الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر– الوادي–

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد:

ساسية عبنة

فايزة غبني

قمرة أبا

تحت عنوان:

الفحص الفيتوكيميائي والأنشطة المضادة للبكتيريا لمستخلصات ورق نبات ابسيلا *Ibicella leuta(lindl.) Van Eselt*

نوقشت يوم:2022/06/14

أمام لجنة المناقشة:

اسم ولقب الأستاذ	رتبة الأستاذ	جامعة الأستاذ	
شيحي سمية	أستاذ محاضر ب	جامعة الوادي	رئيسا
زمالي جعفر	أستاذ مساعد أ	جامعة الوادي	مؤطرا
تامة نور الدين	أستاذ محاضر أ	جامعة الوادي	ممتحنا

السنة الجامعية: 2022/2021

إهــداء

الحمد والشكر لله الذي بتوفيق وتسهيل منه جل في علاه أكملت اليوم مسيرتي التعلمية وها أنا اليوم أرفع قبعتي مودعة للسنين التي مضت.

أهدي تخرجي هذا وثمرة جهدي وتعبي وفرحتي التي انتظرتها طوال هذه السنوات:

إلى التي طالما أردت أن أوفيها بعض من حقها ولكني أعلم بأن حقها أعظم مما أملك من كلام أو هدايا فاقبلي مني ما يقدمه لك قلبي قبل يداي يا سر نجاحي وبلسم جراحي، يا فرحة حياتي، يا قرة عيني ونبض قلبي أمي الغالية "سالم خديجة" أطال الله في عمرها وجعلها تاج فوق رؤوسنا.

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار، إلى من أحمل اسمه بكل افتخار، إلى من يشقى لنرتاح، إلى من كان ومزال سقف البيت، أبي الغالي "عبد الله" أطال الله في عمره وأبقاه خيمة تحمينا من أحوال الدنيا.

إلى من تحملت كل لحظة ألم مررت بها ولم تتركني، إلى من بذلت جهد السنين سلالم للعلى لأرتقي بها في سلم النجاح أختي الحبيبة "الزهرة" حفظها الله.

إلى من كبرت معهم و نمى غصني بينهم إلى سندي الكبير إخوتي وأخواتي .

إلى كل الأهل و الأقارب من قريب أو من بعيد خاصة أعمامي وعماتي وكذا خلاتي ولا أنسى زوجات إخوتي وأبناء إخوتي وأخواتي .

إلى من جمعني بهم منبر العلم...إلى من سارو معي في هذا الدرب...إلى من شاركوني الدمعة والابتسامة زميلاتي وصديقاتي وخاصة من شاركوني في هذه المذكرة ساسية وفايزة.

إلى من تكللت بأيديهم مساعي التفوق والنجاح" أساتذتي".

وإلى كل الذين ساهموا في تشجعي أهدي هذا العمل والنجاح.

أحمد الله العلي القدير الذي كان معي في كل لحظة صعبة مررت بها، راجية منه تعالى أن يوفقني لما فيه خير لي إن شاء الله.

أبا قمرة

إهـداء

أولا لك الحمد ربي على كثير فضلك وجمل عطائك ووجودك ،الحمد الله ربي ومهما حمدنا فلن نستوفي حمدك والصلاة والسلام على من لا نبي بعده.

أهدي هذا العمل إلى من قال الحق تعالى فيهم ((وقل ربي ارحمهما كما ربياني صغيرا)) إلى ذلك الحرف اللامتناهي من الحب والرقة والحنان ،إلى التي بحنانها ارتويت وبدفئها احتميت ،وبنورها اهتديت وببصرها اقتديت ولحقها ما وفيت، إلى من يشتهي اللسان نطقها ،وترفرف العين من وحشتها ،والتي كانت تتمنى رؤيتي وأنا أحقق هذا النجاح ،وشاء الله أن يأتي هذا اليوم ،أمي الغالية "مسعودة دشري"

إلى درعي الذي به احتميت، وفي الحياة به اقتديت والذي شق لي بحر العلم والتعلم ،إلى من احترقت شموعه ليضيء لنا درب النجاح ، ركيزة عمري، وصدر أماني وكبريائي وكرامتي ،أبي العزيز أطال الله في عمره "الصادق"

إلى من يذكرهم القلب قبل أن يكتب القلم ،غلى من قاسموني حلو الحياة ومرها، تحت السقف الواحد .....إخوتي وأخواتي

إلى كل من يحمل لقب "عبنة" وعلى رأسهم كل من أعمامي وعماتي ،دون أن أنسى جدتي.

إلى كل من يحمل لقب "دشري"وعلى رأسهم كل من أخوالي وخالاتي .

إلى أحسن من عرفني بهم القدر إلى رفيقات المشوار اللاتي قاسمني لحظاته وخاصة قمرة أبا رعاهم الله ووفقهم

إلى كل من لم يدركهم قلمي، أقول لهم أنتم في الفؤاد حضور

إلى بلدي الجزائر، وإلى شعب فلسطين الثائر

فافخر بعلم ولا تطلب به بدلا فالناس موتى وأهل العلم أحياء

ساسية عبنة

إهـداء

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات بعد مسيرة دراسية حملت في طياتها الكثير من الصعوبات والمشتقة والتعب وها هنا اليوم نقطف ثمارها والحمد لله

أهد تخرجي إلى أملي في الحياة وقرة عيني وسر نجاحي أمي الغالية أدامها الله وأطال في عمرها

إلى الذي غادرنا دون سابق إنذار الذي فقدت عينا لذة رؤيته ولقائه الذي انفطر قلبي إلى غيابه أدعوا الله أن يسكنه فسيح جنانه (رحمك الله ياأبي)

أهدي تخرجي إلى إخوتي وأخص بالذكر أسماء وبلقيس وغاية وعبد السلام واسماعيل

إلى عمي العزيز الذي حقه علي كبير، فلا كلمات توفيك حقك ولا شيء يمكن أن يساعدني لرد جميلك

وإلى خطيبي حاليا وزوجي في المستقبل الذي جاء صدفة حلوة في حياتي وأرجو الله أن يحفظه لي ويجعله قرة عيني

وإلى من وقف على المنابر وأعطى من حصيلة فكره لينير دربي أساتذتي الكرام

إلى زملائي وزميلاتي خاصة نور الهدى وصديقتيّ قمرة وساسية وطلبة كل الدفعة

غبني فايزة

شكر وتقدير:

شكر وتقدير

الحمد لله الذي أنار طريقنا وثبت خطانا وأمدنا بالصبر لإكمال المشوار.

ثم الشكر الخالص للحبيب المصطفى (صلى الله عليه وسلم) الذي أخرجنا من ظلمات الجهل إلى أنوار العلم والإيمان.

تعجز كلمات الشكر أمام مملكة الأبوين اللذين دفعا سنينا عمرهما ليقطفوا ثمار نجاحهما ،فلكم ألف شكر على الدعم المعنوي و المادي.

يجدر بنا في هذا المقام أن نتقدم بالشكر الجزيل إلى الذين مهدو لنا طريق العلم والمعرفة ،للوصول إلى هذا المستوى من معلمي الابتدائي إلى أساتذة الجامعة.

كما نتقدم بأسمى عبارات الامتنان والعرفان للأستاذ الفاضل "زمالي جعفر" المشرف على هذه المذكرة بالشكر على النصائح طيلة فترة العمل.

والشكر الجزيل إلى رئاسة أعضاء لجنة المناقشة على قبولهم مناقشة هذا العمل .

كما تتسع دائرة شكرنا إلى جميع موظفي وعمال المخابر بكلية العلوم الدقيقة ونختص بالذكر كل من كنزة وكريمة وحفيظة وكذا طالبة الدكتوراه فوحمة عبير على ما قدموه لنا من نصائح قيمة ومساعدات خلال هذه الفترة.

وفي الأخير نشكر كل من ساعدنا في إنهاء هذا العمل و لو بكلمة طيبة أو بدعاء.

الملخص:

ضمن هذا العمل تمت دراسة كيميائية و تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادات الأكسدة للمستخلصات العضوية لأوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*)، المعروفة باسم وحيد القرن الأصفر وهو نبات متواجد على نطاق واسع في الصحراء الجزائرية ومنطقة وادي سوف من بين المناطق المنتشر بها هذا النبات.

ولتحقيق هذه الدراسات قمنا كخطوة أولية بتحضير المستخلصات العضوية (المائية والكحولية) حيث حددنا من خلالها قيم المردودية الإنتاجية ،فكانت أعلى نسبة في المستخلص المائي قدرت بـ(7.3725%). ومن ثم قمنا بالكشف عن بعض المنتجات الطبيعية حيث توصلنا إلى أن أوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*) غنية بمواد الأيض الثانوية المتمثلة في (الفينولات، الفلافونيدات .....)، كما أوضحت نتائج التقدير الكمي للفينولات الكلية والفلافونيدات أن أكبر كمية سجلت عند المستخلص المائي في كلا التقديرين وذلك باستعمال جهاز الأشعة المرئية وفوف البنفسجية. وبعد الاستناد إلى بعض المنحنيات السابقة تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة بطريقتين كيميائيتين CAT .DPPH، حيث تبين من خلال ذلك أن المستخلص المائي له فعالية كبيرة في مكافحة مضادات الأكسدة في كلا الاختبارين، وكخطوة أخيرة لقد أظهرت نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا أن مستخلصات أوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*) لم تعط أي حساسية تجاه السلالات البكتيرية المختبرة، حيث قدر أكبر قدر تثبيط بـ 8mm في المستخلص الإيثانولي ضد بكتيريا (*S.hoiminis*)

الكلمات المفتاحية: *Ibicella lutea* ،المنتجات الطبيعية، الأيض الثانوي، مضادات الاكسدة CAT.DPPH ، السلالات البكتيرية.

Abstract:

This work aims study the Chemical biological and antioxidant activity of the organic extracte of the leaves of the(*Ibicella lutea*) ,know as the yellow rhino, par ticularly Oued-Souf.

In order to chieve these studies , we have taken , as a first step we prepared the organic extracts aqucous and organic, which the highest production value is determined in the former with 7.03725%.before deteching some natural products in the plant which poves richness with se condary met alolists including (phenols,flavonoids,……..)

Additionally , the quantitative analysis of the total (phenols,flavonoids….) records its highest value in the watery extract for both valuer vai using the visible and ultravoletv device. And after referring back to the some references , the efficiency of antioxidants to bothextracts with two Chemical methods:CAT and DPPH which shows how efficientis the walery extract in combating antioxidants in both tests .last and not least , the results yield at the efficiency of Ibicella . Lutea in resisting the bacteria . through its medium sesitivety twords the baboratory bacterial strains whereas ; the highest inhibilory anount is 8mm the extract of ethanolic ate bacteria(*S.hoiminis*).

فهرس المحتويات:

الفهرس
شكر وتقدير: IV
الملخص: V
فهرس: vI
قائمة الأشكال: XIv
قائمة الجداول: XVIII
قائمة المختصرات: XIV
مـقـدمـة: 1
الجزء النظري: 5
الفصل الأول:دراسة نباتية 6
I - مدخل: 7
I-1- تعريف النباتات الأكلة للحشرات: 7
I -2- تصنيف النباتات أكلة الحشرات: 8
I -3- النمو والتكاثر للنباتات الآكلة للحشرات: 8
I– 4- آلية الجذب: 8
I - 5 -ألية الصيد والافتراس : 9
I - 6عائلة *Martyniaceae:* 12
I-7- نبات ابسيلا (*Ibicella leuta*): 12
I-7-1-تعريف: 12
I-7- 2- التصنيف النباتي : 13
I-7-3- الأسماء المرادفة : 13
I-7-4 الوصف المورفولوجي للنبات: 13
I-7-5 النمو والتكاثر: 15
I-7-6 الموقع الجغرافي: 15

I-7-7 البيئة البيولوجية:.....15
I-7-8 الاستخدامات:..... 15
مراجع الفصل الأول: 16
الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية 17
II. مدخل:..... 18
II. 1 - تعريف المنتجات الطبيعية: 18
II. 2 - تصنيف المنتجات الطبيعية: 18
II. 2-1 تعريف الأيض الأولي (*Métabolites primaires*):..... 18
II. 2-2 تعريف الأيض الثانوي (*Métabolites Secondaires*):..... 18
II. 3- نواتج الأيض الثانوي:..... 19
II. 3-1 الفينولات:..... 19
II. 3-1-1 تعريف الفينولات: 19
II. 3-1-2 تصنيف الفينولات: 19
II. 3-1-3 الأهمية البيولوجية للفينولات: 21
II. 3-2-الفلافونيدات (Flavonoïdes):..... 21
II. 3-2-1 تعريف الفلافونيدات: 21
II. 3-2-2 تصنيف الفلافونيدات: 26
II. 3-2-3الاهمية البيولوجية للفلافونيدات::..... 23
II. 3-3التانينات:..... 24
II. 3-3 -1:تعريف التانينات:..... 24
II. 3-3-2:خواص التانينات: 24
II. 3-3-3 تصنيف التانينات: 22
II. 3-3-4 الدور والأهمية التانينات البيولوجية:..... 25
II. 3- 4القلويدات:..... .26.

II. 3-4-1 تعريف القلويدات:..... 26
II. 3-4-2 تصنيفها القلويدات: 26
II. 3-4-3تواجد القلويدات في النبات 27
II.3 -5 –التربينات الثلاثية:..... 28
II. 3-5-1 تعريف التربينات الثلاثية: 28
II. 3-5-2تصنيف التربينات الثلاثية:..... 29
II. 3-5-3الاهمية البيولوجية للتربينات الثلاثية:..... 29
II. 3-6 الزيوت الطيارة:..... 29
II. 3- 6-1 تعريف زيوت الطيارة: 29
II. 3- 6-2 تواجدها في الطبيعة: 30
II. 3 – 6-3 استخلاص الزيوت الطيارة: 30
II. 3-6-4 دور وأهمية زيوت الطيارة:..... 30
II. 3- 7 الصابونيات:..... 31
II. 3-7-1 تعريف الصابونيات: 31
II. 3-7-2 وجودها في الطبيعة:..... 31
II. 3- 7 -3 تصنيف الصابونيات:..... 32
II. 3- 7-4 الخصائص الفيزوكيمائية للصابونيات:..... 32
II. 3-7-5 الخصائص البيولوجية للصابونيات:..... 32
الفصل الثالث:الفعالية البيولوجية 38
III.- 1- الجذور الحرة:..... 39
III.1 -1 تعريف الجذور الحرة:..... 39
III.1-2 أنواع الجذور: 39
III. 1-2-1 على أساس الاستقرار:..... 39
III. 1-2-2 على أساس النوع:..... 40
III.1-3 مصادر الجذور الحرة: 40

III.1-4 أسباب زيادة الجذور الحرة:..... 40
III.1-5 أضرار الجذور الحرة:..... 40
III.2- مضادات الأكسدة: 41
III.2-1 تعريف مضادات الأكسدة: 41
III.2-2 تصنيف مضادات الأكسدة: 41
III. 2-2-1 مضادات الأكسدة الطبيعية:..... 41
III.2-2-2-: مضادات الأكسدة المصنعة 42
III-3مدخل: 43
III3-1-تعريف البكتيريا: 43
III3 -2 بنية البكتيريا:..... 43
III3-3 المكونات الأساسية:..... 43
III 3-4 الأجزاء الإضافية:..... 44
III. 3-5 انقسام الخلية البكتيرية:..... 45
III. 3-6 تسمية البكتيريا:..... 46
III. 3-7 خصائصها:..... 46
III. 3-8 تصنيف البكتيريا:..... 47
III.4- المقاومة البكتيرية:..... 47
III. 4-1 تعريف المقاومة البكتيرية:..... 47
III. 4-2 ميكانيزم المقاومة:..... 47
III.5- السلالات البكتيرية المدروسة: 49
III.5-1-*Escherichia coli*:..... 48
III.5-2-*Staphylococcus aureus*:..... 49
III. 5-3-*Klebsiella pneumoniae*:... 49
III. 5-4-*Staphylococcus hominis*: 50
III-6- مضادات الحيوية:..... 52

III. 6 -1 تعريف المضادات الحيوية:..... 52
III. 6- 2 أنواع المضادات الحيوية:..... 52
III. 6-3 طرق تأثير المضادات الحيوية:..... 52
III.-7- طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:..... 52
III. 7 – 1 خواص الجذمة البكتيرية:..... 53
III. 7 – 2 كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:..... 52
الجزء العملي: 57
الفصل الرابع: الطرق والوسائل..... 58
IV 1 الدراسة الكيميائية:..... 60
IV 1 – 1 المادة النباتية المدروسة:..... 59
IV.1 – 2 الطرق المستعملة في تحضير العينة النباتية:..... 60
IV 1-3 الادوات والاجهزة والمحاليل المستعملة : 59
IV 1-3-1 تحضير المستخلصات النباتية :..... 59
IV 1-3-2 الدراسة الفيتو كيميائية لمركبات الايض الثانوي في النبات: 60
IV 1-3-3 التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية:..... 61
IV 1-3-4 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:..... 62
IV1 -3-5 تقدير النشاطية المضادة للبكتيريا:..... 61
IV 1-4 الطرق المتبعة :..... 62
IV 1-4-1 عملية الإستخلاص:..... 63
IV 1-4-2 عملية الترشيح:..... 63
IV 1 -5 مخطط الاستخلاص:..... 64
IV 1 -6 المسح الفيتو كيميائي:..... 65
IV 1-6-1 الكشف عن القلويدات:..... 65
IV 1 -6-2 الكشف عن الفلافونيدات :..... 65
IV. 1-6-3 الكشف عن التربينات :..... 66

IV 1-6-4 الكشف عن الصابونيات :..... 65
IV 1-6-5 الكشف عن التانينات :..... 66
IV 1-6-6 الكشف عن الانثوسينات:..... 66
IV 1-6-7 الكشف عن النشاء :..... 67
IV 1-6-8 الكشف عن الكحول :..... 67
IV1 -7 حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات: 67
IV1-8 **التقدير الكمي للمركبات الفينولية و الفلافونيدات**:.....66
IV 1-8-1 التقدير الكمي للمركبات الفينولية:..... 67
IV 1-8-2 التقدير الكم للفلافونيدات:..... 69
IV 1-9 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:..... 70
IV. 1-9-1 إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT: 70
IV 1-9-2 إختيار تثبيط الجذر الحر DPPH*: 71
IV. 1-10 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بطريقة الانتشار حول الأقراص: 72
IV. 1-10-1 جمع السلالات البكتيرية المستهدفة: 73
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة.....**75**
V. مدخل:..... 75
V. 1 المردودية لإنتاجية للمستخلصات : 76
V. 2 نتائج الكشف الفيتو الكيميائي:.....77
V 3 التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية:..... 80
V. 4 تقدير كمية الفلافونيدات: 81
V. 5 اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة(CAT): 82
V. 6 اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH*: 85
V. 7 تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:.....85
مراجع الجزء العملي:..... 92
الخاتمة:.....95

الملاحق: 97
الملخص:

الجدول	العنوان	الصفحة
الجدول(I-1)	يبين التصنيف النباتي لنبات *Ibicellea lutea*	12
جدول(II-1):	بعض الأمثلة عن القلويدات الحلقية والغير حلقية	27
الجدول (II-2):	يوضح أقسام الصابونيات	32
الجدول (IV-1)	الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند الإستخلاص	60
الجدول(IV-2)	أدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند الكشف عن نواتج الأيض الثانوي	60
الجدول(IV-3)	الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية	61
الجدول(IV-4)	الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	62
الجدول(IV-5)	الأدوات والمحاليل والأجهزة المستخدمة لتقدير النشاطية المضادة البكتيريا	62
الجدول(IV-6):	خصائص المذيب المستعمل	64
جدول(V-1)	قيم مردود الاستخلاص	75
جدول(V-2):	نتائج المسح الفيتو كيميائي للمركبات الفعالة لأوراق نبات *Ibicella lutea*	77
جدول(V-3)	يوضح نتائج كمية الفينولات للمستخلص المائي	80
جدول(V-4)	يوضح نتائج كمية الفينولات للمستخلص الإيثانولي	80
جدول(V-5)	يوضح كمية الفينولات الكلية للمستخلص الكحولي والمائي	80
جدول(V-6)	نتائج كمية الفلافونيدات للمستخلص المائي	82
جدول(V-7):	يوضح كمية الفلافونيدات للمستخلص الإيثانولي	82
الجدول (V-8)	يوضح كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلص المائي والكحولي.	83
الجدول(V-9)	نتائج اختبار تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لأوراق نبات Ibicella lutea	84
الجدول(V-10):	قيم IC50للمستخلصين المائي والإيثانولي	85
الجدول(V-11)	أقطار التثبيط(mm)لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص المائي	86
لجدول(V-12):	أقطار التثبيط(mm)لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الإيثانولي	88
الجدول(V-13)	أقطار تثبيط المضادات الحيوية	89

قائمة المختصرات:

الرمز	بالعربية
A.A	حمض الأسكوربيك
CAT	مضادات الأكسدة الكلية
DPPH	2.2-ثنائي فينيل -1-بيكريلهيدرازيل
IC_{50}	تركيز المستخلص الذي يثبط نصف كمية الجذر DPPH المتشكلة
R	المردود
A	الإمتصاصية
λ	طول الموجة
G^+	موجبة الغرام
G^-	سالب الغرام
UV	الأشعة فوق البنفسجية
DMSO	Dimethyl solphoxide
Hiltion Muller	وسط لزراعة البكتيريا
$CH\ Cl_3$	الكلوروفورم
ACOH	حمض الخل
HCl	حمض كلوريد الماء
$AlCl_3$	ثلاثي كلوريدا لألمنيوم
$FeCl_3$	كلوريد الحديد الثلاثي
H_2SO_4	حمض الكبريت
$NH_4\ OH$	هيدروكسيد الأمونيوم
I%	نسبة التثبيط
A_0	الأمتصاصية الضوئية DPPH في غياب المستخلصات

GAE	حمض الغاليك المكافئ
ROS	الأنواع الأوكسيجينية النشطة
ADN	حمض نووي ريبي منقوص الأوكسجين
EQ	الكرستين المكافئ
NaOH	هيدروكسيد الصوديوم

مقدمة عامة

يعد طب الأعشاب فرع من فروع الطب المكمل أو البديل، وذلك لأن النباتات الطبية تؤدي دورا مهما في حماية صحة الإنسان وتحسين مسار حياته، وما زالت العديد من الثقافات التقليدية تثمن قيمة الوصفات الطبية النباتية وأهميتها الوقائية والعلاجية ومنافعها الأخرى، وهذا راجع إلى كلفتها المنخفضة، وسهولة الحصول عليها والاعتقاد الشعبي السائد بأن الأدوية النباتية أكثر أمانا ونجاعة من العقاقير المصنعة[1].

تحتوي النباتات على عدد كبير من المركبات الفعالة التي تعكس الإمكانات العلاجية لهذه النباتات، فمن المعلوم أن لبعض العقاقير النباتية قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض، كما يخلو استعمال هذه العقاقير من الآثار الجانبية الضارة التي تصاحب استعمال الأدوية المصنعة أحيانا، ومن العوامل الأخرى التي أدت إلى تنامي استخدام النباتات الطبية والمنتجات الطبيعية الأخرى ظهور أمراض جديدة مصحوبة بتعقيدات شديدة لم يتم إيجاد علاج مناسب لها حتى الآن، وتعتبر المركبات الفينولية من أهم المركبات العضوية المستعملة في مجال الطب والمعروفة بتأثيراتها الفيزولوجية وهي مهمة جدا في الصناعة الصيدلانية، حيث بإمكانها تغيير سلوك ووظيفة مجموعة كبيرة من الأنظمة الخلوية وذلك لما تتميز به من خصائص مضادة للأكسدة [2]، فهي تملك قدرة عالية ضد الجذور الحرة المسببة للكثير من الأمراض ولها فعل وقائي للأوعية الدموية وتصلب الشرايين والخلايا الكبدية، كما تظهر نشاطا مضادا للالتهاب والحساسية وللقرحة المعدية، وحرق الدهون كما لها نشاط معوي مضاد للأورام والسرطان[3].

ولقد أدى الاستعمال غير العقلاني لمجموعة من الأدوية وخاصة المضادات الحيوية إلى ظهور حالة عدم فعالية هذه المركبات على المسببات المرضية البكتيرية. والتي أصبحت تسمى بالبكتيريا المقاومة للعديد من الأدوية وهذا التأثير يؤدي بها إلى عدم القضاء عليها بواسطة هذه المركبات مما استدعى البحث عن مركبات فينولية (فلافونويدية) المستخلصة من بعض النباتات يمكن من خلالها الوصول إلى القضاء على هذه المسببات المرضية المتجددة وبالتالي يكون فعلها عبارة عن مواد قاتلة أو مثبطة مما يعطي فرصة لبعض المركبات الدوائية المعطاة القضاء على هذه المسببات المرضية البكتيرية.

تزخر بلادنا الجزائر بامتلاك ثروة هائلة من النباتات الطبيعية تنتشر في مساحات شاسعة ضمن بيئات مناخية مختلفة، ما يمنحها تنوعا نباتيا كبير [4].

وعلى ضوء هذا وإيمانا منا في تثمين الغطاء النباتي في منطقتنا وتكملة لأبحاث سابقة في هذا المجال ارتأينا بالمشاركة بهذه الدراسة التي تهدف إلى الفحص الفيتوكيميائي والأنشطة المضادة للبكتيريا لمستخلصات أوراق نبات (*Ibicella.Lutea*) ومن هذا المنطلق يمكننا طرح عدة إشكاليات:

هل الدراسة الفيتو كيميائية لأوراق نبتة (*Ibicella.Lutea*) تكشف عن وجود مواد فعالة تجعل هذه النبتة ذات أهمية حيوية طبيا ؟ وأي من المستخلصين له أكثر فعالية مضادة للاكسدة ؟ وما هو التاثير البيولوجي للمستخلصات المائية والإيثانولية لأوراق نبات (*Ibicella.Lutea*)؟

وقصد الإجابة على هذه الإشكاليات المطروحة قسمنا البحث إلى جزئين:

- ✓ **الجزء النظري**:
  - **الفصل الأول** :الدراسة النباتية
  - **الفصل الثاني** :الدراسة الكيميائية
  - **الفصل الثالث** :الفعالية البيولوجية
- ✓ **الجزء التطبيقي**:
  - **الفصل الرابع** :الوسائل والطرق
  - **الفصل الخامس**: النتائج والمناقشة

وفي الأخير ختمنا بحثنا بخاتمة لخصت النتائج المتحصل عليها

مراجع المقدمة:

*** المراجع بالغة العربية:**

[1] عباس بن مرعاش، (2012)،دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونويدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Convolvuls supinus coss. Kral (Convolvulaceae)*، مذكرة ماجستير جامعة منتوري قسنطينة، ص(01).

