الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

رقم الترتيب:.....

الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: **كيمياء عضوية**

إعداد الطالب: **غمام عمارة عبد الحي**

بعنوان:

دراسة الفعالية البيولوجية والكيميائية لمستخلصات نبات الشريك *Fagonia cretica .L*

نوقشت يوم: 2018/06/09

أمام اللجنة المكونة من:

بعيو سمير	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	رئيسا
بن شيخة نعيمة	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	ممتحنا
زمالي جعفر	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	ممتحنا
سنيقرة موسى	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مؤطرا ومقررا

الموسم الجامعي : 2018/2017

بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

أهدي هذا العمل وثمرة جهدي هذا إلى الوالدين الكريمين

عبدالله وزينة

إلى جميع أفراد الأسرة كل باسمه

إلى زملائي

إلى زملاء الفريق التربوي بمدرسة الشهيد عوينات الجيلاني إدارة وأساتذة

إلى تلاميذي

إلى كل يد قدمت العون في السر والعلن

إليك جامعتي

جامعة الشهيد حمة لخضر – الوادي –

أهدي عملي هذا

الشكر والعرفان

قال تعالى: أعوذ بالله من الشيطان الرجيم

"الحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ"

سورة الأعراف الآية 43

أشكر الله أولا و آخرا الذي هداني وأعانني على إنجاز هذا العمل وأرجو أن يجعله شمعة تنير المكتبات العربية.

"من لم يشكر الناس لم يشكر لله"

أشكر من علمني أول حروفي وأعانني في طريقي التعليمي ، والديَّ العزيزين أعانني الله على بركما وطاعتكما.

أشكر أستاذي "سنيقرة موسى " الذي شرّفت بإشرافه على هذه المذكرة فله مني كل الشكر

أشكر أعضاء لجنة المناقشة نظير قبولهم و جهدهم لإثراء هذه المذكرة.

كما أتوجه بكل عبارات الشكر والامتنان إلى كامل أفراد أسرة العلوم الدقيقة أخص أساتذتي في قسم الكيمياء والمخبريتين حفيظة، كريمة ، دمتم في خدمة العلم و الطلبة .

وأتوجه بالشكر الجزيل إلى كل أصدقائي وزملائي في الدراسة والعمل أخص شعيب وعبد اللطيف ، عبد الحميد ، عبد الغني ، أحمد ، عماد ، محمد وجميع زملاء وزميلات دفعة 2017 /2018 كل باسمه.

عبد الحي

الملخص:

إن حاجة الانسان الماسة إلى التداوي و ما تشهده العلوم الطبية من تطور إزداد معها الاهتمام بالنبات الطبية أكثر فأكثر ، فمن هذا المنطلق بات لزاما الاسهام في هذا المجال وذلك بهذا البحث المتمثل في الدراسة البيولوجية والكيميائية لمستخلص نبات الشريك *fagonia critica.L* المتحصل عليه بعملية الاستخلاص (سائل – صلب) و (سائل – سائل) بواسطة المذيبات العضوية المتمثلة في الهكسان ، الكلوروفورم ، أسيتات الايثيل ، ن- بيتانول.

بينت الدراسة أن نبتة الشريك *fagonia critica.L* تحتوي على أغلب المواد الفعالة الصابونيات ، العفصيات ، الفلافونيدات و الستيرويدات والستيرولات غير المشبعة والتربينات مع غياب الالكويدات ..

كما بينت أن مستخلص الكلوروفورم يملك فاعلية بيولوجية في التركيز ($\frac{g}{l}$) **C ≥ 3** . وكما أوضحت أيضا الفاعلية الكيميائية - المضادة للأكسدة - لجميع المستخلصات عدا الهكسان وهذا باتباع طريقة التثبيط للجذر الحرDPPH ، وفي الأخير تم التقدير الكمي لعديد الفينول في المستخلصات حيث بلغت 97.4 ملغ /غ من مستخلص عينة ن - بيتانول, و 79.48 ملغ/غ من مستخلص عينة الكلوروفورم وانعدامها في أسيتات الايثيل و الهكسان .

الكلمات المفتاحية: *fagonia critica.L* ، مضادات الأكسدة، الاستخلاص، الفاعلية البيولوجية.

Abstract:

The human need for medical treatment and the medical sciences are witnessing a development that has increased the interest of the medicinal plant more and more, it is therefore necessary to contribute in this field by this research of the biological and chemical study of the extract of the *fagonia critica.L* obtained by the extraction process Liquid - solid) and (liquid - liquid) by organic solvents of hexane, chloroform, ethyl acetate, n - betanol.

The study showed that the *fagonia critica L.* plant contains the most active substances: sapphones, alfalfa, flavonoids, steroids, unsaturated sterols and terpenes with no alkaloids.

It also showed that the chloroform extract has a biological effect in the concentration **C ≥ 3 (** $\frac{g}{l}$ **)**. Also, the chemical efficacy of the antioxidant was shown for all the extracts except hexane. This is done by the DPPH inhibiting method. Finally, Mg / g of n-betanol extract and 79.48 mg / g of chloroform extract and its absence in ethyl and hexane acetate.

Keywords: *fagonia critica.L*, Antioxidant, Extraction, Biological Effectiveness.

الفهرس

الفهرس

الإهداء I
الشكر والعرفان II
الملخص III
Abstract IV
الفهرس VI
قائمة الأشكال XI
قائمة الجداول XIII
المقدمة العامة 1
المراجع 4

الفصل الأول

دراسة نظرية حول النبتة *Fagonia cretica .L*

مدخل 6
1- العائلة الرطراطية (الزيغوفيلاسيا) *zygophyllaceae*: 7
1-1- الأجناس الرئيسية للعائلة الرطراطية *zygophyllaceae*: 7
2- نبات الشريك *Fagonia cretica. L* 9
1-2- التصنيف النباتي لـ *Fagonia cretica.L*: 10
2-2- الوصف المورفولوجي للنبات : 11
3-2- النمو والإزهار: 12
4-2- أماكن التواجد: 12
5-2-الإنتشار الجغرافي: 13
المراجع 14

الفصل الثاني

عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية

مـــدخـــل : 18
1-البكتيريا: 18
1-1- مفهوم البكتيريا : 18

1-2- خصائص البكتيريا : 19
1-3- تصنيف البكتيريا: 20
1-3-1- من حيث توزيع أسواطها: 20
1-3-2- من حيث الشكل : 20
1-3-3- من حيث الوسط التي تعيش فيه : 20
1-3-4- من حيث التغذية : 20
1-3-5- من حيث طريقة التلوين (غرام) : 21
1-3-6- من حيث الأثر على الكائنات الحية : 21
2- المضادات الحيوية : 23
2-1- تعريف المضادات الحيوية : 23
2- 2- أنواع المضادات الحيوية : 24
2-2-1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: 24
2-2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية : 24
2-3- تأثير المضادات الحيوية : 24
2-3-1- العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا : 24
2-3-2- العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا: 25
2-3-3- العمل على تثبيط نمو ADN : 25
2-4- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية : 25
2-4-1- خواص الجذمة البكتيرية : 25
2-5- كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي : 26
المراجع 28

الفصل الثالث

المواد الفعالة ومضادات الأكسدة

مقدمة : 31
1- المواد الفعالة : 31
1-1- المركبات الفينولية: 31
1-1-1- تعريف المركبات الفينولية: 31

1-1-2- مصدر المركبات الفينولية: 31
1- 1-3- أصناف المركبات الفينولية: 32
1-2- الفلافونويدات: 33
1-2-1- أقسام االفلافونويدات: 33
1-2-2- بعض أنواع الصيغ الفلافونويدية [10] : 34
1-2-3- خواص الفلافونيدات المقاومة للتأكسد: 34
1-3- الأحماض الفينولية: 35
1-4- العفصيات: 35
2- الفعالية المضادة للأكسدة: 36
2-1-الجذور الحرة (الشق الحر): 36
2-2- أنواع الجذور الحرة حسب استقرارها: 36
2-3- أضرار الجذور الحرة: 38
3- مضادات الأكسدة: 39
3-1- تعريف مضادات الأكسدة: 39
3-2- تصنيف مضادات الاكسدة: 39
3-2-1- مضادات أكسدة طبيعية: 39
3-2-2- مضادات اكسدة مصنعة: 39
4- خصائص علاجية لبعض المركبات الفينولية : 41
المراجع 42

الجزء العملي

مدخل : 47
1-1- تحضير العينة 47
1-1-1- تحضير عينة الدراسة : 47
1-2-1- جني النبتة وتجفيفها : 47
1-2- طريقة الاستخلاص بالمذيبات: 47
1- 3- الاستخلاص (صلب / سائل): 48
1-3- 1- النقع على البارد: 48

1-3-1- 1 - طريقة الاستخلاص : 48
1-3-1-2-عملية الترشح: 49
1-3-1-3- تركيز المستخلص: 50
1-4- الاستخلاص بواسطة المذيبات غير القطبية : 51
1-4-1- الاستخلاص سائل/ سائل : 51
1-4-2- فصل المركبات 51
1-4-2-1- طريقة الاستخلاص 52
1-4-2-2- حساب مردود الستخلاص للمذيبات الاربعة : 54
2- الكشف عن المواد الفعالة لنبات الشريك *Fagonia cretica. L* (الدراسة الفيتوكميائية) : 55
2-1- الاختبارات الكيميائية الأولية *التحليل الكيفي*..... 55
2-2- اختبار الألكالويدات :Les Alcaloides 55
2- 3- اختبار الصابونوزيدات :Les Sap onosides 56
2-4 - اختبار الستيرويدات *Stéroides*..... 57
2-5 -اختبار العفصيات :Tanins 58
2- 6 - اختبار الستيرولات غير المشبعة و التربيتات " Stéroles Insatures et Terpénes": 58
2-7- اختبار الكاردينوليدات " Cardénolides":..... 59
2-8- اختبار الفلافونيدات "Flavonoides " : 60
2-8-1-الاختبار العام للفلافونيدات:..... 60
2- 9 - نتائج الكشف عن العناصر الفعالة : 61
2- 10- مناقشة النتائج: 61
3- اختبار الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا : 61
3-1- أنواع البكتيريا المستعملة:..... 62
3-2 ـ الأدوات والمواد المستخدمة: 62
3-3- تحضير وسط زراعي: 62
3-4- تحضير الأقراص:..... 62
3-5- تحضير المعلق الميكروبي:..... 62
3-6- الحضن: 63

3-7- القياس: 63
3- 8 - تفسير النتائج: 64
4- اختبارالفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات العضوية : 65
4-2 - اختبار تثبيط الجذر الحرDPPH : 66
4-2-1 – الاساس النظري للتفاعل : 66
4-3- النتائج والمناقشة : 67
4 - التقدير الكمي لمتعدد الفينول (بولي فينول) : 72
4-2- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible: 73
المراجع 76
الخاتمة 77
الملاحق 77

قائمة الأشكال

الشكل 1:صورة لـ *Fagonia microphylla* 8
الشكل 2: صورة لـ *Fagonia Latifolia* 9
الشكل 3: صور توضيحية تمثل كل من (الساق والثمار ، الاوراق ، الازهار) 11
الشكل 4: الشكل التخطيطي لنبات *Fagonia cretica. L* 12
الشكل 5: مناطق الانتشار 13
الشكل 6: رسم تخطيطي لخلية بكتيرية 19
الشكل 7: بكتيريا *Escherichia coli* 22
الشكل 8: :بكتيريا *Staphylococcus aureus* 23
الشكل 9: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا 26
الشكل 10:الصيغة الكيميائية لمركب فينولي بسيط 31
الشكل 11: الهيكل الأساسي للفلافونويدات و أهم المواقع المتدخلة في تأثيراتها 33
الشكل 12: صيغة Tanin Gallique 35
الشكل 13:رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة وأنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا 38
الشكل 14:معادلة تفاعل مضادات الأكسدة 39
الشكل 15:يوضح بنية BHA 40
الشكل 16: يوضح بنية BHT 40
الشكل 17:يوضح بنية GA 40
الشكل 18: المستخلص المائي 49
الشكل 19: مخطط يوضح خطوات عملية تحضير المستخلص النباتي الخام 50
الشكل 20:استخلاص سائل /سائل 51
الشكل 21: مخطط الفصل 53
الشكل 22: مراحل الاستخلاص بالمذيبات غير القطبية 54
الشكل 23: الكشف عن الألكالويدات 56
الشكل 24:اختبار الصابونوزيدات 56
الشكل 25: الكشف عن الستيرويدات غير المشبعة 57

الشكل 26: اختبار الستيرويد 57
الشكل 27: الكشف عن العفصيات 58
الشكل 28: اختبار الستيرولات غير المشبعة و التربيتات 59
الشكل 29: اختبار الكاردينوليدات 60
الشكل 30: اختبار الفلافونيدات 60
الشكل 31:أهم مراحل خطوات العمل 63
الشكل 32: يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للاكسدة مع الجذر الثابت DPPH 66
الشكل 33: تفاعل الجذر الحر DPPH مع مركب مضاد للأكسدة 66
الشكل 34: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الهكسان لجذر DPPH 68
الشكل 35 : النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الكلوروفورم لجذر DPPH 69
الشكل 36: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص اسيتات الايثيل لجذر DPPH 69
الشكل37 : النسبة المئوية لإرجاع مستخلص ن- بيتانول لجذر DPPH..... 70
الشكل 38: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الاسكروبيك لجذر DPPH 71
الشكل 39: المنحنى القياسي لحمض الغاليك..... 73
الشكل 40: كمية عديدات الفينول في المستخلصات 74

قائمة الجداول

جدول 1: التصنيف النباتي لـ *Fagonia cretica. L* حسب (لينوس 1753) 10
جدول 2: بعض أصناف المركبات الفينولية: 32
جدول 3: بعض أنواع الصيغ الفلافونويدية 34
جدول 4: بعض المركبات الفينولية المستعمله في الطب والصيدلة 41
جدول 5: يوضح خصائص المذيبات المستعملة 49
جدول 6: قيم المردود 55
جدول 7: نتائج الكشف عن العناصر الفعالة 61
جدول 8: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز gl c = 0.5 64
جدول 9: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز gl c = 3 64
جدول 10: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز gl c = 7 65
جدول 11: قيمة IC50 للمستخلصات العضوية وحمض الاسكروبيك**mgml** 71
جدول 12: قيم الامتصاصية لحمض الغاليك 73
جدول 13: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة 73
جدول 14: كمية عديدات الفينول في المستخلصات 74

المقدمة العامة

إن العلاقة بين الانسان والنبات متجذرة ضاربة في أعماق التاريخ على سطح هذه المعمورة ، فسواء على المستوى الغذائي الذي يكسبها القيمة الاقتصادية أو على المستوى العلاجي الوقائي الذي أكسبها أهمية طبية منذ العصور الأولى إلى يومنا هذا .

ومما لا شـك فيه ، أن التنوع في المناخ والتربة الأثر البالغ في اختلاف الغطاء النباتي الطبيعي و هذا ما جعل الجزائر تزخر بأنواع شتى من الأنواع النباتية ، ومن أبرزها ثروتها من النباتات الطبية التي تملك فضائل علاجية غير محدودة يمكن أن تلبي الاحتياجات الأساسية في مجال الصحة . [1]

حيث شهدت هذه الفترة كثيرا من الدراسات حول تأثير المستخلصات النباتية على نمو الأحياء المجهرية – البيكتيريا - وبالتالي إمكانية استخدامها في علاج بعض الامراض الناتجة عن الإصابات الميكروبية المختلفة، وتطورت الأبحاث حول هذه المستخلصات خلال السنوات السبع الأولى من هذا القرن، وتضاعف عدد الدارسات في هذا المجال، وسعي العلماء في البحث عن مكوناتها . [2]

و من جهة أخرى في كل مرة نتناول فيها الغذاء لا يخطر ببالنا أن هذه المواد التي تضمن لنا الحياة تسبب في نفس الوقت فضلات ينتج عنها أكسدة لها تأثير سلبي علينا، لذا يخضع البعض إلى برامج من أجل تنظيف الجسم من هذه المواد مثل الصيام لمدة أسبوع، والاكتفاء بتناول السوائل أو مأكولات معينة فقط. و يفضل معظم الأطباء أن تكون عملية تنظيف الجسم على قاعدة أنواع معينة من الأعشاب الطبية المفيدة التي تعمل كمضادات للتأكسد مع اتباع نظام حمية خاص، ومن ابرزها الاعشاب التي يمكن استخدامها في الطهي القرنفل والكمون والثوم والاوريغانو والزنجبيل والقصعين والزعتر البري، كما تعتبر بهارات الكاري الهندي مضادة للاكسدة عالية الفعالية.[1]

كما أن وظائف الجسم ترتبط بتفاعلات الأكسدة والإرجاع التي تؤدي إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة ومضادات الأكسدة الطبيعية، فالتوازن بين إنتاج هذه الجزيئات والتخلص منها يضمن الحـفاظ على الوظائف الفيزيولوجية الطـبيعية للـجسم [3] ، إلا أن الإفـراط في إنـتاجها يؤدي إلى أضرار على المستوى الجزيئي مسببا ضرر الأنسجة وحدوث العديد من الأمراض، و يمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة والتي تستعمل بكثرة كإضافات في الأغذية أو أشكال صيدلانية مختلفة [4].

ومن هنا يمكننا القول بأن تأثير المستخلصات النباتية على نمو الأحياء المجهرية – الفاعلية البيولوجية - و مضادات الأكسدة الطبيعية – الفاعلية الكيميائية - هي موضوعات لكثير من البحوث

الجديدة نحو استغلال المركبات الثانوية من بينها مادة البوليفينول و الفلافونيدات التي لهما خصائص مضادة للأكسدة وكذا الفاعلية البيولوجية .

و تعتبر النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للمركبات الفينولية كمنتجات ثانوية، إلا انه هناك تفاوت واختلاف في مردودية هذه المركبات من نبتة إلى أخرى ، مما ينجم عنها فعالية مختلفة .

وتكملة للأبحاث السابقة في هذا المجال قمنا بدراسة تجريبية لنبات الشريك ***Fagonia cretica. L*** التي تنتمي إلى العائلة الرطراطية ، حيث سيتم التقدير الكيفي و الكمي لقيم المركبات الفينولية المتواجدة فيه و اختبار فعاليتها المضادة للأكسدة و كذلك الفعالية البيولوجية لها.

وإيمانا منا بالمساهمة في تثمين الغطاء النباتي في منطقتنا ارتأينا بالمشاركة بهذا البحث المتواضع وقد قسم إلى جزئين نظري وعملي

❖**الجزء النظري:** ويضم ثلاثة فصول

- ✓ الفصل الأول: تمت فيه دراسة نظرية حول نبات *Fagonia cretica. L*
- ✓ الفصل الثاني: عموميات حول البكتيريا
- ✓ الفصل الثالث: مواد الأيض الثانوي (المركبات الفينولية و مضادات الأكسدة.)

❖ **الجزء العملي:** ويتضمن فصلين:

- ✓ الفصل الأول : تمت فيه عمليات الإستخلاص (صلب - سائل) و(سائل - سائل)
- ✓ الفصل الثاني :
  - الكشف عن المواد الفعالة في النبات
  - دراسة الفاعلية البيولوجية للمستخلصات
  - دراسة مضادات الأكسدة بطريقة التثبيط الجذري ل DPPH.
  - التقدير الكمي لعديد الفينولات

المراجع

اللغة العربية:

[1] بسمة شمسة . دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلصا لكحولي والمائي عند نبات *(Zygophyllum album* L.) . مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي جامعة الشهيد حمه لخضر . الوادي. ص: 13 .

[2] عزت الفارس، الرمان غذاء ودواء، ماجستير قسم التغذية، كلية الصيدلة، الرمان وفوائده، جامعة البترا الأردنية.

[4] بن سلامة ع.ا2012 - .,النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق L*Hertia cheirifolia*.مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس .سطيف. الجزائر90 .ص

اللغة الأجنبية:

[3] OZGEN U., MAVI A., TERZI Z., YILDIRIM A., COSKUN M., HOUGHTON P.J.,2006- Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. Pharm Biol. 44: 107-112

الفصل الأول

دراسة نظرية حول النبتة *Fagonia cretica .L*

مدخل

منذ آلاف السنين، عرف الإنسان العديد من الأمراض و سعى دائما لعلاجها أو التخفيف من آلامه لذلك استخدم مختلف الموارد الموجودة في البيئة الطبيعية للعلاج وعلاج جميع أنواع الأمراض و من بينها التدواي بالنباتات و تسمى هذه النباتات بالنباتات الطبية.

