رقم الترتيب:
رقم التسلسل:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكرة تخرج

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم بيولوجية

تخصص: التنوع الحيوي وفيزيزلوجيا النبات

الموضوع

مساهمة دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية خلال مراحل النمو الفيزيولوجية للفلافونويدات المستخلصة من نبات المرخ *Genista saharae* Coss. & Dur. النامي في منطقة واد سوف.

من إعداد الطالبتين:

قداري سعيدة ولمقدم مبروكة

نوقشت يوم 08 / 07 / 2020 أمام لجنة المناقشة المكونة من:

➢ د. العايش عمار التهامي	أستاذ محاضر "ب"	رئيسا	جامعة الوادي
➢ د. شويخ عاطف	أستاذ محاضر "أ"	مؤطرًا	جامعة الوادي
➢ أ. خلف يحي	أستاذ مساعد "أ"	ممتحنا	جامعة الوادي

الموسم الجامعي: 2019 / 2020

بسم الله الرحمن الرحيم

الشكر والتقدير

الحمد لله نحمده وهو المستحق للحمد والثناء ونستعين به في السراء والضراء، ونتوكل عليه في جميع حالاتنا، ونصلي ونسلم على خير خلق الله سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم وصحبه أجمعين ومن تبع هديه إلى يوم الدين

وعملا بقوله صلى الله عليه وسلم :" من لم يشكر الناس لم يشكره الله "رواه الترميذي وأحمد

نتقدم أولا بالثناء والتقدير والشكر الجزيل إلى أستاذنا القدير **الدكتور شويخ عاطف**

لأشرافه على هذا العمل و الذي لم يبخل علينا بوقته الثمين و نصائحه القيمة في توجيهنا لإثراء هذه المذكرة وإخراجها بالصورة المرجوة حيث كان له الفضل في توفير كل الإمكانيات التي نحتاجها في عملنا وستبقى هذه الصفحات شاهدة على هذا الجهد الذي بذله معنا، نسال الله أن يدوم عليك الصحة والعافية وأن يديمك لنا استاذا نافعا ومشرفا جادا ورافدا من روافد العلم، وأن ينفعك الله بعلمك وسدد خطاك ويرفعك في الجنة لأعلى الدرجات و يجعلك قدوة للطلبة العلم.

كما نتقدم بأطيب العرفان وجزيل الشكر والامتنان للأستاذة **فاطمة علية** على مساعدتها لنا وعلى نصائحها الدائمة وتوجيهها المستمر طيلة فترة انجاز هذا البحث.

كما نتقدم بتحية طيبة إلى **اللجنة** التي تكرمت بمناقشة هذه المذكرة وتحملت عناء تصحيح اخطائها لإتمام هذا العمل في أحسن صورة

كما أتقدم بأسمى عبارات الشكر والتقدير إلى كل من أوقد لي مشعل الحياة وحملني على سفينة النجاة

إلى كل من صرت بفضله أكتب وأقرأ

وإلى كل من علمني علما به ينتفع وأدب به يرتفع

بدأ من معلمي الابتدائي وصولا إلى أساتذتنا الكرام في الجامعة

كما نتقدم بوافر التقدير وخالص الشكر إلى كل من قدم لنا يد المساعدةلإكمال هذه المذكرة

كما تتسع دائرة شكرنا إلى جميع تقني المخابر في كلية علوم الطبيعة والحياة، وكلية العلوم الدقيقة على مجهوداتهم المبذولة.

نتوجه بأعمق وأسمى عبارات الشكر والعرفان إلى كل طلبة دفعتنا وكل من ساعدنا من قريب أو بعيد في إنجاز هذا العمل من البداية إلى غاية الانتهاء.

وإلى جميع زميلاتي وطلبة دفعة سنة ثانية ماستر 2020.

الإهداء

بسم الله الرحمان الرحيم

اللهم صل على سيدنا محمد الفاتح لما اغلق والخاتم لما سبق ناصر الحق بالحق

والهادي الى صراطك المستقيم وعلى آله حق قدره ومقداره العظيم

اهدي ثمرة هذا العمل الى عروتي وقدوتي وملاذي الى يوم الدين

شيخنا سيد احمد التجاني رضى الله عنه

والى مولانا الخليفة الشيخ الدكتور

سيدي محمد العيد التجاني رضى الله عنه وحفظه بما حفظ كتابة العزيز

والى الشيخ سيدي عبد الكامل رضى الله عنه ورعاه ونلتمس من سيدنا الخليفة

خالص الدعاء للتوفيق والنجاح

وإلى أمي وأبي في تحفيزي للوصول إلى ما أنا عليه الآن حفظهما الله

وإلى توأم روحي زوجي العزيز بلقاسم أدام الله المودة بيننا

وإلى إخوتي وأخواتي حفظهم الله وإلى عائلة غيوط محمد رعاهم الله

دون ان أنسى أغلى صديقة في حياتي رحمة والى صديقاتي

وجميع من ساعدني من قريب أو بعيد لانجاز هذا العمل

سعيدة

الإهداء

الحمد لله حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه سبحانك لا نحصي ثناء عليك أنت كما أثنيت على نفسك خلقت فأبدعت وأعطيت فأفضت فلا حصر لنعمك ولا حدود لفضلك وصلى الله وسلم على أشرف عبادك وأكمل خلقك خاتم المرسلين محمد صلى الله عليه وسلم خير من علم وأفضل من نصح وبعد

أهدي ثمرة جهدي إلى

الينبوع الذي لا يمل العطاء إلى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجة من قلبها إلى رمز الحب أمي الغالية

إلى من كلت أنامله ليقدم لنا لحظة سعادة وحصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم أبي الغالي

إلى من منحني الأمان والاستقرار وأحاطني بأنبل معاني الفضيلة مثلي الأعلى عمي العزيز عبد الله وزوجته بية

إلى من غمرتني بفيض حنانها وطيبة قلبها فكانت رمز للعطاء ومنبع للدفء إلى الأخت التي لم تنجبها أمي راضية وزوجها وأولادها

إلى من أثاروني على أنفسهم إلى من كانوا ملاذي إخوتي الأعزاء

إلى من سرنا سويا نشق الطريق معا نحو النجاح والإبداع إلى من سهرنا وكابدنا المشاق أصدقائي الأعزاء

إلى من علموني حروفاً من ذهب وكلمات من درر وعبارات من أسمى وأجلى عبارات في العلم إلى من صاغوا لي من علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا مسيرة العلم والنجاح إلى أساتذتي الكرام . . .

إلى كل من يبحث عن المعرفة بين ثنايا هذه المذكرة

إلى كل من نساه قلمي ولم ينساه قلبي

أهديكم هذا العمل راجياً من المولى

عز وجل القبول والنجاح

مبروكة

الملخص

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تتبع تحولات نواتج الأيض الأولي والثانوي خلال مراحل النمو الفيسيولوجية للنبات عن طريق الدراسة الفيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية للمستخلصات الفلافونويدية لنبات صحراوي (المرخ *Genista saharae* Coss. & Dur) النامي في منطقة وادي سوف.

أظهرت نتائج القيمة الغذائية وجود اختلاف يرتبط باختلاف مرحلة النمو؛ حيث سجلنا أعلى القيم للبروتين في المرحلة الزهرية بقيمة (12.10 mg/gMS) والكربوهيدرات في المرحلة الخضرية الأولى بقيمة (24.41 mg/gMS)، أما الليبيدات فبلغت القيمة القصوى في المرحلة الثمرية (0.97 mg/gMS)؛ أما نتائج الكشف الكيميائي فأسفرت عن وجود الفلافونويدات، السكريات المرجعة، القلويدات، الصابونوزيدات والتانينات مع تباين في كميتها من مرحلة لأخرى، أما نتائج نسبة مردود المستخلصات الفلافونويدية فتشير إلى تفوق المرحلة الزهرية على باقي المراحل. خلال تقدير النشاطية المضادة للأكسدة أبدى مستخلص المرحلة الثمرية أحسن نسبة تثبيط للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ بقيمة قدرت بـ (IC_{50} =0.138 mg/ml)، أما في إختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse تميز فيه مستخلص المرحلة الخضرية الأولى بأقل نسبة انحلال والتي قدرت بـ (41.72%) عند تركيز1mg/ml. بينما في إختبار النشاطية المضادة للإلتهاب فأبدت كل المستخلصات فاعلية في حماية البروتين من التمسخ، إذ لوحظ تفوق المرحلة الزهرية بأحسن قدرة تثبيط والمقدرة بـ (5.63mg EDic/gEx)؛ أما التحليل النوعي للمستخلصات باستخدام طيف الأشعة تحت الحمراء عند طول موجي ($4000\text{-}400 cm^{-1}$) فأظهر إحتواء المستخلصات النبات على مجموعات OH، CH ورابطة مزدوجةC=O بالإضافة إلى حلقة عطرية.

الكلمات المفتاحية: *Genista saharae* Coss. & Dur.؛ الفلافونويدات؛ المراحل الفزيواوجية؛ القيمة الغذائية؛ النشاطية البيولوجية.

Résumé

Notre travail vise à lasuiviede la transformation des métabolites primaires et secondaires au cours des stades de croissance physiologique de la plante, par une étude phytochimique et de l'activité biologique dans les extraits flavonoïdiques de *GenistasaharaeCoss. & Dur*., développé dans la zone d'Oued Souf.

Les résultats obtenus en estimant et en comparant les métabolites primaires ont donné une variance de la valeur nutritionnelle entre les phases de croissance, Les résultats de protéines le plus élevésont été enregistré en valeur de (12.10 mg/g MS) durant la phase floraison, et la plus élevésde carbohydrates durant la première phase végétative (24.41 mg/g MS), Alors ,que la teneur en lipides a atteint la valeur maximale durant la phase fructification (0.97 mg/g MS).

Le screening chimique a mis en évidence la présence: des Flavonoïdes, des Tanins, des Composées réductrices, des Saponosides et des Alcaloïdes, Cependant, il y a une variation de leur quantité de présence d'une phase à l'autre. Quant aux résultats de rendements d'extrait des flavonoïdes, ils indiquent la supériorité du la phase floraison sur les autres phases. Quand l'activité antioxydant a été évaluée en utilisant le test de DPPH•, qui a montré la supériorité de l'extrait de la phase floraison par la capacité d'inhibition mieux que d'autres extraits (IC50= 0,138 mg/ml), et l'autre méthode est le test d'hémolyse, les résultats ont révéléque l'extrait de première phase végétative a donné la meilleure protection de érythrocytes (41.72% d'érythrocytes dissous chez la concentration de 1 mg/ml). Quant à l'évaluationde l'activité anti-inflammatoire in vitro par méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines par tous les extraits, on a montré une supériorité de l'extrait de la phase fructification par sa capacité d'inhibition mieux aux autres extraits.

Pour l'analyse qualitative de nos extraits nous somme utiliser FTIR les résultats montrée nombre le spectre infrarouge à la longueur d'onde (1400-4000 cm^{-1}), Les extraits de la plante contiennent des groupes fonctionnellesOH, CHet de doubles liaisonsC=H en plus de cycle aromatique.

Mots-clés: *Genista saharae Coss. & Dur, flavonoïdes, la valeur nutritionnelle, l'activité biologique, les phases de croissance*

Abstract

Our work aims at monitoring the transformation of primary and secondary metabolites during the stages of physiological growth of the plant, by a phytochemical and biological activity study in the flavonoid extracts of GenistasaharaeCoss. &Dur., Developed in the OuedSouf area.

The results obtained by estimating and comparing the primary metabolites gave a variance in the nutritional value between the growth phases, The highest protein results were recorded in value of (12.10 mg / g DM) during the flowering phase, and the highest carbohydrates during the first vegetative phase (24.41 mg / g DM), So that the lipid content reached the maximum value during the fruiting phase (0.97 mg / g DM).

The chemical screening highlighted the presence: of Flavonoids, Tannins, Reducing Compounds, Saponosides and Alkaloids, However, there is a variation in their amount of presence from one phase to another. As for the results of flavonoid extract yields, they indicate the superiority of the flowering phase over the other phases. When the antioxidant activity was evaluated using the DPPH • test, which showed the superiority of the extract of the fruiting phase by the ability to inhibit better than other extracts (IC50 = 0.138 mg / ml), and the other method is the hemolysis test, the results revealed that the extract of the first vegetative phase gave the best protection of erythrocytes (41.72% of erythrocytes dissolved in the concentration of 1 mg / ml). As for the evaluation of the anti-inflammatory activity in vitro by method of inhibition of the denaturation of proteins by all the extracts, we have shown a superiority of the extract of the fruiting phase by its capacity of inhibition better to other extracts.

For the qualitative analysis of our extracts we are using FTIR the results shown number the infrared spectrum at wavelength (1400-4000 cm-1), The extracts of the plant contain functional groups OH, CH and double bondsC=O in addition to aromatic ring.

Keywords: *Genista saharae Coss. & Dur*, flavonoïes, la valeur nutritionnelle, l'activité biologique, les phases de croissa

الفهرس

الفهرس

العنوان	الصفحة
الملخص	
الفهرس	
فهرس الوثائق، الأشكال والجداول	
قائمة الاختصارات	
المقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: نواتج الأيض الثانوي "المركبات الفلافونويدية"	
I. مد خل	5
II. الفلافونويدات	5
1. تعريفها	5
2. تصنيفها	6
3. خواصها	7
4. أهميتها	7
5. العلاقة بين بنية ووظيفة الفلافونويدات	8
الفصل الثاني: دراسة تصنيفية لنبات المرخ *Genista saharae* Coss. & Dur.	
I. مدخل	10
II. العائلة البقولية Fabaceae	10
III. جنس Genista	11
IV. نبات المرخ *Genista saharae* Coss. & Dur.	12
الجزء التطبيقي	
الفصل الأول: المواد المستعملة والطرق المتبعة	
I. المادة النباتية	19
II. تقدير القيمة الغذائية للعينات النباتية	20
1. تقدير الكربوهيدرات	20

2. تقدير الكمي للبروتين	21
3. تقدير الكمي للدهون	22
III. الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي	23
IV. تحضير المستخلص الفلافونويدي	24
V. الدراسة الفيتوكيميائية	25
1. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة	25
1.1. اختبار الجذر الحر (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) $DPPH^{\bullet}$	26
2.1. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	27
2. تقدير النشاطية المضادة للالتهاب	28
VI. التحليل النوعي باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييو FTIR	29
VI. الدراسة الإحصائية	29
الفصل الثاني: النتائج والمناقشة	
I. النتائج	31
1. القيمة الغذائية	31
1.1. الكربوهيدرات	31
2.1. البروتين	31
3.1. الدهون	32
2. الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في عينات لنبات المرخ *G. saharae*	33
3. الدراسة الفيتوكيميائية	34
1.3. المردود (Y%)	34
2.3. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة	34
أ. اختبار الجذر الحر الـ $DPPH^{\bullet}$	34
ب.انحلال كريات الدم الحمراء Hemolyse	35
3.3. اختبار النشاطية المضادة للالتهاب	37
4.التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريي FTIR	38

5. التحليل الإحصائي	40
1.5. تحديد العلاقة بين المحتويات الكيميائية لنبات المرخ *G. saharae*	40
II. المناقشة	41
الخـاتمة	53
المـراجع	56
الملاحق	

فهرس الوثائق

الرقم	العنوان	الصفحة
01	الأجزاء الهوائية للنبات المدروس *G. saharae*	19
02	المنحى القياسي للكربوهيدرات	21
03	المحنى القياسي لتقدير كمية للبروتين	22
04	المنحنى القياسي للدهون	23
05	خطوات استخلاص الفلافونويدات طور خلات الإيثيل	25
06	بنية جزي DPPH• قبل وبعد الارجاع	26
07	منحنى محلول نسبة تثبيط DPPH• لحمض الاسكوربيك	27
08	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hemolysis).	28
09	المنحنى القياسي للمركب المرجعي Diclofenac	28
10	جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء	29
11	المحتوى الكمي للكربوهيدرات لنبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفيزيولوجية المختلف.	31
12	المحتوى الكمي لبروتينات نبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفزيولوجية	32
13	المحتوى الكمي لدهون في عينات نبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفيزيولوجية	32
14	نتائج مردود المستخلصات الفلافونويدية لمراحل نمو نبات المرخ *G. saharae* المختلفة	34
15	قيم الـ IC_{50} للمستخلصات الفلافونويدية لمراحل النمو الفيزيولوجية المختلفة لنبات *G. saharae* وحمض الأسكوربيك عند اختبار DPPH•	35
16	منحنيات نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلصات مراحل النمو المختلفة لنبات *G. saharae*	36
17	نسبة انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات الفلافونويدية المدروسة لنبات المرخ *G.* saharae وحمض الأسكوربيك عند التركيز 1 mg/ml.	37

18	نتائج النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ خلال مراحل نموه المختلفة *G. saharae*	37
19	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الخضرية الأولى.	38
20	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الزهرية.	38
21	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الثمرية	39
22	طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الخضرية الثانية	39

فهرس الأشكال

الرقم	العنـوان	الصفحة
01	العلاقة بين الأيض الأولي والثانوي	05
02	الهيكل العام للفلافونويدات	06
03	أقسام الفلافونويدات	05
04	أهم المواقع المتدخلة في التأثيرات الحيوية للفلافونويدات	08
05	نموذج من عائلة البقولية يوضح بعض الصفات المرفولوجية المميزة للعائلة	11
06	رسم توضيحي للأجزاء الزهرة والثمرة لنبات المرخ	12
07	خارطة توزيع نبات *G. saharae*	14

فهرس الجداول

الرقم	العنـوان	الصفحة
01	تصنيف *G. saharae*	13
02	موسم قطف النبات والأجزاء المستعملة	19
03	الخطوات المتبعة في الكشف عن بعض مواد الأيض الثانوي لنبات *G. saharae* في مختلف مراحل نموه الفيزيولوجية	23
04	نتائج الكشف الكيميائي لبعض نواتج الايض الثانوي للعينات النباتية المدروسة	33
05	العلاقة بين المحتويات الكيميائية	40

قائمة الاختصارات

A_0: Absorbance of Solution its extract.
A_1: Absorbance of Solution with extract.

AA: Ascorbic Acid (Vitamin C).

Abs control: Absorbance of Solution its extract.

