الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر- الوادي
كلية العلوم الدقيقة
قسم الكيمياء

رقم الترتيب:.....
الرقم التسلسلي:.....

مذكرة تخرج لنيل شهادة

ماستر أكاديمي في الكيمياء

تخصص: **كيمياء عضوية**

إعداد الطالبين: **- بسرني ربيع**

- عمري يزيد

بعنوان:

دراسة فيتوكيميائية لنبات التالغودة (Talghouda) و تثمين الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلصاته

نوقشت يوم: 2020/09/30

أمام اللجنة المكونة من:

التجاني سكينة	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	رئيسا
حداد العربي	أستاذ مساعد أ	جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي	ممتحنا
نجيمي محمد السعيد	أستاذ محاضر أ	جامعة قاصدي مرباح - ورقلة	مؤطرا ومقررا

الموسم الجامعي : 2020/2019

بسم الله الرحمن الرحيم

الإهداء

نهدي ثمرة جهدنا:

إلى التي على بساط الأوجاع ولدتني و بأيدي الآلام ربتني و بعيون التعب رعتني و بصدر المشقات حمتني، إلى أغلى إنسانة في الكون وأجمل ابتسامة في الحياة، إلى أعذب صوت في الدنيا، إلى من كان دعائها سر نجاحي و حنانها بلسم جراحي إلى من بوجودها اكتسب قوة و محبة لا حدود لها "إليك أمي"

إلى من كلله الله بالهيبة و الوقار إلى من علمني العطاء دون انتظار إلى من احمل اسمه بكل افتخار

ارجو من الله ان يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار و ستبقى كلماتك نجوم أهتدي بها اليوم، غدا و إلى الأب د"إليك أبي"

إلى من يطيب لي معهم همي و تعبي و يسري في عروقهم دمي إلى رفقاء دربي الذين كونوا شجرة الأخوة التي قطفت منها ثمار الحب الخالص، إلى من زرعوا الأمل و رسموا الابتسامة على وجهي، إلى من أحبهم دوما إخواني و أخواتي الاعزاء.

إلى كل من علمنا حرفا و وهبني معلومة أساتذتنا الكرام.

إلى كل الأصدقاء و الزملاء و الأحباب

إلى جميع زملائنا في الدراسة خاصة طلبة السنة ثانية ماستر كيمياء.

إلى كامل الطاقم الإداري و المخبري

نهدي إليكم ثمرة جهدنا

ربيع ☆ يزيد

شكر و عرفان

الحمد لله العلي القدير نحمده و نستعين به و نشكره على الهداية لطريق الخير و الصواب و العلم و السعي إلى المعرفة و التطلع إلى المستقبل و نصلي و نسلم على صفوة خلقه و على آله و صحبه و على من اهتدى بهديه إلى يوم الدين عملا.

بقوله صلى الله عليه و سلم "لا يشكر الله من لا يشكر الناس"

الشكر لله ربي المعين الذي وفقنا لإتمام هذا العمل المتواضع و ما كنا لنصل لولا فضله علينا.

و عملا بقول نبيه صلى الله عليه و سلم " من صنع إليكم معروفا فكافئوه، فإن لم تجدو ما تكافئوه به، فأدعوا له حتى تروا أن قد كافأتموه"

واعترافنا بالفضل نتقدم بأسمى عبارات التقدير و العرفان إلى الأستاذ " نجيمي محمد السعيد" الذي ساعدنا في انجاز هذا العمل، فندعو الله ان ييسر له بعمله طريقا للجنة.

كما نتقدم بالشكر لرئيسة لجنة المناقشة الأستاذة " التجاني سكينة " بالإضافة إلى الأستاذ "حداد العربي" على قبولهما مناقشة و إثراء هذه المذكرة.

وكذلك نشكر كل من ساعد على إتمام هذا البحث و قدم لنا العون و مد لنا يد المساعدة و زودنا بالمعلومات اللازمة للإتمام هذا البحث

خاصة أعضاء مخبر الكيمياء: كنزة، منى

وكل من ساعدنا من الطاقم الإداري الذين ساعدونا بالمعلومات القيمة و التسهيلات الإدارية

و نشكر كل الزملاء و الزميلات الذين شجعونا و لو بالكلمة الطيبة

ربيع ☆ يزيد

الملخص:

يهدف هذا العمل إلى دراسة فيتو كيميائية لنبات التالغودة *Bunium incrassatum Boiss* من خلال الكشف الكيميائي للمواد الفعالة و تقدير مردود المستخلصات الميثانولية (MeOH) و البيتانولية (n-buOH) المستخلصة بواسطة طريقتي النقع (Macération) و الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons) و كذلك دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلصاته.

أسفر المسح الفيتو كيميائي عن غنى النبات بالمواد الفعالة بوجود كل من: الفينولات، الفلافونيدات، الستيرويدات، الصابونين، التانينات، السكريدات، التربينات و الكومارينات و غياب كل من: القلويدات و البروتينات.

قدر مردود مستخلص (MeOH) بطريقتي النقع و الأمواج فوق الصوتية بـ (12.55%) و (9.40%) على التوالي، متفوقا على مستخلص (n-buOH) بـ (6.01%) و (2.09%) على التوالي.

بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا فقد اظهرت النتائج فعالية معتبرة للمستخلصات عند تركيز (8mg/ml) تجاه السلالات المختبرة في الدراسة النوعية (طريقة الانتشار على الأقراص)، أما الدراسة الكمية لتحديد التركيز الأدنى المثبط CMI فقد اظهرت مستخلصات الكلوروفورم أقل تركيز مثبط تجاه غالبية السلالات البكتيرية.

من خلال تقدير النشاطية المضادة للأكسدة فقد أبدى مستخلص (n-buOH) فعالية تثبيط تجاه جذر DPPH حيث كانت IC_{50}=29.50µg/ml متفوقا على مستخلص (MeOH) بـ IC_{50}=82.61µg/ml.

أظهر المستخلص (n-buOH) قدرة معتبرة على كبح أكسدة β – Caroténe بنسبة 63.27% أعلى من مستخلص (MeOH) الذي قدرت نسبة تثبيطه لكبح أكسدة β – Caroténe بـ 57.65%.

الكلمات المفتاحية: *Bunium incrassatum Boiss*، تالغودة، فيتوكيميائي، البكتيريا، أكسدة، β–Caroténe، DPPH .

Résumé:

Ce travail vise à faire une étude phytochimique de plante Talgouda (*Bunium incrassatum Boiss*) par la détection chimique de substances actives et l'estimation du rendement en extraits méthanolique (MeOH) et (n-buoH) préparés par deux méthodes: macération et ultra-sons ainsi que l'étude de l'activité anti bactérienne et anti-oxydante.

La screening chimique a permis de rendre la plante riche en substances actives en présence des: phénols, flavonoïdes, stéroïdes, saponines, tanins, disaccharides, terpènes et coumarines.et l'absence de chacun de: alkaloïdes et protéines .

Les rendement des extraits méthanolique (MeOH) sont plus élevés: (12.55%) avec macération et (9.40%) chez ultra-sons, par apport aux l'extrait bétanolique (n-buOH): (6.01%) et(2.09%) avec macération et ultra-sons successivement.

Concernant l'efficacité des anti-bactériens les résultats ont montré une efficacité significative pour les extraits à une concentration (8 mg / ml) vers les souches testées dans l'étude qualitative (méthode de diffusion Sur les disques). quant à l'étude quantitative pour déterminer la concentration inhibitrice la plus faible (CMI), les extraits de chloroforme ont montré la plus faible concentration inhibitrice contre les souches testées .

À travers de détermination de l'activité antioxydante, l'extracteur bétanolique (n-buOH) a été montré une activité inhibitrice contre la racine de DPPH où elle était IC_{50}= 29.50 µg/ml bordure à l'extrait méthanolique de IC_{50}= 82.61µg/ml.

L'extrait bétanolique (n-buOH) montre un capacité considérable à inhiber l'oxydation de la β –Caroténe par 63.27 % plus que l'extrait méthanolique qui a estimé le pourcentage d'inhibition de l'oxydation de la β –Caroténe par 57.65%

Mots clés: *Bunium incrassatum Boiss* , *Talgouda*, phytochimique, Les bactéries, oxydation, β–Caroténe , DPPH.

الفهـــــرس

الإهداء.....I
الشكر و العرفان.....II
الملخص.....III
الفهرس.....V
قائمة الأشكال.....XI
قائمة الجداول.....XIV
قائمة الرموز و الاختصارات.....XV
المقدمة.....02

الجزء النظري

الفصـــــــــل الأول

الدراســـــــة النبـــــــاتية

1.I.النباتات الطبية.....06
1.1.I.نبذة تاريخية عن النباتات الطبية.....06
2.1.I.تعريف النباتات الطبية.....06
3.1.I.تقسيمات النباتات الطبية.....07
4.1.I.طرق استخدام النباتات الطبية.....07
5.1.I.أهمية النباتات الطبية.....07
6.1.I.طرق استخلاص النباتات الطبية.....08
7.1.I.دراسة النباتات الطبية.....08
2.I.العائلة الخيمية (Apiaceae).....10
1.2.I.تعريف العائلة الخيمية(Apiaceae).....10
2.2.I.الخواص المورفولوجية للعائلة الخيمية.....10
3.2.I.أهمية و استعمالات نباتات العائلة الخيمية.....11
3.I.جنس Bunium.....11
4.I.نبات التالغودة "Talgouda".....12

I.1.4.الوصف المورفولوجي لنبات التالغودة.....12
I.2.4.التصنيف النظامي لنبات التالغودة.....13
I.3.4.المسح البيولوجي لنبات التالغودة.....13
I.4.4.المسح البيبليوغرافي.....14
قائمة المراجع.....15

الفصل الثاني

المنتجات الطبيعية و المواد الفعالة

II.1.المنتجات الطبيعية.....18
II.1.1.تعريف المنتجات الطبيعية.....18
II.1.2.تصنيف المنتجات الطبيعية.....18
II.2.المواد الفعالة.....18
II.2.1.التربينات Les Terpenes.....19
II.2.2.القلويدات Alkaloids.....20
II.2.3.الصابونيات Saponins 22
II.2.4.الستيرويدات Steroides 22
II.2.5.الستيرولات Sterols.....23
II.2.6.الفينولات Phenoles.....24
II.2.7.الفلافونيدات Les Flavonoïdes.....26
II.2.8.الأحماض الفينولية Les acides phénoliques 27
II.2.9.الكومارينات les coumarines.....29
II.2.10.التانينات Les Tanins.....30
II.2.11.الجليكوزيدات Les Glucosides.....31
II.2.12.الزيوت الطيارة (الأساسية) L'huile essentielle.....32
قائمة المراجع.....33

الفصل الثالث
عموميـــات حول البكتـــيريا

مدخل..38

III.1.تعريف البكتيريا..38

III.2.تسمية البكتيريا..38

III.3.بنية البكتيريا..39

III.4.تصنيف البكتيريا...41

III.5.المقاومة البكتيرية...42

III.6.المضادات الحيوية..42

III.6.1.تعريف المضادات الحيوية..43

III.6.2.مصدر المضادات الحيوية...43

III.6.3.أنواع المضادات الحيوية..43

III.6.4.تأثير المضادات الحيوية...43

III.6.5.الجذمة الميكروبية..44

III.6.6.حساسية المكروب..44

قائمة المراجع...46

الفصل الرابـع
الجـذور الحـرة و مضـادات الأكسـدة

مدخل..49

IV.1.الجذور الحرة...49

IV.1.1.تعريف الجذور الحرة..49

IV.1.2.مصادر الجذور الحرة..49

IV.1.3.أنواع الجذور الحرة..49

4.1.IV.آلية تشكل الجذور الحرة.....50
5.1.IV.دور الجذور الحرة.....50
6.1.IV.أضرار الجذور الحرة.....51
7.1.IV.عمل الجذور الحرة.....51
2.IV.مضادات الأكسدة.....52
1.2.IV.تعريف مضادات الأكسدة.....52
2.2.IV.آلية عمل مضادات الأكسدة.....53
3.2.IV.تصنيف مضادات الأكسدة.....53
4.2.IV. شروط إضافة مضادات الأكسدة.....54
قائمة المراجع.....55

الجزء العملي

الفصـــــــــل الخامس

الطـرق و الوسائــل

1.V.الأجهزة و المواد المستعملة.....59
V . 2. المادة النباتية.....60
V . 1.2. الجني.....60
V .2.2. التجفيف.....60
V .3.2. الطحن.....61
V . 3. دراسة المسح الفيتوكيميائي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss.....62
V . 1.3. الكشف عن القلويدات (Alkaloids).....62
V . 2.3.الكشف عن الفينولات (Phenols).....62
V . 3.3. الكشف عن الفلافونيدات (Flavonoids).....63
V . 4.3. الكشف عن الستيرويدات (Steroids).....63
V . 5.3. الكشف عن الصابونين (Saponins).....63
V . 6.3. الكشف عن التانينات (Tannins).....63
V . 7.3.الكشف عن السكريات(Glycosides).....63

V . 8.3.الكشف عن البروتينات (Proteins).....63
V . 9.3.الكشف عن التربينات (Terpenes).....64
V . 10.3.الكشف عن الكومارينات(Coumarins).....64
V . 4. طرق الإستخلاص.....64
V . 1.4. تعريف الإستخلاص.....64
V . 2.4. الاستخلاص بالنقع (صلب-سائل) (Macération).....64
V . 3.4.الإستخلاص في حوض الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons).....65
V . 4.4.تقدير مردود المستخلصات.....67
V . 5. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات التالغودة Bunium incrassatum Boiss.....67
V . 1.5. دراسة نوعية طريقة الانتشار على وسط صلب (طريقة الأقراص).....67
V . 2.5.دراسة كمية تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI.....68
V . 3.5.طريقة إنجاز عمل هذه التجربة.....68
V .1.3.5.السلالات البكتيرية المستعملة.....68
V .2.3.5.دراسة الفعالية ضد البكتيرية للمستخلصات باستعمال طريقة الانتشار على الأقراص.....68
V .1.2.3.5. تحضير المستخلصات النباتية.....68
V .2.2.3.5.تحضير الأقراص و تعقيمها و تشبيعها بالمستخلصات.....69
V .3.2.3.5. تحضير المعلق البكتيري.....69
V .4.2.3.5. تحضير الوسط الزراعي.....69
V.5.2.3.5.الزرع.....69
V .6.2.3.5. وضع الأقراص.....69
V .7.2.3.5. عملية الحضن.....69
V .3.3.5. دراسة كمية تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI.....70
V .1.3.3.5.تحضير المستخلصات النباتية.....70
V .2.3.3.5.التجربة.....70
V .6. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات التالغودة Bunium incrassatum Boiss..... 71

V.1.6. اختبارDPPH..71
V .2.6. اختبار بيتا-كاروتين/β – Caroténe 73
قائمة المراجع...75

الفصل السادس
النتـــائـــج و المنـــاقشـــة

VI.1. نتائج المسح الفيتو كيميائي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss...77
VI .1.1. الكشف عن القلويدات (Alkaloids)..77
VI .1.2. الكشف عن الفينولات (Phenols)..77
VI .1.3. الكشف عن الفلافونيدات (Flavonoids)...77
VI .1.4. الكشف عن الستيرويدات (Steroids)...77
VI .1.5. الكشف عن الصابونين (Saponins)..77
VI .1.6. الكشف عن التانينات (Tannins)..77
VI .1.7. الكشف عن السكريدات (Glycosides)...77
VI .1.8. الكشف عن البروتينات (Proteins)...78
VI .1.9. الكشف عن التربينات (Terpenes)...78
VI .1.10. الكشف عن الكومارينات (Coumarins)...78
VI .2. مردود المستخلصات..81
VI .3. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا...83
VI .3. 1. نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص [1:1] [CH_2Cl_2:MeOH].............................83
VI .3. 2. نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الكلوروفورم..84
VI.3.3. نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الأسيتات..85
VI .3. 4. نتائج قيم CMI..86
VI .4. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة..88
VI .4.1. اختبار DPPH...88
VI .4.2. اختبار زوال β – Caroténe...91
قائمة المراجع...93
خاتمة...95

قائمة الأشكال		
الشكل	العنوان	الصفحة
الجزء النظري		
الفصل الأول: الدراسة النباتية		
الشكل(1.I)	مخطط دراسة النباتات الطبية	09
الشكل(2.I)	(أ.ب.ج.د) صور نبات التالغودة	12
الشكل(3.I)	(أ–ب–ج–د–هـ) المركبات الكيميائية المفصولة من درنات نبات التالغودة	14
الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية و المواد الفعالة		
الشكل(1.II)	بنية Isopréne	19
الشكل(2.II)	(أ-ب-ج) بعض التربينات الأحادية المفصولة من العائلة الخيمية	19
الشكل(3.II)	بنية Mescaline	20
الشكل(4.II)	بنية Atropine	20
الشكل (5.II)	(أ-ب) قلويدات غير الحقيقية	21
الشكل (6.II)	بعض قلويدات نبات الشكران Conium maculatum	21
الشكل (7.II)	بنية β-amyrine	22
الشكل (8.II)	بنية FUROSTANES	22
الشكل (9.II)	بنية كل من Cyclo-artenol و Dammaranes	23
الشكل (10.II)	بنية 1,2-cyclopentenophenathrene	23
الشكل (11.II)	بعض الستيرولات الطبيعية	24
الشكل (12.II)	بنية الفينول	24
الشكل (13.II)	الهيكل الأساسي للفلافونيدات	26
الشكل (14.II)	مختلف الهياكل الفلافونيدية	27
الشكل (15.II)	بنية حمض الكافيك مشتق حمض السيناميك	28
الشكل (16.II)	بنية حمض الغاليك مشتق حمض البنزويك	28
الشكل (17.II)	بنية حمض الروزماريك acide Rosmarique	28
الشكل (18.II)	بنية حمض هيدروكسي سيناميك	29
الشكل (19.II)	بنية α-benzopyrone	29
الشكل (20.II)	بنية 7- هيدروكسي كومارين	29

الشكل (21.II)	7-Isopentenoxylcoumarin	29
الشكل (22.II)	بنية Olohts	29
الشكل (23.II)	بنية Psoralen	30
الشكل (24.II)	بنية Xanthyletin	30
الشكل (25.II)	بنية التانينات المتحللة	30
الشكل (26.II)	بنية التانينات المكثفة	31
الشكل (27.II)	بنية Rutine	32
الشكل (28.II)	بعض الزيوت العطرية المفصولة من نبات العائلة الخيمية	32
الفصل الثالث: عموميات حول البكتيريا		
الشكل(1.III)	بنية الخلية البكتيرية	40
الشكل(2.III)	تصنيف البكتيريا	41
الشكل(3.III)	طريقة الانتشار Méthode de diffusion	45
الفصل الرابع: الجذور الحرة و مضادات الأكسدة		
الشكل(1.IV)	جزيئة الDPPH	52
الشكل(2.IV)	بنيات بعض مضادات الأكسدة	53
الجزء العملي		
الفصل الخامس: الطرق و الوسائل		
الشكل(1.V)	أ–ب الموقع الجغرافي لمنطقة الجني بولاية أم البواقي	60
الشكل(2.V)	صور تبين مراحل تجفيف نبات التالغودة	61
الشكل(3.V)	أ–ب صور تبين نبات التالغودة قبل و بعد الطحن	61
الشكل(4.V)	المستخلص المائي	62
الشكل(5.V)	ميزان حساس	65
الشكل(6.V)	المبخر الدوراني	65
الشكل(7.V)	حوض الأمواج فوق الصوتية	65
الشكل(8.V)	مخطط يوضح مراحل الاستخلاص	66
الشكل(9.V)	البنية الكيميائية لجذر DPPH	72
الشكل(10.V)	معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة	72
الشكل(11.V)	معادلة تفاعل زوال اللون البرتقالي للبيتا- كاروتين	73

الجزء العملي		
الفصل السادس: النتائج و المناقشة		
الشكل(1.VI)	مخطط أعمدة بيانية يقارن مردود المستخلصات الميثانولية و البيتانولية لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss	82
الشكل(2.VI)	بعض صور هذه التجربة موضحة و متمثلة في أطباق بيتري	86
الشكل(3.VI)	صور توضح عملية حساب ال CMI	86
الشكل(4.VI)	منحنى اختبار DPPH لمستخلص MeOH	89
الشكل(5.VI)	منحنى اختبار DPPH لمستخلص n-BuOH	89
الشكل(6.VI)	منحنى اختبار DPPH لكريستين	90
الشكل(7.VI)	مقارنة لفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية و الشاهد الموجب و السالب	92
الشكل(8.VI)	قدرة المستخلصات لنبات B.incrassatum على تثبيط أكسدة β – Caroténe عبر الزمن.	92

قائمة الجداول		
الجدول	العنوان	الصفحة
الجزء النظري		
الفصل الأول: الدراسة النباتية		
الجدول (1.I)	التصنيف النظامي لنبات التالغودة	13
الفصل الثاني: المنتجات الطبيعية و المواد الفعالة		
الجدول(1.II)	تقسيمات التربينات	19
الجدول(2.II)	تصنيف المركبات الفينولية حسب عدد ذرات الكربون في الهيكل الأساسي	25
الجزء العملي		
الفصل الخامس: الطرق و الوسائل		
الجدول (1.V)	الأجهزة و المواد المستعملة	59
الجدول (2.V)	السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة	68
الجدول (3.V)	التراكيز المستعملة في تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI	70
الفصل السادس: النتائج و المناقشة		
الجدول (1.VI)	نتائج المسح الفيتو كيميائي للمركبات الفعالة في نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss	78
الجدول (2.VI)	مردود المستخلصات الميثانولية و البيتانولية بطريقتي النقع و الأمواج فوق الصوتية	81
الجدول (3.VI)	نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص [CH_2Cl_2:MeOH] [1:1] لنبات B.incrassatum	83
الجدول (4.VI)	جدول يلخص الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الكلوروفورم للجزء الهوائي لنبات Bunium incrassatum Boiss	84
الجدول (5.VI)	جدول يلخص الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الأسيتات للجزء الهوائي لنبات Bunium incrassatum Boiss	85
الجدول (6.VI)	قيم الCMI للسلالات البكتيرية المدروسة لمستخلص الكلوروفورم	87
الجدول (7.VI)	قيم الCMI للسلالات البكتيرية المدروسة لمستخلص الأسيتات	87
الجدول (8.VI)	نتائج الأسر الجذري لمستخلصات نبات B.incrassatum و المركب المرجعي Quercetin	88
الجدول (9.VI)	قيم نتائج IC_{50} للمركب المرجعي و المستخلصين لنبات B.incrassatum	90
الجدول (10.VI)	الفعالية المضادة للأكسدة AA% للمستخلصات بطريقة β – Caroténe	91

قائمة الرموز و المختصرات:

AcOEt: Ethyl acetate.

ATTC: American Type Culture Collection.

BHT: Butylated hydroxytolune.

CH_2Cl_2 : Dichloromethane.

$CHCl_3$: Chloroform.

DPPH: 1,1-diphenyl -2- picrylhydrazyl radical.

EtOH: Ethanol.

HCl: Hydrochloric acid.

IC_{50}: Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH.

MeOH: Methanol.

MIC: Minimum Inhibitory Concentration.

NaOH: Sodium hydroxide.

n-BuOH: Butan-1-ol.

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

UV/Vis: Ultraviolet _ Visible.

UV: Ultraviolet.

λ: Lambda maximum wavelength.

%: Percent

°C: Degree Celsius

µg: Micro gram

µl: Micro liter

mg: Milligram

nm: nanometer

المقدمـــــــــــــــــــــــــــــة

المقدمة:

منذ القدم كانت الحياة تعتمد على النباتات بصورة كبيرة دون سواها من الكائنات، فوجد الإنسان نفسه بين النباتات التي تعد المصدر الأول و الأساسي لغذائه و دوائه و هذا من خلال احتكاكه المباشر بالطبيعة، و منذ ذلك الحين عرف الإنسان التداوي بالأعشاب فربط بين النباتات الطبية و بين الأمراض التي يصاب بها [1].

بمرور الزمن أصبحت النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير النباتية التي تدخل في تحضير الدواء على شكل خلاصات أو مواد فعالة أو مواد خام لإنتاج بعض المركبات الكيميائية التي تعتبر النواة الأولى للتخليق الكيميائي لبعض المواد الدوائية ، و بزيادة الطلب على العقاقير النباتية وبعد أن أصبح الأصل الكيميائي الفعال في كثير من النباتات معروفا عند الكيميائيون العضويون إلى تحضير المركبات الفعالة طبيا مخبريا [2].

وبتصنيع المركبات الفاعلة مخبريا اعتقد الباحثون أن هذه الأدوية المصنعة سوف تحل محل النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي، و كان من المتوقع أن يتراجع المرض أمام التقدم العلمي الكبير في علم العقاقير لكن الذي حدث هو العكس تماما، فقد عرف الإنسان الحديث أمراضا لم تكن معروفة أو منتشرة من قبل، بل دخل عصر الأمراض المزمنة و المستعصية التي اثرت على صحته و مناعته، و يرجع ذلك إلى الاستعمال اللامحدود و اللاعقلاني للمواد الكيميائية، و مازال البحث العلمي يحمل لنا الكثير من الآثار الجانبية الضارة لبعض الأدوية المصنعة، إما بسبب نقص المعرفة عنها، و إما لأنها مواد كيميائية مركزة تم تحضيرها في المخبر تحت ظروف غير طبيعية. بينما أبت حكمة الله الخالق عز وجل إلا أن تجعل المركبات الفعالة طبيا في النباتات بتراكيز مخفضة يمكن للجسم البشري التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية [3].

و نظرا لما تزخر به بلادنا الجزائر من نباتات طبية لما لها من مساحات واسعة و مناخات متنوعة، حيث أثبتت الدراسات العديدة أن بالجزائر مالا يقل عن 3500 نوع من النباتات منها ما يعود إلى المناخات الحارة ومنها ما يعود إلى المناخات المعتدلة [4]، و من أجل ذلك و بهدف تدعيم و تعزيز موروثنا الطبي الشعبي الجزائري فقد تضافرت جهود الباحثين الجزائريين و في جميع الميادين (كيمياء و بيولوجيا و صيدلة وعلم النبات...)، من هذا المنطلق و تكملة لما قام به الباحثون ، فقد ارتأينا في بحثنا هذا إلى دراسة احدى نباتات الجزائر الطبية الشمالية بأم البواقي الذي ينتمي إلى العائلة الخيمية عرف بنبات التالغودة ذات الاسم العملي *Bunium incrassatum* (Boiss.) Batt. et Trab. و الذي يستعمل في الطب التقليدي الشعبي لعلاج العديد من الأمراض.

إن الدافع الرئيسي لاختيارنا لهذا البحث هو استخدام الطب الشعبي في الجزائر لهذه النبات في علاج العديد من الأمراض والمشاكل الصحية وفي إعداد الوجبات الغذائية، مما يستدعي تثمينه و دراسته فيتو كيميائيا ودراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا والمضادة الأكسدة لمستخلصاته لترشيد استخدامه بطرق علمية لتحاشي المضاعفات والأخطار الناجمة عن الاستخدام العشوائي والغير مدروس، فهل لهذا النبات قيمة علاجية وغذائية لما يحتويه من مواد فعالة ؟ و هل لمستخلصاته تأثير مضاد للبكتيريا و مضاد للأكسدة ؟ و ما هي فعالية مستخلصاته المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة ؟

على ضوء ذلك قمنا في هذا البحث بمسح فيتو كيميائي لمعظم نواتج الأيض الثانوي بطرق اختبارات الكشف اللونية للمواد الفاعلة، واستخلاص المواد الفاعلة للنبات بمذيبي الميثانول و البيتانول بطريقة الاستخلاص بالنقع (Macération) و طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons)، و دراسة نوعية بطريقة الأقراص و كمية بتحديد التركيز الأدنى المثبط CMI لفعاليته المضادة للبكتيريا، و دراسة فعاليته المضادة للأكسدة بطريقتي اختبار الأسر الجذري أو النشاطية تجاه جذر DPPH و اختبار زوال أو تفسخ لون البيتا- كاروتين/ β – Caroténe، ومن أجل التوصل إلى النتائج المرغوبة قمنا بتقسيم بحثنا إلى جزئين، هما الجزء النظري و الجزء العملي:

- **الجزء النظري:** يحوي الدراسة النظرية تضمن أربعة فصول، احتوى الفصل الأول الدراسة النباتية، بينما الفصل الثاني المنتجات الطبيعية و المواد الفعالة و الفصل الثالث تناول عموميات حول البكتيريا و أخيرا الفصل الرابع تحت اسم الجذور الحرة و مضادات الأكسدة.
- **الجزء العملي:** يحوي الدراسة التطبيقية تضمن فصلين رئيسيين، الفصل الأول الطرق الوسائل تناول المعدات و الوسائل اللازمة و الطرق المستعملة في الدراسة، الفصل الثاني خصص لعرض النتائج و مناقشتها، و أخيرا الخاتمة تلخص أهم النتائج المتحصل عليها.

قائمة **المراجع:**

[1] د.غســان حجاوي(2009) علم العقاقير والنباتات الطبية ، دار الثقافة للنشر ، عمان،الأردن.

[2] د.صبحي شحادة(2002) موسوعة النباتات الشافية و المكملات الغذائية، دار الكندي للنشر، اربد، الاردن.

[3] ح.دندوقي، دراسة الأيض الفلافونيدي و التربيني لبعض أنواع نباتات ضايات الصحراء الجزائرية. رسالة دكتوراه، جامعة منتوري قسنطينة،2002.

[4] أ.د.محمود حلمي عبد القادر(1997)،النباتات الطبية ،الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة، الجزائر.

الجـــــزء النظـــــري

الفـــصـــــل الأول

الدراســـــة النبـــــاتية

I.1. النباتات الطبية:

I.1.1. نبذة تاريخية عن النباتات الطبية:

منذ أن خلق الله الإنسان وأوجده على هذه الأرض، أوجد معه أسباب فنائه كما أوجد أسباب بقائه، فخلق فيه الآفات و الأمراض و خلق معها أسباب علاجها. وكما جعل النباتات غذاء لا يُستغنى عنه في الحياة، جعل فيها أيضاً الدواء الشافي للأمراض. ووهب الله للحيوان الذي لا يعقل غريزة الاهتداء إلى نوع النبات الذي يلائمه و يحفظ وجوده، وترك للإنسان العاقل أن يهتدي لما يناسبه من النباتات بالبحث و التجربة بفضل العقل الذي خصه به من بين سائر الكائنات [1].

يعود تاريخ طب الأعشاب و النباتات الطبية منذ القدم، حيث دلت الدراسات العلمية أن الفراعنة و بلاد الشام كان لهم الأسبقية في الانتباه إلى القيمة الطبية للأعشاب، و استعمالها كعلاج لكثير من الأمراض في تلك الحقبة، ففي 1874م اكتشف العالم جورج ايبرس أهم بردية فرعونية و أقدم وثيقة طبية يعود تاريخها إلى 1500 سنة قبل الميلاد تضمنت 876 تركيبة عشبية من أصل 500 نبات [2].

و هناك ما يثبت أن قدماء الصين قد مارسوا مهنة الطب بالأعشاب الطبية، حيث وضع أول دستور للتداوي بالأعشاب في الصين، يضم حوالي 365عقارا نباتي يطلق عليه (بن تساو) أي مجموعة الأعشاب، وكان للعرب الدور الكبير في تطوير علوم الطب حيث اهتم الكثير منهم بخصائص الأعشاب وطرق التداوي بها فاستفادوا من المعارف والمعلومات التي توصل إليها الإغريق والهنود والصينيون وبرعوا في ترجمتها وتدوينها وجعلوها سهلة وميسرة، فانتشرت كتب ابن سينا والرازي و البغدادي وغيرهم [3].