لطالما اعتبرت النباتات الطبية مصدرا أساسيا لصحة الإنسان، و لا تزال العديد من الثقافات التقليدية تثمن الوصفات الطبية النباتية و أهميتها الوقائية و العلاجية و منافعها الأخرى، .يتقدم علم التداوي بالأعشاب بمفهومه الحديث تقدما كبيرا في مختلف أرجاء العالم و يزداد الاهتمام بدراسة النباتات الطبية في مجال البحث البيوصيدلاني نظرا لخصائصها العلاجية و كلفتها المنخفضة و سهولة الحصول عليها و العلاقة التراثية بها و الاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا و نجاعة من العقاقير المصنعة [1]

منظمة الصحة العالمية (OMS) تقدر أن حوالي ٪80 حاليا من سكان العالم يستخدمون المستحضرات النباتية التقليدية للشفاء، فمثلا في أفريقيا حوالي ٪ 80 من السكان يستخدمون النباتات الطبية التقليدية وتعتبر المصدر الوحيد للأدوية، و في الصين حوالي ٪ 40 من السكان يستخدمون النباتات الطبية في الرعاية الصحية، وكذلك بعض بلدان أمريكا اللاتينية أن ٪71 من سكان شيلي يستخدمون الطب التقليدي وكذلك ٪40 من سكان بريطانيا، وتشير كل هذه الأرقام إلى أن الناس يتحولون مرة أخرى إلى الطب التقليدي خاصة اتجاه النباتات التقليدية الطبية، في كثير من البلدان المتقدمة فإن شعبية الطب التقليدية (الذي يسمى بالطب التكميلي) تغذيها المخاوف بشأن الآثار الضارة للعقاقير كيميائية.[2]

في الواقع منظمة الصحة العالمية لديها استراتيجية لحماية المواد الخام في النباتات، لأن الأبحاث وجدت في النباتات من الجزيئات الجديدة النشطة أو المواد الخام للدور نصف التصنيع التي تستخدم في الصيدلة لصناعة العقاقير المشتقة من النباتات.[3]

في هذه الدراسة وقع الاختيار على أحد النباتات التي تنمو في منطقتنا وهو نبات الشريك ، وأما الدافع لهذا الاختيار أن هذا النبات لم تتم عليه الدراسة بشكل كبير وهو يندرج تحت العائلة الرطراطية *.zygophyllaceae*

1- العائلة الرطراطية (الزيغوفيلاسيا) *zygophyllaceae*:

و هي عائلة مكونة من حوالي 27 جنس و 285 نوع، معظم نباتات هذه العائلة شجيرات، أعشاب و نادرا ما تكون شجرة، في الغالب محدودة في المناطق الجافة و الشبه الجافة للمناطق الاستوائية والشبه الاستوائية.[4]

حيث لوحظ في الصحراء 7أجناس و 27 نوعا، اذا تشكل العائلة الرطراطية أكثر من 3٪ من النباتات الصحراوية.[5]

1-1- الأجناس الرئيسية للعائلة الرطراطية *zygophyllaceae*:

- ✓ *. Zygophyllum (80 ssp)*
- ✓ *. Fagonia (40ssp)*
- ✓ *. Balanites (20 ssp)*
- ✓ *. Tribulus (20ssp)*

ونصادف في الولايات المتحدة القارية أجناس لـ ، *Zygophyllum : (6SPP) Guaiacum* [6] العديد من الأنواع النباتية لهذه العائلة لها خصائص علاجية معروفه، وهي تستخدم في الطب التقليدي في علاج الكثير من الأمراض نذكر بعض الأمثلة لأنواع لها أهمية علاجية :

- ❖ *Balanites aegyptiaca:* هو نبات غني بالصابونين، لديه العديد من الأنشطة نذكر منها مضادة للألتهاب، مضادة للفطريات، مطهر، مكافحة الملاريا، مضاد للفيروسات، تقليديا تستخدم مستخلصاته المائية في علاج اليرقان و مرض السكري.
- ❖ *Larrea divaricata:* هو نبات شعبي في الطب، يتم استخدامه في علاج الأورام، الأمراض الالتهابية، و الروماتيزم والحمى.
- ❖ *Larrea tridentata*: وهو نبات صحراوي، له استعمالات علاجية كثيرة، يمكن أن يستخرج منه علاج لحب الشباب، الصدفية، مضاد لفطريات ومضاد للفيروسات، كما أن لديها أنشطة مسكنة مضاد للألتهابات ومضاد للأكسدة.
- ❖ *Zygophyllum eichwaldii* :هذا النوع له العديد من الخصائص، مطهر، ضد الأكزيما، مضاد لمرض السكري، مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات.

❖ *Zygophyllum coccineum :* و هو نبات شائع في الطب التقليدي عند البلدان البحر الأبيض المتوسط ، ويتم استخدامه ضد الروماتيزم، النقرس و ارتفاع ضغط الدم، و مرض السكري **[7]**

❖ *Peganum harmala*: يستخدم المستخلص له في علاج مرض السكري و ارتفاع ضغط الدم الروماتيزم والربو، وأيضا مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات **[8] [9]** ، ومضاد للالتهاب و اليرقان والأكزيما والملاريا ومضادة للأكسدة والسرطان**[10]**

❖ *Zygophyllum gaetulum* : معروفة جيدا بخصائصه المضادة للسكري، و كذلك مضاد للتشنجات، الأكزيما، وعلاج جيد للمعدة (AQUINO et al., 2001).

❖ *Zygophyllum geslini:* يستخدم هذا النوع ضد مرض السكري، كما أن لديه أنشطة سامة للخلايا cytotoxiques (MEDJDOUB,2006).

يوجد الكثير من الانواع لـ *Zygophyllaceae* تكون سامة للبشر مثل الحرمل و البلوط وللحيوانات مثل Tribulus ssp (BRUNETON, 2002) .

وفي هذا العمل تتمحور دراستنا حول الجنس- الشكاعة - *Fagonia* والتي نجد عندها مجموعة من الانواع نذكر منها [11] :

✓ ***Fagonia microphylla* :**جنس صحراوي دائم الإنتشار في المغرب و جنوب تونس حيث طول هذه النبتة 20سم إلى 40 سم ذو ساق واقف لازج لاصق على الرمل وأغصان عديدة ومتفرعة عمودية لها دنيبات في نهاية كل ذنب 3أوراق منتهية برأس و أوراقه على شكل صلّب

الشكل 1:صورة لـ *Fagonia microphylla* [16]

✓ ***Fagonia Latifolia:*** نبتة صحراوية دائمة الإنتشار ذات أوراق سميكة و جد مميزة الوريقة الوسيطة عريضة جدا و ورود صغيرة لا تتعدى 8 مم إلى 10مم وساق نائم على الأرض كما أن النبتة زاحفة ولها شعيرات على الساق.

الشكل 2: صورة لـ *Fagonia Latifolia* [16]

✓ الشكاعة الكريتية (*Fagonia cretica*)

✓ الشكاعة عريضة الأوراق(*Fagonia latifolia*)

✓ شكاعة بروغييري (*Fagonia bruguieri*)

✓ الشكاعة العربية(*Fagonia Arabica*)

✓ لشكاعة الناعمة (*Fagonia molli*)

✓ الشكاعة المشرقية (*Fagonia orientalis*)

✓ الشكاعة الناعمة (*Fagonia mollis*)

✓ الشكاعة الصمغية (*Fagonia glutinosa*)

✓ الشكاعة طويلة الأشواك (*Fagonia longispina*)

2- نبات الشريك *Fagonia cretica. L*

- يعرف هذا النبات بإسمه الشائع « الشريك » (حليس، 2007).
- يدعى شويكة / شيكة / حليوة / ضريمة . (القاموس الجديد للنباتات الطبية).

الحُلاَوَى [2] أو الحَلاَوَى [2] أو الشُّوكَان [2] أو الشُّوَيْك [2] أو عَاقُول الغَزَالِ [2] الشكاعة الكريتية باللاتينية (Fagonia cretica) : نوع نباتي ينتمي إلى جنس الشكاعة من الفصيلة القديسية . (مجمع اللغة العربية بالقاهرة .المعجم الكبير، الجزء الخامس، صفحة 648.)

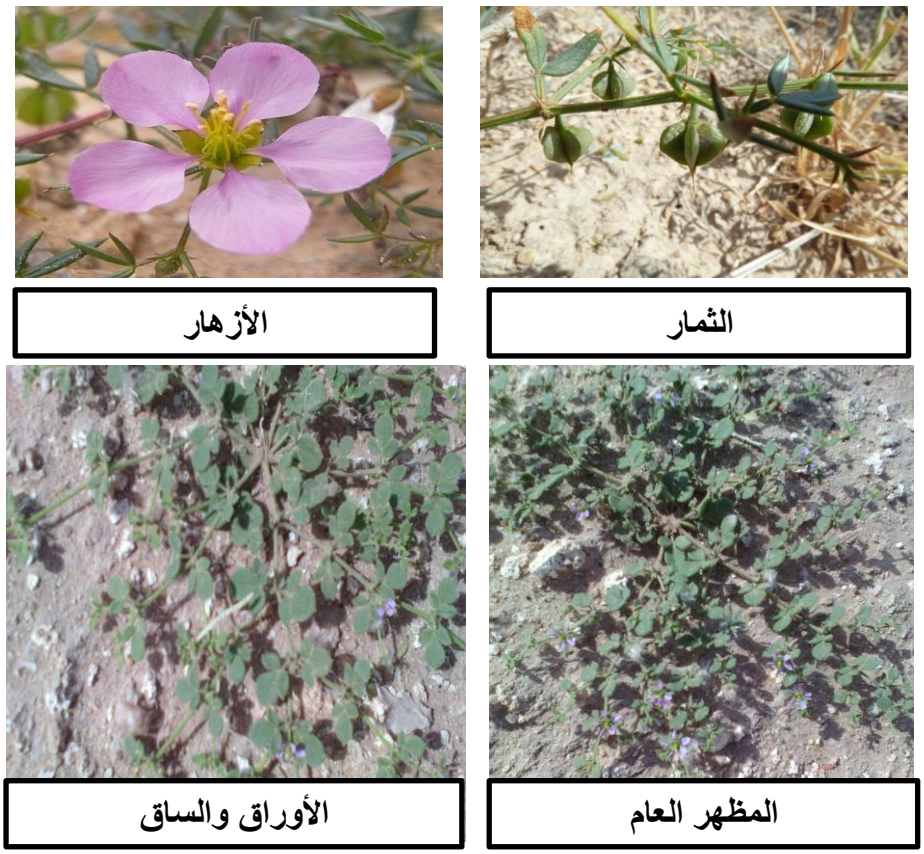
- ***Fagonia cretica.L***: عبارة عن منبسط شوكي صغير ، توجد غالبًا في الأماكن الجافة الصخور الجيرية في جميع أنحاء باكستان [11][12]. ومن المعروف أن يكون نبات طبي في العلمية و الأدب الفولكلوري وقيمه الطبية موثقة توثيقا جيدا[11][13].

1-2- التصنيف النباتي لـ *Fagonia cretica.L*:

التصنيف النباتي لـ *Fagonia cretica. L* حسب (لينوس 1753) يصنف كما هو موضح في الجدول .

جدول 1: التصنيف النباتي لـ *Fagonia cretica. L* حسب (لينوس 1753)

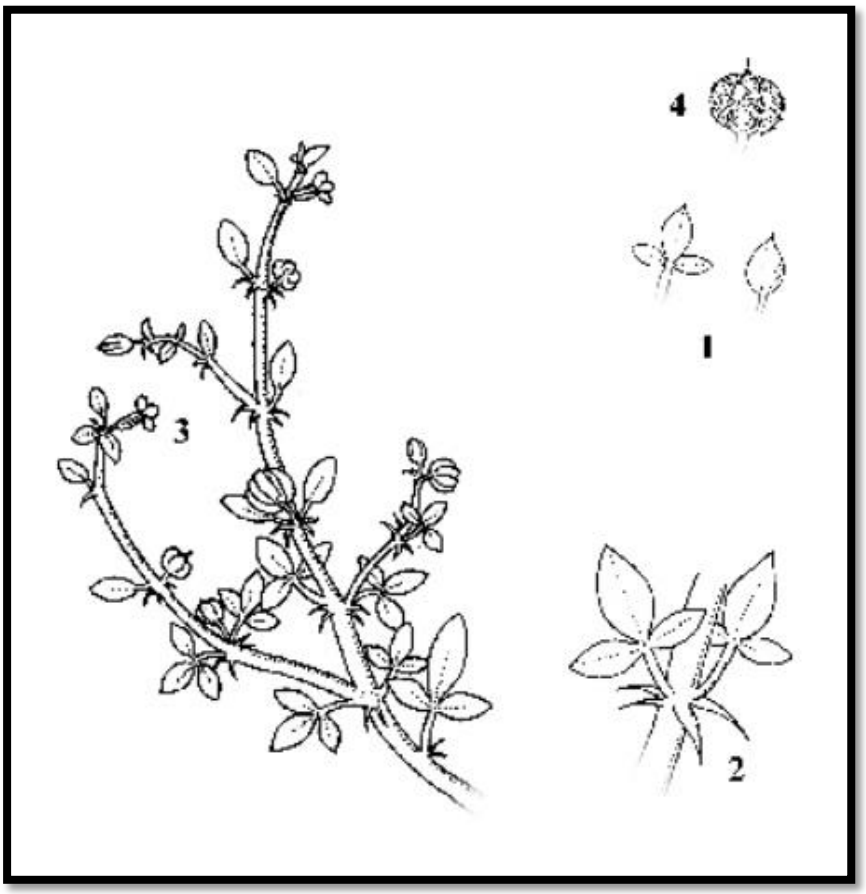
النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الشعبة	البذريات
تحت الشعبة	مستورات البذور
الرتبة	القديسيات
الفصيلة	القديسية
الجنس	الشكاعة fagonia
النوع	الكريتية cretica



الشكل 3: صور توضيحية تمثل كل من (الساق والثمار ، الاوراق ، الازهار)

2-2- الوصف المورفولوجي للنبات :

الشريك نبات عشبي صغير، ينمو زاحفا على الأرض، يحمل شعيرات كثيفة وغالبا ما تلتصق به حبيبات الرمال، السيقان كثيرة التفرع، خضراء اللون، الأوراق خضراء متقابلة، ثخينة قليلا ويوجد أسفلها زوج من الأذينات المتحورة إلى أشواك. الأزهار صغيرة وردية اللون، تعطي عند البلوغ ثمارا خماسية تحمل شعيرات واضحة [14]



الشكل 4: الشكل التخطيطي لنبات *Fagonia cretica. L* [14]

1) الأوراق السفلية مكونة من ثلاث وريقات أما الأوراق العلوية فهي مكونة من وريقة واحدة.

2) الأذينات متحورة إلى أشواك.

3) تتكون الأزهار من 05 سبلات خضراء و 05 بتلات وردية بنفسجية و 05 أسدية صفراء مع كربلة خماسية الحجرات.

4) الثمرة كبسولة مكونة من 05حجرات ملتحمة

2-3- النمو والإزهار:

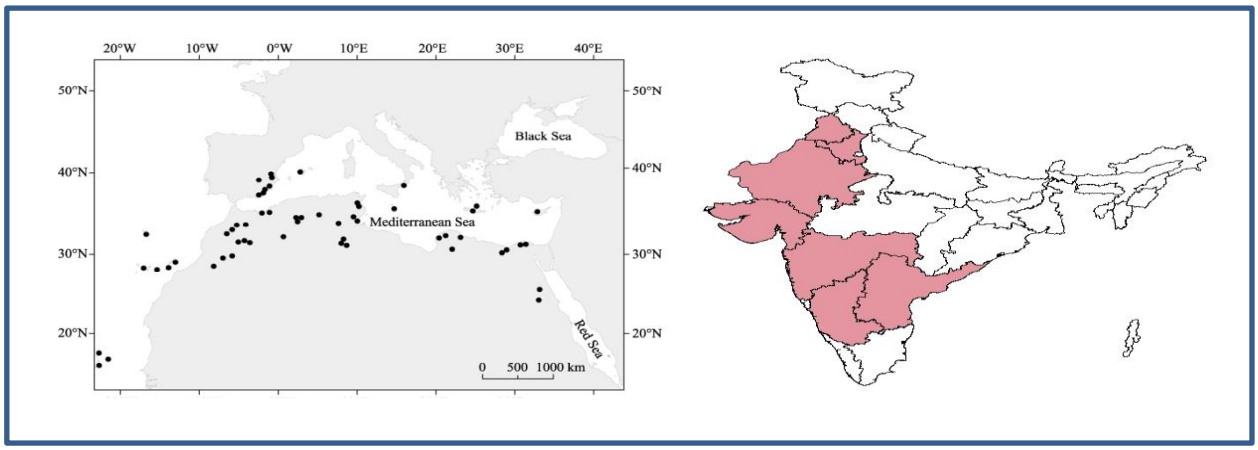
ينمو ويزهر في الربيع.

2-4- أماكن التواجد:

يتواجد في المناطق الرملية خاصة المناطق الشمالية وهو يرافق نباتات الدرين والزيتة والباقل وجميع النباتات المميزة لهذه المناطق.

5-2-الإنتشار الجغرافي:

نبات مستوطن في منطقة الصحراء الكبرى [14] ، والصورة التالية تبين مناطق الانتشار.



الشكل 5: مناطق الانتشار [15]

خلاصة :

من خلال ما تم دراسته يمكن القول أن نبات الشريك يحمل الاسم العلمي Fagonia cretica .L ينتمي إلى العائلة الرطراطية (الزيغوفيلاسيا) zygophyllaceae و هي عائلة مكونة من حوالي 27 جنس و 285 نوع، معظم نباتات هذه العائلة شجيرات، أعشاب و نادرا ما تكون شجرة، في الغالب محدودة في المناطق الجافة و الشبه الجافة للمناطق الاستوائية والشبه الاستوائية.حيث لوحظ في الصحراء 7أجناس و 27 نوعا، اذا تشكل العائلة الرطراطية أكثر من 3٪ من النباتات الصحراوية .

Fagonia cretica .L نبات (الشريك) نبات عشبي صغير، ينمو زاحفا على الأرض ينمو ويزهر في الربيع ويتواجد في المناطق الرملية كما ينتشر في منطقة الصحراء الكبرى .

المراجع

اللغة العربية:

[1] بن سلامة عبد الرحيم - 2012النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertia cheirifolia. L .مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. ص: .90

[2] سمشة بسمة - 2015 دراسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات(Zygophyllum album L.)

[14] حليس ي 2007- .,الموسوعة النباتية لمنطقة سوف ، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير .مطبعة الوليد .الوادي ص : (150-151)

[16] حميدي نور الدين - 2015 - الدراسة الفيتو كيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا (*Zygophyllaceae*) *FagoniaLongispina*)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر –مذكرة دكتوراه في الكيمياء -جامعة ابي بكر بالقايد تلمسان

اللغة الأجنبية :

[3] MEDJDOUB H., 2006 - Etude Phytochimique et Activité Biologique de *Zygophyllum geslini Coss*. produits naturels : activité biologique et synthèse. Thème magister. Université Abou Bekr Belkaid.62 p

[4] BELGUIDOUMM., DENDOUGUIH., KENDOURZ., 2015- In vitro antioxidant properties and phenolic contents of *Zygophyllum album* L. from Algeria. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 7(1):510-514

[5] OZENDA P., 1991- Flore et végétation du Sahara. 3éme édition, CNRS Edition. Paris. 662 p.

[6] JUDD WS., CAMPBELL CS., KELLOGG EA., STEVENS P., 2002 – Botanique systématique une perspective phylogénétique. De Boeck. Paris. 266 p.

[7] AYAD R., 2008 - Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *Zygophyllum cornutum (Zygophyllaceae).* Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de magister en Chimie Organique. Université Mentouri. 124 p

[**8]** IDRISSI HL., HERMAS J., 2008- Effects of *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) feeding on the digestive track of the migratory locust *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). Zool. Baetica. 19: 71-84

[9] MONSEF HR., GHOBADI A., IRANSHAHI M., ABDOLLAHI M., 2004 Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. Alkaloid extract on mouse formalin test. JPharm Pharmaceut Sci.4: 65

[10] DIWAN SY., 2013- Effect of *Peganum Harmala* methanol extract on liver and kidney of mice administered mtx drug . Journal of Al-Nahrain University. 16 (4): 161-166

[11] Chopra, R.M., Handa, K, L; Kapur, L, D., and Chopra, I.C., Indigenous Drugs of INdia. 2nd ed. Academic Publisher, New Delhi 1982, pp. 507

[12] Hooker, J.D., Flora of British India. Reeva and London 1, 1975, pp. 425

[13] Saeed, M.A; Hamdard Pharmacopoeia of Eastern Medicine, Hamdard Academy, Karachi 1969, pp. 41-43

المواقع الالكترونية

https://doi.org/10.1007/s40333-017-0076-5.**[15]**

الفصل الثاني

عموميات حول البكتيريا والمضادات الحيوية

مـــــدخـــل :

تشكل البكتيريا مجموعة الكائنات بدائية النوى , تعامل معها الانسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض و أستعمل بعضها في عمليات التخمر المختلفة .

و لقد كان للكشف المجهري الأثر في التعرف عليها, أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي (باستور Pasteur) من خلال تجاربه على التخمر و اكتشف أيضا طعومها و ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن ان توجد بالسوائل و خاصة الحليب , أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في اكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض و هو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا .

و لقد ارتبط اسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان, و لكن الاكتشافات الحديثة و التقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية و الدوائية و التخلص من المواد العضوية و غير العضوية و كذلك معالجة المياه و معالجة الحيوية لمخلفات المزارع و استخدامها في انتاج الطاقة و غاز الميثان [1]

1-البكتيريا:

1-1- مفهوم البكتيريا :

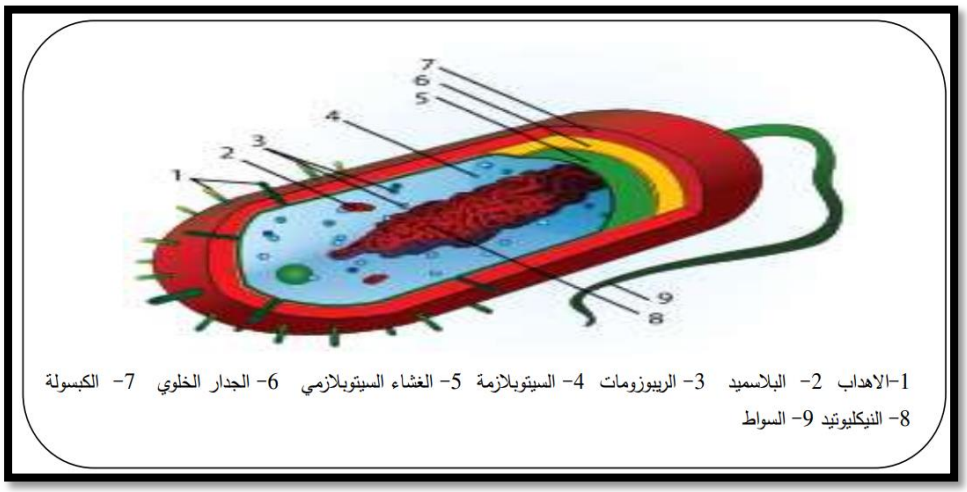
البكتيريا كائنات دقيقة لا ترى الا بالمجهر الالكتروني ($X\ 10^6$) أو المجهر الضوئي ($X\ 10^3$) , توجد البكتيريا في كل مكان , في التربة و في الهواء و في الماء , و على جسم الانسان , و داخل قناته الهضمية , و جهازه التنفسي [2]

وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من ارتفاع درجة الحرارة، أو انخفاضها، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية [3] .

تركيبة الخلية البكتيرية بسيطة , اذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم فالاول جدار خلوي سميك وصلب هو الذي يعطيها شكلها الثابت ويحميها من أي هجوم خارجي , أما الثاني رفيع السمك يسمى بالغشاء الخلوي الستوبلازمي , اما المساحة الداخلية للخلية فهي تمثل السيتوبلازم , وهي في الغالب جد متجانسة تحتوي على ريبوزومات ذات شكل حبيبي كروي , كما تحتوي على اجسام ذات قوام حبيبي يمكن للبكتيريا أن تخزن بها الطاقة , اضافة الى احتوائها على جزيئة , أو أكثر من ال

ADN البلازمي أو مايسمى بالبلازميدات , وهي تتكاثر بصورة مستقلة عن كروموزوم ال ADN الخاص بالنواة , وان هذه الاخيرة ليس لها غشاء نووي

الجدار والغشاء الخلويين , السيتوبلازم والنواة هي عناصر ثابتة وأساسية لكل أنواع الخلايا البكتيرية فبعض الانواع تكون محاطة من الخارج بمحفظة (capsul) , او لها سوط يساعدها على الحركة اذا كانت من البكتيريا المتحركة , اضافة الى أن بعض أنواع البكتيريا لها زوائد خلوية تسمى البيلي (pili) وهي تساعد الخلية البكتيرية على الالتصاق بالوسط الذي تكون فيه [4] والشكل التالي رسم تخطيطي يوضح بنية الخلية البكتيرية :



1-الاهداب 2- البلاسميد 3- الريبوزومات 4- السيتوبلازمة 5- الغشاء السيتوبلازمي 6- الجدار الخلوي 7- الكبسولة 8- النيكليوتيد 9- السواط

الشكل 6: رسم تخطيطي لخلية بكتيرية

2-1- خصائص البكتيريا :

- البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى .
- البكتيريا كائنات دقيقة الحجم يتراوح حجمها بين 2-3 ميكرون
- تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس , متماسك , متمم للبكتيريا, و هو المسؤول عن حماية شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالاجسام الغريبة , و هناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف يدعى (Capsule)
- درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37° م – 45° م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة الى أعداد كبيرة [1]

1-3- تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا على اعتبار عدة معايير:

1-3-1- من حيث توزيع أسواطها:

فيمكن تقسيمها إلى :

- بكتيريا وحيدة السوط :
- بكتيريا ذات أسواط عديدة : متجمعة عند طرف واحد .
- بكتيريا ذات أسواط عديدة: موزعة على كل الخلية .

