظهرت نتائج دراسة أجراها كل من (Chaudhari et Kharat, 2022) على مستخلص نبات *Celoria agentea* من نفس العائلة النباتية في اختبار إزاحة جذر بيروكسيد الهيدروجين أن قيمة IC50 بلغت 0.0292 ملغ/مل، مما يشير إلى قدرة جيدة للمستخلص على الإزاحة مقارنة مع الفيتامين سي الذي بلغت قيمته 0.0291 ملغ/مل. وأيضًا، أظهرت النتائج التي توصل إليها Andov وزملاؤه (Andov *et al.*, 2015) في نفس الاختبار على مستخلص نبات *Chenopodium botrys* من نفس العائلة أن قيمة IC50 بلغت 46.56% مقارنة مع الكيرسيتين الذي بلغت قيمته 64.8%. في الدراسة التي أجراها Asan- (Asan-

Ozusaglam *et al.*, 2015) على أوراق وثمار نبات *S. stenoptera* ، تبين أن المستخلص المائي يمتلك قدرة تثبيط لـH2O2بنسبة 82.84%، بينما كانت نسبة تثبيط فيتامين C لـ H2O2 تبلغ 86.17%. سجلت نسبة تثبيط جذر بيروكسيد الهيدروجين 36.20% مقارنة بالشاهد الموجب Quercetin الذي سجل نسبة تثبيط بلغت 64.89%، وذلك في الدراسة التي قام بها Adji Andov وآخرون (Adji *et al.*, 2015) على المستخلص الميثانولي لنبات *Chenopodium botrys L* من عائلة Amaranthaceae.

6. الفعالية المضادة للبكتيريا

تم اختبار النشاطية المضادة للبكتيريا لكل من جذور (SRR) اوراق (SRL) وازهار (SRF) لنبات *Salsola Richteri* وجذور (CMR) اوراق (CML) لنبات *Cornulaca monacontha* ايضا، ضد بكتيريا قياسية موجبة و سالبة الغرام *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 و*Staphylococcus aureus* ATCC 25932 و *Bacillus subtilis* ATCC 25973 و قياس النشاطية المضادة للفطريات باستعمال فطر الخميرة *Candida albicans* ATCC 10231 ، باستخدام طريق انتشار الحفر على الآغار الصلب وايضا طريقة البحث عن اقل تركيز مثبط MIC و قاتل MBC لمختلف المستخلصات ضد الانواع المذكورة على الواح 96 حفرة في المرق المغذي.

1.6. طريق انتشار الحفر

الجدول 07: نتائج دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا والفطريات لمختلف مستخلصات نبات *S. Richteri* و*C. monacontha* (تم اجراء هذه التجارب والحصول على نتائجها من مخبر المجد بحي الشط – الوادي)

الاحياء الدقيقة	تركيزmg/ml	SRR	SRL	SRF	CMR	CML	GNT
		قياس الفاعلية المضادة للبكتيريا (مم)					شاهد
Escherichia coli ATCC 25922	120	NI	NI	15±0.5	NI	14±0.12	31±0.05
	60	NI	NI	9±0.05	NI	NI	
	30	NI	NI	NI	NI	NI	
	15	NI	NI	NI	NI	NI	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	120	11±0.5	13±0.5	14±0.8	NI	NI	30±0.02
	60	NI	NI	9±0.04	NI	NI	
	30	NI	NI	NI	NI	NI	
	15	NI	NI	NI	NI	NI	
Staphylococcus aureus ATCC 25932	120	13±0.5	12±0.5	22±0.01	NI	7±0.35	29±0.01
	60	8±0.5	9±0.5	17±0.02	NI	NI	
	30	NI	NI	NI	NI	NI	
	15	NI	NI	NI	NI	NI	
Bacillus subtilis ATCC 25973	120	NI	NI	20±0.12	NI	NI	24±0.02
	60	NI	NI	8±0.55	NI	NI	
	30	NI	NI	NI	NI	NI	
	15	NI	NI	NI	NI	NI	

قياس الفاعلية المضادة للفطر (مم)							
Candida albicans ATCC 10231	120	NI	NI	NI	NI	NI	/
	60	NI	NI	NI	NI	NI	
	30	NI	NI	NI	NI	NI	
	15	NI	NI	NI	NI	NI	

NI = لا يوجد تثبيط

CN = أقراص الجنتامايسين (CN) بتركيز 30 ميكروغرام

- **الجنتاميسين (Gentamicin)**: هو مضاد حيوي ينتمي إلى فئة الأمينوغليكوزيدات، ويُستخدم لعلاج العدوى البكتيرية الخطيرة التي تسببها البكتيريا الهوائية سالبة الجرام وبعض البكتيريا موجبة الجرام. يعمل عن طريق تثبيط تخليق البروتين في البكتيريا، مما يؤدي إلى القضاء عليها.

تظهر نتائج **الجدول 7 والملاحق 6، 7، 8، 9 و10** أن مستخلص الأزهار (SRF) يتمتع بفعالية أكبر ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli*، حيث يظهر تأثيرًا مثبطًا قويًا ضد *S. aureus* حتى عند التراكيز المنخفضة 22 ملم عند 120 mg/ml و17 ملم عند 60 mg/ml، بينما كان تأثير المستخلص على *E. coli* محدودًا 15 ملم عند 120 mg/ml ويختفي عند التراكيز المنخفضة. بالنسبة للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*، أظهرت مستخلصات الجذور (SRR) والأوراق (SRL) تأثيرًا مثبطًا عند تركيز 120 mg/ml (11 و13 ملم على التوالي)، بينما كان التأثير الأقوى للأزهار (SRF) بقطر تثبيط 14 ملم. بالمقابل لم تظهر مستخلصات نبات *Cornulaca monacontha* أي تأثير ملحوظ على *P. aeruginosa*. من ناحية اخرى أظهرت مستخلصات الأزهار (SRF) فقط تأثيرًا مثبطًا 20 ملم عند 120 mg/ml و8 ملم عند 60 mg/ml ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* ، في حين لم تظهر باقي المستخلصات أي تأثير. فيما يتعلق بالبكتيريا *Escherichia coli*، كانت مستخلصات الأزهار (SRF) هي الوحيدة التي أظهرت تأثيرًا مثبطًا وصل الى 15 ملم عند 120 mg/ml. بالمقارنة مع المضاد الحيوي الشاهد فكان تأثيره اعظمي ضد نمو جميع انواع البكتيريا مما يثبت حساسيتها وعدم مقاومتها للمركبات المضادة للبكتيريا كونها بكتيريا قياسية ومرجعية. من جهة اخرى لم يظهر أي من المستخلصات للنبتتين اي تأثيرًا على الفطر *Candida albicans*.

يمكن تفسير هذا الاختلاف في الفاعلية مستخلص (SRF) الذي اظهر فعالية أكبر ضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* مقارنةً بالبكتيريا سالبة الغرام *Escherichia coli* احتوائه على مركبات الأيض الثانوي التي تتفاعل مع البروتينات والإنزيمات في الخلايا البكتيرية، مما يؤدي إلى تعطيل وظائفها الحيوية وزيادة نفاذية الجدار الخلوي وبالتالي قتل البكتيريا. بالمقابل، تمتاز البكتيريا سالبة الغرام بوجود غشاء خارجي يعيق اختراق المركبات النشطة، مما يجعل تأثير المستخلص عليها محدودًا (Djeussi et *al.*, 2013) . كما أظهرت دراسات سابقة لمستخلصات *Salsola vermiculata* المندرجة من نفس النوع

التصنيفي لنبات *Salsola Richteri* أنشطة واعدة مضادة للبكتيريا، خاصة في الأوراق والأزهار والجذور (Mollaei et *al*., 2021).

بالنسبة للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ، أظهرت مستخلصات الجذور (SRR) والأوراق (SRL) تأثيرًا مثبطًا عند تركيز 120 mg/ml (11 و13 ملم على التوالي)، بينما كان التأثير الأقوى للأزهار(SRF) بقطر تثبيط 14 ملم. على النقيض، لم تظهر مستخلصات نبات *Cornulaca monacontha* أي تأثير ملحوظ على *P. aeruginosa* من ناحية أخرى، أظهرت مستخلصات الأزهار (SRF) فقط تأثيرًا مثبطًا ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* بقطر 20 ملم عند 120 mg/ml و8 ملم عند 60 mg/ml ، في حين لم تظهر باقي المستخلصات أي تأثير. دراسات سابقة حديثة سنة 2024 تشير النتائج إلى أن مستخلصات نبات *Cornulaca monacontha* تمتلك تأثيرًا مضادًا ضعيفًا ضد مجموعة متنوعة من البكتيريا، بما في ذلك *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، حيث أظهرت تأثيرات تثبيطية ضئيلة عند التراكيز المرتفعة فقط (Boussadia et *al*., 2024).