[2] حوقة سارة، مرغني أمال، (2015)، المساهمة في دراسة فيتوكيميائية والفعالية البيولوجية لنبات الرتم النامي في منطقة وادي سوف، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي. *ForssK webb (reatam Retama)*

*** المراجع بالغة الأجنبية:**

[3] Antioxydant P. Sarni-Manchado, V. Cheynier.,(2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p.

[4] Brusselmans K., Vrolix R., Verhoeven G. et Swinnen J. V.,(2005). induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inibite fatty acid syntase activity . journal of biological chemistry., 280(7): pp 5636-5645.

الجزء النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية

I – مدخل:

إن الله سبحانه وتعالى قد جعل لكل كائن حي خصوصية لتكيف مع بيئته للاستمرار والتعايش معها، ومن الملاحظ أن كل نوع من أنواع النباتات قد تحور بما يلائمه ،تحورا يدهش المتأمل فيها وإن أكثر التحورات غرابة في عالم النباتات. هو ما نجده من تحور الأوراق في النباتات الأكلة الحشرات فأوراق البعض من هذه النباتات تتحور مورفوجيا (شكليا)، إلى فخاخ أو مصائد حية ذات أشواك قاتلة والبعض الأخر حصل فيه تحورا بيولوجيا وتشريحيا. فتحورت أعضائها إلى غدد سامة تفرز مواد تقتل فريستها إضافة إلى خلايا غدية أخرى تفرز إنزيمات محللة للفريسة لتعمل على هضمها وتحويلها إلى غذاء شامل. مما لا تعوضه لها التربة التي تعيش فيها و تسمى كذلك بالنباتات المفترسة لأنها تشبه بذلك الحيوانات.[1]

I–1– تعريف النباتات الأكلة للحشرات:

هي نباتات صغيرة موجودة بنسب قليلة على سطح الأرض وأنواعها بسيطة ،حيث أن بعضها يعيش في الماء وبعضها الأخر على اليابسة. والمعروف على النباتات التي تعيش على اليابسة [2] تعتمد في طعامها على اصطياد الحشرات، وهذا مقياس لتكيف مع بيئة ذات تربة فقيرة. حيث تشير الدراسات أن هناك حوالي 630 نوع مختلف من نباتات أكلة الحشرات والتي تم تجميعها في 11 جنسا نباتيا، وأكثرها انتشارا هي البوقية والجرة و dionoea[3].

الشكل(I–1): صورة تبين النباتات أكلة الحشرات

I –2– تصنيف النباتات أكلة الحشرات:

تضم المملكة النباتية في مجموعتها الطبيعية ما يقرب 630 نوعا من النباتات الأكلة للحشرات التي تجذب الفرائس وتقتنصها، بالإضافة إلى ذلك هناك ما يزيد عن 300 نوع من النباتات الشبيهة بالنبات الأكلة للحشرات لا يوجد تصنيف مقبول ومتفق عليه من قبل علماء النبات جميعا، وعليه فإن الأسماء المعطاة للمجاميع التصنيفة يمكن أن تتغير بين علماء النبات .وتبعا لجمعية النباتات اللاحمة العالمية فالنباتات التي تصنف تحت النباتات أكلة اللحوم يجب أن تتميز:

- أن تجذب الفريسة إلى المصيدة وذلك بإفراز النبات مواد جاذبة تجذبها إليها ،إضافة إلى ألوانها الزاهية.
- أن تصطاد الفريسة من قبل النبات.
- أن تموت الفريسة وهي تحت سيطرة النبات.
- أن يقوم النبات بهضم الفريسة.
- أن يقوم النبات بامتصاص وتمثيل المواد الناتجة عن هضم الفريسة [1].

I –3– النمو والتكاثر للنباتات الآكلة للحشرات:

تنمو النباتات الآكلة للحشرات كنمو باقي النباتات الأخرى، حيث أن مراحل نموها تكون عن طريق إنتاج الأزهار والبذور، بحيث تنمو على فترات متفاوتة، كما تستخدم الحشرات لتلقيحها. وتتكاثر معضمها من نباتات صغيرة، وتعيش هذه النباتات في المستنقعات والشواطئ الرملية وبين الصخور، أين تتوافر الأحماض النيتروجينية والظروف البيئة المناسبة [4].

I– 4– آلية الجذب:

ليس للنبات القدرة على مطاردة حركة الحشرات لذلك فإن النباتات أكلة الحشرات ذات طبيعة افتراسية، إذ تقوم بصيد فرائسها وهضمها بنصب الفخاخ لها حيث تستغل ألوانها الزاهية والجذابة ورحيقها اللذيذ ورائحتها الزكية مما يجعل جذب الحشرات والالتصاق بها سهلا. وهناك نوعا آخر من النباتات تمتلك على سطح أوراقها مادة لزجة لصيد الحشرات [5].

الشكل (I–2):صورة تبين ألية الجذب

I – 5 – ألية الصيد والافتراس :

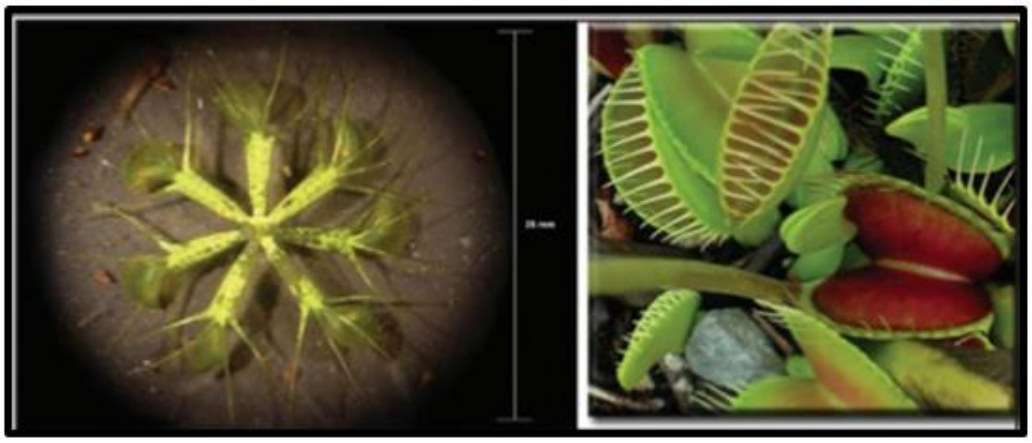
النباتات الأكلة الحشرات لا تمتلك جهازا هضميا لهضم فرائسها إلا أنها تقوم بإفراز أنزيمات محللة وبكتيريا ومن ثم تحويلها إلى عناصر غذائية أخرى التي تسهل على النبات امتصاصها [6].

الشكل (I–3):صورة تبين ألية الصيد والافتراس

I–6–أنواع المصائد:

توجد خمس أنواع أساسية من المصائد في النباتات الآكلة للحشرات لصيد وافتراس ضحاياها التي تختلف في ميكانيكية عملها لجذب الحشرات واصطيادها وهي:

– المصائد المصرعية والفكية Snap traps:



الشكل(I–4): صورة تبين **نماذج من المصائد المصرعية والفكية Snap traps**.

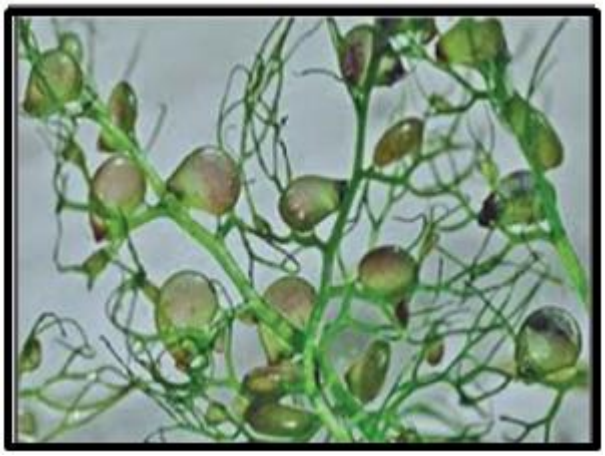
–مصائد الجرة أو الابريق Pitcher traps او مصائد الشرك Pitfall traps:

الشكل(I–5): صورة تبين **نماذج من مصائد الجرة و الإبريقPitcher traps**

- مصائد اللاصقة او اللزجة او الدبقة **Sticky or adhesive traps**:

الشكل (I–6):نماذج من المصائد اللاصقة أو اللزجة أو الدبقةSticky or adhesive traps

- **المصائد المثانية Bladder traps** :



الشكل (I–7): صورة تبين **نموذج من المصائد المثانيةBladder traps**

– مصائد السلة أو القدر الشائكة Lobester–pot trap:

الشكل (I–8): صورة تبين **نموذج من المصائد القدر الشائكة أو السلةLobester–pot trap**

I – 7– عائلة *Martyniaceae*:

تنتمي عائلة (*Martyniaceae*) إلى فصيلة النباتات المزهرة من رتبة الشفويات[7] وتعرف نباتات هذه العائلة بمخالب الشيطان أو قرون الشيطان، وجاءت تسميته نسبة للشكل المميز للقرون البذرية ذات المخالب الطويلة المزدوجة .وتسمى أيضا النباتات ذات الزهرة الخرطومية أو نبات قرن الكبش، تضم هذه العائلة خمسة أجناس إلا أن جنسين منها يحوي على نباتات أكلة الحشرات هما: *Ibicella*، *proloxuidea*.

I–8– نبات ابسيلا (*Ibicella lutea*):

I–8–1–تعريف:

هو نبات عشبي سنوي ينتمي إلى عائلة (*Martyniaceae*) ،ويعرف بإسم نبات وحيد القرن الأصفر أو مخلب الشيطان[8].

الشكل (I–9):نبات إبسيلا ***Ibicella lutea***

I–8– 2– التصنيف النباتي :

الجدول(I–1): التصنيف العلمي لنبات ***Ibicellea leuta*** [9]

المملكة	النباتية
الشعبة	*Spermatophytes*
تحت الشعبة	*Angiospermes*
الطائفة	*Dicotylédones vraies*
الفصيلة	*Plantes sauvages*
العائلة	*Martyniaceae*
النوع	*Ibicella lutea (lindl.)*

I–8–3– الأسماء المرادفة :

*Ibciella nelsoniana Van Eselt.

*Martynia Iutea Lindl .

*Martynia Iutea Var.nelsoniana Barb Rodr

*Martynia montevidensis Cham.

*Martynia nelsoniana Barb. Rodr.

*Proboscidea Iutea (Lindl.)Stapf. [10]

I–8–4 الوصف المورفولوجي للنبات:

هو نبات عشبي سريع النمو يمكن أن يصل طول ارتفاعه (30–60سم) ويغطي من 2 الى 4 متر مربع من السطح ،له سيقان وأوراق سميكة بحيث يكون النبات مغطى بشعر غدي يفرز مادة صمغية لزجة ذو رائحة كريهة وقوية كرائحة اللحم الفاسد [11].

الأوراق : تكون بيضاوية أو دائرية مسننة قطرها (10-25سم) وقاعدة على شكل قلب .

الشكل (I– 10): صورة تبين **أوراق نبات** *Ibicellea lutea*

الأزهار :تكون مرتبة في شكل عناقيد وهي صفراء اللون مرقطة باللون الأحمر حيث لكل زهرة أنبوب مخروطي بطول (2-3سم) وعلوه 4 فصوص ظهرية مستديرة .

الشكل(I– 11): صورة تبين **أزهار نبات *Ibicellea leuta***

الثمرة :عبارة عن كبسولة ذات صدفتين بيضاويتين بطول (5-10سم) وقطرها (2.5-3.5سم) يمتد منها منقار طويل ونحيف يصل طوله 14سم ومنحني مثل قرن الوعل عند النضج ينفصل المنقار إلى ملحقتين منحنين.

الشكل(I– 12): **صورة تبين ثمار لنبات *Ibicellea leuta***

I-8-5 النمو والتكاثر:

ينمو هذا النبات بسرعة كبيرة عن طريق التفرع في حوالي شهر جوان ويبدأ بالأزهار إلى غاية نهاية شهر سبتمبر ثم تتفتح أكثر من 60 زهرة خلال الموسم وتنتج حوالي ثلث الأزهار ثمار. تظهر الثمار في وقت متأخر عند بداية شهر جويلية، تبدو الأزهار عقيمة قبل هذه الفترة وتسقط بعد يومين أو ثلاثة أيام من الأزهار. وهو نبات سنوي يتكاثر بالبذور حيث تنبت في فصل الربيع ثم تزهر وتثمر في فصل الصيف، يمكن أن ينتج النبات ما يصل إلى 122 ثمرة تحتوي كل منها على 71بذرة [4].

I-8-6 الموقع الجغرافي:

موطنه الأصلي أمريكا الجنوبية (الأرجنتين ،أوروغواي ،بارغواي ،البرازيل)،وظهرت مؤخرا في (مسيسيبي وكاليفورنيا وفلوريدا) ،وتم العثور عليها في بعض المدن الأوروبية (ألمانيا وبلجيكا وفرنسا واليونان)، وينتشر نبات إبسيلا (*Ibicellea leuta*) في صحراء شمال إفريقيا (الجزائر وتونس)، ووجدت في الجزائر في المناطق ذات الظروف الجافة كالمناطق الصحراوية (وادي سوف) [11].

I-8-7 البيئة البيولوجية:

ينمو هذا النبات على أي نوع من التربة سواء كانت غنية أو فقيرة من المواد العضوية والأحماض النيتروجينية، حيث تتواجد بكثرة في التربة الفقيرة والحمضية والجافة. ويوفر احتياجاته المائية بفضل الرطوبة الموجودة في الهواء ويتواجد في الوديان والمستنقعات [11].

I-8-8 الاستخدامات:

- له خصائص مثيرة للاهتمام من حيث المكافحة البيولوجية للآفات الحشرية في المحاصيل الزراعية مثل حشرات المن والذباب الأبيض.
- يولد الكثير من الاهتمام في البحث الدوائي لخصائصه المضادة للبكتيريا.
- يستخدم في الطب الشعبي لعلاج التهابات العين والجلد.
- ثمار النبات الخضراء الصغيرة صالحة للأكل و يمكن تحضيرها مخللات.
- يتم التقاط الأفراد المجنحة بواسطة النبات مما يحد من توسع أعدادهم في المحصول[8].

مراجع الفصل الأول:

1 – المراجع باللغة العربية:

[1] د. رياض أحمد العراقي، النباتات أكلة الحشرات، دار اليازوري للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، 2016، ص:15.

[2] علوي طه الصافي، النباتات أكلة الحشرات، مجلة فيصل، العدد72، أفريل1983.

[3] كريستي ،م ،1923، النشيب الشائع كنبات لاحم ،مجلة علم النبات .33:61-45

2 – المراجع باللغة الأجنبية:.

[4]Chase,M.W.,Williams,S.E;.Albert,V.A(1992),"Carnivorous plant ;phylogeny and evolution structural" ,since257(5076);1491-1495.

[5] Rice,Barrea.(2006) ,Growing carnivorous ,Timber press ,ISBN

[6] Karlsson PS,Pate JS (1992),"Contrasting effects of supplementary feeding of insects or mineral nutrients on the growth and nitrogen and phosphorus economy of pygmy species of Drosera ",Oecologia ,92(1);8-13.

[7] El Mokni,R,Hamdi ,N.,De Belair,G.& Hédi El Aouni,M.(2012).Découverte d Ibicilla lutea (Lindl.)Van Eselt.(Martyniaceae) en Kroumirie (Nord-Ouest de la tunisie).Poiretia,4,1-6.

[8] P.& Fried,G,(2017).Focus sur une espéce;Ibicella Lutea (Lindl.)Van Eselt .Nouvelle observation d une curieuse plante dans la Haute Garonne .Jaurnal de Botanique,79,53-55.

[9] Dobignard,A.&Chatelain,C.(2010/2013).Index synonymique de la flore Afrique du Nord.

[10] Verloove,F.(2006). Catalogue of neophytes in Belgium (1800-2005).Scripta Botanica Belgica,39,1-89.

[11] Abdelouahab BELKASAM & Khellaf RebbasHicham CHELGHOUMK،Mohamed AIT HAMMOU & Mohamed Djamel MIARA. Découverte d ibicella lutea (lindl.)van Eselt en Algerie ,Bulletin de la Societe Royale Des Sciences de Liége ;Vol. 89;articles,2020,p.85-90

الفصل الثاني

المنتجات الطبيعية

II. مدخل:

من إحدى الخصائص الرئيسية للنبات هو قدرته على إنتاج مجموعة واسعة من المواد الطبيعية، وهي ضرورية لتفاعل النباتات مع البيئة، وإلى جانب تشكل نواتج الأيض الأولية التقليدية (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون..). تشكل النباتات نواتج أيض أخرى تسمى بالثانوية، حيث تعد هذه الجزيئات مصدرا هاما يستخدمها البشر في مجالات متنوعة مثل:علم العقاقير أو المواد الغذائية هذه المركبات الثانوية تنتمي إلى مجموعات كيميائية مختلفة جدا مثل: القلويدات، التربينات والمركبات الفينولية... [1].

II. 1 – تعريف المنتجات الطبيعية:

المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك المنتجات التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة[2].

II. 2 – تصنيف المنتجات الطبيعية:

تصنف المنتجات الطبيعية إلى نوعين كبيرين هما: الأيض الأولي والأيض الثانوي

II. 2–1 تعريف الأيض الأولي (Métabolites primaires):

تتميز المنتجات الأولية بخصيتها الحيوية والضرورية لبقاء الخلية في الجسم ،فهي مركبات تدخل في التفاعلات الأولية، وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية(Métabolites primaires) التي تنتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، والأحماض الأمينية، السكريات والدهون والبروتين[3].

II. 2–2 تعريف الأيض الثانوي (Métabolites Secondaires):

هناك العديد من المركبات التي تنتج في النبات يطلق عليها اسم المشتقات الثانوية لعمليات الأيض الثانوي وتشمل كل من التربينات، الفينولات، القلويدات وغيرها. وهي جزيئات كبيرة العدد لها شكل بنيوي غير عادي ولها استعمالات دوائية عديدة وتسمى بالمنتجات الطبيعية الفعالة، تعتبر مركبات الأيض الأولي المواد البدائية لها ولهذا فهي تمثل مركبات الأيض الثانوي، هناك ثلاثة مواد أولية رئيسية :حمض الشيكيميك، الأسيتات والأحماض الأمينية والتي تعتبر وحدات البناء للأيض الثانوي[4].

II. 3- نواتج الأيض الثانوي:

II. 3-1 الفينولات:

II. 3-1-1 تعريف الفينولات:

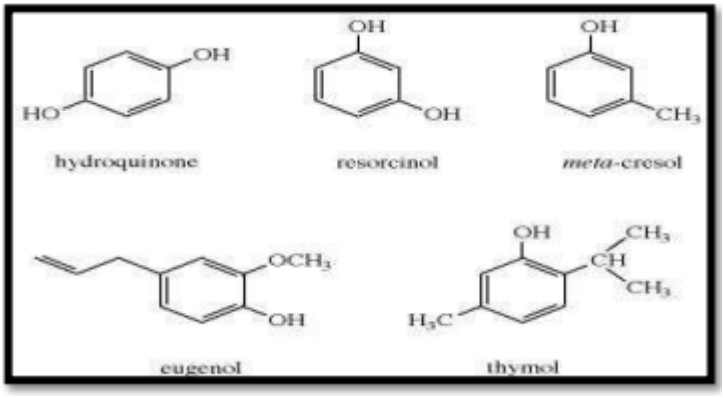
المركبات الفينولية هي واحدة من أكبر مجموعات المركبات الثانوية للنباتات، تنتج من الفواكه والخضروات، الشاي والكاكاو وغيرها من النباتات التي تملك فوائد صحية، تعرف الفينولات على أنها مركبات غير أزوتية يتم تخليقها من أيض حمض الشيكيميك أو من متعدد الاسيتات، تضم مجموعة واسعة من المركبات العضوية التي تحوي في هيكلها البنيوي واحدة أو أكثر من الحلقات العطرية (بنزين) مرتبطة بمجموعة واحدة أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل (OH)، بالإضافة إلى ارتباطها بمجاميع عديدة أخرى مثل الأستر ومجاميع الكربوكسيل ($COOH$) وكذلك مجاميع الميثيل(CH_3)، ويوجد ما يقارب حوالي 8000 مركب موجود في جميع الأنسجة النباتية [5].

الشكل(II-1):بنية الفينول.

II. 3-1-2 تصنيف الفينولات:

حسب العالم Swain et Baten – Smith(1992) يمكن أن تصنف المركبات الفينولية الطبيعية تبعا لتواجدها وتعقيداتها إلى 3 مجموعات وهي[6] [7]:

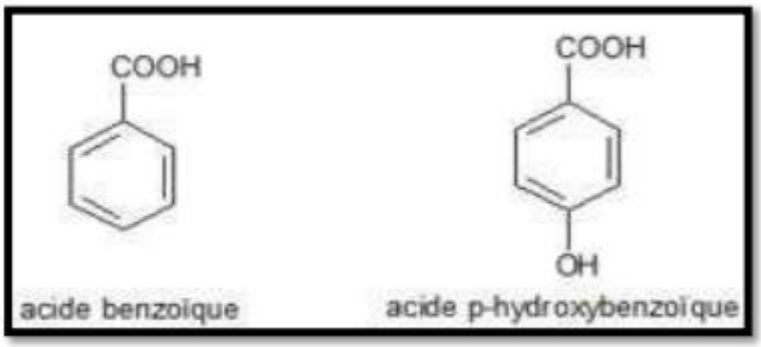
❖ **فينولات بسيطة** :وهي نادرة بطبيعتها باستثناء Hydroquinoneالموجود في العدد من العائلات مثل Rosacée[8].



الشكل(II-2): المركبات الفينولية البسيطة

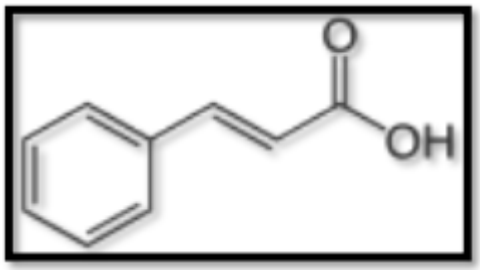
❖ **الاحماض الفينولية :**

- **مشتقات احماض البنزويك :C_6-C_1** [8]**مثل:**



الشكل(II–3): مشتقات احماض البنزويك

- **مشتقات احماض السيناميك :**C_6-C_3[8] مثل :



الشكل(II–4): حمض السيناميك

II. 3-1-3الأهمية البيولوجية للفينولات:

✓ **عند الإنسان :**

تمتلك المواد الفينولية استعمالات فيزيولوجية متعددة تتمثل في:

- ❖ مطهرة.
- ❖ مخدرة موضعيا.
- ❖ مفيدة في حالات الطمث (لابيول الموجود في البقدونس).
- ❖ مضادة للتشنج و طاردة للريح (إنيثول إذا استعمل بكميات قليلة ولكنه سام للجملة العصبية إذا أخذ بكميات كبيرة) [9].

✓ **عند النبات:**

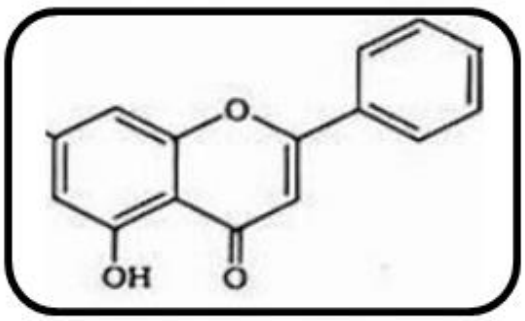
- ❖ لها أهمية في نمو النبات.
- ❖ وسائل دفاعية ضد الحشرات والفطريات والبكتيريا.
- ❖ مواد ملونة تعطي الألوان الجميلة للنبات مما يساعد على جذب الحشرات واللقاح.
- ❖ تشارك في تركيب النسج الدعامية النباتية مثل الليغنين [10].

II. 3-2 الفلافونيدات (Flavonoïdes):

II. 3-2-1 تعريف الفلافونيدات:

اشتقت كلمة الفلافونويد من كلمة لاتينية (Flavus) والتي تعني اللون الأصفر. والفلافونويدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار والثمار واحيانا الأوراق [11].

تحوي جميع الفلافونويدات على 15 ذرة كربون في بنائها موزعة على ثلاث حلقات تتشكل أساسا من العنصر ذي البنية (C_6-C_3-C_6) والذي يدعى بالفلافون (Flavons) وهو المركب الأم للفلافونونيدات[12].كما موضح بالشكل:



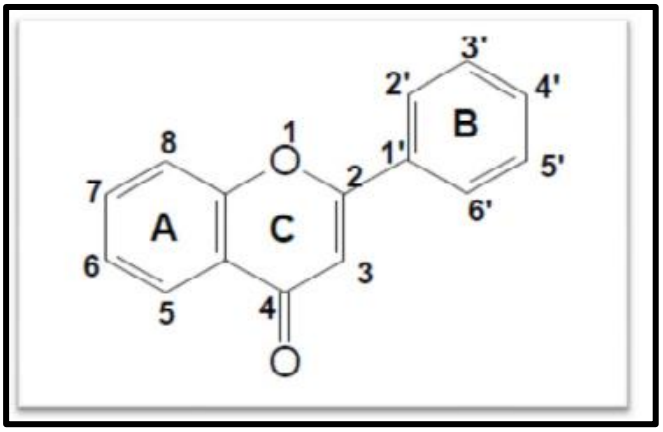
الشكل(II-5):البنية الكيميائية Flavone.

II. 3 –2–2 تصنيف الفلافونيدات:

يمكن تقسيم الفلافونيدات كما يلي[13]:

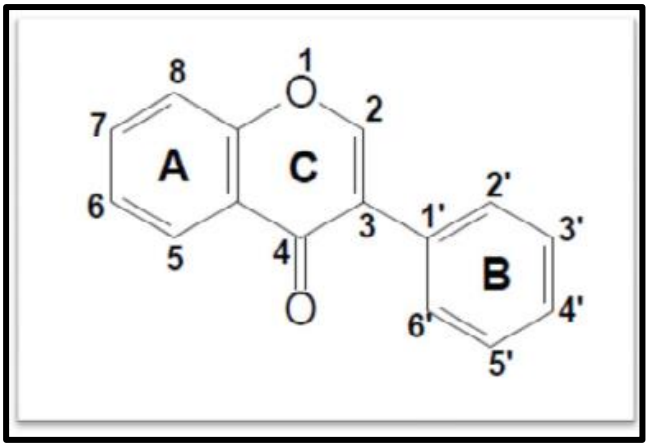
❖ حسب جهة ارتباط الحلقة C إلى:

✓ **فلافونويدات:** إذا كان ارتباط الحلقة Bمع C انطلاقا من الكربون2



الشكل (II–6):بنية فلافونويد

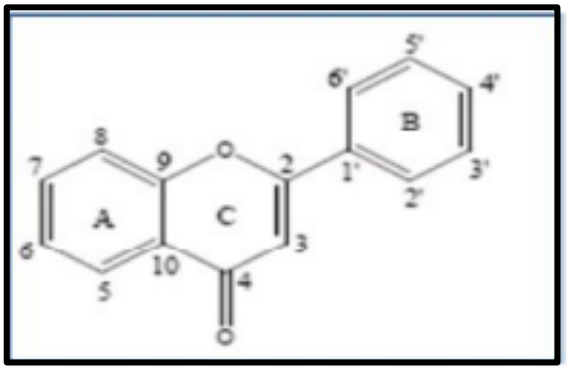
✓ **إيزوفلافونويدات:** إذا كان إرتباط الحلقةB مع Cانطلاقا من الكربون 3.