Ac: Control absorbance.

CP: Crude protein

$DPPH^{\bullet}$: Radical 2,2-Diphenyl-1picrylhydrazil.

FTIR: Fourier Transform-Infrared Spectroscopy

G. sahara: *Genista saharae* Coss. & Dur.

H_2O_2: Hydrogen peroxide

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography

I%: Percentage of inhibition.

IC_{50}: Concentration of inhibition 50% of DPPH radical

Mdmvm: dry mass of the vegetable material

MeOH: Methanol

Mex: mass the extract

mg EDic/mg Ex: Mg of diclofinac equivalents in 1 mg of the extract.

P1: the first vegetative phase.

P2: the flora phase.

P3: the fruit phase.

P4: the secondary vegetative phase.

ROS: Reactive oxygen species.

RP-HPLC-PDA: Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography-Photodiode Array Detection

Sample Abs: Absorbance of Solution withextract.

UV: Ultraviolet

Y%: yield

المقدمة

مقدمـة

سبحان الذي أوجد الأشياء بحكمته وأبدع في المخلوقات لعظمة قدرته وجعل للإنسان دواء ليقيه بمشيئته، فمن فضله تعالى أوجد النبات ليكون غذاء ويستخلص منه الدواء.

منذ القدم تستخدم النباتات الطبية كمصدر جيد للمركبات النشطة بيولوجيا، سواء في الطب التقليدية أو في الطب الحديث، حيث أعلنت منظمة الصحة العالمية (WHO) أنه في البلدان النامية، 80 ٪ من الأشخاص يستخدمون الأدوية التقليدية لرعايتهم الصحية الأولية، مع ملاحظة أن 85 ٪ من هذه الأدوية في هذه المناطق مشتقة من المستخلصات النباتية (GHASEMZADEH, 2014). ويتم حاليا إجراء عدد متزايد من الدراسات لاستكشاف النباتات الغنية بالمواد الفعالة بيولوجيا، وخصائصها المضادة للأكسدة؛ وبسبب أهميتها في علاج الاضطرابات المزمنة المختلفة، من المتوقع أن يكون حوالي ثلثي الأدوية المعتمدة في جميع أنحاء العالم من المشتقات النباتية (VENKANNA et *al*., 2017). ومن المركبات الكيميائية المعتمدة في العلاج نجد: الفينولات، الفلافونيدات، التربينات، القلويدات والتانينات...الخ. وتعد الفلافونويدات من نواتج الأيض الثانوي الأكثر انتشارا في المملكة النباتية، حيث تم حصر أكثر من 10.000 مركب فلافونويدي (ERICA et *al*., 2017).

يمكن أن تشكل النباتات الصحراوية خزانًا من الجزيئات الحيوية الطبيعية الآمنة والفعالة التي قد تكون مفيدة كمضادات أكسدة، كما تعتبر المراعي الطبيعية جزءا هاما من الموارد الطبيعية المتجددة التي لها أهمية خاصة في النظام البيئي؛ حيث تقوم بتوفير نسبة كبيرة من الاحتياجات الغذائية اللازمة للثروة الحيوانية، إضافة لفوائدها المتعددة المباشرة وغير المباشرة مثل حماية البيئة والمحافظة على التربة من التعرية وتغذية المياه الجوفية (BRANG et *al*., 2001).

ونظرا لما تزخر به بلادنا من مساحات واسعة جعلها تتميز بالتنوع الحيوي على غرار الغطاء النباتي، فالنباتات تنتشر بحسب احتياجاتها وتبعا لقدرتها على التأقلم والتكيف مع الظروف البيئية، ويعتبر الغطاء النباتي لمنطقة سوف نموذجا مثاليا للنباتات الصحراوية (حليس،2007)، لذلك ارتأينا في هذا البحث إلى تسليط الضوء على نبات *Genista saharae* المعروف باسم المرخ الذي ينتمي للفصيلة الفراشية Fabaceae. إذ يعتبر إحدى الأنواع التي تميز الصحراء الجزائرية كونه نبات مستوطن، وهو نبات طبي مدرج ضمن دستور الأدوية التقليدية استخدمه السكان المحليين ضد أمراض مختلفة كعلاج أمراض الجهاز التنفسي وإدرار البول، كما إنه من النباتات الرعوية، أما من الناحية البيئية فهي فعالة للمحافظة على تثبيت الرمال وإصلاح التربة (GUETTAF et *al*., 2016; MAHDHI et *al*., 2007).

ومما لا شك فيه أن لتنوع المناخي أثر بالغ على شدة التنوع النباتي وعلى تركيبة النبات وإعطائها المميزات الخاصة عبر مراحل نموه المختلفة، وفي كثير من الأحيان يغفل الباحث عند جمعه للنباتات من الطبيعة بغرض الدراسة المخبرية عن الحالة الفيزيولوجيا للنبات، بالإضافة إلى أمور أخرى قد توثر على

محتوى النبات من المواد الفعالة. وبناء على ذلك طرحنا في هذا العمل الإشكال التالي: هل يتغير محتوى نواتج الأيض الأولى مع اختلاف مرحلة نمو النبات؟ وهل تؤثر التغيرات الفيزيولوجيا على مواد الأيض الثانوي؟ وما مدى تأثير ذلك على النشاطية البيولوجية للنبات؟

وبهدف الإجابة عن الإشكال المطروح وتقييم فيتوكيمياء النبات ومعرفة ما مدى تبدلها خلال مراحل النمو الفيزيولوجية، وأثر ذلك على النشاطية البيولوجية قسمنا عملنا إلى جزئين:

- **جزء نظري:** يتضمن فصلين حيث استعرضنا في الفصل الأول عموميات على الفلافونويدات وأهميتها البيولوجية، أما الفصل الثاني فقد تطرقنا فيه الى دراسة شاملة لنبات المرخ *Genista saharae* من حيث الوصف النباتي والتصنيف العلمي وأشهر استعمالاته.
- **جزء تطبيقي:** قُسم إلى فصلين أيضا، حيث خُصص الفصل الأول لجرد الطرق المتبعة في الدراسةالميدانية والمخبرية، أما الفصل الثاني فتم فيه عرض النتائج ومناقشتها وختمنا عملنا بخاتمة مرفقة بتوصيات.

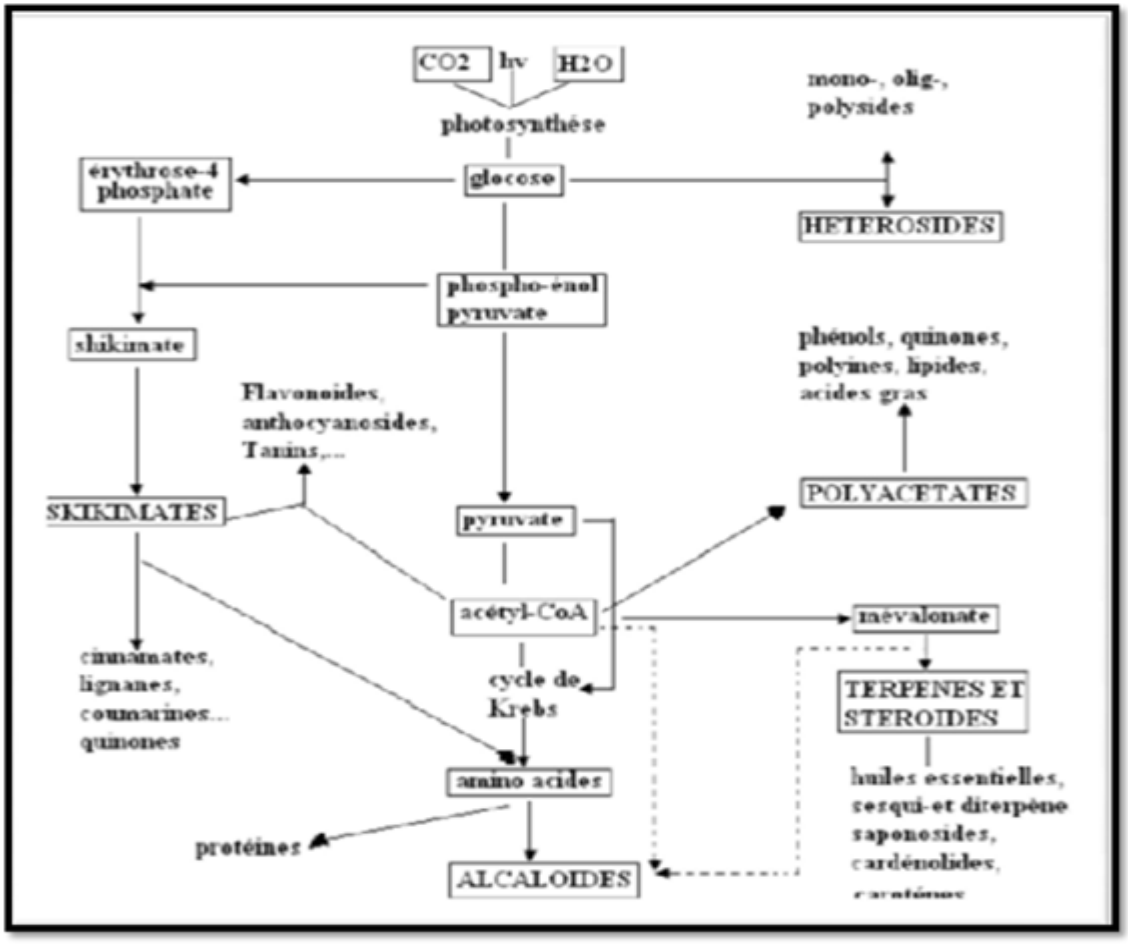
الجزء النظري

الفصل الأول

I. مد خل

تصنف المركبات الطبيعية إلى: متفاعلات أولية تدخل غالبا في استقلابات الأيض الأولي، والذي ينتج عنه الأحماض الكربوكسيلية البسيطة، الأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، البروتينات والأحماض النووية، حيث تمثل هذه النواتج المتفاعلات البادئة للأيض الثانوي؛ الذي يضم كل من: التربينات ومشتقاتها، المركبات الفينولية والقلويدات.

يعتبر حمض الشيكيميك، الأسيتات والأحماض الأمنية وحدات بناء الأيض الثانوية (WINK, 2010)؛ كما هو موضح في الشكل (01).



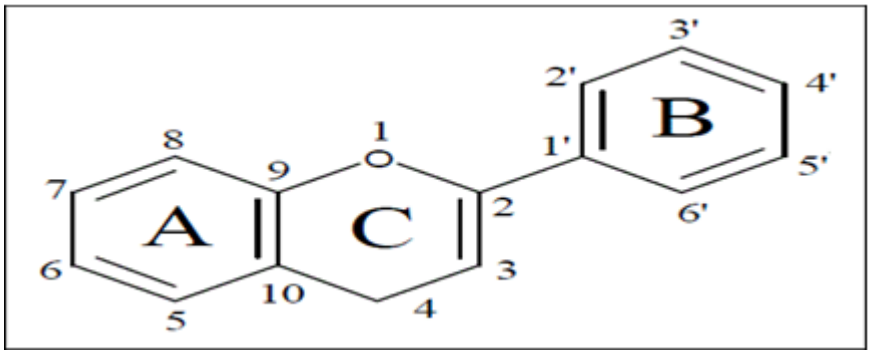
الشكل (01): العلاقة بين الأيض الأولي والثانوي (العابد، 2003).

II. الفلافونويدات

1. تعريفها

هي مركبات طبيعية تنتمي للعائلة عديدات الفينول (RANAAND GULLIYA, 2019)، أُشتقت اسمها من الكلمة اللاتينية "Flavus"والتي تعني اللون الأصفر؛ والعديد منها صفراء اللون فعلا، إلاّ أنه يمكن أن تكون بألوانا أخرى كالأحمر والأزرق والأرجواني ...، فهي تعتبر أصبغة مسؤولة عن إعطاء اللون للأزهار والفواكه (MILLS & BONE, 2013).

يتكون الهيكل العام للفلافونيدات من 15 ذرة كربون C_6-C_3-C_6 يحتوي على حلقتين بنزينيتين (A وB) مرتبطتان بحلقة بيرينية غير متجانسة تحتوي على ذرة أوكسجين (WAKSMUNDZKA-HAJNOS & SHERMA, 2010)؛ كما هو موضح في الشكل (02).

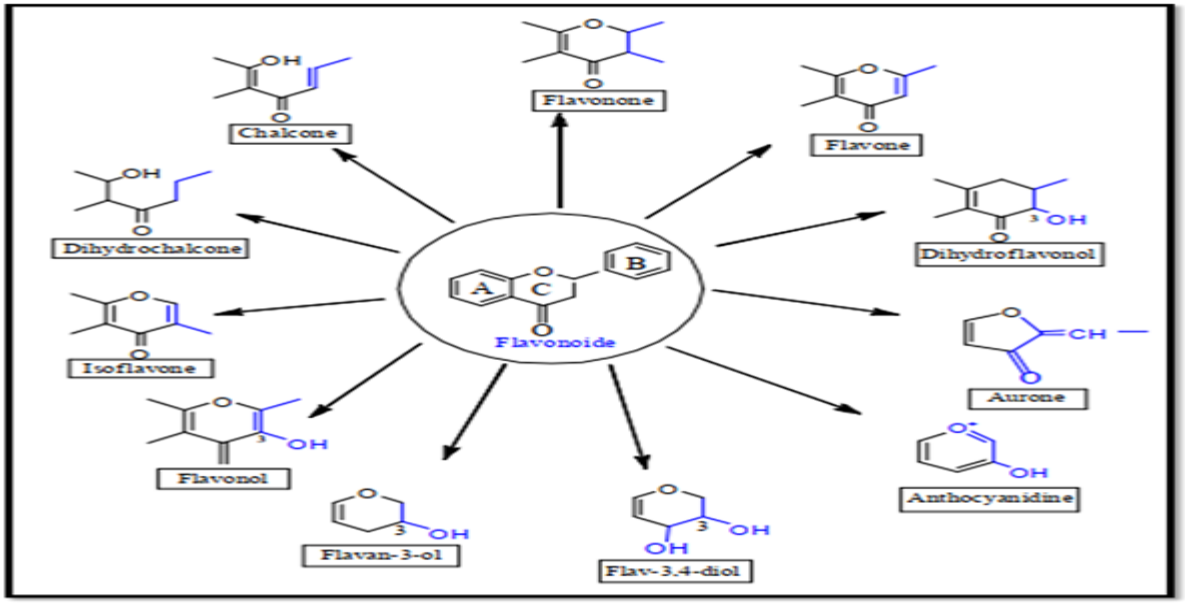


الشكل (02): الهيكل العام الفلافنويدات (MIDDLETON et *al*., 2000).

يوجد حتى الآن حوالي 10.000 مركب فلافونويدي معروف (ERICA et *al*., 2017)، تصنف إلى عدة أقسام حسب مسار التصنيع والمستبدلات على الحلقتين (A وB) (WÖLWER-RIECK,2018). تتوزع بشكل واسع في المملكة النباتية؛ خاصة النباتات الراقية، وبتحديد عند العائلات الحوذانية Rununclceae، العائلة المركبة Asteraceae، البقولية Leguminoseae (MEDIĆ-ŠARIĆ et *al*., 1996) تنتشر في جميع أجزاء النبات تقريبا (الأوراق الساق الأزهار البراعم و الثمار)، أما على المستوي الخلوي تصنع الفلافونويدات في الصانعة الخضراء ثم تهاجر إلى الفجوات بشكل اثيروزيدات أو جليكونات (MILLS & BONE, 2013).

2. تصنيفها

تصنف الفلافنويدات حسب التغيرات الحاصلة على مستوى البنية الكيميائية كما في الشكل 03:



الشكل (03): أقسام الفلافونويدات (BRUNETON, 1999).

3. خواصها

❖ الفلافنويدات هي مركبات صلبة متبلورة (BRVNETON, 2009)، تختلف في ألوانها من الأبيض إلى الأحمر، الأزرق والأرجواني لكن أغلبها ذات لون أصفر (MILLS & BONE, 2013).

❖ توجد الفلافونويدات غالبا على شكل جليكوسيدات قابلة للذوبان في الماء (MILLS & BONE, 2013).

❖ تعد الفلافونيدات مركبات قابلة للذوبان في الكحول والمذيبات القطبية، وكذلك في المحاليل القلوية كالأمونيا والبوتاس (BRVNETON, 2009).

❖ الفلافنويدات الأقل قطبية، أقل ذوبانية في الماء وقابلة للذوبان في الإيثر (BRVNETON, 2009).

❖ الفلافونات المتعددة الميثيل هي أكثر مركبات الفلافونويدات كارهة للماء (MANACH et *al*., 2019).

4. أهميتها

★ بالنسبة للنبات

المركبات الفلافونويدية من المكونات المهمة لخلايا جميع النباتات الراقية، فهي تقوم بعدة أدوار حسب ما ذكر عند كل WINKEL-SHIRLEY (2001)؛ HAVSTEEN (2002)؛ FERREYRA et *al*. (2012)؛ STEVIOL (2018):

- تعمل الفلافونويدات كمضادات للجراثيم والحشرات التي تصيب النباتات.
- تساعد في التأقلم مع الظروف البيئية.
- تساهم في جذب المأبيرات التي تساعد على عملية التأبير، وكذلك الطيور والحيوانات التي تساهم في نشر البذور.
- لها دور في تنظيم نمو النباتات.
- تقوم بحماية النبات من الأشعة فوق البنفسجية.

★ بالنسبة للإنسان

- تساعد على خفض الضغط الدموي العالي (NIJVELDT et *al*., 2001).
- لها القدرة على حماية الكبد من التليف، مدرة للبول، موسعة للأوعية، مضادة للالتهابات والحساسية (SHARMA et *al*., 2008; MERCADER et *al*., 2008; CUSHNIE et LAMB, 2005).
- تستعمل لعلاج الإضطربات المرتبطة بالتهاب الشبكية والمشيمة (MANTHEY. 2001).
- كما لها أيضا فعالية وقائية ضد بعض الخلايا السرطانية (BAREK et *al*.,2019).
- مضاد لداء السكري، مكافحة القرحة الهضمية، مزيلة التشنج (RANA, 2019).