فيما يتعلق بالبكتيريا *Escherichia coli*، كانت مستخلصات الأزهار (SRF) هي الوحيدة التي أظهرت تأثيرًا مثبطًا (15 ملم عند 120 mg/ml). يعود ذلك إلى التركيب الكيميائي الغني بمتعدد الفينولات و الفلافونويدات لمستخلص الأزهار الفعالة بيولوجيًا حيث بدورها تستهدف البروتينات الأساسية في جدار الخلية البكتيرية مثل Penicillin-Binding Proteins (PBPs)، مما يؤدي إلى تعطيل نشاطها وإضعاف الجدار الخلوي (Chauhan et *al*., 2023). من جهة أخرى، لم يظهر أي من المستخلصات للنبتتين تأثيرًا على الفطر *Candida albicans*، مما يشير إلى عدم فعاليتهما ضد الفطريات حسب الظروف التجريبية المعمول بها في هذه الدراسة. من جهة اخرى أظهرت دراسات سابقة أن مستخلصات *Salsola vermiculata* لديها تأثير مضاد للفطريات ضد *Candida albicans*، في بعض الاحيان، ولكن الفعالية كانت ضعيفة وتتطلب تراكيز عالية لتحقيق تأثير ملحوظ (Salem et *al*., 2022; Chauhan et *al*., 2023).

2.6. قياس اقل تركيز مثبط واقل تركيز قاتل MIC/MBC للمستخلصات

تم عمل اختبار قياس اقل تركيز مثبط و اقل تركيز قاتل MIC/MBC للمستخلصات كل من نبات *Salsola Richteri* و *Cornulaca monacontha* بناءا على النتائج الاولية لاختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا على الآغار الصلب بطريقة انتشار الحفر، حيث تم اختبار النتائج الايجابية فقط بهذه الطريقة، وذلك لفهم اكثر لكيفية لتأثير مواد الايض الثانوي لهذه المستخلصات على البكتيريا كونها ذات تأثير مثبط للنمو او مدمر للبنية البكتيريا و تحديد اقل تركيز فعال ضد الانواع المختبره.

جدول 08: نتائج اختبار قياس اقل تركيز مثبط واقل تركيز قاتل MIC/MBC لمستخلصات كل من نبات *S. Richteri* و *C. monacontha*

انواع البكتيريا (n = 3)	مستخلص SRF		
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
Escherichia coli	10	20	2
Pseudomonas aeruginosa	20	40	2
Staphylococcus aureus	10	20	2
Bacillus subtilis	40	80	2
	مستخلص **SRR**		
Pseudomonas aeruginosa	10	20	2
Staphylococcus aureus	10	40	4
	مستخلص **SRL**		
Pseudomonas aeruginosa	20	40	2
Staphylococcus aureus	20	40	2
	مستخلص **CML**		
Escherichia coli	40	40	1
Staphylococcus aureus	40	40	1

تشير النتائج في **الجدول 8** و **الملاحق 11، 12، 13، 14، 15، 16، 17، 18 و19** إلى أن مستخلص الأزهار (SRF) لنبات *Salsola Richteri* يمتلك فعالية مبيدة للجراثيم ضد *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و*Bacillus subtilis*، حيث كانت أدنى تراكيز مثبطة (MIC) هي 10 mg/ml، 20 mg/ml، 10 mg/ml، و40 mg/ml على التوالي، وأدنى تراكيز قاتلة (MBC) هي 20 mg/ml، 40 mg/ml، 20 mg/ml، و80 mg/ml على التوالي، مع نسبة MBC/MIC تساوي 2 لجميع هذه الأنواع، مما يدل على تأثير قاتل لهذا المستخلص حسب دلالة MBC/MIC (Lushniak, 2014; Suzuki et *al*., 1953). بالنسبة لمستخلصات الجذور (SRR)، أظهرت فعالية مبيدة للجراثيم ضد *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة MBC/MIC تساوي 2 مع MIC وMBC بقيم 10 mg/ml و20 mg/ml على التوالي، لكنها أظهرت فعالية مثبطة للجراثيم ضد *Staphylococcus aureus* بنسبة MBC/MIC تبلغ 4 مع MIC وMBC بقيم 10 mg/ml و40 mg/ml على التوالي. مستخلصات الأوراق (SRL) أظهرت فعالية مبيدة للجراثيم ضد *Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* بنسبة MBC/MIC تساوي 2 مع MIC وMBC بقيم 20 mg/ml و40 mg/ml لكل منهما. مستخلصات (CML) *Cornulaca monacontha* أظهرت تأثيرًا مثبطًا

فقط على *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* بنسبة MBC/MIC تبلغ 1 مع MIC وMBC بقيم 40 mg/ml لكل منهما، مما يشير إلى أنها مبيدة للجراثيم في هذه الحالات.

لقد بحثت العديد من الدراسات في الخصائص المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة لأنواع نبات Salsola حيث أظهر نبات *Salsola kali* نشاطًا قويًا مضادًا للبكتيريا ضد بكتيريا مختلفة، مع الحد الأدنى من التركيزات المثبطة وتصل إلى 0.5 ميكروغرام / مل (Kumresh et *al*., 2008; Mughal et *al*., 2010) وبالمثل، أظهرت مستخلصات *Salsola stenoptera* تأثيرات قوية مضادة للميكروبات ضد مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة، مع الحد الأدنى من تركيزات مبيد للجراثيم يتراوح من 5.63 إلى 180.00 ملغم / مل (Ozusaglam et *al*., 2015)، هذه النتائج تتوافق لما تم الوصول اليه خلال هذه الدراسة ايضا.

رغم شح النتائج في ما يتعلق بدراسة المضادة للبكتيريا المعمقة لنبات *Cornulaca monacantha* الا ان دراستا أظهرت ان المستخلصات النباتية لعدة انواع في منطقة البحر الأبيض المتوسط، بما في ذلك *Cornulaca monacantha* ، لها تأثيرات مضادة للميكروبات بتراكيز متوسطة حيث كان MIC وMBC تتراوح بين 0.07-10.00 ملغم/مل ضد الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للفم و الحنجرة (Karygianni et *al*., 2014)، و هو ما يتوافق نسبيا لما تم التوصل اليه خلال هذه الدراسة حيث كان MIC وMBC 40 ملغم/مل و هو اعلى بضعفين لما وجد في دراسات سابقة و يمكن ان يفسر هذا لطبيعة توزيع مواد الايض الثانوي و تركيزها في النبات المدروس و ظروف البيئية الخاصة بالمنطقة و التي تفرض انتاجا خاصا للمواد الفعالة التي يحتاجها النبات بالنسبة للظروف المحيطة به عموما (Li et *al*., 2020).

الخاتمة

الخاتمة

لقد ازداد الاهتمام بالنباتات الطبية بمختلف أنواعها وذلك لخصـائصـها العلاجية لما تحتويه من مواد مضـادة للأكسـدة ذات القدرة الكبيرة والفعالية ضـد العديد من الأمراض خاصـة تلك الناجمة عن تفاعلات الاجهاد التأكسدي وتعزيز مقاومة الجسم ضد العديد من الامراض الأخرى وحمايته، وفي اطار تثمين النباتات البرية الصـحراوية وخاصـة المحلية منها، وفي هذا البحث سلطنا الضـوء على نبتتين صـحراويتين هما نبات الحاد الشـوكي *Cornulaca monacantha* ونبات الصـباغ *Salsola ricteri* المأخوذة من مدينة وادي سوف.

ان الهدف الرئيسـئ من هذا البحث هو التعرف على الفعالية البيولوجية المضـادة للأكسـدة والموجودة في المستخلصات المائية لهذين النباتين، والدراسة الفيتوكيميائية وغيرها.

لقد قمنا بدراسـة النشـاطية المضـادة للأكسـدة للمسـتخلص وذلك عن طريق بعض الاختبارات منها اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH، ABTS، H_2O اضـافة الى اختبارات أخرى حيث لاحظنا ان نتائج هذه الاختبارات متقاربة مع نتائج الشواهد المستعملة مما يؤكد ان هذه المستخلصات تمتلك نشاطية مضادة للأكسدة ومركبات فيتوكيميائية، وهو ما يعني احتواء هذه النباتات على مركبات نوعية ذات تأثير على الجذور الحرة وغيرها.

في الأخير نأمل ان تكون هذه الدراسـة بداية لتقييم وتثمين النباتات الصـحراوية كونها من الثروات البيئية والطبية الطبيعية، كما نأمل أن تكون هذه الدراسـة المتواضـعة، تحفيزية لدراسـات أخرى معمقة حول ألأهمية البيولوجية والفيتوكيميائية لهذه النباتات والتي يمتلكها المستخلص In vivo و In vitro، فصل وتنقية المركبات الكيميائية المختلفة والنشطة بيولوجيا بطرق أكثر نوعية وتخصـصـا ودراسـة كل مركب على حدى وكذلك معرفة الخصـائص السمية للتحكم في استعمالاتها العقلانية في العلاج التقليدي.

وكتوصـيات مسـتقبلية نأمل التركيز على دراسـة الجانب السـمي للتأكد من تفادي هذ التأثير السـام واسـتعمالها بأمان وكذلك توسـيع نطاق الدراسـة الفيتوكيميائية للتعرف على المزيد من المركبات وكيفية فصلها، وتوسيع محل دراسة النشاطية البيولوجية المحتملة لكونها نباتات غنية جدا بالمواد الفعالة.

قائمة المراجع

قائمة المراجع

المراجع باللغة العربية:

الخطيب م.، قواس م. د.، القاضـــي ع.، داغســـتاني ه.، بن حمد العلوي س.، بن ســـالم الفارســـي خ؛ (2015) : الدليل الحقلي المصـــور للنباتات البرية في ســـلطنة عمان. دائرة الإعلام التنموي، وزارة الزراعة والثروة السمكية، سلطنة عمان، ص: 6.