I.1.2. تعريف النباتات الطبية:

يعرف النبات الطبي على أنه كل نبات يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة أو تحوراته على مادة كيميائية واحدة أو أكثر، بتركيز منخفض أو مرتفع و لها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية أو إذا ما تم استخدامها و هي في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا، وعرفه العالم **Dragendorff** أنه (**كل شيء من أصل نباتي و يستعمل طبيا فهو نبات طبي**)، و بهذا التعريف نجد أنه يشمل المملكة النباتية بأسرها، لذلك فهو يهيأ فرصا عديدة لاكتشاف المزيد من المواد الكيميائية العلاجية وغير العلاجية [4].

I.1.3. تقسيمات النباتات الطبية:

للنباتات الطبية عدة تقسيمات و تصنيفات و ذلك بصدد التعرف عليها مورفولوجيا و نباتيا، و تحديد أجناسها و أصنافها، الشيء الذي يدفعنا لمعرفة مكوناتها الطبيعية ذات الفائدة العلاجية و كذالك أهميتها الاقتصادية، و من بين التقسيمات نجد :

التقسيم النباتي الذي يعتمد أساسا على العائلات و الفصائل ضمن المملكة النباتية.

التقسيم الكيميائي الذي يعتمد أساسا على المجموعات الكيميائية الفعالة و الغير فعالة علاجيا ذات التركيب الكيميائي المختلف.

التقسيم العلاجي الذي يعتمد أساسا على فصيلة نباتية معينة لعلاج نوع محدد من الأمراض المختلفة.

التقسيم العضوي الذي يعتمد أساسا على الأعضاء النباتية التي تحتوي المواد الفعالة طبيا.

التقسيم الصناعي الذي يعتمد أساسا على نوع المواد الفعالة و طبيعتها الناتجة من مجموعة معينة من النباتات و استخداماتها الصناعية.

التقسيم الموسمي الذي يعتمد أساسا على المحتوي الكلي من المواد الفعالة طبيا خلال فصول السنة [4] .

I.1.4. طرق استخدام النباتات الطبية:

أوضح Hamburger et Hostetman (1991) أن استخدام النباتات الطبية يكون على شكلين:

الشكل الخام: و يكون على عدة أشكال مثل المنقوع، الزيوت العطرية، و مستخلصات الأصباغ.
الشكل النقي: يكون فيها العنصر الفعال المسؤول عن الأثر العلاجي محددا و معرفا كيميائيا، وتستخدم المركبات النقية عموما عندما تكون المقومات الفعالة ذات تأثير قوي وخاص [5] .

I.1.5. أهمية النباتات الطبية:

من العوامل التي أدت إلى الاهتمام بزراعة النباتات الطبية واستثمارها في الفترة الأخيرة هو أن النباتات الطبية تعتبر مصدر طبيعي لصناعة الأدوية، وهذا يعود لاحتوائها على مواد فعالة تعمل كحافز منشط لهذه النباتات في علاج الأمراض بشكل فعّال وناجح، كما تستخدم كتوابل وبهارات للأطعمة مما يكسبها طعماً ولوناً ُمميزا، تستعمل أيضا في صناعة العطور ومواد التجميل و في صناعة المبيدات الحشرية بفضل قدرتها الطاردة والقاتلة للعدوان الخارجي من حشرات وفطريات [6] .

و تكمن أهمية النباتات الطبية في احتوائها على مواد كيميائية فعالة ذات أهمية كبرى و فائدة عظمى لامتلاكها تأثير فسيولوجي ونشاطا علاجيا على أعضاء الكائن الحي، فالنبات الواحد يمكن احتوائه على عدة مواد فعالة تعالج عدة أمراض وذلك لوجود فعل المؤازرة المتوفر طبيعيا في النبات حيث يؤدي تداخل تأثير مادة فعالة مع أخرى إلى الأثر البالغ في إحداث الشفاء دون أثار جانبية و إن تأثير المواد الفعالة طبيا يختلف حسب تركيزها و محتواها و نوعها في النبات [7].

6.1.I. طرق استخلاص النباتات الطبية:

إن معرفة طرق الاستخلاص ضرورية من أجل التمكن انطلاقا من نبتة طبية الحصول على عقار طبي، لذلك فإن طرق الاستخلاص تمكن من عزل العديد من المواد الفعالة التي تكون معرفتها ضرورية في الدراسة الكيميائية للنبتة، وعليه إن طرق الاستخلاص حسب ما ذكره [8] . (جعفر،2007) تنقسم إلى:

- طرق الاستخلاص بواسطة المذيبات.
- طرق تستعمل عمليات الادمصاص.
- طرق حديثة في التنقية.
- طرق بيولوجية.

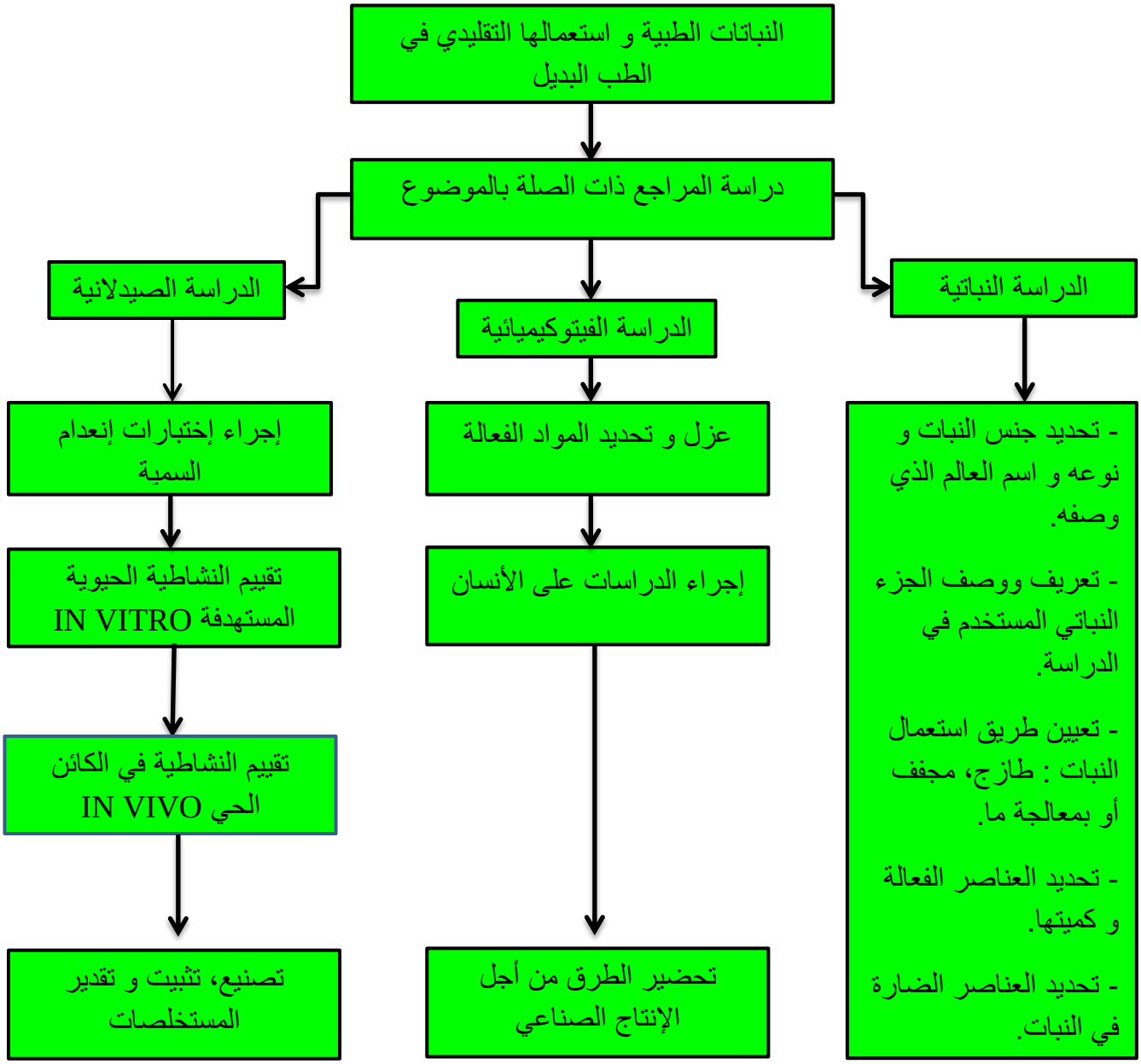
7.1.I. دراسة النباتات الطبية:

عموما إن الاستعمال الشعبي و التقليدي للنبات في الطب البديل هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النباتات الطبية من ناحية النشاطية الفيزيولوجية و الطبية لأي دواء نباتي [9 – 4] .

و إن أول عمل يقوم به الباحث هو استخلاص و تنقية المواد الفعالة من أعضاء النبات ثم دراسة خواص المادة و صفاتها الكيميائية و تحديد بنيتها الكيميائية ودراسة فعاليتها العلاجية و السمية و الجرعات المسموح بها و دواعي و محاذير استعمالاتها من عدمه [8] .

و دراسة النباتات الطبية يكون وفق منهجية محددة و متسلسلة يجب اتباعها خطوة بخطوة لأجل الحصول نتائج إيجابية موضحة في الشكل (1.I) .

و هذه المنهجية هدفها الأساسي إنتاج عقاقير طبية نافعة شرط أن تكون هذه العقاقير خالية من الخطورة و تتصف بخلوها من الأثار و الأعراض الجانبية لذا يلزم فحص فعالية العقار الطبي قبل الإنتاج الصناعي [9] .



الشكل(1.I): مخطط دراسة النباتات الطبية [9] .

و نظرا لأهمية الطبية للنباتات فقد تطرقنا إلى القيام بدراسة فيتو كيميائية و تثمين الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات التالغودة الذي ينتمي إلى العائلة الخيمية .

I.2. العائلة الخيمية (Apiaceae):

I.2.1. تعريف العائلة الخيمية(Apiaceae):

تعرف العائلة الخيمية بفصيلة الجزر، اسمها مشتق من الكلمة اللاتينية *Umbella* و تعني الشمسية أو المظلة و تسمي: *Aeaecaip* و *Ueaerefillebm* و *Ueaecalleebm* [10].

إن نباتات هذه العائلة حسب ما ذكره [11] . (بدران، 2000) أشجار أو أعشاب لها أوراق بسيطة مركبة، وأزهارها صغيرة خنثوية منتظمة علوية، لها محيط واحد من الأسدية، وكربلتان فقط وتحتوي كل كربلة على بويضة واحدة، وتتجمع الأزهار في نورات خيمية.

و تعتبر من العائلات الراقية تضم ثلاث مجموعات تحتية: *Apioïdeae* و *Saniculoïdeae* و *Hydrocotyloideae*، تحوي أكثر من 3500 نوع و نحو 455 جنس، تنتشر في مختلف أنحاء العالم، خاصة في المناطق المعتدلة و الجافة من نصف الكرة الشمالية [12] . مصنفة في الفلورا الجزائرية ب 55 جنس و 130 نوع [13].

I.2.2. الخواص المورفولوجية للعائلة الخيمية:

نباتات هذه الفصيلة أعشاب حولية أو معمرة ذات سيقان جوفاء لكنها مصمتة عند العقد، والأوراق متبادلة ومركبة ومفصصة أو راحية، وقلما تكون بسيطة، و للورقة غمد عند قاعدتها يغلق الساق عند العقدة و هي عديمة الأذنيات [11].

- **الأوراق:** تظهر تفاوتا واضحا في أشكالها، وبصفة عامة تكون غالبا مركبة ريشية ذات وريقات ريشية كذلك، متبادلة الوضع على الساق وهي غالبا معنقة وذات قواعد غمدية عريضة، وللأوراق غالبا روائح مميزة لاحتوائها على زيوت طيارة متفاوتة التركيب .
- **الزهرة:** على شكل مظلة أو خيمة مقلوبة مركبة و نادرا ما تكون بسيطة، تحيط بها جملة قنابات تسمى القلافة، تكون صغيرة في نورات خيمية مركبة في الغالب ونادرا في نورات خيمية بسيطة، ثنائية الجنس منتظمة، يتكون الكأس من خمسة سبلات سائبة، والتويج من خمسة بتلات سائبة مصراعية.
- **الثمرة:** هي الجزء الهام في نباتات هذه العائلة، مشققة وتنقسم إلى ثمرتين وعلى كل واحد منها أضلاع ظاهرة توجد بها أشواك أو شعور و الزوائد المختلفة التي تميز الأنواع، بالإضافة إلى أضلاع ثانوية توجد بها قنوات زيتية و بعد نضوج الثمرة تظهر القنوات كخطوط سواء على الجدار الخارجي [14] .

I.3.2. أهمية و استعمالات نباتـات العائلة الخيمية:

تمتلك أجناس هذه الفصيلة عدد كبير من الأنواع مزروعة منذ زمن طويل بصفتها خضارا و أعلاف و نباتات عطرية لذا نفهي ذات أهمية من الناحية الاقتصادية؛ حيت تستغل منتجاتها كطعام و توابل و تزرع بعض نباتاتها في الحدائق للزينة و منها ما له من استخدامات و استعمالات في الجانب الطبي، على سبيل المثال نذكر؛ البسباس (الجنس *Foenculum*)، الكرفس (الجنس *Apium*) و هذه أطعمة وأغذية متداولة كثيرا أما الكسبرة الخضراء(الجنس *Anthérieus*)، الكروية(الجنس *Carum*)، اليبسون (الجنس *Pimpinella*) فتضاف كلها إلى الغذاء لإعطائه النكهة الطيبة، و تغرس كل من حشيشة الملك (الجنس *Angelica*)،الشقاقيل (الجنس *Eryngium*) و نباتات الزهرة الزرقاء المزركشة (الجنس *Trachymene*) في الحدائق للتزين [15].

أما من الناحية الطبية، فتستعمل الزيوت التي تستخلص من بعض نباتات هذه العائلة كطارد للغازات و كمنبه للمعدة و ضد المغص. و تستخرج مادة راتينجية (resin) من بعض أنواع الجنس *aluref* لعلاج حالات السعال و الربو، و لبذور الخلة *ammi visnaga* فوائد عظيمة؛ فهي تساعد على نظافة الكلى مما بها من حصى، كما أثبتت الدراسات أن زيت بذورها (الخلين) دواء شافي للذبحة الصدرية أما البقدونس (الجنس *Petroselinium*) فوائد كثيرة فهو يعتبر فاتح للشهية و مسكن للألام بعض الشيء و يستخدم عصيره في حالات التهاب الكبد البسيطة و له أثر فعال في إيقاف اليرقان عند حدوث الإصابة به، و بالمقابل تشتمل بعض الأنواع على قلويدات سامة تفتك بالحيوانات العشبية عند تناولها، و يعتبر نبات *Conium maculatum* نبات شديد السمية يحوي قلويد الكونين *Coniine* ذو رائحة مميزة كان يعطي كسم عند قدماء اليونانيين كعقوبة للموت، و يقال أن الفيلسوف الشهير**"سقراط"** مات بعد أن شرب عصير هذا النبات [16].

I.3. جنس *Bunium*:

جنس نباتي ينتمي إلى الفصيلة الخيمية، يضم هذا الجنس حوالي 166 نوعا موزعة في أوروبا و شمال إفريقيا و جنوب وغرب ووسط آسيا [17]، توجد في الجزائر سبعة أنواع متوطنة [18] :

Bunium incrassatum (Boiss.) Batt. et Trab.

Bunium fontanesii (Pers.) Maire.

Bunium chaberti Batt.

Bunium elatum Batt.

Bunium crassifolium Batt.

Bunium macuca Boiss.

Bunium alpinum Waldst et Kit.

4.I. نبات التالغودة "*Talgouda*":[21-20-19]

الإسم العلمي للنبات: *Bunium incrassatum (Boiss.) Batt. et Trab*.

إسم النبات في الجزائر: التالغودة (*Talgouda*).   **إسم النبات بالعربية(الأنطاكي)**: الجوز الأرقم.

إسم النبات بالفرنسية: *Chataigne de terre*.   **إسم النبات بالبربرية(ابن بيطار)**: آاكثار.

إسم النبات بالأنجليزية: *Earth chestnut*.   **إسم النبات في بلاد القيروان سابقا**: البلغوطة

1.4.I. الوصف المرفولوجي لنبات التالغودة:

نبات بري، حولي من جنس *Bunium* تابع للفصيلة الخيمية، أكثر ما ينبت في حقول الزرع كحقول القمح و الشعير، أصولها تحت الأرض أدران و عساقيل سوداء خارجيا وبيضاء داخليا كلوية الشكل و تنفرك بسهولة ، ساقها مستديرة جرداء نحيلة يبلغ ارتفاعها حوالي نصف متر، أوراقها خيطية أو متقطعة تشبه الجزر، أزهارها خيمة بيضاء اللون؛ تظهر عند نهاية الأغصان كأنها أكاليل مستديرة تشبه اكليل الشبت أقطارها مابين 5 و 7 سم ، بذورها دقيقة تشبه بذور البستناج [19 -20] . و الشكل(2.I) يمثل صورة فوتوغرافية لمختلف أعضاء نبات التالغودة .

الشكل(2.I): (أ.ب.ج.د) صور مختلف أعضاء نبات التالغودة.

2.4.I. التصنيف النظامي لنبات التالغودة: يصنف نبات التالغودة حسب ما ذكره المصدر [21]، في الجدول (1.I)

الجدول (1.I): التصنيف النظامي لنبات التالغودة.

Règne	**Plantae**	**المملكة**
Embranchement	***Spermaphytae***	**الفرع/ الشعبة**
Sous embranchement	***Angiospermae***	**تحت الفرع/ تحت الشعبة**
Classe	***Dicotyledonae***	**القسم/ الصنف**
Sous classe	***Rosidae***	**تحت القسم/ تحت الصنف**
Ordre	***Apiales***	**الرتبة**
Famille	***Apiaceae***	**العائلة**
Sous -famille	***Apioideae***	**تحت العائلة**
Genre	***Bunium***	**الجنس**
Espèce	***Bunium incrassatum (Boiss.) Batt. et Trab***	**النوع**

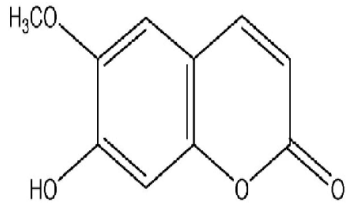
3.4.I. المسح البيولوجي لنبات التالغودة:

يمتلك نبات التالغودة خصائص طبية عديدة، وتكمن العناصر الفعالة في الزيوت و النشاء ، تعتبر بذورها مسهلة و أدرانها هاضمة؛ تزيل الانتفاخ وتدر البول ، يستخرج منها زيت طيار مضاد لغازات المعدة والمغص، يستعمل دقيق أدران التالغودة في المستحضرات الطبية ، وقد ذكر أن البربر قديما كانوا يجمعونها و يعملون من أدرانها خبزا يأكل بالزبد، و قيل أنها تدر اللبن و الحليب للمرضع ، هذا و تستعمل كدواء للسعال و التهاب التشعبي (القصبات الهوائية) ، مفتت للحصى وطاردة لديدان البطن ، و الإكثار من أكل التالغودة يسبت و يخدر و يصلحها شرب اللبن لأنها تعتبر من النباتات السامة قليلا [19 -20].

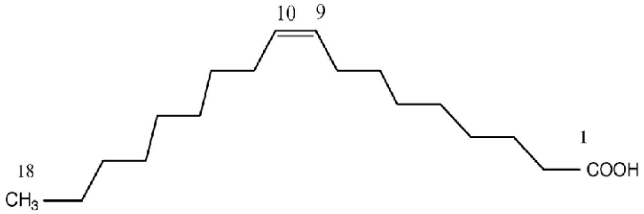
4.4.I. المسح البيبليوغرافي:

في سنة 2011 م ولأول مرة قامت كل من **Ahlem Bousetla** و معاونوها [22]، بدراسة درنات نبات التالغوذة و تم عزل 5 مركبات بواسطة المستخلص الميثانولي: ثنائي كلور الميثان [1:1] بطريقة

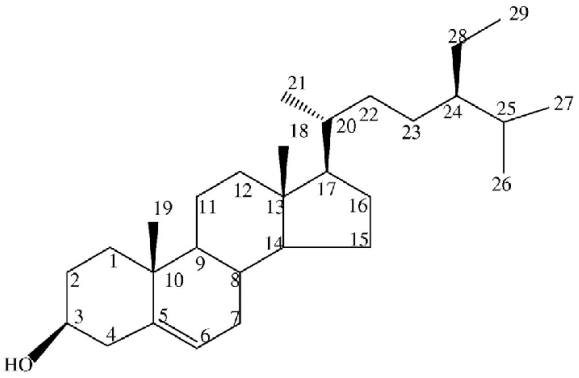
النقع لعدة أيام متتالية، تم خلالها الحصول على سائل لزج عسلي ثم تم الفصل بواسطة عمود الكروماتوغرافيا عبر أنظمة مذيبات مختلفة حسب التدرج في القطبية ، وتم دراسة الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا. و الشكل (3.I) يمثل المركبات الكيميائية المفصولة من نبات التالغودة :



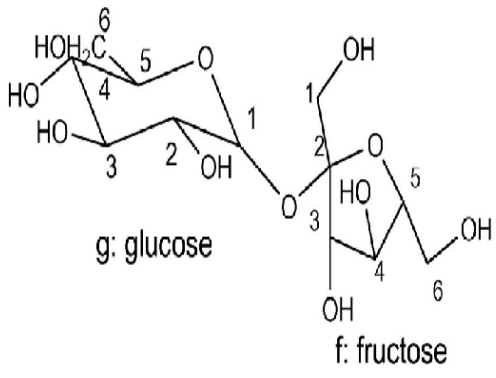
Scoparone -أ- **Scopoletin -ب-**



Oleic acid -ج-



β-Sitosterol -ه-



Sucrose -د-

الشكل(3.I): (أ-ب-ج-د-ه) المركبات الكيميائية المفصولة من درنات نبات التالغودة .

قائمة المراجع:

المراجع باللغة العربية:

[1] أحمد شمس الدين، (2000). التداوي بالأعشاب والنباتات قديما وحديثا – الطبعة الأولى، دار الكتب العلمية بيروت – لبنان :ص9–10. ISBN: 978-2-7451-0508-0

[2] أحمد توفيق منصور، (2003). الدليل الكامل بالأعشاب و النباتات الطبية، الأهلية للنشر و التوزيع: ص438.

[3] إيمان أبو القاسم زهور البلبالي، زهوة عثمان، عمر محمد أبوخريص، علي فرج هواد و إبراهيم السنوسي المختار، (2016).دراسة التأثير الحيوي للمستخلص المائي والعضوي لنبات حبة البركة ونبات حب الرشاد على بعض أنواع البكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة جرام، مجلة جامعة سبها "العلوم البحتة والتطبيقية" المجلد الخامس عشر العدد الأول.

[4] م.هيكل،ع.عبد الرزاق، النباتات الطبية و العطرية، كيمياؤها، إنتاجها و فوائدها.1993 ، منشآت المعارف.الإسكندرية : ص 13-113-157.

[6] أحمد فرج العطيّات، (1995).النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي: زراعتها – معالجتها– تصنيعها – الباب الأول– الفصل الأول (القيمة الاقتصادية للنباتات الطبية والعطرية): ص 23-22–21.

[8] ج.زمالي، (2007)،دراسة فيتو كيميائية و بيولوجية لنبتة الصحراوية Solanum Nigrum، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في التحضير العضوي و الفيتوكيمياء، جامعة ورقلة، الجزائر:ص 4-6.

[11] إبراهيم بدران،(2000). موسوعة نباتات العالم. دار أسامة للنشر والتوزيع الأردن- عمان: ص216 -219 .

[14] د.شـــ ـكري إبراهيم سعد(1994)، النباتات الزهرية نشأتها و تطورها، مطابع دار الفكر العربي ،القاهرة،مصر.

[15] أ.ج ورجٍ.و.لورانس (1969)، تصنيف النباتات الوعائية، مطابع دار الفـــــكر العربي ، القاهرة، مصر.

[16] د.عبد العزيز الصباغ(2004)، التصنيف النباتي، طباعة منشورات جامعة دهشق، دهشق،سوريا.

[19] أ.د.محمود حلمي عبد القادر(1997)،النباتات الطبية ،الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة، الجزائر.

[20] ابن البيطار ضياء الدين الأندلسي(2001)، الجامع لمفردات الأدوية و الأغذية، الجزء الأول، دار الكتب العلمية، بيروت، لبنان.

المراجع باللغة الأجنبية:

[5] Hamburger, K.Hostettmaun., (1991). Bioactivity un plants. The link between phytochemisty au et une dicime, phytochemistry,P:3864-3874.

[7] El-khatragy, (1995).Arabe of drungs and medi cinal Plantes,Alixendria , P: 1-31 .

[9] Franswothn.R. AkereloO.,BingelA. S.,Soej qrto D.D.et GuoZ.(1986).Place Des Plants medicinales Dans la Therapeutque.Bull.O.M. S.64(2), 159 -175 .,2nd

[10] Hostettmann,K (1997) Tout savoir sur le pouvoir des plantes , eds Favre SA, Lausanne, Suisse.

[12] Gaussen, H., Leory, J.F., Ozenda,P(1982) Précis de Botanique, Végéteaux Superieures (2éme édition), eds Masson, Paris, New York.

[13] Quezel, P., Santa, S (1963) Nouvelles flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, eds du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome II.

[17] Vasilava MG, Klingkov EV, Pimenov MG., 1985**:** Karyotaxonomic analysis of genus *Bunium*. Plant Systematics and Evol 149: 71- 88.

[18] Quézel P. & Santa S., 1962. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.

[21] Dupont F. & Guignard J.-L., 2012. Botanique. Les familles des plantes. Abrégés de Pharmacie. 15 e édition. Elsevier Masson..

[22] Bousetla,A., Zellagui,A., Derouiche, K., Rhouati, S(2015) Chemical constituents of the roots of Algerian Bunium incrassatum and evaluation of its antimicrobial activity. Arabian Journal of Chemistry ,8:P.313-316.

الفـــصـــــل الثاني

المنتجات الطبيعية
و المواد الفعالة

1.II المنتجات الطبيعية:

1.1.II تعريف المنتجات الطبيعية:

هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية ، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة [1].

2.1.II تصنيف المنتجات الطبيعية:

تصنف المنتجات الطبيعية حسب ما ذكره [2] . (Simpson,1984) إلى قسمين كبيرين:

القسم الأول مركبات داخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية (Les Métabolites Primaire) التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، و البروتينات والأحماض النووية . و تعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني المتمثلة في مركبات الأيض الثانوي(Métabolite Secondaire).

وهناك ثلاث مواد رئيسية : حمض الشيكميك، الأسيتات، والأحماض الأمينية، تعتبر وحدات البناء للأيوض الثانوية وتقسم منتجات الأيض الثانوي في حد ذاتها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر لآخر، فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيراتها الفيزيولوجية (إذ يستخدم بعضها كمضادات حيوية، وبعضها مضادات جرثومية و البعض الآخر مسكن للآلام) ، كما قد تصنف وهي أكثر الحالات شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات ، حيث تصنف إلى:

- التربينات و مشتقاتها .
- المركبات الفينولية .
- القلويدات.
- المضادات الحيوية والفيتامينات .

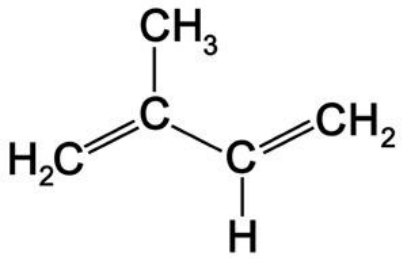
من الناحية الكيميائية تعد العائلة الخيمية غنية بنواتج الأيض الثانوي، كالكومارينات و الفلافونيدات و أيضا الأحماض الفينولية، التربينات خاصة الأحادية منها أو ما يعرف بالزيوت الطيارة و إضافة إلى تواجد بعض القلويدات البيريدنية و المركبات الأستيلنية في بعض منها [3-4] .

2.II المواد الفعالة:

تعتبر المكونات الكيميائية الفعالة للنباتات الطبية من عمليات ما بعد عملية التمثيل الضوئي المباشر كالغليكوسيدات الثابتة أو غير المباشرة كالقلويدات والزيوت الطيارة وغيرها، وتبعا لفاعليتها العلاجية لكثير من الأمراض وسرعة شفائها وإزالة أعراضها لذلك تسمى هذه المنتجات بالمواد الفعالة Active Ingredients وأهم هذه المواد هي:

1.2.II التربينات *Les Terpenes*:

هي مركبات هيدرو كربونية الوحدة البنائية لها هي الإيزوبرين *Isoprène* (C_5H_8) ذات 5 ذرات كربون وهي ناتجة عن تجمع من وحدات الـ *Isoprène* ، وفي أوائل القرن العشرين تمكن Ruzicka من إكتشاف الوحدة الأساسية لبناء التربينات الإيزوبرين *Isoprène* [5]. كما هو مبين في الشكل(1.II):



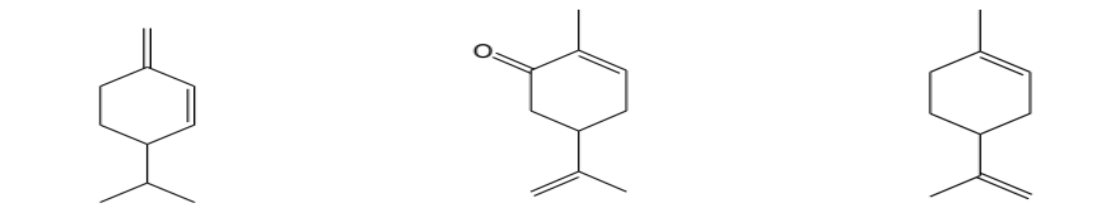
الشكل(1.II): بنية *Isopréne*

وحسب هذه القاعدة تقسم التربينات حسب ما ذكره [6]، (Guignard). كما هو موضح في الجدول (1.II) إلى:

الجدول(1.II): تقسيمات التربينات.

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الإيزوبرين
10	أحادي التربين Mono Terpénes	2
15	سيسكوتربين Sesqui Terpénes	3
20	ثنائي التربين Di terpénes	4
30	ثلاثي التربين Tri terpénes	6
40	رباعي التربين Tetra terpénes	8
أكبر من 40	متعدد التربين poly terpénes	أكبر من 8

تستخدم العديد من التربينات كإضافات في الصناعات الغذائية و مستحضرات التجميل و تعتبر كمضادة للميكروبات، مضادة للسرطان و مضادة للإلتهاب [7]. و يوضح الشكل(2.II) أمثلة عن بعض التربينات الأحادية التي تم فصلها من العائلة الخيمية [8]:



Limonene -أ- Carvone-ب- β-phellandrene-ج-

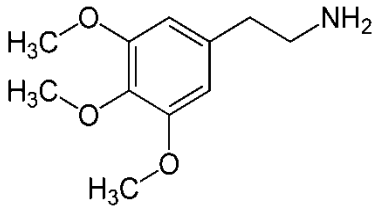
الشكل(2.II): (أ-ب-ج) بعض التربينات الأحادية المفصولة من العائلة الخيمية.