- تمتلك نشاطية مضاد للفطريات، الفيروسات والجراثيم (CUSHNIE et LAMB, 2005).
- تثبيط توليد الجذور الحرة، كما تمتاز بإقتناص الجذور الحرة (NIJVELDT et *al*., 2001).
- الوقاية من الوفاة بسبب أمراض القلب (ARTS et *al*., 2001).

5. العلاقة بين بنية ووظيفة الفلافونويدات

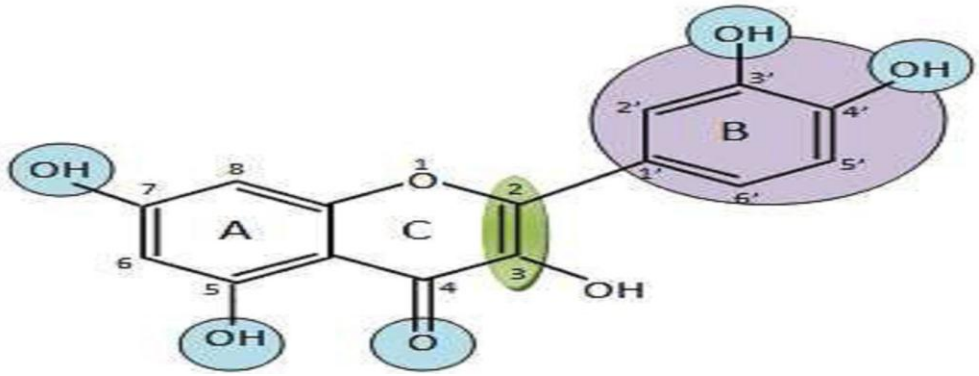
تتميز الفلافونويدات ببنية كيمائية غنية بالوظائف الهدروكسيلية والكربوكسلية، والتي من خلالها تؤدي وظائفها الحيوية وذلك لقدرتها على منح البروتونات التي تعمل على تعديل البنى الكيمائية غير المستقرة حيث:

★ وجود وظيفة Catéchol في الحلقة B يعتبر معيارا بنيويا الأكثر تعبيرا على النشاط المضاد للأكسدة، وذلك لأن جذور الـ Phénoxy تستقر في وجود Hydroxyle وهذا الاستقرار ناتج عن تغيير موقع الإلكترون غير المتزاوج وتشكيل رابطة هيدروجينية (BURDA et *al*., 2009؛MA et *al*., 2007).

★ وجود نمط Énone في الحلقة C الرابطة المزدوجة بين C_2 وC_3 والوظيفة الكربونيلية في C_4 تسمح بتغيير موقع إلكتروني من أجل استقرار الجذر Phénoxy (MUSIALIK et *al*., 2009).

★ وجود Hydroxyle في الموضع 3 يزيد من الخصائص المضادة للأكسدة في حالة ما إذا كانت الحلقة C غير مشبعة (BURDA et *al*., 2001؛RICE-EVANS et *al*., 1996)، ونفس الشيء عند تواجده في Isoflavones (HEIM et *al*., 2002).

والشكل (4) يوضح أهم المواقع المتدخلة في التأثيرات البيولوجية:



الشكل (04): أهم المواقع المتدخلة في التأثيرات الحيوية للفلافونويدات (MERIANE, 2018).

الفصل الثاني

I. مدخل

تمثل الصحراء نظام بيئي مميز، تدعم التنوع البيولوجي النباتي والحيواني؛ وخاصة فيما يتعلق بالتكيف من أجل البقاء في الظروف القاسية (EL-BARASI et *al*., 2012). ومن النباتات التي تتحمل هذه الظروف نجد العائلة البقولية Fabacaeae التي تنتشر في جميع أنحاء العالم؛ حيث تمثل ثالث أكبر عائلة بين كاسيات البذور بعد Orchidaceae وAsteraceae، تضم أكثر من 700 جنس ونحو 20 ألف نوع من الأشجار والشجيرات، والأعشاب. أما من الناحية الطب الشعبي التقليدي فهي ثاني أكبر عائلة تحتوي على أنواع النباتات الطبية؛ إذ تحتوي أكثر من 490 نوع نباتي طبي (DZOYEM et *al*., 2014).

II. العائلة البقولية Fabaceae

تعتبر العائلة البقولية من أهم وأكبر الشعب النباتية من الناحية الاقتصادية، إذ تعد من أكثر النباتات الزهرية انتشاراً في العالم (DOYLE & LUCKOW., 2003).

تعرف هذه الفصيلة بعدة تسميات الفولية Fabaceae LINDLEY (1836) والقرنية Leguminosae A.L. DE JUSSIEU (1789)، تندرج هذه العائلة تحت صف ثتائيات الفلقة (BOTINEAU., 2010)، تنقسم إلى ثلاثة تحت عائلات هي: Caesalpinioideae وMimosoideae وPapillionoideae، وذلك على أساس شكل التويج وشكل الأسدية وعددها (DOYLE & LUCKOW, 2003)، تعتبر هذه العائلة من أكثر العائلات تجانسا؛ حيث تشتهر بمميزات الشكل (05)؛ وهذا تبعا لما ورد عند (SPICHIGER et *al*., 2002؛ DUPONT & GUIGNARD., 2007؛ HEYWOOD et *al*., 2007):

الساق: قائمة أو نصف قائمة، متسلقة أو زاحفة، مصمتة أو مجوفة.

الأوراق: متناوبة أو متقابلة، في أغلب أنواع هذه العائلة تكون راحية أو ريشية، مركبة ثلاثية الوريقات أو متعددة، ونادرا ما تكون بسيطة، تتحور إلى أشواك أحيانا.

النورات: في الغالب النورات تكون عنقودية بسيطة Racemes، أو عنقودية مركبة Panicles، أو مشطية Corymbs، أو سنبلة Spikes، أو هامة Head.

الأزهار: ثنائية الجنس، سفلية والمبيض علوي، تحمل ألوانا مختلفة، غالبا خماسية القطع الزهرية، في أغلب الأنواع يأخذ التويج شكل الفراشة، بحيث تعرف البتلة الخلفية بالعلم والجانبيتان بالجناحين، والأمامية بالزورق والتي تتكون من قطعتان ملتحمتان. وتضم بداخلها الطلع (مكون من 10 أسدية أحادية أو ثنائية الحزمة) والمتاع (يتكون من كربلة واحدة تحتوي على العديد من البويضات).

الثمار: الثمار قرنية، أو بقلة، تحمل عدة بذور لا سويدائية غالبا.

الجذور: وتدية تحمل عُقيدات جذرية تحتوي على بكتيريا تكافلية (Rhizobium) مثبتة لنيتروجين الغلاف الجوي.

شكل (05): نموذج من عائلة البقولية يوضح بعض الصفات المرفولوجية المميزة للعائلة (MERIANE., 2018).

أما من الناحية الكيميائية تعرف العائلة بغناها ببعض المستقلبات الثانوية: كالتانينات والفلافونويدات، والقلويدات (أكساد، 2012؛ DZOYEM et *al*., 2014؛ ERICA et *al*., 2017).

III. جنس Genista

ينتشر جنس Genista في نطاق واسع من منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط؛ في أوروبا وشمال أفريقيا (ليبيا وتونس والجزائر والمغرب). أما في الجزائر فيتركز انتشاره في المنطقة الشرقية والجنوبية والصحراء الكبرى (QUEZEL et SANTA., 1963). يحتوي هذا الجنس على 23 نوع منها 11 نوع مستوطن في الجزائر (GUETTAF et *al*., 2016)؛ إذ يعتبر نبات *Genista saharae* أحد الأنواع النباتية التي تميز الصحراء الجزائرية.

وُصف جنس Genista لأول مرة من طرف العالم LINNE عام 1753 (ATI, 2018)، على أنه شجيرات شائكة وغير شائكة، متساقطة الأوراق (MARTINS et *al*., 2005)، تحمل من 1 إلى 3 وريقات. أزهاره ذات كأس جرسي مسنن يحتوي على 5 أسنان غير متساوية ملتحمة التحام جزئي، وتويج ذو لون أصفر؛ خماسي القطع الجزء العلوي منها منفصل أو ملتحم، الثلاثة قطع السفلية منه على شكل شفى مسننة بأسنان عميقة. الطلع يتضمن 10 أسدية ملتحمة Monadelphes بشكل أنبوب. الثمرة جراب (QUEZEL et SANTA., 1963).

IV. نبات المرخ *Genista saharae Coss. & Dur.*

❖ الوصف المرفولوجي للنبات

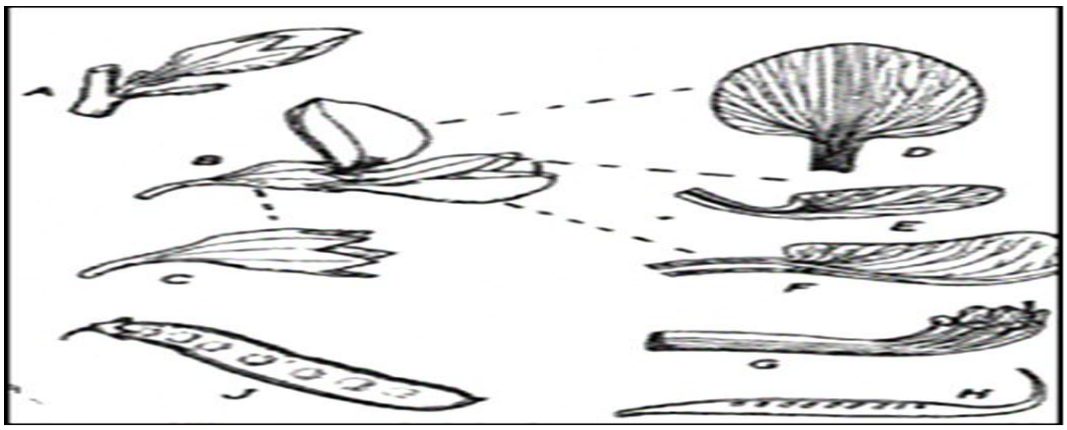
نبات المرخ أو كما يسمى مكنسة الصحراء كما ورد عند MOHAMMEDI (2014)، اسمه العلمي *Genista saharae* Coss. & Dur. (COSSON & DURIEU, 1855). هو عبارة عن شجيرة صحراوية مستوطنة، معمرة يبلغ ارتفاعها من حوالي 1 إلى 2 م (CHEHMA., 2006). تنتشر في الأراضي الرملية والمنخفضات والأودية (حليس،2007).

الساق: خضراء اللون، ملساء، ومتفرعة من القاع (حليس.،2007)، فروعها أسطوانية طويلة من 1 إلى 2 م (CHAÏCH., 2018).

الأوراق: بسيطة تتكون من ووريقة واحدة سريعة السقوط (حليس،2007)، الوريقة ذات قاعدة مسمارية وقمة حادة. هي أوراق لاطئة، خطية، متبادلة على كلا الجانبين. يبلغ طولها 6-10 مم وعرضها 1-2 مم (MERIANE, 2018).

النورة: عنقدية تحتوي من 3 إلى 9 أزهار (LOGRADA, 2010)، الأزهار كبيرة الحجم حوالي 1سم، صفراء (حليس،2007)، الكأس أخضر اللون يأخذ شكل جرس يحتوي على 5 أسنان غير متساوية (MEKKIOU, 2005) طوله 2.5 مم، التويج فراشي الشكل Papilioform مكون من خمس بتلات (LOGRADA, 2010)، الطلع مكون من 10 أسدية ملتحمة الخيوط منفصلة المأبر (OZENDA, 1991)، أنبوبية الشكل وملساء. أما الكربلة خضراء اللون تحمل من 6 - 8 بويضات (LOGRADA, 2010).

الثمار: قرنية مفلطحة وملتوية أحيانا (حليس،2007)، تحمل من 2-5 بذرة (BOUSHABA, 2016) يبلغ طولها حوالي 25 - 50 مم (QUEZEL et SANTA.,1963)، بذورها، كلوية الشكل، بنية اللون (LOGRADA, 2010).



الشكل (06): رسم توضيحي للأجزاء الزهرة والثمرة لنبات المرخ (OZENDA, 1991).

❖ النمو والإزهار

نبات معمر (حليس، 2007)، دائم الخضرة (MEDJEKAL, 2016)، يزهر في الفترة الممتدة من فيفري إلى مارس (حليس، 2007)

❖ **التصنيف**

تم تصنيف نبات *G. saharae* النامي في صحراء الجزائر أول مرة من طرف العالمان COSSON وDURIEU سنة 1855، حيث أدرجاه ضمن أنواع جنس Genista، ثم أُدرج سنة 1874 من طرف العالم POMEL ضمن جنس Spartidium، ليصبح بذلك الإسم *Spartidium saharae* مرادفا له. وفي سنة 2009 توصل BOATWR وزملاؤه إلى تصنيفه تبعا لأنواع جنس Calobota ليصبح حينها يعرف بـ *Calobrota saharae* (Coss. & Dur.) Boatwr. & B.-E. Van Wyk (BOATWRIGHT et *al*., 2009؛ LE FLOC'H et *al*., 2010؛ MERIANE, 2018)، في هذه النقطة نشير إلى أننا نقبل بالجنس الجديد Calobota بتحفظ نظرا لعدم توفر المصادر الكافية ونعتمد على التصنيف السابق؛ كما هو موضح في الجدول (01):

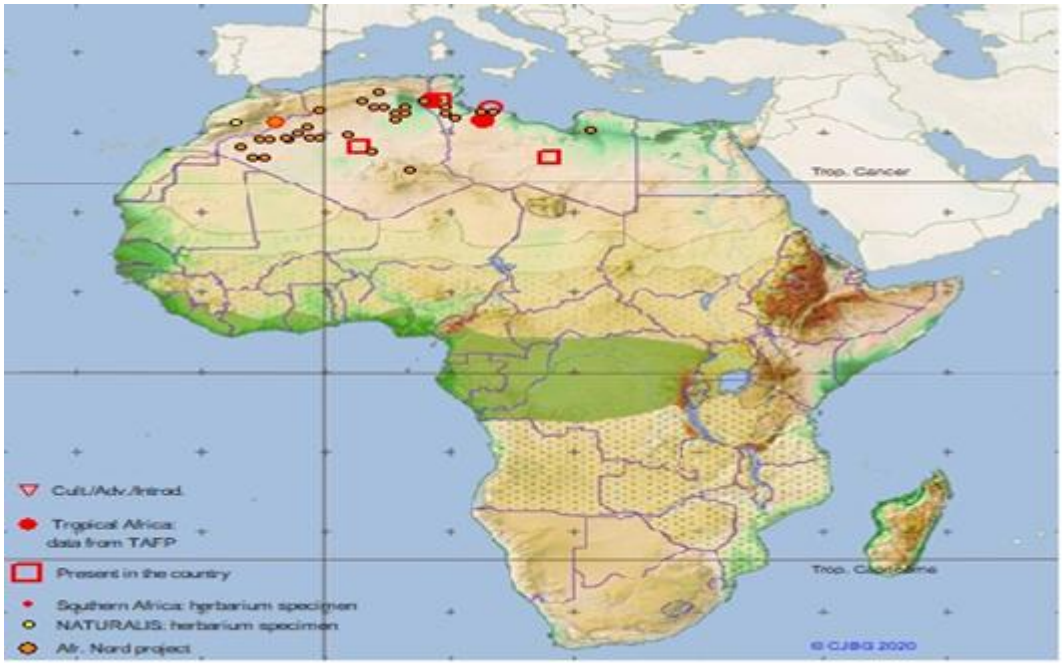
جدول (01): تصنيف *G. saharae* كما ورد عند (QUEZEL & SANTA, 1963؛ DUPONT & GUIGNARD, 2007).

Taxonomic category	Scientific classification	التصنيف العلمي	الفئة التصنيفية
Regn	Plantae	النباتية	المملكة
Embranchement	Spermatophytes	بذريات	الشعبة
Subembranchement	Angiospermes	مغطاة البذور	تحت الشعبة
Division	Magnoliophyta	/	القسم
Classe	Eudicots	ثنائيات الفلقة	الطائفة
Subclass	Rosidae	وردية	تحت الطائفة
Order	Fabales	الفوليات	الرتبة
Family	Fabaceae	البقوليات	العائلة
Subfamily	Papilionaceae	الفراشية	تحت العائلة
Tribu	Genisteae	/	القبيلة
Genre	*Genista*	/	الجنس
Species	*Genista saharae Coss. & Dur.*	/	النوع

❖ **الانتشار والتوزيع**

تعتبر الصحراء الكبرى الموطن الأصلي لنبات المرخ (حليس، 2007)، حيث يمكنه النمو والتكيف مع المنطقة الإيكولوجية لصحاري شمال أفريقيا: الصحراء الغربية، موريتانيا والمغرب والجزائر وتونس

وليبيا ومصر (ZAMMOURI et *al*., 2009)، فنجده ينمو وينتشر في مناطق: التربة الرملية، العرق، الصحن، المنخفضات والأودية، ونادرا ما نجده في الشطوط والمناطق المالحة (CHEHMA, 2006؛ حليس، 2007).



الشكل (07): خارطة توزيع نبات *G. saharae* (CJB-Base de données des plantes d'Afrique-Détail-files).

❖ **خصائصه العلاجية**

نبات المرخ أو *G. saharae* شجيرة استخدمها السكان المحليين في الطب التقليدي، وذلك باعتبارها عقارا:

- ✓ مفيدة لأمراض الجهاز التنفسي (GUETTAF et *al*., 2016) كالسعال والالتهاب الرئوي (QUATTROCCHI, 2012).
- ✓ مدرة للبول (BOUCHOUKA et *al*., 2012).
- ✓ مزيلة للسموم (QUATTROCCHI, 2012).
- ✓ كما تستخدم في حالة الاضطرابات الهضمية (CHAÏCH, 2018).

❖ **أهميته**

- ♦ **صناعيا**: تستخدم أغصانها الفتية اللينة في صناعة الحبال والشباك والحسائر (QUATTROCCHI, 2012).
- ♦ **رعويا**: يعتبر غذاء عالي الجودة للحيوانات الصحراوية (MEDJEKAL, 2015).
- ♦ **بيئيا**: يعمل على تثبيت الرمال ومكافحته التصحر (GUETTAF et *al*., 2016). كما يساهم في منع تآكل التربة واستقرار التربة والنظام البيئي (DERBEL & CHAIEB, 2007).