الرميثي، د. خ. (2022). الأســـماء الجغرافية – ذاكرة أجيال –: دراســـة تاريخية وتوثيقية لدولة الإمارات العربية المتحدة. المملكة المتحدة: Austin Macauley Publishers ، ص : 20

بابا عيســـى ف.، بابا عيســـى ج.، جمعة م. خ؛ (2002) : موســـوعة النباتات المفيدة. توزيع مكتبة إبن النفيس، دمشق، سوريا، ص: 3.

حليس ي؛ (2007): الموســـوعة النباتية لمنطقة ســـوف، النباتات الصـــحراوية الشـــائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير، مطبعة الوليد، الوادي، 97-96ص.

المراجع باللغة الكردية:

مرضـيه بهادران، حميد اجتهادي، فرشـته قاسـمزاده وپروانه ابريشـمچي (1993). بررسـي اكولوژي فردي گونه گياهي *Salsola richteri* Moq. Litw ex Karel در اسـتان خراسـان جنوبي. مجله پژوهشـهاي گياهي (مجله زيست شناسي إيران) جلد 29 ، شماره 2 ، 1395.

المراجع باللغة الأجنبية:

Abbas, A. et al. (2021) ‘Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Screening of Seriphidium Oliverianum Plant Extracts’, Dose-Response, 19(1), p. 155932582110047. Available at: https://doi.org/10.1177/15593258211004739.

Abd El-Maboud, M. M. (2016). Mechanisms of drought tolerance in Cornulaca monacantha. Del. Journal of Environmental Sciences, 45, 175-186.

Adji, A.L. et al. (2015) ‘Antioxidative potential of Chenopodium botrys L.(Amaranthaceae)’, Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 61(2), pp. 3–10.

Ak, T. and Gülçin, I. (2008) ‘Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin’, Chemico-biological interactions, 174(1), pp. 27–37.

Akopian, J.A. et al. (2020) ‘On some medicinal plants of Chenopodiaceae family in the floras of Armenia and Uzbekistan’, Electron J Nat Sci, 34(1), pp. 12–17.

Akopian, J.A., Ghukasyan, A.G., Shomurodov, H.F., & Adilov, B.A. (2020). On some medicinal plants of Chenopodiaceae family in the floras of Armenia and Uzbekistan. Electron J Nat Sci, 34(1), 12-17.

Alam, Md.N., Bristi, N.J. and Rafiquzzaman, Md. (2013) ‘Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity’, Saudi Pharmaceutical Journal, 21(2), pp. 143–152. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002.

AMARA, D.G. (2020) ‘The Effects of the Fertil Verde Fertilizer on the Growth and Yield of Chili Pepper (Capsicum annuum L) in Southern Algeria’, Algerian journal of Biosciences, 1(1), pp. 18–23.

Amin, E. et al. (2022) ‘Phytochemical Analysis and Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Five Halophytes from Qassim Flora.’, Polish Journal of Environmental Studies, 31(4). Available at: http://www.pjoes.com/pdf-145608-76372?filename=Phytochemical%20Analysis.pdf (Accessed: 13 July 2024).

Andov, L.A. et al. (2015) ‘Antioxidative potential of Chenopodium botrys L.(Amaranthaceae)’. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Blagica-Jovanova/publication/332580334_Antioxidative_potential_of_Chenopodium_botrys_L_Amaranthaceae/links/5ff476d5299bf1408874b465/Antioxidative-potential-of-Chenopodium-botrys-L-Amaranthaceae.pdf (Accessed: 14 July 2024).

Anwar, K. et al. (2017) ‘The influence of leaf age on total phenolic, flavonoids, and free radical scavenging capacity of Aquilaria beccariana’, Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences, 8, pp. 129–133.

Asan-Ozusaglam, M. et al. (2015) ‘Antimicrobial and antioxidant activity of various solvent extracts of Salsola stenoptera Wagenitz and Petrosimonia nigdeensis Aellen (Chenopodiaceae) plants’, Chiang Mai J Sci, 42(1), pp. 156–72.

Ashour M A and ALSUWAYT B, (2019). Biological Evaluation of Cornulaca monacantha Del. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, 9 (6): 71-75.

Ashour, M.A. (2019) ‘Comparative chemical and biological investigations of three Saudi Astragalus species’, Journal of Applied Biology & Biotechnology, 7(05), pp. 56–61.

Azantsa, B.G. et al. (2019) ‘Anti hemolytic, anti-lipid peroxidation and antioxidant properties of three plants locally used to treat metabolic disorders: Allium sativum, Persea americana and Citrus sinensis.’ Available at: https://www.academia.edu/download/109816418/40921.pdf (Accessed: 14 July 2024).

Bahorun, T. et al. (1996) ‘Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.’, Arzneimittel-forschung, 46(11), pp. 1086–1089.

Banjarnahor, S.D. and Artanti, N. (2014) ‘Antioxidant properties of flavonoids’, Medical Journal of Indonesia, 23(4), pp. 239–44.

Batanouny K, Abdul-Rahman F, Benhouhou S, Chemli R, Ghrabi Z, Hammouda F, Ismail S I, Abdelazim NS, Shams KA, Rais C, Lamnaour D. A Guide to Medicinal Plants in North Africa. Published by IUCN Centre for Mediterranean Cooperation, Malaga (Spain) 2005.

Baur, J. A., & Sinclair, D. A. (2006). "Therapeutic potential of resveratrol: The in vivo evidence". Nature Reviews Drug Discovery, 5(6), 493-506. doi:10.1038/nrd2060.

Behera, P.K., Devi, S. and Mittal, N. (2023) 'Therapeutic potential of gallic acid in obesity: considerable shift!', Obesity Medicine, 37, p. 100473.

BENHOUHOU S; (2005): A guide to medicinal plants in North Africa. IUCN Centtre for Mediterranean Cooperation, Malaga, Spain, p: 85.

Benmeziane, F. (2017) 'Hydrogen peroxide scavenging activity of grape (Vitis vinifera) methanolic extract', Food Research, 1(2), pp. 39–42.

Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., & Facino, R. M. (2005). Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, *533*(2), 185-191.

Bonev, B., Hooper, J. and Parisot, J. (2008) 'Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method', Journal of antimicrobial chemotherapy, 61(6), pp. 1295–1301.

Boots, A. W., Haenen, G. R., & Bast, A. (2008). "Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical". *European Journal of Pharmacology*, 585(2-3), 325-337. doi:10.1016/j.ejphar.2008.03.008.

Boulaaba, M. et al. (2019) 'Biological activities and phytochemical analysis of phenolic extracts from Salsola kali L.. Role of endogenous factors in the selection of the best plant extracts', South African Journal of Botany, 123, pp. 193–199.

Boulos, L. J. K. b. 1992. Notes on *Agathophora* (Fenzl) Bunge and *Cornulaca* Del. Studies in the Chenopodiaceae of Arabia 5. journal of plant taxonomy, 46, 283-287

Boussadia, M.I. et al. (2024) 'Phytochemical, antioxidant identification, and antibacterial activity of a traditional medicinal plant, Cornulaca monacantha Del', Vegetos [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.1007/s42535-023-00776-1.

Burton, G. W., & Traber, M. G. (1990). "Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability". *Annual Review of Nutrition*, 10(1), 357-382. doi:10.1146/annurev.nu.10.070190.002041.

Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). "Vitamin C and Immune Function". *Nutrients*, 9 (11), 1211. doi:10.3390/nu9111211.

Çelik, S.E. et al. (2010) 'Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods', Talanta, 81(4–5), pp. 1300–1309.

Chaudhari, D. and Kharat, A. (2022) 'Evaluation of Antioxidant Potential and Formulation of Nanosuspension of Celosia argentea Extract', Journal of Scientific and Innovative Research, 11(3), pp. 63–67.

Chauhan, A., Sharma, A. D., & Kaur, I. (2023). Bio-active components of Cymbopogon martinii essential oil as therapeutics targeting bacterial Penicillin-Binding-Proteins (PBPs): Aroma profile, in silico-docking, pharmacokinetics and wet-lab validation. Journal of BioScience and Biotechnology, 12(1), 11-31 .

CHEHMA A; (2006): Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional Algérien.
Laboratiore de recherche :<<Protection des ecosystemes en zones Arides et semi-Arides>>, Université Kasdi Merbah, Ouargla, p: 63

Chen, L.-C. et al. (2020) 'Effects of phenolic acids on soil nitrogen mineralization over successive rotations in Chinese fir plantations', Journal of Forestry Research, 31(1), pp. 303–311. Available at: https://doi.org/10.1007/s11676-018-0842-z.

Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, *54*(20), 7429-7436.

Cherrada, N. et al. (2023) ‘Phytochemical profiling of Salsola tetragona Delile by LC-HR/MS and investigation of the antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic, antibacterial and anti-SARS-CoV-2 activities’, Saudi Pharmaceutical Journal, 31(9), p. 101731.