1-3-2- من حيث الشكل :

البكتيريا العصوية (Bacilli) :التي تأخذ خلاياها شكل العصويات الصغيرة تحت المجهر.

البكتيريا الكروية (Cocci) : التي تأخذ خلاياها شكل الكريات الصغيرة.

البكتيريا الحلزونية (Spiral) : التي تأخذ الشكل الحلزوني .

البكتيريا الواوية (Vibrio) : التي تأخذ شكل الواو أو الضمة العربية .

1-3-3- من حيث الوسط التي تعيش فيه :

فيمكن تقسيمها إلى ثلاثة أنواع :

بكتيريا هوائية اجبارية (Aerobic): وهي البكتيريا التي تعيش فقط في وجود الأوكسجين وهي تعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية .

بكتيريا لا هوائية اجبارية (Anaerobic):وهي البكتيريا التي تعيش فقط، في غياب الأوكسجين

بكتيريا لا هوائية اختيارية (Facultative Anaerobic): وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو، في ظل وجود الأوكسجين ، أو عدمه.

1-3-4- من حيث التغذية :

فيمكن تقسيمها إلى نوعين :

بكتيريا ذاتية التغذية : هي البكتيريا التي تستهلك الكربون للنمو .

بكتيرياعضوية التغذية : هي البكتيريا التي تحصل على الكربون من تحليل المواد العضوية كالسكر . [5]

1-3-5- من حيث طريقة التلوين (غرام) :

يوضح الإختلاف في تركيب جدار الخلية بالتلوين , حسب تقنية غرام (GRAM) نسبة للعالم J.GRAM المكتشفة سنة 1884 , واستنبط نوعين من خلال هذه الطريقة :

بكتيريا غرام موجب+G (gram positive) : عند تلوينها تمتص اللون وتظهر أرجوانية .
بكتيريا غرام سالب-G (gram négative) : تحرر صبغ وتظهر حمراء .

ويظهر جدار خلية البكتيريا غرام موجب (gram positive) , أسمك من جدار خلية البكتيريا غرام سالب (gram négative) . [6]

1-3-6- من حيث الأثر على الكائنات الحية :

يمكن تقسيمها إلى :

البكتيريا النافعة (*Beneficial Bacteria*): وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والبيئة.

فهناك نوع من البكتيريا يعيش في أمعاء الإنسان، يساعده على هضم الطعام، ويفرز بعض المواد المفيدة للجسم،مثل؛ الفيتامينات، ويعمل على تدمير البكتيريا الضارة. وهناك نوع آخر من البكتيريا يعيش في التربة، ويلعب دوراً هاماً في غذاء النبات؛ إذ يقوم بتثبيت النيتروجين الموجود في الهواء الجوي، ليكون بمثابة عنصر أوليّ، يستطيع من خلاله النبات أن يكوّن البروتين. كما تقوم بكتيريا التربة بتحليل أجسام الكائنات الحية بعد موتها، وكذا المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى صور بسيطة، تستفيد منها التربة والنبات والحيوان.

ولا يقتصر الأمر على ذلك فحسب، بل إن هناك صناعات كاملة تقوم على استخدام بعض أنواع البكتيريا النافعة. فصناعة بعض منتجات الألبان، وبعض الأدوية ما هي إلا نتاج عمل البكتيريا النافعة. وحديثاً تمكن العلماء من استخدام البكتيريا في معالجة مياه الصرف الصحي، حماية للبيئة من التلوث. ويطلق على كل هذه الأنواع البكتيرية اسم البكتيريا النافعة(*Beneficial Bacteria*),

ويطلق على هذا النوع من البكتيريا اسم البكتيريا الممرضة (*Pathogenic Bacteria*)**.** [7]

البكتيريا الإنتهازية (*Opportunistic Bacteria*):هناك أنواع من البكتيريا تعيش في جسم الإنسان، من دون أن تسبب له أي أضرار صحية إلا أنها عند انخفاض مناعة جسم الإنسان لأي سبب

من الأسباب، تهاجم الجسم، متحولة إلى بكتيريا ضارة تسبب عديداً من الأمراض، وذلك، على نحو ما هو شائع في الإصابة بالتهاب الحلق أو التهاب اللوزتين. ويطلق على هذه البكتيريا، اسم البكتيريا الانتهازية (*Opportunistic Bacteria*).

البكتيريا الضارة (*Pathogenic Bacteria*): توجد بكتيريا ضارة تهاجم الإنسان، فتسبب له أمراضاً ومشاكل صحية عديدة , وذلك على نحو ما يحدث في أمراض: السل، والكوليرا، والتيفود، والسعال الديكي،والزهري والسيلان . [7] , ومن بين البكتيريات الضارة و المسببة للأمراض :

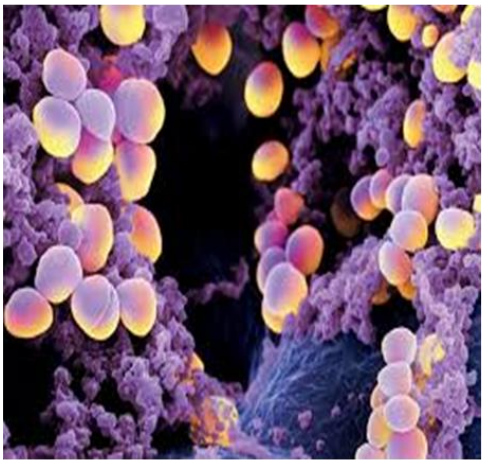
إشيريشيا كولي *Escherichia coli* :هي بكتيريا ذات غرام سالب , وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :

المملكة	Bacteria
التصنيف	Proteobacteria
القسم	Gammaproteobacteria
الرتبة	Enterobacteriales
العائلة	Enterobacteriaceae
النوع	Escherichia
الصنف	*Escherichia coli*

الشكل 7: بكتيريا *Escherichia coli*

وهي بكتيريا هوائية ذات غرام سلبي , تعيش في جسم الإنسان والحيوان والنبات وفي التربة , تكون متحركة على شكل عصيات , مسببة للأمراض من هذه الأمراض : أمراض الجهاز البولي , الإسهال الطفيلي , إلتهاب السحايا وتسمم الدم . [7]

ستافيلوكوكيز أروز*Staphylococcus aureus*: هي بكتيريا ذات غرام موجب , وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :



Bacteria	المملكة
Firmicutes	التصنيف
Bacili	القسم
Bacillales	الرتبة
Staphylococca ceae	العائلة
Staphylococcus	النوع
Staphylococcus aureus	الصنف

الشكل 8: :بكتيريا *Staphylococcus aureus*

هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي (cocci) ذات لـون أصفر براق , عديمة الحركة , تكون عنـاقيد على شكـل أكوام , وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه .

هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد و تسبب تسمم الغذاء , وتتسبب في إلتهابات جلدية خطيرة , ويتسبب هذا النوع من البكتيريا بالعديد من الالتهابات التي يسهل انتشارها في الأماكن المزدحمة المغلقة

وقد تسببت البكتيريا في موجات وبائية ووفيات هائلة نتيجة التهابات الرئتين، وخراريج المخ، وأمراض السحايا، وتسمم الدم، وغيرها من أمراض قاتلة. [7]

2- المضادات الحيوية :

2-1- تعريف المضادات الحيوية :

استعملت الكلمة لأول مرة بواسطة العالم Vullemin 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيراً عن التعريف الحالي والذي ذكره waksman (1945) في أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراد مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات [10].

2- 2- أنواع المضادات الحيوية :

إن الوظيفة الأساسية للمضاد الحيوي في الجسم تنقسم إلى قسمين:

2-2-1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:

يمنع تكاثرها، وهو ما يساعد في القضاء عليها مثل : سلفوناميد , كلورام فينكول .

2-2-2- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها، أو بمنع تكوين مادة البروتين داخل خليتها .مثل :أمبسلين , جنتاميسين , بنسيلين [11] .

2-3- تأثير المضادات الحيوية :

تعمل المضادات الحيوية على قتل الميكروب , أو كبح الميكروبات , وقد يكون مفعول المضاد على الغلاف الخارجي للميكروب (Cell Wall) , أو الغلاف الداخلي (Membrane Cell) , او يعمل على مستوى الخلية لايقاف تصنيع البروتين (Protein Synthesis) .

2-3-1- العمل على الجدارالخارجي للبكتيريا :

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع من تركيب peptidoglycane. وهذا يوقف نموها وعملها ويمكن ان يشمل تدمير تلك الأخيرة بالفعل وتعمل وفق هذا الاسلوب من العمل :

- بنسلين Penicillin .
- سيفلوسبورينCephalosporin
- فانكوميسينVancomycin
- سيكلوسبرين Cyclosporine .

2-3-2- العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذيه الغشاء الداخلي (زيادة غير طبيعية) ،ويسمح بطرح المواد السائلة خارج البكتيريا ، هذا ما يسمح بتدميرها , مثل؛ polymyxines (lipopeptides cycliques) يعمل وفق هذا الاسلوب من العمل.

2-3-3- العمل على تثبيط نمو ADN :

يعمل المضاد الحيوي على المعقد ADN-ADN , حيث يعمل المضاد الحيوي على التثبيط الأيضي لنمو ADN للبكتيرية وتعمل وفق هذا الأسلوب من العمل :

- ستربتوميسين Streptomycin
- كاناميسين Kanamycin
- أرثروميسين Erythromycin
- ريفامبيسين Rifampicin
- سبترين Septrin [11]

2-4- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية :

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة . بعض المضادات الحيوية تملك فاعلية (كبيرة أو صغيرة) والذي يختلف حسب البكتيريا الحساسة لفعل المضاد

نظرية : معرفة الفاعلية للمضادات الحيوية (المقاومة الطبيعية للبكتيريا) تسمح بالقيام بالمعالجة .

حقائق : البكتيريا تستطيع أن تملك مقاومة للمضاد الحيوي بتعديل أساسي لجيناتها .

نتيجة : معرفة العنصر البكتيري لا يسمح بتوقع الفاعلية للمضاد الحيوي . [8]

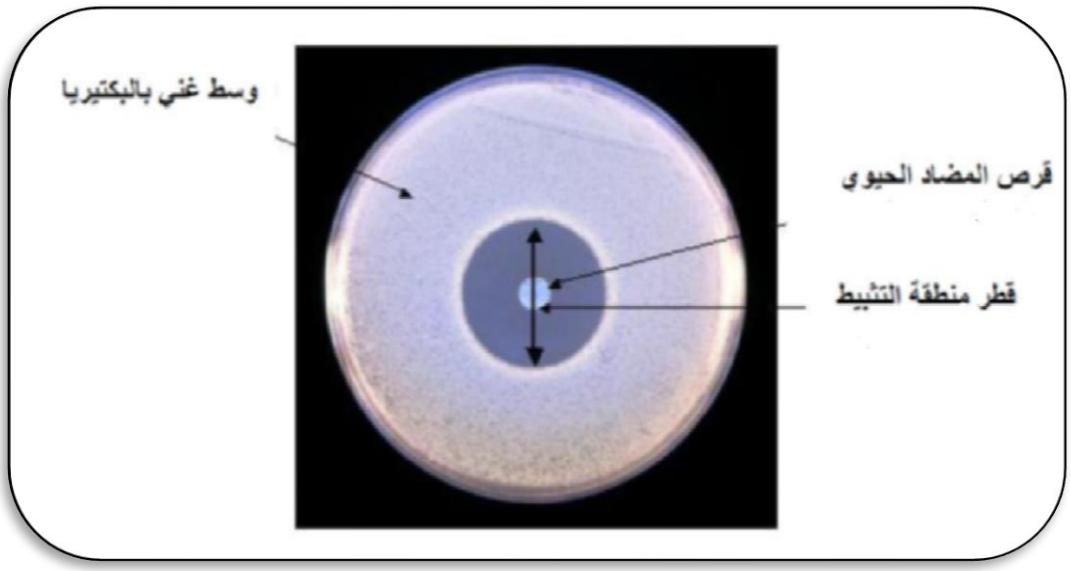
2-4-1- خواص الجذمة البكتيرية :

في علم الطب , الجذمة البكتيرية هي مقاومة للمضاد على حسب تركيز المضاد الحيوي , أي بإرتفاع التركيز, تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

5-2- كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي :

المبدأ :إيجاد التركيز الأدنى لتثبيط الجذمة البكتيرية (Inhibitrice) , بإستعمال مختلف المضادات الحيوية ويسمى (CMI) .

CMI: هو التركيز الأقل للمضاد الحيوي القادر على مواجهة البكتيريات و التثبيط الكامل لها ونقصانها [11] [12]. والشكل رقم 02 يبين قطر منطقة التثبيط .



الشكل 9: قطر منطقة التثبيط للبكتيريا

ومن أهم الطرق لمعالجة البكتيريا طريقة الإنتشار .

❖ **طريقة الإنتشار (Méthode de diffusion) :**

من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على احداث هذا التأثير , نلجأ الى طريقة Antibiogramme عن طريق الانتشار على وسط صلب , حيث تحضر الاقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (او المواد المراد معرفة تاثيرها على البكتيريا) وتوضع في احواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح , وتعتبر هذه الطريقة شائعة الاستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا وهذا راجع لسهولة تحقيقها وتعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الاخرى , وبالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي[13] ويمكن القول أن :

- ☒ البكتيريا مقاومة (غير حساسة) للمضاد الحيوي اذا كان القطر أقل من 8 ملم
- ☒ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي اذا كان القطر مابين 9و 14 ملم
- ☒ البكتيريا حساسة للمضاد اذا كان القطر مابين 15و 20 ملم
- ☒ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي اذا كان القطر أكبر من 20 ملم [14]

خلاصة :

في هذا الفصل تم التطرق إلى مفهوم البكتيريا والتي تعتبر كائنات دقيقة لا ترى الا بالمجهر الالكتروني ($X\ 10^6$) أو المجهر الضوئي ($X\ 10^3$) , توجد البكتيريا في كل مكان , في التربة و في الهواء و في الماء , و على جسم الانسان , و داخل قناته الهضمية , و جهازه التنفسي . وكذا التطرق لخصائصها وتصنيفها وأنواعها و التعريف بالانواع البكتيرية التي هي محل الدراسة في البحث وهي :

- **ستافيلوكوكيز أروز Staphylococcus aureus:** هي بكتيريا ذات غرام موجب .
- **إشيريشيا كولي *Escherichia coli* :** هي بكتيريا ذات غرام سالب .

وكما تم أيضا دراسة حول المضادات الحيوية من حيث المفهوم والنوع والتوصل إلى كيفية فاعليتها مع البكتيريا وهذا بطريق الانتشار (**Méthode de diffusion**) التي تستخدم من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا وهي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على احداث التأثير على البكتيريا .

المراجع

اللغة العربية:

[1]عابد أ , "دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران" , مذكرة ماجستير , جامعة قاصدي مرباح ورقلة , ص 106(2009).

[2] مصطفى د, والاخرون , "النبات العامة" , منشاة المعارف , الاسكندرية , ص 1100 (1979).

[3] د.محمد عبد المحسن معارج , "وراثة الأحياء الدقيقة" ، شركة الشهاب للنشر والتوزيع. ص18-20 (1995).

اللغة الاجنبية:

[6] J.H. Jorgensen, M. J. Ferraro, Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices, Clinical Infectious Diseases,26,p973-980,(1998).

[7] S.Robert-Dernmet , Antibiotique et antibiogrammes ,Décarie Vigot, Montréal , p322,(1995).

[10] H.M. Ericsson,J.C. O Sherris, Antibiotic Sensitivity Testing, Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica ,p90 (1971).

[11]V. Guerin-Faublée,C. Carret, L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites, Journées nationales GVT-INRA,p5-12 (1999).

[12] A.W. Baurer,W.M.M. Kirry,J.C.A. Sherries,M. Turch, Antibiotic susceptiblity testing by a standardized single disk method.-Amer,journal of clinical pathology,p493-496 (1966).

[13] A.W.Bauter,W.M.Mkirry,J.C.A.Sherris,M.Truch,Antibiotic susceptibility testing by a standardized single ,Journal of clinical pathology,p493-496 (1966).

[14] G.Poncea,Fritzer,I.Del vallc et Rouras," Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard", Lebensmittel-Wissenxchuft und Technologie(2003).

[5] P. Courvalin, Interpretative reading of antimicrobial susceptibility testes, ASM News , 58,p 368-375,(1992).

[8]D.G.Hollis,RE.Weaver,CN.Baker,C.Thornsberry,Halophilic Vibrio species isolated from blood cultures , journal of clinical microbiol ,p425 (1976).

[9]C.L.Greenblat,J.Baum,BY.Klein,S.Nachshon,V.Koltunov,RJ.Cano,Micrococcus luteus-Survival in Amber , Journal of Microbial Ecology,p120-127(2004).

[4] R.C.Bottger ,Liebigs Ann,Chem ,p109,351,(1859).

الفصل الثالث

المواد الفعالة ومضادات الأُكسدة

مقدمة :

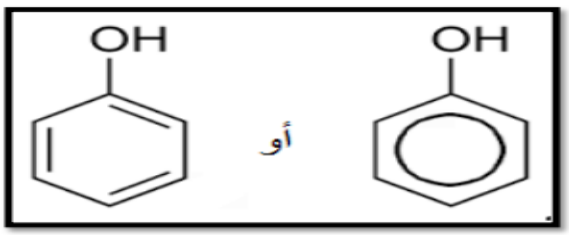
تعتبر المكونات الكيميائية الفعالة بالنباتات الطبية أحد نواتج عملية التمثيل الضوئي المباشرة كالجليكوزيدات أو غير مباشرة القلويدات والزيوت الطيارة أو الثابتة وغيرها. وتبعا لفاعليتها العلاجية لكثير من الأمراض وسرعة شفائها وإزالة أعراضها لذلك تسمى هذه المنتجات بالمواد الفعالة le substanees actives وأهم هذه المواد هي:

1- المواد الفعالة :

1-1- المركبات الفينولية:

1-1-1- تعريف المركبات الفينولية:

تشكل المركبات الفينولية أو متعدد الفينول مجموعة كبيرة من منتجات الأيض الثانوي نظرا لكثرة عددها وتباين هياكلها البنائية، [1] وهي واسعة الانتشار في المملكة النباتية وذات تراكيب متعددة وتندرج ضمن المركبات العطرية لرائحتها الخاصة [2] ، تتميز بأنها تحمل حلقة بنزينية أو أكثر في هيكلها العام، مرتبطة بمجموعة هيدروكسيلية OH أو أكثر [3] وهذا الاختلاف في عدد الحلقات يجعلها تنقسم إلى عدة مجاميع أهمها الأحماض الفينولية حيث القسم الأكبر منها الفلافونويدات [4] . تشارك المجموعات الفينولية في الدفاع ضد الاخطار البيئية لهذا نجد أن هناك نسبة كبيرة تقدر بـــ 80 %منها موجودة على انسجة البشرة (القشرة) للفواكه، وهي أيضا مسؤولة عن ظهور الألوان في النباتات. [5]



الشكل 10:الصيغة الكيميائية لمركب فينولي بسيط

1-1-2- مصدر المركبات الفينولية:

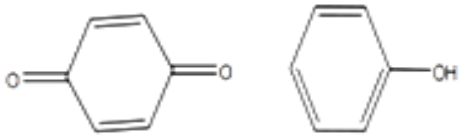
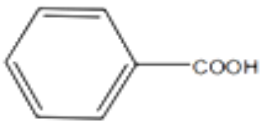
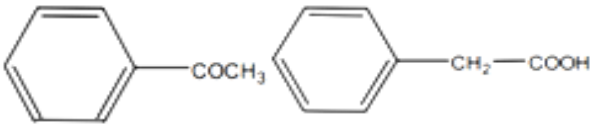
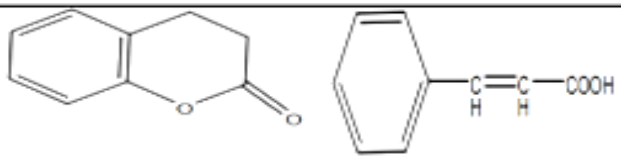
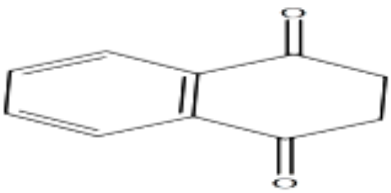
توجد المركبات الفينولية في العديد من الأطعمة ذات المصدر النباتي وتحديدا الفواكه حيث يمكن أن تصل ما بين 100-500 ملغ /غ في بعض الفواكه: التفاح، العنب، الكرز، المشروبات (القهوة والشاي) والشكولاطة، بينما توجد بصورة أقل في الخضر والحبوب. حيث يحتوي الخضر على ما يقارب 100-25

ملغ/غ. [6] [4] تعد الفواكه غير الناضجة غنية جدا بالمركبات الفينولية مثل (الفلافونول) يمكن الحصول عليها من البصل، التفاح والفاصوليا الخضراء، وغيرها من المركبات الأخرى المتواجدة في بقية الأغذية. [7]

1- 1-3- أصناف المركبات الفينولية:

توجد العديد من التصنيفات التي قسمت المركبات الفينولية الى مجموعات، فقد صنفها العالم Dacosta حسب بنيتها الى أقسام أهمها: الأحماض الفينولية، الفلافونويد، التنينات، الستلبينات، اللقنان، الصبونيات [8] ، أما العالمان Harborne و Simmonds فصنفاها حسب انتشارها وتعقيدها إلى عائلة المركبات الفينولية قليلة الانتشار(فينولات بسيطة)، وأخرى واسعة الانتشار (أحماض فينولية،الفلافونيدات، الكومارينات) وأيضا المركبات الفينولية المتواجدة على شكل بوليمرات. [9]