♦ **زراعيا**: يساهم في خصوبة التربة من خلال تعزيز محتوها النيتروجيني (DERBEL & CHAIEB, 2007).

❖ **الدراسات السابقة للنبات**

رغم ندرة الدراسات حول نبات *Genista Saharae* المستوطن في شمال إفريقيا إلا أنها اتسمت بالتنوع، فذهب البعض إلى دراسة النبات من الناحية الكيمائية، ومنهم من درس قيمته الغذائية، وبعضهم الأخر درس التنوع الحيوي الميكروبي الجذري، وسنعرض فيما يلي أحدث الدراسات عن هذا النبات:

1. أظهرت الدراسة التي قام بها BAREK و آخرون (2019) عن مستخلصات للمذيبات مختلفة (Crude extract (Methanol 70%) وChloroform extract وEthyl acetate extract وButanol extract) للأجزاء الهوائية من *G. saharae* النامي في منطقة عين الصفراء، وجود محتوى فينولي، وفلافويدي، ووجود التانينات المكثفة، كما تم تحديد وفصل المركبات باستخدام RP-HPLC-PDA فتبين وجود الاحماض الفينولية (Gallic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, and sinapic acid) وفلافونويد (Quercetin) وفلافانون (Naringenin)، كما أظهرت مستخلص الكلوروفورم أعلى نشاطية مضادة للأكسدة وضد 11 سلالة مختلفة من البكتيريا.

2. أما الدراسة التي قام بها CHOUIKH وآخرون (2018) تتضمن تقييم المحتوى الفينولي الكمي والنوعي والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلص Methanol extract(99%) من الأجزاء الهوائية لنبات *G. saharae* النامي في منطقة الوادي، حيث سجل تباين واضح في محتوي الفينول الكلي والفلافونويدي مع اختلاف مرحلة النمو الفيزيولوجية. بينما الكشف النوعي باستخدامHPLC اظهر تجانس في نوع بعض المركبات الفينولية (Gallic acid, Caffeic acid, ρ-Coumaric acid, Vanillin and Rutin) خلال المراحل العمرية. أما اختباري النشاط المضاد للأكسدة باستخدام جذر DPPH• وانحلال كرات الدم الحمراء فكان هناك اختلاف واضح في النتائج من مرحلة لأخرى.

3. اثبت MEDJEKAL وأصدقائه (2016) تأثير التنوع الموسمي على التركيب الكيميائي (Ash %, Neutral detergent fiber, Acid detergent fiber, Acid detergent lignin, Hemicellulose, CP: Crude protein, EE: Ether extract, Free condensed tannins)، وإنتاج غازMethane في المختبر للأجزاء الهوائية لشجيرة *Calobota saharae* النامي في منطقة المسيلة، فكان اختلاف كبير في القيمة الغذائية، كما لاحظوا أن محتوى CP عالي في العينات التي تم حصادها فصلي (الشتاء والربيع)، كما كان هناك اختلاف واضح في إنتاج غار الميثان مع اختلاف موسم الحصاد.

4. كما درس NAYAK وMISHRA (2020)، المستعمرات الفطرية المتطفلة على جذور شجيرة *Spartidium saharae* و تأثيرها على الخصائص الميكروبيولوجيا للتربة في موسمي (الجفاف

والأمطار)، فوجد اختلاف في عدد و حجم الفطريات من موسم لآخر، كما اثبت دورها في إصلاح التربة وتعزيز نمو النبات.

5. وذهب MAHDHI وآخرون (2007)، إلى دراسة توصيف الكائنات الحية الدقيقة (النمط الظاهري والوراثي) المتعايشة مع *Genista saharae*، النامي في المناطق شبه جافة في تونس، حيث قاموا بعزل 28 سلالة بكتيرية تمت دراسة خصائصها الظاهرية والوراثية؛ فتوصلوا إلى وجود تنوع بيولوجي جديد في البكتيريا المعزولة من *G. saharae* .

الجزء التطبيقي

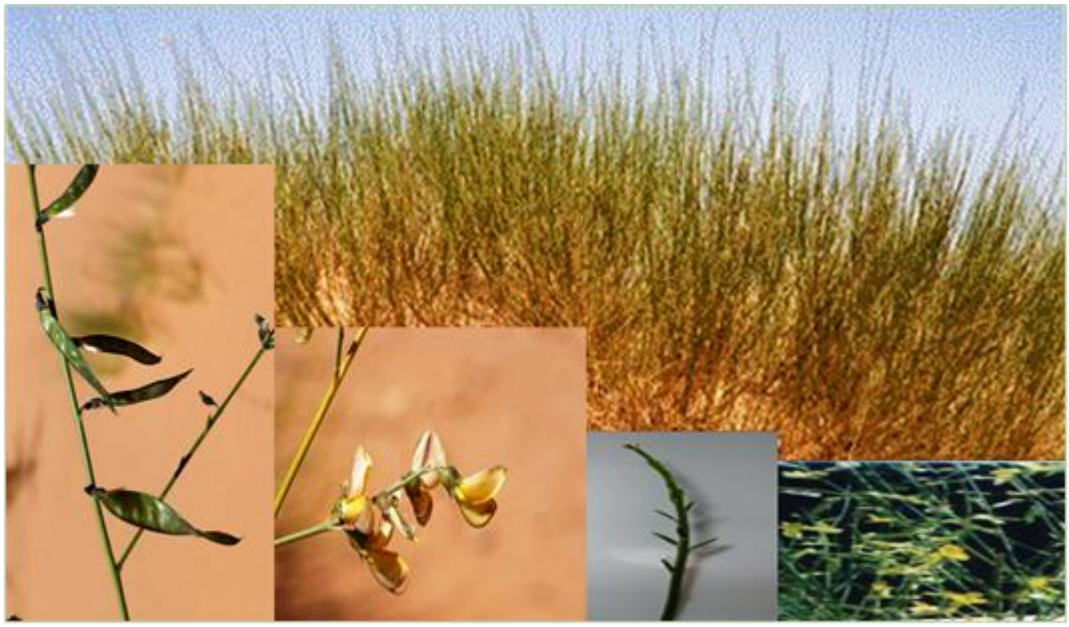
الفصل الأول

I. المادة النباتية

رغم الظروف البيئية القاسية التي تتميز بها منطقة وادي سوف؛ إلا أنها تتميز بغطاء نباتي ذو تنوع محدود لا يتعدى 120 نوع منتشرة انتشارا غير متجانس في مختلف ربوعها وأقاليمها (حليس، 2007).

وبهدف تثمين هذا التنوع الحيوي اخترنا نبات *Genista saharae* كنموذجا لدراستنا المخبرية، وهو أحد الأنواع النباتية الصحراوية النامي في منطقة العرق لوادي سوف. حيث تم جمع العينات من منطقة غمرة بلدية قمار؛ ثم جُففت في الظلام؛ بعدها طُحنت وحُفظت وفق الشروط المتعارف عليها (أكساد، 2012).

تم في هذه الدراسة استخدام الأجزاء الهوائية من النبات - الوثيقة (01) -، وذلك خلال مراحل نموه المختلفة (المرحلة الخضرية الأولى، المرحلة الزهرية، المرحلة الثمرية والمرحلة الخضرية الثانية)، وعليه زمن القطف والأجزاء المستعملة في كل عينة وُضحت في الجدول (2).



الوثيقة (01): الأجزاء الهوائية للنبات المدروس *G. saharae*.

الجدول (2): موسم قطف النبات والأجزاء المستعملة.

مرحلة النمو	رمزها	تاريخ القطف	الأجزاء المستعملة
المرحلة الخضرية الأولى	P 1	11/03/2016	السيقان الفتية والأوراق
المرحلة الزهرية	P 2	26/03/2016	السيقان الفتية، الأوراق والأزهار
المرحلة الثمرية	P 3	01/06/2016	السيقان اللينة، الأوراق والثمار
المرحلة الخضرية الثانية	P 4	19/09/2016	السيقان اللينة والأوراق

II. تقدير القيمة الغذائية للعينات النباتية

من أجل تحديد القيمة الغذائية للنبات ومعرفة ما مدى تغيرها خلال مراحل النمو الفيسيولوجية، قمنا بتقدير المحتوى الكمي لنواتج الأيض الأولي (البروتينات، الكربوهيدرات والدهون)، وذلك باتباع الخطوات الآتية:

أولا: تحضير المستخلصات

تم استخلاص نواتج الأيض الأولي حسب SHIBKO وزملائه (1966) الموصوفة من طرف BENSAFI-GHERAÏBIA, 2015) وTRIKI et *al*., 2016) كما هو موضح في الخطوات التجريبية التالية:

- أخذ 0.5 g من كل عينة للنبات المدروس؛ ثم يضاف لكل منها 5ml من Acide trichloracetique (20%).
- يخلط كل مزيج بجهاز الرج المغناطيسي لمدة 5 min ثم يوضع في أنبوب زجاجي.
- يفصل كل خليط بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 min وبسرعة 3000 دورة/د، ليتم بذلك الحصول على الطافي I؛ الذي يتم تقدير الكربوهيدرات منه.
- أما الراسب I لكل عينة يضاف له 2 ml من محلول Ether / Chloroform (1V / 1V).
- ثم يفصل المزيج مرة ثانية بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 min وبسرعة 3000 دورة/د، وذلك للحصول على الطافي II؛ الذي يُقدر به الدهون.
- أما الراسب II لكل عينة يضاف له 5 ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) ويرج الخليط جيدا؛ ثم يقدر منه البروتين.

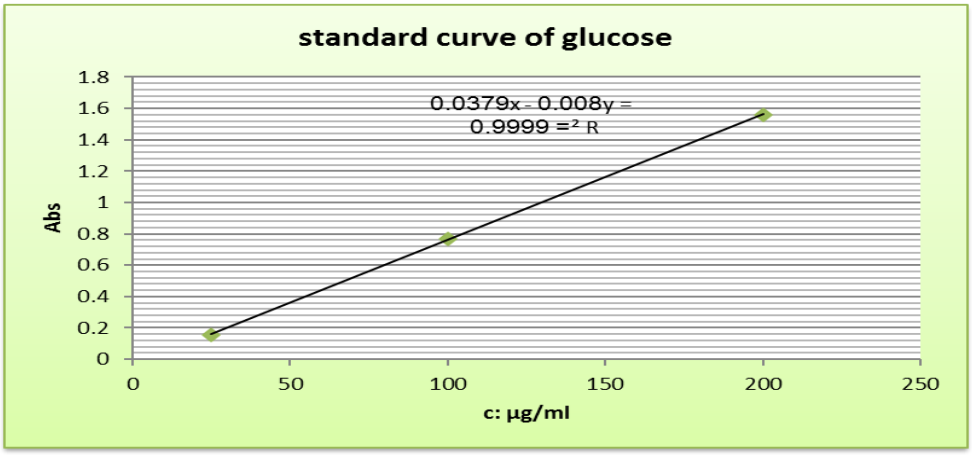
ثانيا: الخطوات العملية لتقدير نواتج الأيض الأولي

1. تقدير الكربوهيدرات

تم تقدير الكربوهيدرات حسب الطريقة الواردة عند DUBOIS وآخرون (1962)؛ باعتبارها الطريقة الأكثر استخدام لتحديد تركيزها، حيث تعتمد هذه الطريقة على حمض الفينول-الكبريتيك؛ وفقا للمبدأ التالي: تفاعل الكربوهيدرات مع حمض الكبريتيك المركز يؤدي إلى تجفيفها وإنتاج مشتقات Furfural التي تتفاعل بدورها مع الفينول محدثة بذلك تغيّر لونيا للمزيج يمكن تقديره من خلال قياس شدة امتصاصه (ALBALASMEH, 2013). وعليه يمكن إيجاز الخطوات العملية لهذه الطريقة كالآتي:

- مزج 1ml من الطافي I مع 1ml من الفينول (5 %) و5ml من حمض الكبريتيك المركز (96 %) H_2SO_4، ثم يرج الخليط جيدا حتى تتجانس مكوناته بشكل تام.
- يترك المزيج لمدة 10min، ثم يتم قراءته باستخدام جهار المطيافية الضوئية عند طول الموجة 490 نانومتر.

♦ لتقدير الكربوهيدرات في العينة المدروسة يتم الاعتماد على المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للجلوكوز - الوثيقة (02) -؛ والذي تم الحصول عليه باتباع نفس الخطوات العملية السابقة، حيث يعبر عنها كميا بـ mg/g من المادة الجافة.



الوثيقة (02): المنحى القياسي للكربوهيدرات.

2. التقدير الكمي للبروتين

تم تقدير البروتين باتباع الطريقة المذكورة عند LOWRY وآخرون (1951)، وذلك باعتبارها الأكثر دقة لتحديد هذا المحتواء الكميا، تعتمد هذه الطريقة على تفاعل كل من الروابط الببتيدية مع النحاس في الظروف القلوية لإنتاج Cu^{+}؛ الذي يتفاعل مع كاشف فولين. يمكن تتبع هذا التفاعل من خلال اللون الناتج باستخدام جهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة 750nm (WALKER, 2002; WINTERS, 2005)، وفق الخطوات التالية:

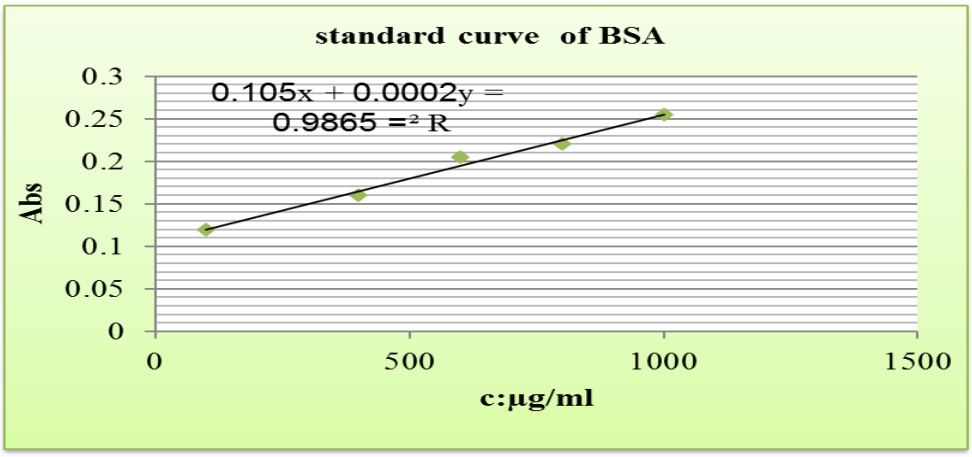
أولا: تحضير المحاليل

- المحلول (أ): يتم تحضيره بمزج 50 ml من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (2%) مع 50 ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH(0.1N).
- المحلول (ب): يتم تحضيره بمزج 10 ml من محلول كبريتات النحاس $CuSO_4$ (0.5%) مع 10 ml من محلول تيترات الصوديوم - بوتاسيوم $KNaC_4H_4.O_6\,4H_2O$ (0.1%).
- المحلول (ج): يتم تحضيره بإماهة محلول Folin – Ciocalteau (1V /1V).
- المحلول (د): كاشف كبريتات النحاس القاعدي يحضر بمزج 50 ml من المحلول (أ) مع 1 ml من المحلول (ب).

ثانيا: الخطوات التجربة

- وضع 0.2 ml من الراسب II لكل عينية في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 2 ml من المحلول (د).
- إضافة 2 ml من المحلول (ج).

- تترك في الظلام لمدة 30 min بدرجة حرارة المخبر.
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول موجة 750 نانومتر بواسطة جهاز المطيافية الضوئية.
- يقدر تركيز البروتين في مستخلص كل عينة استنادا للمعادلة الخطية للمنحنى القياسي للـ BSA – الوثيقة (03) -؛ حيث يعبر عنه كميا بـ mg/g من المادة الجافة.



الوثيقة (03): المحنى القياسي لتقدير كمية للبروتين.

3. التقدير الكمي الدهون

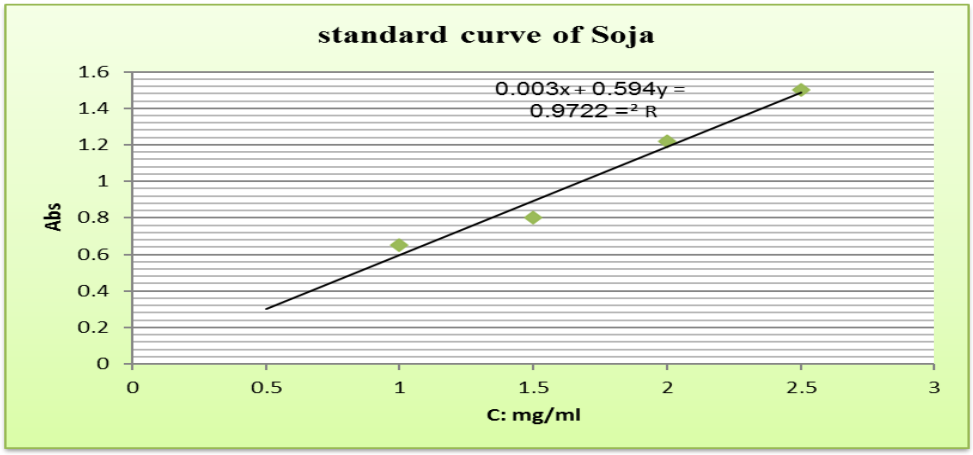
تم تقدير الدهون حسب طريقة GOLDSWORTHY وزملائه (1972) باستخدام كاشف Sulfo-phospho-vanillinique الذي يشكل عند التسخين مع الدهون مركب زهري (TRIKI et *al.*, 2016)، وذلك حسب الخطوات التالية:

- وضع 0.1 ml من مستخلص العينات (الطافي II) في أنابيب اختبار زجاجية
- إضافة 0.1 ml من حمض الكبريت المركز ثم ترج الأنابيب جيدا وتترك لمدة 10 min في حمام مائي عند 100 C°.
- بعد أن تبرد الأنابيب يأخذ منها 0.15 ml، ثم يضاف إليه 1.5 ml من كاشف Sulfophospho-vanillinique.
- ترج الأنابيب؛ ثم توضع في الظلام لمدة 30 min.
- يتم تقدير الشدة الضوئية بجهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة 530 nim (WOODICIDN, 1972).