Chouikh, A. et al. (2018) ‘Evaluation of phenolic contents (quantitative and qualitative) and antioxidant activities in different physiological phases of Genista saharae Coss. & Dur. growing in the Sahara of Algeria.’, Annals of Oradea University, Biology Fascicle/Analele Universităţii din Oradea, Fascicula Biologie, 25(2). Available at: https://www.bioresearch.ro/2018-2/083-089-AUOFB.25.2.2018-CHOUIKH.A.-Evaluation.of.phenolic.contents.pdf (Accessed: 14 July 2024).

de AraÃojo UchÃ&a, A.D. et al. (2016) ‘Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora’, Journal of Medicinal Plants Research, 10(27), pp. 409–416.

Dixon, R.A. and Paiva, N.L. (1995) ‘Stress-induced phenylpropanoid metabolism.’, The plant cell, 7(7), p. 1085.

Djeussi, D. E., Noumedem, J. A., Seukep, J. A., Fankam, A. G., Voukeng, I. K., Tankeo, S. B., Nkuete, A. H., & Kuete, V. (2013). Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. BMC complementary and alternative medicine, 13, 1-8 .

El-Bassossy, T.A.I., Abdelgawad, A.A. and Elazab, M. (2023) ‘Pharmacological investigations and chemical constituents of Salsola kali aerial parts’, Egyptian Journal of Chemistry, 66(13), pp. 2033–2044.

ElNaggar, M. H., Eldehna, W. M., Abourehab, M. A., & Abdel Bar, F. M. (2022). The old world as a source of valuable secondary metabolites endowed with diverse

pharmacological activities: A Review. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 37(1), 2036–2062.

Erel, O. (2004) ‘A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation’, Clinical biochemistry, 37(4), pp. 277–285.

Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences.

Evans, W.C. (1989) ‘Trease and Evan’s textbook of pharmacognosy’, Cambridge, p. 546.

Galvão, M. A. M., Arruda, A. O. d., Bezerra, I. C. F., Ferreira, M. R. A., & Soares, L. A. L. (2018). Evaluation of the Folin-Ciocalteu method and quantification of total tannins in stem barks and pods from Libidibia ferrea (Mart. ex Tul) LP Queiroz. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *61*, e18170586.

García-Mier, L. et al. (2013) ‘Agriculture and bioactives: achieving both crop yield and phytochemicals’, International journal of molecular sciences, 14(2), pp. 4203–4222.

Gong, W. et al. (2023) ‘Construction of double network hydrogels using agarose and gallic acid with antibacterial and anti-inflammatory properties for wound healing’, International Journal of Biological Macromolecules, 227, pp. 698–710.

Guetens, G. et al. (2002) ‘Oxidative DNA damage: biological significance and methods of analysis’, Critical reviews in clinical laboratory sciences, 39(4–5), pp. 331–457.

Hussien, R. M., Badawy, A. M., Ahmed, S. A. E., & Eltamany, E. E. (2023). Review article on phytochemical constituents and biological activity of Cornulaca monacantha. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, *7*(2), 13-18.

Iannuzzi, A.M. et al. (2020) ‘Chemical profile and nutraceutical features of Salsola soda (agretti): Anti-inflammatory and antidiabetic potential of its flavonoids’, Food Bioscience, 37, p. 100713.

Ibrahim Mssillou et al. (2022) Investigation on wound healing effect of Mediterranean medicinal plants and some related phenolic compounds: A review - PubMed. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36038091/ (Accessed: 13 July 2024).

Igual, M. et al. (2011) ‘Some Quality Aspects of Persimmon Jam Manufactured by Osmotic Dehydration without Thermal Treatment’, International Journal of Food Engineering, 7(5). Available at: https://doi.org/10.2202/1556-3758.2150.

Kandil, F.E. and Grace, M.H. (2001) ‘Polyphenols from Cornulaca monacantha’, Phytochemistry, 58(4), pp. 611–613.

Kandil, F.E. and Hussieny, H.A. (1998) ‘A newflavonoid glycoside from Cornulaca monocantha’, ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY, 14, pp. 215–216.

Kanwal, D., & Abid, R. Taxonomic assessment of the family Amaranthaceae with special emphasis on seed morph-ology. Pak J Bot 2017; 49, 43–68

Karygianni, L., Cecere, M., Skaltsounis, A.-L., Argyropoulou, A., Hellwig, E., Aligiannis, N., Wittmer, A., & Al-Ahmad, A. (2014). High-Level Antimicrobial Efficacy of Representative Mediterranean Natural Plant Extracts against Oral Microorganisms. BioMed Research International, 2014

Kaur, M., & Singh, B. (2019). "Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications". *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(6), 942-956. doi:10.1080/07388551.2019.1659850.

Khadhri, A., El Mokni, R. and Smiti, S. (2013) ‘Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu: Atractylis gummifera’, Revue Soc Sci Nat de Tunisie, 39, pp. 44–52.

Kiehlbauch, J.A. et al. (2000) ‘Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories’, Journal of clinical microbiology, 38(9), pp. 3341–3348.

Kumresh, Sanjeev, Navneet, & Prabhat. (2008). In vitro: Antibacterial activity of Salsola kali Linn. Environment Conservation Journal .

Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Plant physiology and biochemistry, 148, 80-89 .

Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., ... & Yin, Y. (2016). "Quercetin, inflammation and immunity". *Nutrients*, 8(3), 167. doi:10.3390/nu8030167. Xu, Y., et al. (2017). "Catechins and Cardiovascular Health: A Review of the Evidence". *Journal of Nutritional Biochemistry*, 47, 1-11. doi:10.1016/j.jnutbio.2017.05.003.

Lianda, R. L., Sant'Ana, L. D. O., Echevarria, A., & Castro, R. N. (2012). Antioxidant activity and phenolic composition of Brazilian honeys and their extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *23*, 618-627.

Liazid, A. et al. (2007) ‘Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction’, Journal of Chromatography A, 1140(1–2), pp. 29–34.

Lim, Y. Y., Lim, T. T., & Tee, J. J. (2007). Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food chemistry*, *103*(3), 1003-1008.

Lisiewska, Z., Kmiecik, W. and Korus, A. (2006) 'Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (Anethum graveolens L.) depending on plant height', Journal of Food Composition and Analysis, 19(2–3), pp. 134–140.

Liu, C., et al. (2018). "Resveratrol: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, and safety". *Frontiers in Pharmacology*, 9, 770. doi:10.3389/fphar.2018.00770.

Lushniak, B. D. (2014). Antibiotic resistance: a public health crisis. Public Health Reports, 129(4), 314-316 .

Magalhães, A.S. et al. (2009) 'Protective effect of quince (Cydonia oblonga Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes', Food and Chemical Toxicology, 47(6), pp. 1372–1377.

Malini, R.P. et al. (2022) 'Phytochemical and antioxidant analysis in the aerial part of aerva javanica (burm. f.) schult.(amaranthaceae)', Kongunadu Research Journal, 9(2), pp. 39–44.

Maryana, M.N., Rahman, M.M. and Liew, J.Y. (2019) 'Kinetic Study of Phytochemical Extraction and Antioxidant Potential of Hibiscus cannabinus L.', International Journal of Engineering Research & Technology [Preprint]. Available at: http://myscholar.umk.edu.my/handle/123456789/1398 (Accessed: 13 July 2024).

Mhiri, R. et al. (2020) 'New Isoflavones with Antioxidant Activity Isolated from Cornulaca monacantha', Chemistry & Biodiversity, 17(12), p. e2000758. Available at: https://doi.org/10.1002/cbdv.202000758.

Mhiri, R., Koubaa, I., Chawech, R., Auberon, F., Allouche, N., Michel, T. J. C. 2020. New Isoflavones with Antioxidant Activity Isolated from Cornulaca monacantha. Chemistry Biodiversity, 17, e2000758.

Mishra, K., Ojha, H. and Chaudhury, N.K. (2012) 'Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results', Food chemistry, 130(4), pp. 1036–1043.

Mohammed M. Alshehri, et al. (no date) Therapeutic Potential of Isoflavones with an Emphasis on Daidzein - Alshehri - 2021 - Oxidative Medicine and Cellular Longevity - Wiley Online Library. Available at: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2021/6331630 (Accessed: 13 July 2024).

Mollaei, S., Ghanavi, J.-e., Farnia, P., Abedi-Ghobadloo, P., & Velayati, A. A. (2021). Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of different parts of Salsola vermiculata. Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ), 5, 307 - 312 .

Monteiro, Á.B. et al. (2020) 'Anxiolytic and antidepressant-like effects of Annona coriacea (Mart.) and caffeic acid in mice', Food and Chemical Toxicology, 136, p. 111049.

Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P., & Opara, U. L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC complementary and alternative medicine*, *16*, 1-12.

Mughal, T. A., Naeem, I., Aziz, M. T., & Ahsan, A. (2010). ANTIBACTERIAL AND SYNERGISTIC STUDIES OF SALSOLA KALI. Journal of applied pharmacy, 2, 18-26 .

Mukhopadhyay, D. et al. (2016) 'A sensitive in vitro spectrophotometric hydrogen peroxide scavenging assay using 1, 10-phenanthroline', Free Radicals and Antioxidants, 6(1), pp. 124–132.

Naczk, M. and Shahidi, F. (2004) ‘Extraction and analysis of phenolics in food’, Journal of chromatography A, 1054(1–2), pp. 95–111.

Naumowicz, M. et al. (2019) ‘The modulating effect of lipid bilayer/p-coumaric acid interactions on electrical properties of model lipid membranes and human glioblastoma cells’, Bioorganic Chemistry, 92, p. 103242.