2.2.II القلويدات *Alkaloids*:

أدخل مصطلح قلويد في عام 1818م من طرف (Meissner) وهذه الكلمة تطلق على كل مركب عضوي قاعدي له الصفات القلوية ومنها اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد وهي القاعدة النباتية و بصفة عامة القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة التركيب الكيميائي تحتوي على وظيفة حمضية أمينية واحدة أو عدة وظائف [10-9]. و تنقسم القلويدات إلى ثلاث أقسام رئيسية هي:

- القلويدات الأولية(أشباه القلويدات) *Protoalkaloids* :

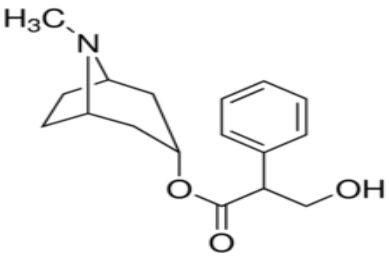
هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدية، ويتم تخليق القلويدات داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية وغالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية [10-9] . ومثال على القلويدات الأولية موضحة في الشكل (3.II) :



الشكل(3.II): بنية Mescaline

- القلويدات الحقيقية *True alkloids*:

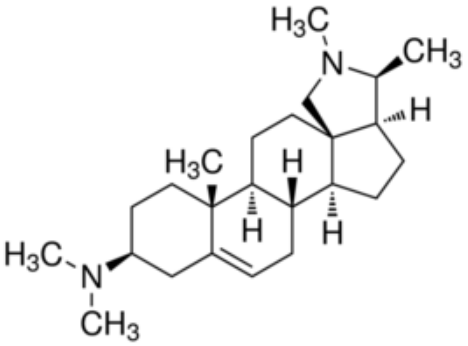
هي قلويدات سامة ولها تأثيرات فيزيولوجية متباينة ومختلفة في القاعدية وتحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الأمنية وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية [10-9]. و مثال على القلويدات الحقيقة ما يمثله الشكل (4.II) :



الشكل(4.II): بنية Atropine

- القلويدات غير الحقيقية *Pseudoalkaloids*:

هي قلويدات لها نفس خصائص القلويدات الحقيقية ولاكنها لا تشتق من الحموض الأمينية ، ينـدرج تحت هذا القسم القلويدات السيتيرودية والقلويدات بيورينات (purines) مثلما يمثله الشكل(5.II) لبنية كل من caffeine، conessine التي تعتبر قلويدات غير الحقيقية [10-9].



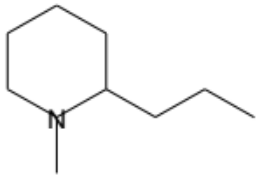
-أ- بنية Conessine

-ب- بنية Cafeine

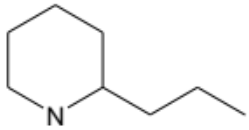
الشكل (5.II): (أ-ب) قلويدات غير الحقيقية

لقد كان المصدر الرئيسي للقلويدات في الماضي النباتات الزهرية إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة مثل الحشرات والكائنات البحرية الدقيقة ، ولا يزال عدد القلويدات التي تم استخلاصها من النباتات الزهرية يفوق عدد القلويدات التي تم استخلاصها من المصادر الأخرى ، وعليه فهي الأكثر لفتا للانتباه ، و تنتشر هذه المركبات في الكثير من الأجناس المختلفة في فصائل نباتية مختلفة ،كما هو الحال في الفصيلة الخيمية التي تشتهر بالقلويدات البيريدينية لاكن بكميات قليلة [11] .

من بين النباتات الأكثر سمية نبات الشكران *Conium maculatum* الذي ينتمي إلى العائلة الخيمية، يحوي بعض القلويدات البيريدينية مثل: *coniceine, pseudohydrine, conhydrine* *N-coniine ,N- methylconiine* وهي قلويدات شديدة السمية الشكل (6.II) [12] .



-أ- بنية N-methylconiine



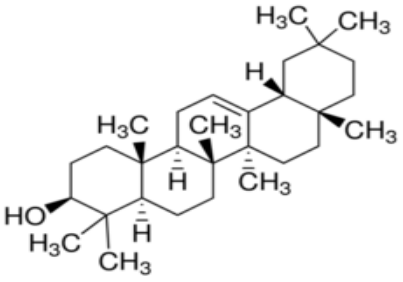
-ب- بنية Coniine

الشكل (6.II): بعض قلويدات نبات الشكران*Conium maculatum*.

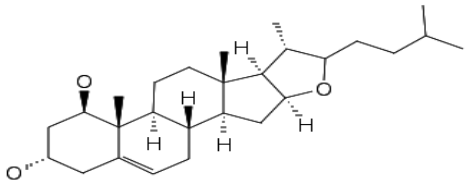
إن التأثير الطبي للقلويدات يختلف حسب نوع القلويدات فمثلا المورفين Morphine و الكودايين Codaine قلويدان مسكنان ومخدران، والكافيين Caffeine يعتبر منبها و مزيل التعب، و بابافيرين Papaverine مخفف للآلام، و الفلفلين Piperine يعتبر مقو للمعدة، وكولشيسين Colchicine يستعمل لعالج الروماتيزم و عرق النسا و الإفدرين Ephedrine يسبب ارتفاع ضغط الدم، ويستعمل قلويد الأتروبين Atropine في جراحة العيون حيث يعمل على توسعة حدقة العين [13-14] .

3.2.II الصابونيات *Saponins* :

وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من إثنين إلى عشرة ، وعليه فالصابونيات ذات وزن جزئي عال وعند إماهتها تحرر سكرا أو عدة سكريات، (*D-xylose*،*D-galactose* ،*rhammose* ،*L-arbinose* ،*D-Fructose* ،*D-glucose*) مع genie يسمى *Sapogenine* هذا الأخير عبارة عن نواة إستيرويدية وقليل منها يتألف من نواة ثلاثية التربين. وقد إشتق إسمها من الكلمة اليونانية sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر لمدة طويلة [15] ، و تنقسم الصابونيات إلى قسمين هما : الصابونوزيدات ذات نوات ثلاثية التربين (Group des triterpènes) و الصابونوزيدات ذات نوات تربينية استرويدية (Group des steroids) و يمثل الشكل (7.II) صابونوزيد ذات نوات ثلاثية التربين وأما الشكل (8.II) فيمثل صابونوزيد ذات نوات تربينية استرويدية [15-16]:



الشكل (7.II): بنية β-amyrine



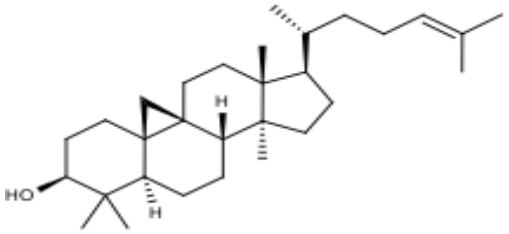
الشكل (8.II): بنية FUROSTANES

إن الصابونيات ذات genine إستيرويدية تتواجد في النباتات أحادية الفلقة مثل الفصيلة الأمارايلية و الأليلية و قليل جدا في ثنائية الفلقة ، بينما إذا كان genine ثلاثي التربين تكون نادرة جدا في أحاديات الفلقة لاكن تنتشر في ثنائيات الفلقلة [16] .

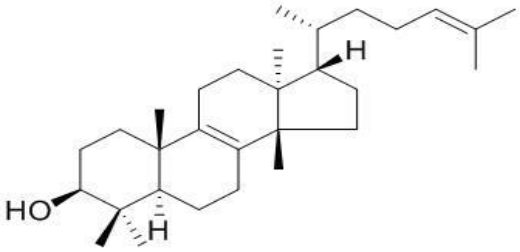
تستخدم الصابونيات كمضادات للبكتيريا و مضادات للفطريات ، و مضادة للالتهابات، و لها أثار سامة نسبيا على غذاء الإنسان و الحيوان [17] .

4.2.II الستيرويدات *Steroides* :

تعتبر الستيرويدات حسب ما بينه Makin ، أن الستيرويدات تربينات ثلاثية، رباعية الحلقة فقدت على الأقل ثلاث مجموعات مثيلية ، و تستخدم مثيلات المواقع 14,4,4 لتمييز الستيرويدات عن التربينات الثلاثية ، و يستخدم الاصطناعي الحيوي للتمييز بين الستيرويدات و التربينات ، فمثلا مركب *Cyclo-artenol* يحوي (C_{30}) يعتبر من الستيرويدات بينما *euphol* يحوي (C_{30}) هي تربينات رباعية، و يمثل الشكل (9.II) بنية كل من *Cyclo-artenol* و *euphol* [18]:



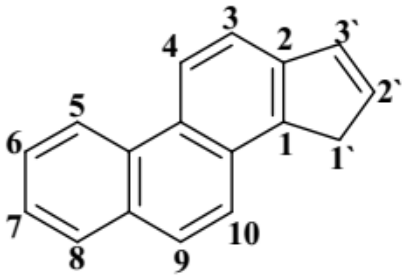
-أ- بنية Cyclo-artenol



-ب- بنية euphol

الشكل (9.II): بنية كل من *Cyclo-artenol* و *Dammaranes*

إن الستيرويدات فصيلة من فصائل المنتجات الطبيعية و هي واسعة الإنتشار في المملكتين الحيوانية و النباتية ، و تضم عدد كبيرا من المركبات الطبيعية و الاصطناعية مثل الستيرولات و الأحماض الصفراوية و الهرمونات الأدرينالية و الكوريتكالية و الجنسية و مختلف عقاقير منع الحمل و هرمونات الحشرات ، و هرمونات بعض الكائنات البحرية و اللاكتونات الفعالة قلبيا و السابوجينات و أشباه القلويدات الستيرويدية و بعض المضادات الحيوية، تصنع الستيرويدات في الخلايا الحية بواسطة إنزيمات محددة ، و قد اكتشف و اصطنع حتى الآن اكثر من 30 ألف من المركبات التي تنتمي إلى العائلة الستيرويدية ، تتميز الهياكل البنائية للستيرويدات بوجود الهيكل الذي يمثله الشكل (10.II): 1,2-cyclopentenophenathrene [19].

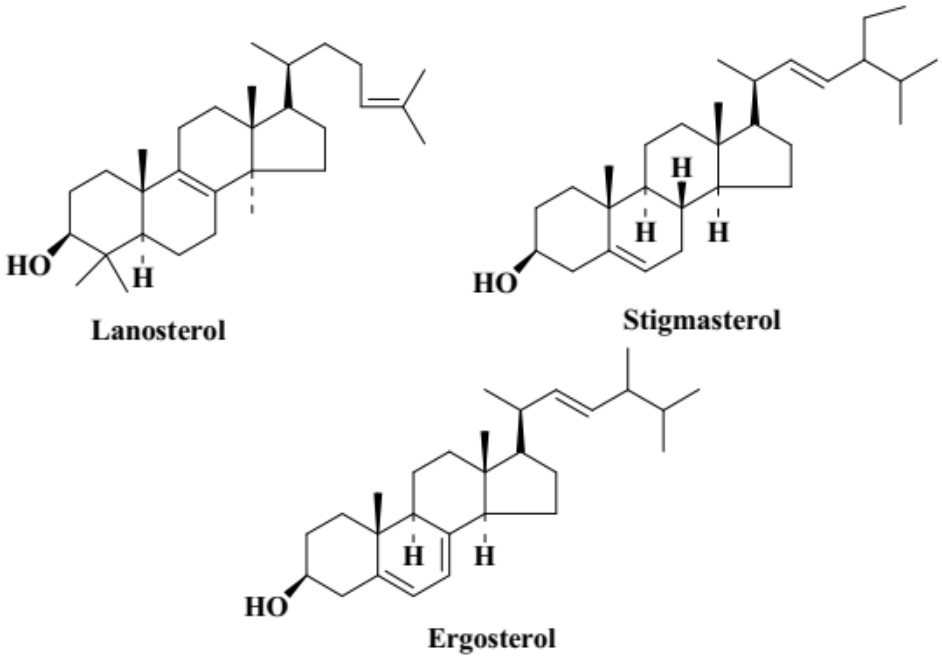


الشكل(10.II): بنية 1,2-cyclopentenophenathrene

5.2.II الستيرولات *Sterols*:

تعتبر الستيرولات حسب ما وضحه Danelssan، أن الستيرولات عبارة عن ستيرويدات أحادية الكربوكسيل تملك 27، 28، أو 29 ذرة كربون و جميع الستيرولات الطبيعية تملك مجموعة هيدروكسيل (OH) في الموقع 3 و معظمها تحتوي رابطة ثنائية أو أكثر في الموقع 5، 7، 22 [20] .

إن الستيرولات الأكثر انتشارا في الطبيعة هي؛ الكوليسترول و لانوسيترول و ستيغماسيترول و الإيرغوستيرول، و تختلف الستيرولات عن الكحولات العادية في كونها صلبة في الشروط العادية و هذا ما كان سببا في تسميتها بالستيرولات، حيث تعني الكلمة اليونانية "**Steres**" معناه صلب و تشير النهاية ol إلى وظيفة الكحول ،و الشكل (11.II) يمثل بعض الستيرولات الطبيعية [19] :

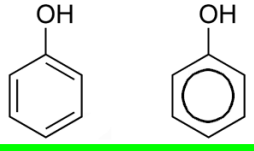


الشكل (11.II): بعض الستيرولات الطبيعية

إن الستيرولات هي مكونات مفترضة لكل الخلايا النباتية و الحيوانية مع استثناء ملحوظ للبكتيريا، حيث تغيب كليا . و هي مواد شمعية عديمة اللون تذوب في معظم الذيبات العضوية و لكنها لا تنحل في الماء ، تحوي مجموعة كحولية واحدة يمكن أن تكون مشبعة أو غير مشبعة و توجد في الطبيعة على شكل إسترات للأحماض الدسمة ، لم تتضح بعد بصورة كاملة وظائف الستيرولات في الخلايا الحية و لكنها تشكل جزءا من أغشية الخلايا [19] .

6.2.II الفينولات *Phenoles*:

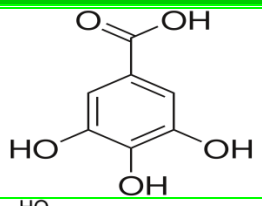
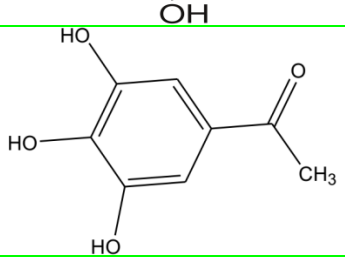
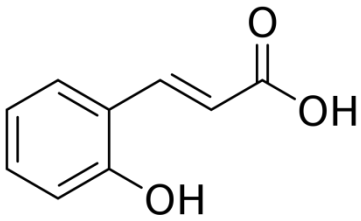
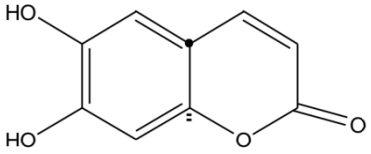
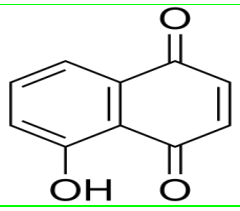
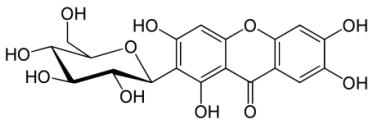
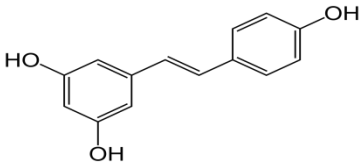
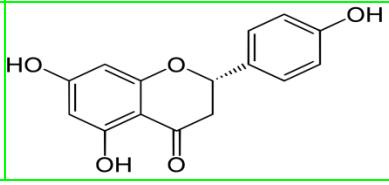
تتميز المركبات الفينولية بوجود حلقة بنزينية واحدة على الأقل، حاملة لمجموعة هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى (إيثر، أستر، سكر) غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية [21] ، إذ أن هناك منتجات أيضية ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا و لكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات كالمورفين (Morphin) و بعض التربينات كالتيمول (Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية و مجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة [22]، و عليه ليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا، يستوجب أن يكون على النحو التالي:
مشتق غير أزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى اصطنعت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيميك أو عديد الأسيتات [23]. و الفينول هو الهيكل الأساسي للمجموعة موضح في الشكل (12.II):



الشكل (12.II): بنية الفينول

تصنف المركبات الفينولية بعدة طرق فحسب العالم Marborne et Simmonds (1964) تم تصنيفها إلى مجموعات على أساس عدد ذرات الكربون في الجزيء [24] ،موضحة في الجدول (2.II):

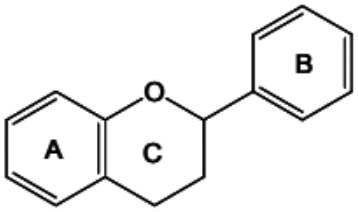
الجدول (2.II): تصنيف المركبات الفينولية حسب عدد ذرات الكربون في الهيكل الأساسي[25] .

N°C	Squelette	Classification	Exemple	Structure
7	C_6-C_1	Acides phénols	Acide galique	
8	C_6-C_2	Acétophénones	Gallacetophén-ones	
9	C_6-C_3	Acides hydroxycinamique	Acides ρ-coumarique	
9	C_6-C_3	Comarine	Esculitine	
10	C_6-C_4	Naphthoquinone	Juglone	
13	C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mangiferine	
14	C_6-C_2-C_6	Stilbénes	Resveratrol	
15	C_6-C_3-C_6	Flavonoïdes	Naringénine	

تستخدم الفينولات بشكل واسع في الاستعمالات العلاجية، فهي تحتوي على مكونات فعالة لـعـديـد من الأمراض: مضادة للسرطان ، مضـادة للالتهابات، مضادة للفيروسات، مضادة للجـراثيم، مضـادة للحساسية، ومضادات للأكسدة [26].

7.2.II الفلافونيدات *Les Flavonoïdes*:

اكتشفت الفلافونيدات من طرف عالم الكيمياء *Albert Szent-Györgyi* [27] ، و يرجع أصل كلمة الفلانويد إلى الكلمة اللاتينية flavus والتي تعني اللون الأصفرو تعتبر من أهم المجموعات الفينولية و تمثل القسم الأكبر لنواتج الأيض الثانوي للنبات و الفلافونيدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهارو الثمار [28] ، تحتوي على 15ذرة كربون موزعة على الشكل C6-C3-C6 تتكون من حلقتين عطريتين (حلقة A وB) مرتبطة بثلاث ذرات كربون التي تشكل حلقة غير متجانسة من نوع البيران(حلقةC) تحوي عنصر أكسجين و الهيكل الأساسي للفلافونيدات موضحة في الشكل (13.II) [29]:

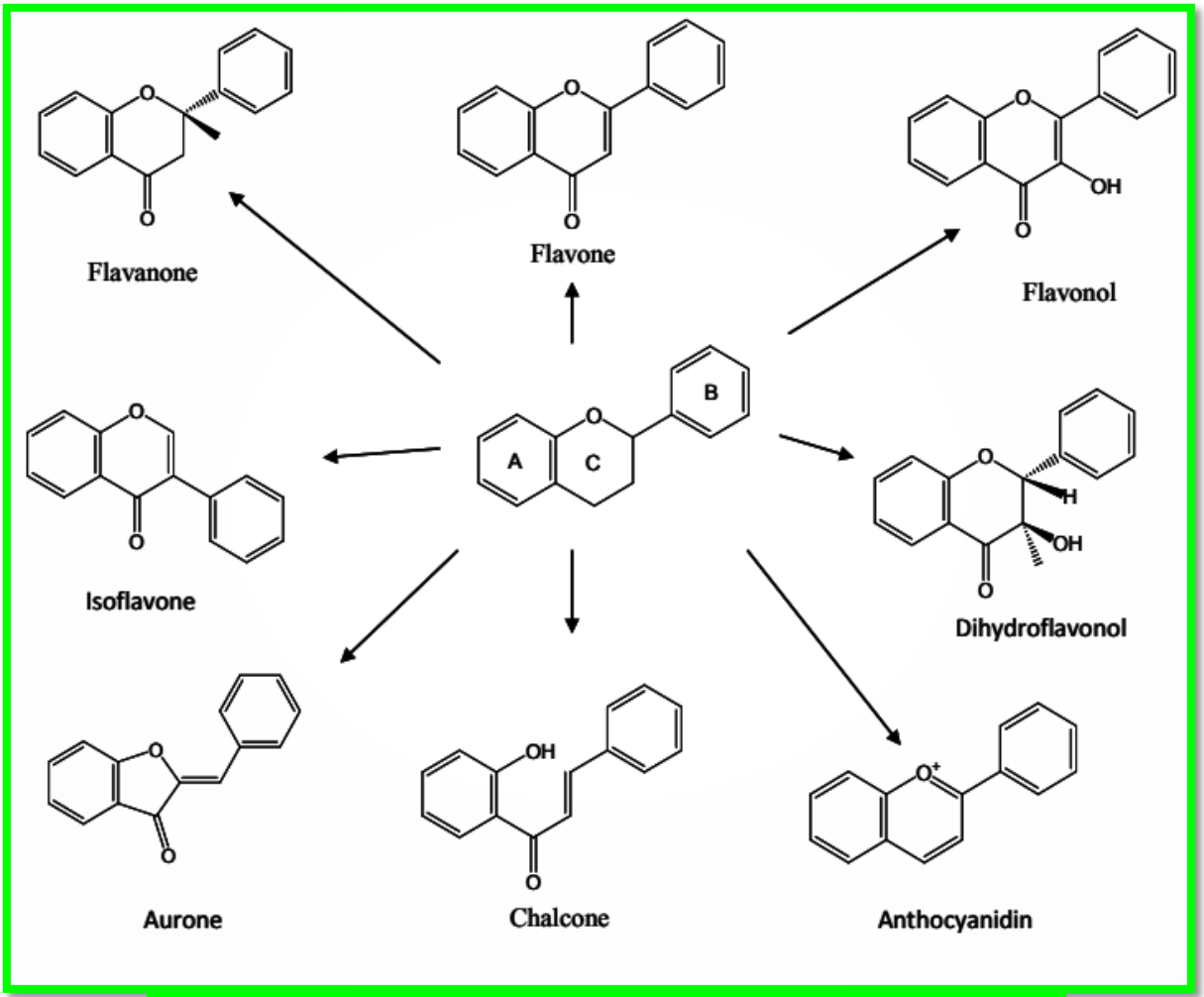


الشكل (13.II): الهيكل الأساسي للفلافونيدات

للفلافونيدات الموجودة في النباتات دور كبير وفوائد صحية متنوعة منها: الوقاية من أمراض القلب، الأوعية الدموية، الاضطربات العصبية، تصلب الشرايين، مرض الزهاير، تنشيط امتصاص الكولسترول التهاب الأمعاء و المفاصل [30-31]. مضادة للسرطان، الالتهابات ، هشاشة العظام ، الفيروسات و المكروبات [31-32].

حظيت الفلافونيدات بالدراسة الوافرة منذ اكتشافها حيت تم احصاء أكثر من 6000 مركب فلافونيدي من أنواع نباتية مختلفة و تم تحديد البنى و تصنيفها حسب عدد وموضع وطبيعة المستبدلات التي تكون في أغلب الأحيان عبارة عن مجموعة ميثوكسيل أو جليكوزيل أو تبعا لمستوى الأكسدة للحلقة غير المتجانسة [33].

و يكمن الفارق بين مختلف الفلافونيدات في وجود أو غياب مجموعة الهيدروكسيل أو مجموعات المثيل العدد و المواقع المختلفة و في تثبيت محموعة *O-glycoside* أو *C-glycoside* فنجد منها ؛ فلافون و فلافانون و فلافونول و إيزوفلافون و أورون و الشالكون موضحة في الشكل (14.II) [34]:



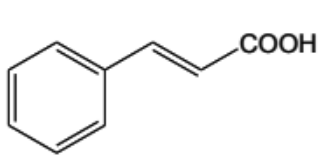
الشكل (14.II): مختلف الهياكل الفلافونيدية [3].

8.2.II الأحماض الفينولية *Les acides phénoliques* :

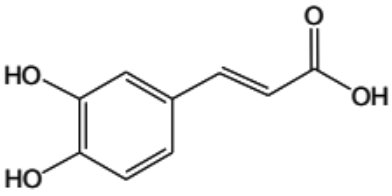
مركبات عضوية قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية ، تملك على الأقل وظيف كربوكسيلة و مجموعة هيدروكسيل فينولية ، و تنقسم إلى نوعان ؛ أحماض فينولية مشتقة من حمض البنزويك و أحماض فينولية مشتقة من حمض السيناميك [35]:

- **أحماض فينولية مشتقة من حمض السيناميك:**

تتكون هياكل هذه الأحماض الفينولية من C_6-C_3 و هي مشتقات حمض السيناميك (حمض القرفة) مثل حمض الفيروليك و حمض الكوماريك و حمض الكافييك واسعة الانتشار في مختلف المجموعات النباتية و غالبا ما توجد على هيئة أسترات ، و أيضا حمض الكلوروجينيك و الذي ينتشر في كثير من الفواكه و الخضر و يتركز بشكل ملحوظ في حبوب البن[36]، و من مشتقات حمض السيناميك حمض الكافييك موضحة في الشكل (15.II):



Cinnamic acid

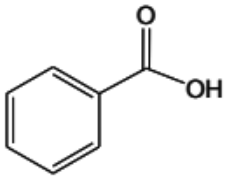


Caffeic acid

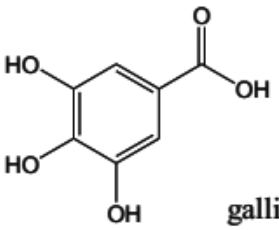
الشكل (15.II): بنية حمض الكافيك مشتق حمض السيناميك [3].

- **أحماض فينولية مشتقة من حمض البنزويك:**

تتكون هياكل هذه الأحماض الفينولية من C_6-C_1 و هي واسعة الانتشار في المملكة النباتية و من مشتقاتها حمض الغاليك موضح في الشكل (16.II) [37] :



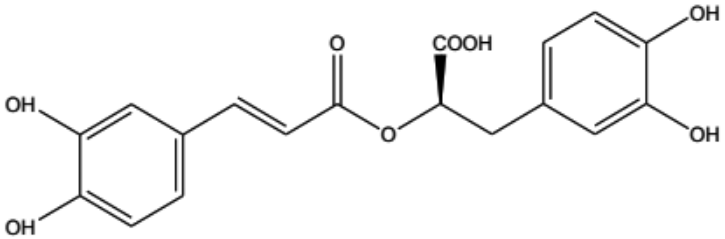
Benzoic acid



gallic acid

الشكل (16.II): بنية حمض الغاليك مشتق حمض البنزويك [3].

تعتبر بعض الأحماض الفينولية مركبات مضادة للأكسدة و مضادة للسرطان [38]، كما تتميز الأحماض الفينولية بفعالية بيولوجية أهمها الفعالية المضادة للبكتيريا مثل حمض الروزماريك الشكل(17.II) الذي وجد له فعالية مضادة للبكتيريا معتبرة [39]:

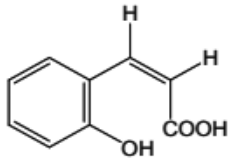


الشكل(17.II): بنية حمض الروزماريك acide Rosmarique [3].

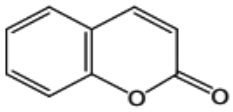
عندما يتأكسد حمض السيناميك في الوضع أروثو للسلسلة الجانبية له يكون حلقة لاكتون مع نزع جزئ الماء ، يؤدي إلى تكوين الكومارين و الذي يعتبر فيسيولوجيا من أنشط الفينولات فهو المسؤول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي تضر النبات [3].

9.2.II الكومارينات *les coumarines*:

أدخل مصطلح الكومارين أول مرة من طرف العالم "Vogel" سنة 1820 م ، الإسم مشتق من الكلمة *Coumarou* و هو الاسم الشائع لشجرة التانكا "Tanka" و المسمى علميا *Coumarou Odorata Aubt* ، و الكومارينات عبارة عن لاكتونات لحمض هيدروكسي سيناميك الشكل (18.II) تنتمي إلى مجموعة من المركبات تسمى *α-benzopyrone* الشكل (19.II) مكونة من حلقة بنزان مرتبطة بحلقة بيران [3].

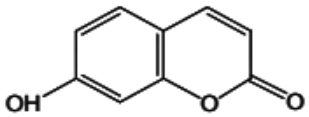


الشكل(18.II): بنية حمض هيدروكسي سيناميك



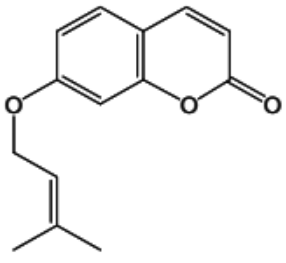
الشكل(19.II):بنية α-benzopyrone

يأخذ الكومارين الطبيعي اسما مشتق من الفصيلة النباتية، جنس النبات أو نوعه الذي فصل منه أول مرة مثل Uenorefillebm و الذي يسمى باسم 7- هيدروكسي كومارين موضح في الشكل (20.II):

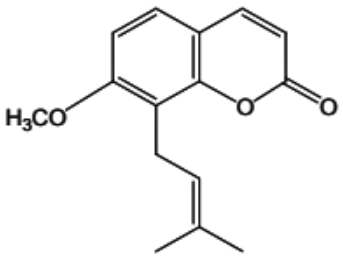


الشكل(20.II): بنية 7- هيدروكسي كومارين

مجمل الكومارينات البسيطة تكون مستبدلة بجذر الهيدروكسيل (-OH) أو الميتوكسيل ($-OCH_3$) بالموقعين 6أو 7 ، و تتواجد على شكل جليكوزيدات مرتبطة بجزء سكري من نوع (-OGlu) ، القليل منها مستبدل في الموقع 4، و يمكن أن تكون مجموعة Isoprene مرتبطة مباشرة إلى ذرة أكسجين كما في المركب 7-Isopentenoxylcoumarin موضح في الشكل (21.II) أو متصلة مباشرة بذرة كربون كما في المركب Olohts الشكل (22.II):

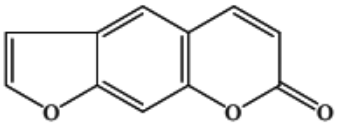


الشكل(21.II): 7-Isopentenoxylcoumarin

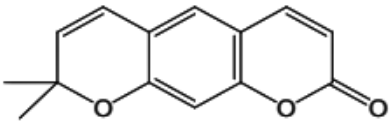


الشكل (22.II): بنية Olohts

تتميز أغلب الكومارينات الطبيعية بوجود حلقة إضافية إلى حلقتي نواة الكومارين وهذه الحلقة إما أن تكون خماسية فنحصل على مجموعة *furanocoumarin* مثل Psoralen موضح في الشكل(23.II) و إما أن تكون سداسية فنحصل على مجموعة *Pyranocoumarin* مثل المركب Xanthyletin موضح في الشكل (24.II) [40]:



الشكل(23.II): بنية Psoralen



الشكل (24.II): بنية Xanthyletin

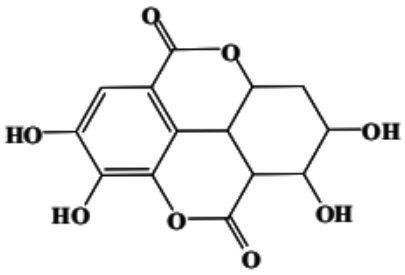
تعتبر الكومارينات من أهم المستخلصات الطبيعية إذ تستعمل كمواد حافظة للأغذية و تضاف إلى مستحضرات التجميل و العطور [41]، و تدخل في تركيبة بعض الأدوية المضادة لتخثر الدم [42]، و يستعمل البعض من الكومارينات كمبيد حشري و البعض الأخر له فعالية سمية على بعض العضويات المجهرية [43]، و عموما فإن الكومارينات لها فعالية مضادة للبكتيريا، مضادة للفيروسات [44].