ملاحظة: يتم تحضير المحلول الكاشف Sulfophospho-vanillinique على النحو التالي:

- إذابة 75 mg من Vanilline في 11 ml ماء مقطر ثم إضافة 39 ml من حمض الفوسفوريك H_3P0 (85 %) للحصول على حجم 50 ml (BENSAFI-GHERAÏBIA, 2015).

لتقدير الدهون في العينات المدروسة يتم الاعتماد على المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لزيت الصوجا - الوثيقة (04) -؛ والذي تم الحصول عليه باتباع نفس الخطوات العملية السابقة، حيث يعبر عنها كميا بـ mg/g من المادة الجافة.



الوثيقة (04): المنحنى القياسي للدهون.

III. الكشف الكيميائي لنواتج الأيض الثانوي

من أجل معرفة التداخل الكيميائي بين المرحلة العمرية للنبات ومواد الأيض الثانوي، تم اجراء اختبارات الكشف الكيميائي وفق الطرق الموضحة في الجدول (3).

جدول (3): الخطوات المتبعة في الكشف عن بعض مواد الأيض الثانوي لنبات *G. saharae* في مختلف مراحل نموه الفيزيولوجية.

مركبات الأيض الثانوي	طريقة التحضير	الكواشف	النتيجة	المرجع
الفلافونويدات	غلي 10 g من المادة النباتية الجافة في 60 ml من الايثانول وتوضع في المبرد لمدة 1 h.	5 ml من المزيج المصفى +1 ml HCl + 0.5g من Mg ويترك لمدة 30min.	ظهور اللون الوردي أو الأحمر	DEBRAYB et *al*., 1971; PARIS et MOYSE, 1969
المركبات المرجعية		1 ml من المستخلص + 2 ml من الماء المقطر + قطرات من كاشف Fehling.	بعد التسخين ظهور راسب أحمر أجوري	TREASE et EVANS, 1987
التانينات		1 ml من المستخلص + 2 ml من الماء المقطر + قطرات من $FeCl_3$	* ظهور اللون الأزرق المخضر ◄التانينات الكاتشيكية * اللون الأزرق المسود ◄التانينات الغاليكية	TREASE et EVANS, 1987

الانثوسيانينات	تحضير مستحلب النبات وذلك بغلي 100 ml من الماء المقطر+ 5 g من المادة النباتية الجافة ويترك لمدة 15 min ثم يصفى	2 ml من المستخلص + 2 ml من HCl (2N) + بعض قطرات NH_3	ظهور اللون الوردي أوالأحمر	DEBRAYB et *al*., 1971; PARIS et MOYSE, 1969
القلويدات	تحضير منقوع 10 g من المادة النباتية الجافة في 50 ml من H_2SO_4المخفف 10 مرات لمدة 24 h في الظلام	1ml من المستخلص + قطرات من كاشف Wagner	ظهور راسب بني	PARIS et MOYSE, 1969
الستيرولات والتربينات الثلاثية	نقع 5 g من المادة النباتية الجافة في 10 ml من الايثرلمدة 24 h في الظلام ثم يعرض لمصدر حراري حتى يجف	يعامل بـ 0.5 ml من Anhydride acetique و 0.5ml من كلوروفورم + قليل من acide sulfurique	ظهور حلقة حمراء بنية أو بنفسجية	TREASE et EVANS, 1987
الصابونوزيدات	تحضير مغلي النبات وذلك بوضع 2 g من المادة النباتية الجافة مع 100 ml من الماء المقطر	رج الأنابيب بقوة لمدة 15 s وتترك لمدة 15 min ثم قياس الرغوة	إذا كان معامل الرغوة أكبر من 100 يعتبر النبات غني بالصابونوزيدات	TREASE et EVANS, 1987

IV. تحضير المستخلص الفلافونويدي

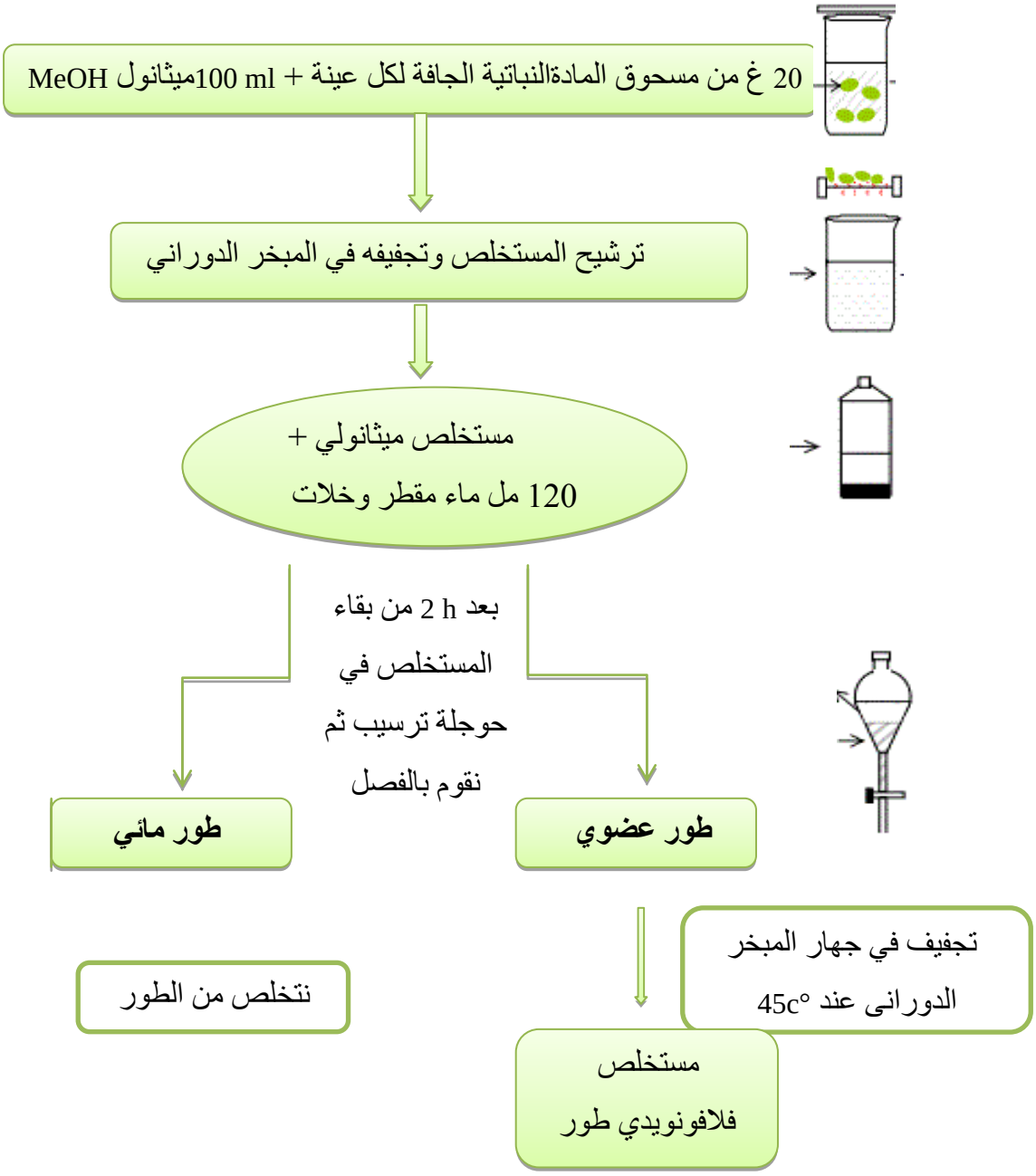
يتم نقع 20 g من المادة النباتية في 100 ml من الميثانول لمدة 24 h في الظلام وفي درجة حرارة المخبر. بعد الترشيح؛ يبخر المذيب بواسطة المبخر الدوار.

المستخلص الناتج يمر بمرحلة استخلاص ثنائية (طور سائل- سائل)؛ حيث يُحظر بمزجه مع حجمين متساويين من الماء المقطر الساخن - 50 C° - وخلات الايثيل Ethel of acetat (V/V= 120 ml)؛ ثم يرج المحلول جيد؛ ويوضع في حوجلة الترسيب؛ بعد فترة زمنية مقدر بحوالي 2 h يفصل المزيج المكون من طورين مائي وعضوي، يتم التخلص من الطور المائي أما الطور العضوي فيجفف في المبخر الدوراني عند50 C°، وبهذا يتم الحصول على المستخلص الفلافونويدي طور خلات الإثيل (KANOUN, 2011).

ولحساب نسبة المردود ؛ يتم تطبيق العلاقة الواردة عند GUETTAF آخرون (2016):

$$\mathbf{Y\ (\%) = (Mext/\ Mdmvm)\times 100}$$

حيث: **Y%:** المردود؛ **Mex:** وزن المستخلص؛ **Mdmvm:** وزن المادة النباتية الجافة



الوثيقة (05): خطوات استخلاص الفلافونويدات طور خلات الإيثيل.

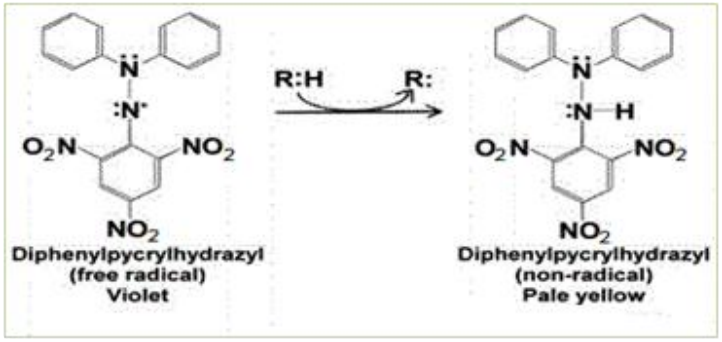
V. الدراسة الفيتوكيميائية

1. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

بهدف دراسة تأثير مرحلة النمو على الفعالية المضادة للأكسدة، أجرينا اختبارين: اختبار إزاحة الجذر الحر DPPH• واختبار إنحلال كريات الدم الحمراء.

1.1. اختبارالجذر الحر (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH •

تم اعتماد هذا الجذر باعتباره جزئ غير مستقر، له القدرة على التفاعل مع المركبات المانحة للالكترونات أو الهيدروجين - الوثيقة (06) -، حيث يظهر ذلك لونيا من خلال تغير لون المحلول من الأرجواني الداكن إلى الأصفر الفاتح (MERIANE, 2018).



الوثيقة (06): بنية جزيDPPH• قبل وبعد الارجاع (SAMPLETRE et *al*., 2009).

➢ **الخطوات العملية لاختبارDPPH•**

تمت هذه التجربة مخبريا تبعا للخطوات المذكورة عند CHOUIKH وآخرون (2018)؛ وذلك كالآتي:

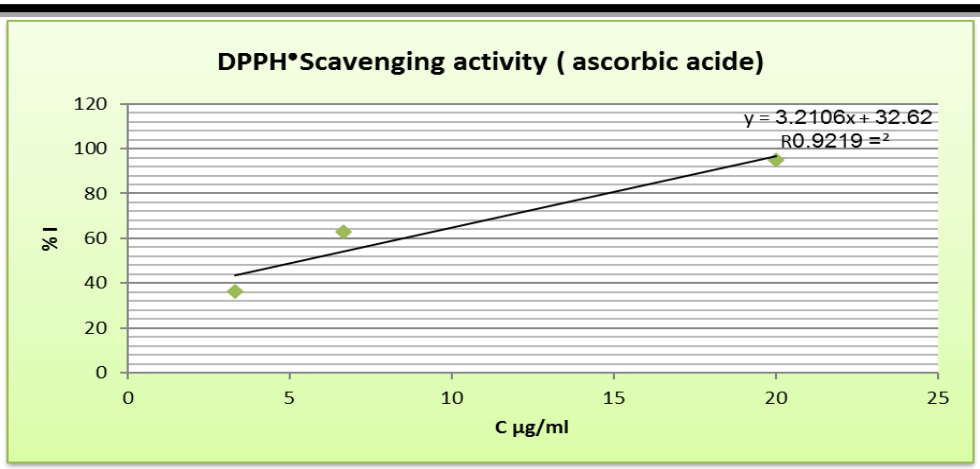
- تحضير سلسلة تراكيز مختلفة لكل عينة من المستخلصات الفلافونويدية المذابة في الميثانول [0.1-1mg/ml]
- يتم مزج 0.5 ml من التراكيز المحضرة مع 1 ml من محلولDPPH• المذاب في الميثانول (4 mg /100 ml MeOH) ثم ترج الأنابيب جيدا؛ وتترك في الظلام لمدة 30 min في درجة حرارة المخبر؛ ثم تقاس الإمتصاصية للمحاليل بجهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 517nm.
- يرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز؛ حيث تقدر نسبة التثبيط حسب (LIU et al, 2019) بالعلاقة التالية:

$$I\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

- I%:نسبة تثبيط الجذر الحر
- A_0: الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص.
- A_1:الإمتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلص.

وتحدد القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص ما بتحديد قيمة IC_{50}، الذي يعرف على أنه مقدار تركيز المستخلص المثبط لـ 50% من جذرDPPH•؛ ويحسب من خلال المعادلة الخطية لمنحنيات تغير نسبة التثبيط (I %) بدلالة التركيز.

إستعملنا في دراستنا حمض الأسكوربيك كمركب مرجعي لمقارنة نتائج النشاطية المضادة لـ DPPH• مع مستخلصات النبات المدروس.



الوثيقة (07): منحنى القياسي لنسبة تثبيط DPPH• للمحلول الميثانولي لحمض الاسكوربيك.

2.1. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse

يهدف هذا الاختبار إلى التعرف على مدى حماية المستخلص النباتي لكريات الدم الحمراء من الإنحلال جراء تعرضها للمواد المؤكسدة والجذور الحرة؛ وذلك من خلال قياس نسبة الانحلال.

حيث تعتمد هذه الطريقة على تعريض عينة من كريات الدم الحمراء السليمة للإنسان إلى جذر H_2O_2 و$FeCl_3$. ويتم الحصول على كريات الدم الحمراء المخففة باستعمال جهاز الطرد المركزي عند سرعة 3000 دورة/ د لمدة 10min (CHOUIKH et *al.*, 2018)

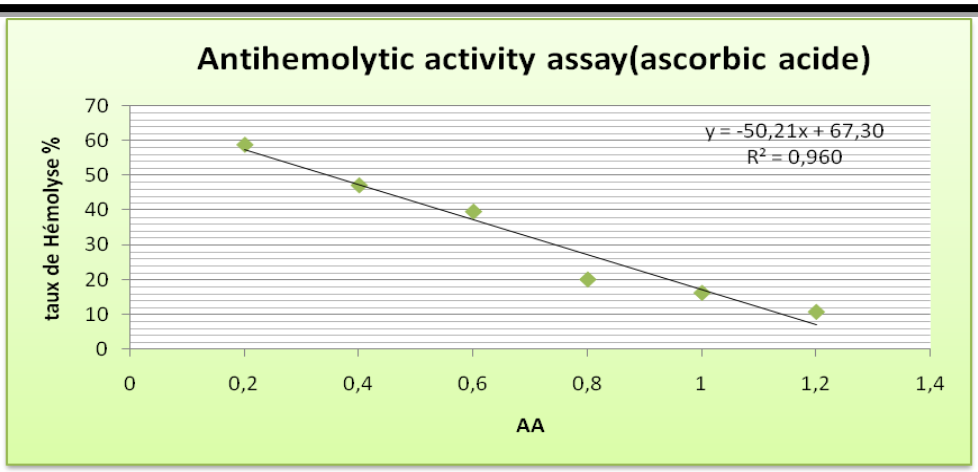
➢ **طريقة العمل**

حسب DIVYA (2012) وزملاءه يتم هذا الاختبار مخبريا كالتالي:

- يؤخذ 40µl من كريات الدم الحمراء البشرية، ثم نضيف إليها 2 ml من مستخلص النبات؛ ثم تحضن لمدة 5 min في درجة حرارة 37 C°.
- يضاف للمزيج 40 µl من محلول من فوق الأكسيد (H_2O_2) بتركيز 30 ml/mol، ثلاثي كلور الحديد$FeCl_3$ بتركيز 80 ml/mol ومحلول حمض الأسكوربيك بتركيز50 ml/mol.
- ثم يترك الخليط لمدة ساعة في الحاضنة عند درجة حرارة37 C°.
- بعدها ينقل لجهاز الطرد المركزي ويوضع في سرعة 700 دورة / د لمدة 10 min، نتتبع انخفاض الإمتصاصية نتيجة انحلال كريات الدم الحمراء عند طول موجة 540nm = λ وتحسب نسبة انحلال كريات الدم الحمراء وفقا للعلاقة الآتية:

$$\text{Hemolyse \%} = [Abs_{control} / Abs_{echantillon}] \times 100$$

- $Abs_{control}$: شدة امتصاص الخليط في غياب المستخلص النباتي.
- $Abs_{echantillon}$: شدة امتصاص الخليط في وجود المستخلص القياسي.



الوثيقة (08): المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hemolysis).

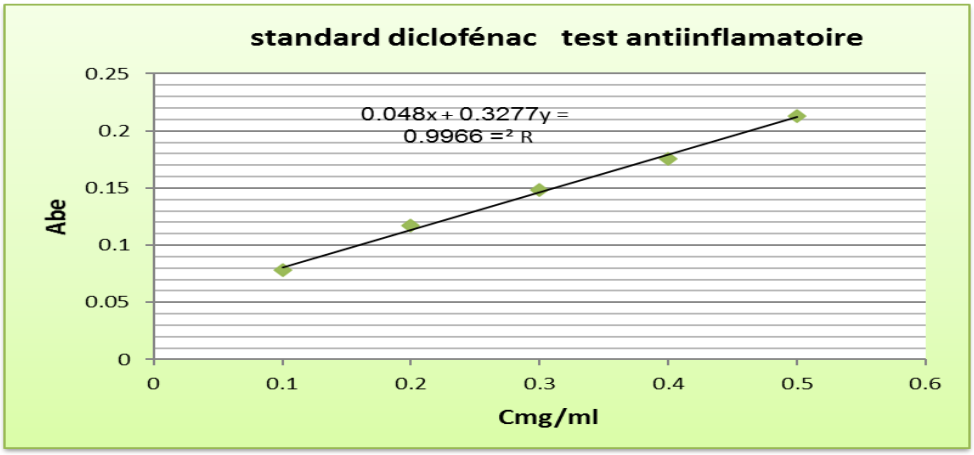
2. تقدير النشاطية المضادة للالتهاب

يعد الالتهاب آلية دفاعية تمكن الجسم من حماية نفسه من العدوى والمواد المسببة للحساسية الكيميائية، أو أي محفزات ضارة أخرى مثل: مسببات الأمراض، الخلايا التالفة أو المهيجات التي غالبًا ما ترتبط بالألم وتتضمن حالات مثل: زيادة نفاذية الأوعية الدموية، زيادة تفكك البروتين وتغيير بنية الغشاء.