الشكل (II–7):بنية إيزوفلافونويد

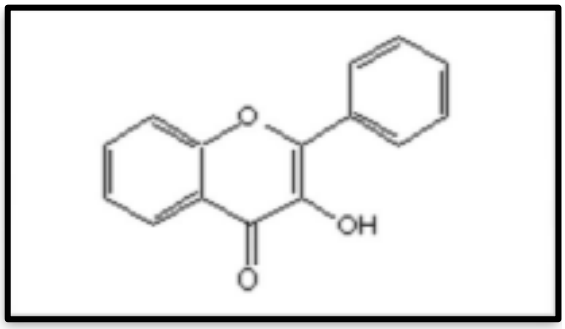
❖ **حسب درجة التأكسدC: نميز .**

✓ **Flavone**



الشكل(II–8):بنية الفلافون[14].

✓ **Flavonol**



الشكل(II–9):بنية الفلافونول[14].

II. 3–2–3 الأهمية البيولوجية للفلافونيدات:

❖ **دور الفلافونيدات عند النبات:**

- **الفعل الجاذب:** تعمل على جذب الكائنات الحية بواسطة اللون والذوق والرائحة.
- **إعطاء اللون للنبات:** خاصة لجذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح وتوزيع البذور.
- **الذوق:** بعض النباتات تطرد الحشرات بواسطة ذوقها غير المستساغ.
- **الحماية:** بعض الفلافونيدات الموجودة في الخشب الصلب لها خواص مبيدة للفطريات والبكتيريا وحتى الحشرات.
- كما تلعب دور شاشة لتصفية الأشعة الشمسية، فهي تحمي النباتات من الأشعة فوق البنفسجية خاصة الأحماض النووية [15].

❖ **دور الفلافونيدات عند الإنسان:**

لجاء الناس إلى النبات من أجل محاولة علاج الأمراض التي تصيبهم، وتلعب النباتات الطبية دورا مهما في الأبحاث الصيدلانية والعلاجية ،وبالقرب من العالم الطبيعي وبتحسين المعارف حول بنيتها اكتشف الباحثون الفلافونويدات التي كانت[16]:

❖ تقوي وتحسن عضلة القلب وتقلل من مخاطر أمراض القلب[17].

❖ تحمي من الجلطات الدموية، وتخفض نسبة الكولسترول في الدم[18].

❖ مسكنة ومضادة للالتهاب مثل: التهاب المفاصل[16].

❖ تقلل من خطر الإصابة بالسرطان وتمنع نمو الخلايا السرطانية كما تخفف أعراض الحساسية [19].

II. 3 –3– التانينات:

II. 3–3–1 تعريف التانينات:

هي مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومذاق غير مستساغ ،قابلة للتحلل ذات وزن جزيئي من 500الى3000 وحدة ،وتنتشر التانينات بوفرة في المملكة النباتية خاصة الفصائل: Myrtaceae ،Leguminoseae Rubiaceae. [19]

وتتواجد في أجزاء النبات خاصة الأوراق والسيقان والقلف كما توجد في الثمار غير الناضجة ولكنها تختفي بعد نضج الثمرة (وتصل نسبتها في النبات بنسبة 70%[15].عادة ما تستخدم في الدباغة ،ولها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك قدرتها على الإتحاد مع البروتينات ،كما لها القدرة على ترسيب القلويدات [20].وعند تحللها تنتج بعض الفينولات البسيطة مثل مركب Catèchol أو مركب Pyrogallol[21].

II. 3–3–2 خواص التانينات:

❖ مواد غير متبلورة تذوب في الماء تكون مستحلبا حامضيا له طعم قابض، وتذوب في الكحول، والجليسيرين، ولا تذوب في الإيثر ولا البنزين.

❖ لها القدرة على ترسيب البروتينات والقلويدات من محاليلها وهذه هي العملية التي تتم عند دباغة الجلود.

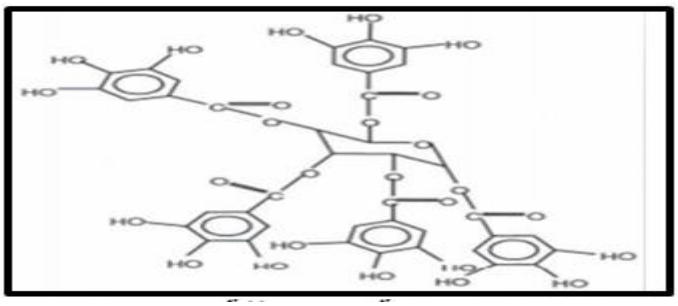
❖ ترسب التانينات نفسها من محاليلها بإضافة أملاح النحاس أو الرصاص أو القصدير كما تترسب بواسطة محلول قوي بكربونات البوتاسيوم في المحاليل القوية.

❖ تمتص التانينات الأوكسجين من الجو، وتتحول إلى اللون الأسود[22].

II. 3-3-3 تصنيف التانينات:

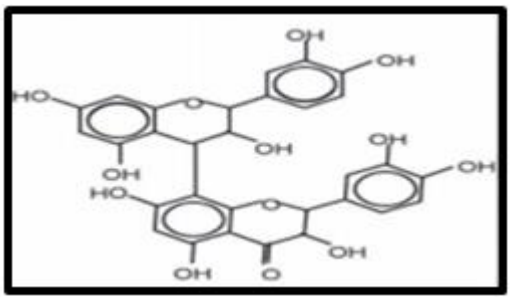
تصنف التانينات إلى :

❖ **تانينات متحللة (الذوابة) Tannins hydrolysables**:هي عبارة عن أحماض فينولية مرتبطة بجلوكوز.



الشكل(II-10):وحدة التانينات المتحللة $(C_6-C_1)_n$.

❖ **تانينات المتراكمة (المكثفة)Tannins condenses**:هي عبارة عن فلافونويدات غير مرتبطة بجلوكوز[23].



الشكل(II-11):وحدة التانينات المتراكمة $(C_6-C_3-C_6)_n$.

II. 3-3-4- دور وأهمية التانينات البيولوجية :

✓ **دور التانينات عند الإنسان:**

التانينات لها العديد من الأدوار من بينها[24]،[25]:

❖ موقف للنزيف.

❖ مضاد للأورام ويثبط تكاثر الخلايا السرطانية.

❖ مضاد للإسهال.

❖ مضاد للالتهاب الحلق والفم.

❖ لها القدرة على تثبيط الفطريات.

✓ **دور التانينات عند النبات:**

تتعدد أدوار التانينات في النباتات أهمها:

❖ تستخدم النباتات التانينات لتشديد الأنسجة الرخوة والتقليل من الإفرازات الزائدة وإصلاح الأنسجة التالفة [26].

❖ هي مسؤولة عن الطعم اللاذع للفواكه الغير الناضجة[27].

❖ التانينات مولد فينولية مطهرة تحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة فتحافظ على حياء النبات أثناء نموه[24].

II. 3-4-القلويدات:

II. 3-4-1 تعريف القلويدات:

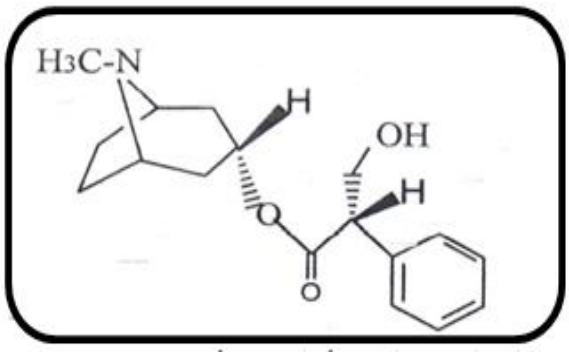
القلويدات عبارة عن مركبات عضوية معقدة التركيب، وقاعدية تحتوي على عنصر النتروجين كعنصر أساسي بالإضافة إلى عناصر اخرى كالكربون والهيدروجين والأوكسجين، كما أنها تحتوي على ذرة أو أكثر من الأزوت يمكن أن يكون بشكل أمين ثانوي أو ثالثي أو رابعي بما أنها عديمة اللون والرائحة عدا القليل منها مثل: الكوليشسين[28].

II. 3-4-2 تصنيف القلويدات:

تصنف القلويدات حسب [29]إلى ثلاث مجموعات :

❖ **قلويدات حقيقية Vrai alcaloïde**:

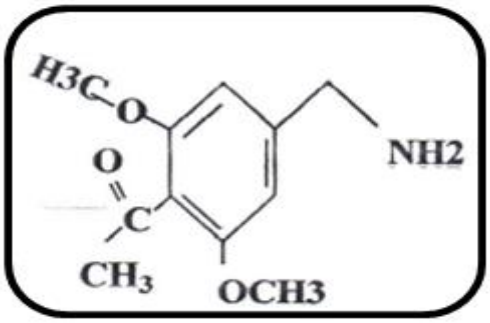
هي قلويدات تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو اكثر في حلقات متباينة، وهي مشتقات من الأحماض الأمنية. كمثال عنها:



الشكل (II-12): الصيغة الكيميائية (ATROPINE)

❖ **قلويدات أولية: proto alcaloïde**

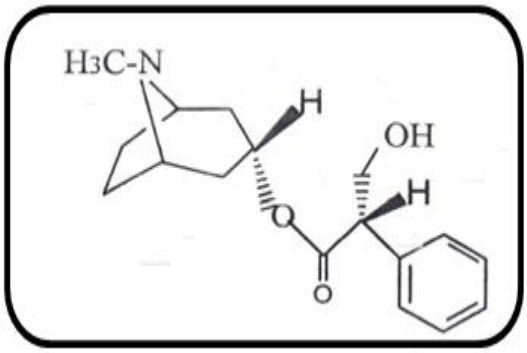
هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بل تكون مجموعة أمينية جانبية وهي تشتق من الأحماض الأمينية و يطلق أحيانا على القلويدات التي تنتمي إلى هذا القسم بالأمينات البيولوجية. ومن أهمها:



الشكل (II–13):الصيغة الكيميائية (Mescaline)

❖ **القلويدات الكاذبة Pseudo alcaloïde:**

قاعدية التأثير ولا يتم تخليقها داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية ومن أمثلتها:



الشكل (II–14): الصيغة الكيميائية (CONINE–(+))

✓ كما يمكن تصنيفها حسب [37] أيضا على الأساس التالي:

جدول(II–1):بعض الأمثلة عن القلويدات الحلقية والغير حلقية

قلويدات غير حلقية	قلويدات حلقية
Taxol	Terpenoid
Colchicine	Pyrrole
Ephedrine	Indole

II. 3–4–3 تواجد القلويدات في النبات:

يرى كل من[28]، [29] أن القلويدات توجد في مختلف أجزاء النبتة ومن أمثلة ذلك:

❖ **الأوراق:** مثل قلويدات Hyoafamine،hyoscine مثل أوراق الكوكا.

- **الجذور**: مثل قلويدات Aconitine.
- **البذور**: مثل قلويدات strychnine مثل بذور الجوز المقن، البن.
- **الدحاء**: مثل قلويدات quinine مثل الرمان.
- **الثمار**: مثل قلويدات peperine،Morphine مثل ثمار الخشخاش.
- **كل أجزاء النبتة**: مثل قلويدات Hyoscine.
- **السيقان الأرضية**: emetine مثل نبات الدحلاح.

II. 3-4-4 دور وأهمية القلويدات:

- **دور القلويدات عند النبات:**

- تمتاز القلويدات بانها مواد سامة لذلك فان وجودها يحميه من الحشرات الضارة [29].
- تأثير بعض القلويدات في حياة النبات كمنظمات النمو[30].
- وقد تعتبر القلويدات مخزون للأزوت الزائد عند احتياج النبات[31] .
- **دور القلويدات عند الإنسان:**

لها العديد من الأدوار أهمها[31] ،[32]:

- مضادة للآلام المفاصل مثل:Colchicine.
- مدرة للبول مثل: Xanthine.
- منبهة مثل:Caféine.
- رافعة للضغط مثل:Ephedine.
- معالجة لمرض الزهايمر.
- مسكنات مثل :Morphine.
- خافض للحرارة مثل :Hordenine.

II. 3- 5 التربينات الثلاثية:

II. 3-5-1 تعريف التربينات الثلاثية:

تتكون التربينات من 6 وحدات إيزو برين (C_{30}) وهي مركبات عديمة اللون ،صلبة أغلبها ينصهر عند درجات الحرارة عالية ،وهي مواد فعالة ضوئية (متعدد المراكز الكيرالية)، ويدخل في التركيب البنائي لهذه التربينات أربع أو خمس حلقات إلا أن التربينات المحتوية على خمس حلقات في بنائها هي الأكثر وفرة في الطبيعة[15].

II. 3-5-2 تصنيف التربينات الثلاثية:

يعتبر السكوالين المصدر الأساسي لتربينات الثلاثية، حيث أن غالبية التربينات الثلاثية حلقية ولكن يوجد القليل منها على شكل خطي، تتميز التربينات الثلاثية بهياكل بنائية مختلفة مما يؤدي إلى تنوعها وهذه بعض اهم هياكل التربينات الثلاثية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية ومقسمة على حسب عدد الحلقات: تربينات ثلاثية حلقية، ستيرويدات، قلويدات ستيرويدية [21].

II. 3-5-3 الأهمية البيولوجية لتربينات الثلاثية:

✓ **دور التربينات الثلاثية عند النبات:**

تلعب التربينات دورا مهما يتمثل فيما يلي [33]:

- ❖ تتيح لنباتات حماية ذاتية من ضراوة الحشرات.
- ❖ مسؤولة عن اللون الأصفر للأزهار.
- ❖ تساهم في منح الرائحة والطعم لكثير من النباتات.

✓ **دور التربينات الثلاثية عند الإنسان:**

يتمثل دور التربينات الثلاثية عند الإنسان في ما يلي [33].

- ❖ مضادة للالتهابات.
- ❖ مسكنات للآلام.
- ❖ مضادات فيروسية وفطرية.
- ❖ مبيدات حشرية، مبيدات رخوية.
- ❖ كما أن للعديد منها فعالية ضد الأورام، كذلك السرطان.

II. 3-6 الزيوت الطيارة:

II. 3- 6-1 تعريف زيوت الطيارة:

هي عبارة عن مواد ذات روائح مميزة وتتطاير عند درجات الحرارة العادية وسميت بعدة أسماء منها: الزيوت العطرية Aromatic oils، نظرا لرائحتها العطرة الجميلة وسميت كذلك بالزيوت الأثيرية Ethereal oils نظرا لقابليتها للذوبان في الإيثر[28].

II. 3- 6-2 تواجدها في الطبيعة:

تتواجد الزيوت العطرية الطيارة بالنباتات العطرية بنسب متفاوتة من نبات إلى أخر، كما تتواجد على صورتها الحرة مباشرة أو على هيئة مركبات غليكوزيدية أو غير ذلك وأهم الفصائل الحاملة لها هي: ;Myrteceae Lauraceae Lamiaceae; Asteraceae; Apiaceae ;Rutaceae. [15].

توجد الزيوت الطيارة في أجزاء مختلفة من النبات[34]:

- ✓ جميع أنسجة النبات: مثل نبات الصنوبر.
- ✓ بتلات الأزهار : مثل نبات الورد.
- ✓ القلف والأوراق: مثل القرفة.
- ✓ غلاف الثمرة: مثل نباتات العائلة الخيمية.

تتأثر زيوت الطيارة (بالأوكسجين، الرطوبة، الحرارة والضوء).

II. 3 – 6-3 استخلاص الزيوت الطيارة:

توجد عدة طرق للاستخلاص الزيوت الطيارة نذكر منها[35]:

II. 3-6-3-1 الاستخلاص بالتقطير:

- التقطير بالماء.
- التقطير بالماء والبخار معا.
- التقطير بالبخار.

II. 3 -6-3-2 الاستخلاص بالمذيبات العضوية:

وتعتمد على نوع المذيب المستخدم إلى:

1. الاستخلاص بالمذيبات العضوية (الهكسان والإيثر وغيرها).
2. الاستخلاص بالمذيبات العضوية غير الطيارة كالشحوم والدهون.
3. الاستخلاص بالضغط أو الطرد المركزي.
4. الاستخلاص بالمحلل المائي (الإنزيمي أو الحمضي).

II. 3-6-4 دور وأهمية زيوت الطيارة:

II. 3- 6-4-1 عند الإنسان: تستخدم الزيوت الطيارة في المجالات العلاجية [15]:

- ❖ مواد طاردة للديدان.
- ❖ مدر للبول.

- ❖ تستخدم كمواد مطهرة للأرياح والغازات المعوية والمعدية.
- ❖ لها عدة تأثيرات على الجلد.
- ❖ تستخدم في تصنيع الروائح والعطور ومستحضرات التجميل.

II. 3- 6-4- 2 عند النبات:

يستخدم النبات الزيوت الطيارة من اجل [28]:

- إزالة نواتج العمليات الحيوية و طرحها خارج أنسجة النبات.
- اجتذاب الحشرات مما يساعد على تلقيح الأزهار وزيادة الإنتاج.
- مذيب يساعد على التئام الجروح النباتية بعد ذوبان الراتنجات فيها.
- طرد الحشرات للدفاع عن النبات وذلك لما لبعض الزيوت الطيارة من روائح كريهة.
- تعمل كطاردة للحشرات أو الحيوانات وبذلك قد تبعدها عن فتك أوراق أو أزهار النبات أو قد تعمل على جذب الحشرات وبذلك تساعد عملية التلقيح الخلطي بين النباتات[34].

II. 3- 7 الصابونيات:

II. 3-7-1 تعريف الصابونيات:

الصابونيات عبارة عن تربينات ثالثية حقيقية في صورة جليكوسيدية ويتعدد السكر ليصل من اثنين إلى عشرة، وعليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالي وعند تحللها تحرر سكر أو عدة سكريات مثل:

(D-glucose ; D-galactose; rhammose ; L-arbinose ;D-Fructose).

مع genine يسمى Sapogenine هذا الأخير عبارة عن نواة أسترويدية والقليل منها يحتوي نواة ثالثية التربينات [15] وقد أشتق الاسم من الكلمة اليونانية Sapo بمعنى صابون أنها تحدث رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة، وتستمر لفترة طويلة [35].

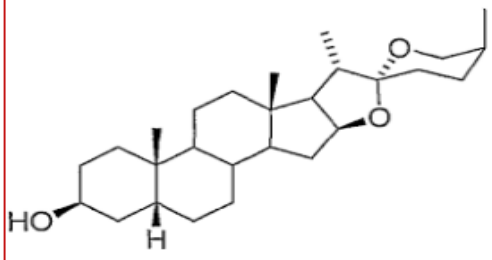
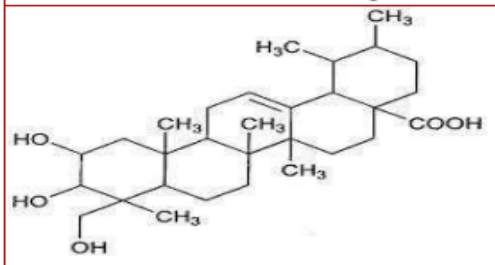
II. 3-7-2 وجودها في الطبيعة:

إن الصابونيات ذات genine إستيرويدية تتواجد في النباتات أحادية الفلقة مثل الفصيلة الامارلية والأليلية.

وقليلا جدا في ثنائيات الفلقة مثل Scrophylariace بينما إذا كان الجنين ثلاثي التربين تكون نادرة جدا في أحادية الفلقة لكن تنتشر في ثنائيات الفلقة مثل: Polygalaceae; Primulaceae; Carryophyllaceae ; Rosaceae ; Heppocastanaceae. [15].

II. 3- 7 -3 تصنيف الصابونيات:

الجدول (II-2): يوضح أقسام الصابونيات

القسم	النوع	المثال
الصابونيات ذات النواة ثلاثية التربين Group des triterpénes	Mono bidesmosides	 *spirostane*
الصابونيات ذات النواة التربينية استرويدية Group des steroides	Bidesmosides	 *Acid Madécassique*

II. 3- 7-4 الخصائص الفيزوكيمائية للصابونيات:

تمتلك الصابونيات عدة خصائص تتمثل في [36]:

- تتحلل في الماء مشكلة محاليل رغوية.
- تذوب في مُذيبات مثل الكحولات الميثيلية والإيثيلية المخففة والماء.
- لا تذوبُ في الإيثر البترولي والكلورفورم والبنزين وثنائي إيثير الإيثر.
- لها درجة انصهار مرتفعة تتراوح ما بين 200°م و300°م.
- تتميز بعدة تفاعلات لونية مع حمض الكبريت حيث تذوب الصابونيات معطية اللون الأصفر، الأزرق المخضر، الأزرق البنفسجي.
- يظهر إشعاع أزرق بالنسبة للصابونيات الإيثيلية وأصفر مع الصابونيات الستيرويدية، وهذا في حالة الاختبار بالأشعة فوق البنفسجية .

II. 3-7-5 الخصائص البيولوجية للصابونيات:

الصابونيات مواد منشطة تتميز بعدة خصائص نذكر منها [36]:

- مضادة للإلتهابات والفطريات ولمرض السكر وللقرحة المعدية.
- تستعمل كمضادات حيوية وكمادة سامة لصيد السمك.

- مدرة للبول .
- أغلب الصابونيات تعطى عن طريق الفم حيث إذا حقنت في الأوعية الدموية تسبب انحلال كريات الدم الحمراء .

1 – المراجع باللغة العربية:

[1] غميمة صفاء، دراسة مقارنة للمردود والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي والإيثانولي في بذور نبات القناوية، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة الشهد حمه لخضر الوادي .ص:16(2018).

[5]ربيعي ع. ك، المساهمة في الدراسة الفعالية المضادة للأكسدة .لمستخلصات بروبوليس جنوب الجزائر بالطرق الكيمائية والكهروكيمائية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستير، تخصص كيمياء تحليلية ومراقبة المحيط، جامعة قاصدي مرباح ورقلة (2010).

[8] بالقد خولة، سباع نجوى، دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الكحولي والمائي عند نبات,Plantago albicansL مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي (2015).

[10] محاضرة علم العقاقير،2018 ،(النباتات الحاوية غلى الفينولات والغليكوزيدات الفينولية)، للسنة الثانية. ص:01.

[11] شمسة ا. ح؛ (2004)،استخلاص المواد الحيوية الفعالة من بعض النباتات الطبية الجزائرية و دراسة النشاطية المضادة لبعض الأحياء الدقيقة الممرضة، مذكرة ماجيستير في منتجات طبيعية ذات أصل نباتي، جامعة العربي بن مهيدي، أم البواقي، ص:28.

[12]شروانة سهيلة،(2007). فصل وتحديد منتوجات الأيض الثانوي الفلافونويدي لنبتة *Lyciumarabicum.L*. جامعة منتوري قسنطينة. ص، 30،4-32.

[15] زمالي ج، دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة صحرواية، مذكرة ماجستير كيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص:42 (2007).

[16] سعيدة أ. فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي لنبتة ***Euphorbia Guyoninana*** ماستر كيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي، ص:44 (2016).

[19] بن مرعاش ع، دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبة Convolvulus supinus Kral &.Coss (Convolvulaceae)، مذكرة الماجيستير في الكيمياء، جامعة منتوري بقسنطينة، ص.16-18(2012).

[20] مود ص، استخلاص المركبات الفينولية من قشور البرتقال ودراسة فعاليتها البيولوجية، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي. ص:35(2015).

[23] صفاء تريعة، دراسة التركيب الكيميائي (فينولات، قلويدات) لثمار نبات الحنظل ونشاطه المضاد للبكتيريا، مذكرة ماستر كيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر. الوادي. (2017).

[24] الخطيب ر،2014- علم العقاقير (التانينات والكومارينات)،كلية الصيدلة للسنة الثانية .ص:20.

[28] حجاوي غسان، حياة حسين المسيمي، رولا محمد قاسم،(2009). علم العقاقير، الطبعة الثانية، مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع – عمان، الأردن.

[29] محمد السيد هيكل، عبد الله عبد الرزاق عمر،(2003)، النباتات الطبية والعطرية كيمياوية إنتاجها وفوائدها، منشأة المعارف بالإسكندرية، مصر، ص 80.

[34]علي منصوري حمزة، (2006)، النباتات الطبية في الجزائر، منشورات Berti الجزائر. الطبعة الأولى.

[35] صندالي ع، المسح الكيميائي لنبتتين من عائلة، مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص: 78(2013).

[36]نور الدين حميدي. (2015).الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا *Zygophyllaceae) (FagoniaLongispina))* نبات من الجنوب الغربي للجزائر، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه في الكيمياء.

2-المراجع باللغة الأجنبية:

[2] HHURABLEILLE M., 1980- Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1Généralisés. Mongraphies. Masson, P:10-18 ,261-266.

[3] SHUKLA M., GUPTA K., et al. - Bioavailable constituents/metabolites of pomegranate (Punica granatum L.) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro.Journal of inflammation. 2008. Vol. 5. N°9. Pages 1 à 10.

[4] HHURABLEILLE M., 1980- Abrégé De Matière Médicale, Pharmacognosie, tom1Généralisés. Mongraphies. Masson, P:10-18 ,261-266.

[6] Ribérau-Gayon,J. P.,1968- Les Composés phénoluque des Végteaux, Dundo, France.

[7]Vermerris, W., and Nicholson, R., 2006- phenlic compounds biochemistry ,Springer:Netherlans.p.6.

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

[14]- Djoukeng Jules Désiré.,(2005).Etude phytochimique et activités biologiques de quatre espèces Camerounaises de la famille des Myrtaceae: Eucalyptus saligna Sm., Callistemon viminalis W., Syzygium guineense W. et Syzygium aromaticum M. et P. Thèse présentée à la faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel. Egypt.pp.14-93.

[16] John Mc Murry،Tadhg Begley ،Chimie Organique des Processus Biologiques ،1re édition ،Paris ،p54-55 (2005). [31]Madhumitha .G. ,Fousiya .J .,(2015).A Hond bookou: Semi Micro Technique for Extraction of Alcaloïdes .International E publication.

[17]- YOCHUM L.1999. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Postmenopausal Women. American Journal of Epidemiology.p: 149-10

.

[18] ZHOU J. ،WANG L. ،WANG J. ،TANG N. ،2001. Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. Transition Met. Chem ،26(1-2) ،57-63.