10.2.II التانينات *Les Tanins*:

مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومذاق غير مستساغ، و هي ذات أوزان جزيئية تتراوح من 500 إلى 3000 وحدة، ترتبط فيما بينها بروابط C_4-C_8 أو C_4-C_6 قابلة للذوبان في المذيبات القطبية وتصنف حسب بنيتها الكيميائية إلى مجموعتين تانينات متحللة و مكثفة [45]:

- **التانينات المتحللة *Tanins hydrolysables*:**

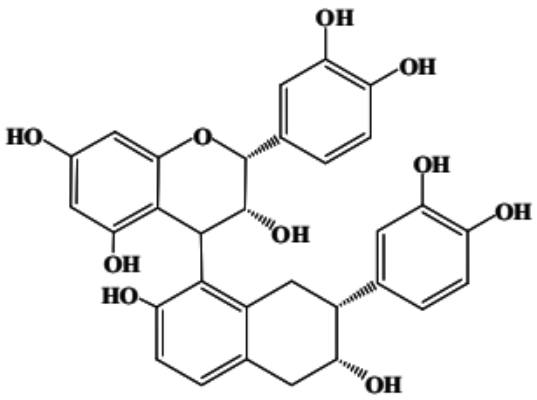
هي جزيئات معقدة تحتوي روابط استريه تحللها ينتج شق سكري و شق فينولي هو حمض الغاليك [46]، تذوب في الماء و تعطي اللون الأزرق مع كلوريد الحديد [47]، صيغتها ممثلة في الشكل (25.II):



الشكل (25.II): بنية التانينات المتحللة.

- **التانينات المكثفة *Tanins condensées*:**

مركبات ناتجة من بلمرة لجزيئات أولية تملك البنية العامة للفلافونيدات، حيث ترتبط فيما بينها بروابط كربونية (C-C) مما يجعلها صعبة الانحلال، تتألف من وحدات فرعية (Catechin) flavone-3-ols [48]، و تعطي اللون الأخضر مع كلوريد الحديد [47]، و صيغتها ممثلة في الشكل (26.II):

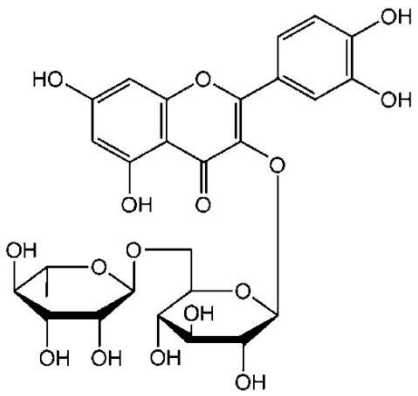


الشكل (26.II): بنية التانينات المكثفة

تستعمل التانينات في دباغة الجلود لأن لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن و قليلة النفاذية و يعزى ذلك إلى قدرتها على الاتحاد بالبروتينات [49]، و تستعمل طبيا في علاج الإسهال لمفعولها القابض للأمعاء، مضيق للأوعية و الحد من فقدان السوائل، كما تستعمل في الجروح السطحية و الحروق و تعمل على وقف النزيف لمفعولها القابض بالإضافة إلى تأثيرها المطهر و كمضادات للأكسدة لاحتوائها نوى الفينولات [50-51].

11.2.II الجليكوزيدات *Les Glucosides*:

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي، وكلمة الغليكوزيدات مشتق من ارتباط نوع خاص من المواد العضوية الناتجة من عمليات التمثيل و الأيض مع جزئ أو أكثر من السكريات البسيطة، و هذه الغليكوزيدات تتحلل سريعا بواسطة الأحماض المعدنية و النشاط الإنزيمي النوعي مكونة نوعين من المواد العضوية إحداهما سكري يعرف بالغليكون (glycon) و الثاني غير سكري يدعى بالأغليكون (aglycon) أو (genine) و هذا الأخير يعزى إليه التأثيرات الفيزيولوجية و العلاجية و كذا الخواص الكيميائية للغليكوزيدات، و تنقسم الغليكوزيدات تبعا لتركيبها الكيميائي و احتوائها على الغليكوزيدات المختلفة كيميائيا إلي عدة مجموعات غلوكوزيدية حسب الشق الغير سكري منها: مجموعة الغليكوزيدات الكحولية، الغليكوزيدات الفينولية، الغليكوزيدات الفلافونيدية، الغليكوزيدات السيانيدية، الغليكوزيدات الكبريتية، الغليكوزيدات الصابونية [5-9]، و الشكل (27.II) يمثل بنية مركب Rutine و الذي يتواجد في نبات الحنظة السوداء و هو أحد أنواع الغليكوزيدات الفلافونيدية ولون هذا الغلوكوزيد أصفر و يتحلل كيميائيا إلى جزء غلوكوز، جزيء رامنوز و مركب الأغليكون كرستين [52]:

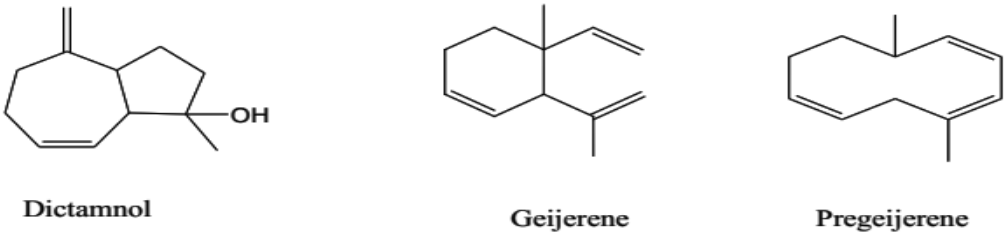


الشكل (27.II): بنية Rutine

تدخل الغليكوزيدات في العديد من العمليات البيولوجية، فالغليكوزيدات الصابونية مثلا تعتبر كمواد مضادة للأكسدة و للسرطان و كذا للإلتهابات، أما الغليكوزيدات الأنثوسيانيدية فتستخدم في الصناعات الصيدلانية كمواد ملونة و كأدوية للقلب، و الغليكوزيدات الأنثراكوينونية فتستعمل كمسهلات [53] .

12.2.II الزيوت الطيارة (الأساسية) *L'huile essentielle*:

الزيوت الطيارة أو العطرية هي عبارة خليط من مركبات تربينية غير مشبعة تتكون من جزء هيدروكربوني و جزء أوكسجيني مشتق منه عادة ذات رائحة عطرية وطيارة، وهي تربينات أحادية وسيسكوتربينات، وهذه الأخيرة تؤلف ذلك الجزء من الزيت الطيار الذي له درجة الغليان أعلى، لها عدة خصائص كالتبخر و التطاير بسرعة في درجات الحرارة العادية لذلك سميت بالزيوت الطيارة، لاتذوب في الماء ولاكن تذوب في المذيبات العضوية، مكوناتها لا تحمل في جزيئاتها مواد جلسيرنية أو دهنية وبالتالي لا تتصبن؛ لذلك تحافظ على طبيعتها و تقاوم التخمر و التعفن و لكن إذا عرضت للضوء و الهواءمباشرة تتبلمر و تتحول إلى راتنجات [54-55]، و تشتهر العائلة الخيمية بتوفرها على نسبة كبيرة من الزيوت العطرية على مستوى الأجزاء الهوائية لاحتوائها على قنوات زيتية [56] ، و الشكل (28.II) يوضح بعض الزيوت العطرية المفصولة من نبات العائلة الخيمية:



الشكل (28.II): بعض الزيوت العطرية المفصولة من نبات العائلة الخيمية[3].

تحوي الزيوت الطيارة على مركبات عطرية زيتية مركزة لها خصائص علاجية وتجميلية متعددة؛ تستخدم في صناعة العطور كزيت الياسمين و زيت الورد، تستخدم علاجيا كزيت شجر الكاليبتوس لعلاج أمراض الصدرية، زيت النعناع و زيت الينسون يضاف كل منهما لأدوية الأطفال لإكسابها رائحة وطعم مقبولين، هذا و يستعمل زيت القرنفل كمسكن لآلام الأسنان و اللثة [57].

قائمة المراجع:

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] Gill.M.(1993).in The Chemisty of natural products,2nd (ed.R.H.Thomson).Blackie Glasgow .pp : 60.

[2] impson. T.J.(1984)in the chemistiry of natural Products (ed.R.H. I'homson).Blackis. glasgow,pp : 107.

[4] Brunton, J (2009) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales(4émeédition), eds Lavoisier Technique & documentation. Paris.

[6] Guigpard. J.L.(2000)Biochimie végétale.2éme Ed. De I'Abréeé.pp.274.

[7] AYAD R., 2008 - Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *Zygophyllum cornutum (Zygophyllaceae).* Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de magister en Chimie Organique. Université Mentouri. 124 p.
[8] Grayson, D. H (2000) Monoterpenoids. Nat. Prod. Rep, **17**, 385-419.

[10] Bruneton.J.(1999) Pharmacognosie,phytochimie Plantes medicinales,2éme èdiom Lavoisier-techique et, docunetation.paris.
[11] Bahadur, A., Singh, D.P., Singh, P., Singh, J.S., Singh, U.P(19..) Phenolic constituents of *Centella asiatica* and *Andrographis paniculata*. Scolars Research.
[12] Vetter, J (2004) Poison hemlock (*Conium maculatum* L.). Food and chemical Toxicology.
[15] -Richter.E.(I 993)Metabolisme Des vègetaux Physiologie et Biochemie .

[17] Bruneton J., 2009- Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. (4ème éd.). Paris: Editions médicales internationnales, éditions Tec & Doc Lavoisier. p: 353.

[18] Makin.H.L.J (1984) Biochemisty of Steroid Hormones. 2nd End. Blaclovell -oxford .p:1-12.
[20] Danielsson.H.and Sjovall.J (1985) Sterol And Bile. acids. Elsvier.A mstedam.

[21] de Rijke.E, Out.P, Niessen.W.M, Ariese.F, Gooijer.C, and Udo.A.T, Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography A, 2006. **1112**(1-2): p. 31-63

[22] Havsteen.B.H ,The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & therapeutics, 2002. **96**(2-3): p. 67-202.

[23] B.Jean, Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales (3eéd.). 1999, Technique et Documentation Lavoisier: Paris. p. 201.
[24] [Ribérau-Gayon.P, Les Composés phénoluque des végteaux. par Pascal Ribéreau-Gayon. 1968: Dunod France.

[26] ATHAMENA S., 2009 - Etude quantitative flavonoides des grains de *Cuminum cyminum* et Les feuiles de *Rosmarinus officinalis* et l'evaluation de l'activite biologique. Memoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Magister. Université El -Hadj Lakhder Batna. 126p

[27] Mabry.T.J, Thomas.M.B, and Markham.K.R, The systematic identification of flavonoids 1970, Berlin: Springer-Verlag.

[28] Bruneton.J.(I 993) pharmacognosie, photochinie, Piontes medicinales, technique et documentation . èdition.Lavoisier.Paris.

[29] P.M.Dey et J.B.Harborne , « Plant Phenolic » ,volume 1 , Ed.Academic Press, (1989).

[30] Williams.R.J, Spencer.J.P, and Rice-Evans.C, Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? Free Radic Biol Med, 2004. **36**(7): p. 838-49.

[31] Robotham.S.A. and Brodbelt.J.S, Regioselectivity of human UDP-glucuronosyltransferase isozymes in flavonoid biotransformation by metal complexation and tandem mass spectrometry. Biochem Pharmacol, 2011. **82**(11): p. 1764-70

[32] Zhang.S, Yang.X, Coburn.R.A, and Morris.M.E, Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships for the flavonoid-mediated inhibition of breast cancer resistance protein. Biochem Pharmacol, 2005. **70**(4): p. 627-39.

[33] B. J.Ribereau-gayon (1968) Les composés phénoliques des végétaux, dundo Paris.

[34] Ferreyra, M.L.F., Rius, S. P., Casati, P(2012) Flavonoids**:** biosynthesis, biological functions and biotechnological applications. Frontiers in Plant science,

[35] KANOUN K., 2011 - Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Universite Aboubekr Belkaid Tlemcen.118 p.

[36] Robbins, J.R (2003) Phenolic Acids in food: An Overview of analytical methodology. J. Agric. Food Chem, **51**, 2866-2887.

[37] Reza Alvi, S.H., Yassa, N., Hajiaghaee, R., Yekta, M.M., Ashtiani, N.R., Ajani,Y., Hadjiajhondi, A (200) Phenolic compounds from *Peucedanum ruthenicum* M. Bieb. Indian Journal of pharmaceutical research, **8**(1), 71-75**.**

[38] Dai, J., Mumper, R.J (2010) Plant phenolics: Extracion, Analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, **15**, 7313-7352.

[39] Thiem, B., Gos…., O., Kikowska, M., Budzianowski, J (2010) Antimicrobial activity of three Eryngium L. species (Apiaceae). Herba Polinica, **56**(4),52-**.**

[40] Murray, R. D. H., Méndez, J., Brown, S.A (1982) The Natural Coumarins, Occurrence, Chemistry and Biochemistry, eds John Wiley & sons. Bristol. UK

[41] Wisneski, H.H (2001) Determination of coumarin in fragrance products by capillary gaz chromatograpghy with electon detection. Journal of AOAC international, **84** (3), 689-692.

[42] Pengelly, A (2004) The constituents of medicinal plants, an introduction to the chemistry and therapeutic of herbal medicine (second edition), eds Allen & Unwin, Australia.

[43] Razavi, M. S (2011) Plant coumarins as Allelopathic agents. International Journal of Biological Chemistry, **5** (1), 86-90

[44] Bhatnager, A., Sharma, P. K., Kumar, N., Dudhe, R (2010) Areview on"Recent advances in coumarin derivatives with their multidisciplinary actions". Der Pharmacia Letter, **2** (4), 297-306

[45] Silanikove.N, Perevolotsky.A, and Provenza.F.D, Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. Animal Feed Science and Technology, 2001. **91**(1-2): p. 69-81.

[46] Salminen.J.P, Ossipov.V, Haukioja.E, and Pihlaja.K, Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of Betula pubescens. Phytochemistry, 2001. **57**(1): p. 15-22.

[47] Rangari.V.D,Pharmacognosy:Tannins containing Drugs.2007, JLChaturvedi College of Pharmacy, 2007. **846**: p. 516.

[48] Harbertson.J.F,Parpinello.G.P,Heymann.H,and Downey.M.O,Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character. Food Chemistry, 2012. **131**(3): p. 999-1008

[49] Hoong.Y.B, Pizzi.A,Tahir.P.Md, and Pasch.H., Characterization of Acacia mangium polyflavonoid tannins by MALDI-TOF mass spectrometry and CP-MAS 13C NMR. European Polymer Journal, 2010. **46**(6) :p. 1268-1277.

[50] 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

[51] FERRADJI A., 2011- Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister. Université Ferhat Abbas.Setif. 90p

[55] Raven, P. H., Evert, R. F. & Eichhorn, S. E. (2007). Biologie végétale. Ed. De Boeck Université, Bruxelles, p: 28 - 30.

[56] Husnu CanBaser, K., Buchbauer, G (2010) Handbook of Essential oils, science, technology and applications, eds Taylor & Francis group, London, New York, USA.

[57] Rice-Evans, A. C., Packer, L (2003) Flavonoids in health and disease (second edition), eds Marcel Dekker.Inc, New York, USA.

المراجع باللغة العربية:

[3] أحلام بوسطلة، 2014، دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية للنبتتين Bunuim incrassatum bioss و Foeniculum vulgare Mill، رسالة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم ،جامعة قسنطينة-1-، الجزائر .

[5] الحسني محمد، تهاني المهدي، 1990، النباتات الطبية زراعتها مكوناتها و استخداماتها العلاجية، مكتبة ابن سينا للنشر و التوزيع و التصدير، القاهرة ، مصر .

[9] م.هيكل،ع.عبد الرزاق، النباتات الطبية و العطرية، كيمياؤها، إنتاجها و فوائدها1993، منشآت المعارف. الإسكندرية.

[13] حوه إ.2013 -دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة .قاصدي مرباح. ورقلة.

[14] العابد إ ,2009-دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران *Traganeum nidatum*.مذكرة ماجستير. جامعة قصدي مرباح.ورقلة .

[16] بوقافلة ر.، 2013 -دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis* لمنطقة بسكرة. مذكرة ماستر، جامعة قاصدي مرباح، بورقلة،

[19] د.طاهر حسن،(2007)، كيمياء المنتجات الطبيعية –الجزء النظري- مديرية الكتب و المطبوعات المدرسية ، الشام.

[25] ب، ناني (2019) ، المسح الفيتوكيميائي و تحليل بعض نواتج الأيض الثانوي لمستخلصات نبات Cymbopogon schoenanthus (L.) ،مذكرة لنيل شهادة الماسترفي الكيمياء العضوية، جامعة سكيكدة، الجزائر.

[52] ج.زمالي، (2007)،دراسة فيتو كيميائية و بيولوجية لنبتة الصحراوية Solanum Nigrum، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في التحضير العضوي و الفيتوكيمياء، جامعة ورقلة، الجزائر:ص 4-6-25.

[53] شويخ ع.، 2004-تعداد النباتات الطبية في ولايتي أم لبواقي والوادي.مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا في بيولوجيا النبات، المركز الجامعي أم لبواقي، الجزائر.

[54] أحمد محمد المغازي ، 2003، التداوي بالمنتجات العطرية، مجلة أسيوط للدراسات البيئية، جامعة أسيوط، العدد 24.

الفـــــــصـــــــل الثالــث

عموميـات حـول البكتيـريا

مدخل:

تتواجد البكتيريا في كل مكان من حولنا في الماء و الهواء و كما تعيش في الأغذية و داخل و خارج أجسامنا و في أي نظام بيئي، قديما ارتبط اسمها بالعديد من الأمراض التي تصيب البشرية لكن مع التقدم السريع للعلم الحديث تم اكتشاف أن للبكتيريا دورا هاما في الصناعات الدوائية و الغذائية و في التخلص من المواد العضوية و الغير عضوية و أيضا في معالجة المياه و كذلك في إنتاج الطاقة و غيرها الكثير من المجالات كونها تعتبر المسؤولة عن الكثير مما حولنا من عمليات أساسية حيوية و صناعية.

اكتشافها أول مرة يعود للعالم باستور عندما كان يقوم بتجاربه حول التخمر و ارتبط اسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي تتواجد بالسوائل، ولقد قام العالم الألماني (Robert Koch) روبرت كوخ باكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض و هو أول من عمل مزارع نقية للبكتيريا. هذان العالمان لهما الفضل في تأسيس علم دراسة البكتيريا و فتح المجال للعلماء و الباحثين للاكتشاف و البحث العلمي ما جعل للبكتيريا هذه المكانة العالية [1-2].

1.III.تعريف البكتيريا:

هي كائنات مجهرية لا ترى بالعين المجردة، تعرف بأنها أحادية الخلية بدائية النواة (*Procaryote*) يتراوح حجمها بين 1µm إلى 10µm .تختلف اشكالها بين عصوية أو حلزونية أو كروية[3]. إن للبكتيريا قدرة العيش لمدة طويلة دون التأثر بالأوساط الغير ملائمة كتغير درجات الحرارة و تغير درجة الملوحة و غيرها من الظروف البيئية القاسية [4].

2.III.تسمية البكتيريا:

تعرف البكتيريا بأسماء ثنائية *Binominal* بحيث يشير الجزء الأول من الاسم إلى الجنس *Genre* و الجزء الثاني إلى النوع *Espèce*، و قد يحمل اسم الجنس شكل البكتيريا كما هو الحال في *Staphylocoque Streptocoque* , أو اسم المستكشف ك *E.coli (Escheriche)*. أما بالنسبة للنوع فقد يرمز للمرض كما هو الحال بالنسبة ل (*Cholerae*)،(*Vibrio Cholerae*) أو مكان عزلها كما هو الحال في *E.coli* تعزل في une-cole أو قد يحمل صفات اللون مثل *Staphylocoques aureus* (*aureus* أي ذهبية)[5].

III.3.بنية البكتيريا:

تتشكل الخلية البكتيرية من مكونات منها ما هو أساسي في كل خلية و منها ما هو ثانوي قد يتواجد في الخلية أو لا يتواجد[6].

III.3.1.المكونات الأساسية: تتمثل في:

- **الجدار الخلوي:**

و من صفاته الصلابة، حيث يتكون من السكريات و الدهنيات و هو المسؤول عن منح البكتيريا شكل مميز و ثابت يحميها من الهجوم الخارجي[5].

- **الغشاء البلازمي:**

عبارة عن طبقة رقيقة من الدهون و البروتينات ذو سمك $7.5nm$، يحتوي العديد من الثنيات و له وظيفة في الانقسامات البكتيرية[6].

- **السيتوبلازم:**

و هي تمثل الوسط الداخلي للبكتيريا، فهي عبارة عن مادة هلامية تسبح داخلها مدخرات غذائية و فضلات و تحوي أيضا الريبوزومات و على المادة الوراثية للبكتيريا[6].

- **النواة:**

هي عبارة عن كروموزوم ملتف حول نفسه في مركز الخلية و وظيفته الأساسية هي التحكم في مهام الخلية و صفاتها[7].

III.3.2.المكونات الثانوية: تتمثل في:

- **البذور:**

تكون بعض أنواع البكتيريا جدارا سميكا يحيط بالنواة و القليل من السيتوبلازم، و يسمى هذا التركيب بالبذرة و هو كنوع من أنواع المقاومة للظروف البيئية الصعبة لكي نعيش لمدة أطول.

- **الأسواط:**

و هي عبارة عن زوائد طويلة جدا، تكون حول البكتيريا ذو توزيع مختلف على حسب نوع البكتيريا، فقد تنمو في جهة أو من الجهتين من الخلية البكتيرية حيث تقوم بتسهيل الحركة.

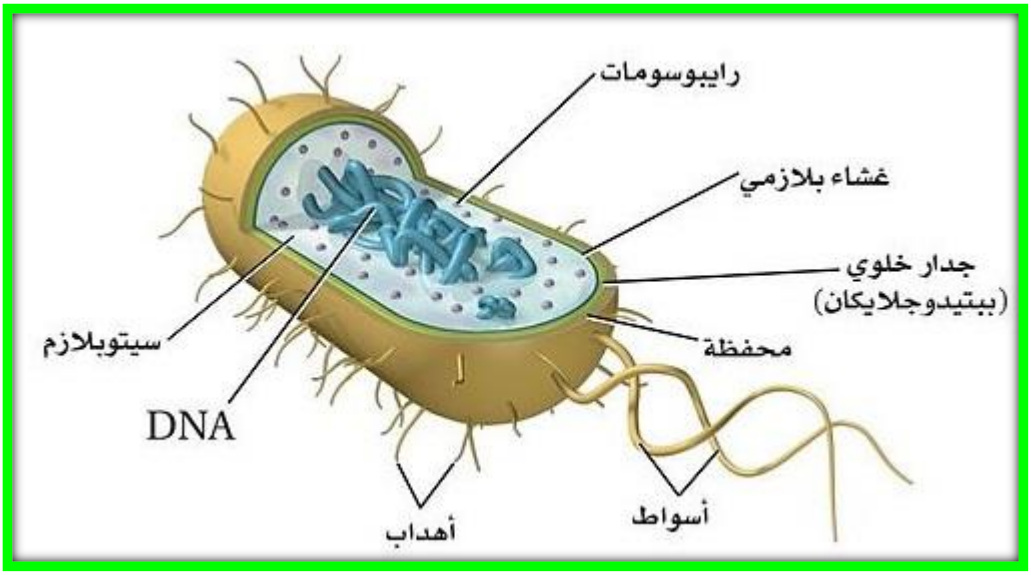
- **الهدبيات:**

عبارة عن زوائد دقيقة جدا تساعد الخلية البكتيرية من أجل التثبت على أسطح الخلايا.

❖ **الحافظة:**

و هي عبارة عن طبقة هلامية سميكة تحيط بالخلية البكتيرية حيث تمنع التصاقها مع الخلايا البلعمية [8].

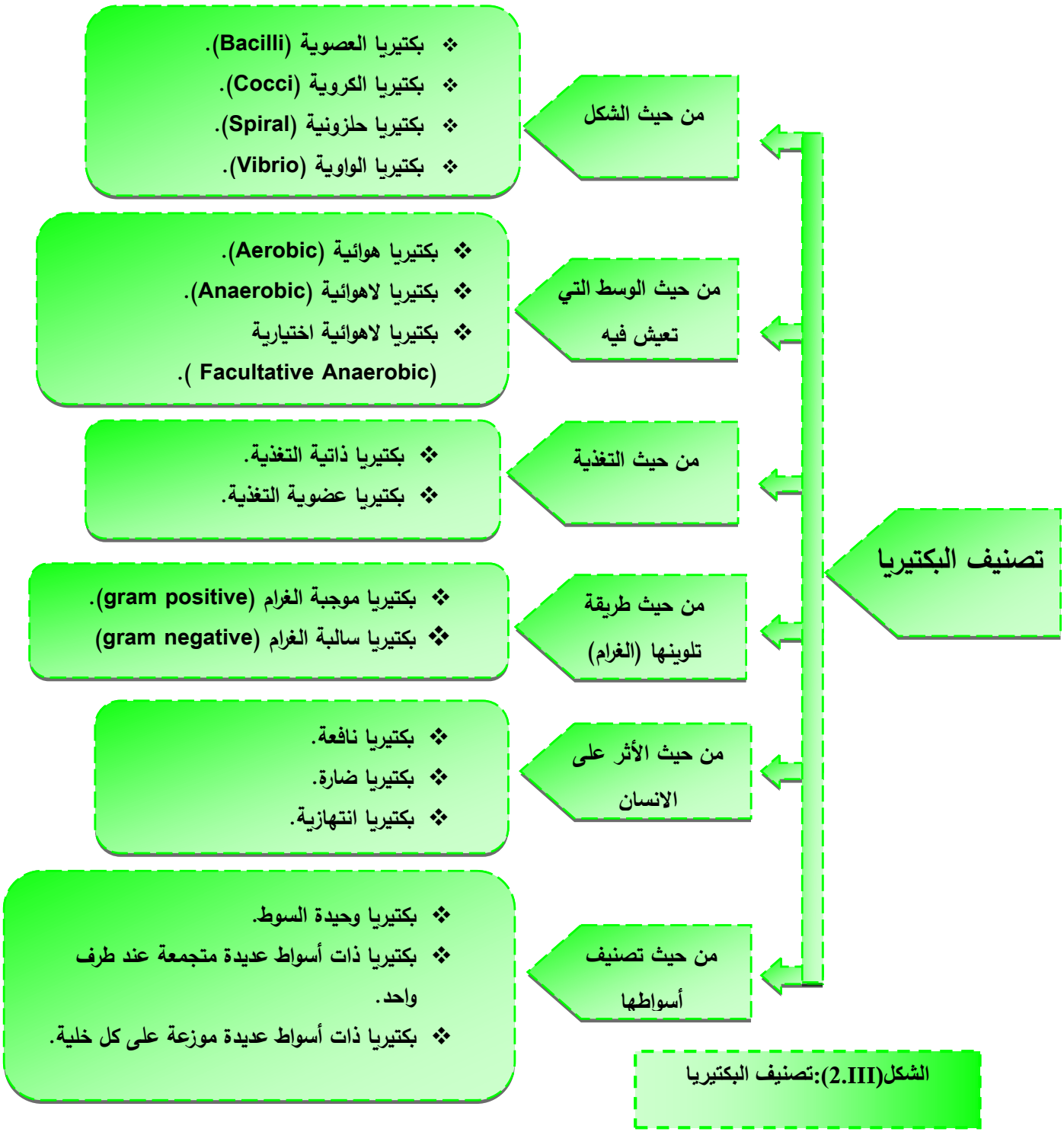
و الشكل التالي يوضح بنية البكتيريا:



الشكل(1.III):بنية الخلية البكتيرية

4.III.تصنيف البكتيريا: [10-11]

صنف الباحثون و العلماء مختلف البكتيريا حسب خصائصها و مميزاتها و ذلك حسب ما يلي:



الشكل(2.III):تصنيف البكتيريا

III.5.المقاومة البكتيرية:

استعمال المضادات الحيوية ضد الأمراض المعدية أكسب الخلايا البكتيرية مقاومة و مناعة ضدها و هذه المقاومة في تطور مستمر حيث تستطيع البكتيريا النمو و التكاثر في وجود نسبة من المضاد الحيوي تفوق النسبة المعتادة[12]. هذه المقاومة البكتيرية مسؤولة عن نسبة الوفيات الناتجة عن الأمراض الوبائية التي تشكل أكبر مشكل صحي على وجه الأرض حتى الآن[13].

تنقسم المقاومة البكتيرية إلى نوعين:

- **المقاومة الطبيعية:** و هي المقاومة التي تبديها البكتيريا و الميكروبات بشكل طبيعي تجاه أي مضاد حيوي[8-14]، هذا النوع من المقاومة يعتبر كميزة جينية عادية للنوع أو الجنس البكتيري[15].
- **المقاومة المكتسبة:** عندما يكون الميكروب قادر على التكاثر و النمو في وجود نسبة محددة من المضاد الحيوي المعتاد على تثبيطه فهنا يقال أن الميكروب اكتسب مناعة ضد هذا المضاد الحيوي.

  اكتساب البكتيريا و الميكروبات للمناعة يكون إما عن طريق طفرة على مستوى صبغيات الخلية البكتيرية و نادرة الحدوث، أو عن طريق اكتساب مورثة تمكنه من تصنيع إنزيمات مثبطة لعمل المضاد الحيوي، وتنتقل هذه المقاومة إلى الأجيال التالية و هذا ما يفسر ظهور عدد كبير من البكتيريا المقاومة[12].

III.6.المضادات الحيوية:

في عام 1928 لاحظ الباحث ألكسندر فليمينغ *Fleming-Alexander* أن البكتيريا ستافيلوكوك دوري *Staphylocoque-dore* التي قام بزرعها بجانب عفن بنيسيليوم *Penecillium* في وسط مغذي من الجيلوز، أن البكتيريا قد تم كبح نموها و قتلها بواسطة مادة أفرزت من طرف العفن. هذا الباحث قد اكتشف و بالصدفة أول مضاد حيوي البنيسيلين *penicillin* الذي لم يستعمل إلا في عام 1942[16]. مصطلح مضاد حيوي *Antibiotique* يشير إلى مجال واسع جدا من هذه الزمرة من الأدوية كالمواد المعقمة و غيرها[17].

III.1.6.تعريف المضادات الحيوية:

استعملت هذه الكلمة لأول مرة من طرف العالم *Vullemin* 1889 الذي عرفها بأنها الظروف التي تمكن كائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته و بقائه، و قد عرفها الباحث *waksman* (1945) على أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات[18].

المضادات الحيوية عبارة عن مركبات كيميائية عضوية تنتج من التفاعلات الأيضية لبعض الكائنات الحية الدقيقة ذات فعالية نوعية على الدقائق العضوية الممرضة تحت تراكيز ضعيفة، حيث تقوم بإيقاف و تثبيط نموها و تكاثرها و تسمى البكتيريوستاتيك. و لقد تطور العلم الحديث في آليات الاستعمال حيث أصبحت تستخدم كنوع من المواد الكيميائية الطبيعية العلاجية للكثير من الأمراض الميكروبية[19].