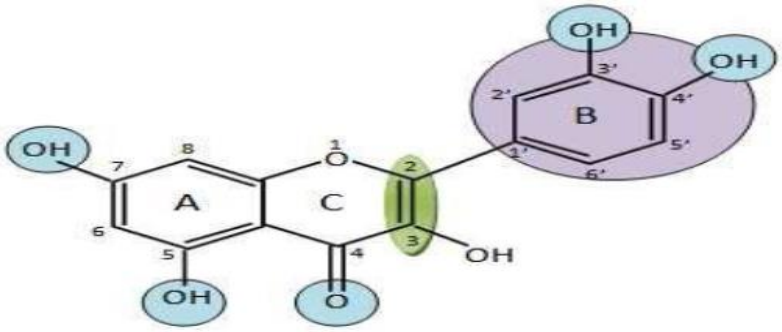
جدول 2: بعض أصناف المركبات الفينولية [10]:

رقم ذرة الكربون	الهيكل الأساسي	الصنف	البنية الأساسية
6	C_6	الفينولات البسيطة البنزوكينونات	
7	C_6-C_1	الأحماض الفينولية	
8	C_6-C_2	أسيتوفينون أحماض الفينيلاسيتيك	
9	C_6-C_3	أحماض السيناميك الكومارينات	
10	C_6-C_4	النافوكينون	

1-2- الفلافونويدات:

بما أن الفلافونويدات مركبات هيدروكسلية فإنها لابد أن تتصف بخواص و صفات الفينولات ، فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة ذوابة في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم وتتصف الفلافونويدات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات الهيدروكسيد الحرة أو التي تحوي على وحدات سكر بالصفة القطبية ، وعليه فيهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول و الإيثانول و ثنائي ميثيل سالفو كسيد و الأسيتون و الماء ووجود بقية السكر في جزيء المركب يجعله أكثر ذوبانا في الماء ،أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر، كما تتميز الفلافونويدات بعدة خصائص فعالة، من بينها مضادات للأكسدة ،ومضادات للالتهاب، مضادات للفيروسات، مضادات لتسمم الكبد، و مضادات للبكتيريا[11]:

تتشكل الفلافونويدات أساسا من الهيكل الأساسي C6-C3-C6 يتكون من ثلاث حلقات تدعى بالفلافون Flavone، والذي يعتبر المركب الأم للفلافونويدات **[12]**



الشكل 11: الهيكل الأساسي للفلافونويدات و أهم المواقع المتدخلة في تأثيراتها

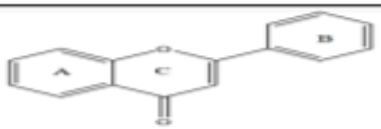
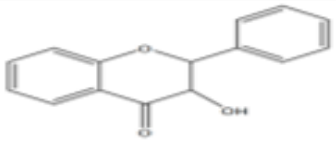
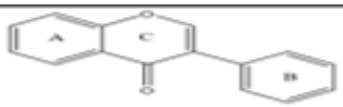
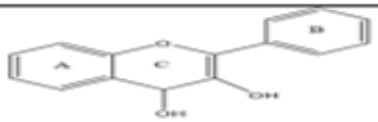
1-2-1- أقسام االفلافونويدات:

نستطيع أن نقسم الفلافونويدات انطلاقا من الاصطناع الحيوي لها، فبعضها يعتبر وسائط ومركبات نهائية في الاصطناع الحيوي مثل الشالكونات ،الفلافانو-3- أول، فلافان-3،4 - ديول. بعضها الاخر تعرف فقط بالمركبات النهائية في الاصطناع الحيوي كأنثوسيانينات ، الفلافانونات الفلافونولات.

1-2-2- بعض أنواع الصيغ الفلافونويدية [10] :

الجدول التالي يوضح بعض أنواع الصيغ الفلافونويدية

جدول 3: بعض أنواع الصيغ الفلافونويدية

اسم المركب	البنية الأساسية
Flavanone	
Flavone	
Dihydroflavonol	
Isoflavone	
Flavan−3 , 4−diol	
Flavonol	

1-2-3- خواص الفلافونيدات المقاومة للتأكسد:

تعتبر الفلافونيدات عوامل مرجعة طبيعية ممتازة فهي بمثابة مصيدة للعينات (peroxydation lipidique) مثل OH,O_2 . كما تقوم بتكسير تسلسل التفاعل الجذري وذلك بتشكيل مركبات أكثر استقرارا، كما يمكن للفلافونيدات مثل الكيرستين أن تلعب دور مصيدة جذور فوق الأكاسيد [13]. وتزداد فعالية مقاومة الفلافونيدات للأكسدة مع الأتي:

زيادة عدد ومواقع OHخاصة المستبدلة على الموقع 3 للحلقة C ، أرثو ثنائي هيدروكسي '3',4 للحلقة B و 5,7 ثنائي هيدروكسي للحلقة A.

وجود رابطة ثنائية مثبتة على الحلقة C في الموقع C3-C2 مع وجود وظيفة 4- Ceto يكسب هذه المركبات مقاومة كبيرة ضد التأكسد [14].

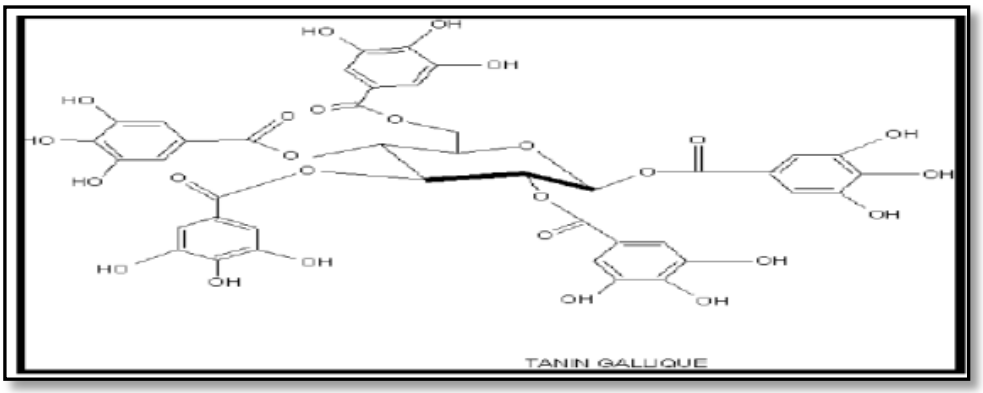
استوائية الجزيئة فكلما كانت الجزيئات أكثر استوائية كلما كانت مقاومتها للتأكسد أكثر فعالية[15].

1-3- الأحماض الفينولية:

الأحماض الفينولية هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية، تنقسم إلى ثلاث أقسام، أحماض فينولية بسيطة وأحماض مشتقة من حمض البنزويك وأحماض مشتقة من حمض السيناميك ، يعتبر القسم الأول نادرا ماعدا مركبات hydroquinone التي توجد في العديد من العائلات النباتية، أما الأحماض المشتقة من حمض البنزويك تتواجد عموما في الحالة الحرة، كما يمكن أن ترتبط بسكريات أو أسترات (حمض الغاليك،) بينما تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك ويعتبر حمض caffeic وحمض ferulic من الأغدية الرئيسية لها .يوجد حمض caffeic بكثرة في القهوة أما حمض ferulic فيتواجد في الأغذية الغنية بالحبوب[3].

1-4- العفصيات:

هي مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومذاق غير مستساغ ذات وزن جزئي من 500g/molإلى 3000 g/mol ولها بإضافة الفينولات : ترسيب القلويدات والجلاتين والبروتينات الأخرى . وحسب الاشتقاق فإن التنينات هي المركبات المستخدمة في الدباغة(Tanerie) والتي لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك على قدرتها على الاتحاد بالبروتينات. مثال:



الشكل 12: صيغة Tanin Gallique

2- الفعالية المضادة للأكسدة:

مقدمة:

بلا شك تعتبر التفاعلات الجذرية المساهم الأول في نمو النبات و الحفاظ عليه، و هذا لما تقوم به هذه التفاعلات من أدوار مهمة في العملية البيولوجية، حيث أن الخلايا تحتوي على الجذور الحرة لاسيما في مرحلة التصنيع الحيوي للمركبات الفعالة Poisynthése أو في عمليات الهدم العادية للمركبات الفعالة bioactive.

الاكسجين هو العنصر الأساسي للخلايا التي يتم فيها عملية الإحراق وهي عبارة عن تفاعل بين مركب عضوي و أكسجين الهواء ، وأهم ما ينتجه هذا التفاعل هي الطاقة التي تدخل في العديد من المركبات منها المواد الخلوية ، بالإضافة إلي القيام بنشاطات وظيفية معقدة مثل الحركة ،النمو الإفرازات والامتصاص. من بين الأنواع الجذرية القابلة للتصنيع في الخلايا نميز مجموعة من المكونات و التي تلعب دورا خاصا في علم الخلايا و التي تدعى بالجذور الأولية مع مكونات بيو كيميائية في الخلية. مثلا سلاسل نقل Les peroxysomesو cytochrome هذه الجذور تكون مسؤولة عن فسادADN والتي هي أساس منشئ بعض الأمراض مثل :السرطان ، مرض الشمل الاهتزازي، مرض التصلب العضلي161]

2-1-الجذور الحرة (الشق الحر):

هي أصناف كيميائية ذرية أو جزيئية متعادلة أو مشحونة بشحنة سالبة أو موجبة تحتوي في تركيبها الإلكتروني على إلكترون منفرد واحد (غير مزدوج) أو أكثر ويكون معظمها شديدة الفاعلية إذ تقترب قيمة طاقة تنشيط تفاعلاتها من الصفر في أغلب الأحيان ، تنتج هذه الأصناف خلال التفاعلات الكيميائية كمركبات وسطية شديدة الفعالية وتنتهي بنهايتها . وتتكون هذه الأصناف خاصة بالتفاعلات السلسلية والتفاعلات المتعاقبة وبعض التفاعلات الاخرى مثل البلمرة والتفاعلات الضوئية على المواد الكيميائية **[17].**

2-2- أنواع الجذور الحرة حسب استقرارها:

من المعروف أن أنواع الأوكسجين النشطة هي المادة المؤكسدة الرئيسية والهادمة للخلايا والأنسجة النباتية تحت ظروف الإجهاد وهذه الأنواع الأوكسجين هي [16] [18] :

1) جذر أنيون سوبيرا أكسيد($O_2^{\bullet -}$) super oxyde radicals

يعتبر جذر ($O_2^{\bullet -}$) طليع العملية التأكسدية داخل الخلية، إذ يمكنه التحول إلى أنواع أكسيجينية أخرى، حيث ينتج هذا الجذر عن الإرجاع الأحادي لجزيئة الأكسجين عند استقبالها لإلكترون . تقوم مجموعة من الأنظمة الخلوية الإنزيمية الإرجاعية بانتاج ($O_2^{\bullet -}$)، حيث 4%من الأكسجين الموجود داخل الميتوكوندري يتحول إلى ($O_2^{\bullet -}$) و 20%من هذا الناتج يطرح خارج الخلية [3]

2) الجذر ($OH^{\bullet}$) Hydroxyl radical :

يعتبر جذر ($OH^{\bullet}$) الأكثر نشاطا والأقل استقرارا من بين مجاميع ROS ، حيث يملك نصف عمر صغير جدا يقدر بـالنانو ثانية (Aust et al.,2010). يتفاعل ($OH^{\bullet}$) بسهولة مع العديد من الجزيئات التي تكون قريبة منه خاصة الدهون حيث يعمل على إزالة أو إضافة الهيدروجين لروابط غير مشبعة، مما يؤدي إلى مضاعفة الأضرار و زيادة بشكل كبير في السمية الخلوية التي تحدثها ROS (2002, Cheng et al.).[3] وكما نجد أيضا :

3) بروكسيل الألكيل $ROO^{\bullet}$ pyroxyle radicales

4) جذر الكوكسيل $RO^{\bullet}$ Alkoxyl radicales.

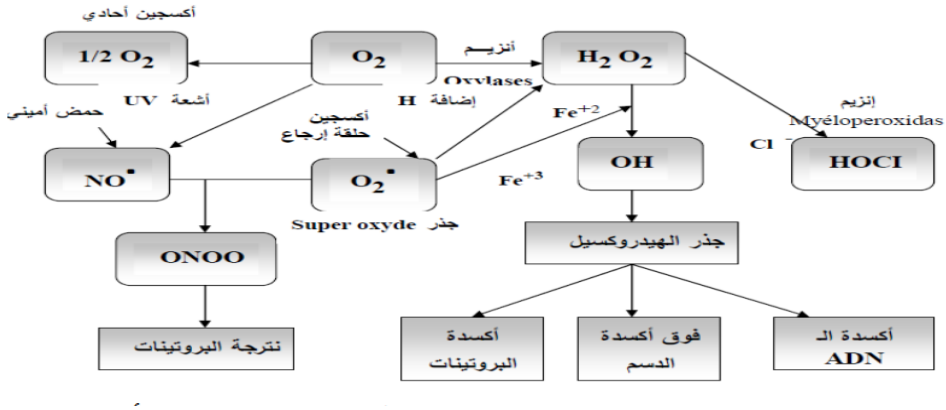
5) جذربيروكسيلH2O2 Pyroxyle radicales.

6) جذر اوكسيد النيتريك $NO^{\bullet}$ oxyde nitrique radical.

7) بيروكسينيتريت$ONOO^{-}$ Peroxinitrite.

8)الابوكموريت OCL^{-} Hypochlorite.

هذه المواد الأكسيجينية النشطة و خاصة($OH^{\bullet}$) ، ($O_2^{\bullet}$) مواد مؤكسدة قوية جدا و تقوم سريعا بمهاجمة الجزئيات البيولوجية مثل جزئيات ADN مما يؤدي إلى خلل شديد في عمليات الميتابوليزم (Métabolisme) و اختلال وظيفي لا يمكن إصلاحه أو تعويضه مما يؤدي إلى هدم الأنسجة الحيوانية [19].



الشكل 13:رسم تخطيطي يوضح مصدر مختلف الجذور الحرة المؤكسدة وأنماط تفاعلات الأكسجين المطبقة بيولوجيا [17]

2-3- أضرار الجذور الحرة:

يمكن إجمال أضرار الجذور الحرة إلى ثلاثة أنواع هي كالآتي:

الضرر الواقع على حامض النووي ADN و الذي يؤدي إلى طفرات تؤدي إلى موت الخلايا أو تسرطنها أو حدوث أمراض المناعة الذاتية.

الضرر الواقع على البروتينات و الذي يؤدي إلى فقد طبيعة هذه البروتينات و من ثم وظيفتها أوتحول طبيعتها إلى أشكال جديدة تؤدي إلى أمراض المناعة الذاتية.

الضرر الواقع على الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون و هي أخطر هذه الأضرار، و يشتمل على زيادة سيولة الجدران الخلوية و تطفر الحامض النووي و ما يتبعه من موت الخلايا أو أمراض المناعة الذاتية أو السرطان [20] [3]

تثبيط السلسلة التنفسية للميتوكندري.

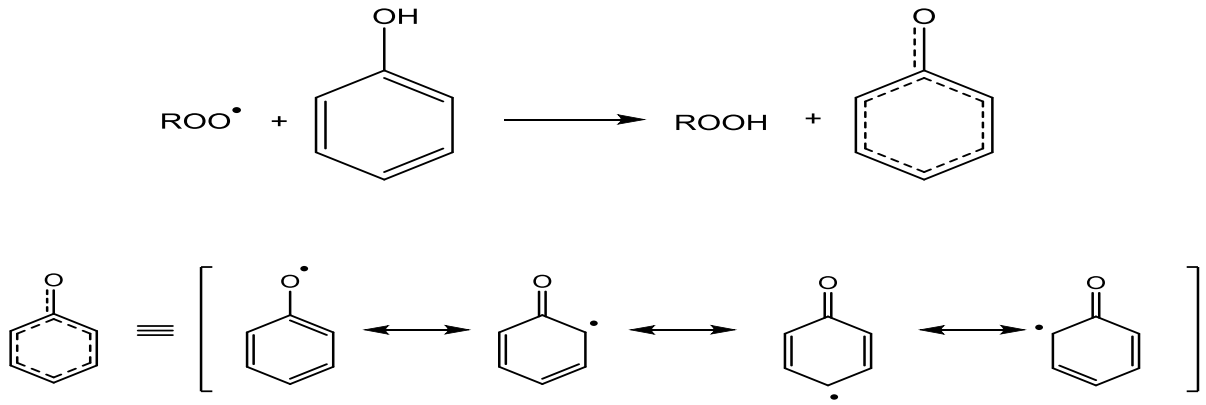
تثبيط العديد من الإنزيمات مثل إنزيم الصوديوم- البوتاسيوم- أتيباز (Sodium - Potassium-ATPase)على جدران الخلية .

زيادة نشاط الأنزيمات المصاحب لتوتر الأكسدة [21] .

3- مضادات الأكسدة:

3-1- تعريف مضادات الأكسدة:

هي مركبات إما ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تفويضها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم، إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط التي تسببه ذرات الأوكسجين الشاردة لحماية خلايا الجسم، وإما لأنها تمنع تكوين الجذور الحرة او ان تصلح الضرر الناتج عنها أي هو عبارة عن مواد مانحة لذرات الهيدروجين أنها تتحد مع الجذر وتحوله الى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية :



الشكل 14:معادلة تفاعل مضادات الأكسدة.

والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الاكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة. [18]

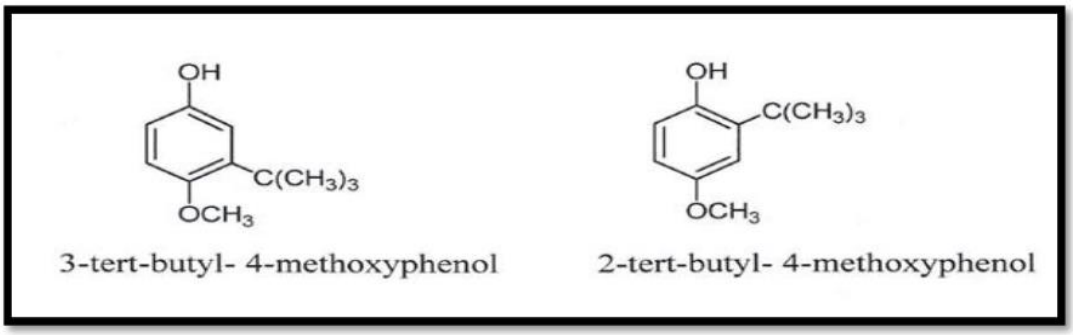
3-2- تصنيف مضادات الاكسدة:

3-2-1- مضادات أكسدة طبيعية:

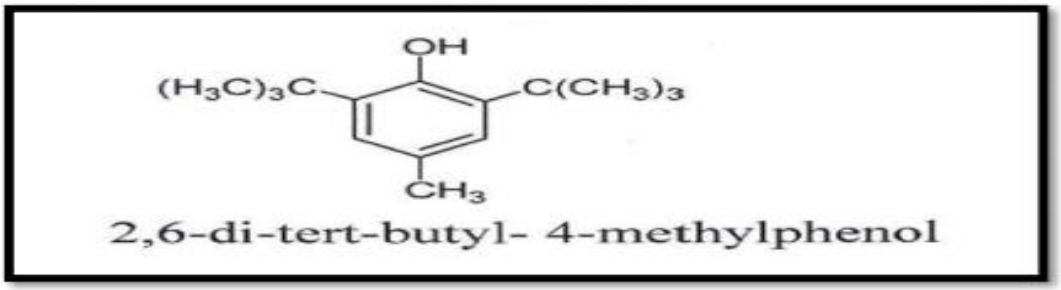
ونقصد بذلك ما تنتجه المادة الحية من مضادات كالإنزيمات الجلوتاثيون والكتلاز والبيروكسيداز والفيتامينات مثل: فيتامين C والفيتامين E وتتعداها إلى المعادن الطبيعية كالزنك والسيلنيوم وغيرها. [22]

3-2-2- مضادات اكسدة مصنعة:

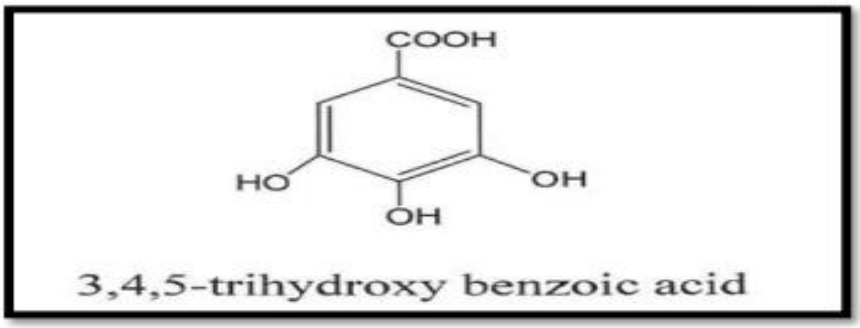
تعتبر عنصر أساسي يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إفسادها إلى أقصى حد وذلك تأكسدها قبل غيرها، وكذا تستعمل في الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية منها (BHA) : Butylhdroxyanisole و Butylhydroxytoluene (BHT) وحمض الغاليك والغالات [23]



الشكل 15:يوضح بنية BHA



الشكل 16: يوضح بنية BHT



الشكل 17:يوضح بنية GA

4- خصائص علاجية لبعض المركبات الفينولية :

جدول 4: بعض المركبات الفينولية المستعمله في الطب والصيدلة [25] [24]

المركب الفينولي	الفعالية البيولوجية
الاحماض الفينولية	- مضادات للبكتيريا - مضادات للأكسدة مضاد للطحالب
الكومارينات	- حماية الاوعية الدموية - مضاد للامراض الجلدية
الفلافونيدات	- مضاد للاكسدة - تخفض ارتفاع الدم - تخفض نسبة الكلسترول في الدم - تقلل من حدوث مرض السكري - تحمي الغشاء المخاطي للجهاز الهضمي - تزيد من نشاط الفيتامين c - تقوي وتحسن اداء عضلة القلب وتقلل من مخاطر امراض القلب
التانينات	- مضادة للاكسدة

خلاصة :

في هذا الفصل تمت الدراسة حول أهم المواد الفعالة و المتمثلة في المركبات الفينولية و الفلافونيدات و الأحماض الأمينية و العفصيات والتطرق إلى الفاعلية المضادة للأكسدة وهذا بالتطرق لبعض أنواع الجذور الحرة وأضرارها و كما تم أيضا دراسة حول مضادات الأكسدة وتصنيفها و أنواعها وذكر الخصائص العلاجية لبعض المركبات الفينولية .