Osonga, F.J. et al. (2019) ‘Antimicrobial Activity of a New Class of Phosphorylated and Modified Flavonoids’, ACS omega, 4(7), pp. 12865–12871. Available at: https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00077.

Oueslati, M.H., Bouajila, J. and Jannet, H.B. (2017) ‘Two new bioactive biphenylpropanoids from the roots of Salsola imbricata (Chenopodiaceae) Growing in Saudi Arabia’, OJC, 33, pp. 1871–1878.

Ozusaglam, M. A., Erzengin, M., Darilmaz, D. O., Erkul, S. K., Tekşen, M., & Karakoca, K. (2015). Antimicrobial and antioxidant activity of various solvent extracts of Salsola stenoptera Wagenitz and Petrosimonia nigdeensis Aellen (Chenopodiaceae) plants .

PA, W. (2002) ‘Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard’, CLSI document M27-A2 [Preprint]. Available at: https://cir.nii.ac.jp/crid/1570854176048718848 (Accessed: 13 July 2024).

Pakanaev, Y. I., Kattaev, N. S., Shaimardanov, R. A., & Yuldashev, U. (1980). Changes in the alkaloid and flavonoid contents of Salsola richteri. Rastitel‟nye Resursy, 16(3), 411-414.

PALICI I. F; (2016): Valorisation des activités Biologiques de certaines espèces végétales Sahariennes Nord-Africaines. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, p: 44, 59.

Proskurnina, N., Orekhov, A. (1937). The alkaloids of Salsola richteri.III. The optically active salsoline and the isolation of two new alkaloids. Bull Soc Chim Fr Mem 1937; 4(1265), 71.

Pyankov, V. I., Voznesenskaya, E. V., Kuz'min, A. N., Ku, M. S., Ganko, E., Franceschi, V. R., Black Jr., C. C., & Edwards, G. E. (2000). Photosynthesis Research, 63(1), 69–84.

Qaiyumi, S. (2007) 'Macro-and microdilution methods of antimicrobial susceptibility testing', in Antimicrobial susceptibility testing protocols. Taylor & Francis Boca Raton, pp. 75–79. Available at: https://books.google.com/books?hl=ar&lr=&id=FukzUi3sLvEC&oi=fnd&pg=PA75&dq=Qaiyumi,+S.,+Macro-and+microdilution+methods+of+antimicrobial+susceptibility+testing,+in+Antimicrobial+susceptibility+testing+protocols.+2007,+Taylor+%26amp%3B+Francis+Boca+Raton.+p.+75-79.&ots=VsrWdKbfeE&sig=rHFLLSGPXvQ5Y01q-ki2ehN46Hs (Accessed: 13 July 2024).

QUEZEL P., SANTA S; (1962): Nouvelle flora d'algérie et des regions désertiques méridionales. Edition du centre national de la recherché scientifique, tome 01, Paris, France, p: 298.

Re, R. et al. (1999) 'Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay', Free radical biology and medicine, 26(9–10), pp. 1231–1237.

Rebiai, A., & Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of Apis mellifera bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, *4*(2), 155-163.

Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. (2011). In vitro evaluation of antioxidant capacity of algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays. *International Journal of pharmacology*, *7*(1), 113-118.

Rodríguez-Bonilla, P. et al. (2017) ‘Comparative Study of the Antioxidant Capacity of Four Stilbenes Using ORAC, ABTS+, and FRAP Techniques’, Food Analytical Methods, 10(9), pp. 2994–3000. Available at: https://doi.org/10.1007/s12161-017-0871-9.

Romelle, F. D., Rani, A., & Manohar, R. S. (2016). Chemical composition of some selected fruit peels. *European Journal of Food Science and Technology*, *4*(4), 12-21.

Salah, B. et al. (2018) ‘Evaluation of total phenolic contents and antioxidant potentials of ten medicinal plants from Algerian Sahara’. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Djahra-Ali-Boutlelis/publication/339629405_Evaluation_of_total_phenolic_contents_and_antioxidant_potentials_of_ten_medicinal_plants_from_Algerian_Sahara/links/5e5d437b92851cefa1d68cb2/Evaluation-of-total-phenolic-contents-and-antioxidant-potentials-of-ten-medicinal-plants-from-Algerian-Sahara.pdf (Accessed: 13 July 2024).

Salehi, B., et al. (2019). "Naringenin: A flavonoid with a myriad of biological activities". *Molecules*, 24(21), 3687. doi:10.3390/molecules24213687.

Salem, S. H., El-Maraghy, S. S., Abdel-Mallek, A. Y., Abdel-Rahman, M. A., Hassanein, E. H., Al-Bedak, O. A., & El-Aziz, F. E.-Z. A. A. (2022). The antimicrobial, antibiofilm, and wound healing properties of ethyl acetate crude extract of an endophytic fungus Paecilomyces sp.(AUMC 15510) in earthworm model. Scientific reports, 12(1), 19239 .

Seo, J. H., Jin, M. H., & Chang, Y. H. (2020). Anti-inflammatory effect of Salsola komarovii extract with dissociated glucocorticoid activity. BMC Complementary Medicine and Therapies, 20(1).

Shaniyazov, S. (2023). Analysis of spatio-time dynamics the areal of medicinal plants in the conditions of Karakalpakstan. Universum:Chemistry & Biology, 103(1).

Silva, J. et al. (2020). "Caffeic acid: A review of its potential use in medications and cosmetics". Molecules, 25(16), 3641. doi:10.3390/molecules25163641.

Sokolowska-Krzaczek, A., Skalicka-Wozniak, K. and Czubkowska, K. (2009) 'Variation of phenolic acids from herb and roots of Salsola kali L.', Acta societatis botanicorum poloniae, 78(3), pp. 197–201.

Suppi, S. et al. (2015) 'A novel method for comparison of biocidal properties of nanomaterials to bacteria, yeasts and algae', Journal of Hazardous Materials, 286, pp. 75–84.

Suzuki, S., Suzuki, H., Nishizawa, T., Kaneko, F., Ootani, S., Muraoka, H., Saito, Y., Kobayashi, I., & Hibi, T. (1953). Past rifampicin dosing determines rifabutin resistance of Helicobacter pylori. Digestion, 79(1), 1-4.

Tan, Q. et al. (2022) 'A facile and sensitive ratiometric fluorescent sensor for determination of gallic acid', Microchemical Journal, 172, p. 106922.

Teimouri, A., & Jafari, M. (2010). The effects of salinity stress on some of anatomical and morphological characteristics in three Salsola species: S. rigida, S. dendroides, S. richteri. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, *17*(1), 21-34.

Traber, M. G., & Stevens, J. F. (2011). "Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective". *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 1000-1013. doi:10.1016/j.freeradbiomed. 2011.05.017.

Tundis, R., Menichini, F., Conforti, F., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G., & Menichini, F. (2009). A potential role of alkaloid extracts from salsola species

(chenopodiaceae) in the treatment of alzheimer's disease. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 24(3), 818–824.

Um, M., Han, T.-H. and Lee, J.-W. (2017) 'Ultrasound-assisted extraction and antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds and ascorbic acid from rugosa rose (Rosa rugosa Thunb.) fruit', Food Science and Biotechnology [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.1007/s10068-017-0247-3.

Van Acker, S.A. et al. (1996) 'Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids', Free Radical Biology and Medicine, 20(3), pp. 331–342.

Wang, Y., & Ho, C. T. (2009). "Catechins in tea: Implications for cardiovascular health". *Nutrients*, 1(2), 81-96. doi:10.3390/nu1020081.

Wayne, P.A. (2011) 'Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing'. Available at :

Xiang, Y. et al. (2007) 'Studies on chemical constituents of Salsola collina', China Journal of Chinese Materia Medica, pp. 409–413.

Б. Г. Волынский, К. И. Бендер, С. Л. Фрейдман, С. И. Богословская, К. В. Воронина, Г. А. Глазырина, Т. С. Капрелова, И. Г. Колоскова, С. Г. Кузнецова, Л. А. Мартынов. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТЕНИЯ В НАУЧНОЙ И НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЕ. Изд-во Саратовского университета, 1967. Изд. 2-е.

Гончарова Т.А., Энциклопедия лекарственных растений: (лечение травами): В 2-х тт. Т.1. - М. : Изд. Дом МСП, 1997. • Эльяшевич, Е.Г. (2008). важнейшие открытия в фармации новейшего времени . Вестник фармации. – 2008. –Т. 3, № 42. – С. 112-114.