III.2.6.مصدر المضادات الحيوية:

للكائنات الحية المجهرية دورا مميزا في إنتاج المضادات الحيوية ما يزيد عن 85% من المضادات الحيوية تتكون من الميكروبات، فمثلا الأكتينوميستات (جنس بكتيري له شكل خيطي يشبه الفطريات) تنتج حوالي 60% و من البكتيريا 10% و من الفطريات 10% و الباقي كائنات أخرى [20].

III.3.6.أنواع المضادات الحيوية:

هناك نوعان من المضادات الحيوية:

- ✓ مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية: يمنع تكاثرها و منه يساعد على القضاء عليها كالسيلفاميد.
- ✓ مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية: يكون عبر التأثير على جدار الخلية، أو تفجير الخلية عن طريق التسبب في انتفاخها، أو بمنع تكوين البروتين داخل الخلية كالجنتاميسين و البنسلين[21].

III.4.6.تأثير المضادات الحيوية:

تعمل المضادات الحيوية على قتل أو كبح الميكروبات عن طريق:

- ✓ العمل على الجدار الخارجي للبكتيريا: عن طريق إيقاف تركيب الجدار بتثبيط الإنزيم *transpeptidase* و هذا ما يمنع تركيب مادة *peptidoglycane* ما يمنع نموها و عملها[22].

- ✓ العمل على الغشاء الداخلي للبكتيريا: المضاد الحيوي يمتلك خواص سطحية تعطه القدرة على تخريب نفاذية الغشاء الداخلي بصورة غير طبيعية، حيث يسمح بطرد المواد السائلة خارج البكتيريا، و هذا ما يدمرها[22].
- ✓ العمل على تخريب الغشاء السيتوبلازمي: هناك من المضادات الحيوية من تعمل على التأثير في هندسة *Apidoprotine* للغشاء السيتوبلازمي، حيث تقوم بتحليلها و فقدان الخلية البكتيرية للسيتوبلازم الكروموزومي[21].
- ✓ العمل على إيقاف نمو الADN: من بين الأضرار التي تلحقها المضادات الحيوية بالبكتيريا هو خلق اضطراب في عمل الADN ما يمنع الخلية من الانقسام و تكوين الإنزيمات الخاصة لذلك[23].

III.5.6.الجذمة الميكروبية:

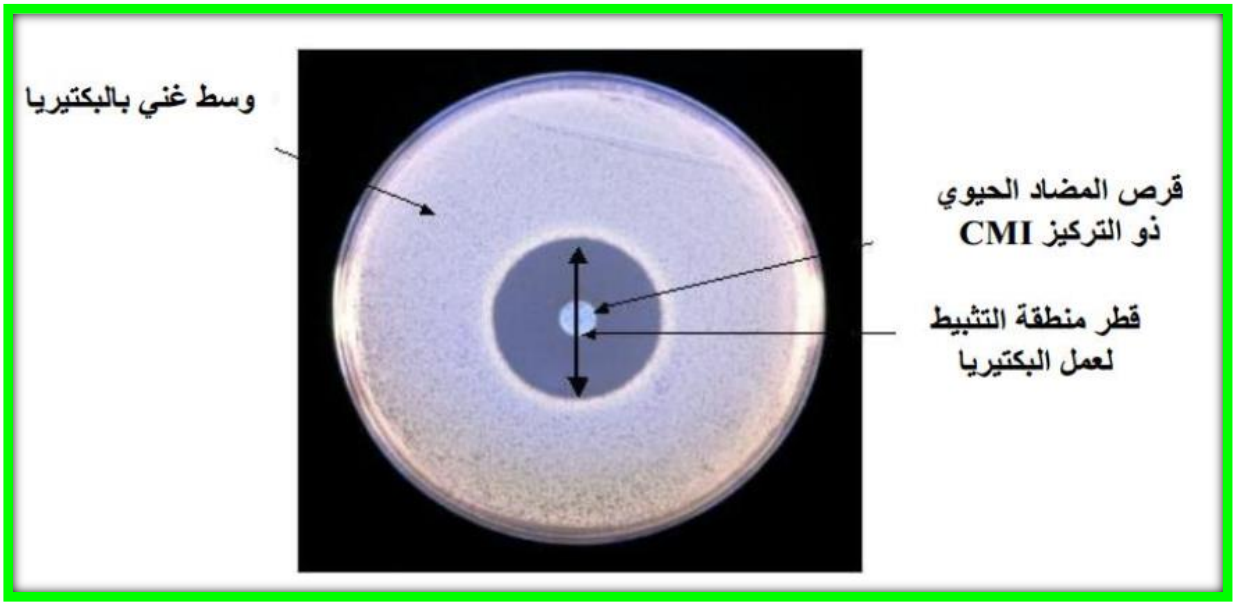
يعرف في علم الطب أن الجذمة الميكروبية في المقاومة التي تظهرها الخلية البكتيرية أمام المضاد الحيوي و على حسب تركيزه، فكلما زاد تركيز المضاد الحيوي تقل مقاومة الخلية البكتيرية[24].

III.6.6.حساسية المكروب:

تهدف دراسة حساسية البكتيريا إلى اختبار المضاد الحيوي الأكثر نشاطا و التركيز اللازم للتخلص من المرض و هناك طريقتين:

- ✓ طريقة التمديدMéthode de dilution : تقام في وسط صلب أو سائل و هناك صعوبة في التطبيق[25].
- ✓ طريقة الانتشارMéthode de diffusion: هذه الطريقة الأكثر استعمالا في المستشفيات و الأقل دقة من طريقة التمديد، تتم في وسط صلب من الجيلوز كوسط Hilton Muller نسبة للعالم الذي حضره في عام 1941. تفيد هذه الطريقة في تحديد مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي، و تتم بإتباع الخطوات التالية:

يذاب الوسط الجيلوزي في وسط معقم ثم يسكب بكميات محددة في أطباق بتري، يحضر المعلق الميكروبي بوضع جذمة منه في الماء الفيزيولوجي ثم تزرع في علب البتري المحضرة مسبقا و توضع داخل الحاضنة للتجفيف، بعد ذلك توضع أقراص الاختبار المشبعة بالتراكيز المختلفة للمضاد الحيوي المراد اختبار فعاليته و تعاد العلب للحاضنة تحت درجة حرارة 37°C لمدة 18إلى 24 ساعة [26].



الشكل(3.III):طريقة الانتشار Méthode de diffusion

لتحديد مدى حساسية البكتيريا و تأثير المضاد الحيوي، نقيس قطر طبقة التثبيط بعد مرور الفترة الزمنية المذكورة سابقا و كنتيجة لهذا الاختبار نستطيع تحديد مدى حساسية البكتيريا اتجاه المضاد الحيوي حيث:

- ✓ إذا كان قطر التثبيط أكبر أو يساوي 15mm فهي حساسة.
- ✓ إذا كان قطر التثبيط أصغر من 15mm فهي متوسطة الحساسية.
- ✓ إذا كان قطر التثبيط منعدم فإنها مقاومة للمضاد الحيوي[27].

نجاح هذه الطريقة يرتكز على مدى الانتشار الجيد للمضاد الحيوي في وسط الزرع، إن لم يحدث ذلك فيجب الاعتماد عن طريقة أخرى لتحديد مدى حساسية الميكروب[26].

قائمة المراجع:

المراجع اللغة العربية:

[1] اتحاد مجالس البحث العلمي العربية (1986) دراسات مؤتمر النباتات الطبية في الوطن العربي و آفاق تطويرها، بغداد.

[3] عبد الرحيم بن سلامة، النشاطات المضادة و المثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertiacheirifolia L، مذكرة ماجستير في البيوكيمياء جامعة فرحات عباس –سطيف،(2012).

[4] محمد عبد المحسن معارج 1995، أسس وراثة الأحياء الدقيقة، دار الكتب الوطنية- مصر.

[6] د.رأفت حسن عبد الوهاب، د.فساء ادعيج العون2018.تصنيف عالم النبات و الأحياء الدقيقة، شركة دار العلم للنشر و التوزيع، الكويت.

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

[9]ص.جعفر، المجلة العراقية البيطرية الطبية،(2012)،36،(2)،ص111-112.

[10] د.جون بوستجيت، ترجمة الدكتور عزت شعلان، الميكروبات و الإنسان، عالم المعرف و الكويت، 1985.

[20] عبد الوهاب. محمد .ع .ح، د محمد. ص. م. مبارك، د سعد .ع .ز .م، الميكروبيولوجيا التطبيقية، الطبعة الأولى، المكتبة الأكادبمية، ص42_430،(1996).

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

المراجع باللغة الأجنبية:

[2] Larpent.J.P,Gougaud.m.l.Mémento Technique de microbiologie.2eme Edition .Tec.Doc. Lavoisier.1990.975-203.

[5] J.P. Euzeby: Abrégé de Bactériologie Générale Médicale, à l'usage desétudiants de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse Courriel CV SBSV Pseudomonas.

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

[11] P.Munro, G.Flatau,E.Lemichez. Bacteria and the ubiquity pathway (2007).

[12] J. Seignalet. Alimentation et Spondylarthrite. Polyarthrite rhumatoïde et bactéries intestinales (2005).

[13] K.Weiss.Le médicine de Québec.2002.37,41.

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

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

[16] J.Figrella,G.Leyral,M.Terret.Microbiologie générale et appliquée.LTédition. J.lanore .2001.p8-130

[17] Rozier.J.Bolnot.F.,Carlier.V.(1985)BaseS Microbiologique de L'Hiygiene des Aliments .Maisson Alfort Paris.P 18-115.

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

[19] Corvaglia A.R.,Rôle résidus d'antibiotique dans environnements hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres Aeromonas Acinetobacter et Legionella, Thèse de doctorat,Université de Genève, (2006).

[22] Riti Sha ran Sanjay Chhibber, (2011) Inactivation and sub-lethal injury of salmonella typhi, salmonella typhimurium and vibrio cholera in copper water storage vessels, Sharan et al . BMC Infectious Diseases, 11:204.

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

[24] Guerin F . Carret C. L'antibiogramme: Principes, méthodologie , intérêt et limites. Journées nationales GTV-INSZ (1999).

[25] Gurin-Faublée V., C. Carrt, L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites., Journées nationales GVT – INRA, P5-12, (1999).

[26] Baurer .A , W ., Kirry . W.M.M.,Sherries.J.C.A., Turch .M (1966) . Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.-Amer. J.Clin. Pathol., 45:493-496.

[27] Poncea. G;Fritzr; Del Vallc.et Rouras I(2003). Antimicrobial activity of essential oils of the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel- Wissenxchuft und Technologie.

الفصـــــل الـــرابع

الجــذور الحــرة و مضادات الأكسدة

مدخل:

عملية الأكسدة هي انتقال للإلكترونات من مادة إلى مادة أخرى لها خاصية العامل المؤكسد، تعتبر هذه العملية أحد التفاعلات الأساسية في جسم الإنسان، فعلى سبيل المثال يقوم الجسم بأكسدة الغذاء في وجود الأكسجين كعامل مؤكسد للحصول على الطاقة و لكن من نتائج هذه العملية أجسام ضارة هي الجذور الحرة [1]،و قد أنعم الله عز و جل علينا أن جعل أجسادنا تصنع مركبات تعمل على تثبيط الجذور الحرة و تدعى مضادات الأكسدة. تعمل هذه المركبات على تأكسدها من طرف هذه الجذور لحماية العضوية من التأكسد، يستمد الجسم كميات إضافية من هذه المركبات من الأغذية الطازجة كالخضر و الفواكه و المأكولات البحرية و غيرها[2].

1.IV.الجذور الحرة:

1.1.IV.تعريف الجذور الحرة:

الجذور الحرة شديدة الفعالية تتولد أثناء التفاعلات الكيميائية كمركبات وسطية و تنتهي بنهايته، و هي كل فرد كيميائي ذرة أو جزيئة تمتلك الكترون منفرد أو أكثر في مدارها الخارجي ما يجعلها غير مستقرة فتحاول أخذ إلكترون من الجزيئات المجاورة لها و بهذا تؤدي إلى أكسدتها، هذه التفاعلات تكون ذات أضرار جسيمة للعضوية و خلايا الكائنات الحية الحيوانية[3].

2.1.IV.مصادر الجذور الحرة:

تنشأ الجذور الحرة من مصادر داخلية نتيجة من العمليات الفيزيولوجية و البيو كيميائية في عضوية الكائن البشري مثل تنشيط الخلايا المناعية، الميتوكوندريا، فقر الدم، الإجهاد العقلي و الضغط النفسي[4]. و مصادر خارجية كالتعرض للأشعة الضارة كالأشعة السينية و أشعة الشمس و الأشعة الكونية و أشعة التأين الصادرة من المصانع، و كذلك تنتج أيضا عن طريق تعاطي التدخين و المشروبات الكحولية، ومن مصادرها أيضا تناول الأغذية المقلية بزيوت قديمة غير صالحة للاستهلاك، كما يوجد العديد من الأدوية الطبية تعتبر كمصدر من مصادر الجذور الحرة[3].

3.1.IV.أنواع الجذور الحرة:

يتم تصنيف الجذور الحرة حسب حالتها كما يلي:

- **على أساس الاستقرار:** يوجد نوعان من الجذور الحرة

✓ الجذور النشطة (الغير مستقرة): و تقدر أعمارها ما بين الميكروثانية و البيكوثانية و هذا ما يجعلها غير مستقرة، لها طاقة تنشيط تقترب إلى الصفر و تتميز بأحجام جزيئية صغيرة. و من بين الجذور الحرة النشطة نذكر: الهيدروجين(H)، النتروجين(N)، الفلور(F)، الكلور(Cl)، البروم(Br)، اليود(I)، الميثيل(CH_3)، الإيثيل(C_2H_5)، الفينيل(C_6H_5) و الهيدروكسيل(OH).....الخ [4].

✓ الجذور الصامدة(المستقرة): و هي جذور تتميز بأعمار تقدر بالثواني او الدقائق او الساعات و حتى الأيام مثل: جذور ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (DPPH) و جذور ثلاثي فينيل مثيل($\mathbf{Ph_3M}$) و جذور ثنائي فينيل أكسيد النتريك($\mathbf{Ph_2NO}$) و مشتقاته، و نستطيع القول أن معظم الجذور الأروماتية التي تشمل على بنى رنينية تكون مستقرة في أغلب الأحيان حيث يجعله أقل فعالية لأنه سيحتاج طاقة تنشيط عالية نسبيا أثناء التفاعل.[5]

- **على أساس النوع:** يمكن تقسيم الجذور الحرة إلى جذور حرة أكسجينية، جذور حرة نتروجينية و جذور حرة دهنية.[6]

IV.1. 4.آلية تشكل الجذور الحرة:

يتم تشكل الجذور الحرة كما يلي:[7]

❖ انشطار الرابطة التساهمية من الجزيء الطبيعي مع احتفاظ كل شظية بالإلكترونات المقترنة:

$$A:X \longrightarrow A^* + X^*$$

❖ إضافة إلكترون منفرد لجزيء طبيعي:

$$X^* + e^- \longrightarrow X^{-*}$$

IV.1.5.دور الجذور الحرة:

للجذور الحرة دور مزدوج فإما أن تكون ضارة أو نافعة للأنظمة الحية، ففي حالة انخفاضها و في شروط معتدلة يكون لها دور حيويا يتمثل في:

☒ قتل الجراثيم باستخدام إنزيم الميليوبروكسيداز و ذلك عن طريق تحفيز من بيروكسيد الهيدروجين.[8]

☒ تمايز الخلايا بشكل عام، تؤدي إلى ارتفاع معدلات التنفس المقاومة للسيانيد.[9]

☒ الحفاظ على الوظائف الفسيولوجية الطبيعية للجسم، و في آليات عمل الخلايا،[10]

6.1.IV.أضرار الجذور الحرة:

تتسبب الجذور الحرة في العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان نذكر منها:[11]

- اضطرابات الأعصاب مثل مرض الزهايمر، فقدان الذاكرة و الإكتئاب ، التصلب الجانبي الضموري و مرض باركنسون.
- الاضطرابات الرئوية مثل إلتهاب الرئة، مرض الربو، مرض الانسداد الرئوي المزمن و أمراض الكبد.
- الاضطرابات الكلوية مثل إلتهاب الكلية و الفشل الكلوي المزمن.
- إلتهاب المفاصل الروماتيدي و البنكرياس.
- أمراض الجهاز الهضمي مثل القرحة المعدية، التهاب القولون و الأمعاء.
- ارتفاع ضغط الدم و الصدمات النفسية .
- الإيدز و الأورام السرطانية مثل سرطان الرئة، سرطان المستقيم، سرطان الدم، سرطان المبيض و سرطان الثدي، تثبيط المناعة و العقم.
- أمراض القلب و الأوعية الدموية مثل تصلب الشرايين.

7.1.IV.عمل الجذور الحرة:

تشارك الجذور الحرة في سلسلة من التفاعلات تؤدي إلى تجديد جذري و يمكن ان تبدأ دورة جديدة من التفاعلات، و تتم هذه التفاعلات على ثلاث مراحل:[12]

- **مرحلة البدء:** يتم فيها تشكيل الجذر

$$LH + R^{\bullet} \longrightarrow L^{\bullet} + RH$$

- **مرحلة النشر:** في هذه الخطوة الجذور الحرة تجدد سلسلة من التفاعلات

$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$$

$$LH + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOH + L^{\bullet}$$

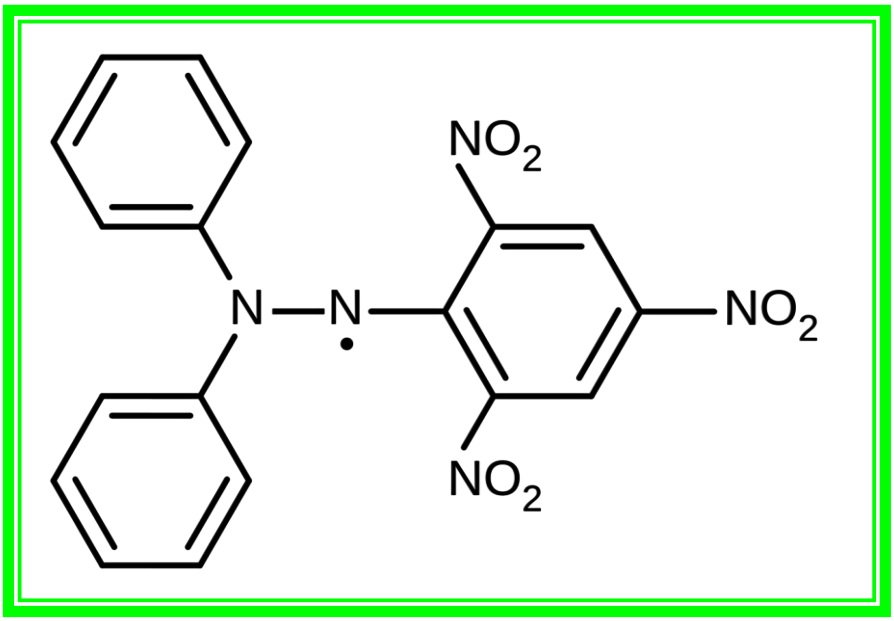
$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$$

- **مرحلة النهاية:** في هذه المرحلة يتم تجميع الجذر الحر

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LL$$

$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOL + O_2$$

$$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow LOOL$$



الشكل(1.IV): جزيئة الDPPH

2.IV.مضادات الأكسدة:

1.2.IV.تعريف مضادات الأكسدة:

هي جزيئات أو أيونات أو جذور مستقرة نسبيا لها القدرة على إبطال أو منع تأكسد الجزيئات الغير مستقرة (الجذور الحرة) في عضوية الكائن البشري و ذلك عن طريق منع بدأ الأكسدة و إبطاء تطور سلسلة التفاعلات[13]، تضاف بتراكيز منخفضة إلى الأغذية لزيادة صلاحيتها و منع تأكسدها.

تتواجد مضادات الأكسدة في جميع الأغذية النباتية و في بعض اللحوم و الأسماك و معظم الأعشاب الطبيعية و لكن بكميات متفاوتة، حيث يقوم مضاد أكسدة واحد بعدة وضائف أو تشترك عدة مضادات أكسدة أخرى بمهمة واحدة.[14]

2.2.IV.آلية عمل مضادات الأكسدة:

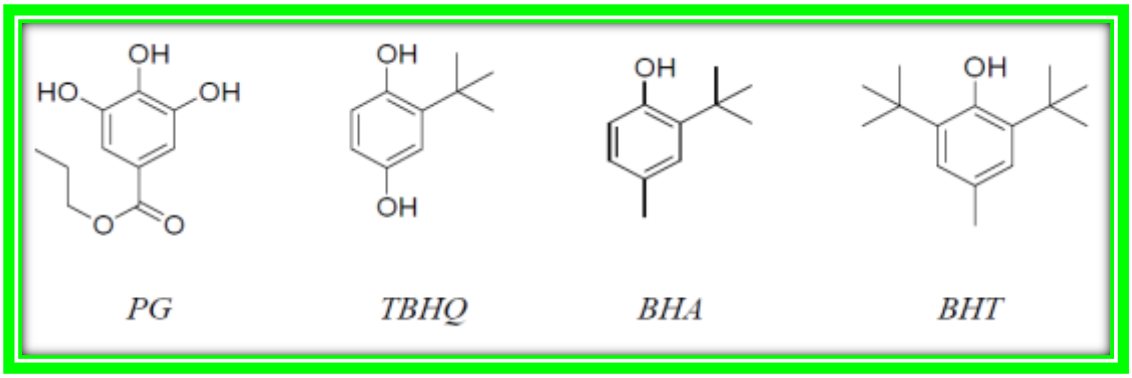
يتمثل عمل مضادات الأكسدة في عدة آليات تتمثل في كسر سلسلة التفاعلات الجذرية، امتصاص الأشعة فوق البنفسجية و المرئية، كبح الجذور الحرة، توقيف انتقال الإلكترونات و إزالة المعادن الثقيلة بالإستخلاب.[15]

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

$$A^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOA$$

3.2.IV.تصنيف مضادات الأكسدة:

- **مضادات أكسدة طبيعية:** و هي ما تنتجه المادة الحية من مضادات و المتوفرة في غذاء الإنسان اليومي كالإنزيمات مثل الكتلاز و البيروكسيداز و الجلوتاثيون، و الفيتامينات مثل فيتامينC و الفيتامينE و أيضا بعض المعادن الطبيعية كالزنك و السيلنيوم و غيرها.[4]
- **مضادات أكسدة صناعية:** و هي العناصر التي يتم إضافتها للأطعمة المعلبة للتقليل من سرعة فسادها و تمديد مدة صلاحيتها و ذلك عن طريق تأكسد هذه العناصر قبل غيرها، من بين هذه المواد نذكر: Butylhdroxyanisole(BHA) ، Butylhydroxytoluene(BTH)، tetra-butylhydroquinone (TBHQ) ، gallate propylée (PG) وحمض الغاليك و الغالات.



الشكل(2.IV): بنيات بعض مضادات الأكسدة الصناعية

في السنوات الأخيرة أصبحت هناك العديد من الشكوك حول المضادات الأكسدة الصناعية و تأثيرها على الصحة، حيث أكتشف أن استخدام هذه المضادات ينتج عنه مواد مسرطنة أو سمية. هذا ما جعل العلماء و الباحثين تكريس جهودهم في استكشاف مضادات طبيعية أكثر أمانا كالتي استخرجت من النباتات و من بين هذه المضادات : المركبات الفينولية و الفلافونيدات و التي تتميز بفعالية عالية مضادة للأكسدة.[16]

4.2.IV.شروط إضافة مضادات الأكسدة:

لإضافة هذه المواد يشترط أن تكون:

- ✓ درجة السمية يجب أن تكون ضعيفة و فعالة بتركيز منخفض في أنواع عديدة من الدهون.[17]
- ✓ يجب أن لا يؤثر على الغذاء المضاف إليه أي لا يغير من طعمه ولا رائحته.[18]

قائمة المراجع

المراجع اللغة العربية:

[2] ج.بوستجيت،الميكروبات و الإنسان،عالم المعرفة،المجلس الوطني للثقافة و الفنون و الآداب: الكويت، (1985) ،ص278.

[3] مصطفى درويش،2014.مضادات الأكسدة بدونها أنت مريض. دار النشر رفوف-بيروت.

[4] ب.مصطفى،(2008) دراسة فيتو كيميائية للبيبيدات و الفينولات في بعض أنواع التمر المحلي،مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة،ص59.

[6] د.ريدة ابو سمرة، الجذور الحرة، جملة مضادات المؤكسدات و داء إلتهاب المفاصل الرثياني، مجلة جامعة دمشق المجلد15 العدد2، 1999.

[16] ع .خ .الركابي، مجلة أبحاث البصرة، (2007) 33 (2) ص5-18.

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] E. G. Zézérov. Abrégé de Microbiologie Générale et d'Immunologie Académie de Médecine: Moscou, (2002),195.

[5] Nagmoti.D.M, Khatri.D.K,Juvekar.P.R, and Juvekar.A.R, Antioxidant activity free radicalscavenging potential of Pithecellobium dulce Benth seed extracts. Free Radicals and Antioxidants, 2012. **2**(2): p. 37-43.

[7] Kumar, S., Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. Advances in Applied Science Research, 2011. **2** (1): p. 129-135.

[8]Thomas.S, and Balasubramanian.K.A, Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. Free Radic Biol Med, 2004. **36**(6 : p. 745-56.

[9] Sohal.R, Allen.R, and Nations C, Oxygen free radicals play a role in cellular differentiation: an hypothesis. Journal of free radicals in biology & medicine, 1986. **2**(3): p. 175-181.

[10] Mazumder.P.M, Rathinavelusamy.P, and Sasmal.D, Role of antioxidants in phytomedicine with special reference to antidiabetic herbs. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2012. **2**: p. 969-979.

[11] Sharma.S, Shrivastav.B.R, and Shrivastav.A, Free Radicals, Antioxidants and Oxidative Stress. International Journal of Advanced Research 2013 **1**(9): p. 252-258.

[12] Sen.S, Chakraborty.R, Sridhar.C, Reddy.Y, and De.B, Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 2010. **3**(1): p. 91-100.

[13] Pinchuk.I, Shoval.H, Dotan.Y, and Lichtenberg.D, Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. Chemistry and Physics of Lipids 2012. **165** (6): p. 638–647.

[14] Hamid.A, Aiyelaagbe.O, Usman.L,Ameen.O, and Lawal.A, Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 2010. **4** (8): p. 142-151.

[15 Epstein.S, Saporoschetz.I.B, Katsioules.C, and Bishop.Y, Bioassay for Antioxidants Based on Protection of Isolated Rat Liver Mitochondria Against the Photodynamic Toxicity of Benzo[a]pyrene. Food and Cosmetics toxicology, 1971. **9**(3): p. 367-377.

[17] Newkirk.K.A, Gilchrist.L, Hand.L.W, and Sutton.D.S, Effects of Synthetic Antioxidants and Rosemary Extracts on Oxidative Rancidity and Color Stability in Whole hog Sausage. Animal Science, 1993: p. 78-83.

[18] Fritsche. K, and McGuire.S, The use of dietary synthetic antioxidants at recommended levels does not alter rat immune cell eicosanoid production or hepatic vitamin E concentration. Nutrition Research, 1997. **17**(8): p. 1311-1319.

الجزء العمـــــــلي

الفصـــــــــــل الخامس

الطـرق و الوســـائـــل

تم انجاز هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة ومخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي .

1.V الأجهزة و المواد المستعملة:

أثناء إنجازنا هذا العمل تم الاستعانة بالمواد الكيميائية والأجهزة الموجودة على مستوى مخابر كلية علوم الدقيقة ومخبر تثمين و ترقية الموارد الصحراوية (VTRS) بجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي .

الجدول(1.V): الأجهزة و المواد المستعملة.

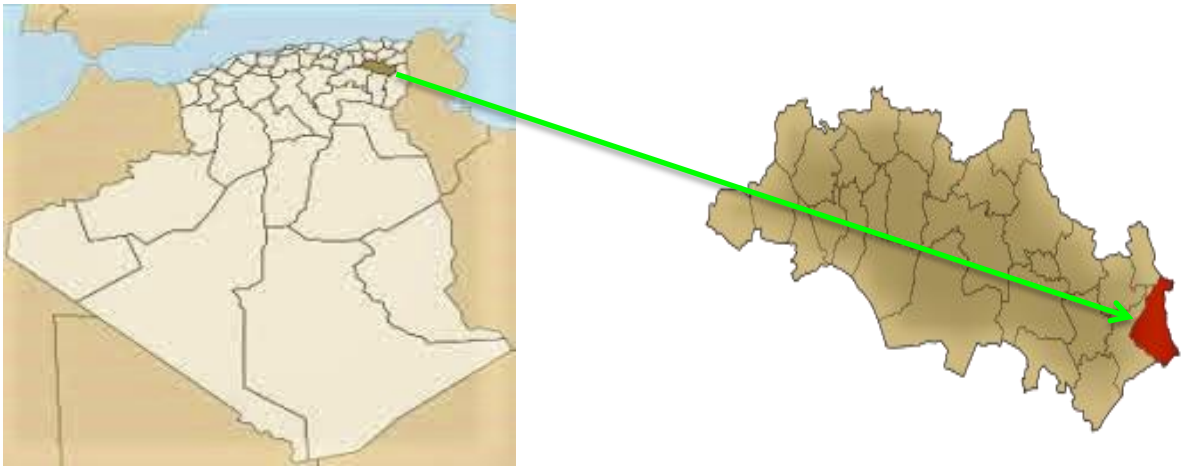
المواد الكيميائية المستعملة	الأجهزة و الأدوات المستعملة
• ميثانول (CH3-OH) • 1- بيتانول (C_4H_9-OH) • إيثانول (C_2H_5-OH) • كلوروفورم ($CHCl_3$) • هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) • حمض الكبريتيك (H_2SO_4) • حمض الهيدروليك (HCl) • حمض انهدريد ($C_2H_4O_2$) • كبريتات النحاس ($CuSO_4$) • يوديد البوتاسيوم (KI) • كلوريد الزئبق ($HgCl_2$) • المغنيزيوم (Mg) • اليود (I_2) • كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) • محلول فهلينج A • محلول فهلينج B • DPPH • BHT • β – Caroténe	• حوض الأمواج فوق الصوتية Ultra-sons • ميزان الكتروني حساس • مخلاط مغناطيسي (Iniécateur) • المبخر الدوراني (Rotavapeur) • فرن تبخير (Four) • مصباح UV • جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية- المرئية (Spectrophotometer) • قدم قناوية Pied à coulisse • حاضنة (Etuve) • بيشر (Bécher) (1000 ، 100مل) • أنابيب اختبار (5، 10، 25 مل) • سحاحة (1، 2، 5، 10مل) • ايرلن ماير (100مل) • حامل أنابيب اختبار • ورق ترشيح (Papier à filter) • إبرة تلقيح بلاتينية strie • زجاجة ساعة • علب بيتري

2.V المادة النباتية:

نستعمل في هذه الدراسة الأجزاء الأرضية (الدرنات) من نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss.

1.2.V الجني:

تم جني درنات نبات التالغودة من المنطقة المعروفة بمشت ولاد يحي ببلدية بلالة ولاية أم البواقي الجزائر بالقرب من جبل مزيزوا بتاريخ 21 جانفي 2020 . والشكل (1.V) يبين الموقع الجغرافي لمنطقة الجني بولاية أم البواقي.