المراجع

اللغة العربية:

[1] بوبطيمة ا،. –2012مقارنة بين الطريقة الفيتو كيميائية والطريقة الإلكترو كيميائية في دراسة فينولات بعض نوى التمر المحلي. مذكرة ماستر أكاديمي. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة ص: 97.

[3] بن سلامة ع. ا –2012النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراقL .Hertia cheirifolia. .مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. ص: 90.

[4] جرموني م،2009– .النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة Teucrium polium مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء و الفيزيولوجيا التجريبية. جامعة فرحات عباس . سطيف ص: 9.

[11] لكحل هشام . فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة Stachys ocymastrum (lamiaceae) (L).briq مذكرة لنيل شهادة الماجيستير جامعة منتوري قسنطينة 2008 .

[12] هيكل. م. س. وعمر عبد الرزاق عمر. (1993). النباتات الطبية والعطرية , كميائها، انتاجها, فوائدها. الطبعة الثانية. للنشر منشأ المعارف بالإسكندرية (مصر). (13- 134) .

[16] العابد إ،. – 2007دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران Traganum nudatum . مذكرة ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح.

[17] –د. علي عبد الحسين سعيد. كتاب كيمياء الجذور الحرة

[18] بن بلوطة حورية .النشاط المضاد للتأكسد وامكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتتي Centaurea incanaو Matricaria Peubescens على السمية الكبدية. مذكرة ماجستير جامعة منتوري قسنطينة (2009).

[19] حلاسة سليمة وفراجي الرميصاء . Contribution à l'étude des Propriété anti oxydantes des extraits des feuilles de l'Acacia arabica. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة قاصدي مرباح. ورقلة(2016). ص: 14.

[20] –عمراني أمال . دور فيتامين E، Cوالمستخلص البوتانولي لنباتي Rhantherium suaveolensو Chrysanthemum fontanili في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproat eلدى الفئران الحوامل. لنيل شهادة الدكتوراه. جامعة قسنطينة(2013).

[21] - عمر لبنى. دراسة بعض الخصائص البيو كيميائية لنبات الشيح Artémise herba albaAsso مذكرة لنيل شهادة الماجستير. جامعة فرحات عباس سطيف . (2010) .

[22] حوة . إ – 2013. دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة.ص:109

[23] ربيعي ع. ك، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).

[25] بن عاشور صبرينة البتول ,"الفعالية المضادة للاكسدة الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ل "deverra scoparia", مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الهندسة الكيميائية ,تخصص التحضير العضوي والفيتوكيمياء ,جامعة قاصدي مرباح ,ورقلة (2007).

[2] *Aira. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien Oenocarpus bataua (patawa). Thése pour le doctorat en phytochimis. Université des Antilleset de la Guyane, (2012).*

[5] *Harbone J.B biochemistry of phenolic compounds, academic press, London and newyork.*

[6] *BENHAMMOU N., 2012- Activité antioxydant des extraits des composes phénolique de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thése doctorat. Université Aboubakar Belkaid. Tlemcen. 174p.*

[7] *Abdelghafour M, radioltse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools formation de depsides, Thése de doctorat (2003).*

[8] D. Anthony, M.D.Harris, J.A.Johnson,P.J Glenn, J.K. Johnson, P.Bali more. Haw important is pqtient-transmission is extended – spectrum β-lactamase Escherichia-coli acquition. (March 2007).

[9] MELLIES J., BARRON A., CARMONA A., 2007- Enterpathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli virulence gene regulation. Infection and Immunity. p:4199-4210

[10] J.N. Joffin, C. Schuter. Pseudomonas et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes (2003).

[13]- Crombie,L.(1980) The Cathedulin Alkaloids, Bull Narc,32(3) p. 37-50.

[14]- Anonymous, (1977a) Studies on the chemical composition of khat: on the structure of thepolyester alkaloids from khat. United Nations document MNAR/2/1977.

[15]- Baxter, R.L. Crombie, L. Simmonds, D.J. Whiting, D.A. Braenden, O.J.and Szendrei, J. (1979a): The Alkaloids of Catha edulis (Khat) : Part 1: Isolation and Characerization of Eleven New Alkaloids with Sesquiterpene Cores(Cathedulins) from Ethiopin,Kenyan,and Yemeni Khat, Identification of the Quinone-Methide Root Pigments, Journal of chemical Society Perkin Trans 1, p. 2965-2971.

[24] B. Jean, pharmacognnosie phytochimie planates médicinales, 3eme edition Technique.et Documention, paris (1999)

الجزء العملي

مدخل :

هذا الفصل يتضمن الدراسة التجريبية , ففيه سيتم تحضير العينة و المستخلصات النباتية لنبتة *Fagonia cretica. L* وكذلك الكشف عن بعض المواد الفعالة في النبات واختبار الفاعلية البيولوجية والكيميائية – مضادات الأكسدة – للمتخلصات العضوية للنبتة ، و من أجل الحصول الحول على هاته المستخلصات تم استعمال الطريقتين (صلب – سائل) و (سائل – سائل)

1-1- تحضير العينة

1-1-1- تحضير عينة الدراسة :

تم انجاز الدراسة العملية التي تهتم بعملية تحضير المستخلصات النباتية في المخابر التابعة لكلية العلوم الدقيقة ولقد كان العمل في إطار التزام بالسلامة المخبرية وتمت عملية تحضير العينة الدراسية بمرحلتين أساسيتين :

1-2-1- جني النبتة وتجفيفها :

ينمو نبات الشريك في المناطق الصحراوية وشبه جافة حيث قمنا بتحديد مكان تواجد النبتة ببلدة تقرت ولاية ورقلة وقد كنا نلاحظ نمو النبتة وظهورها على سطح الأرض بعدها قمنا بعملية الجني يوم 2018/02/03 مع الاهتمام بطريقة الجني التي تحفظ الجواهر الفعالة في النبتة , كالحرص على عدم تعريضها إلى أشعة الشمس والرطوبة .

تم القيام بتجفيف النبتة في الظل تحت درجة حرارة عادية مع القيام بتقليبها من حين إلى آخر لضمان التجفيف الجيد ومنع تخمر النبات في حالة ما كانت الرطوبة العالية

1-2- طريقة الاستخلاص بالمذيبات:

تعتمد هذة العملية على اختيار مذيب ذو قطبية معينة بالنسبة لقطبية المستخلص ويمكن تعريف قطبية مذيب معين بثابت ثنائي كهربائي الذي يعطي بالعلاقة التالية :

$$\varepsilon = C/C^{\circ}$$

- ✓ **C** سعة المكثفة في السائل .
- ✓ **C°** سعة المكثفة في الفراغ .

يتغير الثابت ε حسب درجة الحرارة وتتحدد قيمته عامة عند درجة 25°C علما أن قطبية المذيب تتعلق مباشرة بالثابت ε.

إن المذيبات الضعيفة القطبية يكون لها ε ضعيف فمثلا ε =1.89 بالنسبة للهكسان, أما المذيبات القطبية فلها ε مرتفع فالماء مثلا له ε =78.5 .

1- 3- الاستخلاص (صلب / سائل):

للحصول على محضر طبي أو مستخلص نقي أو جزء نقي نبدأ دائما باستخلاص(صلب ـ سائل) حسب عدة متغيرات منها :

1-3- 1- النقع على البارد:

تعتمد هذه الطريقة على وضع مسحوق النبتة مع مزيج من الماء والكحول (2/8) مع الزمن عند درجة حرارة عادية .

1-3-1- 1 - طريقة الاستخلاص :

قمنا أولا باختبار المذيب كمذيب قطبي (الايثانول) في البداية يتم تقسيم العينة النباتية (الشريك) إلى قطع صغير بواسطة المقص هذا بعد غسلها ونزع كل الغبار والشوائب العالقة بها ثم نزن بواسطة ميزان الكتروني كتلة قدرها 100غ نضعها داخل بيشر مع الحرص على وضع جميع عناصر النبتة (أوراق ,سيقان, جذور) نتبع ذلك بسكب حجم مقداره 2/8 من الايثانول (ثمانية حجم ايثانون وحجمين الماء) نغطي النقيع لمنع تبخر المذيب وكذلك لمنع دخول أي شوائب خارجية ثم نتركه لمدة24 ساعة , نعيد نفس العملية للمرة الثانية لنفس العينة النباتية لكن بتركها مدة أطول تقدر بـ 48 ساعة وفي المرة الثالثة 72 ساعة , ولقد اعتمدنا في عملية الاستخلاص على طريقة النقع البارد والجدول التالي يوضح خصائص المذيب المستعمل.

جدول 5: يوضح خصائص المذيبات المستعملة

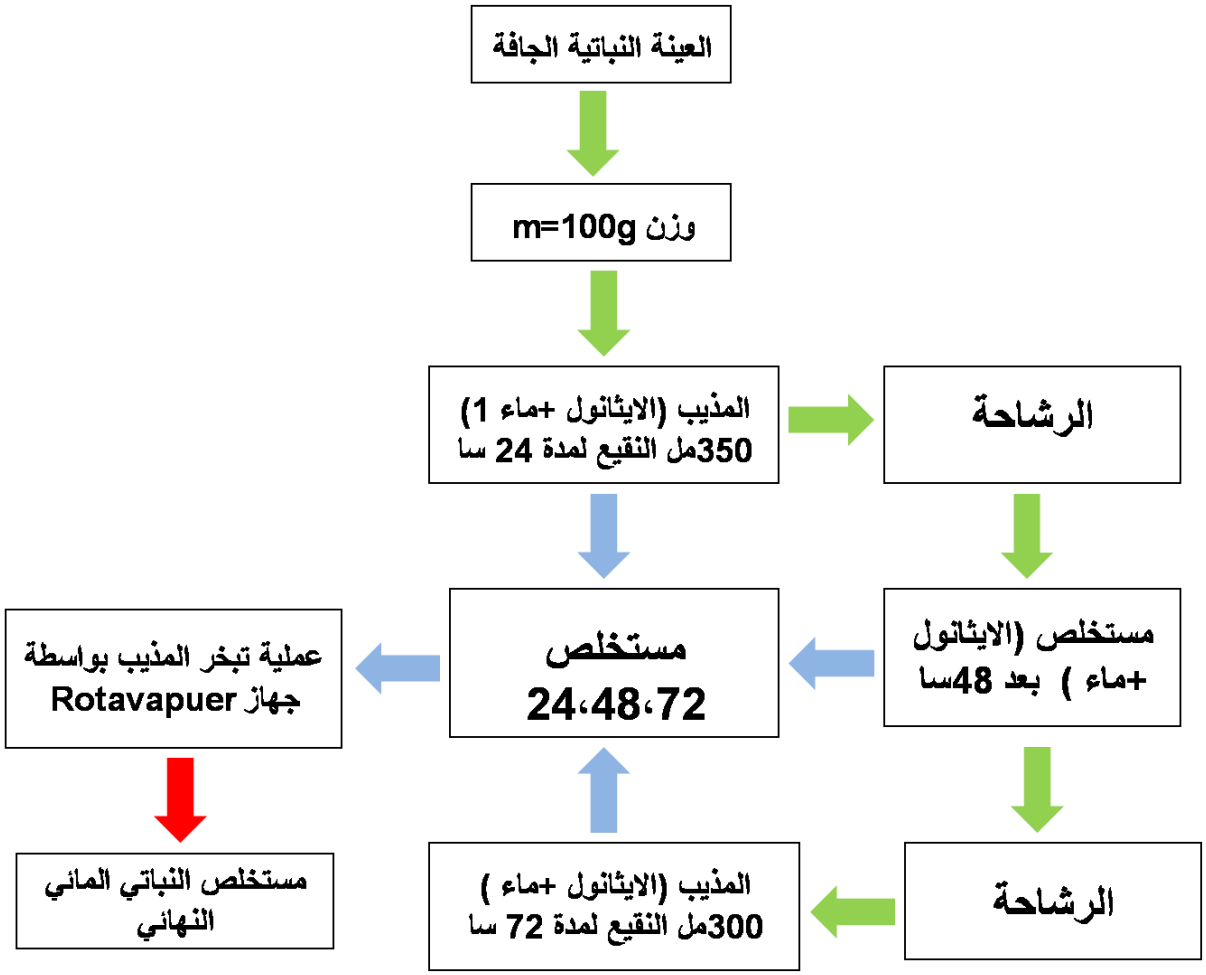
المذيب المستعمل	الايثانول C_2H_6O
الشركة المصنعة	HAZEN RIEDEL-DE
درجة الغليان C°	78-79
درجة النقاوة (%)	99.80
الكتلة المولية (g/mol)	46.07
الكثافة	0.91-0.790

1-3-1-2-عملية الترشح:

بعد عملية النقع للعينة النباتية للمدة المذكورة سلفا نقوم بترشيح النقيع (عينة نباتية +نقيع) حتى نتحصل على مستخلص نباتي في الحالة السائلة الشكل(18) بعد ذلك نأخذ المستخلصات (24 سا + 48 سا + 72 سا) ونقوم بعملية تبخير المذيب- الايثانول - بجهاز المبخر الدوار (Rotarapuer) عند درجة الحرارة 50 حتى لا تتلف مكونات العينة ,بعد مدة حوالي ساعة ونصف تم الحصول على المستخلص النباتي المائي النهائي والصورة التالية توضح المستخلص النهائي بعد عملية الترشيح .

الشكل 18: المستخلص المائي

مراحل استخلاص نبات الشريك موضحة في المخطط التالي :



الشكل 19: مخطط يوضح خطوات عملية تحضير المستخلص النباتي الخام

في الأخير تم الحصول على مستخلص نبات الشريك باستعمال مذيب قطبي وتم حفظ هذا الأخيرفي درجة حرارة منخفضة - في الثلاجة - لحين استخدامه

1-3-1-3- تركيز المستخلص:

لحساب تركيز المستخلص النباتي المائي تم أخذ 2 ml من المستخلص و وضعها في أنبوب اختبار وتجفيفها الحصول على كتلة تساوي M= 53mg .

$$C=\frac{m}{v}=\frac{53}{2}=26.5\ \frac{mg}{l}$$

- ✓ C: التركيز الكتلي.
- ✓ M: كتلة العينة النباتية الجافة
- ✓ V: حجم المذيب

1-4- الاستخلاص بواسطة المذيبات غير القطبية :

1-4-1- الاستخلاص سائل/ سائل :

استخلاص سائل- سائل Liquid-liquid extraction ، هو الطريقة التي يتم بها عزل مادة ما من مزيج يحوي على مواد أخرى ، و يعتمد مبدأ الاستخلاص على عامل توزع المواد بين سائلين غير قابلين للامتزاج فإذا كانت المادة محلولة في محل وأضيف إلى هذا المحلول محل آخر لا يمتزج معه و يستطيع أن يحل المادة، فإن قسماً من المادة سينتقل إلى المحل الثاني مشكلاً طبقتين من سائلين غير ممتزجين وكل منهما يحوي على نسبة من المادة.

الشكل 20:استخلاص سائل /سائل

وتعتمد نسبة الانحلال للمادة في كلا السائلين على:

- ✓ قابلية انحلال المادة في كلا السائلين.
- ✓ حجم السائلين المستخدمين .

1-4-2- فصل المركبات

يتم نزع الليبيدات بإضافة لحجم من المستخلص الخام حجم من الهكسان فينتج جزء عضوي (مستخلص الهكسان)و جزء مائي، الذي يُضاف له الكلوروفورم لإستخلاص الفلافونويدات غير السكرية، أما الجزء المائي الناتج فيضاف له حجم مساوي من إثيل الأسيتات لإستخلاص الفلافونويدات أحادية وثنائية السكر،

المستخلص المائي النهائي يحتوي على الفلافونويدات الأكثر قطبية ثنائية، ثلاثية و رباعية السكر. تُعرض كل المستخلصات العضوية لعملية تبخير لإزالة المذيبات ثم تجفف و تحفظ [1].

ومن خلال الدراسة التي قامت بها (أميينة بوقربة – 2011 -) أن مستخلص البيوتانول يحوي عدد كبير من المركبات الفلافونودية [2].

وعليه تمت إضافة حجم مساوي - 50 ml - أيضا من (ن – بيتانول) .

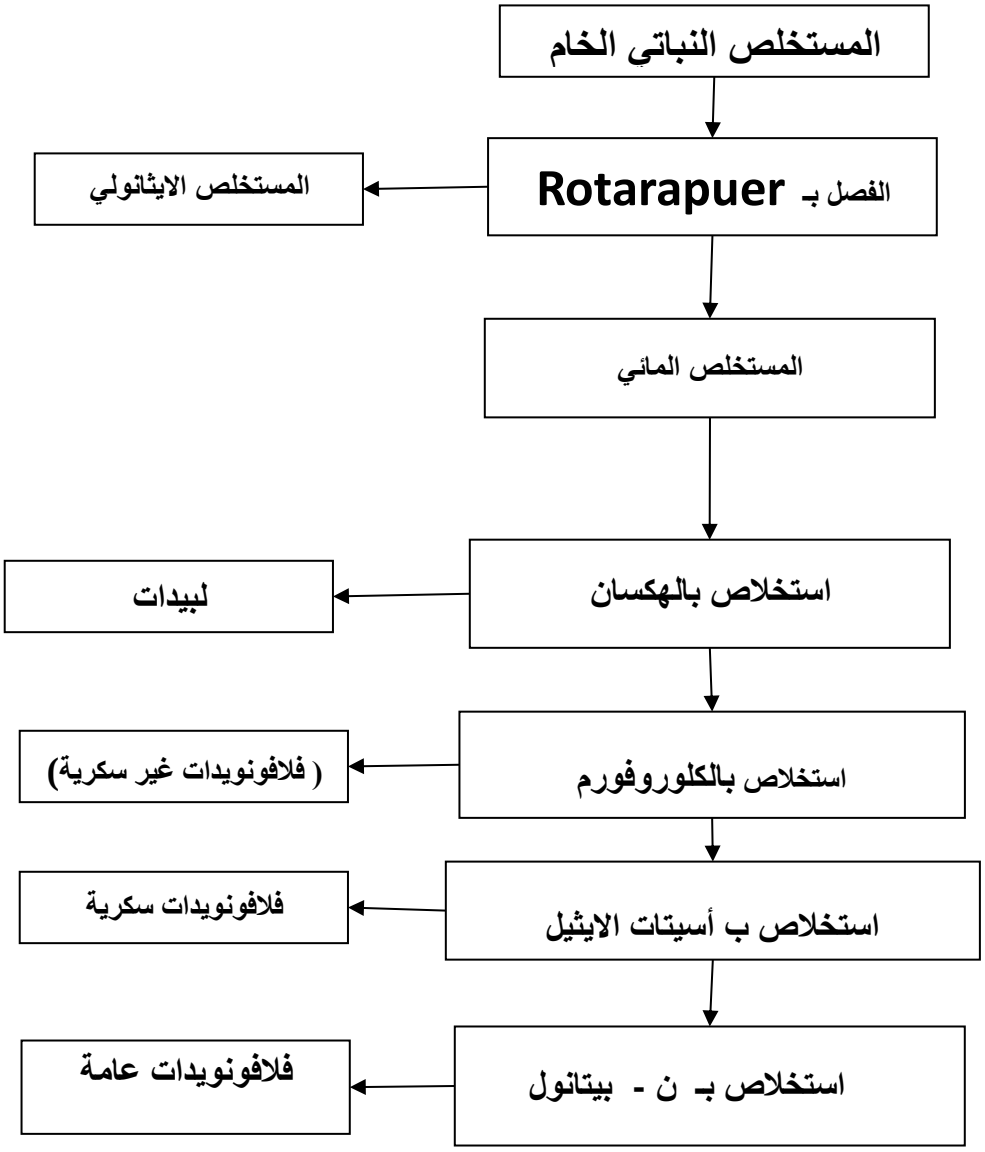
1-4-2-1- طريقة الاستخلاص

حيث تم في هذه المرحلة أخذ حجم 50ml من المستخلص المائي ويضاف له 50 ml من المذيب العضوي على مراحل 20 ml 15 ml 15 ml . بعدها تم اضافة كمية $Mgso_4$ اللامائية .ومن ثم ضع المستخلصات العضوية في الهواء الطلق لتصاعد المذيبات تحت درجة حرارة الغرفة .

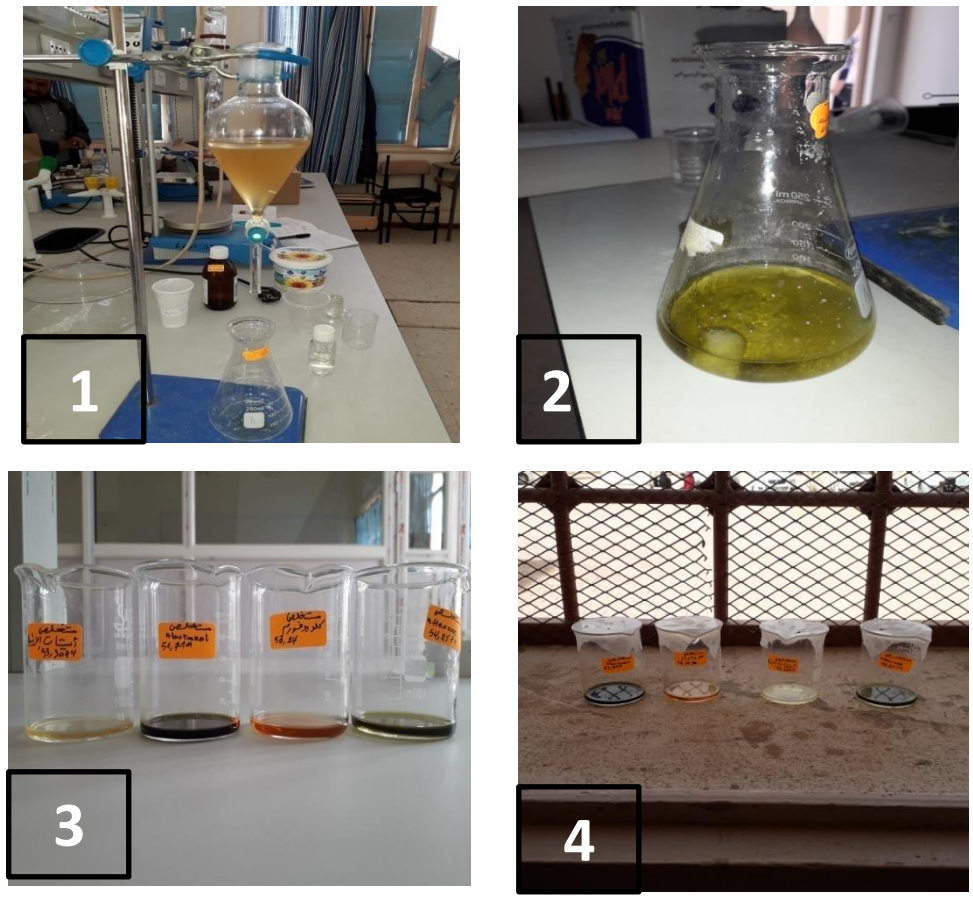
ملاحظة : الفصل على عدة مراحل يعطي مردود أفضل من الفصل في مرحلة واحدة .