الملاحق

الملاحق

BULLETIN D'ANALYSE N°: 0562/24

PHYSICO-CHIMIQUE

Information Client:			
Client:	BIKI ABD EL MALEK	**Code**:	1832
Adresse:	EL OUED		
Tel:	07 80 29 59 11		
Information Echantillon			
Référence:	E0490.05.24	**Prélever le:**	18/03/2024
Dénomination:	Les Feuilles	**Par:**	Le Client
Nature:	Poudre de Plante de Cornulaca Monacantha	**Lieu:**	/
Emballage:	vrac	**Lot N°:**	/

Les résultat:

Echantillon reçu le: 18/03/2024 **Lancer le:** 19/03/2024

Paramètre	Unité	Résultat	Méthode
Humidité	%	5,85	JOA N°08/2013
Fibre brute	%	10,95	AOAC Method 978.10
Azote	%	1,46	Kjeldhal
Protéines	%	9,28	ISO 5983-2
Matière Grasse	%	5,84	ISO 6492
Carbohydrate	%	15,65	Duboi
Magnésium *Mg*	%	1,43	NA 752
Calcium *Ca*	%	3,99	NA 1655
Sodium *Na*	%	0,74	NA 1653
Potassium *K*	%	2,61	NA 1653

Observation: Ces résultats d'analyses ne concernent que l'échantillon reçu

NB: *Ce bulletin est identique à la souche archivée chez le laboratoire qui ne contient aucun surcharge ou correction et dans le cas contraire la présente feuille sera annulée*

Édité le: 31/03/2024 **Le Laboratoire**

الملحق 01: نتائج مخبر الجودة ل CML

BULLETIN D'ANALYSE N°: 0556/24

PHYSICO-CHIMIQUE

Information Client:

Client: BIKI ABD EL MALEK **Code**: 1832
Adresse: EL OUED
Tel: 07 80 29 59 11

Information Echantillon

Référence: E0490.01.24 **Prélever le:** 18/03/2024
Dénomination: Les Racines **Par:** Le Client
Nature: Poudre de Plante de Salsola Richteri **Lieu:** /
Emballage: vrac **Lot N°:** /

Les résultat:

Echantillon reçu le: 18/03/2024 **Lancer le:** 19/03/2024

Paramètre	Unité	Résultat	Méthode
Humidité	%	3,30	JOA N°08/2013
Fibre brute	%	39,50	AOAC Method 978.10
Azote	%	1,01	Kjeldhal
Protéines	%	6,42	ISO 5983-2
Matière Grasse	%	5,81	ISO 6492
Carbohydrate	%	6,12	Duboi
Magnésium *Mg*	%	0,15	NA 752
Calcium *Ca*	%	0,95	NA 1655
Sodium *Na*	%	0,49	NA 1653
Potassium *K*	%	0,46	NA 1653

Observation: Ces résultats d'analyses ne concernent que l'échantillon reçu

NB: *Ce bulletin est identique à la souche archivée chez le laboratoire qui ne contient aucun surcharge ou correction et dans le cas contraire la présente feuille sera annulée*

Édité le: 31/03/2024 **Le Laboratoire**

الملحق 02: نتائج مخبر الجودة ل SRR

BULLETIN D'ANALYSE N°: 0560/24

PHYSICO-CHIMIQUE

Information Client:

Client: BIKI ABD EL MALEK **Code**: 1832
Adresse: EL OUED
Tel: 07 80 29 59 11

Information Echantillon

Référence: E0490.03.24 **Prélever le:** 18/03/2024
Dénomination: Les Fleurs **Par:** Le Client
Nature: Poudre de Plante de Salsola Richteri **Lieu:** /
Emballage: vrac **Lot N°:** /

Les résultat:

Echantillon reçu le: 18/03/2024 **Lancer le:** 19/03/2024

Paramètre	Unité	Résultat	Méthode
Humidité	%	4,69	JOA N°08/2013
Fibre brute	%	4,82	AOAC Method 978.10
Azote	%	2,16	Kjeldhal
Protéines	%	13,77	ISO 5983-2
Matière Grasse	%	3,62	ISO 6492
Carbohydrate	%	12,92	Duboi
Magnésium *Mg*	%	2,10	NA 752
Calcium *Ca*	%	2,75	NA 1655
Sodium *Na*	%	1,64	NA 1653
Potassium *K*	%	3,34	NA 1653

Observation: Ces résultats d'analyses ne concernent que l'échantillon reçu

NB: *Ce bulletin est identique à la souche archivée chez le laboratoire qui ne contient aucun surcharge ou correction et dans le cas contraire la présente feuille sera annulée*

Édité le: 31/03/2024 **Le Laboratoire**

الملحق 03: نتائج مخبر الجودة ل SRF

fatilab
Autorisation N°: 154 du 14/07/2009

مخبر التحاليل ومراقبة النوعية والمطابقة
LABORATOIRE D'ANALYSE ET DE CONTRÔLE
DE LA QUALITÉ ET DE LA CONFORMITÉ

BULLETIN D'ANALYSE N°: 0557/24

PHYSICO-CHIMIQUE

Information Client:

Client: BIKI ABD EL MALEK **Code:** 1832
Adresse: EL OUED
Tel: 07 80 29 59 11

Information Echantillon

Référence: E0490.02.24 **Prélever le:** 18/03/2024
Dénomination: Les feuilles **Par:** Le Client
Nature: Poudre de Plante de Salsola Richteri **Lieu:** /
Emballage: vrac **Lot N°:** /

Les résultat:

Echantillon reçu le: 18/03/2024 **Lancer le:** 19/03/2024

Paramètre	Unité	Résultat	Méthode
Humidité	%	4,45	JOA N°08/2013
Fibre brute	%	7,16	AOAC Method 978.10
Azote	%	2,67	Kjeldhal
Protéines	%	17,00	ISO 5983-2
Matière Grasse	%	6,12	ISO 6492
Carbohydrate	%	12,64	Duboi
Magnésium *Mg*	%	1,29	NA 752
Calcium *Ca*	%	2,32	NA 1655
Sodium *Na*	%	1,6	NA 1653
Potassium *K*	%	3,42	NA 1653

Observation: Ces résultats d'analyses ne concernent que l'échantillon reçu

NB: *Ce bulletin est identique à la souche archivée chez le laboratoire qui ne contient aucun surcharge ou correction et dans le cas contraire la présente feuille sera annulée*

Édité le: 31/03/2024

Le Laboratoire

الملحق 04: نتائج مخبر الجودة ل SRL

BULLETIN D'ANALYSE N°: 0561/24

PHYSICO-CHIMIQUE

Information Client:

Client: BIKI ABD EL MALEK **Code**: 1832
Adresse: EL OUED
Tel: 07 80 29 59 11

Information Echantillon

Référence: E0490.04.24 **Prélever le:** 18/03/2024
Dénomination: Les racines **Par:** Le Client
Nature: Poudre de Plante de Cornulaca Monacantha **Lieu:** /
Emballage: vrac **Lot N°:** /

Les résultat:

Echantillon reçu le: 18/03/2024 **Lancer le:** 19/03/2024

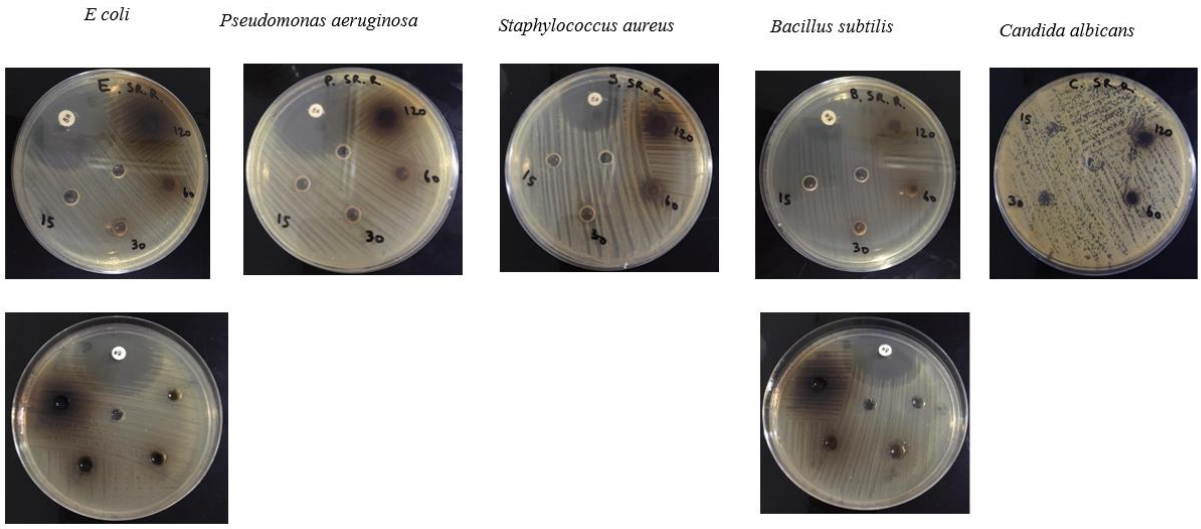
Paramètre	Unité	Résultat	Méthode
Humidité	%	4,06	JOA N°08/2013
Fibre brute	%	67,73	AOAC Method 978.10
Azote	%	2,16	Kjeldhal
Protéines	%	6,41	ISO 5983-2
Matière Grasse	%	5,76	ISO 6492
Carbohydrate	%	9,41	Duboi
Magnésium *Mg*	%	1,02	NA 752
Calcium *Ca*	%	2,26	NA 1655
Sodium *Na*	%	0,26	NA 1653
Potassium *K*	%	0,62	NA 1653