-أ- خريطة الجزائر

-ب- خريطة ولاية أم البواقي

الشكل(1.V):أ-ب الموقع الجغرافي لمنطقة الجني بولاية أم البواقي(google maps 2020).

2.2.V التجفيف:

بعد جني الدرنات تم غسلها جيدا لإزالة الأتربة و الأوساخ ومن ثم قطعت إلى شرائح صغيرة لتسهيل تجفيفها و تم وضعها في الظل بعيدا عن الرطوبة بمكان جيد التهوية في درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوعين . و الشكل (2.V) يبين مراحل التجفيف:

-أ- الدرنات | -ب- الشرائح قبل التجفيف | -ج-الشرائح بعد التجفيف

الشكل (2.V): صور تبين مراحل تجفيف نبات التالغودة

3.2.V الطحن:

بعد التجفيف جيدا تم تحضير مسحوق النبات عن طريق طحن شرائح الدرنات الجافة بواسطة هاون (مهراس)، و حفظ المسحوق في زجاجة داكنة محكمة لحين إجراء الدراسة الكيميائية عليه .

-أ- قبل الطحن | -ب- بعد الطحن

الشكل(3.V): أ-ب صور تبين نبات التالغودة قبل و بعد الطحن

3.V المسح الفيتوكيميائي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss:

استخدمت عدة طرق معتمدة للكشف عن أهم المواد الفعالة في المسحوق الجاف لنبات التالغودة.

تحضير المستلخص المائي:

تم نقع 5g من مسحوق المادة النباتية في 30ml من الماء المقطر (100°C)، مصحوبا بالرج لمدة 24h بعدها رشح المزيج للحصول على المستخلص المائي [1].و يبين الشكل (4.V) المستخلص المائي بعد الترشيح.

الشكل (4.V) المستخلص المائي

1.3.V الكشف عن القلويدات (Alkaloids):

تحضير الكواشف [2]

كاشف ماير Mayer reagent: و يحضر بإذابة 13.5g من $HgCl_2$ و 5g من KI في لتر من الماء المقطر[2].

كاشف واغنر wagner reagent: يحضر بإذابة 1.27g من I_2 و 2g من KI في 100ml من الماء المقطر [2].

طريقة العمل: وفقا للطريقة المتبعة من طرف Elangovan, Nyamwamu, Al-Daihan [3-4-5] قمنا بنقع 100mg من الجزء النباتي في 5ml من الميثانول، يرشح المزيج، نمزج 2ml من الرشاحة مع 5ml من HCl بتركيز 1%.

أنبوب 1:يحتوي على 1ml من المزيج + قطرات من كاشف ماير.

أنبوب 2:يحتوي على 1ml من المزيج + قطرات من كاشف واغنر.

الملاحظـــة : ظهور راسب برتقالي محمر دليل على وجود القلويـــدات.

2.3.V الكشف عن الفينولات (Phenols):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Muhammad Qasim Samejo[6] ، يتم غلي 0.5g من الجزء النباتي في 10ml من الماء المقطر، يرشح المزيج، نضيف للرشاحة بعد بعض القطرات من $FeCl_3$ بتركيز0.1%.

الملاحظـــة : ظهور لون أزرق مسود دلالة على وجود الفينولات.

V.3.3 الكشف عن الفلافونيدات (Flavonoids):

طريقة العمل :وفقا للطريقة المتبعة من طرف Muhammad Qasim Samejo [6] ، يتم غلي 0.5g من الجزء النباتي في 10ml من الايثانول، يرشح المزيج، نضيف للرشاحة بعض القطع من Mg و قطرات من HCl المركز.
الملاحظـة :ظهور لون أحمر يشير إلى وجود الفلافونيدات.

V.4.3 الكشف عن الستيرويدات (Steroids):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Muhammad Qasim Samejo [6] ، قمنا بنقع 0.5g من الجزء النباتي في 10ml من $CHCl_3$ ، يرشح المزيج، نضع الرشاحة في أنبوب اختبار ونضيف لها 1ml من حمض انهيدريد و قطرات من H_2SO_4 .
الملاحظـة: تشكل حلقة خضراء دلالة على وجود الستيرويدات.

V.5.3 الكشف عن الصابونين (Saponins):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Kardong [7] ،قمنا بنقع 1g من الجزء النباتي في 10mlمن الماء المقطر، يرشح المزيج، نضع الرشاحة في أنبوب اختبار و نضيف لها 3ml من الماء المقطر ونرج لمدة 5min.

الملاحظـة :تشكل رغوة دلالة على وجود الصابونين.

V.6.3 الكشف عن التانينات (Tannins):

طريقة العمل :وفقا للطريقة المتبعة من طرف Chouchary, Djaafar, Karthishwaran [8-9-10] يتم غلي 0.5g من الجزء النباتي في 20ml ماء مقطر، يرشح المزيج، نضيف للرشاحة قطرات من $FeCl_3$ بتركيز 0.1%.
الملاحظـة :ظهور لون أزرق مسود دلالة على وجود التانينات.

V.7.3 الكشف عن السكريدات (Glycosides):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Muhammad Qasim Samejo [6] ، نضع في أنبوب اختبار 2ml من المستخلص المائي و نضيف لها حجم 2ml من مزيج متساوي الحجم من محلول فهلينج A و B، بعدها نسخن المزيج.
الملاحظـة :ظهور راسب أحمر أجوري دليل على وجود السكريدات.

V.8.3 الكشف عن البروتينات (Proteins):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Muhammad Qasim Samejo [6] ، نضع 2ml من المستخلص المائي في أنبوب اختبار نضيف لها من 5 إلى 6 قطرات من NaOH بتركيز 5 % و 5 إلى 7 قطرات من $CuSO_4$.
الملاحظـة :ظهور لون بنفسجي دلالة على وجود البروتين.

9.3.V الكشف عن التربينات (Terpenes):

طريقة العمل : وفقا للطريقة المتبعة من طرف Ganatra, Bijekar, Chowdhury, Kardong [11-14] نضع 5ml من المستخلص المائي في أنبوب اختبار نضيف لها من 2ml من $CHCl_3$ و 3ml من H_2SO_4

الملاحظـــة :تشكل طبقة بنية محمرة دلالة على وجود التربينات.

10.3.V الكشف عن الكومارينات (Coumarins):

طريقة العمل :وفقا للطريقة المتبعة من طرف Yadav, Sawant, Godghate [15-16-17] نضع 2ml من المستخلص المائي في أنبوب اختبار نضيف لها 3ml من NaOH بتركيز % 10.

الملاحظـــة :ظهور لون أصفر يدل على وجود الكومارينات.

4.V طرق الاستخلاص:

1.4.V تعريف الاستخلاص:

هو عزل مركب أو عائلة مركبات من المادة الخام باستعمال المذيبات العضوية، إذا كانت المادة الخام سائلة فيطلق عليه استخلاص سائل – سائل، و أما إذا كانت صلبة فيطلق عليه استخلاص سائل - صلب، ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة، الضغط وكيفية استعمال المذيب[18].

قمنا في بحثنا هذا باستخدام الميثانول و البيتانول للاستخلاص لغرض المقارنة بين المذيبين، و ذلك باستخدام طريقتين للاستخلاص هما:

- **2.4.V الاستخلاص بالنقع (صلب-سائل) (Macération):**

حسب ما ذكره PIOTROWSKI و MATKOWSKI (2006) [19]، نقوم بنقع 40g من مسحوق المادة الجافة في 150ml من المذيب (الميثانول أو البيتانول) تكرر العملية ثلاث مرات ، يترك المزيج لمدة 72/48/24 ساعة، يرشح المزيج و ينقل إلى جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur (الشكل6.V) في درجة حرارة 59 °C للتخلص من المذيب و الحصول على المستخلص الجاف،

طريقة العمل:

قمنا بوزن 40g من المسحوق الجاف لنبات التالغودة بواسطة ميزان حساس الشكل (5.V)، ثم قمنا بنقعه على البارد في 150ml من المذيب العضوي الميثانول و البيتانول يترك المزيج ل 24 ساعة ثم نقوم بترشيح الرشاحة ، و المتبقي من المادة الجافة قمنا بنقعه في 150ml من الميثانول و البيتانول و نتركه ل48 ساعة ثم نرشح الرشاحة ، و في المرة الثالثة نقعنا المتبقي من المادة الجافة ل72 ساعة في 150ml من الميثانول و البيتانول و رشحنا المزيج ، قمنا بجمع الرشاحات الثلاثة و بخرنا المذيب بواسطة التبخير تحت الفراغ في جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur (الشكل6.V) لنحصل في النهاية على مستخلص جاف لمذيبي الميثانول و البيتانول ، بعدها نقدر قيمة مردود الاستخلاص.

الشكل (6.V): المبخر الدوراني

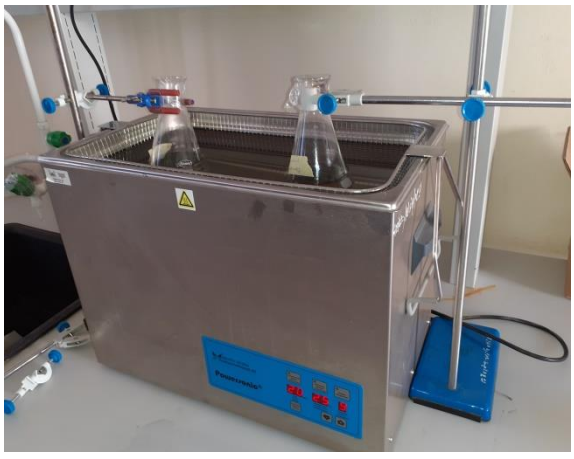
الشكل(5.V): ميزان حساس

- **3.4.V الاستخلاص في حوض الأمواج فوق الصوتية (Ultra-sons):**

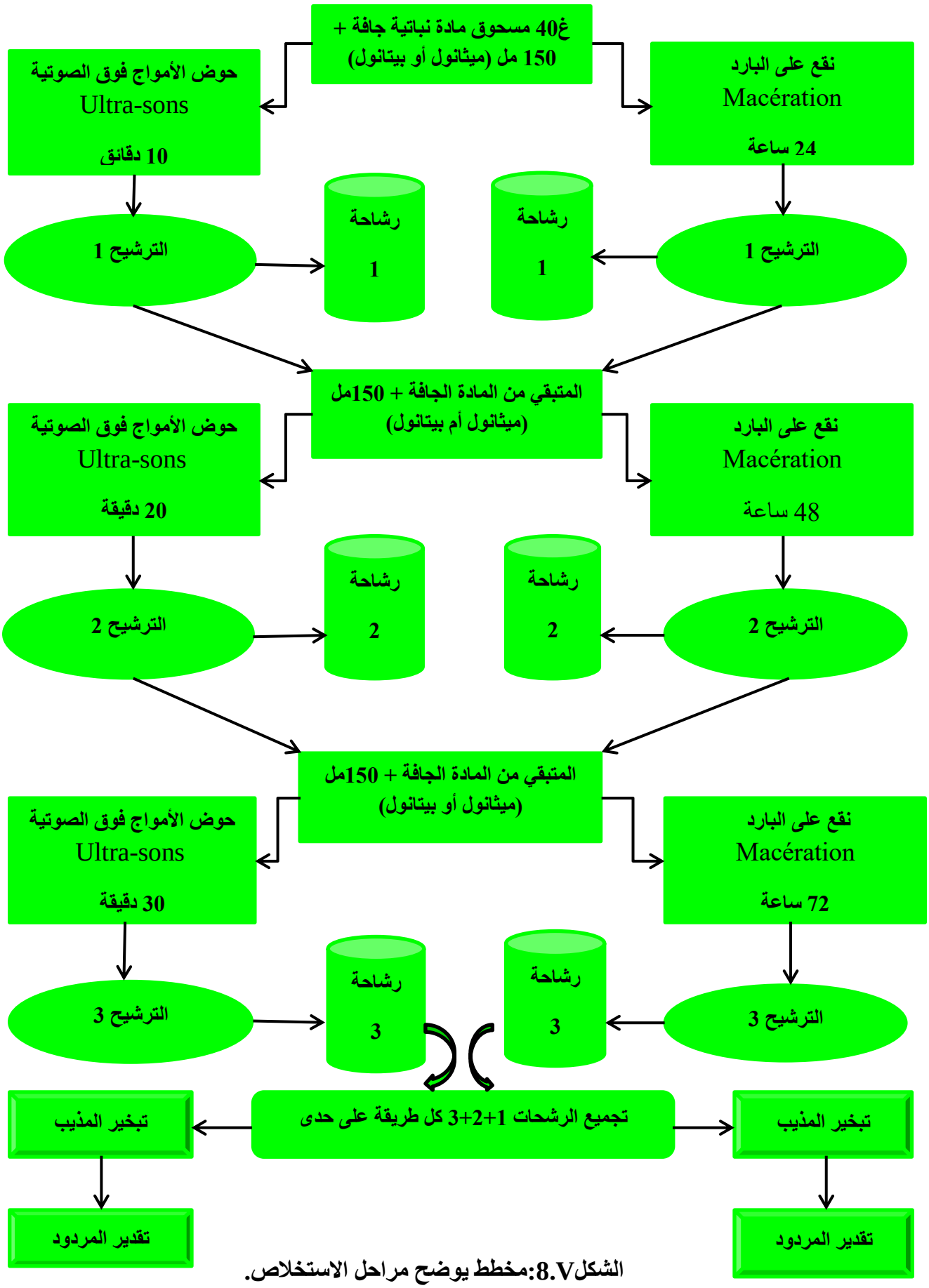
نأخذ وزن قدره 40g من مسحوق المادة الجافة و نضعه 150ml من المذيب (الميثانول أو الإيثانول) يوضع المزيج في حوض الأمواج فوق الصوتية (الشكل 7.V) تكرر العملية ثلاث مرات لمدة زمنية 30,20,10 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم نقوم بالترشيح و تبخير المذيب في جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur في درجة حرارة 59°C للتخلص من المذيب و الحصول على المستخلص الجافة [20].

طريقة العمل:

قمنا بوزن 40g من مسحوق الجاف لنبات التالغودة بواسطة ميزان حساس، ثم حضرنا مزيج في 150ml من مذيب الميثانول و البيتانول و عرضناه للأمواج فوق الصوتية لمدة 10 دقائق في حوض الأمواج فوق الصوتية (الشكل 7.V) ثم رشحنا المزيج ، و المتبقي من المادة الجافة عرضناه في 150ml من مذيب الميثانول و البيتانول للأمواج فوق الصوتية لمدة 20 دقيقة ثم رشحنا المزيج ، و في المرة الثالثة لمدة 30 دقيقة ثم قمنا بالترشيح و جمعنا الرشاحات الثلاثة و تبخير المذيب في جهاز المبخر الدوراني ، لنحصل في النهاية على خلاصة مركزة لمستخلص الميثانول و البيتانول، لأجل تقدير قيمة المردود .



الشكل(7.V): حوض الأمواج فوق الصوتية.



الشكل8.V:مخطط يوضح مراحل الاستخلاص.

4.4.V تقدير مردود المستخلصات:

قيمة المردود للمستخلصات هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها والتي نرمز لها بـ (m) على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة ويرمز لها بالرمز (m_0) ويحسب مردود الاستخلاص باستخدام العلاقة التالية:

$$R\ (\%) = (m / m_0) \times 100$$

R (%) : قيمة مردود المستخلصات بـ %.

m : كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب بالغرام .

m_0: كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص بالغرام [21].

5.V دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات التالغودة Bunium incrassatum Boiss :

في هذا الجزء تمت دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss و تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصاته على سلالات بكتيرية متنوعة موجبة الغرام و سالبة الغرام و هي على نوعين سلالات مرجعية و سلالات سريرية.

و نظرا للظروف التي حالت دون إتمامنا للعمل التطبيقي داخل مخابر كلية علوم الدقيقة –جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي – تمت مناقشة نتائج تجارب الباحثة و الدكتورة أحلام بوسطلة و معاونوها (2014) [22]، لأجل اتمام عمل المذكرة حيث قامت الباحثة بدراسة الأولى من نوعها على نفس نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss الذي جني من نفس المنطقة - أم البواقي- درست فيه الفعالية البيولوجية للنبات حيث ختمت نتائج أعمالها في رسالة الدكتوراه حملت عنوان: دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية للنبتتين *Foeniculum vulgare* Mill و *Bunium incrassatum* Boiss.حيث أجريت دراسة مستخلصات درنات نبات التالغودة بمختبر الميكروبيولوجيا بقسم العلوم الطبيعة و الحياة التابع لجامعة العربي بن مهيدي-أم البواقي- .

يتم دراسة النشاط أو التأثير المضاد للبكتيريا مخبريا على مرحلتين:

1.5.V دراسة نوعية طريقة الانتشار على وسط صلب (طريقة الأقراص):

لمعرفة مدى حساسية البكتيريا للعوامل المضادة لها و تقدير الجرعة (تركيز المضاد) القادر على إحداث التأثير نستعمل طريقة Antiboigramm عن طريق الانتشار على وسط صلب ؛ حيث يتم تحضير الأقراص بورق Whatman(3MM) التي تشبع بالتركيز المحدد من المستخلصات النباتية أو المضاد الحيوي أو المواد المراد اختبارها على نمو البكتيريا مثلا في دراستنا ستكون مستخلصات نبات التالغودة ، و من ثم توضع في أطباق بتري على وسط صلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري بطريقة المسح (Inoculum) ، حيث تمكننا هذه الطريقة من معرفة مدى تأثير المستخلص النباتي على البكتيريا [23-24-25].

2.5.V دراسة كمية تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI:

يعرف التركيز الأدنى المثبط بـ **CMI** أو **MIC** على أنه أقل تركيز ممكن من المضاد الحيوي أو المواد المراد اختبارها التي تؤدي إلى تثبيط كل نمو بكتيري مرئي بعد حوالي كل من 18 إلى 24 ساعة من الحضانة في درجة حرارة 37°C، و يمكن تعيين قيمتها إما بطريقة الانتشار على وسط صلب أو وسط سائل، و قد تمت في الدراسة بطريقة الانتشار على وسط صلب باستعمال طريقة NCCLS [23-24-25].

3.5.V طريقة انجاز عمل التجربة :

1.3.5.V السلالات البكتيرية المستعملة:

تم اختيار مجموعتين من السلالات البكتيرية :

- المجموعة الأولى سلالات بكتيرية مرجعية ATCC مصدرها معهد باستور بالجزائر.
- المجموعة الثانية سلالات بكتيرية سريريه * تم عزلها من المرضى.

بكتيريا موجبة الغرام Gram (+)	بكتيريا سالبة الغرام Gram (-)
Staphylococcus aureus ATCC 29213 **Staphylococcus aureus *** **Streptococcus α ***	**Escherichia coli ATCC 25922** **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853** **E-coli (*); Pseudomonas aeruginosa * ;** **klebsiella pnomoniae*; Proteus mirabilis*** **Serratia*; Enterobacter sp*.**

الجدول (2.V): السلالات البكتيرية المستعملة في الدراسة [22].

2.3.5.V دراسة الفعالية ضد البكتيرية للمستخلصات باستعمال طريقة الانتشار على الأقراص:

لتقدير النشاطية ضد البكتيرية للمستخلصات النباتية تم اعتمدنا طريقة الانتشار بالأقراص، و ذلك بتشبيع الأقراص بـ 40µl بالمستخلصات النباتية.

1.2.3.5.V تحضير المستخلصات النباتية :

أجريت الدراسة على مستخلص [1:1] [CH_2Cl_2:MeOH] بالنسبة لدرنات نبات التالغودة و كذالك مستخلص $CHCl_3$ و مستخلص AcOEt للجزء الهوائي لنبات التالغودة، يحضر المحلول الأصلي A بتركيز 8mg/ml و ذلك بإذابة 8mg من المستخلص الخام في 1ml من الماء المقطر ، و انطلاقا منه تم تحضير تراكيز مخففة 4mg/ml، 2mg/ml، 1mg/ml. بالنسبة لمستخلص الكلوروفورم و الأسيتات تم التخفيف إلى 0.5mg/ml، 0.25mg/ml.

2.2.3.5.V تحضير الأقراص و تعقيمها و تشبيعها بالمستخلصات :

تم تحضير الأقراص من ورق (Whatmans N°3) بقطر 6mm ، توضع في أنبوب اختبار مغلق و يتم تعقيمها بواسطة فرن باستور (pasteur oven) لمدة 30min في درجة حرارة°180. ثم تم تشبيعها بوضع التراكيز عليها المحضرة سابقا للمستخلصات بمقدار 40µl قبل وضعها على الوسط البكتيري .

3.2.3.5.V تحضير المعلق البكتيري:

تم تحضير اللقاح البادئ انطلاقا من سلالة نقية، حيث أخذت مستعمرة متوسطة أو مستعمرتين صغيرتي الحجم من المزارع البكتيرية الحديثة بواسطة إبرة بلاتينية (anse de platine)، نضعها في أنبوب اختبار يحتوي 10mlمن الماء الفيزيولوجي المعقم (NaCl)، يرج الأنبوب جيدا للحصول على المعلق البكتيري ويستعمل بعد 15minمن تحضيره لتفادي زيادة نمو البكتيريا.

4.2.3.5.V تحضير الوسط الزراعي:

تم إذابة الوسط المغذي Muller-Hinton في جهاز التعقيم بالضغط (Autoclave) عند درجة حرارة 120°C وضغط 200KPa. بعد إذابة الوسط يسكب منه 20ml في علب بتري ذات قطر 90mm، تتم العملية في لهب موقد بنزن لخلق وسط معقم، يترك على طاولة المخبر إلى غاية أن يبرد ويتجمد، نشير هنا أنه تم استعمال أوساط مغذية بطريقة NCCLS على حسب نوع البكتيريا.

5.2.3.5.V الزرع:

هذه العملية يجب أن تكون في الفترة من 10 إلى 15 دقيقة التي تلي تحضير المعلق البكتيري لتافدي زيادة أعداد البكتيريا، حيث تم غمس ماسح قطني معقم في المعلق البكتيري بعدما يجرى التخلص من الكميات الزائدة من المعلق بضغط الماسح القطني بقوة بجدران أنبوب الاختبار من الداخل، ثم مسح به على كامل الوسط الزراعي الجاف بشكل خطوط متلاصقة مع تدوير الطبق البتري بزاوية °60 ، في كل مرة تم القيام بنفس العملية مع كل السلالات البكتيرية.

6.2.3.5. وضع الأقراص:

بواسطة ملقط معقم أخذت الأقراص المشبعة بالمستخلص بتراكيز مختلفة بمقدار 40µl ووضعت على الوسط الزراعي الصلب داخل علب بتري المحضرة سابقا، نترك العلبة لمدة 20minعلى سطح طاولة المخبر.

7.2.3.5. عملية الحضن:

تم وضع الأطباق البترية بشكل مقلوب في الحاضنة تحت درجة حرارة 37°C لمدة 24 ساعة. بعد مرور 24ساعة من الحضن تتم القراءة بقياس قطر منطقة التثبيط (المنطقة التي لم تنمو فيها السلالات البكتيرية) بالمليمتر.

تم التعبير عن النتائج التجريبية على شكل متوسط حسابي (Moye) لكل القيم المتحصل عليها (ثلاث مكررات) ± الانحراف المعياري(SD) .

3.3.5.V دراسة كمية تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI:

1.3.3.5.V تحضير المستخلصات النباتية :

تم إذابة 20g من مستخلصات الكلوروفورم و الأسيتات للجزء الهوائي من نبات التالغودة في 10ml (EtOH 60%) ، ثم حضرت مجموعة من التراكيز المتناقصة انطلاقا من المحلول الأم ذو تركيز 2000mg/ml. و الجدول (3.V) يمثل التراكيز المستعملة في تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI :

الجدول (3.V) التراكيز المستعملة في تحديد التركيز الأدنى المثبط CMI [22].

التركيز الابتدائي (mg/ml)	الحجم (ml)		الحجم EtOH60% (ml)	التركيز النهائي (mg/ml)
2000	6.4ml المحلول الأم	+	3.6 ml	1280
	2	+	2	640
	1	+	3	320
	0.5	+	3.5	160
	0.5	+	7.5	80
80	2	+	2	40
	1	+	3	20
	0.5	+	3.5	10
	0.5	+	7.5	5
5	2	+	2	2.5
	1	+	3	1.25
	0.5	+	3.5	0.63
	0.5	+	7.5	0.32

2.3.3.5.V التجربة:

تم تحضير مزارع بكتيرية في الطور الثابت للنمو لكل سلالة من السلالات السابقة تحت الدراسة ثم اتبعت المراحل التالية :

- أخذ حجم قدره 0.1ml من العصيات التي أخذت من المزارع البكتيرية و أضيف لها 10ml من الماء المقطر في أنابيب اختبار.
- و ضعت الأنابيب في حمام مائي درجة حرارته 37°C مدة 3 إلى 5 ساعات مع الرج لحين بداية ظهور تعكر خفيف ، هذا التعكر دليل على أن الأنبوب يحوي على الأقل 5×10^7 بكتيريا لكل مل.

- أخذ طبق بتري فارغ و أضيف له 2ml من التراكيز الموضحة في الجدول (3.V) ثم أضاف له 18ml من وسط مغذي حسب طبيعة البكتيريا.
- تحرك الأطباق جيدا لأجل انتشار المستخلص في كامل الطبق ثم جمدت و جففت في الحاضنة.
- تم أخذ طبق كشاهد يحوي 2ml من EtOH 60% بدل المستخلص و أضيف له 18ml من الوسط المغذي.
- تم زراعة البكتيريا بشكل خطوط متوازية بواسطة إبرة التلقيح البلاتينية في كل طبق.
- تمت قراءة النتائج بعد 24 ساعة لتحديد أصغر تركيز مثبط للبكتيريا و ذلك عن طريق قياس أقطار التثبيط بالمليمتر بواسطة قدم قناوية .

6.V دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات التالغودة Bunium incrassatum Boiss :

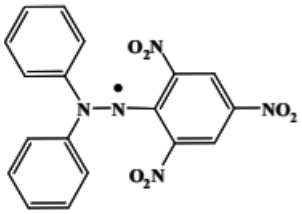
الفعالية المضادة للأكسدة هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة، تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق التي من بينها اختبار: OH، PM، PR، ABTS ، DPPH، FRAP،TRAP و O2 ، تعتمد بعض طرق تقدير النشاط المضادة للأكسدة على التلوين أو اختفائه أو تغيره خلال زمن ما ؛ و تقرأ الامتصاصية عند طول موجي معين [22]، في دراستنا هذه قمنا بدراسة اختبارين:

- اختبار التثبيط الجذري أو النشاطية تجاه جذر DPPH.
- اختبار زوال أو تفسخ لون البيتاكاروتين/β – Caroténe.

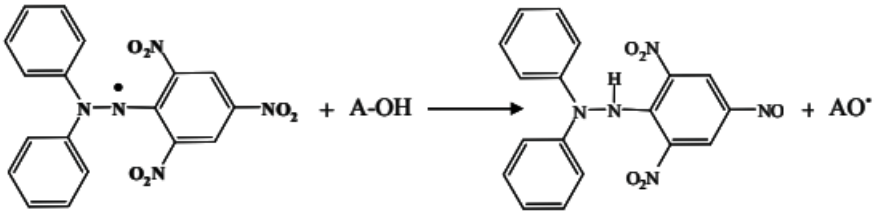
و نظرا للظروف التي حالت دون اتمامنا العمل التطبيقي تم مناقشة التجارب التي أجرتها الباحثة أحلام بوسطلة و معانوها [22]، و التي تم اجراءها على نفس نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss .

1.6.V اختبار DPPH:

هو اختبار مضاد للجذور الحرة، يعتبر اختبار DPPH من أكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثيرالازاحي للمركبات الفينولية والمستخلصات النباتية حيث يستعمل هذا الاختبار جذر (DPPH) 2,2'-diphenyl picrylhydrazyl وهو جذر مستقر ذو لون بنفسجي وبتفاعله مع العامل المضاد للأكسدة (AH) يتحول لونه إلى الأصفر[26]، يتميز اختبار DPPH بتشكيل الجذر الحر و المستقر للمركب الأزوتي (DPPH)• و هذا الاستقرار ناتج عن تمركز الإلكترون الحر على مستوى الجزي، و يعتمد هذا الاختبار على نسبة إرجاع الجذر DPPH• في وجود مركب مضاد للأكسدة قادر على منح إلكترون أو جذر هيدروجينيا، و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH• ذو اللون البنفسجي الداكن الذي يتحول إلى جزيئة مستقرة DPPH-H و هي مادة صلبة غير جذرية لونها أصفر[27]، و يقاس التغير اللوني بقياس الانخفاض في قيم الامتصاصية عند الطول الموجي 517nm [28]، نقصان الامتصاصية يدل على زيادة في تثبيط الجذر الحر و العكس صحيح، و تحدد قدرة مضادات الجذور الحرة بعبارة كمية حسابية انطلاقا من نسب التثبيط المئوي بدلالة تركيز المحلول نعبر عنها بـــ IC_{50} ؛التي تعرف بأنها كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط 50 % من الجذر الحر DPPH ، و تكون متناسبة عكسيا مع كمية مضادات الأكسدة أي أن انخفاض قيمة IC_{50} يشير إلى نشاط أعلى لمضادات الأكسدة [29] .



الشكل (9.V): البنية الكيميائية لجذر DPPH



الجزي المستقر DPPH-H ذو اللون الأصفر الجذر الحر DPPH• ذو اللون البنفسجي

الشكل (10.V): معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضادات الجذور الحرة [30].

طريقة العمل:

حضرت تراكيز مختلفة من مستخلص الميثانول و البيتانول بالإضافة إلى مركب مرجعي ثم تم أخذ 30 µl من كل تركيز من المستخلصات و أضيف لها 3ml من محلول DPPH ذو تركيز 100 µM (يتم تحضير محلول DPPH بإذابة 2mg من ثنائي فينيل هايدرازيل في 50ml من الميثانول فتتحصل على محلول بنفسجي داكن ذو التركيز100 µM)، بعد الخلط الجيد يوضع الخليط التفاعلي في الظلام و لمدة 30 دقيقة ثم نقرأ الامتصاصية بجهاز UI-Vsible عند طول الموجة λ_{max} = 517nm ، مقابل الشاهد المحضر في نفس الشروط التجريبية باستعمال الميثانول بدلا من المستخلص ، نحسب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH (I%) كما يلي:

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

حيث أن:

I%: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر DPPH.

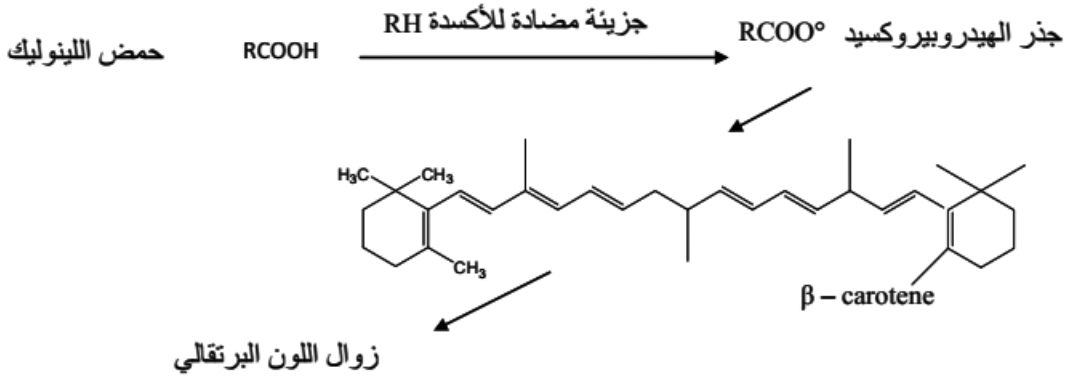
A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات النباتية بعد مرور 30min.