المذيبات العضوية المستعملة هي :

- ✓ الهكسان
- ✓ الكلوروفورم
- ✓ أسيتات الايثيل
- ✓ ن - بيتانول



الشكل 21: مخطط الفصل.



الشكل 22: مراحل الاستخلاص بالمذيبات غير القطبية

1-4-2-2- حساب كمية الاستخلاص للمذيبات الاربعة :

تم وضع العينات في بيشرات و وزنها قبل وبعد التجفيف التام وتم الحصول على كتلة المستخلص لكل مذيب من المذيبات بالعلاقة :

$$Q = Mi - Mf$$

حيث :

- ✓ Mf : الكتلة بعد التجفيف .
- ✓ Mi : الكتلة قبل التجفيف .

جدول 6: قيم الكتلة المستخلصة

المذيب	الكتلة المتحصل عليها (mg)
الهكسان	45.6
الكلوروفورم	90
أسيتات الايثيل	90.7
ن - بيتانول	273.4

نلاحظ أن أعلى قيمة استخلاص كانت عند ن - بيتانول حيث بلغت (mg) 273.4 وكما نلاحظ أيضا تقارب قيمتي كل من الكلوروفورم و أسيتات الايثيل عند القيمة (mg) 90 وتسجيل أقل قيمة بالنسبة للهكسان تساوي (mg) 45.6 .

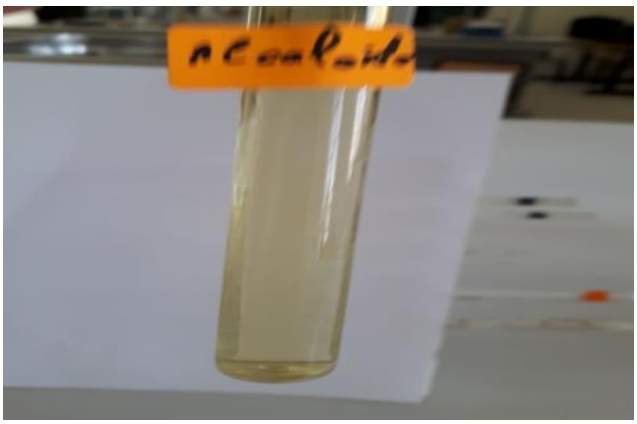
2- الكشف عن المواد الفعالة لنبات الشريك *Fagonia cretica. L* (الدراسة الفيتوكميائية) :

2-1- الاختبارات الكيميائية الأولية *التحليل الكيفي*

إن فعالية النبتة تعود الى ما تحويه من عناصر فعالة , وهذه العناصر تختلف في النباتات بل تختلف حتى لنفس النبتة فهذه العناصر تتطلب طرق كشف مختلفة حسب نوع كل نبتة , ولمعرفة أنواع العناصر الفعالة لابد من إجراء الفحص الكيمائي للنبتة[3].

2-2- اختبار الألكالويدات :Les Alcaloides

تم القيام بوزن مسحوق النباتي الجاف ووضع في بيشر سعته 200ملل ونضيف إليه 30ملل من HCl محفف5% ونسخنه لمدة 15دقيقة على لوح التسخين وبعدها نرشح المحلول . تم أخذ الرشاحة ويضاف اليها محلول الأمونياك حتى الحصول على pH=9 بعدها نقوم بعملية استخلاص (سائل – سائل) ثلاث مرات بواسطة 20ملل كلوروفورم*Chloroforme* الطور العضوي يجمع ويبخر المتبقي يضاف اليه 2ملل من حمض الهيدروكلوريكHCl مخفف ثم ثلاث قطرات من كاشف ماير ونلاحظ.[3]



الشكل 23: الكشف عن الألكالويدات

ملاحظة : عدم ظهور الراسب أبيض مما يدل على عدم تواجد الألكالوريدات

2- 3- اختبار الصابونوزيدات :Les Sap onosides

تم وزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف ونضعه في بيشر سعته 200ملل ويضاف اليه ماء مقطر ونسخن لمدة 30دقيقة . نرشح المحلول ونبرد الرشاحة ثم توضع في انبوب اختبار ونرج لمدة دقيقة ثم تترك 20ثانية ونلاحظ [3]

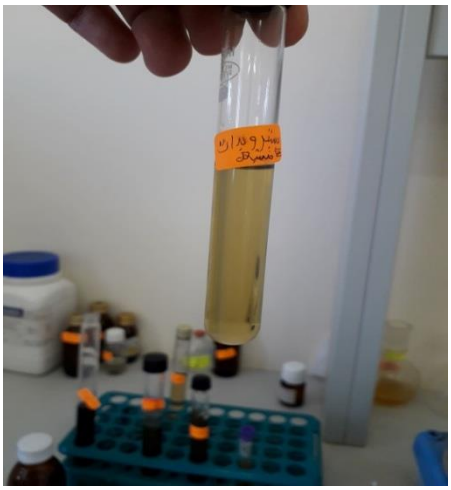
الشكل 24:اختبار الصابونوزيدات

ملاحظة :ظهور رغوة بيضاء بعد الرج .طولها تقريبا 4.5 cm تدل على وجود الصابونوزيدات بنسبة جيدة .

4-2 - اختبار الستيرويدات *Stéroides*

تم وزن 3غ من المسحوق النباتي وينقع في 20ملل من الكحول الايثيلي 70% لمدة30دقيقة ثم يرشح , تبخر الرشاحة والمتبقي يذوب في20ملل من الكلوروفورم ثم يرشح مرة ثانية للتخلص من الشوائب تأخذ الرشاحة وتقسم إلى قسمين :

- ☒ توضع في انبوب اختبار يضاف له1ملل من حمض الخليك CH_3 COOH ثم 1ملل من حمض الكبريت على جدار الأنبوب بحذر ، عدم ظهور اللون الأخضر يدل على تواجد الستيرويدات غيرالمشبعة "Stéroides Insaturés"



الشكل 25: الكشف عن الستيرويدات غير المشبعة

- ☒ نضع الجزء الثاني في أنبوب اختبار و يضاف له حجم متساوي من حمض الكبريت على جدار الأنبوب ,ظهور اللون الأخضر المصفر الذي يتحول الى اللون الأحمر (بني محمر) على شكل حلقة دليل على وجود الستيرويد "Stéroides" .

الشكل 26: اختبار الستيرويد

5-2 -اختبار العفصيات : Tanins

تم وزن 3غ من المسحوق النباتي ووضعه في بيشر سعته 200ملل نضيف اليه 20ملل من الايثانول 50% ويسخن لمدة 30دقيقة تسخينا لطيفا وبعدها يرشح المحلول .تأخذ الرشاحة في أنبوب اختبار ويضاف اليها قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي $Fecl_3$ ونلاحظ [3].

الشكل 27: الكشف عن العفصيات

ملاحظة: ظهور اللون الأخضر دليل على تواجد العفصيات.

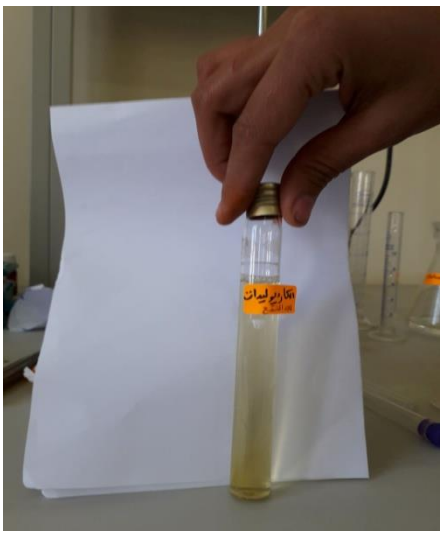
2- 6 - اختبار الستيرولات غير المشبعة و التربيتات " Stéroles Insatures et Terpénes":

نزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف ,ونضعه في بيشر سعته 200 ملل ونضيف إليه 20ملل من الكلوروفورم "Cloroforme" و نسحن لمدة 30 دقيقة تسخينا لطيفا ثم نرشح ,نأخذ الرشاحة و نضعها في أنبوب اختبار و نضيف له 1 ملل من حمض الكبريت "H_2SO_4" بحذر على جدار الأنبوب,نلاحظ ظهور اللون الأخضر الذي يتحول بعد مدة الى اللون الأحمرفي الطبقة الفاصلة بين الطورين دليل على تواجد الستيرولات غير المشبعة و التربينات[3] .

الشكل 28: اختبار الستيرولات غير المشبعة و التربيتات .

7-2- اختبار الكاردينوليدات " Cardénolides":

نزن 3غ من المسحوق النباتي الجاف , ينقع في الماء المقطر لمدة 24 ساعة ثم يرشح , نقوم بعملية استخلاص (سائل- سائل) للمحلول المحصل عليه بواسطة 10 ملل من الكلوروفورم و الطور العضوي يبخر و المتبقي يذوب في 3ملل من حمض الأستيك ثم نضيف له قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي "$FeCl_3$" , يليها 1ملل من حمض الكبريت "H_2SO_4" نلاحظ تلون الطور الحمضي بلون أخضر مزرق مما يدل على تواجد الكاردينو ليدات [3].



الشكل 29: اختبار الكاردينوليدات

2-8- اختبار الفلافونيدات "Flavonoides ":

نزن 10غ من المسحوق النباتي الجاف , ينقع في 100ملل من حمض كلورهيدريك المخفف (5%) لمدة48 ساعة ثم يرشح .

2-8-1-الاختبار العام للفلافونيدات:

نأخذ 10 ملل من الرشاحة و نضيف اليها كمية من المحلول هيدروكسيد الألمنيوم "NH_4OH" N_2 للحصول على الوسط القاعدي و يلاحظ ظهور اللون الأصفر الباهت دليل على وجود الفلافونويدات **[3].**

الشكل 30: اختبار الفلافونيدات

2- 9 - نتائج الكشف عن العناصر الفعالة :

جدول 7: نتائج الكشف عن العناصر الفعالة

المادة الفعالة	الكاشف المستتعمل	نسبة تواجده في النبات
الالكلويدات	كاشف ماير	-
الصابونوزيدات	الرج + الماء المقطر	**+ + +**
السيترويدات غير مشبعة	H_2SO_4 +CH_3COOH	**-**
ستيرويد	$MgSO_4$	**+ + +**
العفصيات	$FeCL_3$	**-**
الستيرويلات غير مشبعة والتربينات	H_2SO_4	**+ +**
الكارديونيلات	$FeCL_3 + H_2SO_4$	**++**
الفلافانويدات العامة	NH_4OH	**++**

2- 10- مناقشة النتائج:

(+++) نسبة كبيرة ، (++) نسبة متوسطة ، (-) غير موجودة .

بناء على النتائج المتحصل عليها . يمكن القول أن نبات الشريك *Fagonia critica.L* يحتوي على مجموعة من المواد الفعالة بنسب متفاوتة وهي كالتالي :

- ✓ تواجد الصابونوزيدات والستيرويد العامة بنسبة كبيرة .
- ✓ تواجد الكارديونيلات و الستيرويلات غير مشبعة وتربينات و الفلافانويدات العامة بنسبة متوسط .
- ✓ غياب القالويدات و ستيرويدات و العفصيات غير المشبعة .

3- اختبار الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا :

تم في هذا الفصل دراسة تأثير المستخلصات العضوية لنبات الشريك على نوعين من البكتيريا وذلك بتطبيق أشهر الطرق المستخدمة وهي طريقة الانتشار حول الأقراص (méthodes des disques) ولقد تمت عملية اختبار الفعالية البيولوجية في المخبر رقم04 التابع لكلية علوم الدقيقة (بجامعة الشهيد حمه لخضر) في يوم :الثلاثاء الموافق لـ 17افريل 2018

3-1- أنواع البكتيريا المستعملة:

- ✓ أيشيرشياكولي Escherichia coli بكتيريا غرام سالب-G (gram négative)
- ✓ ستافيلوكوكيز أروز Staphylococcus aureus بكتيريا غرام موجب+G gram (positive)

3-2 - الأدوات والمواد المستخدمة:

- ✓ المستخلصات النباتية المحضرة سابقاً .
- ✓ علب بيتري
- ✓ الحاضنة
- ✓ جهاز أوتوكلاف Auto clave
- ✓ الاقراص : وهي أوراق بيفارد قطرها حوالي 6 ملم وللقيام باختبار الفعالية اتبعنا الخطوات التالية:

3-3- تحضير وسط زراعي:

تم الحصول على أوساط زراعية محضرة في ظروف قياسية من طرف مخبر المجد للتحاليل الطبية بالطريقة أدناه.

يتم في البداية بإذابة الوسط المغذي المراد استعماله داخل حمام مائي حيث استخدمنا في هذه الدراسة الوسط الجيلوزي (gelose cled) , ثم نسكب كميات محددة بمقدار 20مل /علبة, بعد ذلك نحاول تغطية كل سطح العلبة بالسائل وبشكل متجانس مع مرعاه التجانس في سمك الوسط وعلى أن يكون السمك في حدود 5ملم , توضع بعد ذلك في الفرد الكهربائي لمدة20دقيقة , تأخذ شكلها وتتماسك ولإزالة الرطوبة المتبقية .

3-4- تحضير الأقراص:

نقص أوراق الترشيح لبيفارد على شكل أقراص , ثم نضعها في جهاز التعقيم (الأوتوكلاف) في درجة حرارة 37C° لمدة زمنية قدرها 24سا.

3-5- تحضير المعلق الميكروبي:

نأخذ بإستخدام ملقاط بلاتيني أو ساحبة جذمة بكتيرية للأنواع البكتيرية , ونغمسها في أنبوب اختبار يحتوي 10مل من كلوريد الصوديوم نحركها جيدا حتى يتجانس المعلق البكتيري [4 5 -6] ثم نسكب 01 مل من المعلق في علب بتري ونوزعها باستعمال ساحبة (Rataux) بحيث تشمل كل الحواف ونتركها في

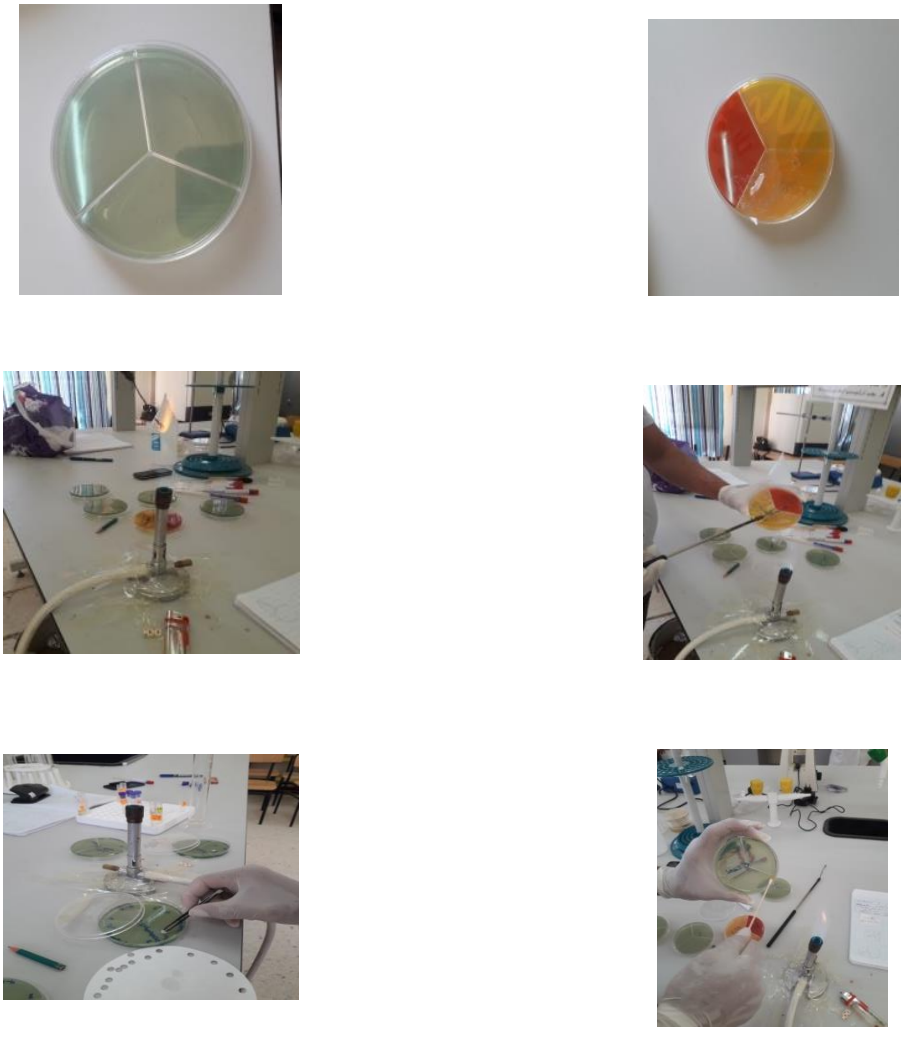
الحاضنة, لمدة 15دقيقة في درجة حرارة 37C° حيث تتم العملية بطريقة خاصة في وجود دوما لهب موقد البنزن لتفادي انتشار البكتيريا في الجو.

3-6- الحضن:

تبلل الأقراص المعقمة بالمستخلصات المحضرة والمراد دراسة فعاليتها البيولوجية ثم توضع بصورة صحيحة في علب بيتري المحضرة فيما سبق بعد 30 min تحضن العلب لمدة 24سا في درجة حرارة 37درجة مئوية

3-7- القياس:

قراءة النتائج تكون بدلالة تواجد أو عدم تواجد طبقة الكبت وبقياس قطر هذه الطبقات حول الأقراص الموضوعة بالمليمتر.والصور التالية توضح طريقة العمل:



الشكل 31:أهم مراحل خطوات العمل

بعد القيام باختبار الفعالية البيولوجية ضد البكتيريا تم الحصول النتائج المدونة بالجدوال التالية :

ملاحظة : قطر الأقراص المستعملة حوالي d = 6 cm

جدول 8: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز $\frac{g}{l}$ c = 0.5

نوع البكتيريا / المستخلص العضوي	**G**- Escherichia coli	**G**+ Staphylococcus aureus
الكلوروفورم $\frac{g}{l}$ 0.5	-	-
ن – بيتانول $\frac{g}{l}$ 0.5	-	-
أسيتات الايثيل $\frac{g}{l}$ 0.5	-	-

3- 8 - تفسير النتائج:

من خلال النتائج المتحصل عليها في هذا الجدول نستنتج أن : المستخلصات العضوية لنبات الشريك *Fagonia critica.L* بالتركيز المتساوي لها $\frac{g}{l}$ 0.5 = C لا تمتلك أثر تثبيطي على الأنواع البكتيرية المدروسة سواء كانت غرام سالب G^- (gram négative) أو غرام موجب +G (positive gram) .

جدول 9: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز $\frac{g}{l}$ c = 3

نوع البكتيريا / المستخلص العضوي	**G**- Escherichia coli	**G**+ Staphylococcus aureus
الكلوروفورم $\frac{g}{l}$ 3	-	+
ن – بيتانول $\frac{g}{l}$ 3	-	+
أسيتات الايثيل $\frac{g}{l}$ 3	-	-

نفسر النتائج المتحصل عليها من خلال هذا الجدول بأن المستخلصات العضوية لنبات الشريك *Fagonia critica.L* بالتركيز المتساوي لها $\frac{g}{l}$ 3 = **c** تمتلك أثر تثبيطي على النوع البكتيري غرام موجب +G (gram positive) متمثلة في:

- ✓ حساسية متوسطة بالنسبة إلى مستخلص ن – بيتانول ، ما يقارب 9 cm .
- ✓ حساسية متوسطة بالنسبة إلى مستخلص الكلوروفورم ، ما يقارب 9 cm.
- ✓ بينما أسيتات الايثيل لم يبد أي فاعلية .

جدول 10: أثر كبت المستخلصات للبكتيريا بتركيز $\frac{g}{l}$ 7 = c

نوع البكتيريا / المستخلص العضوي	**G**- Escherichia coli	**G**+ Staphylococcus aureus
الكلوروفورم $\frac{g}{l}$ 7	-	+
ن – بيتانول $\frac{g}{l}$ 7	-	+
أسيتات الايثيل $\frac{g}{l}$ 7	-	-

من خلال نتائج هذا الجدول واستنادا للنتائج المقدمة من الجدول (9) نجد أن هناك ثبات في الفاعلية البيولوجية لمستخلص الكلوروفورم حيث وصلت إلى ما يقارب 9 cm ، ونفس الظاهرة حدثت مع ن – بيتانول و بقاء أسيتات الايثيل على ما هو عليه ولم يظهر أي فاعلية .

* يمكن القول أن كل من مستخلص الكلوروفورم و ن – بيتانول لهما فاعلية بيولوجية عند تراكيز تصل إلى $c \geq 3 \frac{g}{l}$

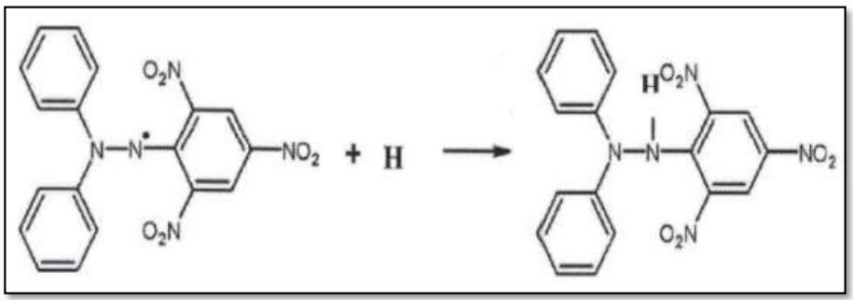
4- اختبارالفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات العضوية :

وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفاعلية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار(***DPPH***) أو اختبار***(FRAP)*** أو اختبار***(ABTS)*** أو اختبار***(LMWA)*** أو اختبار***(TRAP)*** أو اختبار القدرة الإرجاعية ***(PR)*** وهذه الطرق تعتمد على التلوين و نزعه في طو ل موجي معين .