[21] Richter.E.(I 993)Metabolisme Des vègetaux . Physiologie et Biochemie .pp:34

[22] Birben ،E. ،Sahiner ،U. M. ،Sackesen ،C. ،Erzurum ،S. ،& Kalayci ،O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. The World Allergy Organization journal ،5(1) ،9.

[25] Apel ،K. ،& Hirt ،H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism ،oxidative stress ،and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. ، 55 ،373-399.

[26] BOUKRI N H., 2014 - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. 99 p.

[27] BENHAMMOU N., 2012 - Activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thése doctorat. Université Aboubakr Belkaïd.Tlemcen. 174 p.

[30] Said Rahal ، ،"Chimie des produits naturels et des etres vivants"; Alger. p 63-78(2009).

[31]-Wagner, H.,Bladt,S.,1996-Plant drug analysis:A thin layer chromatography atlas.Edit. Springer 2nd. Munich,p63-78.

[32]-Guignard, J., 1996 - Abrégé de biochimie végetale. 1 ére ed Mansson, paris, P : 145-156.

[33]-Shukla, M., Gupta, K., et al., 2008- Bioavailable constituents/ metabolites of pomegran nate (Punica granatum L.) preferentially inhibit COX2 activity ex vivoand IL-1beta- induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. Journal of inflammation. Vol. 5. N°9. Pages 1 à 10.

[37]Madhumitha .G. ,Fousiya .J .,(2015).A Hond bookou: Semi Micro Technique for Extraction of Alcaloïdes .International E publication.

الفصل الثالث

الفاعلية البيولوجية

III. 1 – الجذور الحرة:

III. 1 –1 تعريف الجذور الحرة:

الجذر الحر هو عبارة عن ذرة أو جزيئة حيادية أو مشحونة تحوي في مداها الخارجي على إلكترون غير متزاوج وهي مواد غير مستقرة، تتفاعل مع جزيئات أكثر ثباتا لتزويج إلكتروناتها، وذلك باكتساب إلكترون (تتصرف كمؤكسد) أو تتخلى عن إلكترون(تتصرف كمرجع) يؤدي هذا التفاعل إلى تكوين جذور جديدة، وهذا ما يفسر قدرة جذر واحد على إتلاف الخلية[1].

III. 1–2 أنواع الجذور الحرة:

قسمت الجذور الحرة على أساسين:

III. 1–2–1 على أساس الاستقرار:

❖ **الجذور غير المستقرة (النشطة):**

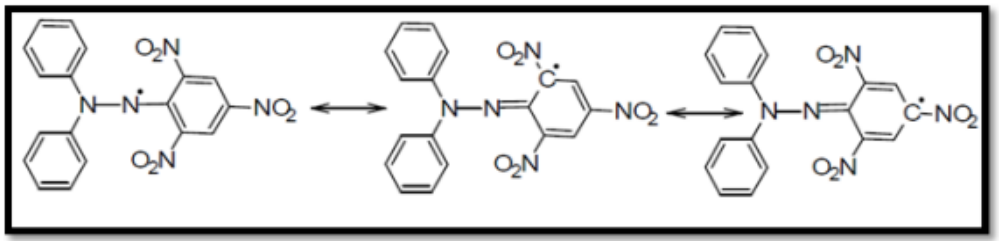
وهي التي تقدر أعمارها بالميكروثانية وتصل حتى البيكوثانية، يشمل هذا النوع الجذور ذات العناصر مثل: ذرات الهيدروجين (H) والنتروجين (N) والفلور(F)، والكلور(Cl) والبروم (Br) واليود(I). والجذور التي لها وزن جزيئي صغير مثل: الميثيل (CH_3)، الإيثيل (C_2H_5) ، الفنيل (C_6H_5) والهيدروكسيل (OH)، وطاقة تنشيطها تقترب من الصفر[2].

❖ **الجذور المستقرة (الصامدة):**

وتكون لها أعمار طولية تقدر بالثواني ويمكن أن تصل إلى أيام من أمثلة ذلك جذر ثلاثي ميثيل أمين وجذر ثنائي فينيل ليبكريل هيد ارزين ($DPPH$) [3].

✓ **الجذرDPPH**:

يبقى هذا الجذر مستقر لعدة أيام وذلك لوجود الحلقات الأروماتية والتي تحمل أشكالا رنينية متعددة وهذا يعني عدم تمركز الإلكترونات بموقع معين وDPPH هو اختصار 1،1–ثنائي فينيل لبكريلهيدرازيل وهو مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود يشبه لونه لون محلول $KMnO_4$ ويعطي لون برتقالي مصفر عند استقراره[4].



الشكل (III–1):البنيات الرنينية في جزيئة الـ DPPH

III. 1–2–2 على أساس النوع:

❖ **الجذور الحرة الأكسيجينية:** أهمها شق الهيدروكسيل الحر وقد يكون أخطرها. غير أن الجذر الحر له لا يدوم فهو مرحلة انتقالية عمرها قصير.

❖ **الجذور الحرة النتروجينية:** أكسيد النتروجين وبيروكسيد النتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النتريت.

الجذور الحرة الدهنية: تتميز الدهون بكونها أعلى درجة اختزال من عناصر الجسم، وبالتالي فهي عرضة أكثر من غيرها للتأكسد بجذور الأكسجين والنتروجين خاصة منها الدهون غير المشبعة، وهي أطول عمرا.

❖ **جذور السموم الحرة:**

وتمثل معظم المواد السامة والمطفرات والمسرطنات الكيميائية [5].

III. 1–3 مصادر الجذور الحرة:

للجذور الحرة عدة مصادر كالمركبات البترولية والمواد الملونة والحافظة، إضافة إلى المواد المنظفة والكحول وكذلك شوارد المعادن الثقيلة والقطران في التبغ[6].

III. 1–4 أسباب زيادة الجذور الحرة:

- استهلاك كميات كبيرة من الأكسجين.
- يزيد تشكل الجذور الحرة بزيادة سرعة الاستقلاب كما يحدث في حالة التوتر والشدة.
- يزيد بزيادة عوامل التلوث البيئي المختلفة التي يتم تحطيمها في الجسم لتتحول إلى جذور حرة.
- يزيد بالتدخين ولأسباب عديدة[7].

III. 1–5 أضرار الجذور الحرة:

يوجد في الجسم أنواع أوكسيجنية نشطة(ROS) بتراكيز ضعيفة حيث تقوم بأدوار فسيولوجية مهمة وتستعمل أيضا كوسائط منضمة للوظائف البيولوجية ،حيث تسبب الجذور الحرة أضرار بالغة الخطورة على جسم الإنسان بتأثيرها على:

- الحمض النووي وقد يؤدي إلى طفرات تتسبب في موت الخلايا أو ضعف المناعة.

- البروتينات مما يؤدي إلى تغير طبيعتها ووظيفتها مؤدية إلى أمراض المناعة الذاتية.

- الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون وألا هي أخطر مما ينتج عنها جذور لها شراهة تكتسبها عمرا أطول وانتشارا أوسع مسببا بذلك خلايا سرطانية. وتنجم عنها أضرار أخرى كأمراض القلب والأوعية الدموية والتي تؤدي إلى تصلب في الشرايين وهذا يسبب الذبحة القلبية[8].

III. 2- مضادات الأكسدة:

III. 2-1 تعريف مضادات الأكسدة:

هي مركبات ترتبط بالجذور الحرة فتعمل على تفوضيها لتستقر وتمنع بذلك التأثير الضار الذي تلحقه بالجسم، إذ تعتبر نظاما دفاعيا ضد الضغط الذي تسببه ذرات الأوكسجين الشاردة لحماية خلايا الجسم، أو لأنها تمنع تكوين الجذور الحرة و تحولها إلى مركب مستقر كما هو موضح في المعادلة التالية:

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

والدور الأساسي لمضادات الأكسدة هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة وتستطيع أن تعدل أو تصلح الإتلاف الذي تسببه الجذور الحرة[9].

III. 2-2 تصنيف مضادات الأكسدة:

III. 2-2-1 مضادات الأكسدة الطبيعية:

وتنقسم إلى قسمين مضادات إنزيمية وغير إنزيمية:

●مضادات أكسدة إنزيمية:

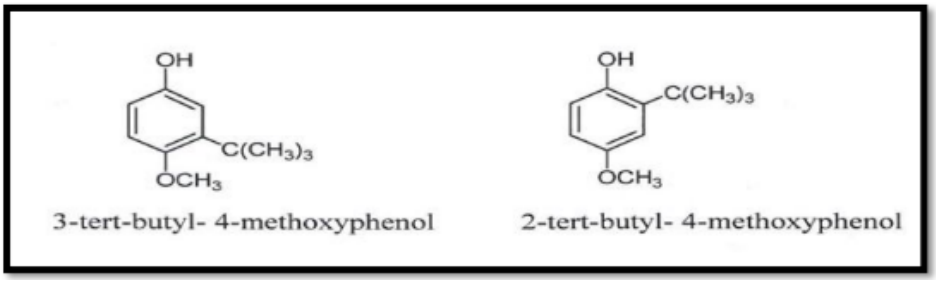
- إنزيم Superoxyde dismutase (SOD).
- إنزيم Catalase (CAT).
- إنزيم Glutathion peroxydase (GR)، أنزيم Glutathion reductase (GRx) Peroxeredoxins [10].

- **مضادات أكسدة غير إنزيمية (الغذائية):**

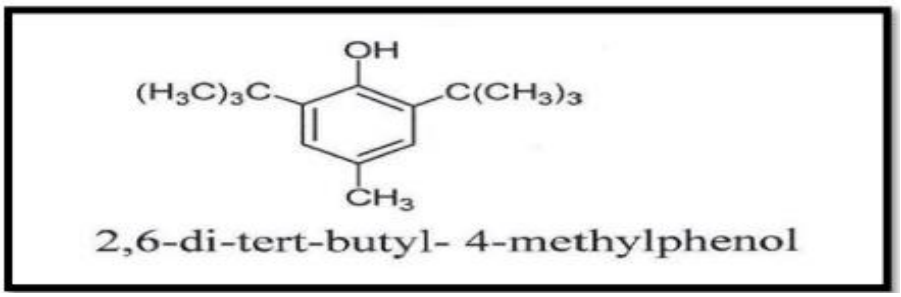
وتتميز مضادات الأكسدة غير الإنزيمية بأوزان جزيئية منخفضة ولها القدرة على الوقاية أو الحد من أخطار الإجهاد التأكسدي ويتم الحصول عليها من التغذية وتتمثل في الفيتامينات فيتامين E وفيتامين C، والمعادن (الحديد، الزنك)[11].

III. 2-2-2- مضادات الأكسدة المصنعة:

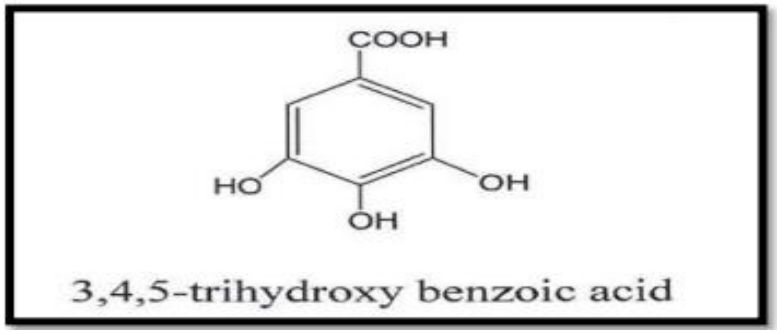
وهي عبارة عن مكملات غذائية تباع في الصيدليات على شكل حبوب أو شراب، وتضاف مضادات الأكسدة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات، وتستعمل تجاريا أيضا في حفظ المنتجات الطبيعية وكذا مجال الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية منها (BHA) Butylhdroxyanisoli، (BHT) Butylhydroxytoluene[12]:



الشكل(III-2):يوضح بنية الـ BHA.



الشكل(III-3):يوضح البنية الـ BHT.



الشكل(III–4): يوضح بنية GA

III. 3-مدخل:

صنف علم الأحياء الدقيقة من فروع علم الأحياء التي تتعلق بعلم النبات وعلم الحيوان وعلم الكائنات الحية، ويتخصص هذا العلم بدراسة الأحياء الدقيقة عديمة النواة مثل الفيروسات والكائنات متعددة الخلايا ووحيدة الخلية، إضافة إلى الكائنات بدائية النوى مثل الطحالب والبكتَيريا، والكائنات حقيقية النواة مثل لأوليات والفطريات[12]، وفي سنة 1859م تمكن الكيميائي الفرنسي Pasteur من التعرف على هذه الكائنات والتأكيد على ماهيتها، حيث اكتشف البكتَيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر، واكتشف أيضا طعومها، وقد أثبت أيضا أن البكتَيريا كائن حي والكائن الحي لا يتولد إلا من كائن حي آخر.

أما العامل الألماني Robert Koch فقد ساهم في اكتشاف علاقة البكتَيريا بالمرض حيث ارتبط اسم البكتَيريا باسم المرض الذم تسببه [13].

سنقوم في هذا الفصل بدراسة شاملة حول البكتيريا: تعريفها، أنواعها، تواجدها وتأثيرها على الإنسان وكذلك أنواع المضادات الحيوية التي تحد من انتشارها وتقضي عليها وركزنا في هذا الفصل على أنواع البكتيريا التي تمت دراستها على المستخلصات النباتية.

III. 3-1 – تعريف البكتيريا:

هي كائنات حية دقيقة بدائية النول(Procaryotes) لا ترى بالعُين المجردة بل تر بالميكروسكوب، وهي تتصف بنفس صفات الكائنات الحية الأخرى مثل النمو والتنفس والتكاثر والتغذية، تتكاثر بالانقسام الثنائي البسيط ولا تحتوي على نواة حقيقية لكن تحتوي على كروموسو واحد منتشر في السيتوبلازم غَير محاط بغشاء نووي[14].

III. 3-2 بنية البكتيريا:

تتركب الخلية البكتيريا من أربعة أجزاء أساسية وأربعة أجزاء إضافية:

III. 3-3 المكونات الأساسية:

❖ **الجدار الخلوي:** جدار سميك يتألف من طبقتين في البكتيريا موجبة الغرام (G^+) وثلاث طبقات في البكتيريا السالبة (G^-). هذا الأخير الذي يظهر أقل سمكا من الجدار الخلية موجبة الغرام ،و يتكون الجدار الخلوي من مواد سكرية ودهون، وظيفته الحماية والدعامة وإعطاء البكتيريا الشكل المميز لها هو الذي يحدد نوعية صبغة البكتيريا وكذلك يوجد به السم الداخلي للبكتيريا Endo Toxi.

❖ **الغشاء البلازمي:** غشاء رقيق جدا مكون من الدهون والبروتينات، يتألف من البلايين الثنيات Mesosomes، وظيفته المشاركة في عملية الانقسام البكتيري وهو مركز إنزيمات التنفس، ويحدد نوعية وكمية المواد التي تنفذ من أو إلى البكتيريا والتي تعرف بالنفاذية الاختيارية .

❖ **السيتوبلازم:** كتلة بروتينية هلامية تحتوي على غذاء مدخر وتدور فيها المواد الغذائية والفضلات لإخراجها، وكذلك توجد بها حبيبات من مادة الـ ARN تعرف بالريبوزومات ،وظيفتها تكوين البروتينات مثل الإنزيمات والهرمونات ،كذلك يوجد بها حبيبات مكونة من الـ ADN تحمل صفات جينية معينة وتعرف بالبلازميدات.

❖ **النواة:** نواة البكتيريا بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يوجد في مركز الخلية وليست محاطة بغشاء نووي ولا توجد بها نويات أو سائل نووي ،وظيفتها السيطرة على جميع عمليات الخلية[15].

III. 3-4 الأجزاء الإضافية:

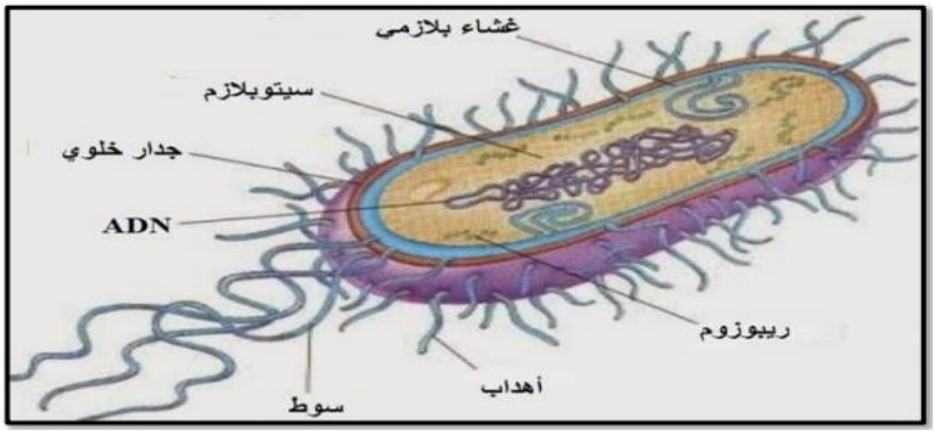
قد يوجد إحداها في بعض الخلايا أو لا توجد، فهي ليست ضرورية لحياة البكتيريا.

❖ **الهدبيات:** زوائد دقيقة تسمى Pilli، وظيفتها التثبيت على سطح الخلايا وبعضها يعرف بالهدبيات الجنسية التي تلتصق ببعضها لاندماج الأنوية من خلية لأخرى، وهي مسؤولة عن ضروريات البكتيريا (البكتيريا السيلان مثلا).

❖ **الأسواط Flagella**: زوائد طويلة جدا حول البكتيريا في توزيع مميز لكل نوع فقد تخرج من طرف واحد من الخلية أو كلا الطرفين ،أو من جميع سطح البكتيريا وهي مسؤولة عن حركة البكتيريا (العصيات المعوية) E. Coli.

❖ **الحافظة Capsule**: طبقة هلامية سكمية تحيط بالبكتيريا وتمنع التصاقها بالخلايا البلعمية (phagocyte) .لذلك فهي من عوامل ضرورية لبعض الأنواع وتوجد في الثنيات الرئوية.

❖ **البذورSpores**: عندما تسوء الظروف البيئية (الجفاف، ندرة الغذاء، الـPh) تكون بعض أنواع البكتيريا جدار سميكا يحيط بالنواة وقليل من السيتوبلازم ويعرف هذا التركيب بالبذرة التي تظل حية لمدة طويلة إلى أن تتحسن الظروف في تشقق جدار البذرة وتخرج منه النواة وتستعيد شكل مثل الجمرة الخبيثة[4].



الشكل (III– 5): بنية البكتيريا

III. 3–5 انقسام الخلية البكتيرية:

دورة حياة الخلية تتركز في استمرارية انقسامها، حيث حوالي كل 20 دقيقة نتقسم الخلية البكتيرية لإعطاء خليتين جديدتين فخلال ساعات تعطي خلية بكتيرية واحدة الملايين من الخلايا، وأغلب البكتيريا تتكاثر بطريقة الانشطار الثنائي .وأيضا درجة الحرارة تأثر على بقاء وتكاثر البكتيريا، فمنها من تعيش في درجات الحرارة المنخفضة ومنها من تعيش في درجات الحرارة العالية بالإضافة إلى أن PH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود PH=7 وإن الأوساط التي تكون غنية بالماء والرطوبة تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا[16].

III. 3–6 تسمية البكتيريا:

تأخذ البكتيريا أسماء ثنائية بحيث يشير المقطع الأول من الاسم إلى الجنس والمقطع الثاني إلى نوع، وقد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في أو اسم المكتشف مثلا.

أما بالنسبة للنوع فقد يشير إلى مرض كما هو أو قد يحمل صفات اللون مثل أي ذهبية [17].

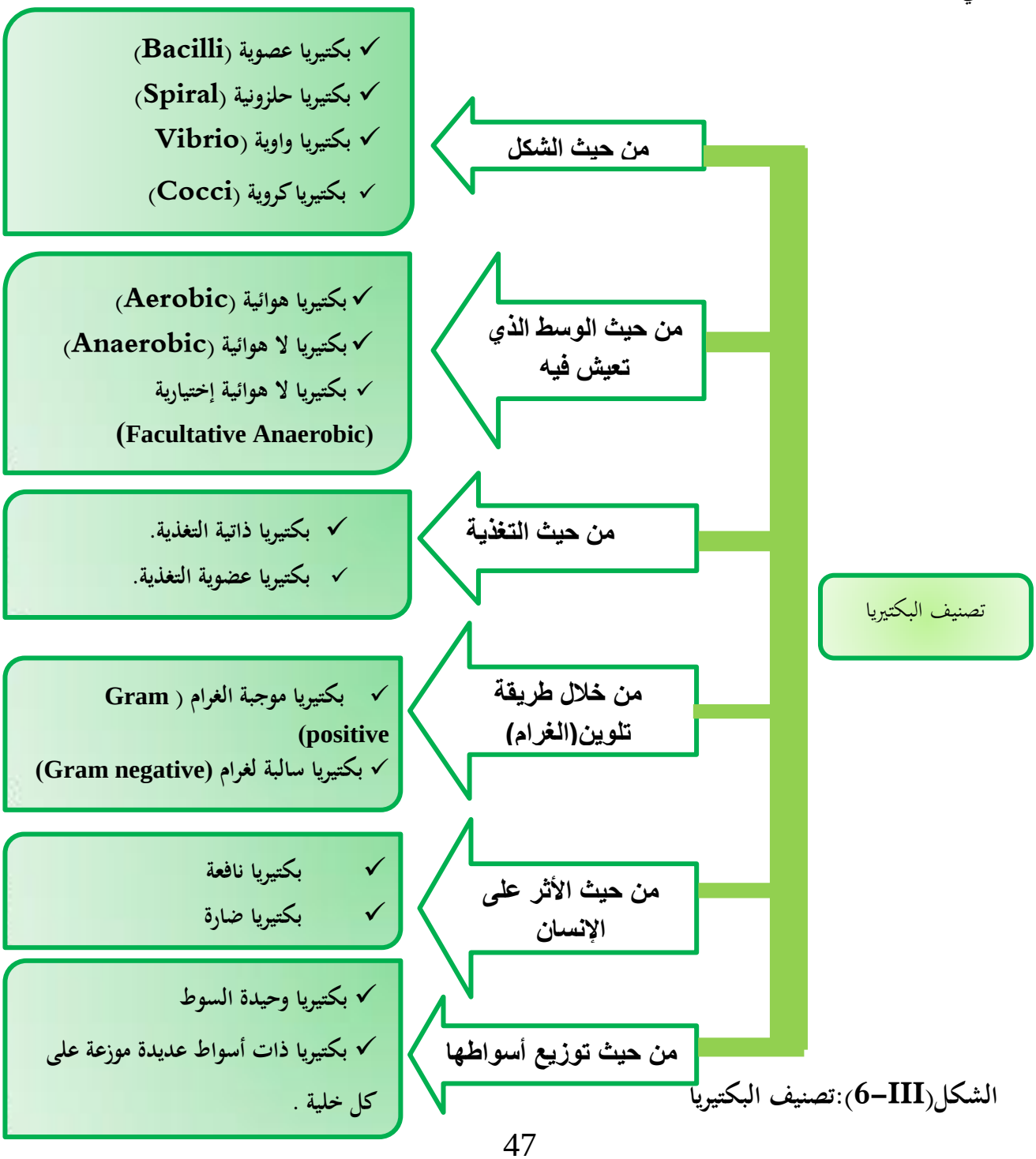
III. 3–7 خصائصها:

- كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى.
- البكتَيريا كائنات دقيقة الحجم يَتراوح حجمها بين2–3 ميكرون.
- تحتوي الخلية البكتيرية على غلاف قاس، متماسك، متمم للبكتيريا، وهو المسؤول على حماية شكل الخلية من الاضطرابات الناتجة عن تأثَير الضغط الخارجي كالأجسام الغريبة، وهناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول غلاف يدعى (Capsule)
- درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتَيريا تَتراوح بُين 37– 45 بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة [18].

III. 3-8 تصنيف البكتيريا:

تختلف البكتيريا في قدرتها على استعمال مصادر الطاقة وإنتاج الغازات CO_2 الناتج من الغلوكوز، وفي إفراز السموم والإنزيمات، وأيضا تختلف من حيث البنية وشكل الخلايا والقدرة الإمراضية، وكذلك حساسيتها للمضادات الحيوية. هذه الاختلافات أظهرت طرقا حيوية متعدد لتميز البكتيريا.

إن الهدف الأساسي من تصنيفها هو التعرف على أنواعها المختلف وتشخيصها ووضع أسمائها في مجموعات لدراسة كل من العلاقة فيما بينها وطبيعتها الوراثية ،حيث صنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات وهي [19]:



الشكل(III-6):تصنيف البكتيريا

III. 4 المقاومة البكتيرية:

III. 4-1 تعريف المقاومة البكتيرية:

ظهرت المقاومة البكتيرية مباشرة بعد بداية استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية، وقد أصبحت أمرا مستعصيا على الأطباء لأنها في تطور مستمر، ونقول عن البكتيريا أنها مقاومة إذا كانت تستطيع النمو والتكاثر في وجود نسبة من المضاد الحيوي، تفوق النسبة المعتادة إن أكثر الأشياء التي تجذب الانتباه إلى عمل البكتَيريا هي مقاومتها نظرا لكونها المسؤولة عن نسبة الوفيات الناتجة عن الأمراض الوبائية إضافة إلى الخسائر المادية للنظام الصحي للبلدان ذلك لأن الأمراض الوبائية تشكل أكبر مشكل صحي على وجه الأرض إلى الآن[20]، ويمكن تقسيم المقاومة إلى نوعين:

✓ **المقاومة الطبيعية :**

هي مقاومة موجودة طبيعيا عند كل عنصر من نفس النوع أو نفس الجنس البكتَيري، إذن فهي ميزة جينية عادية للنوع [21]، أو هي المقاومة التي تبديها الميكروبات بشكل طبيعي لأي مضاد حيوي مثل احتواء جدار الخلوي للكولي باسيل (*Collibacille*) على غشاء غَير نفوذ للبنسيلُين G وV يعني أنها مقاومة لهذين المضادين الحيويين [22]،[23].

✓ **المقاومة المكتسبة :**

من وجهة نظر علم الأحياء الدقيقة فإن الميكروب يكون مقاوما عندما يمكنه أن ينمو في وجود تركيز من المضاد الحيوي أعلى من الَّتركيز المعتاد أن يثبط، إن اكتساب الميكروب للمقاومة يتم بطريقتُين:

طفرة من الصبغيات: وهي نادرة وغَير متعلقة بالمضاد الحيوي.

اكتساب مورثة قادرة على تركيب إنزيمات موافق لعمل المضاد الحيوي، المقاومة بهذه الطريقة تكون متعددة إلى عدة انواع من المضادات كما أنها تنتقل إلى الأجيال التالية وهذا مع ظهور عدد كبير من البكتَيريا المقاومة[20].