A_i: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلصات النباتية) بعد مرور 30min.

فيما بعد تم حساب التركيز الموافق لتثبيط 50 % من الجذر الحر (IC_{50}) من منحنى نسب التثبيط (I%) باستعمال المعادلة، و القيمة الأقل ل IC_{50} تمثل التأثير الإزاحي الأكبر للمستخلص، و يتم مقارنتها مع نظيرتها بالنسبة للكرستين و الذي يعمل كمضاد أكسدة استعمل كمرجع [31].

2.6.V اختبار بيتا-كاروتين/β – Caroténe :

تقدر النشاطية المضادة للأكسدة في هذا الاختبار بقياس تثبيط تشكل الهيدروبيروكسيد الثنائية (diene conjugated hydroperoxide) والمواد العضوية الطيارة الناتجة عن أكسدة حمض اللينولييك [32]، و مبدأ هذا الاختبار أنه خلال عملية الأكسدة يحدث فقد لذرة الهيدروجين من مجموعة الميثلان النشطة لحمض اللينوليك الواقعة في ذرة الكربون رقم 11 [33]، فتتشكل نتيجة لذلك جذور الهيدروبيروكسيد Hydroperoxide و التي بدورها تقوم بمهاجمة الروابط المزدوجة للبيتا- كاروتين و ذلك لاسترجاع استقرارها، مما يؤدي إلى زوال اللون البرتقالي المميز للبيتا- كاروتين، فينتج نقصان في قيمة الامتصاصية، إن وجود العوامل المضادة للأكسدة كالمركبات الفينولية بصفة عامة والفلافونيدات بصفة خاصة يؤدي إلى اقتناص جذور الهيدروبيروكسيد التي تشكلت من قبل مما يسمح بالتقليل من عملية زوال لون البيتا- كاروتين، و يمثل الشكل (11.V) معادلة تفاعل زوال اللون البرتقالي للبيتا- كاروتين [34] :



الشكل (11.V) معادلة تفاعل زوال اللون البرتقالي للبيتا- كاروتين [33].

طريقة العمل:

تم تقدير النشاط المضاد للأكسدة بطريقة زوال لون β- Caroténe مع مرور الزمن المنتهجة من قبل "kartal et al" [34]. حيث تمت بإذابة 0.5mg من β-carotene في 1ml من كلوروفورم، ثم أضيف 25 µl من حمض اللينوليك و 200mg من Tween 40 مع الرج، ثم تم تبخير الكلوروفورم كليا في جهاز التبخير في 40°C، و أضيف 100ml ماء مقطر مشبع بالأكسجين(لمدة 30 دقيقة، سرعة التدفق 100min/ml) مع الرج.

بعدها تم وضع 2.5ml من الخليط المحضر سابقا في أنابيب الاختبار، وأضيف له 350µl من مستخلصات الميثانول و البيتانول لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss بتركيز 2mg/µl، نفس العملية تجرى مع مضاد الأكسدة BHT كشاهد موجب و الماء المقطر مع الميثانول كشاهد سالب (كرر الاختبار ثلاث مرات مع كل مستخلص) ، و حضنت الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام، تقاس و تقرأ امتصاصية المحاليل عند طول موجة 490nm في زمن 0 ساعة ثم بعد ساعة ثم بعد ساعتين و 4 ساعات و 6 ساعات و 24 ساعة و 48 ساعة.

عبر عن نتائج النشاط المضاد للأكسدة على أساس متوسط ثلاث قراءات مكررة

تقارن النشاطية المضادة للأكسدة للعينات مع BHT والشاهد السالب المقاسة بعد 48 ساعة، ويتم حساب نشاطية المستخلصات المضادة للأكسدة النسبية (AA%) حسب المعادلة التالية:

$$AA\% = A_{\text{العينة}} / A_{BHT} * 100$$

حيث أن:

$A_{\text{العينة}}$: امتصاصية العينة.

A_{BHT}: امتصاصية في وجود BHT بعد مرور 48 ساعة.

AA%: النسبة المئوية للنشاط المضاد للأكسدة.

قائمة المراجع:

المراجع باللغة الأجنبية:

[1] Soro.T.Y, Traore.F, and Sakande.J, Activité analgésique de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae). Comptes Rendus Biologies, 2009. 332(4): p. 371-377.

[3] Al-Daihan.S, Al-Faham.M, Al-shawi.N, Almayman.R, Brnawi.A, zargar.S, and Bhat.R.s, Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. Journal of King Saud University - Science, 2013. 25(2): p. 115-120.

[4] Nyamwamu.L.B, Ngeiywa.M, Mulaa.M, and Lelo.A.E, Phytochemical Constituents of Senna Didymobotrya Fresen Irwin Roots Used As a Traditional Medicnal Plant in Kenya International Journal of Education and Research, 2015. 3(6): p. 431-442.

[5] Kannan Elangovan.D.P, Anupriya.S, Banu.Z.S, and Murugesan.K, Evaluation of in vitro Antioxidant And GC/MC Spectroscopic Analysis of Memecylon Umbellatum Burm. F For its Bioactive Compounds International Journal of Pharmaceutical Development & Technology, 2014. 4(4): p. 225-234.

[6] Samejo.M.Q, Sumbul.A, Shah.S, Memon.S.B, and Chundrigar.S, Phytochemical screening of Tamarix dioica Roxb. ex Roch. Journal of Pharmacy Research, 2013. 7(2): p. 181-183.

[7] Kardong.D, Upadhyaya.S, and Saikia.L.R, Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of Pteridium aquilinum Kuhn. Journal of Pharmacy Research, 2013. **6**(1): p. 179-182.

[8] Karthishwaran.K, Mirunalini.S, Dhamodharan.G,Krishnaveni.M, and Arulmozhi.V, Phytochemical investigation of methanolic extract of the leaves of Pergularia daemia. Journal Biological Sciences, 2010. **10**(3): p. 242-246.

[9] Djaafar.Z, and Ridha.O.M, Phytochemical Study of Selected Medicinal plant, Solanum Nigrum, the Algerian Desert. International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy, 2014. **1**: p. 25-30.

[10] Choudhary.K, Singh.M, Meghwal.S.K, Mathuriya.B.L, and Nagar.J, Study of Phytochemical Constituents & Antimicrobial Activity of Common Plants of Hadoti region of Rajasthan, India. Int. J. Rec. Biotech, 2013. **1**(1): p.16-12 .

[11] **[**Kardong.D, Upadhyaya.S, and Saikia.L.R, Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of Pteridium aquilinum Kuhn. Journal of Pharmacy Research, 2013. **6**(1): p. 179-182.

[12] Chowdhury.T, A preliminary phytochemical screening of a lesser known species of garciniagarcinia acuminata plancho and triana. int j curr pharm res. **6**(1): p. 27-29.

[13] Bijekar.S.R, and Gayatri.M, Phytochemical profile of Codiaeum variegatum (L.) Bl. International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences, 2014. **2**(3): p. 22-31.

[14] **[**Ganatra.S.H, Durge.S.P, and Patil.S, Preliminary Phytochemicals Investigation and TLC Analysis of Ficus racemosa Leaves. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2012. **4**(5): p. 2380-2384.

[15] Godghate.A, and Sawant.R, Qualitative phytochemical analysis of chloroform extract of leaves of Adhatoda vasica Nees. Rasayan J Chem, 2013. **6**: p. 107-110.

[16] Sawant.R, and Godghate.A, Qualitative Phytochemical Screening of Rhizomes of Cucurma longa Linn. International Journal of Science, Environment and Technology, 2013. **2**(4): p. 634-641.

[17] Yadav.M, Chatterji.S, Gupta.S.K, and Watal.G, Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine.International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014. **6**(5): p. 539-542.

[18] ، R .Kohen ،V .Trombovler ،E .Biet-Yannai ،I .Gati ،، E.Shohami J Neuratrauma(1999).

[19] **M**ATKOWSKI A., PIOTROWSKA P., 2006- Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77(5): 346-353.

[20] **K**HOSRAVI M., SEYED A.M., KARIMI M., SHARAYIE P., ARMIN M., 2013- Comparison of ultrasound assisted and Kelavenger extraction methods on efficiency and antioxidant properties of Fennel's oil essence and its optimization by response surface methodology. *Intl J Agri Crop Sci*. 5(21): 2521-2528.

[21] 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

[23] Reza Alavi, S. H., Yassa., Shafiee, A., Fouladi, F (2008) A new furanocoumarin from Peucedanum ruthenicum. Pharmaceutical Biology, **46** (6), 371-379.

[24] Shults, E. E., Petrova, T.N., Shakirov, M.M., Chernyak, E.I., Pokrovskiy, M. L., Nekhoroshev, S. A., Tolstikov, G.A (2003) Coumarin compounds from roots of *Peucedanum (Peucedanum morisonii Bess).* Chemistry for sustainable development, **11**, 649-654.

[25] Günaydin, K., Erim, F.B (2002) Determination of Khellin and visnagin in *Ammi Visnaga* fruits by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, **954**, 291-294.

[26] Benabadji SH, Wen R, Zheng JB, Dong XC, Yuan SG. (2004) Anticarcinogenic and antioxidant activity of diindolylmethane derivatives. *Acta Pharmacol Sin*. *25*: 666-671.

[27] **[**Sharma.O.P, and Bhat.T.K, DPPH antioxidant assay revisited. Food chemistry, 2009. **113**(4): p. 1202-1205.

[28] Banani.M, Kameshwari.M.S, and Shubarani.R, Antioxidant Activity in two Species of Urginea Steinhill.Hyacinthaceae.International Journal of Recent Scientific Research, 2015.**6**(5):p.3807-3811.

[29] James.D, Sheneni.V, Kadejo.A, and Yatai.K, Phytochemical screening, and in-vitro antioxidant activities in different solvent extracts of Vitex doniana leaves, stem bark and root bark. American Journal of Biomedical and Life Sciences, 2014. **2**(1): p. 22-27.

[30] Molyneux.P, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity .Songklanakarin J. Sci. Technol, 2004. **26**(2): p. 211-219.

[31] Benmerache, A., Berrehal, D., Kabouche,A., Semra, Z.,Thomas,O., Touzani,R. Kabouche.Z (2013) Antioxidant, antibacterial activities and flavonoids of *Convolvulus fatmensis* G.Kunze .Der .Pharmacia Lettre, **5**(1), 371-375

[32] Aslan A, Güllüce M, Sökmen M, Adigüzel A, Sahin F, Özkan H. (2006). Antioxidant and antimicrobialproperties of lichens *Cladonia foliacea, Dermatocarpon miniatum,Everinia divaricata, Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharm Biol.* 44: 247-252.

[33] Frankel EN. (1998) Hydroperoxide formation in Lipid oxidation. *Dundee The Oily Press*. 23-41.

[34] Muller, L., Boehm,V(2011) Antioxidant Activity of β-Carotene Compounds in Different in *Vitro* Assays. Molecules, 16, 1055-1069.

المراجع باللغة العربية:

[2] ا.حاتم مجيد العذاري، ا.عبيس مطر السلطاني، دراسة كمية و نوعية المركبات القلوانية والصابونينية لأوراق و ثمار بعض الاصناف من نبات السدر .،2012مجلة جامعة الكوفة لعلم الاحياء **4**(2) ص 17.

[22] أحلام بوسطلة، 2014، دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية للنبتتين Bunuim incrassatum bioss و Foeniculum vulgare Mill، رسالة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم ،جامعة قسنطينة-1-، الجزائر .

الفـــصـــــل السادس

النتـــائـــج و المنـــاقشـــة

1.VI نتائج المسح الفيتو كيميائي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss:

كشف المسح الفيتو كيميائي الذي قمنا به على مختلف المركبات الكيميائية الموجودة في درنات نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss بواسطة تفاعلات ذات خصائص نوعية ترتكز هذه الأخيرة على ظواهر الترسب أو التلوين اعتمادا على كواشف نوعية، هذه الكواشف تسمح بتحديد وجود أو غياب بعض مركبات الأيض الثانوي ، موضحة نتائجها كالتالي:

1.1.VI الكشف عن القلويدات (Alkaloids):

نلاحظ عدم ظهور لون برتقالي في الأنبوب الأول و الثاني، هذا يدل على عدم وجود القلويدات في المستخلص الميثانولي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss.

2.1.VI الكشف عن الفينولات (Phenols):

نلاحظ ظهور لون أزرق مسود في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود الفينولات.

3.1.VI الكشف عن الفلافونيدات (Flavonoids):

نلاحظ ظهور لون أحمر في المستخلص الإيثانولي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود الفلافونيدات.

4.1.VI الكشف عن الستيرويدات (Steroids):

نلاحظ ظهور حلقة خضراء في المستخلص الكلوروفورم لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود الستيرويدات.

5.1.VI الكشف عن الصابونين (Saponins):

بعد الرج نلاحظ تشكل رغوة في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود الصابونين.

6.1.VI الكشف عن التانينات (Tannins):

نلاحظ ظهور لون أزرق مسود في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود التانينات.

7.1.VI الكشف عن السكريدات (Glycosides):

نلاحظ ظهور راسب أحمر أجوري في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود السكريدات.

8.1.VI الكشف عن البروتينات (Proteins):

نلاحظ عدم ظهور لون بنفسجي في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت عدم وجود البروتينات.

9.1.VI الكشف عن التربينات (Terpenes):

نلاحظ تشكل طبقة بنية محمرة في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود التربينات.

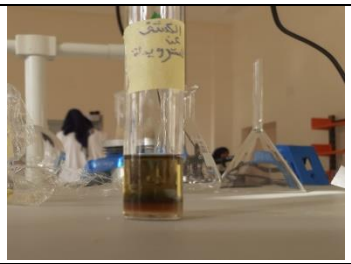
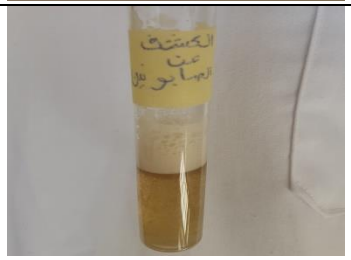
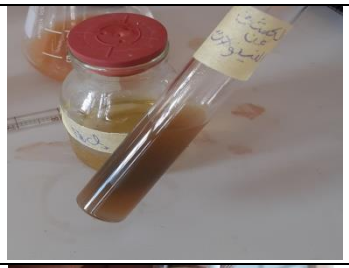
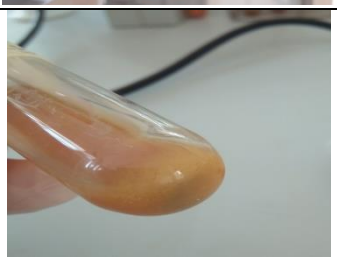
10.1.VI الكشف عن الكومارينات (Coumarins):

نلاحظ ظهور لون أصفر في المستخلص المائي لنبات Bunium incrassatum Boiss ما يثبت وجود الكومارينات.

و نلخص جميع نتائج المسح الفيتو كيميائي المتحصل عليها للمركبات الفعالة في نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss في الجدول (1.VI).

الجدول(1.VI): نتائج المسح الفيتوكيميائي للمركبات الفعالة في نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss

المركبات الفعالة	موجودة/غائبة في النبات	النتيجة
القلويدات	الأنبوب الأول:-	
	الأنبوب الثاني:-	
الفينولات	++	
الفلافونيدات	++	

الستيرويدات	+++	
الصابونين	+++	
التانينات	+	
السكريدات	++	
البروتينات	-	
التربينات	+++	
الكومارينات	++	

+ + + : وجود المادة الفعالة بوفرة.

+ + : وجود المادة الفعالة.

+ : آثار للمادة الفعالة.

- : غياب المادة الفعالة.

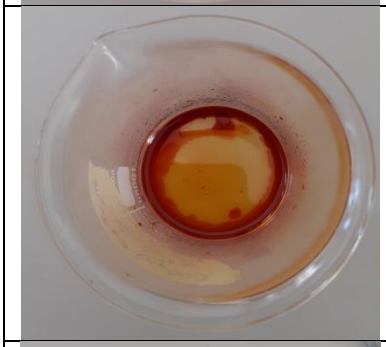
يظهر من خلال النتائج المتحصل عليها من دراسة المسح الفيتو كيميائي لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss ، أن درنات نبات التالغودة غنية بمركبات الأيض الثانوي حيث أثبت احتواءها على كل من الكومارينات، الفينولات، الفلافونيدات، الستيرويدات، الصابونين، التانينات، السكريدات، و أخيرا التربينات. غير أن درنات التالغودة أثبت افتقارها لكل من القلويدات و البروتينات.

النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة توافق ما قام به بعض الباحثون مثل الدراسة التي قامت بها باحثة الدكتوراه Ahlem Bousetla و معاونوها(2014) [1]، على نبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss حيث تم الحصول نسبيا على نفس نتائج المسح الفيتو كيميائي و التي أثبتت في دراستها وجود كل من الفلافونيدات و أحماض فينولية و الكومارينات و السكريدات . بينما تعارضت هذه الدراسة نسبيا مع دراسة طالبة الماستر Boukezata Ahlem (2014) [2]. التي أثبتت وجود القلويدات على نفس النبات (Bunium incrassatum Boiss) بينما في دراستنا التي قمنا بها كانت نتيجة القلويدات سلبية.

من خلال النتائج المحصل عليها من الكشف الفيتو كيميائي على درنات نبات التالغودة تبين غنى النبات وتنوعه بمنتجات الأيض الثانوي لاحتوائه على مجموعة هامة منها، و نفسر ذلك بكون الدرنات هي مقر تخزين المدخرات الغذائية في النبات و يمكن إعادة استعمالها خلال دورة حياته [3].

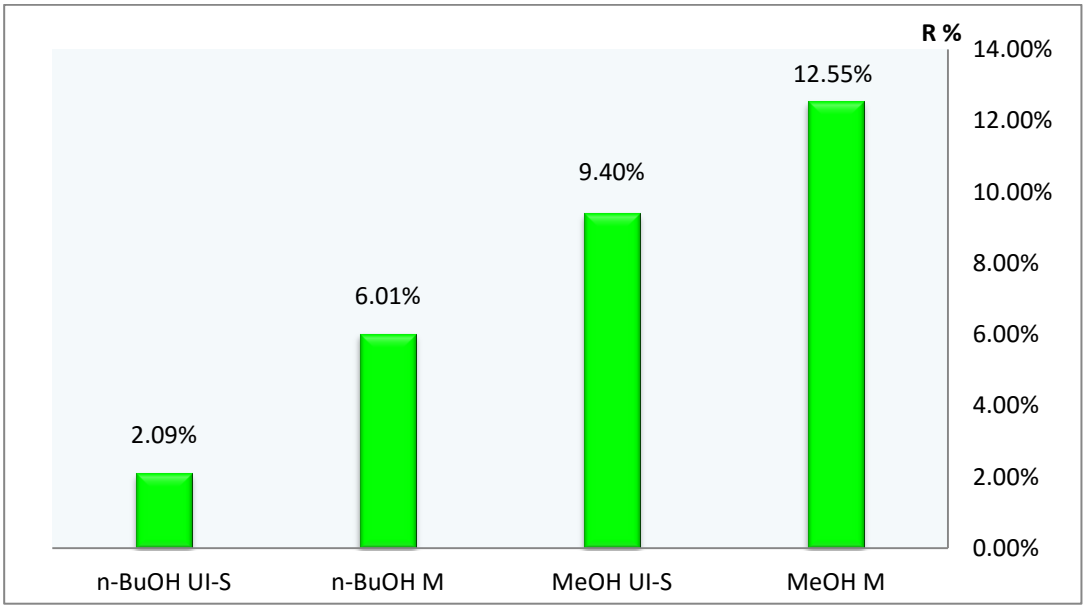
2.VI مردود المستخلصات:

تم حساب المردودية للمستخلصات انطلاقا من كتلة المادة النباتية الجافة الابتدائية المستخدمة وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة لكلا المستخلصين الميثانولي و البيتانولي بطريقتي النقع و الأمواج فوق الصوتية وكانت نسبة المردود لكل المستخلصات كما هي موضحة في الجدول (2.VI):

	المستخلص	الطريقة	الوزن (g)	المردود (%)	الصورة
كتلة المادة الجافة الابتدائية 40g	الميثانول	النقع Macération	5.021	12.55	
		الأمواج فوق الصوتية Ultra-sons	3.763	9.40	
	البيتانول	النقع Macération	2.407	6.01	
		الأمواج فوق الصوتية Ultra-sons	0.839	2.09	

الجدول (2.VI): مردود المستخلصات الميثانولية و البيتانولية بطريقتي النقع و الأمواج فوق الصوتية.

لتوضيح النتائج أكثر نمثل نتائج الجدول (2.VI) في مخطط أعمدة بيانية في الشكل (1.VI):



الشكل (1.VI): مخطط أعمدة بيانية يقارن مردود المستخلصات الميثانولية و البيتانولية لنبات التالغودة Bunium incrassatum Boiss

MeOH: المستخلص الميثانولي.

n-BuOH: المستخلص البيتانولي.

M: الاستخلاص بطريقة النقع.

UI-S: الاستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية.

من خلال النتائج المتحصل عليها و الممثلة في الشكل (1.VI) نلاحظ مايلي :

- نسبة المردود المقدرة في المستخلص الميثانولي التي قدرت بـ 12.55% بطريقة النقع أعلى من المستخلص البيتانولي و التي قدرت بـ 6.01% بنفس طريقة الإستخلاص.
- أعطى المستخلص البيتانولي نسبة مردود تقدر بـ 2.09% بطريقة الأمواج فوق الصوتية أقل من نسبة مردود المستخلص الميثانولي بالأمواج فوق الصوتية مقدرة بـ 9.40% .
- تفوقت طريقة النقع في نسبة المردود على طريقة الأمواج فوق الصوتية في كلا المذيبين (الميثانولي و البيتانولي) غير أن هذه النتائج تخالف النتائج التي تحصلت عليها Messouda و معاونوها (2015) [4]، حيث تفوقت طريقة الأمواج فوق الصوتية على طريقة النقع في الدراسة التي قامت بها على نبات الأرطي *Calligonum comosum* L'her.

3.VI دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا:

أظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لمختلف المستخلصات النباتية المتحصل عليها في الدراسة [1]، نشاطية متفاوتة بين المنعدمة، الضعيفة و العالية ضد السلالات البكتيرية المختبرة، أي أن لها أثر على نمو البكتيريا حسب التراكيز المستعملة و أن قطر التثبيط عادة ما يزداد بزيادة التركيز .

1.3.VI نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص [1:1] [CH_2Cl_2:MeOH] :

تلخص النتائج المتحصل عليها في الجدول (3.VI):

السلالات البكتيرية	التراكيز(mg/ml) مناطق التثبيط(mm)			
	1	2	4	8
E.coli	—	—	—	08.00±1.47
Staphylococcus aureus	06.00±0.0	1300±1.47	18.50±1.15	20.33±0.86
Staphylococcus epidermdis	0	—	12.66±1.15	14.00±02.00
Proteus mirabilis	—	—	—	07.25±0.57
Streptococcus pyogenes	—	—	07.75±0.95	11.00±0.95
Pseudomonas aerugenosa	—	07.00±0.100	13.00±0.57	16.66±01.15
klebsiella oxytoca	—	—	08.00±1.47	11.00±01.95
Entetobacter sp	—	—	07.00±01.00	08.66±01.15
Serratia sp	—	—	06.00±1.47	09.33±0.57

الجدول(3.VI):نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص [1:1] [CH_2Cl_2:MeOH] لنبات B.incrassatum[5].

تعتبر حساسية السلالة تجاه المستخلص منعدمة إذا كان قطر التثبيط أقل أو يساوي 8mm، و تكون محدودة عندما يتراوح قطر التثبيط بين 8mm و 14mm ، و تكون متوسطة عندما يتراوح قطر التثبيط بين 14mm و 20mm، أما عندما يكون قطر التثبيط أكبر من 20mm تكون جد حساسة[6].

من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح لنا أن المستخلص [1:1] [CH_2Cl_2:MeOH] لنبات Bunium incrassatum Boiss له أثر تثبيطي على مختلف أنواع السلالات البكتيرية و بالأخص عند التركيز الأعلى ألا و هو (8mg/ml) أين تم تسجيل أعلى قيمة لقطر منطقة التثبيط (20.33±0.86) لبكتيريا Staphylococcus aureus ، كما أنه لا يوجد فعالية ضد هذه السلالات عند التراكيز المنخفضة (1mg/ml) و (2mg/ml) باستثناء بكتيريا Staphylococcus aureus و التي تم تسجيل قطر (1300±1.47 mm) و قطر(06.00±0.0mm) على التوالي، و بكتيريا Pseudomonas aerugenosa أين تم تسجيل عند التركيز(2mg/ml) قطر تثبيطي(07.00±0.100) . نتائج هذه الدراسة اتفقت مع الدراسة التي قامت بها Messouda [4] .

2.3VI نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الكلوروفورم:

لخصت نتائج تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا و تحديد مدى تأثير مستخلص الكلوروفوفورم لنبات Bunium incrassatum Boiss في الجدول (4.VI) ضد سلالات بكتيرية متنوعة:

السلالات البكتيرية	التركيز (mg/ml) و مناطق التثبيط (mm)					
	0.25	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**
Gram(+)						
Streptococcus sp*.	8.99 ± 1.26	9.25 ± 1.52	10,79 ± 0,98	11.38 ± 0.81	11.71 ± 0.40	15.00 ± 0.67
Staphylococcus aureus ATCC 29213	10.76 ± 1.53	11.73 ± 0.96	12.09 ± 0.53	12.27 ± 0.27	13.71 ±1 .01	14.36 ± 0.25
Staphylococcus aureus*	11.03 ± 1.27	11.43 ± 0.53	11.73 ± 1.61	12.21 ± 0.77	12.69 ±0.44	14.28 ± 0.23
Gram(-)						
Escherichia coli ATCC 25922	11.22 ± 1.05	11.57 ± 0.72	11.62 ± 0.89	12.04 ± 1.26	14.47 ± 0.8	16.02 ± 0.87
Escherichia coli*	12.20 ±0.27	12.38 ± 0.88	12.50 ± 0.51	12.53 ± 0.95	12.90 ± 0.22	13.64 ± 1.30
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	10.79 ± 0.91	11.22 ± 1.18	11.43 ± 0.73	1 1.55 ± 1.01	12.58 ± 0.87	13.81 ± 0.85
Pseudomonas aeruginosa*	11.85 ± 2.01	12.28 ± 0.22	12.70 ± 0.53	13.13 ± 0.65	13 .19 ± 0.74	14.32 ± 0.87
Proteus mirabilis*	10.86 ± 0.68	11.38 ± 1.03	12.66 ± 1.43	13.72 ± 0.43	13.79 ± 0.65	15.34 ± 0.49
Klebsiella pneumoniae*	12.22 ± 0.46	12.75 ± 0.25	13.55 ± 1.47	13.84 ± 0.41	15.04 ± 0.94	16.32 ± 0.75
Enterobacter sp*.	11.64 ± 0.55	12.18 ± 0.19	13.13 ± 0.62	13.49 ± 0.40	13.89 ± 0.13	15.99 ± 0.73
Serratia sp*.	12.74 ± 0.27	12.81 ± 0.38	12.81 ± 0.32	12.84 ± 0.35	13.12 ± 0.35	15.73 ± 0.42

الجدول (4.VI):جدول يلخص الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الكلوروفورم للجزء الهوائي لنبات Bunium incrassatum Boiss [1].

من خلال النتائج المعطاة نلاحظ أن أقطار مناطق التثبيط للسلالات موجبة الغرام streptococcus sp* تتراوح ما بين ((8.99 ±1.26 (mm)) و (15.00± 0.67 (mm)) عند التركيز(8mg/ml) أكثر قليلا مقارنة مع السلالتين ATCC *Staphylococcus aureus* وStaphylococcus aureus* المتقاربتين من حيث قيم النشاطية و هما على الترتيب[من (10.76±1.53(mm)) إلى (14.36±0.25(mm))] و [من((11.03±1.27(mm)) إلى((14.28±0.23(mm))].

لوحظ كذلك أن أقل أقطار التثبيط كانت عند التركيز الأدنى (0.25mg/ml) للسلالات موجبة الغرام، أما السلالات سالبة الغرام كانت القيم متقاربة، بالمقابل ظهرت مناطق التثبيط أكثر وضوحا عند التركيز الأعلى (8mg/ml) للسلالات Serratia sp*،Enterbacter sp* ، Escherichia coli ATCC و Klebsiella pnomoniae حيث أظهرت أعلى أقطار مناطق التثبيط.

3.3.VI نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الأسيتات:

لخصت نتائج تقدير الفعالية المضادة للبكتيريا و تحديد مدى تأثير مستخلص الأسيتات لنبات Bunium incrassatum Boiss في الجدول (5.VI) حيث تم تطبيقها على سلالات بكتيرية متنوعة منها مرجعية و أخرى سريرية :

السلالات البكتيرية	التركيز (mg/ml) و مناطق التثبيط (mm)					
	0.25	0.5	1	2	4	8
Gram(+)						
Streptococcus sp*.	-	-	-	8.89 ± 0.02	10.48 ± 1.25	12.44 ±1.13
Staphylococcus aureus ATCC 29213	12.63 ± 0.41	14.01 ± 0.02	14.01 ± 0.02	14.31 ± 0.51	14.70 ± 0.43	15.07 ± 0.93
Staphylococcus aureus*	10.09 ± 0.50	10.21 ± 0.36	10.88 ± 1.16	11.01 ± 1.24	11.22 ± 1.49	12.06 ± 1.77
Gram(-)						
Escherichia coli ATCC 25922	12.56 ± 0.63	13.16 ± 0.85	14.61 ± 0.47	14.81 ± 0.80	15.06 ± 1.45	15.68 ± 1.21
Escherichia coli*	12.32 ± 0.53	12.59 ± 2.72	12.84 ± 3.41	14.21 ± 0.93	14.36 ± 0.90	14.64 ± 1.77
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	10.93 ± 0.82	11.16 ± 0.37	11.35 ± 1.17	11.49 ± 1.44	11.55 ± 0.22	11.61 ± 0.68
Pseudomonas aeruginosa*	11.63 ± 1.04	12.69 ± 3.21	12.71 ± 1.92	13.42 ± 1.89	13.65 ± 2.85	13.92 ± 2.74
Proteus mirabilis*	9.97 ± 1.18	10.61 ± 0.33	10.78 ± 1.11	11.66 ± 1.73	11.88 ± 0.41	13.18 ± 2.20
Klebsiella pneumoniae*	12.51 ± 2.14	12.75 ± 2.27	13.24 ± 2.40	13.44 ± 1.89	13.49 ± 2.19	13.58 ± 1.28
Enterobacter sp*.	12.74 ± 0.97	12.82 ± 1.72	12.97 ± 0.11	13.38 ± 0.44	13.53 ± 1.52	14.02 ± 1.24
Serratia sp*.	12.29 ± 2.00	12.60 ± 0.52	13.18 ± 1.82	13.27 ± 0.79	13.45 ± 1.45	14.23 ± 2.13

الجدول (5.VI):جدول يلخص الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلص الأسيتات للجزء الهوائي لنبات Bunium incrassatum Boiss [1].