وفي هذه الدراسة تم اختيار طريقة تقدير النشاط الآسر للجذور الحرة (***DPPH***)

2-4 - اختبار تثبيط الجذر الحرDPPH :

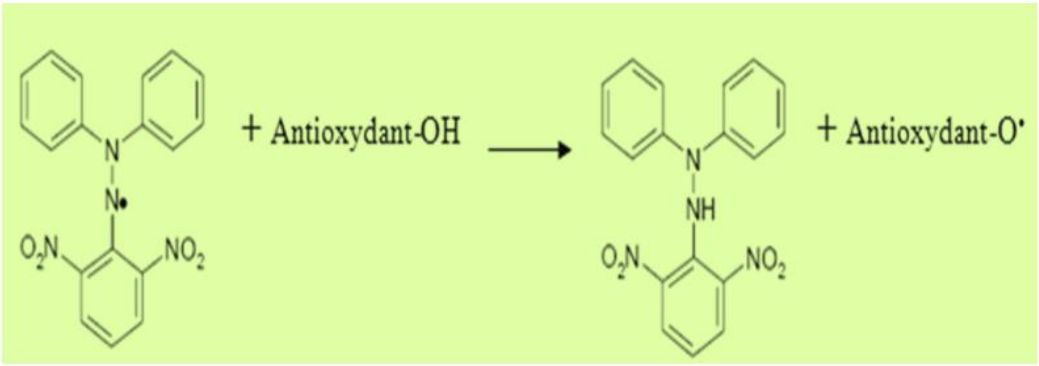
وهو اختبار مضاد للجذور الحرة وقد عرفها العالم ـ بولواز سنة 1958 ولقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات الخاصة بمضادات الأكسدة DPPH ثنائي فينيل هايدرازيل وهي مادة صلبة لونها بنفسجي، يشتق هذا الجذر الحر من جزيئة ثنائي فينيل بكريل هايدرازين وهي مادة صلبة غير جذرية لونها اصفر[7]



الشكل 32: يمثل آلية تثبيط العامل المضاد للاكسدة مع الجذر الثابت DPPH

1-2-4 – الاساس النظري للتفاعل :

يعتمد هذا التفاعل على أساس إرجاع جذر [DPPH] للجزيئات المانحة لذرات الهيدروجين للمستخلص الايثانولي (الجزيئات المضادة للأكسدة) حيث يتم إرجاع جذر [DPPH] باقتناصه لذرة هيدروجين إلى المركب [DPPH -H] ويصاحب هذا تغير اللون من البنفسجي إلى الاصفر يترجم هذا التغير بنقص في الامتصاصية بدلالة الزمن عند طول موجة 517nm وهذا حسب التفاعل التالي :



الشكل 33: تفاعل الجذر الحر DPPH مع مركب مضاد للأكسدة

المستخلصات العضوية لنبات الشريك التي حضرناها سابقا أخدنا منه 2 مغ وذوبناها في 2 ملل من الميتانول 95% فتحصلنا على محلول ميتانولي للمستخلص الايتانولي ذو التركيز 2/2 ملل, وانطلاقا من هذا الاخير حضرت المحاليل المخففة التالية ذات التراكيز التالية:

0.5 مغ/ملل ، 0.27 مغ/ملل ، 0.125 مغ/ملل ، 0.0625 مغ/ملل ، 0.0312 مغ/ملل ، 0.0150 مغ/ملل ، وفي أنابيب أخذ حجم 30µl لكل تركيز من من تراكيز المستخلصات العضوية وأضيف له 2 ملل من المحلول الميثانولي لجذر DPPH 100 ميكرو مول / ل وبعد الخلط والمزج جيدا يوضع المزيج التفاعلي في الظلام لمدة 30 دقيقة وفي درجة حرارة المخبر ثم نبدأ بقراءة الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 517 nm مقابل المحلول الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية وذلك باستعمال الايثانول 95% في محل المستخلص . وبنفس الطريقة يتم تحضير 4 ملغ من حمض الاسكروبيك Acid Ascorbic مذاب في 4ملل من الميتانول 95% وانطلاقا من هذا الأخُير حضرت المحاليل المخففة التالية ذات التراكيز التالية:

0.5 مغ/ملل ، 0.27 مغ/ملل ، 0.125 مغ/ملل ، 0.0625 مغ/ملل ، 0.0312 مغ/ملل ، 0.0150 مغ/ملل ، وفي أنابيب أخذ حجم 30µl لكل تركيز من من تراكيز المحلول الايثانولي لحمض الاسكروبيك - كل تركيز على حدى - وأضيف له 2 ملل من المحلول الميثانولي لجذر DPPH 100 ميكرو مول / ل وبعد الخلط والمزج جيدا يوضع المزيج التفاعلي في الظلام لمدة 30 دقيقة وفي درجة حرارة المخبر ثم نبدأ بقراءة الكثافة الضوئية عند الطول الموجي $\lambda max = 517$ nm مقابل المحلول الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية وذلك باستعمال الايثانول 95% في محل المحلول الايثانولي لحمض الاسكروبيك .

بعد ذلك تم تحديد القيمة IC_{50} (النسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH) وفق المعادلة التالية

% of DPPH radical scavenging= (Y-X)x100/Y

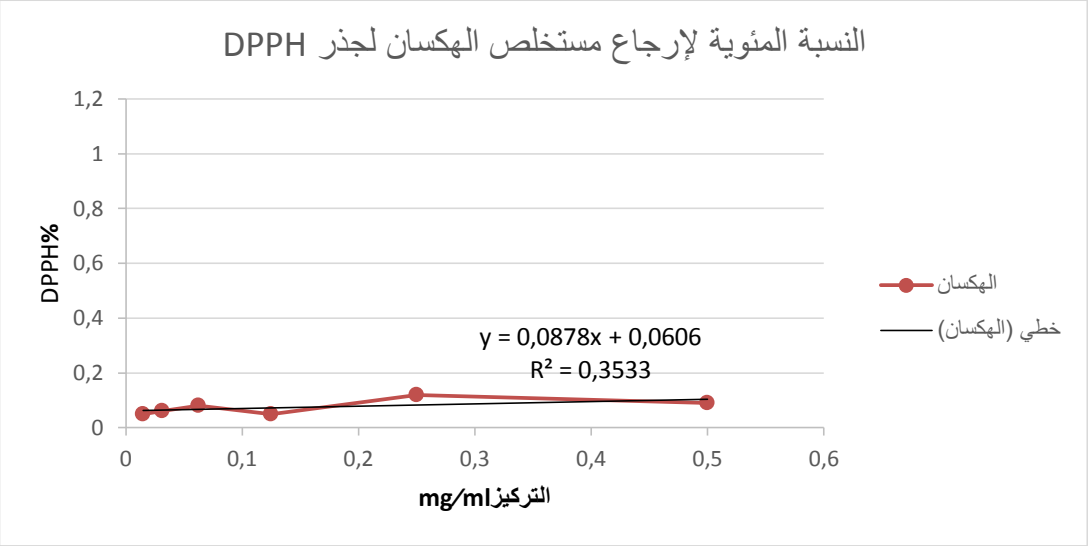
- ✓ of DPPH radical scavenging= (النسبة المئوية لإرجاع الجذر الحر الثابت DPPH %)
- ✓ Y = الكثافة الضوئية لـ DPPH في المحلول الميثانولي
- ✓ X = الكثافة الضوئية لـ DPPH بوجود المستخلص

4-3- النتائج والمناقشة :

بعد قياس وحساب النسبة المئوية لارجاع الجذر الحر الثابت DPPH سواء للمحلول العضوي للمستخلصات و المحلول الايثانولي لحمض الاسكروبيك تم الحصول على النتائج التالية :

تحديد قيمة المقدار IC_{50}

تحديد قيمة المقدار IC_{50} للمستخلصات العضوية من خلال المنحنيات البيانية حيث يتم حساب قيمة التركيز الموافق لـ 50 % اعتمادا على معادلة المنحنى لكل مستخلص .



.

الشكل 34: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الهكسان لجذر DPPH

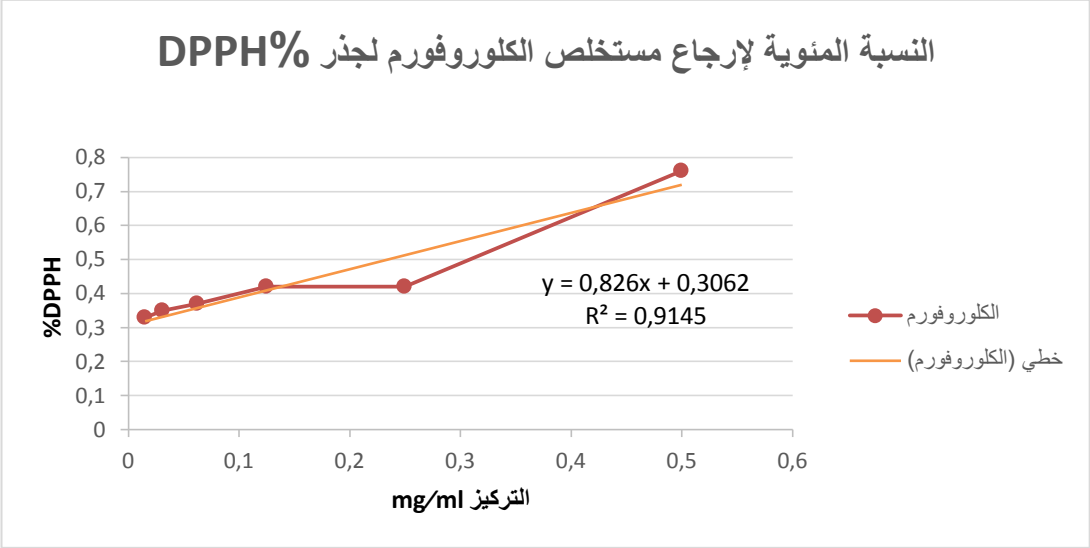
$$Y= 8.7\ X+ 6$$

إذا كانت Y تمثل نسبة الارجاع بـ 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X= (50 - 6)/8.7$$

عند النسبة 50 % قدر تركيز المستخلص العضوي للهكسان بـ

$$IC_{50} = 5.05\ \ mg/ml$$



الشكل 35 : النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الكلوروفورم لجذر DPPH

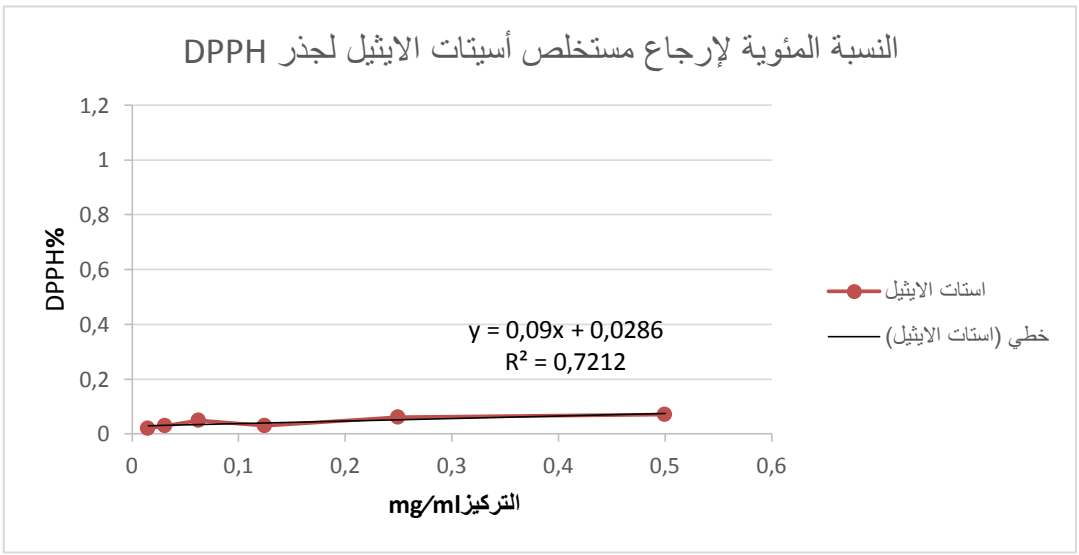
$$Y= 82.6\ X+30.6$$

إذا كانت Y تساوي القيمة 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X= (50 - 30.6)/82.6$$

عند النسبة 50 % قدر تركيز المستخلص العضوي للكلوروفورم بـ :

$$IC_{50} = 0.23\ mg/ml$$



الشكل 36: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص اسيتات الايثيل لجذر DPPH

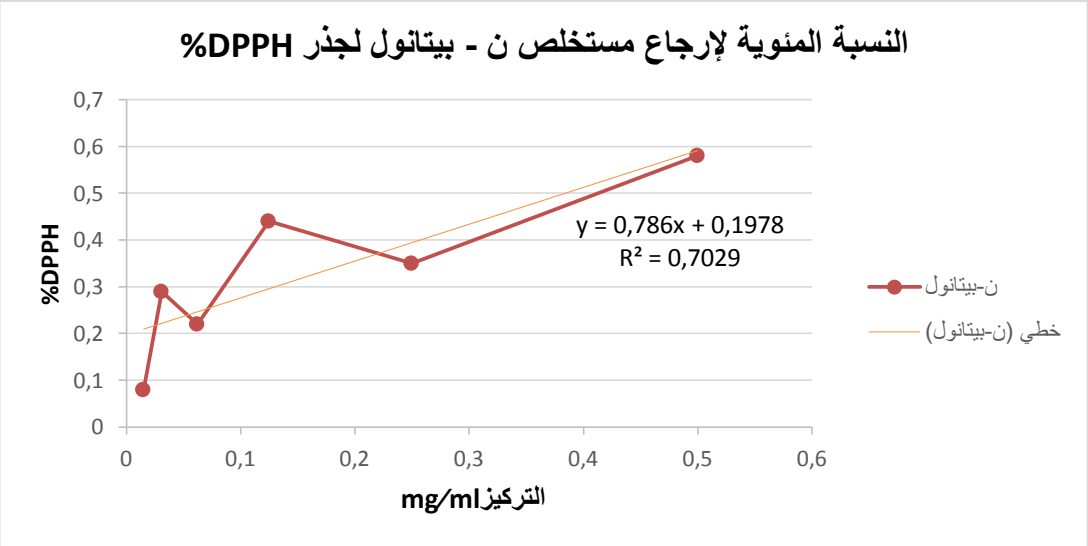
$$Y= 9\ X + 2.8$$

إذا كانت Y تساوي القيمة 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X= (50.-2.8)/9$$

عند النسبة 50 % قدر تركيز المستخلص العضوي أسيتات الايثيل بـ:

$$IC_{50} = 5.24\ mg/ml$$



الشكل37 : النسبة المئوية لإرجاع مستخلص ن- بيتانول لجذر DPPH

$$Y= 78.6\ X+ 19.7$$

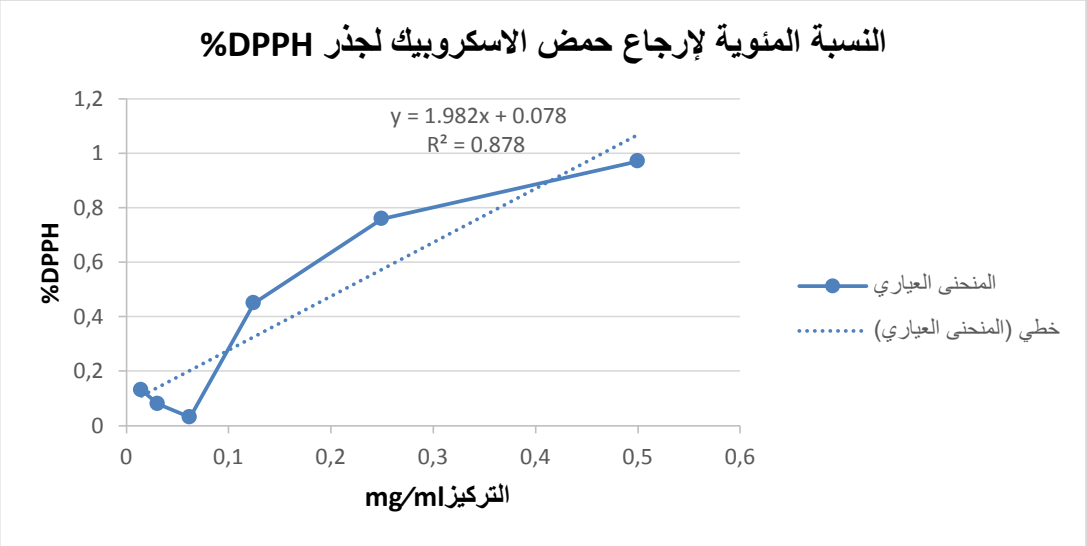
إذا كانت Y تساوي القيمة 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X = (50 - 19.7)/78.6$$

عند النسبة 50 % قدر تركيز المستخلص العضوي ن - بيتانول بـ :

$$IC_{50} = 0.39\ mg/ml$$

أما في حالة حمض الاسكروبيك تحدد قيمة IC_{50} من خلال المنحنى البياني حيث يتم حساب قيمة التركيزالموافق لـ 50 % اعتماد على معادلة المنحنى التالية



الشكل 38: النسبة المئوية لإرجاع مستخلص الاسكروبيك لجذر DPPH

$$Y= 198.2.X+7.8$$

إذا كانت Y تساوي القيمة 50 % تكون قيمة IC_{50} كما يلي :

$$X= (50 - 7.8)/198.2$$

عند النسبة 50 % قدر تركيز المستخلص العضوي لحمض الاسكروبيك بـ

$$IC_{50} = 0.21\ mg/ml$$

جدول 11: قيمة IC_{50} للمستخلصات العضوية وحمض الاسكروبيك mg/ml

النبات	المستخلص	قيمة IC_{50}
نبتة ***Fagonia critica .L***	حمض الاسكروبيك	0.21
	الكلوروفورم	0.23
	ن – بيتانول	0.39
	الهكسان	5.05
	أسيتات الايثيل	5.24

المناقشة :

أثبتت النتائج المتحصل عليها في الشكل (35 و 37) على فاعلية المستخلص العضوي لكل من الكلوروفورم و ن- بيتانول.للمستخلص المائي لنبات الشريك *Fagonia critica .L* في أسر والتقاط الجذور الحرة لجذر DPPH بـ وهذا عند مقارنة الفاعلية المضادة للأكسدة بالتي عند حمض الاسكروبيك والذي يعرف بأنه الاقوى بالنسبة لعديدات الفينول (البولي فينول) حيث قدر تركيز الاسر لـ 50 % بـ 0.21 ملغ / مل . وهذا يعني أن المستخلصين الكلوروفورم و ن - بيتانول و حمض الاسكروبيك لهم بالتقريب فعالية مضادة للأكسدة متقاربة .

إن هذه النتائج المتحصل عليها ماهي إلا وجود مواد فعالة تملك فاعلية مضادة للأكسدة .

ومن خلال هذه الدراسة تبين أن *Fagonia critica .L* والتي هي من العائلة الزيغوفيلاسيا (*Zygophyllaceae*) تملك فاعلية بيولوجية كيميائية وهذا راجع لما تحويه من مواد فعالة . وهذا ما توصل إليه (حميدي نور الدين - 2015.)

4 - التقدير الكمي لمتعدد الفينول (بولي فينول) :

تم تقدير عديدات الفينول الكلية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau حسب طريقة

(Single ton,Ross 1965) وحمض الغاليك كأساس مرجعي , كاشف فولين يتغير لونه من الاصفر الى الأزرق بالاكسدة .

4-1-رسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك :

❖ **تحضير المحاليل :**

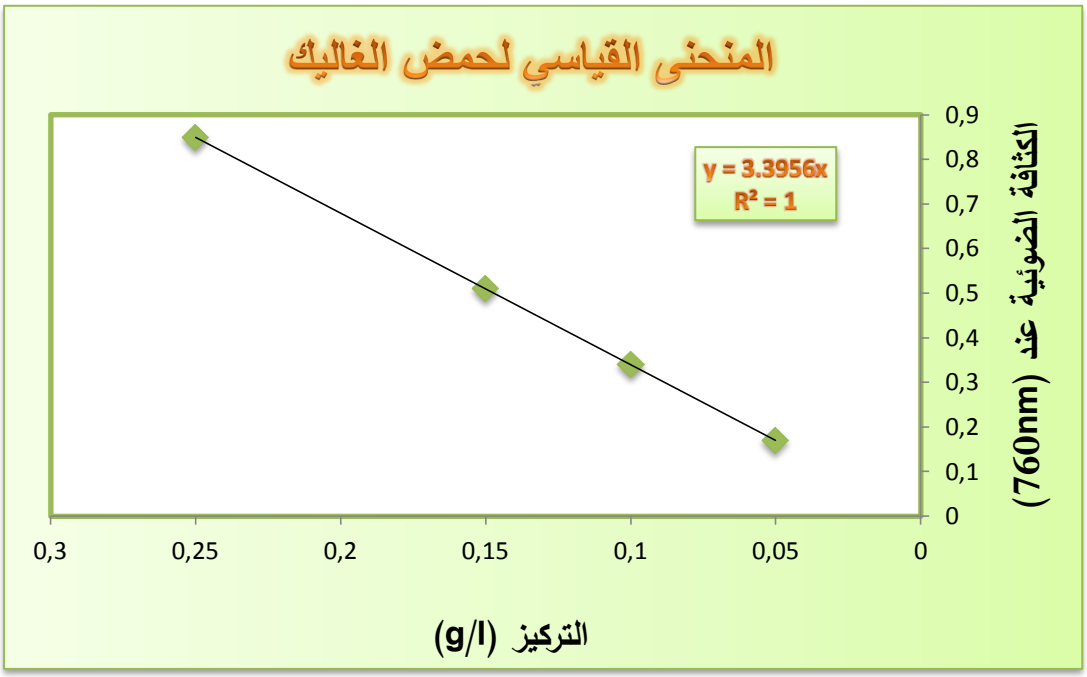
تم تحضير تراكيز مختلفة من حمض الغاليك تكون محصورة بين 0.03mg /ml و 0.3mg/ml في كل انبوب اختبار نضع 0.5ml من المحلول المحضر ونضيف له 0.5ml من كاشف (folin) الممدد ونضيف لهم 0.8ml من كربونات الصوديوم (Na2CO3) تركيزه 7.5% , نرج الانابيب جيدا ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة وتتم قراءة الامتصاصية بجهاز (UV-Visible) عند طول الموجة $\lambda max=760nm$.

قيم الامتصاصية مدونة في الجدول :

جدول 12: قيم الامتصاصية لحمض الغاليك

التركيز ملغ /مل	0.05	0.1	0.15	0.25
الامتصاصية A	0.1698	0.3397	0.509	0.849

انطلاقا من النتائج المدونة في الجدول نرسم المنحنى القياسي لحمض الغاليك الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز بـ (g/l)



الشكل 39: المنحنى القياسي لحمض الغاليك

2-4- التقدير الكمي للفينولات بواسطة جهاز مطيافية الاشعة UV-Visible:

نتائج الامتصاصية الضوئية للمحاليل المحضرة مدونة في الجدول:

جدول 13: قيم الامتصاصية للتراكيز المحضرة .