III. 4-2 ميكانيزم المقاومة:

هناك ثالثة ميكانيزمات أساسية هي المسؤولة عن المقاومة البكتَيرية مقابل ثلاثة ميكانيزمات خاصة بعمل المضاد الحيوي على الخلية البكتيرية، فلكي يكون المضاد الحيوي فعالا على الميكروب يجب أن يستوفي مجموعة من الشروط:

- النفاذ أو اختراق الخلية.
- التثبت على الهدف لأجل إحداث اضطراب أو تعديل عليه.
- يجب أن لا يخضع إلى أي تحولات تؤدي ألى فعاليته في حالة تماسكه بالخلية[24].

III. 5 السلالات البكتيرية المدروسة:

III. 5-1- *Escherichia coli*:

تنتمي لعائلة (*Enterobacteriaceae*)، عصوية الشكل سالبة الغرام (G^-)عادة ما تكون متحركة بأهداب محيطة ومنتجة للغازات أثناء تخميرها للسكر، سهلة الزرع في درجة حرارة تتراوح ما بين 30 -40 C° والدرجة المثلى 37C° [25].تسبب أمراض عديدة من بينها: أمراض الجهاز البولي، الإسهال الطفيلي، التهاب السحايا وتسمم الدم.

المملكة	Bacteria
التصنيف	*Proteobacteri*
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Escherichiai*
الصنف	*Escherichia Coli*

الشكل(III-7):تمثل بكتيريا *Escherichia coli* [26]،[27]

III. 5-2- *Staphylococcus aureus* :

هي بكتَيريا لاهوائية اختيارية، موجبة الغرام تتواجد لدى الإنسان، تكون كروية الشكل، كما أنها عديمة الحركة وتكون على شكل عناقيد، وتسبب تسمم الغذاء، التهابات جلدية خطَيرة، التهابات الرئتُين، أمراض السحايا وتسمم الدم [28].

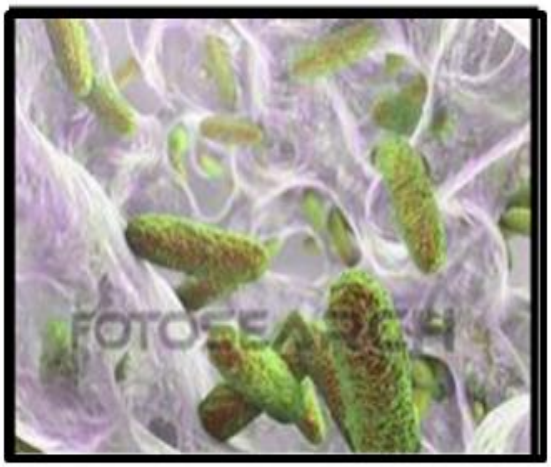
Bacteria	المملكة
Firmicutes	التصنيف
Cocci	القسم
Acillales	الرتبة
Staphylococcacea	العائلة
Staphylococcus	النوع
Staphylococcus aureus	الصنف

الشكل(**III–8**): تمثل بكتيريا ***Staphylococcus aureus***

III. 3-Klebsiella pneumoniae:

هي بكتيريَا عصوية سالبة الغرام (G^-) غير متحركة تسبب العديد من الأمراض مثل ذات الرئة والتهاب الجهاز البولي وإنتان البول وغيرها[27].

المملكة	Bacteria
القسم	*Gammaproteobacteria*
الرتبة	*Enterobacteriales*
العائلة	*Enterobacteriaceae*
النوع	*Klebsiella*
الصنف	*Klebsiella pneumonia*

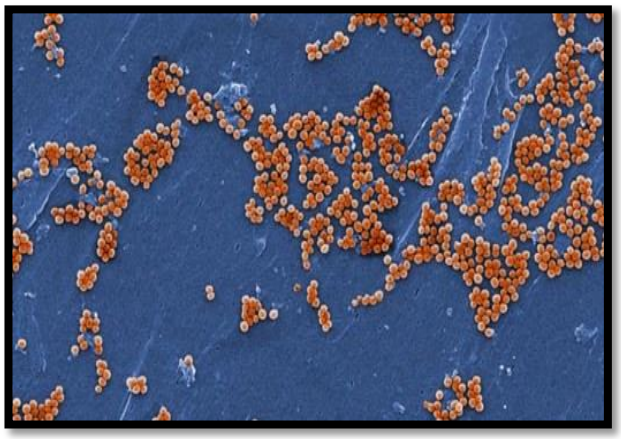


الشكل(III–9): تمثل بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

III. 3-4- Staphylococcus hominis:

هي بكتيريا عنقودية بشرية سالبة الغرام من فصيلة المكورات العقدية [29]، تتواجد عادة على الجلد البشري والحيواني باعتبارها بكتيريا متعايشة غير ضارة ،و المعروف أنها تتسبب بإنتاج كحول ثيولي المركب الذي يساهم في رائحة الجسم [30] وكغيرها من الأنواع البكتيرية الأخرى فهي تسبب العدوى للمرضى الذين لديهم صعف في الجهاز المناعي بسبب العلاج الكيميائي.

المملكة	بكتيريا
الشعبة	متينات الجدار
الطائف	البكتيريا العصوية
الرتبة	العصيات
الفصيلة	المكورات العنقدية
النوع	عنقودية بشرية



الشكل(III–10): تمثل البكتيريا–*Staphylococcus hominis*

III. 6-مضادات الحيوية:

III. 6 -1 تعريف المضادات الحيوية:

وهي عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تتكون نتيجة للتفاعلات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة، والتي تكون ذات فعالية انتقائية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة ،فهي تستطيع إيقاف وتثبيط نموها وتكاثرها وتسمى البيكتيريوستاتيك.

وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية لعلاج الكثير من الأمراض الميكروبية [31]،[32]،[33].

III. 6- 2 أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية إلى قسمين:

- **مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية:** يمنع تكاثرها وهو ما يساعد على القضاء عليها.
- **مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية** :إما عن طريق التأثير على جدار خليتها، أو التسبب في انتفاخ خليتها وانفجارها، أو حتى بمنع تكوين البروتين داخل الخلية [31].

III. 6-3 طرق تأثير المضادات الحيوية:

III. 6-3-1 مضادات تعمل على نسخ ADN:

من بين الأسباب التي تسببها المضادات الحيوية اضطراب عمل ADN مما يمنع الخلية من الانقسام وتكوين الإنزيمات الخاصة بذلك [34].

III. 6-3-2 مضادات تعمل على تخريب الغشاء السيتو بلازمي:

بعض المضادات الحيوية تؤثر على هندسة Apidoprotine لهذا الغشاء وتحللها مما يؤدي إلى فقد السيتوبلازم الكروموزومي [34].

III. 6-3-3 العمل على تخريب الغشاء الداخلي للبكتيريا:

المضاد الحيوي له خواص سطحية التي تمكنه من تخريب عمل نفاذية الغشاء الداخلي، ويسمح بطرد المواد السائل خارج البكتيريا وهذا ما يدمرها[35].

III. 6-3-4 العمل على تخريب الغشاء الخارجي للبكتيريا:

المضاد الحيوي يوقف تركيب الجدار بتثبيط transpeptidase هذا ما يمنع تركيب peptidoglycane الذي يوقف نموها وعملها[35].

III. 7 طرق التعرف على الحساسية ومقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي:

III. 7 – 1 خواص الجذمة البكتيرية:

تعتبر الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي على حسب تركيزه.

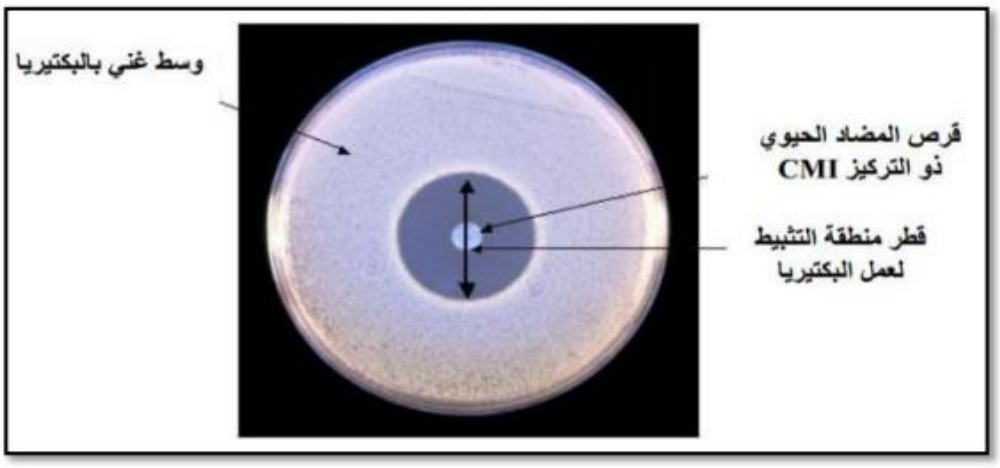
III. 7 – 2 كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي:

وهي الأكثر استعمالا في المستشفيات لتشخيص الأمراض المعدية، ويكون الوسط المستعمل صلب من الجلوز وأهم وسط جيلوزي هو وسط *Hilton Mullre*، نسبة للباحث الذي حضره عام 1941، والهدف من هذه الطريقة التحليلية هو معرفة حساسة البكتيريا للمضاد الحيوي، ويتم التحليل بإتباع الخطوات التالية[3]:

بعد إذابة معقمة للوسط الجيلوزي، يسكب بكميات محددة في علب بتري، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزلوج، ثم يوضع في علب بتري المحضرة مسبقا، تدخل العلب للحاضنه للتجفيف، بعدها توضع أقراص الاختبار معقمة ومشبعة بتراكيز مختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته، ثم تعاد العلب للحاضنه تحت درجة حرارة °37م لمدة 18-24 ساعة[37].

ولمعرفة مدى حساسية البكتيريا وتأثير المضاد الحيوي ،نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا .وكنتيجة لهذا الإختبار يمكن أن نحدد درجة حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي ويمكن أن نقول:

- ✓ البكتيريا مقاومة (غير حساسة)للمضاد الحيوي إذا كان القطر أقل من 8ملم .
- ✓ البكتيريا متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي إذا كان القطر مابين14و19ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة للمضاد الحيوي إذا كان القطر مابين 15 و20ملم.
- ✓ البكتيريا حساسة جدا للمضاد الحيوي إذا كان القطر أكبر من 20 ملم .



الشكل(III–11):قطر منطقة تثبيط البكتيريا

1/ المراجع باللغة العربية:

[1] عمران أمال، (2013) ،دور فيتامين C;E والمستخلص البيتانول لنباتي *Rhantherium suavulens* و*Chrysanthemim fontanes* في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproate لدى الفئران الحوامل دراس In vitro وIn vivo رسالة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه العلوم والبيولوجيا وفيسيولوجيا خلية الحيوان، جامعة قسنطينة، ص 15.

[2]زيدان محمد ،.2018،دراسة الفعالية المضادة للاكسدة والبكتيريا لمستخلصات الرمان *punica granatum L*،رسالة محضرة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم،جامعة قاصدي مرباح ورقلة .

[3] فرحات أية، هزلة زينب،(2017) ،دراسة بيولوجيا وفيتوكيميائي لنبات الخبيز *Malba Sylvestris L*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعية والحياة، جامعة الوادي.

[4] بن ساسي ش،(2018)، تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة، أطروحة دكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص :162.

[5] العابد إبراهيم،(2009) ، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Traganumnudatum*، مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجستير، تخصص كيمياء عضوية تطبيقية جامعة قاصدي مرباح.

[6] الأحماي بشيرة، 2017، دراسة الفعالية البيولوجية لمستخلصات ثمار نبات القناوية *Abelmoschus esculentus*، مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، تخصص كيمياء عضوية تحليلية، جامعة حمه لخضر، الوادي.

[9] بو بلوطة ح،(2009) ، النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلص الميثانولي لنبتتي *Matricaria Bupuscens* و*Centaurea Incana* على السمية الكبدية، مذكرة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة ص 125.

[10] الصديق قمولي، 2011- دراسة إلكتروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلي، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص23-24.

[11]تامة أ، بن عمارة،2017،دراسة بيولوجية وفيتو كيميائية لنبات الحسك *Tribulus terrestris L*، مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة حمه لحضر الوادي، ص27.

[12] خضرة عزري، 2013، دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص57-58.

[13] بابا عربي إلياس، (2009)،دراسة بعض الأملاح الفوسفونيوم ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتيريا عند مزجها مع البنسيلين Vمذكرة لنيل شهادة الماجستير ،تخصص كيمياء عضوية وتطبيقية، جامعة قاصدي مرباح.

[14] الدكتور وجدي عبد المنعم مشهور والدكتور مجدي إسماعيل مصطفى، 2007، الميكروبيولوجيا الزراعية كلية الزراعة جامعة عين الشمس.

[15] مجلة العلوم، (1999) تحديات المقاومة البكتيرية، ص15 العدد 10أكتوبر/تشرين الأول.

[17]هباز سليمة ،2019، استخلاص ودراسة الفعالية المضادة للاكسدة للزيت الاساسي لنبات ام الدريقة (Ammodaucus leucotrchus)، مذكرة لنيل شهادة الماستر ،تخصص هندسة كيميائية، جامعة جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي .

[19] د. جون بوستجيت، ترجمة دكتور شعلان، 1985، الميكروبات والإنسان، عالم المعرف والكويت،.

[27] حواء إ، (2013)، دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص 61.

[28] عباس عبود الديلمي، (2011)، تأثير مستخلص نبات المسواك في بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من مرض التهاب اللثة، كلية علوم التربية جامعة ديالي الرازي، ، ص216-215.

[29] المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCPI)البكتيريا العنقدية، تاريخ الولوج 20 أب 2016، نسخة محفوظة 11مارس2020 على الموقع *واي باك مشين*.

[30] اكتشاف المسار الجيني البكتيري المشارك في إنتاج رائحة الجسم، النسخة المحفوظة، 15 نوفمبر2017 على موقع *واي ياك مشين*.

[34] د. عادل نوفل، جامعة دمشق، 1981،كتاب الكيمياء الصيدلانية (الجزء النظري).

[35]تامة نور الدين، (2007)، التحضير والدراسة التفاعلية الكيميائية لمشتقات الإلكيليدين بيتونوليد وفعاليته البيولوجية، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص :40-39 .

[36] العابد إ، (2009)، دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران *Tragamu nidatum*، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة.

2/ المراجع باللغة الأجنبية:

[7]Flavier, A., 2003- Le Stress oxidant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique L'actualité chimique .p:108-115.

[8] God Swill, N. A.,Kayode, O.O., 2010- Comparative Antioxidant phytochemical and proximate Analysis of Aqueous and Methanolic Extracts of Vemonia amygdalina and Talinum triangulare, Pakistan Joumal of Nutrition. 9(3):259-264.

[12] https weziwezi.com 21/04/2019.

[16]Silvia Michanie ،2003 ،Escherichia coli La bacteria que disparó el HACCP en la ind ustria de la carne ،Énfasis Alimentos Año IX ،Nº3 Julio-Agosto.

[18] S. Robert-Dernuet., Antibiotique et antibiogrammes. Décarie Vigot 1995: p. 322 .

[20]Seignalet,J.,(2005) Alimentation et Spondylarthrite.Polyarthrite rumatoide et bactéries intestinales

[21] . D. Yala, A.S. Merad, D. Mohamedi, M.N. Ouar Korich. Resistance bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001)n°91.

[22]Berthelot,M.C.R.Hebd.SeancesAcad.Sci.1860,50,805.

[23]Böttger, R.C.LiebigsAnn.Chem.1859,109,351.

[24]Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N. Resistance. bactérienne aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb (2001).

[25]Ana Carolina De MeloSantos, AnaCarolina. Matos Zidko, A Virulence De Escherichia Coli Pathogenic Extra-Intestinal(Expect) AmResaca A Saxon Do Hospedeiro,Mundodasaude, SaoPaule:2009:33(4)392-400.

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

[31] Corvaglia A.R.. Role résidus d'antibiotique dans environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas ،Acinetobacter et Legionella. Thése de doctorat l'Université deGenéve(2006).

[32] Solensky R. ‹Earl HS. ‹Gruchalla RS... Lack of penicillin resensitization in patients with a history of penicillin allergy after receiving repeated.penicillin courses. Arch Intern Med (2002)

.[33]Zhang J. Synthéses of Phophinic Acide and Aza β and -lactams as Potential Inhibitors of D ‹D-Peptidqses and β-lactamases. These of doctor at University Catholique de Louvain (2003).

[37]Poncea, G., Fritzr Del Vallc.,et Rouras, I.,(2003) Antimicrobial activity of essentialoils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel -Wissenxchuft and Technologie.

الجزء العملي

الفصل الرابع

الطرق والوسـائل

IV. 1 الدراسة الكيميائية:

تم العمل في المخبر 03 بكلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي.

IV. 1 – 1 المادة النباتية المدروسة:

نستعمل في هذه الدراسة مسحوق نبتة ابسيلا *Ibicella.Lutea* ،التي تم قطفها من جامعة الشهيد حمه لخضر المتواجد في دائرة تكسبت ولاية الوادي في 24نوفمبر 2021،و التي صنفت من طرف الاستاذ المشرف.

IV. 1 – 2 الطرق المستعملة في تحضير العينة النباتية:

التجفيف:

بعد عملية القطف يتم تنظيف العينة (الاوراق)،وذلك بتخليص النبات من الغبار وعوالق التربة والحشرات ثم يوزع على قطعة قماش بشكل طبقة رقيقة لتوفير التهوية وتسهيل عملية التقليب ،ثم قمنا بتجفيف النبات في ظل بعيد عن اشعة الشمس المباشرة و الرطوبة .لمدة حوالي 3 اسابيع حتى التأكد من ان الاوراق قد جفت .

الطحن:

نقوم بطحن النبتة بكميات قليلة في الهاون الى ان تصبح مسحوق ويحتفظ بها في علب محكمة الاغلاق بعيد عن الرطوبة والحرارة والاحتفاظ بها إلى حين استعمالها .

الشكل(IV–1): أوراق نبات *Ibicella.Lutea* قبل و بعد الطحن

IV. 1–3 الادوات والاجهزة والمحاليل المستعملة :

IV. 1–3–1 تحضير المستخلصات النباتية :

بهدف تحضير المستخلصات النباتية استعملت الادوات والمحاليل وكذا الاجهزة المدونة في الجدول.

الجدول (IV-1) :الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند الإستخلاص .

الأدوات	المحاليل	الأجهزة
-أوراق المادة النباتية – بيشر- ورق ترشيح – قمع – مخلاط مغناطيسي – ملعقة معدنية.	- إيثانول - ماء مقطر	- ميزان حساس - جهاز التبخير الدوراني Rotvapeur

IV. 1-3-2 الدراسة الفيتو كيميائية لمركبات الايض الثانوي في النبات:

بهدف معرفة اهم مركبات الأيض الثانوي التي يحتويها النبات إستعملنا الأدوات ،المحاليل والأجهزة المبينة في الجدول

الجدول(IV-2):أدوات و المحاليل و الأجهزة المستعملة عند الكشف عن نواتج الأيض الثانوي.

الأدوات	المحاليل	الأجهزة
مسحوق المادة النباتية-بيشرات-ورق ترشيح-قمع-ماصة-انابيب اختبار- قارورات معقمة عاتمة اللون.	كلوروفورم-ماء مقطر-ايثانول- هيدروكسيد الامنيوم($NH_4 OH$)- كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCI_3$)- حمض الكبريت($H_2 SO_4$)- HCI المخفف(5%) برمنغنات البوتاسيوم(1%) حمض الخل ($CH_3 COOH$) ماء اليود.	الحاضنة-ميزان حساس .

IV. 1-3-3 التقدير الكمي للمركبات الفينولية بالطرق اللونية:

خلال التقدير الكمي لكل من عديدات الفينول والفلافونيدات قمنا بإستخدام المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة التالية:

الجدول(IV-3) :الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند التقدير الكمي للمركبات الفينولية

التقدير الكمي	المحاليل و المواد	الادوات	الاجهزة
للفينولات	-Folin(10) -كربونات الصوديوم -($Na_2 CO_3$) -حمض الغاليك	-المستخلصات المائية والكحولية -انابيب اختبار -بيشرات -ملعقة معدنية -ورق المنيوم	-ميزان حساس -جهاز مطيافية الاشعة فوق البنفسجية و المرئية .UV-Visibel
للفلافونيدات	-ايثانول -ماء مقطر -كرستين		

IV. 1-3-4 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

بالنسبة لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة إستعملنا المحاليل الكيميائية والأدوات والأجهزة المدرجة في الجدول أدناه:

الجدول(IV-4):الأدوات والمحاليل والأجهزة المستعملة عند تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

	المحاليل	الأدوات	الأجهزة
إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT	-إيثانول – ماء مقطر – حمض الكبريت $(H_2SO_4)(0.6M)$ – فوسفات الصوديوم $(NaPO_4)(28mm)$ – مولبيدات الأمونيوم $(NH_4)_2MoO_4$ (4mm) – حمض الأسكوربيك	-المستخلصات المائية والكحولية – أنابيب إختبار – بيشرات – ورق ألمونيوم – ملعقة معدنية	-ميزان حساس – جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV- (Visible)
إختبار تثبيط الجذر الحر DPPHالحر	-إيثانول – ماء مقطر – محلول DPPH		

IV. 1-3-5 تقدير النشاطية المضادة للبكتيريا:

بهدف تقدير النشاطية المضادة للأحياء الدقيقة، إستعملنا الأدوات والمحاليل وكذا الأجهزة المبينة في الجدول.

الجدول(IV-5): الأدوات والمحاليل والأجهزة المستخدمة لتقدير النشاطية المضادة البكتيريا

	الادوات	المحاليل والمواد	الاجهزة
دراسة النشاطية المضادة للاحياء الدقيقة	-بيشر-انابيب-اطباق بتري- ماسح قطني- مسطرة مدرجة –ملقط –حامل انابيب اختبار –اوراق المنيوم –اقراص معقمة – Mieropipette- Pipette pasteur	-المستخلصات النباتية – وسط التنشيط –وسط الزرع –ماء فيزيولوجي معقم – السلالات البكتيرية المختبرة – DMSO	-موقد بنزان –حاضنة –

IV. 1-4 الطرق المتبعة :

IV. 1-4-1 عملية الإستخلاص:

هو عبارة عن فصل المواد الطبيعية أو المواد المركبة من المادة الخام بإستعمال المذيبات العضوية ،إذا كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطبق عليها إستخلاص (سائل – سائل) اما اذا كانت المادة صلبة فنطبق عليها استخلاص (صلب – سائل) [1].

✓ **طريقة الاستخلاص المتبعة :**

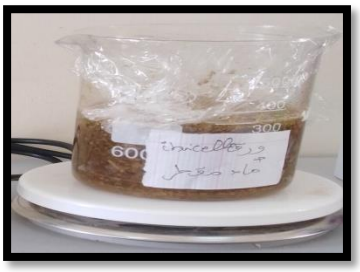
– الاستخلاص بواسطة الايثانول :

نزن20 غ من العينة النباتية الجافة(أوراق نبات ابسيلا) ثم تنقع في حجم قدره250مل من الإيثانول لمدة48سا ، بعدها نقوم بترشيحها ونجمع الرشاحة ويبخر المذيب (الإيثانول)بجهاز التبخير الدوراني ،حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك ونتركه في الحاضنة حتى يجف.

الشكل (IV-2):نقع اوراق نبات *Ibicella.lutea* في الإيثانول

– الإستخلاص بواسطة الماء :

نزن20 غ من العينة النباتية الجافة ثم تنقع في حجم قدره 250 مل من الماء لمدة48سا ،بعدها نقوم بترشيحها ونجمع الرشاحة ويبخر المذيب (الماء)بجهاز التبخير الدوراني ،حتى نحصل على مركب ذو قوام سميك ونتركه في الحاضنة حتى يجف.



الشكل (IV-3):نقع اوراق نبات *Ibiceia.lutea* في الماء .

- خصائص المذيب المستعمل:

الجدول(V-6):خصائص المذيب المستعمل.

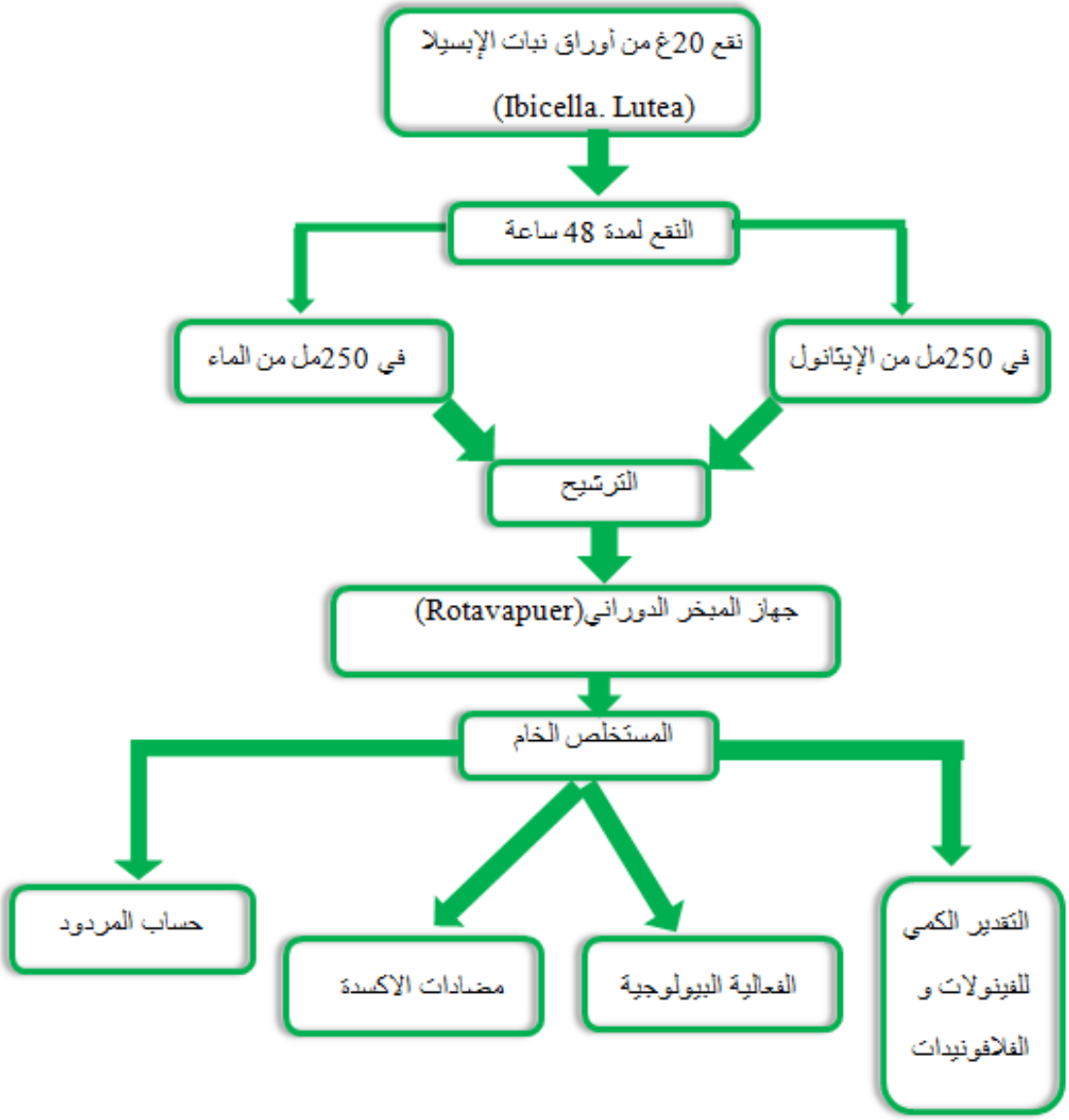
المذيب المستعمل	الايثانول($C_2 H_6 O$)
الشركة المصنعة	VWR CHEMICALS
درجة الغليان م°	78.4
درجة النقاوة(%)	96
الكتلة المولية(غ/مول)	46.7
الكثافة	0.789

IV. 1-4-2 عملية الترشيح:

بعد عملية النقع للعينة النباتية للمدة المذكورة سابقا في كل المذيبات ، نقوم بًترشيح النقيع (عينة نباتية +مذيب) حتى نتحصل على المستخلصات النباتية في الحالة السائلة. كما هو موضح في الوثيقة وبعد ذلك نأخذ المستخلص ونقوم بعملية تبخَير المذيبات بجهاز المبخر الدوار نتحصل على المستخلصات النباتية الخام.