لذا من المقبول محاكات الالتهاب *InVitro* عن طريق تفكك البروتين بفعل عامل الحرارة (PATEL et DESAI, 2016 وGONZALTSAFACK et *al*., 2019)، يتم ذلك مخبريا بتتبع الخطوات التالية:

نحضر خليط التفاعل الذي يتكون من 1 ml من تراكيز المستخلص النباتي مع 1ml من الألبومين البشري 5% ويتم حضنه عند 37 C° درجة مئوية لمدة 15 min. ثم يوضع المزيج في حمام مائي عند درجة حرارة 70 C° لمدة 10 min. بعد التبريد في درجة حرارة المخبر، يتم قياس الامتصاص عند طول الموجة 314nim.

تم استخدام ديكلوفيناك الصوديوم، وهو دواء مضاد للالتهابات غير الستيرويدية كمعيار لتقدير النشاطية المضادة للإلتهاب الموضح في الوثيقة (08).



الوثيقة (09): المنحنى القياسي للمركب المرجعي Diclofenac.

VI. التحليل النوعي باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييو FTIR

تفيد مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييو في التعرف على الجاميع الوظيفية الفعالة في المركبات الكيميائية، وذلك لوجود بصمة لكل مركب تميزه عن باقي المركبات.

o مبدأ العمل:

تهتز الجزيئات طبيعيا تبعا لجميع مخططات اهتزازها ولكن بسعات مختلفة، فإذا كان الإهتزازضعيفا جدا، وكان تواتر الفوتون يتوافق مع اهتزاز الجزيء فإنه سيتجاوب معه ويهتز عندئذ بسعة كبيرة جدا، بعبارة أخرى الفوتون الذي تكون طاقته مساوية للطاقة الضرورية للجزيء حتى يمر من حالة طاقة منخفضة إلى حالة مثارة يمتصها وتحول طاقته إلى طاقة الاهتزاز.

يؤدي امتصاص بعض الفوتونات الواردة إلى ظهور خطوط توافق الفوتونات الممتصة في طيف الأشعة ما تحت الحمراء للجزيء. يميز هذا الامتصاص الروابط (Bonds) بين الذرات، بما أن كل مخطط اهتزاز يوافق حركة وحيدة للجزيء، فإنه يوجد توافق مباشر بين تواتر الاشعاع الممتص وبنية الجزيء. أي بمعنى آخر يتم اكتشاف المجموعات الوظيفية عموما من خلال وجود أو غياب نطاقات امتصاص مسجلة على طيف الأشعة تحت الحمراء، ويعتمد امتصاص هذه الأشعة تحت الحمراء للمادة على المكونات وعلى أنواع الروابط التي تربطها (BELFENNACHE, 2012; BEDDIAF, 2016)

في هذا العمل قمنا بتسجيل طيف الأشعة تحت الحمراء بواسطة مطياف FTIR من نوع (Agilent Technoogies Cary 630 FTIR).

الوثيقة (10): جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء.

VII. الدراسة الإحصائية

تم حساب وتمثيل النتائج باستخدام Microsoft Offise Excel 2007. وتم التعبير عن النتائج المتحصل عليها باستخدام المتوسط ± SEM مع أن n=3. في حين تم الاعتماد على تحليل التباين أحادي الاتجاهANOVA عند مستوى معنوية (α=0.001)،(α=0.01)،(α=0.05) في دراسة الفروق معنوية للنتائج.

الفصل الثاني

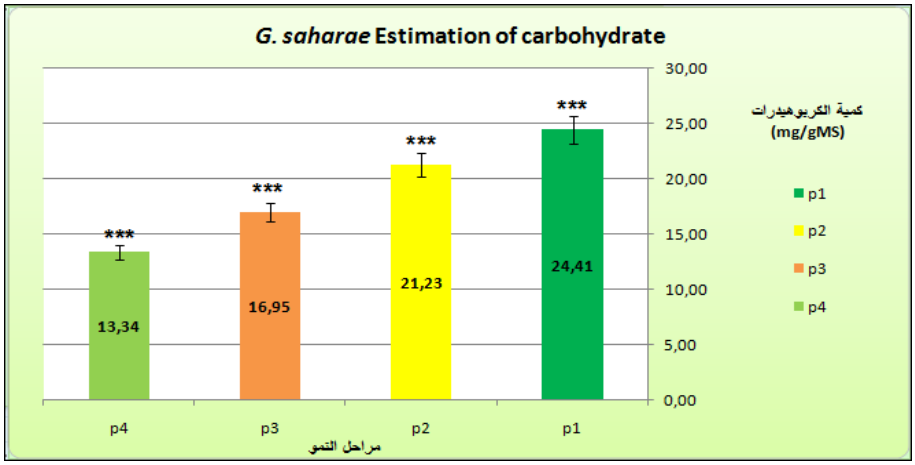
II. النتائج

بهدف معرفة تاثير تبدل الحالة الفيزيولوجية خلال مراحل نمو النبات على الفلافونويدات؛ تطرقنا في هذه الدراسة إلى تتبع المحتوى الكيمائي لنبات المرخ *G. saharae* مخبريا وذلك خلال مراحل نموه المختلفة. حيث سجلنا النتائج كالآتي:

1. القيمة الغذائية

1.1. الكربوهيدرات

تم تقدير الكربوهيدرات وفقا DUBOIS وزملائه (1962)؛ وباستغلال معادلة المنحنى القياسي للجليكوز (المواد والطرق - ص 20-)، حيث كانت النتائج كما هو موضح في الوثيقة (11).



الوثيقة (11): المحتوى الكمي للكربوهيدرات لنبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفيزيولوجية المختلفة.

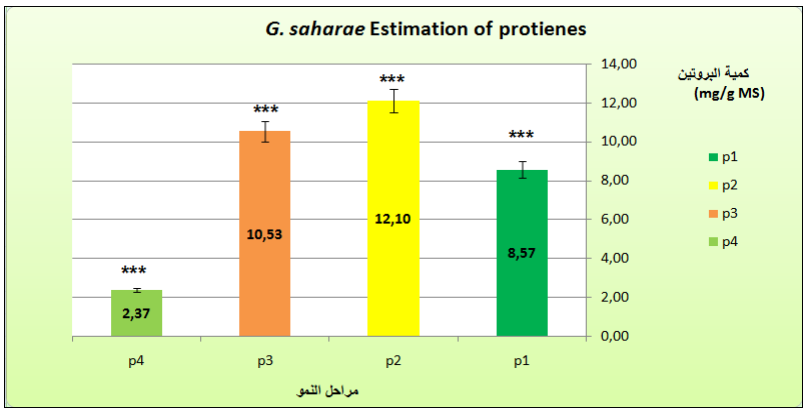
P1: المرحلة الخضرية الأولى، P2: المرحلة الزهرية، P3: المرحلة الثمرية، P4: المرحلة الخضرية الثانية،
(α=0.001:***)، (α=0.01:**)، (α=0.05:*).

من خلال الوثيقة (11) لُوحظ من خلال النتائج تتناقص تدريجيا لمحتوى الكربوهيدرات مع تقدم النبات في العمر الفيزيولوجي؛ فسُجلت أعلى قيمة لها عند المرحلة الخضرية الأولى بكمية قدرت بـ 24.41±0.08 mg/gMS؛ لتليها المرحلة الزهرية ثم المرحلة الثمرية بقيمة 21.23±0.052 mg/gMS، 16.95±0.246 mg/gMS على التوالي، في حين دُونت أقل قيمة عند المرحلة الخضرية الثانية13.34±0.038 mg/gMS، ومن خلال التحليل الإحصائي تبين وجود فروق معنوية عالية جدا عند مستوى دلالة (α=0.001).

2.1. البروتين

تم التقدير الكمي للبروتين تباعا لما ورد عند LOWRY (1951)؛ بالاعتماد على معادلة المنحنى القياسي لألبومين مصل البقر (أنظر في فصل المواد والطرق - ص 21-)، فمُثلت النتائج المتحصل عليها

بالأعمدة البيانية الموضحة في الوثيقة (13)؛ وتم التعبير عن كمية البروتين بـملغرام على الغرام من المادة النباتية الجافة.



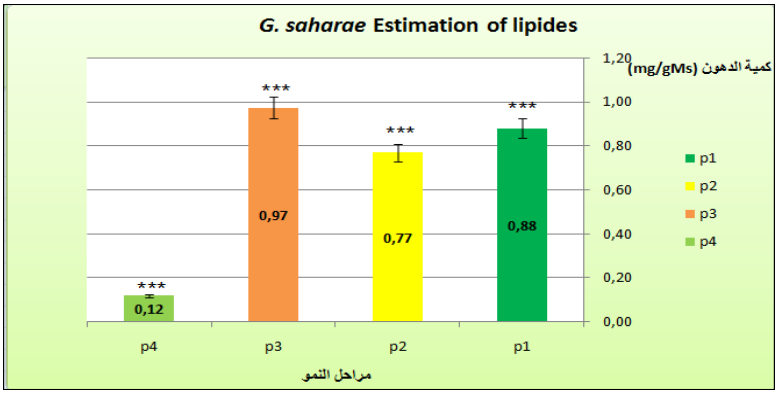
الوثيقة (12): المحتوى الكمي للبروتينات في عينات نبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفزيولوجية المختلفة.

(α=0.001:***)، (α=0.01:**)، (α=0.05:*).

من خلال الوثيقة (13) نلاحظ تباين في قيم البروتين خلال مراحل نمو النبات، حيث سُجلت أعلى كمية لها أثناء المرحلة الزهرية بقيمة تقدر بـ 12.10±0.141 mg/gMS، وأقل كمية في المرحلة الخضرية الثانية بقيمة 2.37±0.047 mg/gMS. بينما قُدرت كميتها في المرحلة الخضرية الأولى والمرحلة الثمرية بقيمة 8.57±0.309mg/gMS و10.53±0.094 mg/gMS على التوالي. ومن نتائج التحليل الاحصائي ANOVA نلاحظ وجود فروق معنوية بين قيم البروتين خلال مراحل نمو النبات - وذلك بمستوي معنوية (α=0.001).

3.1. الدهون

تم تقدير الدهون في عينات نبات المرخ *G. saharae* خلال مختلف مراحل نموه الفيزيولوجية وفقا لطريقة GOLDSWORTHY وزملاءه (1972)؛ حيث أُعتمد لهذا الغرض المنحنى القياسي لزيت نبات الصوجا (المواد والطرق - ص 22-)، فكانت النتائج المتحصل عليها كما هو موضح في الوثيقة (12).



الوثيقة (13): المحتوى الكمي لدهون نبات المرخ *G. saharae* خلال مراحل نموه الفزيولوجية المختلفة. (α=0.001:***)، (α=0.01:**)، (α=0.05:*).

من خلال الوثيقة (12) أبدت النتائج ظهور تفاوتات طفيفة في كمية الدهون؛ عند كل من P2،P1 وP3 إذ قُدرت القيم الكمية لكل منهم بـ 0.974±0,056 mg/g MS، 0.770±0,004، 0.881±0,039 بالترتيب. في حين سُجلت أدنى كمية عند P4 بقيمة قُدرت بـ 0.12±0,014 mg/g MS. ومن خلال التحليل الإحصائي ANOVA تبين وجود فروق معنوية جدا عند مستوى دلالة (α=0.001)

2. الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في عينات لنبات المرخ *G. saharae*

تم الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي بالاعتماد على المادة النباتية الجافة للعينات، حيث مثلت النتائج المتحصل عليها في الجدول (4) (الملحق رقم 2).

الجدول (4): نتائج الكشف الكيميائي لبعض نواتج الايض الثانوي للعينات النباتية المدروسة.

مرحلة النمو / نواتج الأيض	P 1	P 2	P 3	P 4
الفلافونويدات	+++	+++	+++	+++
السكريات المرجعة	+++	+	+	+
الأنثوسيانينات	-	-	-	-
القلويدات	+++	+	++	++
الصابونوزيدات	+++	+++	+++	+++
الستيرولات والتربينات	-	+	-	+
التانينات	+++ Gallique	+++ Catéchique	+++ Catéchique	+++ Gallique

+++: وجود المادة الفعالة بكمية مقبولة جدا؛ ++: وجود المادة الفعالة بكمية مقبولة؛ +: وجود المادة الفعالة؛

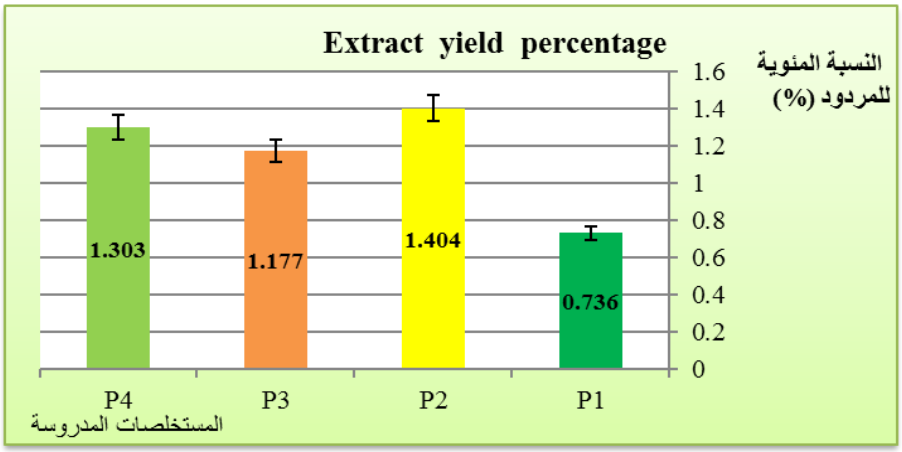
-: غياب المادة الفعالة.

من النتائج المتحصل عليها يتضح أن نبات المرخ *G. saharea* غني بالمواد الفعالة أهمها: الفلافونويدات، السكريات المرجعة، القلويدات، الصابونوزيدات والتانينات؛ حيث لوحظ أن كمية تواجد هذه المركبات يختلف باختلاف المرحلة الفزيولوجية للنبات. في حين بدى غياب مركبات الانثوسيان واضحا في كل مراحل نمو النبات، كما سجل غياب الستيرولات والتربينات في كل من المرحلة الخضرية الأولى والمرحلة الثمرية؛ بينما ظهرا في كل من المرحلة الزهرية والخضرية الثانية.

3. الدراسة الفيتوكيميائية

1.3. المردود (Y%)

تم الحصول على المستخلصات الفلافونويدية لمختلف مراحل نمو نبات المرخ *G. saharea* الفيزيولوجية انطلاق من الطور العضوي لخلات الإيثيل. فكانت النتائج كما هي موضحة في الوثيقة أدناه:



الوثيقة (14): نتائج مردود المستخلصات الفلافونويدية لمراحل نمو نبات المرخ *G. saharae* المختلفة.

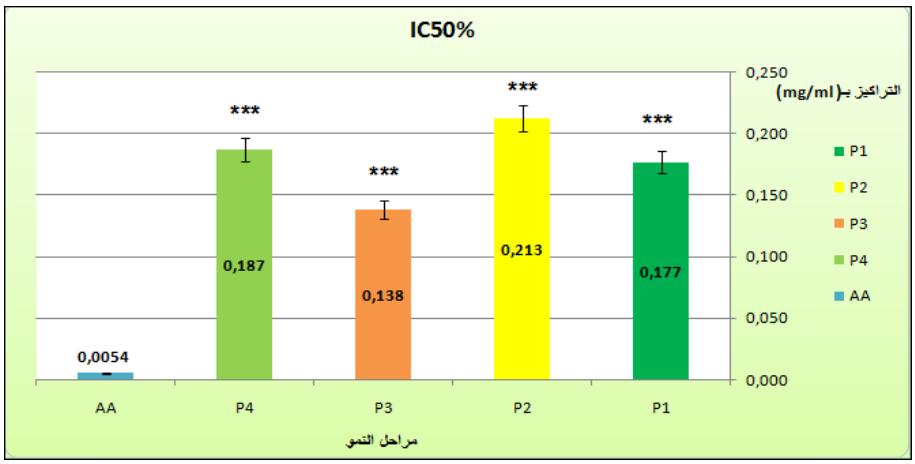
من خلال نتائج الوثيقة (14) تبين أن لمرحلة النمو تأثير على نسبة المردود؛ حيث سُجل عند عينة المرحلة P2 أعلى مردود بنسبة قُدرت بـ 1.404 %، في حين سُجلت أدنى نسبة له 0.736 % عند مستخلص P1 ، أما مستخلصي المرحلتين P3 وP4؛ فكانت النتائج متقاربة؛ حيث قدرت بـ 1.177 % و1.303 % على التوالي.

2.3. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

قصد دراسة تأثير المستخلصات المدروسة على النشاطية المضادة للأكسدة *In vitro*، اعتمدنا كل من: اختبار الجذر الحر الـDPPH• واختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hemolysis.

أ. اختبار الجذر الحر الـ DPPH•

تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لجذر الـDPPH• من خلال تحديد قيم IC_{50} والتي تمثل التركيز المثبط لـ 50% من الجذر الحر. وتم استعمال حمض الأسكوربيك (Vit C) كمركب معياري لمقارنة قدرة المستخلصات في كسح الجذر الحر (انظر الفصل الوسائل والطرق – ص 26-). في حين تم حساب قيم IC_{50} للمستخلصات الفلافونويدية للنبات المدروس وحمض الأسكوربيك من خلال منحنيات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز (انظر الملحق رقم 5)، حيث أدرجت هذه القيم في الوثيقة (15).