Observation: Ces résultats d'analyses ne concernent que l'échantillon reçu

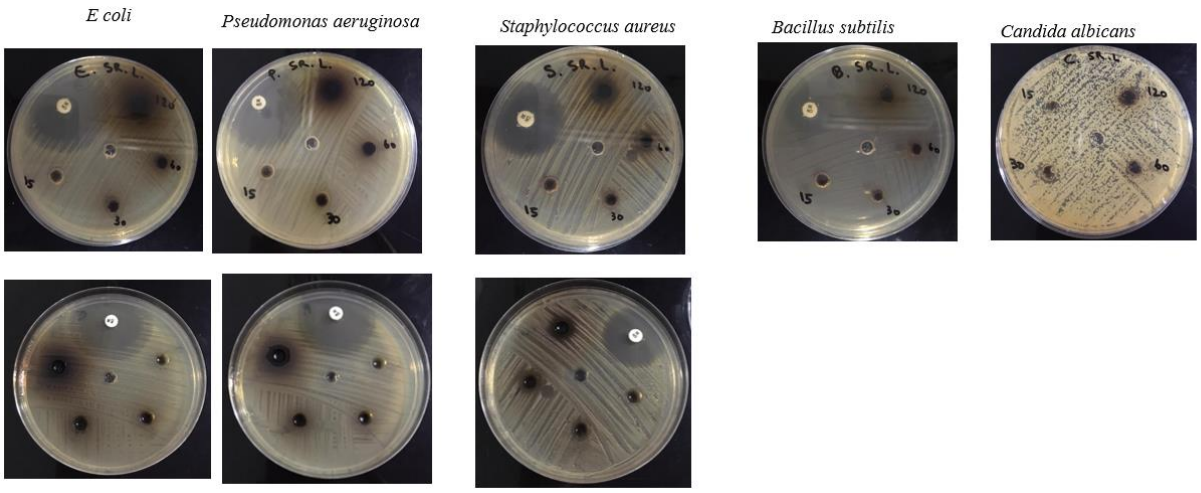
NB: *Ce bulletin est identique à la souche archivée chez le laboratoire qui ne contient aucun surcharge ou correction et dans le cas contraire la présente feuille sera annulée*

Édité le: 31/03/2024 **Le Laboratoire**

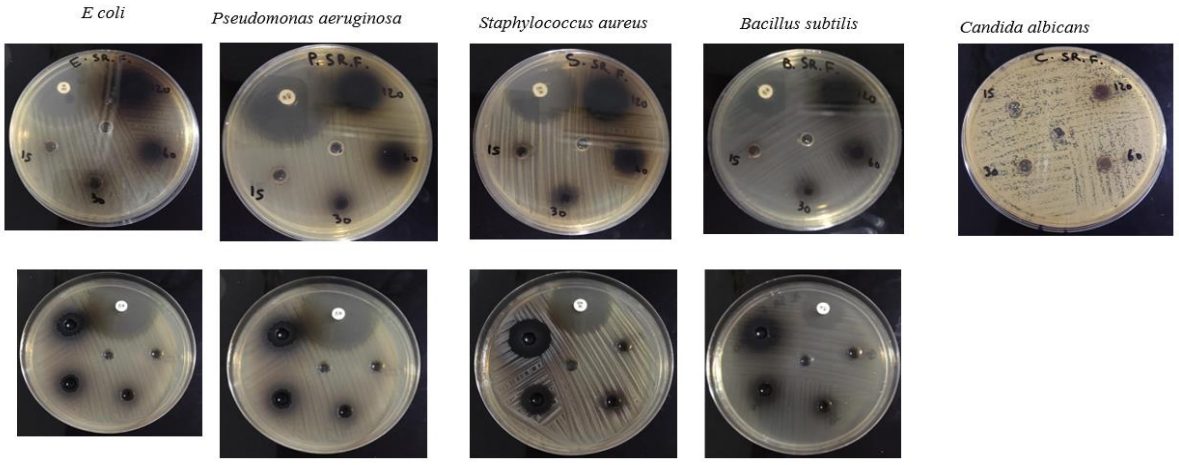
الملحق 05: نتائج مخبر الجودة ل CMR



الملحق 06: قياس مضاد للجراثيم بواسطة طريقة نشر الآبار للعينات على طبق أجار (SRR)



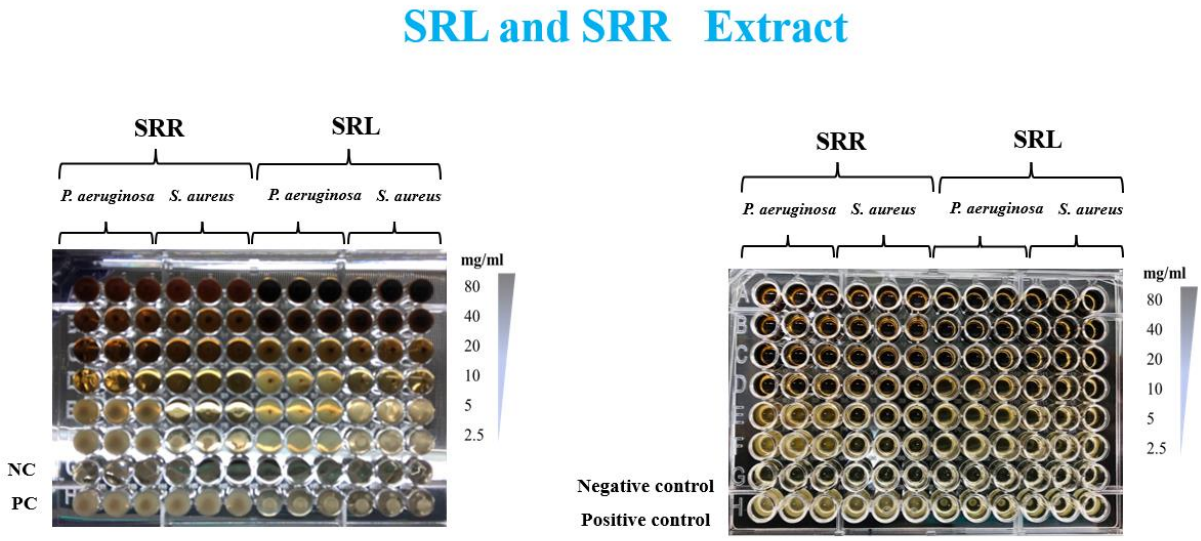
الملحق 07: قياس مضاد للجراثيم بواسطة طريقة نشر الآبار للعينات على طبق أجار (SRL)



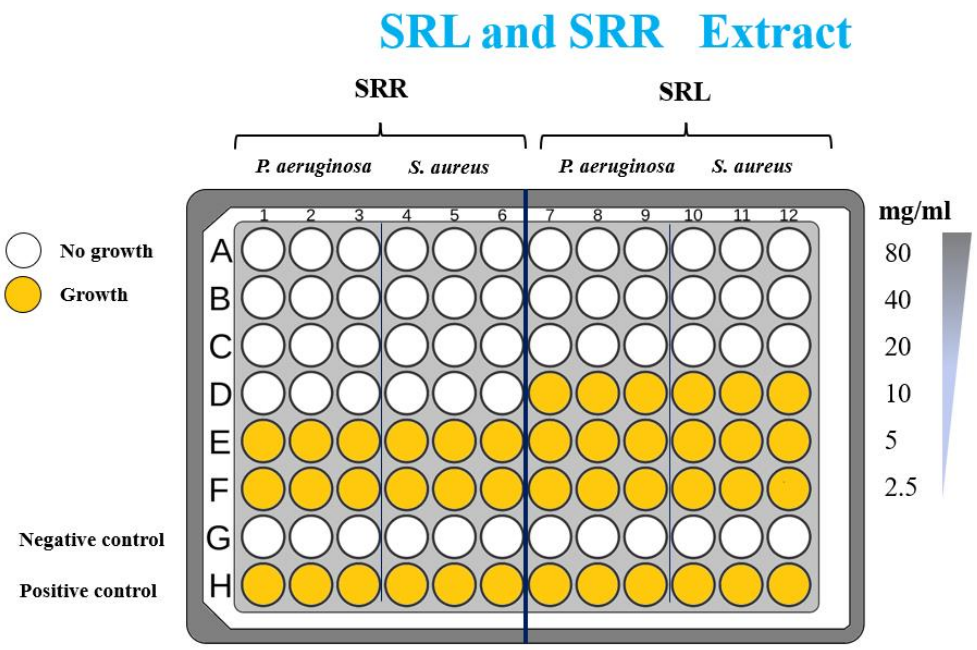
الملحق 08: قياس مضاد للجراثيم بواسطة طريقة نشر الآبار للعينات على طبق أجار (SRF)

الملحق 09: نتائج الاختبارات المضادة للبكتيريا (**CMR**)

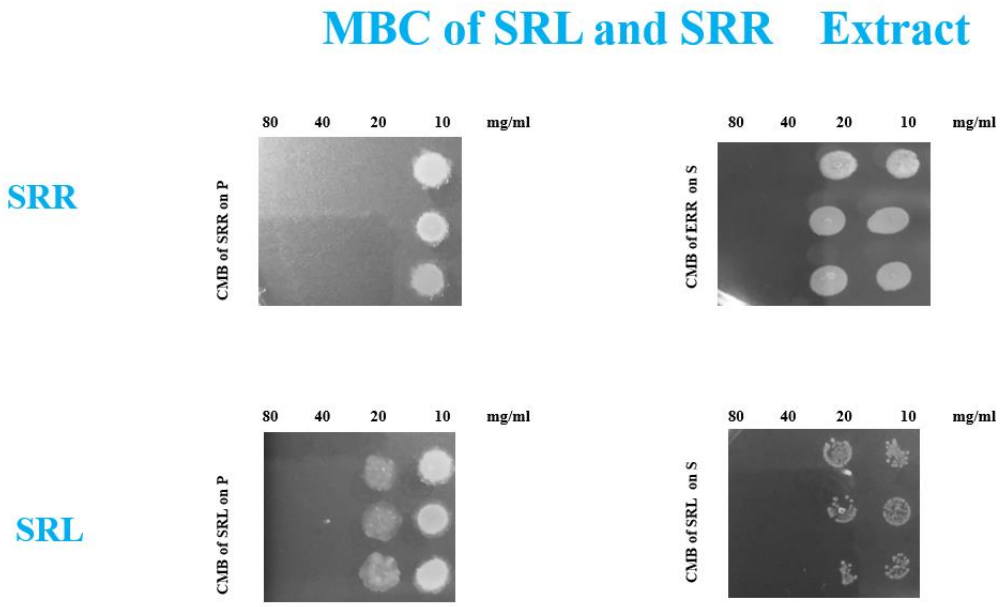
الملحق 10: نتائج الاختبارات المضادة للبكتيريا (**CML**)