الشكل(IV-4): توضح المستخلصات النباتية بعد عملية الترشيح

IV. 1-5 مخطط الاستخلاص:



الشكل (IV– 5): يوضح مخطط الاستخلاص

IV. 1-6 المسح الفيتو كيميائي:

هي عبارة عن تقنية تدرس عدة تفاعلات فزيوكيميائية تسمح بالتعرف علي المركبات الكيميائية الفعالة الموجودة في المادة النباتية. و يتم الكشف عن هذه الاخيرة عن طريق تشكل الراسب أو تغير لون الوسط.....

بهدف الكشف عن بعض هاته المركبات المتواجدة في اوراق نبات ابسيلا قمنا بدراسة كيميائية من خلال مجموعة من التفاعلات لهذه المركبات الكيميائية: القلويدات، متعدد الفينولات، الفلافونويدات، الانثوسيانات، التنينات، الصابونيات، ، التربينات، الزيوت الطيارة ...

IV. 1-6-1 الكشف عن القلويدات:

نقوم بوزن 100 ملغ من المسحوق النباتي الجاف نضيف اليه 5 مل من الايثانول ثم نقوم بالترشيح ،نأخذ من الراشح المتحصل عليه 2مل ونضيف إليه 5 مل من HCl(10%) .نضيف إليه قطرات من كاشف ماير فنلاحظ ظهور لون أبيض مخفف دليل على وجود القلويدات[2]، [3] .

IV. 1 -6-2 الكشف عن الفلافونيدات :

نقوم بوزن 5 غ من المسحوق النباتي الجاف ،ينقع في50 مل من HCl المخفف (5%) لمدة 24 ساعة ثم نرشح الراشح المتحصل عليه نضيف اليه كمية من محلول NH_4 OH حتى الحصول على وسط قاعدي حيث نلاحظ ظهور اللون الاصفر الباهت دليل على وجود الفلافونيدات[4].

IV. 1-6-3 الكشف عن التربينات :

تم أخذ 2 غ من المسحوق الجاف نضعها في 10مل من الكلوروفورم، $CHCl_3$ ،بعد ساعة نرشح ثم نضيف إلى الرشاحة 0.2 مل من H_2SO_4 يتحول لون المحلول الى لون احمر اجوري وذلك دليل على وجود التربينات[5].

IV. 1-6-4 الكشف عن الصابونيات :

نقوم بوزن 2 غ من المسحوق النباتي الجاف ،يوضع في 80مل من الماء المقطر ويسخن لمدة 15دقيقة ثم يبرد ،ويوضع الراشح في انبوب اختبار ويرج جيدا لمدة دقيقة ثم يترك لمدة زمنية معينة نلاحظ بعدها ظهور رغوة تبقى لمدة 15دقيقة دليل على وجود الصابونيات [6] .

IV. 1-6-5 الكشف عن التانينات :

نأخد 2 غ من المسحوق الجاف للنبات في بيشر ونضيف إليه 20مل من الإيثانول (50%)ويسخن لمدة 30دقيقة تسخينا لطيفا وبعدها يرشح ،نأخذ الرشاحة في أنبوب ونضيف إليه قطرات من $FeCl_3$نلاحظ ظهور اللون الأخضر الداكن دليل على وجود التاينيات [6].

IV. 1-6-6 الكشف عن الانثوسينات:

نمزج 2.5 غ من النبات الجاف مع 50مل ماء مقطر مغلي لمدة 15دقيقة ونتحصل على مستحلب نقوم بتصفيته ثم نأخذ منه 2مل نمزجه مع 2مل من(HCl)ونضيف قطرات من NH_4 OH إذا ظهر اللون الوردي أو اللون الأحمر المائل للأزرق البنفسجي هذا دليل على وجود الأنثوسينات [7].

IV. 1-6-7 الكشف عن النشاء :

نمزج 2.5غ من المسحوق الجاف مع 15 مل من الماء المقطر ونقوم بغلي المزيج لمدة 1 ساعة نصفي المزيج ونضيف اليه قطرات من ماء اليود ،يظهر لون بنفسجي دليل على وجود النشاء[8].

IV. 1-6-8 الكشف عن الكحول :

تم أخذ 25 ملغ من المستخلص الخام لأوراق نبات ابسيلا (*Ibicella Lutea*)وإذابتها في 2 مل من الماء المقطر في أنبوبة اختبار ثم يضاف إلى المحلول قطرة- قطرة من المحلول المائي لبرمنغنات البوتاسيوم (1%) ونضيف قطرات من حمض الخل (CH_3COOH) مع الرج الشديد للأنبوبة وتغير لون البرمنغنات دليل على وجود الكحولات[9].

IV. 1-7 حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات:

المردودية الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها و يرمز لها بالرمز (Me)على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة و يرمز لها بالرمز(Mv) ويحسب باستخدام العلاقة التالية:

$$R\ \% = (Me / Mv) * 100$$

R % :المردودية الانتاجية المستخلصة ب %.

Me :كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب.

Mv :كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص[10] .

IV. 1-8 التقدير الكمي للمركبات الفينولية و الفلافونيدات لمستخلصات اوراق نبات *Ibicella Letua*:

IV. 1-8-1 التقدير الكمي للمركبات الفينولية:

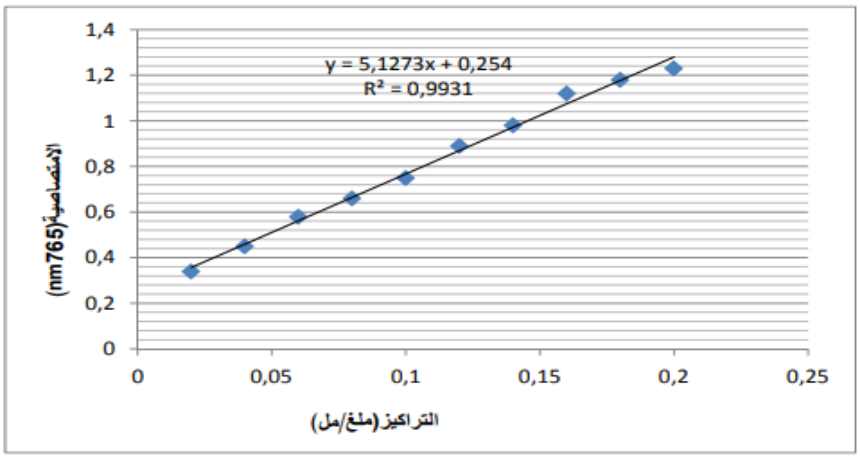
تقدر كمية الفينولات بطريقةRossi singleton باستخدام كاشف الفولين (Réactif de folin ciocalteai) ،حيث ان هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستين($H_3\ PW_{12}\ O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيدك($H_3\ PMO_{12}\ O_{40}$) الذي يرجع الى اكسيد التنغستين(WO_3) والموليبدين(MoO_3)ذات اللون الازرق[11].

ويتم تقدير كميتها بواسطة جهاز (UV-Visible)باستخدام حمض الغاليك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 765 nm .

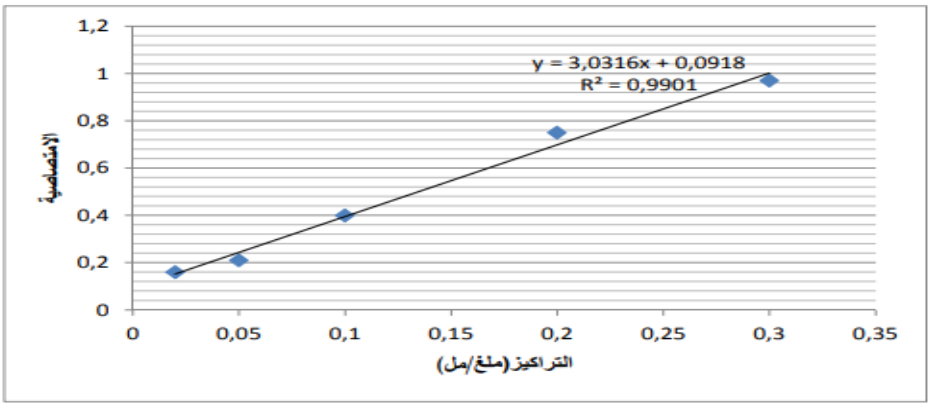
✓ **المنحنى القياسي لحض الغاليك:**

نقوم بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك تراكيزها تتراوح ما بين0.02و0.3 ملغ/مل في أنابيب اختبار، نأخذ1 مل من المحاليل الممدة ونضيف لها 0.5مل من كاشف الفولين(الممدد 10 مرات)، ثم نضيف2 مل من محلول كربونات الصوديوم (Na_2CO_3 7.5%) ،و نضع المحاليل في الظلام لمدة 30 دقيقة.

تتم بعد ذلك قراءة الامتصاصية الضوئية لكل تركيز بجهاز(UV-Visible)عند طول موجي λ_{max}=765nm.



الشكل (IV-6):منحنى العيارية لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص الإيثانولي[5].



الشكل (IV-7):منحنى العيارية لحمض الغاليك لتقدير الفينولات للمستخلص المائي[5].

- **طريقة العمل:**

نقوم بمزج 1 مل من المستخلصات الإيثانولية أو المائية مع 0.5مل من محلول Folin ciocalteu الممدد 10 مرات ثم تحضن الانابيب في الظلام مدة 5 دقائق، بعدها نضيف 2 مل كربونات الصوديوم(% 7.5) وتحضن في الظلام مدة 30 دقيقة فنتحصل على اللون الأزرق، تقاس امتصاصية الناتج عند طول موجي.λ_{max}=765nm.

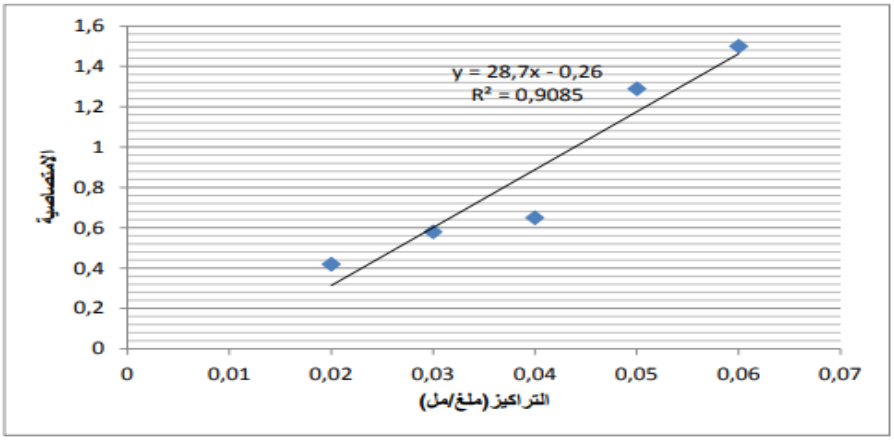
IV. 1-8-2 التقدير الكمي للفلافونيدات:

تم تقدير كمية الفلافونيدات في مختلف المستخلصات باستعمال $AlCl_3$ حيث يشكل هذا الأخير معقدات مع الفلافونيدات ذات لون أصفر، يتم قياس كمية هذه المعقدات لونيا باستعمال جهاز uv- visible عند طول موجي 420 nm[13].

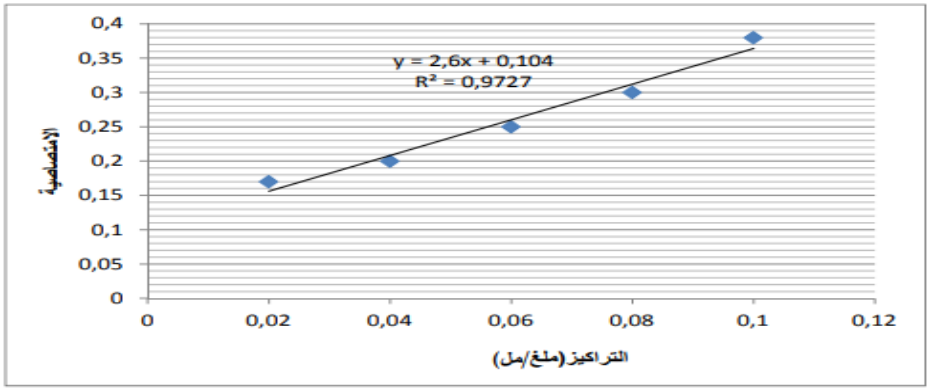
يتم تقدير كمية الفلافونيدات بواسطة (uv- visible) باستعمال الكرستين كمحلول قياسي عند طول موجي 420 nm.

- ✓ **المنحنى القياسي لمحلول الكرستين:**

نقوم بتحضير عدة تراكيز من محلول الكرستين محصورة بين 0.02و0.1 ملغ / مل نأخذ من كل تركيز 1.5 مل و نضيف له 1.5مل من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو التركيز 2 % ثم نتركها لمدة 1 ساعة في الظلام، بعدها نقوم بقراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 420nm = λ_{max} .



الشكل (IV-8):منحنى العيارية للكرستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص الإيثانولي[5].



الشكل (IV-9):منحنى العيارية للكرستين لتقدير الفلافونيدات للمستخلص المائي[12].

- **طريقة العمل:**

نأخذ1.5 مل من المستخلصات الإيثانولية أو المائية و نضيف لها1.5($AlCl_3$) (2%)حيث يحضن المحلول الناتج مدة 1 سا، بعدها نقرا الامتصاصية عند طول موجي λ_{max} = 420nm .

IV. 9-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

لغرض تقدير الفعل الاسر للجزيئات المضادة لتأكسد المستخلص المائي والإيثانولي، حيث قمنا باختبار موليبيدات الفوسفاتCAT و اختبار DPPH،حيث كلا الطريقتين تعتمد على التلوين ونزع التلوين في طول موجي معين.

IV. 1-9-1 إختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT:

تم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلص بإستعمال طريقة الفوسفو موليبيدات (phosphomolyb denum) ، وهي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة غير الإنزيمية ،تعتمد على إرجاع المولبيدات Molyb date (MoO_4^{2-}) إلى Molyb den(Mo) هذه الأخيرة التي تتميز بلون أخضر فاتح[14].

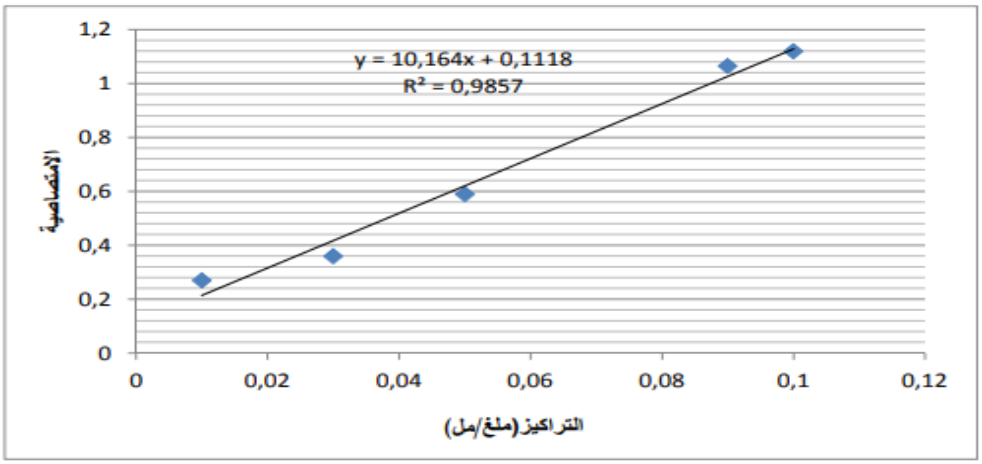
و يتكون الكاشف من:

- مولبيدات الأمونيوم 4mM.
- حمض الكبريت 0.6M.
- فوسفات الصوديوم 28mM.

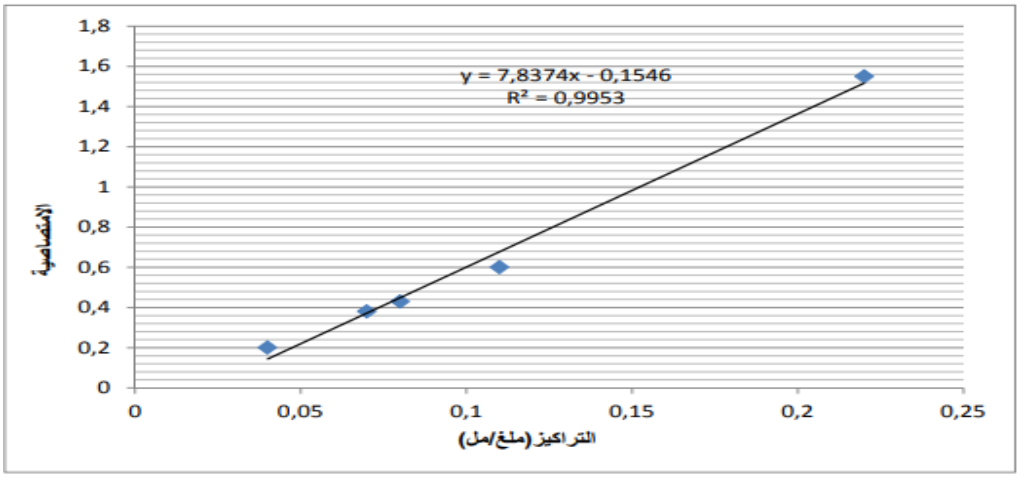
إن إجمالي الفعالية المضادة للأكسدة تقدر كميا بواسطة جهاز uv-visible حيث يستعمل حمض الأسكوربيك كفينول مرجعي عند طول موجي λ_{max} = 695nm.

✓ **المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك:**

نقوم بتحضير محاليل ممدة لحمض الأسكوربيك تراكيزها مابين 0.01و0.25ملغ/مل في أنابيب إختبار ،ناخذ 0.3مل من المحاليل الممددة ونضيف لها 3 مل من الكاشف ونتركه لمدة 1ساعة في حمام مائي 95C° فنتحصل على اللون الأخضر ،نتركها تبرد ثم نقرأ الإمتصاصية عند الطولي الموجي λ_{max} =695 nm.



الشكل(IV–10): منحنى العيارية لحمض الأسكوربيك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص الإيثانولي[5].



الشكل(IV–11):منحنى العيارية لحمض الأسكوربيك لإختبار قدرة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي[5].

- **طريقة العمل** :

نقوم بتحضير تركيز قدره 5ملغ/مل من كل مستخلص ،و نأخذ من كل تركيز 0.3مل في أنابيب ونضيف له 3مل من الكاشف و نتركه لمدة 1ساعة في حمام مائي 95C° فنتحصل على اللون الأخضر و نتركها تبرد ثم نقرا الإمتصاصية تحت طول موجيλ_{max} =695 nm.

IV. 1-9-2 إختيار تثبيط الجذر الحر $DPPH^*$:

إختبار DPPH هو إختبار مضاد للجذور الحرة حسب Blois سنة1958،هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر $DPPH^*$ ، وذلك بالإعتماد على قابلية إعطاء المستخلصات (مضادات الاكسدة) لذرة هيدروجين و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر الحر $DPPH^*$ ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلىDPPH– H ذو اللون الأصفر كما هو موضح في الوثيقة التالية:

وتحسب نسبة التثبيط المئوية وفق العلاقة التالية :

$$I\%=[(A_0-A_S/A_0)]*100$$

$\mathbf{A_0}$:إمتصاصية الشاهد.

$\mathbf{A_S}$: إمتصاصية العينة.

و باستخدام Excel نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز، حيث نحصل على

التركيز المناسب للقضاء على 50 % من الجذور الحرة و الذي يعرف على أنه تركيز المستخلص اللازم لتثبيط (كبح) 50 %من جذر $DPPH^*$ ، و الذي نحسبه من معادلة منحنى تغير نسبة التثبيط(I%)بدلالة تركيز المستخلصات.

✓ تحضير كاشف DPPH:

يتم تحضير محلول DPPH بإذابة 2 ملغ من ثنائي فنيل هيدارزيل في 50 مل من الميثانول فنحصل على محلول بنفسجي داكن.

- **طريقة العمل:**

نحضر تراكيز مختلفة من المستخلص الإيثانولي و المائي حيث نمزج 1.5مل من كل مستخلص

(0.2الى 0.9ملغ /مل) مع1.5مل من محلول DPPH ،نترك المزيج مدة 30 دقيقة في الظلام بعدها نقرا الامتصاصية في طول موجي λ_{max} = 517 nm.

IV. 1-10 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلصات بطريقة الانتشار حول الأقراص:

تمت هذه الدراسة على مستوى مخبر المجد بالوادي إبتداء من يوم (2022/04/24) لمعرفة تأثير المستخلصات تجاه 4 أنواع بكتيرية ممرضة بتطبيق أشهر الطرق وهي طريقة الإنتشار حول الأقراص المشبعة بالمضادات الحيوية على طبق مزروع زرعا متجانس بالبكتيريا في وسط ميلر هنتون، وبعد حضن الاطباق لمدة24سا تقاس اقطار التثبيط حول الاقراص.

IV. 1-10-1 جمع السلالات البكتيرية المستهدفة:

تم الحصول على السلالات البكتيرية الأربعة من مخبر المجد بالوادي ، والبكتيريا المستعملة في هذه الدراسة هي:

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Staphylococcus* hoimins
- ❖ *Staphylococcus aureus*
- ❖ *Klebsiella pneumoniae*

- **طريقة العمل:**

قبل الشروع في هذا العمل يجب تعقيم كل الأدوات في المعقمة والتنظيف الجيد لمكانا العمل بالقرب من موقد بنزن و سنتبع في هذا العمل طريقة الإنتشار كما هي موضحة في الخطوات التالية:

❖ **تحضير التراكيز:**

تم تحضير خمس تراكيز مختلفة لكل مستخلص (40/25/12.5/6.75)ملغ/مل و ذلك بإذابتها في 1مل من Dimethyl Solphoxide(DMSO).

❖ **تحضير وسط الزرع:**

تم تحضير اوساط الزرع بتسخين محلول الجيلوزي (Muller Hinton)في حمام مائي درجة حرارته 85 C°،ثم يسكب بكميات محددة في علب بتري معقمة بسمك موحد حتى النصف تقريبا ،و تبرد على طاولة العمل حتى تتجانس و تتماسك أمام موقد بنزن لخلق وسط معقم.

❖ **تحضير الاقراص:**

بواسطة ألة خاصة نقوم بقص اوراق الترشيح على شكل اقراص بقطر6 ملم ،ثم نضعها في انبوب اختبار لتعقيمها في درجة حرارة عالية، ثم تشبع هذه الاخيرة بالمستخلصات التي تم تحضيرها.

❖ **تحضير المعلق البكتيري:**

بإستخدام عود قطني نأخذ جذمة بكتيرية، ونضعها في 3ml من الماء الفيزيولوجي المعقم، نقوم بالرج جيدا حتى يتجانس المحلول بوجود موقد البنزن لتجنب إتلاف الوسط من البكتيريا ، بعدها نغمس العود القطني المعقم في المعلق البكتيري ثم يمسح به كامل الوسط الجاف لأوساط الزرع المحضرة سابقا على مستوى السطح بشكل خطوط متلاصقة ومنتظمة .

❖ **وضع الاقراص المشبعة:**

توضع الأقراص المشبعة بالمستخلصات داخل علب بتري بواسطة ملقط معقم، أي كل علبة تحتوي على أربعة أقراص مختلفة التركيز مع ترك مسافات مناسبة ،نتركها تجف و بعد مدة قصيرة نقوم بوضعها في الحاضنة لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة 37C° و يتم قلب علب البيتري لكي لا يتلف الوسط نتيجة الماء و تقرأ الأقطار بالمسطرة بوحدةmm.

الفصل الخامس:

النتائج والمناقشة

V. مدخل:

في هذا الفصل سيتم مناقشة النتائج المتحصل عليها من خلال التجارب المنجزة.

V. 1 المردودية لإنتاجية للمستخلصات :

- ✓ مستخلص الماء لأوراق نبات إبسيلا *(Ibicella.Lutea)*
- ✓ مستخلص الإيثانول لأوراق نبات إبسيلا *(Ibicella.Lutea)*

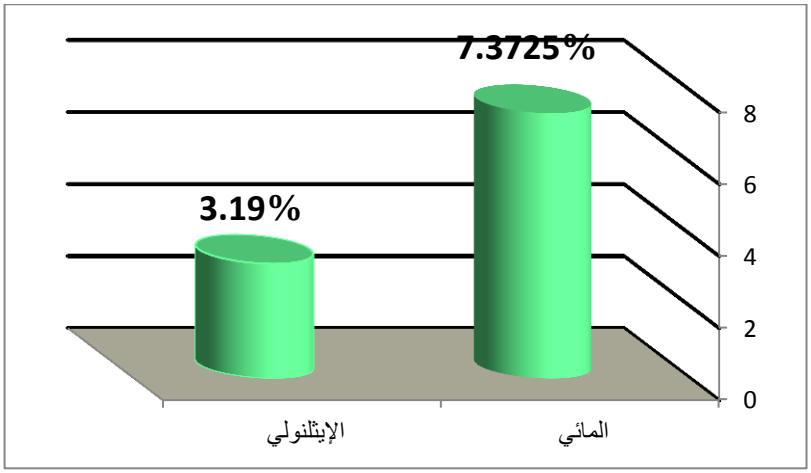
$$R=(M_F/M_I)^*100$$

- M_F: الكتلة النهائية.
- M_I: الكتلة الابتدائية.
- $R\%$: المردودية الإنتاجية للمستخلصات ب %.