العينة	الهكسان	ن - بيتانول	الكلوروفورم	أسيتات الايثيل
التركيز (ملغ/مل)	0.15	0.15	0.15	0.15
الامتصاصية	00	0.33	0.27	00

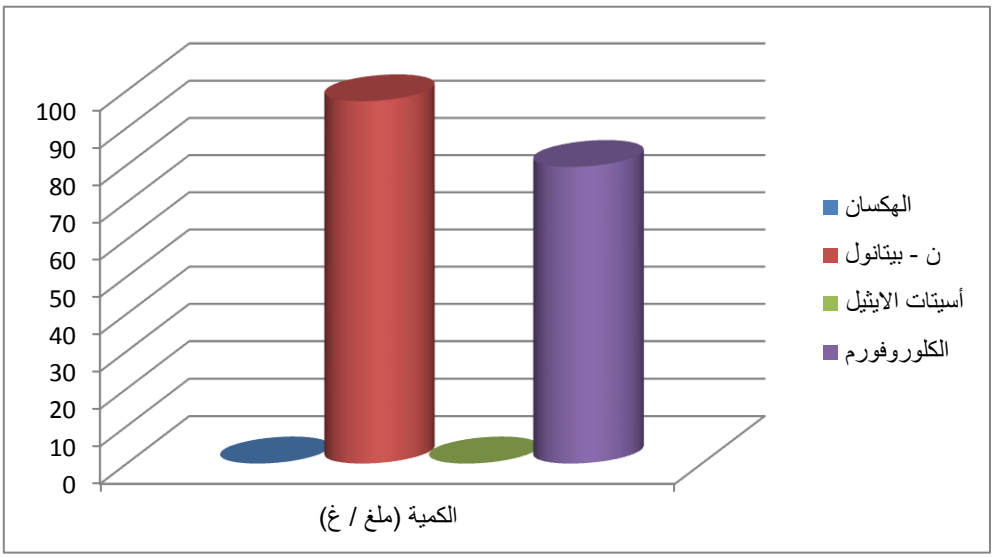
من خلال علاقة المنحنى القياسي لحمض الغاليك نجد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات المدروسة, حيث يمكننا حساب الكمية المكافئة ل 1غ من المستخلص .

Y=3.3974x

النتائج مدونة في الجدول :

جدول 14: كمية عديدات الفينول في المستخلصات

المذيب العضوي	الهكسان	ن - بيتانول	الكلوروفورم	أسيتات الايثيل
الكمية (ملغ / غ)	/	97.14	79.48	/



الشكل 40: كمية عديدات الفينول في المستخلصات

ممن خلال النتائج المتحصل عليها يمكن القول عن تواجد المركبات الفينولية بكميات معتبرة على مستوى نبات الشريك , حيث تصل الى 97.4 ملغ /غ من مستخلص عينة ن - بيتانول, و 79.48 ملغ/غ من مستخلص عينة الكلوروفورم, مع انعدامها في مستخلصي الهكسان و أسيتات الايثيل وهذا راجع الى الاختلاف في نوعية المذيبات المستعملة .

خلاصة عامة :

في هذا الفصل تم تحضير عينة الدراسة والقيام بعملية الاستخلاص بنوعيه (سائل – صلب) و (سائل – سائل) والحصول على المستخلصات للمذيبات العضوية للكلوروفورم و أسيتات الايثيل و الهكسان و ن – بيتانول ودراسة الفاعلية البيولوجية والكيميائية لها .

حيث تم التوصل إلى أن مستخلص الكلوروفورم يملك فاعلية بيولوجية في التركيز ($\frac{g}{l}$) **C ≥ 3** . وكما أوضحت أيضا الفاعلية الكيميائية - المضادة للأكسدة - لجميع المستخلصات عدا الهكسان وهذا باتباع طريقة التثبيط للجذر الحرDPPH ، وفي الأخير تم التقدير الكمي لعديد الفينول في المستخلصات حيث بلغت 97.4 ملغ /غ من مستخلص عينة ن - بيتانول, و 79.48 ملغ/غ من مستخلص عينة الكلوروفورم وانعدامها في أسيتات الايثيل و الهكسان .

وكما تم التوصل أيضا إلى أن نبتة الشريك *fagonia critica.L* تحتوي على أغلب المواد الفعالة الصابونيات ، العفصيات ، الفلافونيدات و الستيرويدات والستيرولات غير المشبعة والتربينات مع غياب الالكويدات ..

المراجع

اللغة العربية

[1] بن سلامة ع. ا –2012النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراقL .Hertia cheirifolia. .مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. ص: .90

[2]. (أميينة بوقربة – الدراسة الفيتوكيميائية وتقدير الفاعلية التثبيطية لمستخلص نبات السدر ***(Zizyphus Lotus)***– ماستر أكاديمي - ورقلة – 2011 ص 68

[3] حميدي نور الدين - 2015 - الدراسة الفيتو كيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا (*Zygophyllaceae*) *FagoniaLongispina*)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر – مذكرة دكتوراه في الكيمياء -جامعة ابي بكر بالقايد تلمسان .

[6] علاوي مسعودة مساهمة في الدراسة الفوتوكميائية لنبات " الرمت" مذكرة لنيل شهادة ماجستير2003 .

[7] ربيعي ع. ك، المساهمة في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيميائية والكهروكيميائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).

[4] N. Hamidi 1, H. A. Lazouni2, A. Moussaoui3, L. Ziane4, M. Djellouli, A. Belabbesse. Ethnopharmacology, Antibacterial and AntioxidantActivities, Phytochemical Screening of Bioactive ExtractsFrom the Aerial Parts of Fagonia *Longispina*. *Asian Journal of Natural& Applied Sciences Vol.3(3) September 20*14.

[5] Cristina Popovici , Ilonka Saykova, Evaluation de l'activité antioxydant des composésphénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel2009.

الخاتمة

على الرغم من التطور الحاصل في العلوم الطبية بمختلف تخصصاتها إلا أنه ازداد الاهتمام أكثر اليوم بالنباتات الطبية ، إذ *نلاحظ تفضيل استخدامها* على استعمال المستحضرات الكيميائية المصنعة بل يمكن الجزم على حصول ثورة الطب البديل أو ما يعرف بالطب البديل .

من هذا المنطلق بات لزاما مواكبة الاهتمام بالنباتات الطبية بالخوض في أهم جوانبه وذلك بالقيام بالدراسة للفاعلية البيولوجية و الكيميائية لأحد النباتات المتواجدة في منطقتنا ولاية الوادي .

من خلال دراسة تمت على نبات *Fagonia Longispina* من العائلة الرطراطية (*Zygophyllaceae*) من نفس العائلة التي ينتمي إليها نبات الشريك *Fagonia cretica.L* دراسة فيتوكيمائية على مستوى جامعة أبي بكر بلقايد حيث أثبتت أن هذا الجنس *Fagonia* يحتوي على فعالة بيولوجية وكيميائية وعلى هذا الأساس تم اختيار نبات *Fagonia cretica.L* ودراسة الفاعلية البيولوجية والكيميائية له ، كما تم التطرق إلى الوصف المرفولوجي والتوزيع الجغرافي وتصنيفه العلمي وأهم مناطق التواجد

أما بالنسبة لاختبار الفاعلية البيولوجية تتمثل في دراسة تأثير المستخلصات العضوية للمستخلص المائي وهي كالآتي : الهكسان ، الكلوروفورم ، ن – بيتانول – أسيتات الايثيل . بتراكيز مختلفة وقد طبق الاختبار على نوعين من البكتيريا أيشيرشياكولي *Escherichia coli* بكتيريا غرام سالب-G (*gram négative*) ستافيلوكوكيز أروز Staphylococcus aureus بكتيريا غرام موجب+G (*gram positive*) .

وأما بالسبة للفاعلية الكيميائية فقد تمت باستخدام طريقة تقدير نشاط الآسر للجذر الحر DPPH على المستخلصات العضوية. وكما تم أيضا التقدير الكمي لعديدات الفينول .

توج عملنا التطبيقي باستنتاج مدى فاعلية المستخلصات العضوية بتراكيز مختلفة على أنواع مختلفة من البكتيريا والوصل إلى أن نبات *Fagonia cretica.L* يمتلك قدرة تثبيط متوسطة على النوع البكتيري غرام موجب +G (*gram positive*) بتراكيز تصل إلى 3 g/l فما فوق . كما ارتأينا أن ندعم هذا باختبار الكشف عن بعض المواد الفعالة كالالكلويدات و العفصيات والستيرويلات والتربينات و الكاردينوليدات و الفلافونيدات و الستيرويدات في في كامل أجزاء النبتة فكانت النتائج المتحصل عليها في وجود أغلب المواد الفعالة باستثناء الالكلويدات و العفصيات و الكاردينوليدات .

وفي الأخير نرجو أن نكون قد وفقنا في الوصول إلى الأهداف المرجوة وهي الدراسة البيولوجية والكيميائية لنبات الشريك المتواجد على مستوى الغطاء النباتي للولاية أو على الأقل قد أثرنا تساؤلات في

جانب مهم من مواضيع الطب البديل الحالي كي يتسنى لنا ولغيرنا التمحص أكثر لإثراء الرصيد العلمي في هذا المجال والتعمق أكثر في جوانبه ، كما نرجو أن نكون قد وفقنا في فتح المجال للباحثين ومواصلة البحث في هذا الموضوع .

الملاحق

الملحق 01:الأجهزة المستعمله

❖ **جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)**

معلومات جهاز المبخر الدوراني (Rotavapeur)

CH-9230 FLAWIL/SWTTZERLAND

Type:R-210

SN:1000048012

Volt: 100-240VAC

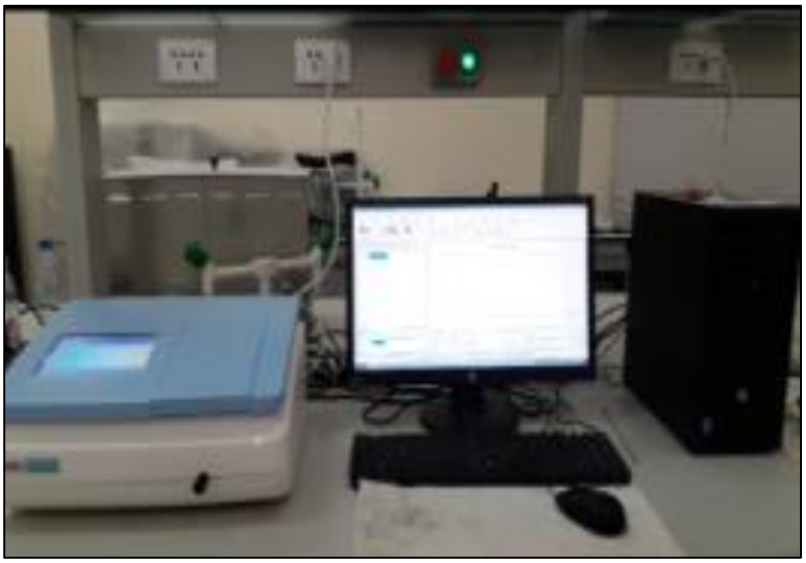
Frequ:50/60HZ

Power:60W

Built2010

T 1.6 AL 250V(2x)

❖ جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre)



معلومات جهاز المطيافية

الضوئية(Spectrophotomètre)

SHIMADZU CORPORATION

MODEL UVmini-1240

CAT.No. 206-24000-38

SERIAL NO. A10934603363 CD

220-240v 50/60HZ 160VA

MADE IN JAPAN

❖ جهاز الحاضنة (Etuve)

معلومات جهاز الحاضنة (Etuve)

LAB TECHASIA .LTD.

ISO 9001 CERTTFIED

MODEL LIB-060M

Volts 220V 50HZ

Watts 200W/1A

SERIAL NO. 08061323

الملحق 02: أهم القالات العلمية و المراجع

J Arid Land (2018) 10(1): 140–151
https://doi.org/10.1007/s40333-017-0076-5
Science Press Springer-Verlag

Habitat, occurrence and conservation status of the Saharo-Macaronesian and Southern-Mediterranean element *Fagonia cretica* L. (Zygophyllaceae) in Italy

Giovanni SPAMPINATO[1*], Carmelo M MUSARELLA[1,2], Ana CANO-ORTIZ[2], Giuseppe SIGNORINO[1]

[1] Department of Agriculture, Mediterranea University of Reggio Calabria, Feo di Vito, 89124 Reggio Calabria, Italy;
[2] Department of Animal and Plant Biology and Ecology, Section of Botany, University of Jaén, Campus Universitario Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén, Spain

Abstract: *Fagonia cretica* L. is an important component of Mediterranean dry grasslands and a rare and isolated species of Italian flora. In this study, an assessment is presented on the distribution, habitat, and conservation status of *F. cretica* in Italy. The results of field investigation and herbarium analysis show that this species grows in a small area within the southern Calabria region characterized by a warmest and driest Mediterranean climate on the Italian peninsula. *F. cretica* is a semi-desert plant species growing in Italy in only one peripheral and isolated population at the northern limit of its distribution. Plant community analysis, using the phytosociological method, shows that *F. cretica* grows in wintergreen perennial dry grasslands dominated by *Lygeum spartum* and *Hyparrhenia hirta*. *F. cretica* plant communities are located in thermo-xeric habits such as south-, southeast- and east-facing slopes on clays and sandy clays in southern Calabria. The population of *F. cretica* is fragmented in six neighbouring localities, with two of which belonging to a Site of Community Importance (SCI). The conservation status of *F. cretica* population is not very good, and is defined as "Critically Endangered" in accordance with IUCN criteria. There are many threats affecting the *F. cretica* population in Italy, primarily the changes in land uses due to urban expansion and reforestation with exotic plants. The southern end of the Italian peninsula hosts other plants from thermo-xeric habits that do not adapt to the current local climate. This territory can be considered as a microrefugia for plants currently distributed in the arid territory of the southern Mediterranean. These results contribute to the discussion of some conservation measures, and the possibility of establishing a micro-reserve. For all these reasons, we propose to include *F. cretica* in the lists of protected plant species at regional (Calabria) and country (Italy) scales in Italy.

Keywords: biodiversity; ecology; peripheral isolated populations; phytosociology; microrefugia; southern Italy

Citation: Giovanni SPAMPINATO, Carmelo M MUSARELLA, Ana CANO-ORTIZ, Giuseppe SIGNORINO. 2018. Habitat, occurrence and conservation status of the Saharo-Macaronesian and Southern-Mediterranean element *Fagonia cretica* L. (Zygophyllaceae) in Italy. Journal of Arid Land, 10(1): 140–151. https://doi.org/10.1007/s40333-017-0076-5

1 Introduction

The conservation of peripheral and isolated populations occurring on the edge of a species range is of great importance to conservation biology (Scott et al., 2010; Abeli et al., 2014). The reasons for this interest include the possible effects on biodiversity caused by climate change, the need to

*Corresponding author: Giovanni SPAMPINATO (E-mail: gspampinato@unirc.it)
Received 2017-02-14; revised 2017-11-14; accepted 2017-11-16
© Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Science Press and Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

http://jal.xjegi.com; www.springer.com/40333

Effects of *Fagonia cretica* L. Constituents on Various Endocrinological Parameters in Rabbits

M. Asif SAEED*
Department of Pharmacy, University of the Punjab (Allama Iqbal Campus), Lahore 54000 PAKISTAN
Zaheer-ul-Din KHAN
Department of Botany, Government College Lahore 54000 PAKISTAN
A.W. SABIR
PCSIR Laboratories Complex, Ferozepur Road, Lahore 54000 PAKISTAN

Received: 01.08.1996

Abstract: The effects of powdered *Fagonia cretica* plant and its two major triterpenoid saponins (saponin-I and saponin-II) on various blood endocrinological parameters. Prolactin namely, serum prolactin, serum thyrotropin, serum thyroxine and serum cortisol of normal male rabbits were investigated. Two major triterpenoid compounds, saponin-I and saponin-II, were isolated from its ethanolic extract by repeated chromatography on silica gel, sephadex LH-20 and on biogel P-2. These compounds were identified after comparing their values of ^{1}H NMR and ^{13}C NMR chemical shifts with previously reported values of similar compounds. Radio-immunological assay was used for the estimation of blood hormones of crude drug and saponin-treated animals using radioactive I^{125}. The radioactivity of the standard and the unknown specimen in each case was then measured on NE-1612 gamma scintillation counter for 90 seconds. Both the saponins in 30 mg doses had significant decrease in prolactin and in the serum TSH levels as compared with crude drug treatment and control groups. The thyroxine level was also significantly reduced by saponin-II in a 30 mg dose while the crude drug and saponin-I had non-significant effects on thyroxine after 16 days. A significant increase in serum cortisol occurred with the crude drug in a 1g dose and with both saponins in 30 mg roses. Maximum increase in the serum cortisol occurred with saponin-II after 16 days.

Key Words: Triterpenoid saponin glycosides, endocrinological parameters, serum prolactin, serum thyrotropin, serum thyroxine, serum cortisol and *Fagonia cretica* L.

Fagonia Cretica L. Bileşiklerinin Tavşanların Çeşitli Endokrinolojik Parametreleri Üzerine Etkileri

Özet: Toz haline getirilmiş Fagonia cretica bitkisi ve bunun iki esas triterpenoidi (Saponin-I ve saponin-II) nin normal erkek tavşanlarda serum prolaktin, serum tirotropin serum tirokzin ve serum kortizol gibi bazı kan endokrinolojik parametreleri üzerine olan etkileri incelendi. Saponin I ve II bitkinin etanol ekstresinde silika jel, sefadaks LH-20 ve Biojel P-2 üzerinde tekrarlanan kromatografi ile izole edildi. Bu bileşimler H NMR ile ve 13 C NMR ile ilgili kimyasal değişmelerinin değerleri, benzer bileşiklerin

* To whom all the correspondence should be done.

Turk J Biol
31 (2007) 19-24
© TÜBİTAK

Cytotoxic and Antitumor Potential of *Fagonia cretica* L.

Ahsan HUSSAIN, Muhammad ZIA, Bushra MIRZA
Department of Biochemistry, Faculty of Biological Science, Quaid-i-Azam University, Islamabad - PAKISTAN

Received: 03.10.2006

Abstract: According to traditional knowledge, *Fagonia cretica* has medicinal potential, especially against cancer and tumors. In the present study, this information was analyzed at laboratory level by performing cytotoxic, antitumor (potato disc) and DNA damage assay. Significant cytotoxic activity was found against brine shrimps at LD_{50} 118.89 ppm, while antitumor assay showed that the extract inhibited tumor induction on potato discs. Significant antitumor activity was found against all the tumor-inducing *Agrobacterium* strains tested (At6, At10 and At77), with maximum tumor inhibition (77.04%) against At10. However, the extract did not show any lethal activity against *Agrobacterium tumefaciens* strains, and furthermore, no DNA damaging activity was observed. The overall results indicate a strong anti-cancerous potential of this plant.

Key Words: *Fagonia cretica* L, cytotoxic activity, potato disc assay, mutagenic activity

Introduction

Screening programs for biologically active natural products require the right bioassays. Detection of compounds with the desired activity in complex plant extracts depends on the reliability and sensitivity of the test systems used. Thus, bioassays are essential for monitoring the required effects throughout activity-guided fractionation and purification until the active mono-substances are obtained.

Fagonia cretica L., a member of the family *Zygophyllaceae*, is a small spiny undershrub (Figure 1), mostly found in dry calcareous rocks throughout Pakistan (1,2). It is reputed to be a medicinal plant in scientific and folkloric literature, and its medicinal values are well documented (3). *Fagonia cretica* is astringent, febrifuge and prophylactic against small-pox. The plant is bitter and used for the treatment of fever, thirst, vomiting, dysentery, asthma, urinary discharges, liver trouble, typhoid, toothache, stomach troubles and skin diseases (4). Boiled residue of the plant in water is used to induce abortion. It is externally applied as a paste on tumors and other swellings of the neck. An aqueous decoction of the plant is a popular remedy for cancer in the indigenous system of medicine (3), but no scientific attempt has yet been made to evaluate the effects of its extracts.

Figure 1. Pictorial representation of *Fagonia cretica* with its leaves, fruits and inflorescence.

Considering the medicinal activity of *Fagonia cretica* based on traditional information, the present study was conducted to evaluate methanolic extracts of *Fagonia cretica* for its anticancerous potential by utilizing cytotoxicity, antitumor and DNA damage assays.

الملخص:

إن حاجة الانسان الماسة إلى التداوي و ما تشهده العلوم الطبية من تطور إزداد معها الاهتمام بالنبات الطبية أكثر فأكثر ، فمن هذا المنطلق بات لزاما الاسهام في هذا المجال وذلك بهذا البحث المتمثل في الدراسة البيولوجية والكيميائية لمستخلص نبات الشريك *fagonia critica.L* المتحصل عليه بعملية الاستخلاص (سائل – صلب) و (سائل – سائل) بواسطة المذيبات العضوية المتمثلة في الهكسان ، الكلوروفورم ، أسيتات الايثيل ، ن- بيتانول.

بينت الدراسة أن نبتة الشريك *fagonia critica.L* تحتوي على أغلب المواد الفعالة الصابونيات ، العفصيات ، الفلافونيدات و الستيرويدات والستيرولات غير المشبعة والتربينات مع غياب الالكويدات ..

كما بينت أن مستخلص الكلوروفورم يملك فاعلية بيولوجية في التركيز ($\frac{g}{l}$) **C ≥ 3** . وكما أوضحت أيضا الفاعلية الكيميائية - المضادة للأكسدة - لجميع المستخلصات عدا الهكسان وهذا باتباع طريقة التثبيط للجذر الحرDPPH ، وفي الأخير تم التقدير الكمي لعديد الفينول في المستخلصات حيث بلغت 97.4 ملغ /غ من مستخلص عينة ن - بيتانول, و 79.48 ملغ/غ من مستخلص عينة الكلوروفورم وانعدامها في أسيتات الايثيل و الهكسان .

الكلمات المفتاحية: *fagonia critica.L* ، مضادات الأكسدة، الاستخلاص، الفاعلية البيولوجية.

Abstract:

The human need for medical treatment and the medical sciences are witnessing a development that has increased the interest of the medicinal plant more and more, it is therefore necessary to contribute in this field by this research of the biological and chemical study of the extract of the fagonia critica.L obtained by the extraction process Liquid - solid) and (liquid - liquid) by organic solvents of hexane, chloroform, ethyl acetate, n - betanol.

The study showed that the fagonia critica L. plant contains the most active substances: sapphones, alfalfa, flavonoids, steroids, unsaturated sterols and terpenes with no alkaloids.

It also showed that the chloroform extract has a biological effect in the concentration C ≥ 3) g/l (. Also, the chemical efficacy of the antioxidant was shown for all the extracts except hexane. This is done by the DPPH inhibiting method. Finally, Mg / g of n-betanol extract and 79.48 mg / g of chloroform extract and its absence in ethyl and hexane acetate.

Keywords: fagonia critica.L, Antioxidant, Extraction, Biological Effectiveness.