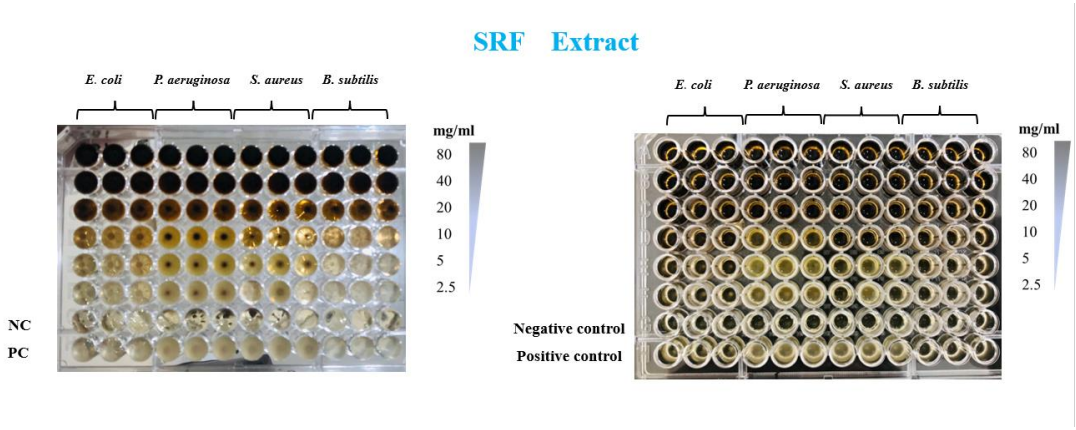
الملحق 11: طريقة التخفيف الدقيق للمرق لقياس النشاط المضاد للميكروبات MIC وMBC



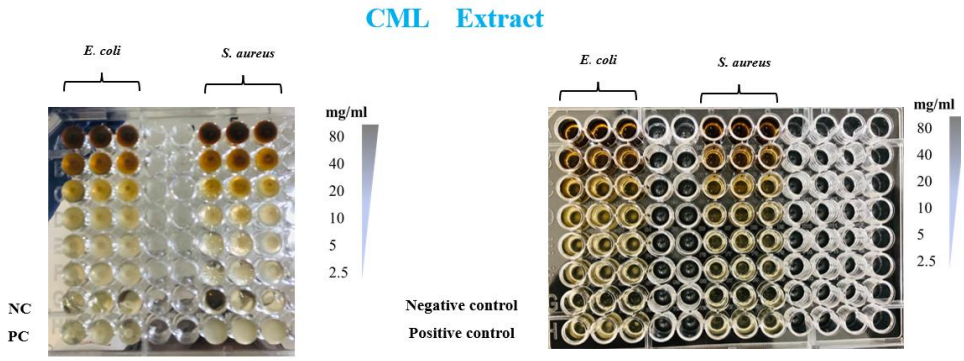
الملحق 12: طريقة التخفيف الدقيق للمرق لقياس النشاط المضاد للميكروبات MIC وMBC



الملحق 13: طريقة التخفيف الدقيق للمرق لقياس النشاط المضاد للميكروبات MIC وMBC



الملحق 14: طريقة التخفيف الدقيق للمرق لقياس النشاط المضاد للميكروبات MIC وMBC



الملحق 15: طريقة التخفيف الدقيق للمرق لقياس النشاط المضاد للميكروبات MIC وMBC

Bacteria strains (n = 3)	SRF extract		
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
Escherichia coli	10	20	2
Pseudomonas aeruginosa	20	40	2
Staphylococcus aureus	10	20	2
Bacillus subtilis	40	80	2

> very high concentration

الملحق 16: نسبة MIC، MBC، و MBC/MIC لمستخلص SRF ضد البكتيريا المختلفة

Bacteria strains (n = 3)	SRR extract		
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
Pseudomonas aeruginosa	10	20	2
Staphylococcus aureus	10	40	4

> very high concentration

الملحق 17: نسبة MIC، MBC، وMBC/MIC لمستخلص SRR ضد البكتيريا المختلفة

Bacteria strains (n = 3)	SRL extract		
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
Pseudomonas aeruginosa	20	40	2
Staphylococcus aureus	20	40	2

> very high concentration

الملحق 18: نسبة MIC، MBC، وMBC/MIC لمستخلص SRL ضد البكتيريا المختلفة

Bacteria strains (n = 3)	CML extract		
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MBC/MIC
Escherichia coli	40	40	1
Staphylococcus aureus	40	40	1

> very high concentration

الملحق 19: نسبة MIC، MBC، وMBC/MIC لمستخلص CML ضد البكتيريا المختلفة

Dr. Binda Pipaliya / Afr.J.Bio.Sc. 6(10) (2024) ISSN: 2663-2187

https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.10.2024.6266-6280

African Journal of Biological Sciences

Journal homepage: http://www.afjbs.com

Research Paper Open Access

Investigation of Secondary Metabolite Content and Antioxidant and Inhibitory Activities of Extracts from Parts of *SalsolaRichteri*L. Plant

BiklAbdelmalek[a,b],Ghemam Amara Djilani[a*],Laiche Ammar Touhami[c,d], Mohammed Messaoudi[a*]Abdelbasset Kaddour[G],BentaharAssia[e],Alia zeid[fa], Ahmed ElkhalifaChemsa[ad],NourElhoudaMekhadmi[ad],nizarcharrada[c], Yassin boras[h], Samir aydi[a]

[a] Laboratory of Biology, Environment and Health, El Oued University, El Oued, Algeria.

[b] Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Natural Science and Life, El Oued University, El Oued, Algeria.

[c] Higher School of Agriculture Saharian, El-Oued, Algeria.

[d] Laboratory of Biodiversity and Applications of Biotechnology in the Agriculture Field, University of ChahidHamma. Lakhdar, El-Oued, Algeria.

[e] Laboratory of Phytotherapy Applied to Chronic Diseases SNV Faculty, University of Setif 1, Setif, Algeria.

[f] Department of Agronomic Faculty of Natural Science and Life, El Oued University, El Oued, Algeria.

[fa]bLaboratory of biodiversity and valorisation of bioresources in arid zones (LR18ES36). Faculty of Sciences at the University of Gabes, Zrig 6072 Gabes, Tunisia.

[h] Laboratory of Applied Chemistry and Environment, Faculty of Exact Sciences University of Eloued, Algeria. Department of Biology Faculty of Exacte Science and Nature, University of Tebessa, Algeria.

***Corresponding Author:**Ghemam Amara Djilani, Laboratory of Biology, Environment and Health, El Oued University, El Oued, AlgeriaEmail: djilani-ghemamamara@univ-eloued.dz ; ghemamamaradjilani@gmail.com.

Article History

Volume 6,Issue 10, 2024

Received: 29-04-2024

Accepted : 29-05-2024

doi: 10.48047/AFJBS.6.10.2024.6266-6280

Abstract

The *SalsolaRichteri* plant is traditionally used for the treatment of many diseases. The objective of this study was to investigate the content of active compounds and antioxidants in three different plant parts (leaves, flowers, and roots) of *SalsolaRichteri*. Total polyphenol content (TPC) was assessed using the Folin-Ciocalteu reagent, flavonoid content (TFC) was evaluated using quercetin as a reference compound, and tannin content (TTC) was measured using tannic acid. To evaluate antioxidant properties, the assays used included 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ABTS++ radical cation scavenging activity, iron-chelating activity, and Hydrogen Peroxide Radical Scavenging (activitywere activity).

Among the extracts studied, the root extract had the highest tannin content (25.75 ± 2.08 mg AT/g DR) and the highest extraction yield (34%). The leaf extract showed the highest total polyphenol and flavonoid contents (173.98 ± 1.63 mg GAE/g DR, 135.93 ± 1.44 mg QE/g DR, respectively). The root extract also exhibited the strongest antioxidant activity, as measured by DPPH, ABTS, and FRAP assays, with lower IC50 and EC50 values indicating higher efficacy. The results indicated that all extracts demonstrated anti-hemolytic activity, with the leaf extract showing the highest inhibition rate, estimated at 93.14 ± 0.39%. Therefore, *SalsolaRichteri*extracts contain various bioactive compounds, validating their use in traditional treatments.

Keywords: *SalsolaRichteri*; Antioxidants; Anti-hemolysis; Secondary metabolites.