تم حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات انطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة، وكتلة المادة النباتية المستخلصة لكل من المستخلص المائي والإيثانولي، وكانت النسب المئوية للمردود موضح في الجدول التالي:

جدول(V-1): قيم مردود الاستخلاص

كتلة العينة	المستخلص	الكتلة المتحصل عليها(g)	المردود%
g20	المائي	1.4745	7.3725
	الإيثانولي	0.658	3.19



الشكل(V-1):المردودية الإنتاجية للمستخلصين(المائي والإيثانولي) لأوراق نبات إبسيلا *(Ibicella.Lutea)*

✓ **تفسير النتائج:**

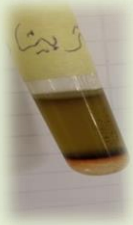
من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول(V-1) والموضحة في الشكل (VI-1)نلاحظ تفاوت في مردودية المستخلص المائي والتي قدرت ب7.3725%مقارنة بالمستخلص الإيثانولي التي قدرت ب% 3.19، وهذا الاختلاف يعود إلى التغير في الذوبانية ونوع وخصائص المذيب المستعمل في الاستخلاص، وكذلك طبيعته من حيث القطبية والطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في النبات.

V. 2 نتائج الكشف الفيتو الكيميائي:

بعد الدراسة الكيميائية لنبات *Ibicella.Lutea* تم الوصول إلى أن هذا النبات يحتوي على العديد من المركبات الأيض الثانوي .

جدول(V-2):نتائج المسح الفيتو كيميائي للمركبات الفعالة لأوراق نبات *Ibicella.Lutea*

مواد الأيض الثانوي	الكاشف المستعمل	الملاحظة	النتائج
الصابونيات	الماء المقطر		++
الفينولات	كلوريد الحديد($FeCl_3$)		++
الفلافونيدات	هيدروكسيد الأمنيوم(NH_4OH)		++
القلويدات	كاشف ماير		+

التربينات	حمض الكبريت (H_2SO_4)		+
التانينات	كلوريد الحديد($FeCl_3$)		+
الأنثوسيانات	هدروكسيد الأمنيوم (NH_4OH)		–
النشاء	ماء اليود		+
الكحول	برمنغنات البوتاسيوم($KMnO_4$)		+

ملاحظة:

(+):وجود المادة الفعالة (++):وجود المادة الفعالة بكثرة

(–) غياب المادة الفعالة

- **النتائج والمناقشة:**

من خلال نتائج المسح الفيتو كيميائي الموضحة في الجدول (V-2)تبين احتواء نبات إبسيلا (*Ibicella.Lutea*) على العديد من المنتجات الفعالة المتمثلة في: الفينولات، الفلافونويدات، التينينات، الصابونيات، النشاء، الكحول، الأنثوسيانات، التربينات، وذلك بتطبيق تفاعلات عديدة بواسطة كواشف نوعية نتج عنها تغيرات لونية أو تشكل رواسب.

- تبينت النتائج في ظهور رغوة كثيفة وثابتة بارتفاع 7 سم، وهذا بعد رج المستخلص المائي لنبات إبسيلا (*Ibicella.Lutea*) مما يدل على وجود الصابونيات بنسبة كبيرة في هذا النبات.
- كما لوحظ ظهور اللون الأصفر في اختبار الفلافونويدات بعد معاملة المحلول المائي بهيدروكسيد الأمونيوم.
- احتواء أوراق نبات إبسيلا (*Ibicella.Lutea*) على الفينولات حيث ظهر اللون الأخضر المسود عند إضافة محلول $FeCl_3$ للمستخلص المائي.
- ظهور الراسب الأحمر الأجوري عند معاملة المحلول المائي بحمض الكبريت دليل على وجود التربينات في النبات .
- عند معاملة كل من المحلول المائي والكحولي بمحلول $FeCl_3$ أدى إلى ظهور اللون الأخضر الداكن ما يثبت وجود التانينات.
- ظهور اللون الأبيض المخفف عند إضافة كاشف ماير هذا ما يدل على وجود القلويدات في النبات.
- عند غلي المحلول المائي لمدة ساعة وبإضافة قطرات من ماء اليود لوحظ ظهور لون بنفسجي مما أكد على تواجد مادة النشاء في أوراق نبات ابسيلا (*Ibicella.Lutea*).
- تشكل مستحلب بعد غلي المحلول المائي 15 دقيقة وباضافة قطرات من هيدروكسيد الامونيوم (NH_4OH) لم يظهر اللون الوردي دليل على عدم وجود الانثوسيانات.
- تغير لون برمنغنات البوتاسيوم ($KMnO_4$) بعد إضافة قطرات من حمض الخل (CH_3COOH) للمستخلص المائي ما يؤكد وجود الكحولات في أوراق هذا النبات.

أظهرت عمليات الكشف عن مركبات الأيض الثانوي أن نبات ابسيلا (*Ibicella.Lutea*) يحتوي على مجموعة هائلة من المنتجات الفعالة مما يدل على أهمية هذا النبات.

V. 3 –التقدير الكمي للفينولات الكلية بواسطة مطيافية الأشعة فوق البنفسجية المرئية:

قدرت الفينولات الكلية بالاعتماد على طريقة كاشف (Folin-Ciocalteu) واستعمل حمض الغاليك كمرجع، حيث قمنا بقياس الكثافة الضوئية في طول موجي 765 nm.

من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ،ومن علاقة المنحنى العياري لحمض الغاليك تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفينولات الكلية لمستخلصات. ويمكن حساب الكمية المكافئة ل1غ من مستخلص ،من خلال المعادلات الموافقة لكل مستخلص.

Q:تقدير كمية $Q=(x/0.6)*1000$

- **نتائج الامتصاصية وكمية الفينولات للمستخلص المائي:**

$Y=3.0316X+0.0918$

جدول(V–3):يوضح نتائج كمية الفينولات للمستخلص المائي.

التركيز(mg/ml)	0.6	0.6	0.6
الإمتصاصية الضوئية	0.382	0.383	**0.387**
كمية الفينولات(mg/g)	159.541	160.091	**162.290**

- **نتائج الامتصاصية و كمية الفينولات للمستخلص الإيثانولي:**

$Y=5.1273X+0.254$

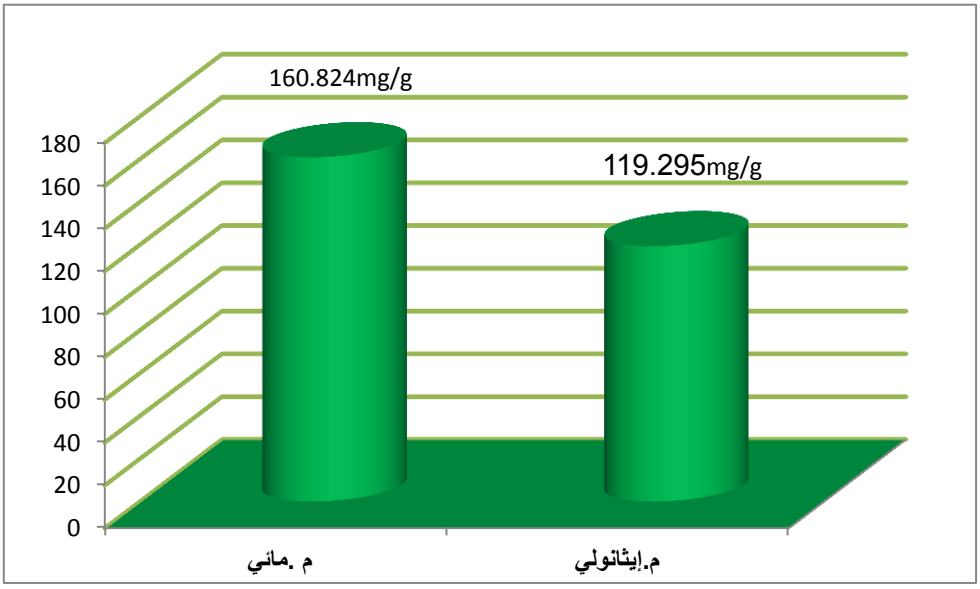
جدول(V–4):يوضح نتائج كمية الفينولات للمستخلص الإيثانولي.

التركيز(mg/ml)	0.6	0.6	0.6
الأمتصاصية الضوئية	0.620	0.621	**0.622**
كميةالفينولات (mg/g)	118.970	119.296	**119.621**

نتائج كمية الفينولات الكلية للمستخلصين:

جدول(V-5): يوضح كمية الفينولات الكلية للمستخلص الكحولي والمائي.

المستخلص	المائي	الإيثانولي
التركيز(mg/ml)	0.6	**0.6**
كمية الفينولات(mg/g)	160.824	**119.295**



الشكل(V-2) :كمية الفينولات في أوراق نبات *Ibicella.Lutea* المكافئة لحمض الغاليك

- **النتائج والمناقشة:**

من خلال النتائج المتحصل عليها المدونة في الجدول(V-5) الذي يمثل التقدير الكمي لعديدات الفينول بالملغ المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام لوزن المستخلص، تبين انه هناك تفاوت في كمية الفينولات الكلية للمستخلصين (المائي و الإيثانولي). حيث سجلت أكبر كمية للفينولات الكلية في المستخلص المائي وقد قدرت قيمتها (mgEAG/g) 160.824، في حين سجلت أقل قيمة للفينولات في المستخلص الإيثانولي وقد قدرت قيمتها (mgEAG/g)119.295. وهذا يدل على أن النبات المدروس يحتوي على كميات متفاوتة من المركبات الفينولية.

من خلال هاته النتائج المتحصل علها تبين ما يلي:

-عديدات الفينول تذوب في المستخلص المائي أكثر من المستخلص الإيثانولي وهذا يعود للاختلاف الذوبانية حسب مجموعة الهيدروكسيل والوزن الجزيئي لكل مذيب وكذلك القطبية وطول السلسة الكربونية وكذا نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص [15].

V. 4 تقدير كمية الفلافونيدات:

قدرت الفلافونيدات بالاعتماد على طريقة كاشف كلوريد الأمنيوم ($AlCl_3$) ، واستعملنا الكرستين كفلافونويد مرجعي، حيث تم قياس الكثافة الضوئية في طول موجي 420 nm.

من نتائج الامتصاصية للمحاليل المحضرة وبحسابات رياضية ومن علاقة المنحنى العياري للكرستين، تم تسجيل النتائج المتعلقة بتقدير الفلافونيدات الكلية للمستخلصات، ويمكن حساب الكمية المكافئة ل1غ من مستخلص ،من خلال المعادلات الموضحة كتالي:

***نتائج الامتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلص المائي:**

Y=2.6X+0.104

جدول(V-6):نتائج كمية الفلافونيدات للمستخلص المائي

التركيز(mg/ml)	0.6	0.6	0.6
الامتصاصة الضوئية	0.255	0.256	**0.258**
كمية الفلافونيدات (mg/g)	96.794	97.435	**98.717**

***نتائج الامتصاصية وكمية الفلافونيدات للمستخلص الإيثانولي:**

Y=28.7X-0.26

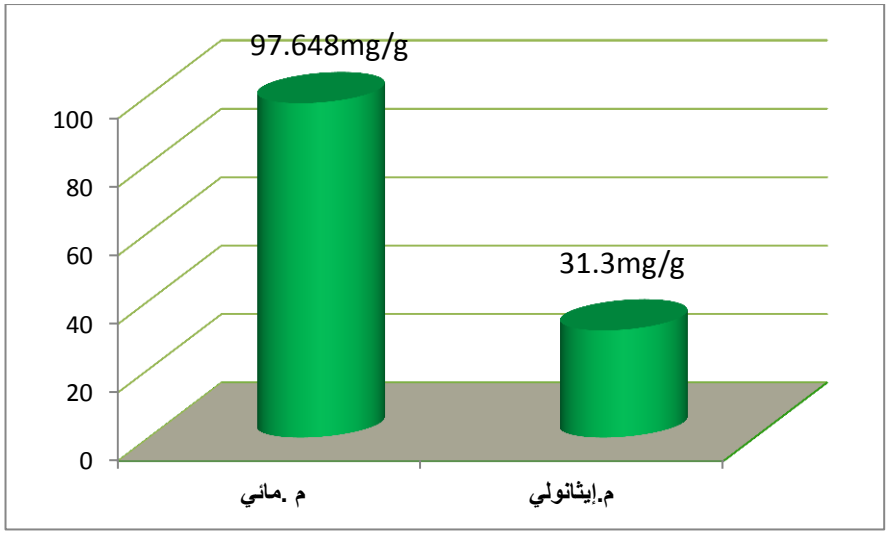
جدول(V-7):يوضح كمية الفلافونيدات للمستخلص الإيثانولي

التركيز(mg/ml)	0.6	0.6	0.6
الامتصاصية الضوئية	0.278	0.279	**0.280**
كميةالفلافونيدات(mg/g)	31.242	31.300	**31.358**

***نتائج كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصين:**

الجدول (V–8): يوضح كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلص المائي والكحولي.

المستخلص	المائي	الإيثانولي
التركيز(mg/ml)	0.6	**0.6**
كمية الفلافونيدات(mg/g)	97.648	**31.300**



الشكل(V–3) :كمية الفلافونيدات في أوراق نبات ***Ibicella Lutea*** المكافئة للكرستين

- **النتائج والمناقشة:**

من خلال النتائج المتحصل عليها و المدونة في الجدول(V–8) الذي يمثل التقدير الكمي للفلافونيدات بالملغ المكافئ للكرستين لكل غرام لوزن المستخلص، تبين أنه هناك تفاوت في كمية الفلافونيدات الكلية للمستخلصين (المائي والإيثانولي)، حيث سجلت أكبر كمية للفلافونيدات الكلية في المستخلص المائي وقد قدرت قيمتها (mgQE/g)97.648، في حين سجلت أقل قيمة للفلافونيدات في المستخلص الإيثانولي وقد قدرت قيمتها (mgQE/g) 31.300، ويعود هذا التباين في النتائج إلى نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص فالتراكيز العالية للمركبات الفينولية تكون نتيجة الذوبانية العالية لها في المذيبات القطبية [16] هذا يعني أن للماء قدرة أكبر على استخلاص المركبات الفينولية المتواجدة في أوراق هذا النبات.

V. 5 اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة(CAT):

تم اختبار النشاطية المضادة للأكسدة الكلية بالاعتماد على طريقة (phospho molybdate) واستعمال حمض الأسكوربيك كمرجع، حيث تم تسجيل النتائج الكلية للمستخلصات من خلال المعادلات الموافقة لكل مستخلص.

- معادلة منحنى الأسكوربيك للمستخلص المائي:

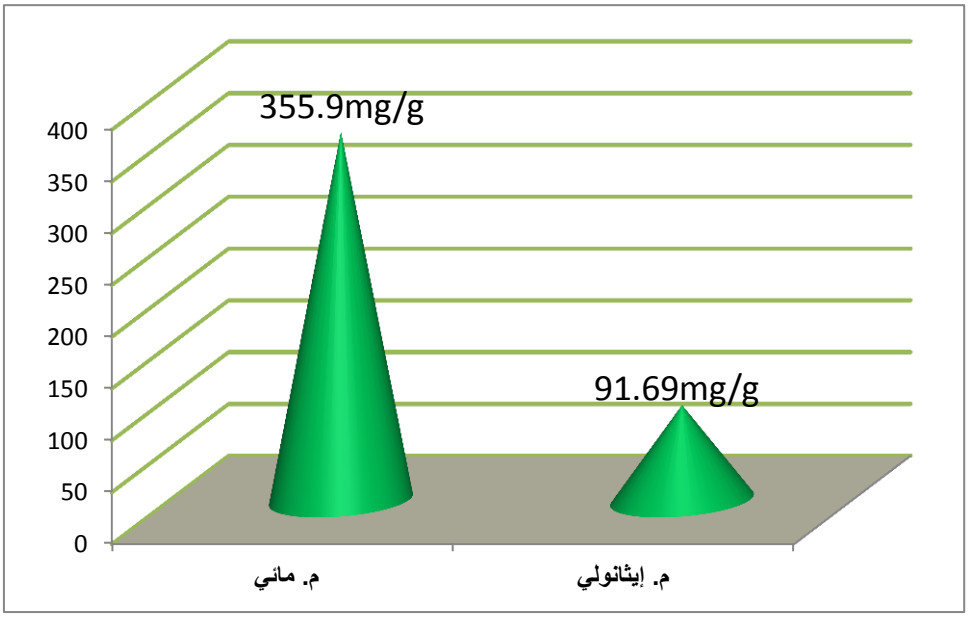
$$Y=7.8374X-0.1546$$

- معادلة منحنى الأسكوربيك للمستخلص الإيثانولي:

$$Y=10.164X+0.1118$$

الجدول(V–9) :نتائج اختبار تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لأوراق نبات ***Ibicella Lutea***

مستخلص اوراق نبات أبسيلا	مستخلص مائي	مستخلص الايثانولي
التركيز mg/ml	0.6	0.6
القدرة الكلية المضادة للأكسدة(mg/g)	355.90	81.69



الشكل (V–4):كمية القدرة الكلية المضادة للأكسدة CAT

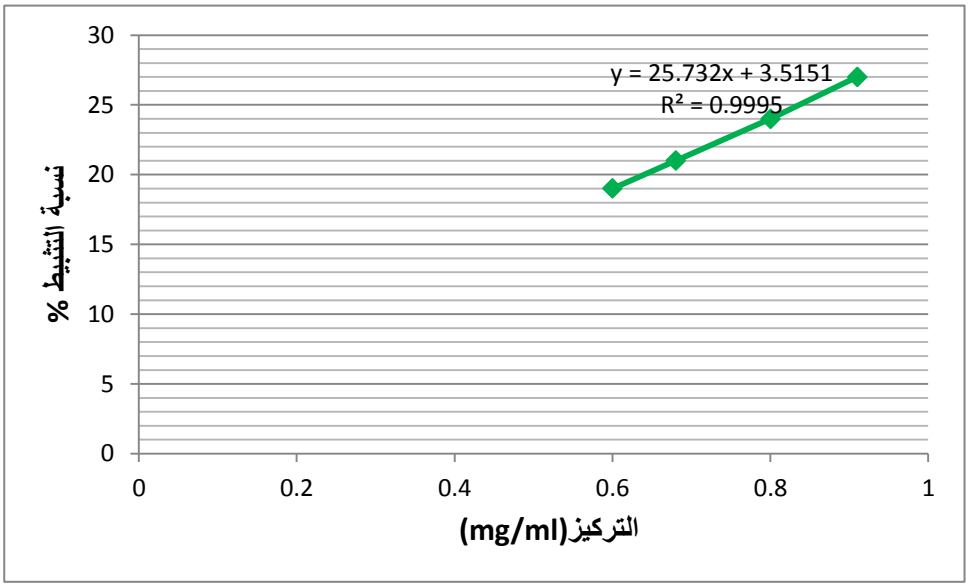
- النتائج والمناقشة:

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (V–4)أن قيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية متفاوتة، حيث سجلت اكبر قيمة عند المستخلص المائي قدرت ب(mg/g)355.9، في حين سجلت أقل قيمة عند المستخلص الإيثانولي ب(mg/g)91.69.

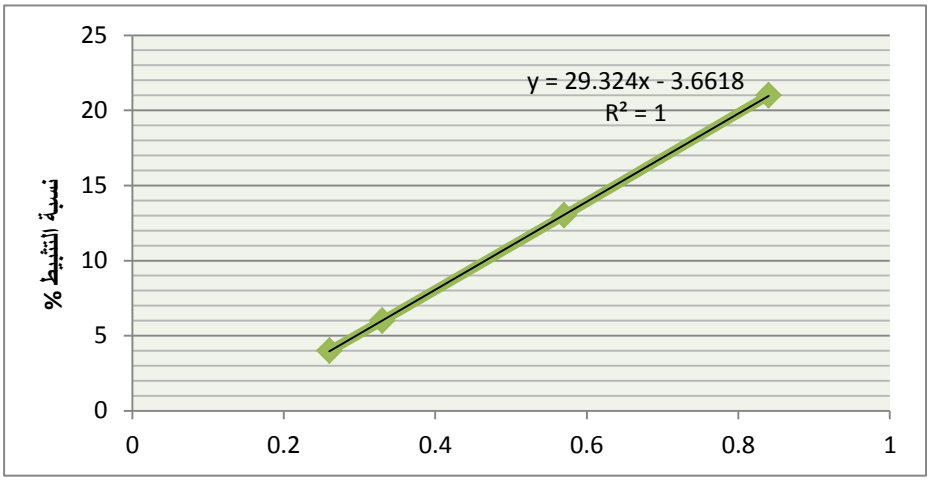
ومن خلال النتائج المتحصل عليها نستنتج أن هناك علاقة طردية بين كمية الفينولات وقيم النشاطية المضادة للأكسدة الكلية.

V. 6 اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH*:

من خلال تطبيق اختبار تثبيط الجذر الحر DPPH* تحصلنا على النتائج الموضحة في الشكلين:



الشكل(V–5):إختبار DPPH* للمستخلص المائي

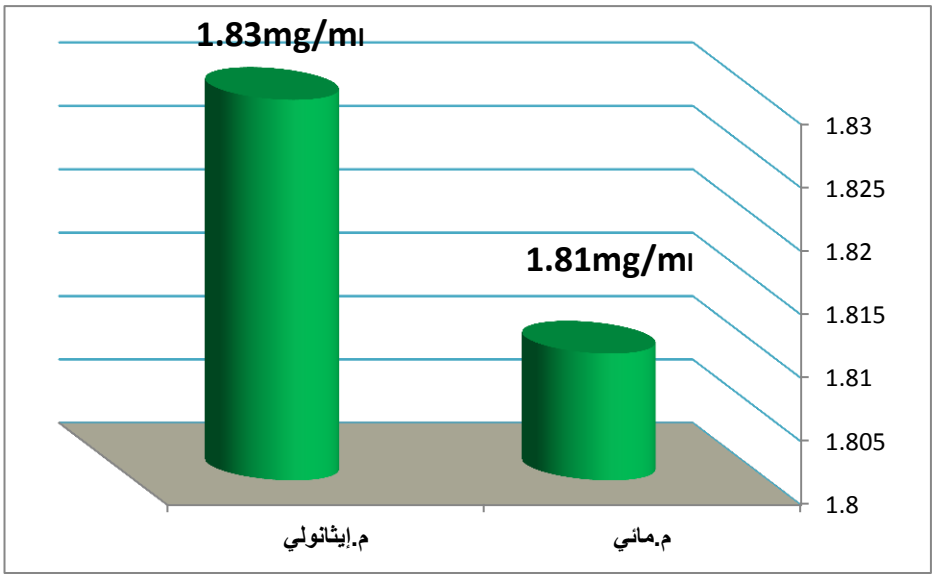


الشكل (V– 6): اختبار DPPH* للمستخلص الإيثانولي.

من منحنيات تغير النسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز تم تعيين قدرة المستخلصات المدروسة على كبح جذر DPPH بحساب قمة IC_{50}،دونت النتائج في الجدول :

الجدول(V–10):قيم IC_{50}للمستخلصين المائي والإيثانولي.

العينة	المستخلص المائي	المستخلص الإيثانولي	A.A
IC_{50}(mg/ml)	1.81	1.83	0.02



الشكل (V–7):IC_{50} للمستخلصين المائي والإيثانولي.

النتائج والمناقشة:

من خلال النتائج المدونة في الجدول(V–10) واعتماد على IC_{50} التي كلما نقصت زادت الفاعلية المضادة للأكسدة وجد أن المستخلص المائي له قدرة تثبيطية للجذر الحر DPPH أكبر من المستخلص الإيثانولي، ونفسر هذه النتيجة على أن كمية المركبات الفينولة والفلافونويدية في المستخلص المائي عملت على تثبيط الجذر الحر DPPH وذلك بمنحه بروتونات وعليه كلما زادت كمية المركبات الفينولية والفلافونويدية كلما كانت القدرة التثبيطية أحسن ،وبمقارنة النتائج المتحصل عليها بنتائج حمض الأسكوربيك (A.A) الذي يعتبر من مضادات الأكسدة الصناعية وجد أن (A.A) اكبر من المستخلصين المائي والإيثانولي وبناء عليه فإن مستخلصاتنا لها فاعلية مضادة للأكسدة الصناعيةأفضل من مضادات الأكسدة الطبيعية.

وعليه يمكن ترتيب القدرة التثبطية للجذر الحر DPPH* للمستخلصات والشاهد المرجعي كما يلي:

A.A > المستخلص المائي > المستخلص الإيثانولي .

V. 7 تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا:

تم تقدير الفعالية ضد البكتيريا بإستخدام طريقة الإنتشار حول الأقراص للمستخلصين المائي والإيثانولي لأوراق نبات إبسيلا *(Ibicella.lutea)*، قمنا بقياس أقطار التثبيط لكل من المستخلص المائي والإيثانولي تجاه

أربع سلالات بكتيريا (*Escherichia coli-Staphylococcus aureus-Staphylococcushominis- Klebsiella pneumoniae*) والنتائج موضحة في الجداول والأشكال التالية:

- **المستخلص المائي:**

الجدول(V-11) :أقطار التثبيط (mm) لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلف للمستخلص المائي .

	قطر التثبيط (mm)			
	(mg/ml6.25)	(mg/ml12.5)	(mg/ml25)	(mg/ml40)
Escherichia coli	7	7	7	7
Staphylococcus aureus	7	7	7	7
Staphylococcus hominis	6	7	6	6
Klebsiella pneumonia	6	6	6	6

النتائج:

ا-**بالنسبة ل *Escherichia coli*:**

تم ملاحظة أن أقطار التثبيط ثابتة عند جميع التراكيز mg/ml(6.25/12.5/25/40) حيث قدرت بـ7 mm،يعتبر هذا النوع من البكتيريا مقاوم (غير حساس) تجاه المستخلص المائي.