الوثيقة (15): قيم الـ IC_{50} للمستخلصات الفلافونويدية لمراحل النمو الفيزيولوجية المختلفة لنبات *G. saharae* وحمض الأسكوربيك عند اختبار $DPPH^{\bullet}$.

(α=0.001:***)، (α=0.01:**)، (α=0.05:*).

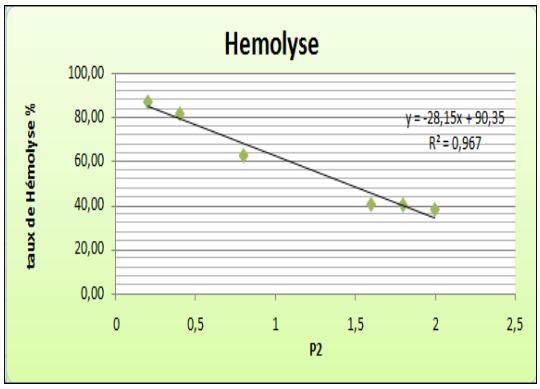
من المتفق عليه أن قيم IC_{50} تتناسب عكسيا مع الفعالية المضادة للأكسدة؛ فكلما كانت قيم IC_{50} صغيرة كانت النشاطية الكابحة للجذور الحرة أفضل.

من النتائج المتوصل إليها -الوثيقة أعلاه- نلاحظ تباين طفيف في قيم الـ IC_{50} لمستخلصات نبات المرخ؛ حيث أعربت نتائج التحليل الإحصائيANOVA عن وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة (α=0.001). إذ تفوق مستخلص P3 بأفضل فعالية في تثبيط للجذر الحر مقارنة بباقي المستخلصات وذلك بتركيز 0.138mg/ml، بينما قدرت قيمة IC_{50} لكل من مستخلص P1، P4،P2 بـ0.177 mg/ml؛ 0.187 mg/ml و0.213 mg/ml على التوالي. علاوة على ذلك تعد فعالية هذه المستخلصات ضعيفة إذ ما قورنت بكفاءة AA والذي دُون عنده القيمة0.0054 mg/ml.

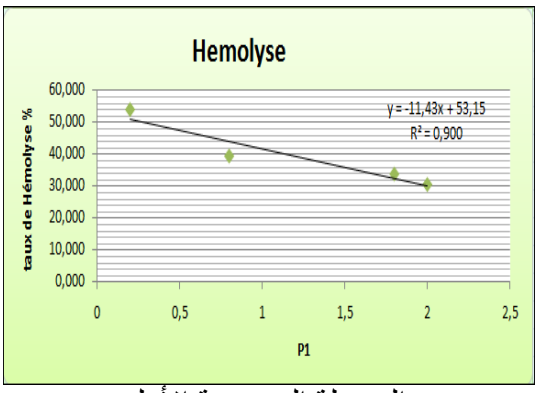
ب. **انحلال كريات الدم الحمراء Hemolyse**

لتقدير كفاءة المستخلصات المدروسة المضاد لانحلال كريات الدم الحمراء مختبريا، تم تعريضها لبعض العوامل المؤكسدة للغشاء السيتوبلازمي، حيث تعكس النتائج المتحصل عليها خلال هذا الاختبار مدى قدرة المستخلصات المدروسة في حماية كريات الدم الحمراء من تأثير الإجهاد التأكسدي.

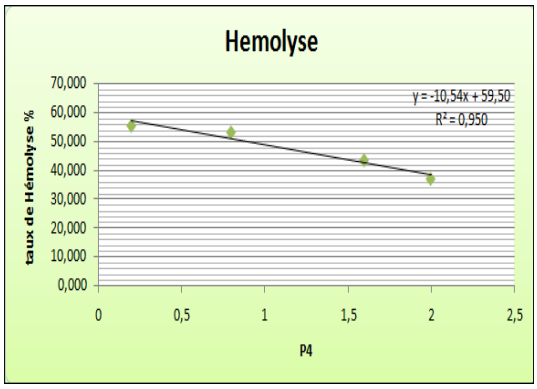
وتم تحديد نسب انحلال كريات الدم الحمراء انطلاقا من القانون الوارد عند (CHOUIKH et *al.*, 2018)، في حين قدرت الفعالية البيولوجية والتي قورنت بنشاطية حمض الأسكوربيكAA (فصل الوسائل والطرق ص27) باعتباره مركب قياسي.



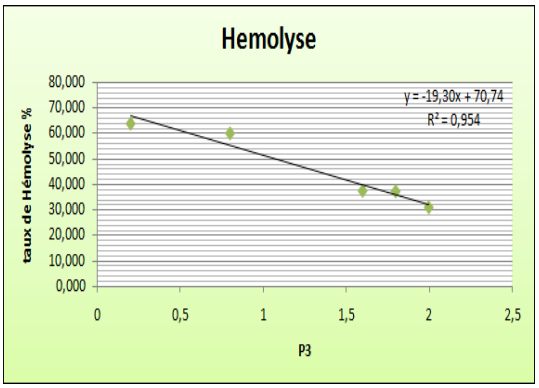
المرحلة الزهرية



المرحلة الخضرية الأولى



المرحلة الخضرية الثانية

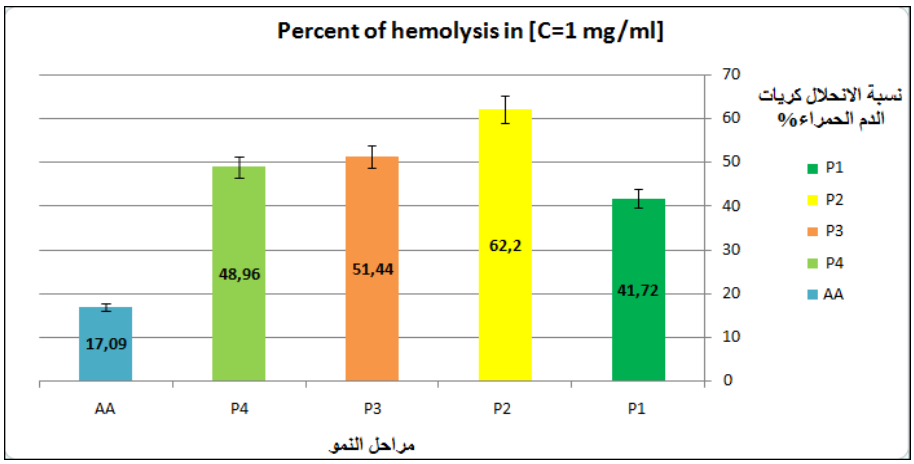


المرحلة الثمرية

الوثيقة (16): منحنيات نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلصات مراحل النمو المختلفة لنبات *G. saharae*

ومن خلال نتائج الوثيقة (16) نلاحظ أن هناك علاقة عكسية بين نسبة انحلال وتركيز المستخلصات النباتية؛ فكلما زاد تركيز المستخلص تناقصت نسبة الانحلال. كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائيANOVA لنتائج هذا الاختبار عدم وجود اختلاف معنوي عند مستوى دلالة (α= 0.05).

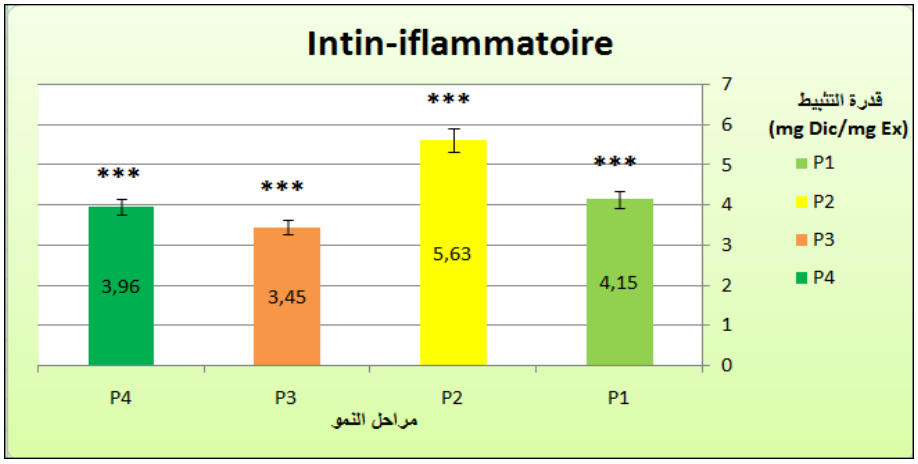
كما تبين أن قدرة حماية كريات الدم الحمراء عند جميع مستخلصات النبات متقاربة نسبيا (α=0.05) عند التركيز 1mg/ml ؛ وذلك كما هو موضح الوثيقة أدناه (17). فنلاحظ أن أدنى نسبة انحلال والتي قُدرت بـ 41.72 % كانت عند مستخلص P1، يليها مستخلص P4 بنسبة انحلال 48.96 % ثم مستخلص P3 بنسبة انحلال 51.44 %، بينما أقصى نسبة فظهرت عند مستخلص P2 بنسبة 62.2 %. ومنه نستنتج أن مستخلص P1 له أحسن كفاءة في حماية كريات الدم الحمراء مقارنة بباقي المستخلصات. وعموما تعتبر هذه الفعالية ضعيفة مقارنة بتأثير AA الذي أبدى أقل نسبة انحلال والمقدرة بـ 17.09 % عند نفس التركيز.



الوثيقة (17): نسبة انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات الفلافونويدية المدروسة لنبات المرخ *G. saharae* وحمض الأسكوربيك عند التركيز 1 mg/ml.

3.3. اختبار النشاطية المضادة للالتهاب

تم تقدير النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات الفلافونويدية لنبات *G. saharaea*، باستخدام المنحنى المعياري للمركب المرجعي Diclofenac (في فصل الوسائل و الطرق ص27).



الوثيقة (18): نتائج النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ خلال مراحل نموه المختلفة *G. saharae*

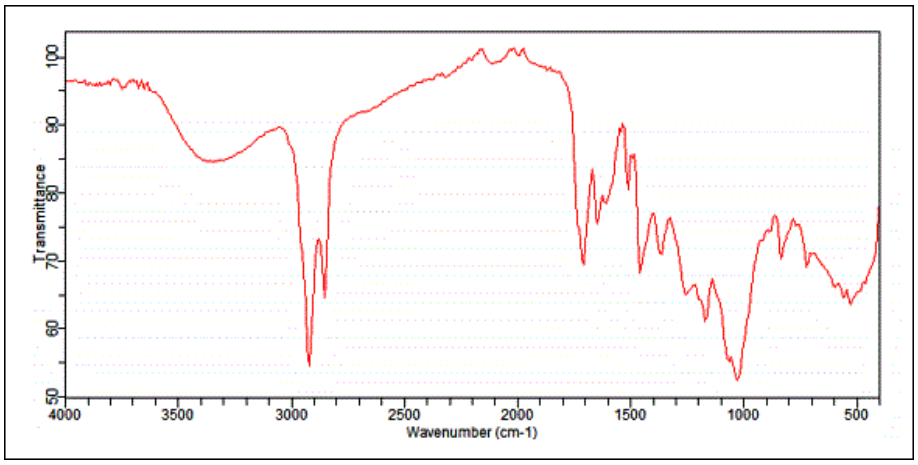
(α=0.001:***)، (α=0.01:**)، (α=0.05:*).

من خلال نتائج الوثيقة (18) أعلاه نلاحظ وجود تباين طفيف في كفاءة مستخلصات مختلف مراحل نمو النبات المضادة للفعل الالتهابي - ومن خلال التحليل الإحصائي تبين وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة (α=0.001)؛ حيث قدرت أعلى قدرة تثبيطية في المرحلة الزهريةEx mg E Dic/mg 0.81±5.63، تليها P1 بقيمة Ex mg E Dic/mg 0.81±4.15، أما عند كل من P3 وP4 فكانت القدرة تثبيطية متقاربة إذ قدرة بـEx mg E Dic/mg 0.32±3.45 وEx mg E Dic/mg 0.58±3.96 على التوالي. وبمقارنة كفاءة هذه المستخلصات بالمركب المرجعي Diclofenac يمكن الحكم على بأن نشاطيتها المضادة للالتهاب قوية أو معتبرة جدا.

4.التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريي FTIR

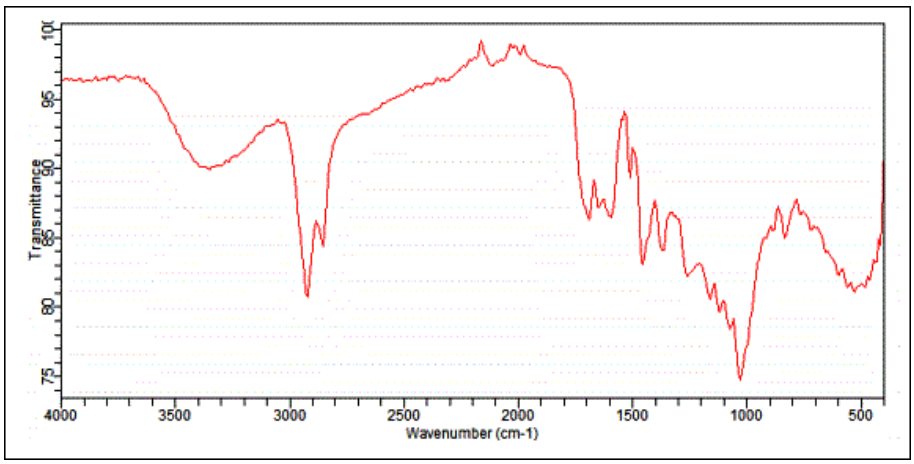
تم إجراء هذا التحليل الطيفي بهدف تحديد المجموعات الوظيفية في المركبات الكيميائية للمستخلصات الفلافونويدية المدروسة لنبات *G. saharae*، حيث تبدو هذه المجموعات من خلال قمم الذروة في منحنيات أطياف الأشعة تحت الحمراء والتي سجلت مابين طول موجي ($400\text{-}4000cm^{-1}$). وقد تم دراسة هذه الأطياف تبعا للمبدأ المتبع من طرف كل من عمران، (2016) و SAMPLETRE et *al.* (2009).

أطياف الأشعة تحت الحمراء للمستخلصات الفلافونويدية لنبات *G. saharae* عند مختلف مراحل نموه الفزيولوجية موضحة في الوثائق (19 - 22).

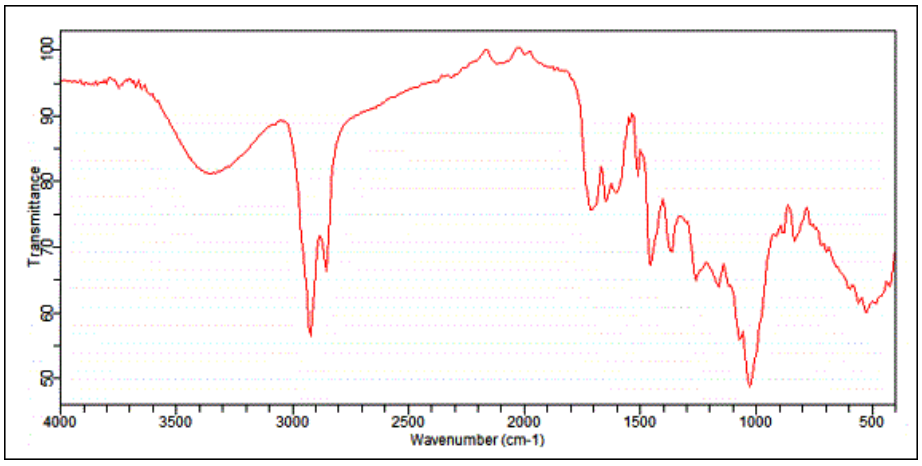


الوثيقة (19): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الخضرية الأولى.

الوثيقة (20): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الزهرية.



الوثيقة (21): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الثمرية.



الوثيقة (22): طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الفلافونويدي للمرحلة الخضرية الثانية.

لتبسيط قراءة الأطياف ومتابعة التغيرات الحاصلة في حزم هذه الأطياف يمكن تقسيم الطيف إلى منطقتين: المنطقة الأولى الأطياف فوق 1600 cm^{-1}؛ تضم عادة عدد قليل نسبيا من القمم، بينت في هذه الدراسة وجود حزمة امتصاص عريضة تراوحت أطوالها بين3100-3700 cm^{-1}، حيث يدل هذا التمدد على وجود رابطة O-H. كما أظهر الطيف حزمتي امتصاص قويتين؛ متفاوتتين في الشدة عن طول موجة يتراوح بين2800 cm^{-1} و3000 cm^{-1} اللذان توافقا مجموعة C-H. في حين يمثل الامتداد الطيفي الملاحظ عند طول الموجة 1700-1750 cm^{-1} المجموعة الوظيفية C=O.

في المقابل؛ المنطقة الثانية الأطياف الأقل من 1600 cm^{-1}، والتي تحتوي عادة العديد من القمم ذات كثافة مختلفة، والعديد منها لا يمكن تحديده بسهولة، حيث يمثل الانثناء المسجل في المنطقة 1200-1600 cm^{-1} الحلقات العطرية aromatic ring المتواجدة في المستخلصات المدروسة؛ أما المنطقة المحصورة 600-1300 cm^{-1} فهي منطقة معقدة للغاية تعرف باسم "منطقة البصمة"، في حين يوافق الامتصاص الملاحظ عند المجال الطيفي 700-900 cm^{-1} وجود المجموعة الوظيفية C-H. ومن خلال المنحنيات الطيفية المتحصل نشير إلى أن مستخلصات كل مراحل النمو الفيزيولوجية لنبات المرخ *G. saharae* متشابهة تقريبا، حيث بدت بعض الاختلافات البسيطة فقط في شدة النفاذية وفي منطقة البصمة.

5. التحليل الإحصائي

أظهر التحليل الإحصائي أن لمرحلة النمو تأثير معنوي(α=0.001)،(α=0.01)،(α=0.05) عند كل الخصائص المدروسة باستثناء اختبار النشاطية المضادة للانحلال الذي لم يبدي أية فروقات معنوية(α=0.05).