توضح النتائج المتحصل عليها أن أقطار التثبيط للسلالة Staphylococcus aureus ATCC سجلت مناطق تثبيط واضحة مقارنة مع مثيلاتها السلالتين السريريتين *Staphylococcus aureus و *streptococcus sp ، كما نسجل عند أقل تركيز أقل أقطار تثبيط للسلالات * proteus mirabilis، Pseudomonas aeruginosa ATCC و* Pseudomonas aeruginosa . بينما تقاربت قيم الأقطار لبقية السلالات سالبة الغرام بالجدول بقيم تتراوح من(12.29±2.00mm) إلى (12.74±0.97mm) . و لقد سجلت أعلى قيمة تثبيط ((15.68±1.21(mm) للسلالة Escherichia coli ATCC.

تبين لنا من خلال النتائج أن مستخلص الكلوروفورم يؤثر تأثيرا متباينا على السلالات موجبة الغرام بينما كان تأثير المستخلص الأسيتاتي واضح عموما على السلالة المرجعية Staphylococcus aureus

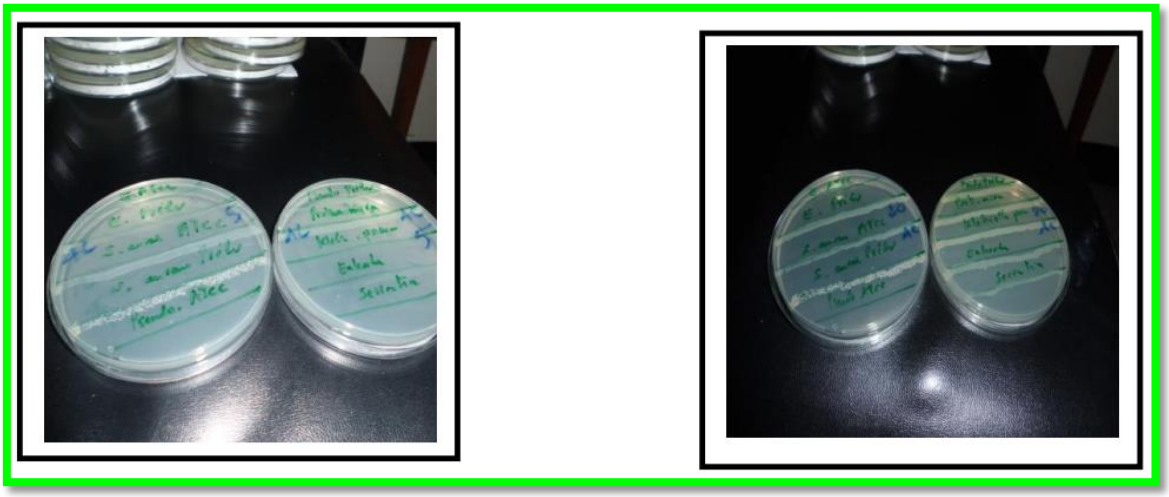
ATCC مقارنة مع السلالات الموجبة الغرام، و تكون السلالة Streptococcus* sp مقاومة للتراكيز الضعيفة لهذا المستخلص (1,0.5,0.25)(mg/ml).

السلالات سالبة الغرام حساسة لكل من مستخلص الأسيتات و الكلوروفورم مع وجود تأثير متباين على السلالتين *Klebsiella pnomoniae و Escherichia coli ATCC، تم تسجيل تقارب واضح للنشاطية ضد البكتيريا للمستخلصين المدروسين عند مختلف التراكيز [0.25mg/ml إلى 8mg/ml] للسلالتينPseudomonas aereginosa ATCC و * Pseudomonas aeruginosa و اختلاف للسلالتين Escherichia coli ATCC و * Escherichia coli.

الشكل (2.VI):بعض صور تجارب دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا[1].

4.3.VI نتائج قيم الCMI :

تم تدوين نتائج قيم التركيز المثبط الأدنى لكل من المستخلصين الكلوروفورم و الأسيتات في الجداول (6.VI) و (7.VI) على التوالي :



الشكل (3.VI):صور توضح تجارب ال CMI [1].

السلالات البكتيرية	CMI(µg/ml)
Escherichia coli ATCC	>256
Staphylococcus aureus ATCC	64
Pseudomonas aeruginosa ATCC	32
Escherichia coli	>256
Staghylococcus aureus	16
Pseudomonas aeruginosa	64
Proteus mirabilis	>256
Klebsiella pnomoniae	0.5
Enlerobacter sp	0.5
Serratia sp	2

الجدول (6.VI):قيم الCMI للسلالات البكتيرية المدروسة لمستخلص الكلوروفورم[1]

.

السلالات البكتيرية	CMI(µg/ml)
Escherichia coli ATCC	64
Staphylococcus aureus ATCC	0.5
Pseudomonas aeruginosa ATCC	64
Escherichia coli	64
Staghylococcus aureus	32
Pseudomonas aeruginosa	64
Proteus mirabilis	32
Klebsiella pnomoniae	32
Enlerobacter sp	32
Serratia sp	64

الجدول (7.VI):قيم الCMI للسلالات البكتيرية المدروسة لمستخلص الأسيتات[1]

من النتائج المتحصل عليها من دراسة تحديد التركيز المثبط الأدنى CMI ، لاحظنا قيم أحسن بالنسبة لمستخلص الكلوروفورم مع غالبية السلالات المدروسة مقارنة مع مستخلص الأسيتات.

4.VI دراسة الفعالية المضادة للأكسدة:

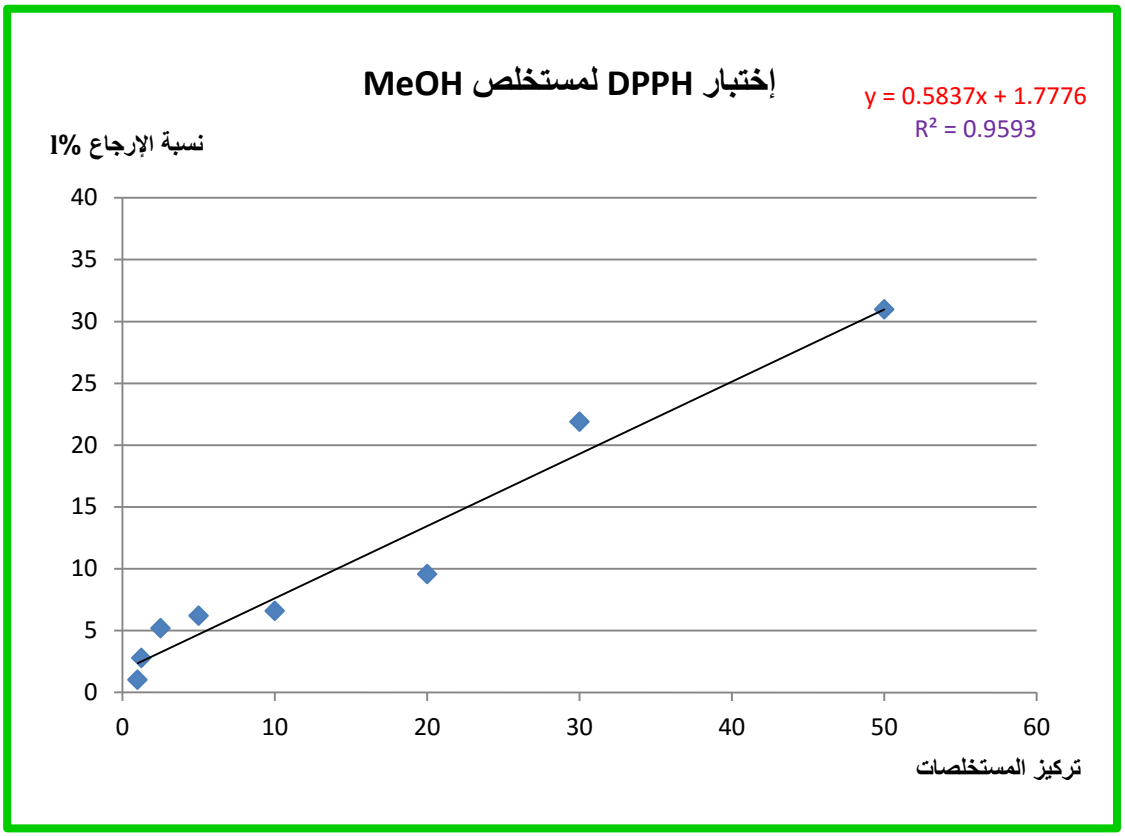
1.4.VI اختبار DPPH: لخصت نتائج دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بواسطة اختبار DPPH في الجدول (8.VI) ، حيث يظهر الاختلافات بين قدرتي التثبيط الجذري للمستخلصين الميثانولي والبيتانولي لنبات Bunium incrassatum Boiss و المركب المرجعي الكرستين Quercetin لجذر DPPH بدلالة مختلف التراكيز:

تركيز المستخلصات المعمول بها في هذه التجربة (µg/ml)	إرجاع جذر DPPH %		
	MeOH	n-BuOH	Quercetin
50	30.96	69.97	—
30	21.87	51.39	—
20	9.54	50.50	98.05
10	6.58	27.05	80.28
5	6.18	20.20	61.12
2.5	5.19	16.01	51.54
1.25	2.78	13.04	47.95
1	1.02	8.05	40.92

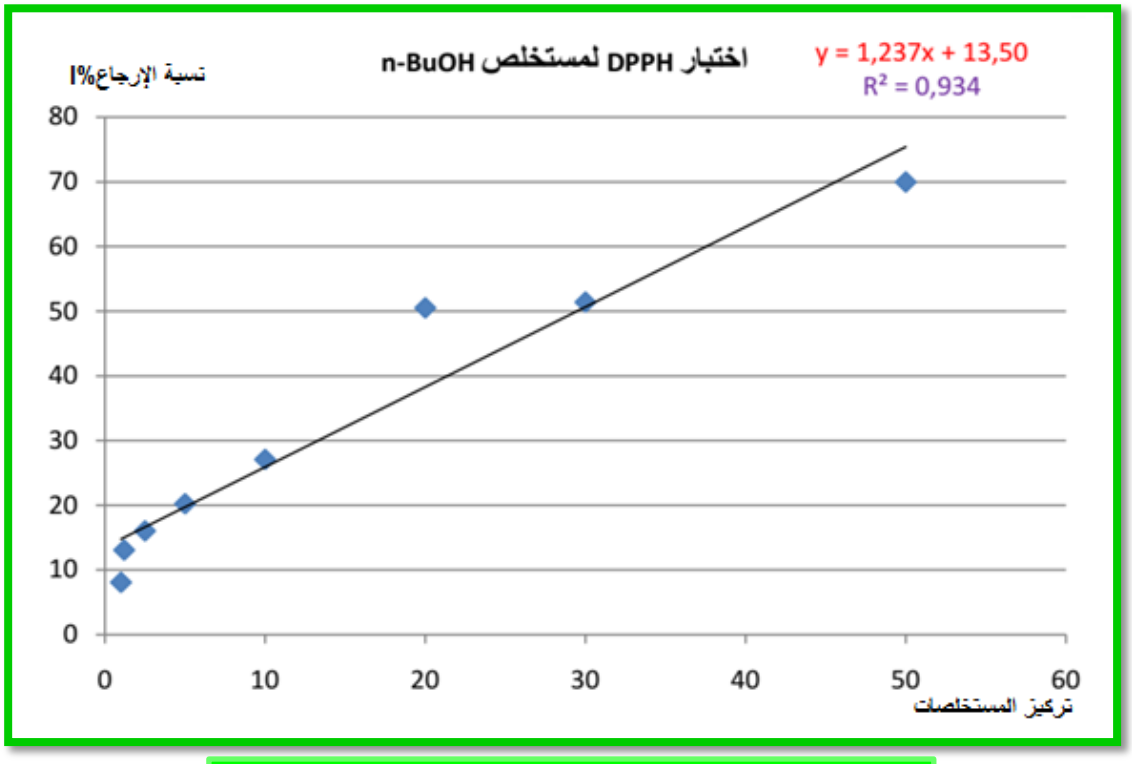
الجدول (8.VI):نتائج التثبيط الجذري للمستخلصين الميثانولي و البيتانولي لنبات B.incrassatum و المركب المرجعي Quercetin [1].

يجدر بنا التذكير أنه كلما كانت قيمة IC_{50} صغيرة كانت القدرة على تثبيط الجذور الحرة كبيرة.

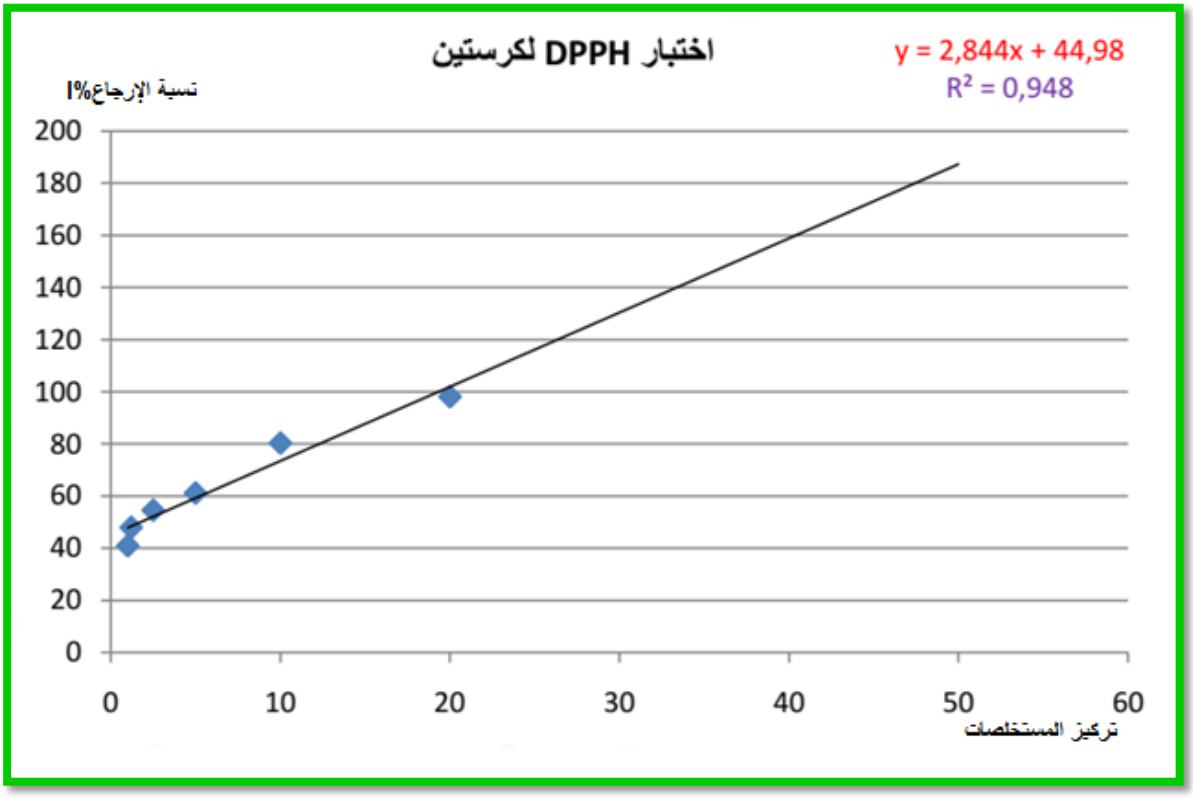
تم القيام برسم منحنيات قدرة التثبيط الجذري لجذر DPPH بدلالة تراكيز المستخلصات المحضرة لنبات Bunium incrassatum Boiss المتمثلة في الأشكال التالية :



الشكل (4.VI):منحنى إختبارDPPH لمستخلص MeOH.



الشكل (5.VI): منحنى إختبارDPPH لمستخلص n-BuOH.



الشكل (6.VI): منحنى إختبار DPPH لكريستين.

انطلاقا من المنحنيات السابقة تم القيام بحساب التركيز اللازم لتثبيط 50% من الجذور الحرة معتمدين على معادلات المنحنيات البيانية السابقة و كتبسيط تم شرح واحدة فقط و البقية تم تدوينها في الجدول:

☒ معادلة المنحنى المتحصل عليها من مستخلص ال MeOH :

$Y=0.5837\ X+1.7776 \quad R^2 = 0.9593$

☒ إذا كانت نسبة الإرجاع (التثبيط) مقدرة بـ 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$Y=50 \rightarrow X = (50-1.7776)/0.5837 = 82.61$

إذن تركيز المستخلص الميثانولي المؤدي إلى إرجاع 50% من نسبة تثبيط الجذور الحرة هو $IC_{50}=50.27$ ، و بنفس الطريقة تم تدوين النتائج بالنسبة للمستخلص البيتانولي في الجدول (9.VI) :

IC_{50}(µg/ml)	
1.76	Quercetin
29.50	المستخلص n-BuOH
82.61	المستخلص MeOH

الجدول (9.VI): قيم نتائج IC_{50} للمركب المرجعي و المستخلصين لنبات B.incrassatum

انطلاقا من النتائج المتحصل عليها من دراسة الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة اختبار DPPH لاحظنا ما يلي:

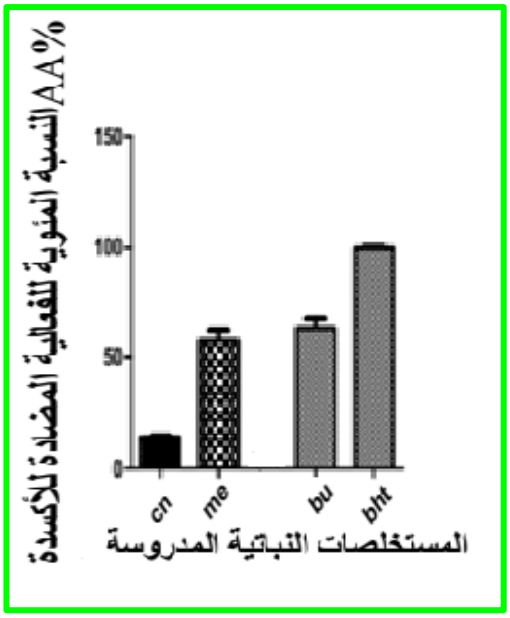
- نتائج تثبيط جذر DPPH تشير إلى أنه تزداد نسبة التثبيط مع زيادة التركيز و هو ما أكده التغير اللوني من البنفسجي إلى الأصفر مع زيادة التركيز .
- أبدى المستخلص الميثانولي نشاط تثبيطي ضعيف جدا (IC_{50}=50.27µg/ml) مقارنة بالمستخلص البيتانولي (IC_{50}=29.48µg/ml) الذي أظهر مقدرة متوسطة مقارنة مع المركب المرجعي الكرستين (IC_{50}=1.55µg/ml) .
- من قيم IC_{50} المتحصل عليها اتضح أن المستخلص البيتانولي قادر على إعطاء ذرة هيدروجين معتمدة على التركيز عكس المستخلص الميثانولي الذي أظهر ضعف في قدرة تثبيط الجذور الحرة.
- قدرة تثبيط الجذور الحرة للمستخلص الميثانولي لم تتعدى نسبة ال% 50 في حين بلغت نسبة التثبيط للمستخلص البيتانولي 69.97% عند التركيز الأكبر (50 µg/ml).
- من خلال هذه النتائج يمكننا القول أن المستخلص البيتانولي يحتوي على مركبات قانصة للجذور الحرة مثل الفلافونيدات و المركبات الفينولية بكمية أكثر من التي موجودة في المستخلص الميثانولي.

2.4.VI اختبار β – Caroténe:

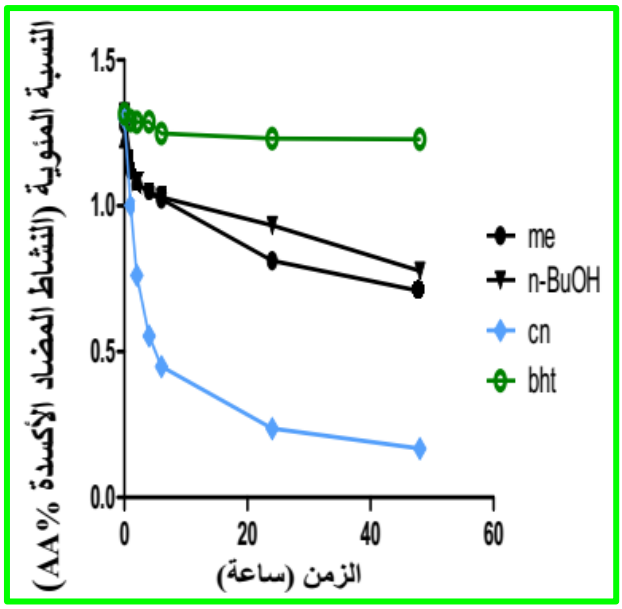
تم القيام بحساب النسبة المئوية للنشاط المضاد للأكسدة من قيم الامتصاصية المقاسة بعد 48 ساعة لـ BHT الشاهد الموجب و MeOH الشاهد السالب (CN) و المستخلصين الميثانولي و البيتانولي لنبات Bunium incrassatum Boiss، حيث تم تدوين النتائج في الجدول (10.VI) و لتوضيح أكثر لقدرة المستخلصات على تثبيط أكسدة β – Caroténe مع مرور الزمن تم انشاء الشكل (7.VI) و الشكل (8.VI) [1].

العينة	BHT	CN	MeOH	n-BuOH
النسبة المئوية للفعالية المضادة للأكسدة AA%	99.9933% 100~ _%	13.68%	57.65%	63.27%

الجدول (10.VI): الفعالية المضادة للأكسدة AA% للمستخلصات بطريقة β – Caroténe .



الشكل (7.VI): مقارنة الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلصات النباتية و الشاهد الموجب والسالب.



الشكل (8.VI):قدرة المستخلصات لنبات B.incrassatum على تثبيط أكسدة β – Caroténe عبر الزمن.

me : المستخلص الميثانولي.

n-BuOH : المستخلص البيتانولي.

Cn : الشاهد السالب الميثانول.

bht : الشاهد الموجب BHT.

من خلال نتائج الدراسة التي قام بها الباحثون لاحظنا أن:

خلال مقارنة نسب تثبيط المستخلصات النباتية مع BHT الذي يعتبر من أقوى مضادات الأكسدة المنتجة صناعيا بعد مرور 24ساعة الشكل (7.VI) تميز المستخلص البيتانولي بقدرة معتبرة على تثبيط أكسدة b-carotene والتي قدرت بـ 63.27.%

المستخلصات الميثانولية و البيتانولية لنبات Bunium incrassatum Boiss لديها فعالية مضادة للأكسدة متقاربة معتبرة مقارنة مع الشاهد السالب.

من خلال الجدول (10.VI) و الشكل (8.VI) تمت ملاحظة أن مستخلص البيتانول له نشاطية معتبرة على كبح أكسدة β – Caroténe مقارنة مع مستخلص الميثانول عبر الزمن.

هذه النتائج تبين أن المستخلصات النباتية لنبات Bunium incrassatum Boiss تملك قدرة فعالة على التفاعل مع الجذور الحرة وتحويلها إلى أنواع غير نشطة موقفة بذلك سلسلة التفاعلات الجذرية . كما يمكن أن يتبين هنا أن المستخلصات لها تأثيرات مضادة للأكسدة في الأوساط الكحولية.

قائمة المراجع:

المراجع باللغة العربية:

[1] أحلام بوسطلة، 2014، دراسة نواتج الأيض الثانوي و الفعالية البيولوجية للنبتتين Bunuim incrassatum bioss و Foeniculum vulgare Mill، رسالة لنيل شهادة الدكتوراه في العلوم ،جامعة قسنطينة-1-، الجزائر .

[3] م.هيكل،ع.عبد الرزاق، النباتات الطبية و العطرية، كيمياؤها، إنتاجها و فوائدها 1993.منشآة المعارف، الإسكندرية جمهورية مصر العربية.

[4] الحادة عجال، مكي مسعودة .2015. المساهمة في دراسة فيتو كيميائية والنشاطية البيولوجية لنبات صحراوي Calligonum comosumL'her.الأرطى النامي في منطقة واد سوف. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر، تخصص بيولوجيا و تثمين النبات، جامعة الوادي، الجزائر .

المراجع باللغة الأجنبية:

[2] Boukezata Ahlem.2014. La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*).Mémoire de Master.Génie de procédé pharmaceutique.Université Ferhat Abbas, Setif 1.

[5] Bousetla,A., Zellagui,A., Derouiche, K., Rhouati, S(2015) Chemical constituents of the roots of Algerian Bunium incrassatum and evaluation of its antimicrobial activity. Arabian Journal of Chemistry ,8:P.313-316.

[6] Semeniuc.C.A, Pop.C.R, and Rotar.A.M, Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Journal of Food and Drug Analysis, 2017. **25**(2): p. 403- 408.

الخـــاتـــمة

الخـاتـمـــــــة:

لمواكبة الاهتمام المتزايد بالنباتات الطبية و بغية تثمين وتعزيز موروثنا الثقافي في الطب الشعبي و لاكتشاف مدى القيمة الغذائية والعلاجية للمواد الفعالة التي تحتويها هاته النباتات، قمنا بدراسة نبات من العائلة الخيمية هو *Bunium incrassatum Boiss* يعرف في الأوساط الشعبية الجزائرية بنبات التالغودة و يستعمل في الطب الشعبي في علاج العديد من الأمراض، لذا كان الهدف من هذا العمل هو اجراء دراسة فيتو كيميائية و تثمين الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات التالغودة من أم البواقي شمال الجزائر.

الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في النبات من خلال عمليات التلوين و الترسيب، أسفرت عن غنى النبات بنواتج الأيض الثانوي بوجود كل من: الفينولات، الفلافونيدات، السترويدات، الصابونين، التانينات، السكريدات، التربينات، و أخيرا الكومارينات، و غياب كل من القلويدات و البروتينات، و هو ما يفسر استعمال النبات في الطب الشعبي كغذاء و دواء لعلاج العديد من الأمراض.

بعد الكشف الكيميائي، قمنا باستخلاص المواد الفعالة من النبات باستعمال مذيب الميثانول بطريقتي النقع و الأمواج فوق الصوتية تمكنا خلاله من تقدير مردود المستخلصات حيث أعطى المستخلص الميثانولي مردود معتبر، أما بالنسبة لطرق الاستخلاص فقد تفوقت طريقة النقع في نسبة المردود على طريقة الأمواج فوق الصوتية.

أتبعنا هذه الدراسة بتثمين الفعالية المضادة للبكتيريا و الفعالية المضادة للأكسدة، استعنا خلالها بنتائج مذكرة الدكتوراه التي أشرنا إليها في المذكرة ، و هي كالآتي:

أولا: دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات نبات التالغودة بطريقة الانتشار على وسط صلب، حيث أبدت المستخلصات ضد عدد من البكتيريا موجبة الغرام و سالبة الغرام، سلالات مرجعية و أخرى سريرية فعالية تثبيطية معتبرة عند التركيز الأعلى ألا وهو (8mg/ml)، حيث بلغت أكبر قيمة لقطر تثبيط (20.33±0.86) تجاه بكتيريا *Staphylococcus aureus* في مستخلص [CH_2Cl_2:MeOH] [1:1]، و أعطى مستخلص الكلوروفورم أقل قيم التركيز المثبط الأدنى CMI تجاه غالبية السلالات البكتيرية.

ثانيا: دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المثانولية و البيتانولية، استعملت خلالها طريقتين هما: اختبار DPPH و اختبار β – Caroténe، و قد بينت النتائج في كلا الاختبارين نشاطية معتبرة للمستخلصين، حيث في اختبار DPPH أظهر فيه المستخلص البيتانولي أكبر نسبة تثبيط تجاه الجذر الحر بقيمة 69.97% عند التركيز 50μg/ml حيث قدرت الفعالية بـ **IC_{50}** =29.50μg/ml من المستخلص الميثانولي عند التركيز 50 μg/ml بنسبة تثبيط للجذر الحر 30.96% حيث قدرت النشاطية تجاه الجذور بـ

IC_{50} =82.61µg/ml. أما فيما يخص اختبار β – Caroténe فقد أبدى فيه المستخلص البيتانولي قدرة تثبيط معتبرة لأكسدة β – Caroténe حيث قدرت الفعالية المضادة للأكسدة بـ (63.27% تثبيط) مقارنة بالمستخلص الميثانولي بفعالية مضادة للأكسدة قدرت بـ (57.65% تثبيط).

نأمل في المستقبل لفصل و تنقية المركبات المسؤولة عن الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة في النبات و تحديد و معرفة بناها الكيميائية و تطوريها.

الملاحق

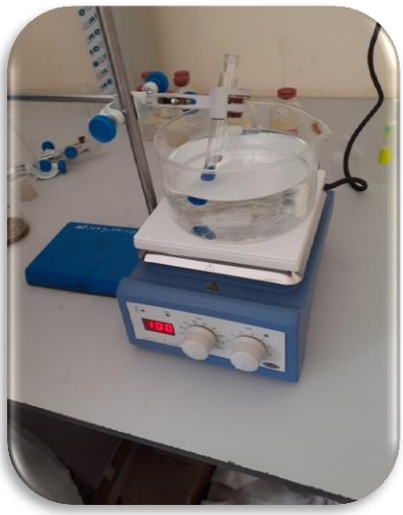
1- مقتطفات من عملية جني نبات التالغودة بمنطقة بلالة ولاية أم لبواقي:

نبات التالغودة بعد القطف

نبات التالغودة قبل القطف

منطقة الجني بلالة شمال ولاية أم لبواقي

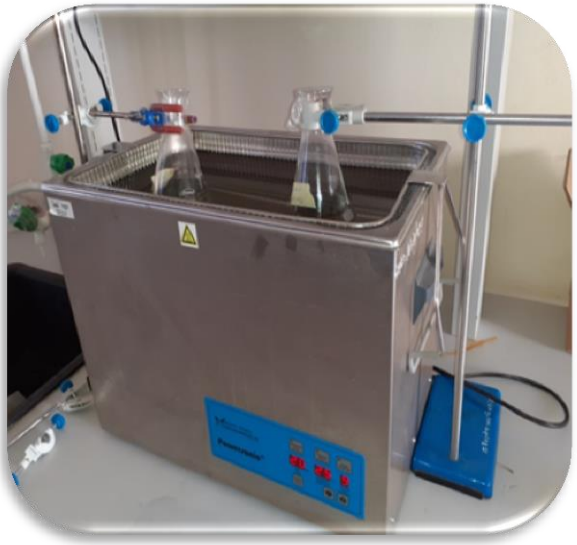
2- بعض الأجهزة المستعملة في الدراسة:



حمام مائي

جهاز الترشيح تحت الفراغ

ميزان حساس



جهاز الإستخلاص بالأمواج فوق الصوتية

جهاز التبخير بالدوران Rotavap

3- طريقة حساب المردود:

- مردود المستخلص الميثانولي بطريقة النقع:

$$R\% = \frac{5.021}{40} \times 100 = 12.55\%$$

- مردود المستخلص الميثانولي بطريقة الأمواج فوق الصوتية:

$$R\% = \frac{3.763}{40} \times 100 = 9.40\%$$

4- حساب قيمة IC_{50}:

☒ معادلة المنحنى المتحصل عليها من مستخلص ال n-BuOH :

$Y=1.237\ X+13.50 \quad R^2 = 0.934$

إذا كانت نسبة الإرجاع (التثبيط) مقدرة بـ 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$Y=50 \rightarrow X = (50-13.50)/1.237 = 29.50$

☒ معادلة المنحنى المتحصل عليها من المركب المرجعي Quercetine :

$Y=2.844\ X+44.98 \quad R^2 = 0.948$

إذا كانت نسبة الإرجاع (التثبيط) مقدرة بـ 50% تكون قيمة IC_{50} كما يلي:

$Y=50 \rightarrow X = (50-44.98)/2.844 = 1.76$