ب- بالنسبة ل *Staphylococcus aureus*:

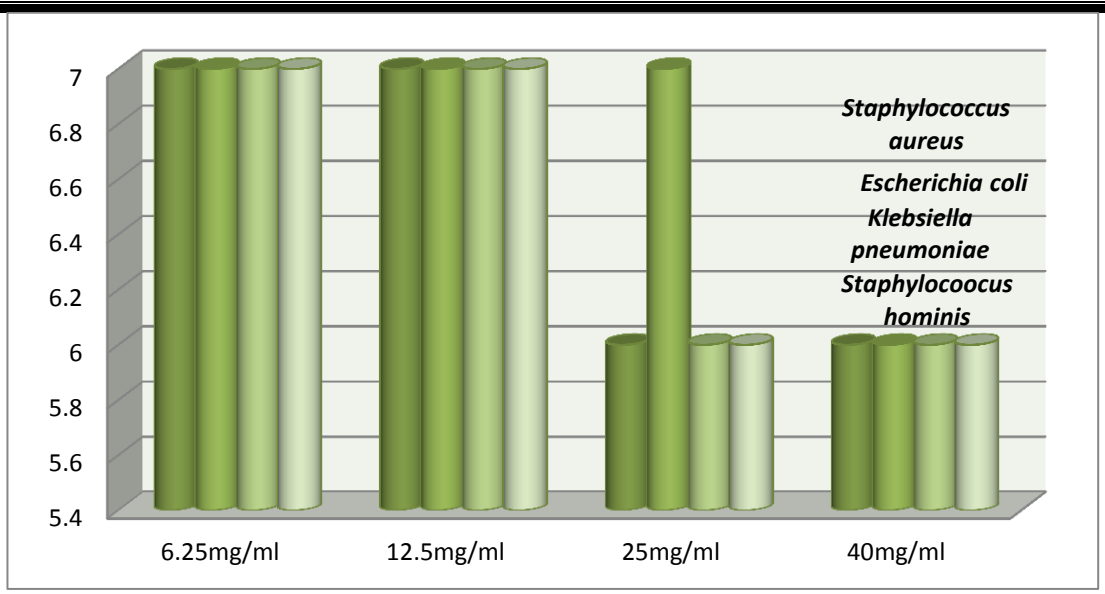
تم ملاحظة أن أقطار التثبيط ثابتة عند جميع التراكيز mg/ml (40/25/12.5/6.25) حيث قدرت بـ7mm ،يعتبر هذا النوع من البكتيريا مقاوم تجاه المستخلص المائي .

ج-بالنسبة ل *Staphylococcus hominis* :

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز (mg/ml) 12.5حيث قدرت بـ7 mm، مقارنة بالتراكيز الأخرى mg/ml (40/25/6.25) قدرت بـ6mm.

د- بالنسبة *ل Klebsiella pneumoniae*:

تم ملاحظة أن أقطار التثبيط ثابتة عند جميع التراكيز(6.25/12.5/25/40) mg/ml حيث قدرت بـ6mm، يعتبر هذا النوع من البكتيريا مقاوم تجاه المستخلص المائي.

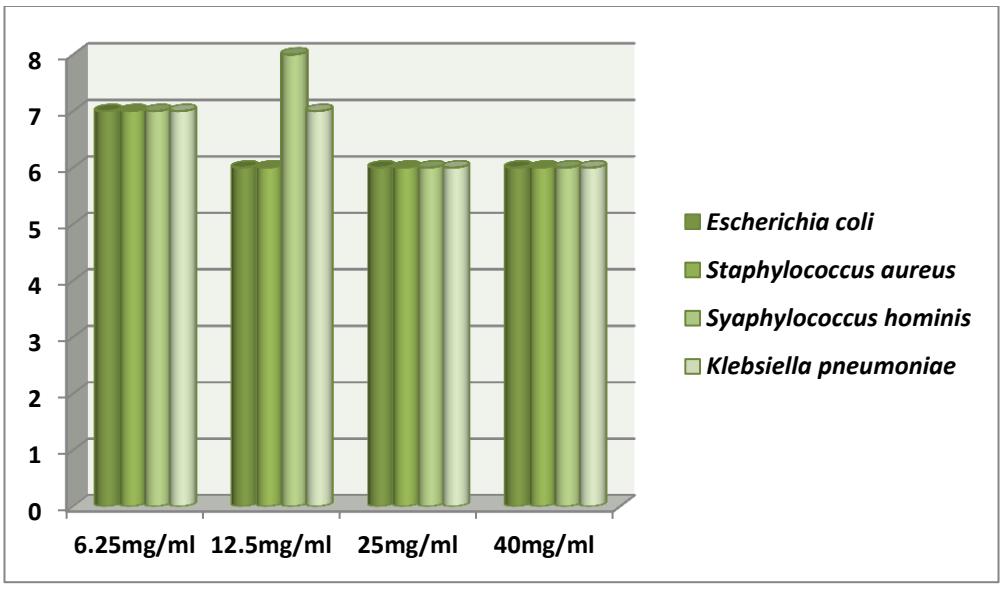


الشكل (V–8): أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص المائي.

- **المستخلص الإيثانولي:**

الجدول(V– 12):أقطار التثبيط(mm)لأنواع البكتيريا الناتجة عن تراكيز مختلفة للمستخلص الإيثانولي

قطر التثبيط (mm)				التركيز(mg/ml) / أنواع البكتيريا
(mg/ml 40)	(mg/ml 25)	(mg/ml 12.5)	(mg/ml) 6.25	
6	6	6	6	*Escherichia coli*
7	7	7	7	*Staphylococcus aureus*
7	8	6	6	*Staphylococcus hominis*
6	6	6	6	*Klebsiella pneumoniae*



الشكل (V–9) :أعمدة بيانية توضح أقطار تثبيط المستخلص الإيثانولي.

- النتائج :

أ-بالنسبة ل *Escherichia coli*:

تم ملاحظة أن اقطار التثبيطية ثابتة عند جميع التراكيز mg/ml(6.25/12.5/25/40) حيث بلغت 6mm ،يعتبر هذا النوع من البكتيريا منعدم الحساسية تجاه المستخلص الأيثانولي .

ب-بالنسبة ل***Staphylococcus aureus*** :

تم ملاحظة أن الاقطار التثبيطية ثابتة عند جميع التراكيز mg/ml (40/25/12.5/6.25) حيث بلغت 7 mm،يعتبر هذا النوع من البكتيريا مقاوم تجاه مستخلص الأيثانولي .

ج-بالنسبة ل *Staphylococcus hominis*:

تم ملاحظة أن اعلى قطر تثبيطي سجل عند التركيز (mg/ml)25 حيث بلغت 8mm مقارنة بالتركيز (mg/ml)40الذي بلغ قطر تثبيطيه 7mm،بينما سجل اقل قطر تثبيطي عند التركيز mg/ml(6.25/12.5) و بلغ 6mm.

د-بالنسبة ل *Klebsiella pneumoniae*:

تم ملاحظة أن قيم اقطار التثبيط ثابت عند جميع تراكيز(6.25/12.5/25/40) mg/ml ، بلغت 6mm.

تفسير النتائج:

ومن النتائج الموضحة في الجداول و الأشكال تبين ان المستخلصات(المائية و العضوية) لأوراق نبات (*Ibicella.Lutea*) لم تعطي أي فعالية اتجاه السلالات البكتيرية الاربعة مع أغلبية التراكيز المختلفة.

المضادات الحيوية:

في الدراسة البيولوجية للمستخلصات تم إستعمال مضاد حيوي كشاهد من أجل مقارنة فاعليته التثبيطية مع مستخلصات أوراق نبات(*Ibicella.Lutea*)كما هو موضح في الجدول:

الجدول(V-13):أقطار تثبيط المضادات الحيوية[3].

	قطر التثبيط(mm)	
	GENTAMICINE	
	المستخلص المائي	المستخلص الإيثانولي
Escherichia coli	30	0
Staphylococcus aureu	32	28
Staphylococcus hominis	44	44
Klebsiella pneumonia	28	25

- **النتائج و المناقشة:**

من خلال نتائج الجدول تم ملاحظة وجود فروقات متفاوتة في تأثير المضادات الحيوية على السلالات البكتيرية المدروسة

أ- *Escherichiacoli*:

تم ملاحظة أن هذه البكتيريا كانت حساسة جدا في المضاد الحيوي(GENTAMICINE) عند المستخلص المائي إذ بلغ قطر التثبيط عنده 30mm ،ومقاومة (غير حساسة)عند المستخلص الإيثانولي .

أ- *Staphylococcus aureus*:

تم ملاحظة أن هذا النوع البكتيري كان حساس جدا إتجاه المضاد الحيوي للمستخلصين.

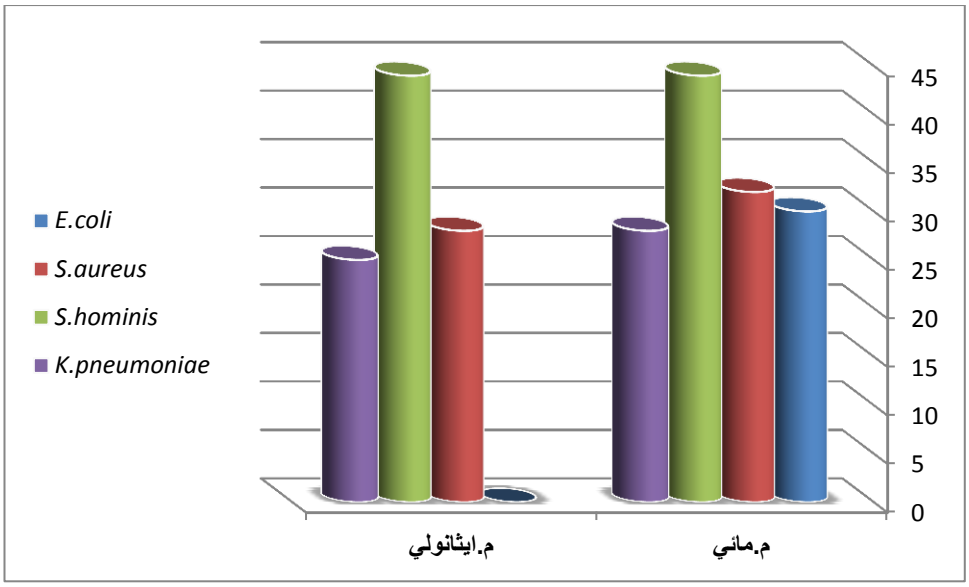
أ- *Staphylococcus hominis*:

تم ملاحظة أن أعلى قطر تثبيطي للمضاد الحيوي سجل عند هذه البكتيريا الذي بلغ 44mm في كلا المستخلصين وبالتالي فهذه البكتيريا حساسة جدا.

Klebsiella pneumonia:

تم ملاحظة أن هذا النوع البكتيري كان حساس جدا إتجاه المضاد الحيوي للمستخلصين.

- يعود هذا الإختلاف إلى خصائص المضاد الحيوي المستعمل وطريقة تأثير السلالات البكتيرية المدروسة على المستخلصات وقدرتها على المقاومة.



الشكل (V–10):اعمدة بيانية توضح الفرق في أقطار تثبيط المضاد الحيوي .

مراجع الجزء العملي:

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] S. MITRA, 2003 ،Sample Preparation Technique in Analytical chemistry ،1ST ed ،Hoboken ،New John wiley & Sons ,162 (37- 223)

[2] K.Benzahi, 2001, Contributon àl'ètude des flavonoides dans la Plante cynodon *Dacÿon-L,* (chienent), mèmoire de Magistèir. Universitè de Ouargla, P15-17.

[3] N. Chaouch, Etudedes Alcaloides dans le coloquinte *colocynthis vulgaris (L) schrad (cucurbitacèes)* Règion De El Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mèmoire de maister. Universitè de Ouargla 2A01,44.

[7] Yadav , M., et al.,، 2014 Preliminary pHytochemical screening of six medical plants used in traditional medicine ،p.539-54.2.

[8] Jaradat, N., F.Hussen ,and A.J.J.M.E.S.AL Al Ali, 2015,Preliminarry pHytochemicpal screening,quantitative estimation of total flavonoids, total pHenols and antioxidant activity of EpHedra alata Decene,p.1771-8.

[10] Bte-Smith, F.C (1964). In methods in polyphenol chemistry,J.B. Pridham, Editeur Pergamon Press; p.59-62.

[11] Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2005). AntiHIV-1 activity of propolis in lymphocyte and microglial cell cultures. Journal of Ethnopharmacology, 158-163.

[12] Campos, M.R.G.; Bogdanov, S.; de Almeida-Muradian, L.M.B.; Szczesna, T.; Mancebo, Y.; Frigerio, C.; Ferreira, F. Pollen 2008composition and standardisation of analytical methods. J.Apicult. p156–163.

[15] Ydjedd, S., Chaalal, M., Richard, G., Kati, D.E., López-Nicolás, R., Fauconnier, M. L & Louaileche, H., (2017). Assessment of antioxidant potential of phenolic compounds fractions of Algerian Ceratonia siliqua L. pods during ripening stages. International Food Research Journal. 24 (5): 2041-2049.

المراجع باللغة العربية:

[4] زمالي جعفر، دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة صحراوية ،مذكرة ماجستير كيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة .(2007).

[5]غميمة صفاء ، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي بعنوان ، دراسة مقارنة للمردود والفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصين المائي والإيثانولي في بذور نبات القناوية Abelmoschus esculentus،جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي (2018).

[6]محمد والأخرون(2009) ،الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزيئية للقلويدات في مستخلصات نبات عنب الذيب .المجلة العراقية للعلوم ، المجلة 50.العدد03.

[9]فاضل عمران عيسى الزاملي،الكشف عن الكحولات ،2017/11/19 00:16، كلية التربية الأساسية، جامعة بابل 2017.

[13] بسمة شمسة، دارسة مقارنة للمردودية و النشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي و المائي عند نبات L album Zygophyllum ،مذكرة تخرج لنيل شهادة ماستر أكاديمي، علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي 2015.

[14]صحرواي صباح .،مساهمة في تحسين ظروف الإستخلاص المركبات الفينولة من نباتات الطبية لمنطقة الوادي نبات الخبيز ،مذكرة ماستر كيمياء ، جامعة حمه لخضر الوادي .ص :58(2018).

الـخاتـمـة

الخاتمة:

كانت النباتات محل اهتمام الانسان منذ القدم ،حيث معظم سكان العالم خاصة في الدول النامية يعتمدون على النباتات من أجل الرعاية الصحية وذلك لاحتوائها على مركبات فعالة طبيعية ذات تأثيرات بيولوجية ،وبهدف تثمين النباتات الصحراوية النامية في منطقة وادي سوف ،ولأنها لم تحظى بالاهتمام الكبير من طرف الباحثين في مثل هذه الدراسات . تم في هذا البحث العلمي المتواضع دراسة الفحص الفيتو كيميائي والانشطة المضادة للبكتيريا لمستخلصات ورق نبات *Ibicella.Lutea* في منطقة وادي سوف .

وكخطوة أولية تم جلب اوراق هذا النبات من جامعة الشهيد حمه لخضر بالوادي ،تطرقنا إلى الدراسة النباتية عليها (طحن –تجفيف) من اجل المباشرة في عملية الإستخلاص ،وعلى ضوء النتائج المتحصل عليها يمكننا أن نستنبط النقاط التالية :

تم تقدير مردودية المستخلصات النباتية في مذيبين مختليفين المائي والإيثانولي ،حيث بينت النتائج أن أكبر مردود في المستخلص المائي و التي قدرت ب% 7.3725مقارنة بالمستخلص الإيثانولي التي قدرت ب3.19%.

من اجل تحديد المواد الفعالة المتواجدة في أوراق هذا النبات قمنا بتطبيق تفاعلات عديدة بواسطة كواشف نوعية نتج عنها تغيرات لونية أو تشكيل رواسب فكانت كل النتائج إيجابية حيث تحتوي النبتة على :التربينات ،الصابونيات ،التاينينات ،القلويدات ، النشاء ،الفلافونيدات ، الفينولات ، الكحول.

تم دراسة التقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات في المستخلصين وذلك بإستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة كلوريد الألمنيوم AlCl3 على الترتيب ،حيث أظهرت النتائج من خلال المنحنيات القياسية أن اكبر كمية للفينولات والفلافونيدات كانت في المستخلص المائي قدرت ب160.824mg/g و 97.648mg/g على التوالي مقارنة بالمستخلص الإيثانولي.

اما بالنسبة للفعالية المضادة للاكسدة فقد اعتمدنا على الاختبارات الكيميائية (DPPH، CAT)

وكانت النتائج كالتالي :

في اختبار الDPPH وجدنا ان المستخلص المائي له اكثر فعالية مقارنة بالمستخلص الايثانولي في تثبيط جذر الDPPH ،حيث بلغت قيمة IC_{50}ب 1.81mg/ ml وIC_{50} ب 1.83mg/ ml على التوالي.

بينما سجلنا في اختبار اقتناص جذور مولبيدات الفوسفات تفوقا واضحا في المستخلص المائي الذي قدر ب 355.90mg/ ml مقارنة بالمستخلص الايثانولي المقدر ب 81.69mg/ ml.

لذلك افضل مستخلص من خلال النتائج المتحصل عليها في اختبار النشاطية المضادة للأكسدة هو المستخلص المائي.

ومن أجل تدعيم الدراسة الكيمائية إرتأينا أن ندعم هذا العمل بدراسة بيولوجية حيث تم إختيار أربع سلالات بكتيرية مزروعة في وسط جلوكوزي ، و هذا بالإعتماد على طريقة الإنتشار حول الأقراص وعليه تم تحديد أقطار التثبيط لمختلف التراكيز عند جميع المستخلصات حيث لم تظهر هذه الأخيرة أي فعالية ضد السلالات البكتيرية المختبرة..

و في الأخر نأمل أن تكون هذه الدراسة منطلق تحفيزي لفتح الأفاق و أعمال مستقبلية تجاه الباحثين لإكمال و التعمق في هذا الموضوع خلال إجراء دراسات تحليلية و كمية و نوعية للمركبات الفعالة و تثمين خصائص النبات التي تأهله ليكون ضمن النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي.

الـملاحـق

الملحق(1):الأجهزة المستعملة.

حمام مائي

جهازuv-visible

جهاز التبخير

ميزان حساس

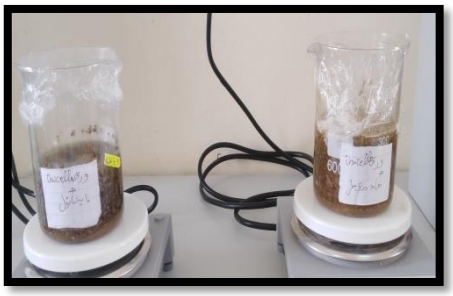
جهاز الترشيح تحت الفراغ

حاضنة

حاضنة البكتيريا

موقد بنزن

الملحق(2):تحضير المستخلصات.



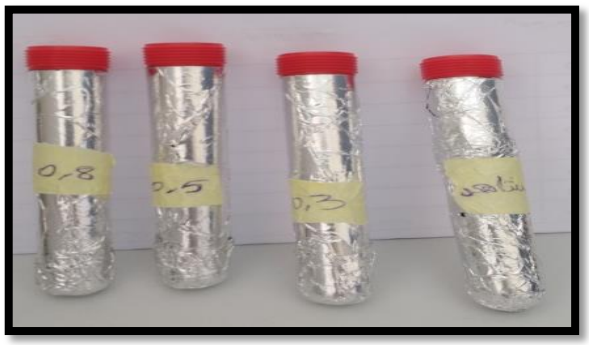
نقع أوراق إبسيلا

تجفيف أوراق نبات إبسيلا

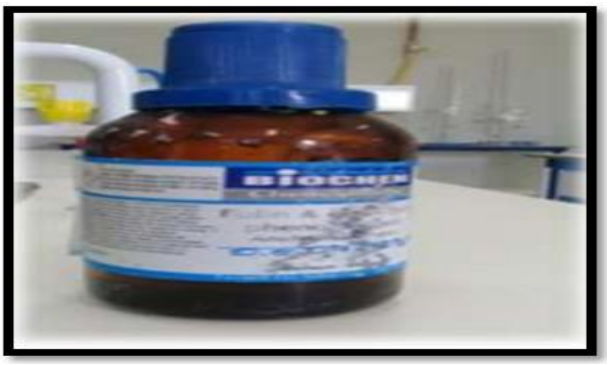
مستخلص الماء

مستخلص إيثانول

الملحق(3):التقدير الكمي للمركبات الفينولية.

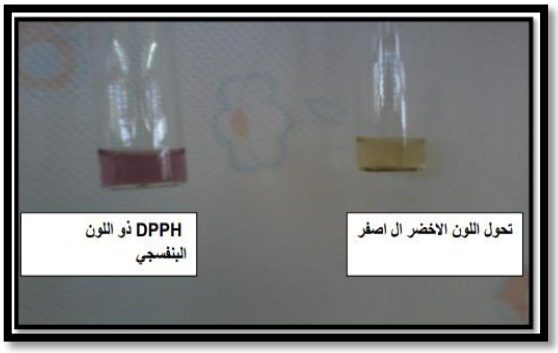


تراكيز مخففة

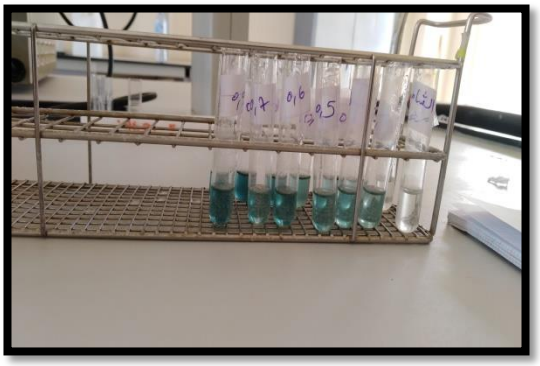


Folinكاشف

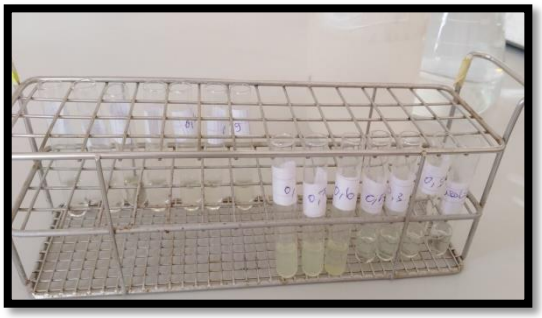
الملحق(4):الفعالية المضادة للأكسدة.



نتائج الفاعلية ضد الأكسدة



DPPHتراكيزا ال

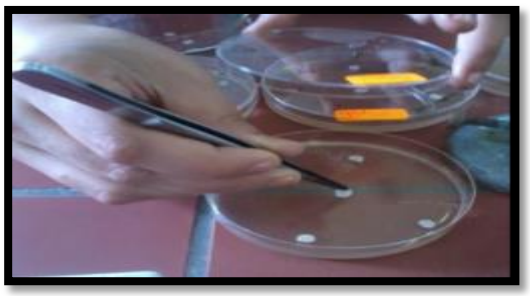


CATتراكيز

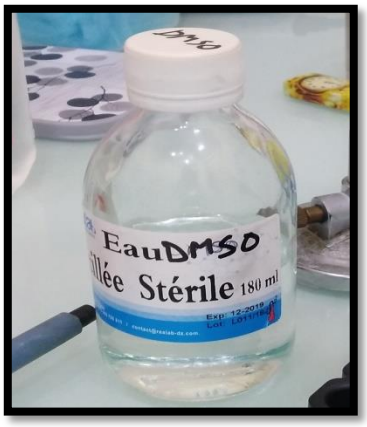
الملحق(5):الفعالية ضد البكتيريا.

مراحل تحضير المعلق البكتيري

تحضير الوسط الزراعي

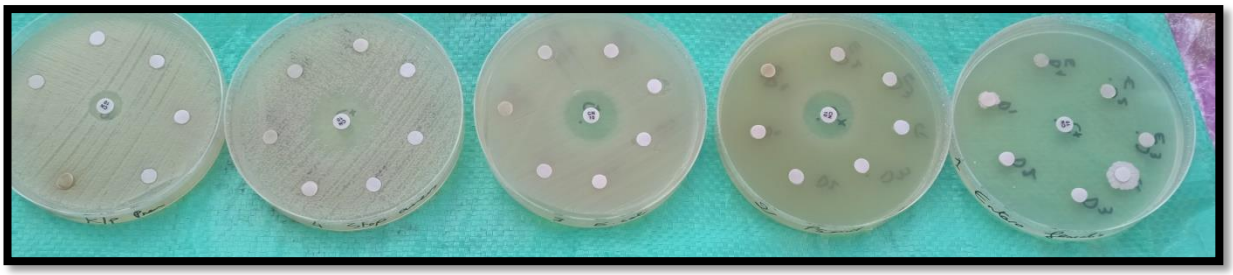


كيفية وضع الأقراص



DMSO

السلالات البكتيرية في



السلالات البكتيرية

الملخص:

ضمن هذا العمل تمت دراسة كيميائية و تقدير الفعالية البيولوجية والفعالية المضادات الأكسدة للمستخلصات العضوية لأوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*)، المعروفة باسم وحيد القرن الأصفر وهو نبات متواجد على نطاق واسع في الصحراء الجزائرية ومنطقة وادي سوف من بين المناطق المنتشر بها هذا النبات.

ولتحقيق هذه الدراسات قمنا كخطوة أولية بتحضير المستخلصات العضوية (المائية والكحولية) حيث حددنا من خلالها قيم المردودية الإنتاجية ،فكانت أعلى نسبة في المستخلص المائي قدرت بـ(7.3725%). ومن ثم قمنا بالكشف عن بعض المنتجات الطبيعية حيث توصلنا إلى أن أوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*) غنية بمواد الأيض الثانوية المتمثلة في (الفينولات، الفلافونيدات .....)، كما أوضحت نتائج التقدير الكمي للفينولات الكلية والفلافونيدات أن أكبر كمية سجلت عند المستخلص المائي في كلا التقديرين وذلك باستعمال جهاز الأشعة المرئية وفوف البنفسجية. وبعد الاستناد إلى بعض المنحنيات السابقة تم تحديد الفعالية المضادة للأكسدة بطريقتين كيميائيتين CAT .DPPH، حيث تبين من خلال ذلك أن المستخلص المائي له فعالية كبيرة في مكافحة مضادات الأكسدة في كلا الاختبارين، وكخطوة أخيرة لقد أظهرت نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا أن مستخلصات أوراق نبات إبسيلا (*Ibicella lutea*) لم تعط أي حساسية تجاه السلالات البكتيرية المختبرة، حيث قدر أكبر قدر تثبيط بـ 8mm في المستخلص الإيثانولي ضد بكتيريا (*S.hoiminis*)

الكلمات المفتاحية: *Ibicella lutea* ،المنتجات الطبيعية، الأيض الثانوي، مضادات الاكسدة CAT.DPPH ، السلالات البكتيرية.

Abstract:

This work aims study the Chemical biological and antioxidant activity of the organic extracte of the leaves of the(*Ibicella lutea*) ,know as the yellow rhino, par ticularly Oued-Souf.

In order to chieve these studies , we have taken , as a first step we prepared the organic extracts aqucous and organic, which the highest production value is determined in the former with 7.03725%.before deteching some natural products in the plant which poves richness with se condary met alolists including (phenols,flavonoids,……..)

Additionally , the quantitative analysis of the total (phenols,flavonoids….) records its highest value in the watery extract for both valuer vai using the visible and ultravoletv device. And after referring back to the some references , the efficiency of antioxidants to bothextracts with two Chemical methods:CAT and DPPH which shows how efficientis the walery extract in combating antioxidants in both tests .last and not least , the results yield at the efficiency of Ibicella . Lutea in resisting the bacteria . through its medium sesitivety twords the baboratory bacterial strains whereas ; the highest inhibilory anount is 8mm the extract of ethanolic ate bacteria(*S.hoiminis*).

Key words: Ibicella lutea, natural products, secondary metabolism, CAT.DPPH antioxidants, bacterial strains.