1.5. تحديد العلاقة بين المحتويات الكيميائية لنبات المرخ *G. saharae*

تم تحديد العلاقة بين المحتويات الكيميائية بحساب معامل الارتباط مع مختلف الاختبارات المنجزة، حيث قدرت قيمة العلاقة حسب السلم المعتمد (انظر الملحق رقم)؛ وكانت النتائج كما هو موضح في الجدول الموالي:

الجدول (05): العلاقة بين المحتويات الكيميائية

anti-infl test	hemoly test	DPPH test	Y %	lipid	carbohydrate	protein	
/	/	/	/	/	/	1	protein
/	/	/	/	/	1	0.627	carbohydrate
/	/	/	/	1	0.685	0.883	lipid
/	/	/	1	-0.405	-0.606	0.001	Y %
/	/	1	-0.259	0.438	-0.234	0.122	DPPH test
/	1	-0.376	0.708	-0.929	-0.812	-0.696	hemoly test
1	0.071	-0.829	0.394	0.027	0.428	0.428	anti-infl test

من خلال الجدول أعلاه نلاحظ أن:

* علاقة ارتباط طردية قوية بين البروتين والدهون.
* علاقة ارتباط قوية بين انحلال كريات الدم الحمراء وكمية الدهون، كمية الكربوهيدرات، ونسبة المردود.
* النشاطية المضادة للالتهاب لها علاقة ارتباط عكسية قوية مع النشاطية المضادة للأكسدة.

II. المناقشة

1. القيمة الغذائية

تؤدي مركبات الأيض الأولي (الكربوهيدرات، البروتينات والدهون) دورا هاما في نمو وتطور الكائنات الحية بصفة عامة، وفي النبات – بصفة خاصة - تتأثر باختلاف حالته الفيسيولوجية خلال مراحل النمو.

كشفت دراسة العلاقة بين اختلاف مراحل النمو الفسيولوجية لنبات المرخ والمحتوى الكمي لنواتج الأيض الأولي عن وجود تباين معنوي ($p>0.001$)، وهذا ما يتوافق مع دراسة MEDJEKAL وآخرون (2015)؛ التي أثبتت تأثير موسم النمو على القيمة الغذائية لنبات المرخ. في حين أشار AMMAR وآخرون (2004) إلى أن المحتوى الكمي للبروتين في شجيرات العائلة البقولية أقل تأثرا بموسم النمو مقارنة بأنواع نباتية أخرى.

1.1. الكربوهيدرات

تعتبر الكربوهيدرات الناتج الرئيسي لعملية البناء الضوئي وتؤدي دورا مهما في حياة النباتات (بسام طه،2001)، لأنها تدخل في تكوين المركبات الخلوية وتزود النبات بالطاقة اللازمة للنمو، كما تؤدي أثرا مهما في حمايته من الإصابات المرضية (HARBORN, 1973).

إن الانخفاض التدريجي لمحتوى الكربوهيدرات مع تقدم عمر النبات قد يرجع إلى عدة عوامل كمرحلة النضج، الاجزاء النباتية المستعملة، والمرحلة الفيزيولوجية.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المرحلة الخضرية الأولى أبدت أعلى قيمة كربوهيدرات، وذلك قد يكون راجع إلى زيادة الأفرع الفتية خلال هذه الفترة (NAHED & AHMED, 2004)، فهي ذات أهمية بالغة في عملية تكوين الأفرع الجديدة، حيث أنها ضرورية لتكوين وحدات بنائية جديدة كأشباه السيليلوز والبكتين؛ اللذان يدخلان في تكوين الهيكل الخلوي (بسام طه، 2001)، كما تتحد السكريات مع البروتينات لتشكل الغليكوبروتين والذي يعمل على ثبات الغشاء الخلوي ويلعب دور كإنزيمات، مستضدات، مستقبلات للهرمونات وقنوات تمر من خلالها المواد الذائبة بالماء (TAN & WANG., 2017)، وهذه العلاقة تفسر الارتباط المتوسط ($R=0.627$) بين الكربوهيدرات والبروتينات .

في حين ترجع العلاقة العكسية المتوسطة ($R=-0.606$) بين الكربوهيدرات ونسبة المردود للعلاقة البنائية؛ فمن المعروف أن مسار تصنيع بعض أنواع الفلافونويدات يبدأ بالغلوكوز وذلك عن طريق حمض الشكميك (عاشوري،2004)، كما تعتبر مواد طاقوية؛ وينخفض هذا المحتوى مع تقدم النبات في دورة حياته، وذلك لاستغلالها في العمليات الحيوية لبناء المكونات العضوية إذ تعد مصدر للكربون توفر الاحتياجات العضوية الهائلة المطلوبة للنمو والاستمرار (بن حميدة، 2014).

ومن الملفت للانتباه الانخفاض الكبير في قيمة الكربوهيدرات في المرحلة الخضرية الثانية P4 الذي قد يعزى إلى انخفاض نسبة الأوراق والسيقان الفتية وتحولها إلى فروع متخشبة منخفضة النشاط الحيوي والمحتوى الكيميائي (AMMAR et *al*., 2004)، أو قد يرجع هذا الانخفاض إلى انتقالها من الجزء الهوائي إلى الجذور؛ وذلك إما بهدف المحافظة على الماء داخل خلاياه في ظروف الإجهاد المائي، حيث تعمل على تعديل الضغط الأسموزي، أو العمل على تعزيز نمو البكتيريا التكافلية في العقد الجذرية، والتي من الضروري أن تستخدم الكربوهيدرات كمصدر للطاقة (عمر أبو القاسم، 2013؛ NAHED &AHMED, 2004). وفسرت أبحاث أخرى أنه قد يعود ذلك إلى عوامل الإجهاد البيئي في ظل ظروف الحرارة المرتفعة، حيث يعمل النبات على غلق الثغور؛ مما يؤدي توقف المبادلات الغازية للنبات وبالتالي تراجع نشاطه الحيوي (بسام طه، 2001).

2.1. البروتين

إن البروتين الخام ينظر إليه عموما كمؤشر على القيمة الغذائية للنباتات الصحراوية كغذاء للحيوانات المجترة (NAHED & AHMED, 2004)، وتعتبر العائلة البقولية ذات قيمة غذائية عالية لاحتوائها على البروتينات وغيرها من المواد الغذائية (عمر أبو القاسم، 2013).

أبدت النتائج المتوصل إليها وجود محتوى عالي من البروتين في نبات المرخ؛ وهذا يمكن أن يعود لطبيعة النبات لكونه من النباتات الرعوية، إلا أن هذا المحتوى غير ثابت طيلة دورة حياة النبات البيولوجية؛ حيث يمكن أن يعزى هذا الاختلاف لعدة أسباب أهمها التغيرات المناخية وموسم قطف النبات والمرحلة الفيزيولوجية (حسين وآخرون.، 2008). إذ أثبتت العديد من الأبحاث أن المرحلة الفيزيولوجية لها تأثير على المحتوى الكمي للبروتين (NAHED & AHMED, 2004). وأكدت الدراسة التي قام بها MEDJEKAL وآخرون (2015)؛ أن موسم القطف له تأثير على نسبة البروتين، والذي توصل فيها إلى أن أعلى محتوى بروتيني كان في موسمي الشتاء والربيع؛ أي في بداية دورة الحياة الفيسيولوجية للنبات، وهذا يتوافق مع ما توصلنا إليه؛ حيث أظهرت النتائج تفوق المرحلة الخضرية الأولى والمرحلة الزهرية بأعلى محتوى كمي للبروتين، وهذا قد يكون بسبب انتقال النبات من مرحلة السكون إلى مرحلة النشاط مصحوبة بارتفاع معدل البناء الضوئي وزيادة امتصاص العناصر الغذائية من التربة. أما القيمة المسجلة في المرحلة الزهرية يرجح أن تكون بسبب زيادة معدل الأيض في الخلية خلال هذه المرحلة، فمن المعروف أن هذه المرحلة تتميز بزيادة معدل النشاط الحيوي للجينات والأنزيمات المتدخلة في عملية الأزهار (ZHANG et *al*., 2009; CHEYNIER et *al*., 2013)، أو قد يعود إلى الميزة التي تتصف بها نباتات العائلة البقولية والمتمثلة في أن معدل إنتاج البروتينات عند هذه النباتات يصل أقصاه أثناء مرحلة الإزهار. أما فيما يخص القيمة المعتبرة المسجلة في المرحلة الثمرية هي الكمية المخزنة في الثمار والتي تتمثل في غذاء الجنين والأنزيمات المنشطة للإنبات (بسام طه، 2001). بينما قد يعود سبب التناقص

الملحوظ في المرحلة الخضرية الثانية إلى تراجع النشاط الحيوي للنبات بعد إنتاج الثمار، أو قد يكون إستجابة لشيخوخة الأنسجة، خاصة عندما يقتصر نقل العناصر الغذائية إلى الأنسجة المعمرة (AMMAR et *al*., 2004)؛ إضافة إلى تحول أجزاءه الفتية إلى أجزاء ناضجة يصعب تحرير محتواها بفعل جدران الخلايا المحتوية على اللجنين (AMMAR et *al*., 2004)، وقد يرجع عموما اختلاف محتوى البروتين إلى العوامل الوراثية والظروف البيئية والخصائص الترابية (حسين وآخرون.، 2008).

3.1. الدهون

تعمل الدهون كمواد أولية لبناء مركبات أخرى مثل بعض الفيتامينات، الهرمونات. كما تعمل كمذيب لبعض الفيتامينات (الذائبة في الدهون) وغير الذائبة في الماء والتي تتشابه معها في التركيب (علاوي، 2003).

تبين النتائج أن المركبات الدهنية هي العناصر الأقل وفرة من بين مستقلبات الأيض الأولي في نبات المرخ، كما سُجل في هذه الدراسة تباين طفيف بين قيمها ($P>0.001$) في المراحل P1 وP2 وP3، وهذا قد يعود إلى توفيرها من طرف النبات بغرض تحقيق وظائف فيزيولوجية: بناء أو تجديد أغشية وجدران الخلايا، أو قد تستخدم كمخزون في البذور، قد ترتبط الدهون مع السكريات لتكون الغليكولبيدات والتي تلعب دور مستقبلات غشائية (بسام طه، 2001) وهذا ما يفسر العلاقة المتوسطة ($R=0.685$) بين الدهون والكربوهيدرات، كما أن العلاقة القوية بين الدهون والبروتينات ($R=0.883$) قد ترجع للأهمية البالغة لهذه المعقدات كونها تقوم بوظائف بنائية وحيوية خاصة على مستوي الغشاء الخلوي.

ومن المثير للاهتمام التراجع الكبير لهذا المحتوى خلال المرحلة P4، حيث يمكن أن يفسر بإعادة تدوير الدهون خلال مرحلة الشيخوخة الطبيعية التي يتم خلالها انخفاض النشاط الأيضي؛ وبالتالي أكسدة هذه الجزيئات (YANG et OHLROGGE, 2009). أما CHEHMMA (2005) فقد ذهب في تفسيرها إلى أن هذه الظاهرة ما هي إلا آلية تكيف تعتمدها النباتات المعمرة في ظل ظروف الإجهاد البيئي الذي يتعرض له النبات خلال هذه الفترة، حيث يعمل النبات على تقليص النموات الخضرية وتدعيم النمو الجذري، ودخول في الحياة البطيئة من أجل المحافظة على البقاء ودخول في دورة خضرية جديدة بعد الخروج من الإجهاد المعرض له.

2. الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في عينات لنبات المرخ *G. saharae*

تبين من النتائج المتحصل عليها أن نبات المرخ *G. saharae* قادر على تخليق بعض مركبات الأيض الثانوي كالفلافونويدات، السكريات المرجعة، القلويدات، الصبونوزيدات، الستيرولات، التربينات الثلاثية، والتانينات؛ في حين أظهرت غياب الأنثوسيانينات، حيث توافقت هذه النتائج مع ما توصل إليه GUETTAF وآخرون (2016) في تجربتهم المعتمدة على المستخلص المائي لنفس النبات.

إن احتواء النبات على هذه المواد يساعده فيزيولوجيا على النمو والاستمرار كذلك التأقلم والتكيف مع الإجهادات البيئية المحيطة به (NAHED & AHMAD, 2004).

في حين يمكن أن يعزى تنوع المحتوى الكيميائي للنبات الواحد إلى عدة عوامل أهمها: الجزء المستخدم من النبات، مرحلة النمو الفسيولوجية للنبات، العوامل الوراثية، البيئة المحيطة وطبيعة التربة إضافة إلى وقت الجمع (CHOUIKH et *al*., 2015).

ومن ناحية أخرى يمكن أن يرجع ظهور هذه الجزيئات الفعالة في مرحلة عمرية للنبات وغيابها في أخرى إلى: الوظيفة الحيوية التي تؤديها؛ فالنبات ينتجها حسب حاجته وحسب دورها في حياته، أو اختلاف مقر تصنيعها وتخزينها في النبات فهي يمكن أن تتواجد في جزء أو عضو وتغيب في آخر (حجاوي وآخرون، 2004). كما أن ظهور بعض المركبات وغيابها، قد يرجع لطريقة الاستخلاص، أو لنوع الكاشف المستخدم (CHATOUI et *al*., 2016).

- **الفلافونويدات**

أظهر الكشف الكيميائي تواجد الفلافونويويدات في جميع مراحل النمو الفيزيولوجية لنبات المرخ، وهذا الأمر كان متوقعا؛ وذلك لأنه من المعروف أن نباتات العائلة البقولية غنية بهذه المركبات (BOUHEROUM, 2009)، وكون المرخ من نباتات هذه العائلة فالنتائج المتحصل عليها تتوافق مع ما هو مثبت علميا، ونظرا لأهمية هذه المركبات بالنسبة للنباتات فإن 2% من الكربون المثبت يتم تحويله إلى مركبات فلافونويدية، إذ تعتبر مركبات مخزنة للكربون (HAVSTEEN, 2002).

تعمل الفلافونويدات على حماية النباتات من الأشعة فوق البنفسجيةUV (BRUNETON, 1996)، كما تعمل على تنظيم نمو النبات من خلال تداخلها مع مختلف الهرمونات النباتية (MIDDLETON, 1996)، تعمل كذلك على وقاية النبات من الإصابات الطفيلية أو البكتيرية (VENKANNA and *al*., 2017). إضافة إلى هذا منح اللون الأصفر للأزهار (RANA & GULLIYA, 2019)، وتساعد في تكيف النبات ومقاومة الإجهادات اللاحيوية؛ حيث يشير PINCEMAIL (1986) إلى أن إنتاج الفلافونويدات يزيد من طرف النبات لمقاومة الإجهاد الحراري والمائي المعرض له، لذا من الممكن أن يعود سبب تواجدها في نبات المرخ لهذه الوظائف الفيسيولوجية والحيوية.

- **القلويدات**

إن إحتوى النبات على القلويدات بنسب متفاوتة خلال مراحل النمو قد يعود لاختلاف حاجة النبات إليها عند اختلاف حالته الفيسيولوجية، أو لاختلاف الأعضاء النباتية المصنعة والمخزنة لها(MERIANE, 2018). تلعب القلويدات دورا بيولوجيا وفيسيولوجيا هاما في حياة النبات فهي تعتبر مصدرا للنيتروجين (أبو زيد، 2005)، إضافة إلى هذا فهي تساعد في عملية النمو؛ وذلك من خلال خاصيتها في نقل النتروجين للأعضاء الفتية (NAHED & AHMED, 2004). ومن ناحية أخرى تشير الدراسات إلى أنها

تلعب دورا كمنظمات للنمو عند تواجدها بتراكيز منخفضة (NAHED & AHMED, 2004)، كما أشار CHOUIKH وآخرون (2014) أن لها دور دفاعي للنبات وذلك باعتبارها مواد سامة لها القدرة على وقاية النبات من الإجهادات الحيوية التي يمكن أن يتعرض لها خلال مراحل النمو المختلفة.

- **الصابونوزيدات**

تم الكشف عن وجود الصبونوزيدات وهي عبارة عن مركبات ستيرويدية لها عدة أدوار بيولوجيا خاصة فيما يتعلق ببعض التفاعلات بين الميكروبات والنباتات، والنباتات والحشرات (NAHED & AHMED, 2004)، فبعض الصبونوزيدات تحمي النبات من العدوى الممرضة ومن الافتراس الحشري والبكتيري (BARILE et *al*., 2007).

إن الزيادة الملحوظة في معامل التصبن في المرحلتين الزهرية والثمرية؛ يمكن أن تعود إلى الدور الذي تؤديه هذه المركبات خلال مرحلة التكاثر؛ حيث تعمل على طرد الحشرات ومعيقات التلقيح وذلك من خلال طعمها المر (علاوي، 2003)، أو يمكن أن يرجع لكونها تعطي المذاق للثمار قبل النضج.

- **التانينات**

تشير النتائج المتحصل عليها إلى تباين في نوع التانينات، يعتبر هذا التباين آلية تعرف بها نباتات العائلة البقولية لردع المجترات، فإنتاج التانينات الكاتشيكية يقتصر على فترة الإزهار ومرحلة عقد الثمار للدفاع على الأنسجة التناسلية (FRUTOS, 2004).

تتواجد التانينات عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق والسيقان (منصور، 2006)، تعتبر كمضادات للأكسدة في النبات كونها ضمن مجموعة عديدات الفينول وتحمي النبات من الحشرات والفطريات الضارة وتحافظ على حياته. كما لها خاصية استقطاب الأكسجين لإحتوائها على الفينول؛ وبالتالي لها وظيفة تنفسية لزيادة قدرة النبات للحصول على الأكسجين (VERMERRIS et NICHOLSON, 2008; SEKAR et *al*., 2012).

- **الستيرولات والتربينات**

وجود الستيرولات والتربينات الثلاثية في مرحلة الإزهار يمكن تفسيره بقدرة النبات على إنتاج التربينات في مرحلة الإزهار يكون بسبب زيادة إنتاج وتركيب كميات كبيرة من الهرمونات النباتية؛ وهي واحدة من الهرمونات اللازمة للكشف عن التطور من المرحلة الخضرية إلى مرحلة الإزهار وتكشف الأعضاء التناسلية (CHOUIKH et *al*., 2014). أو قد يرجع لدورها في جذب الملقحات بفضل الروائح الخاصة التي تنبعث منها (LOUIZ et *al*., 2003).

أما غيابها في مرحلة الثمرية يفسر بإمكانية هدمها من طرف النبات خلال هذه المرحلة (CHOUIKH et *al*., 2014).

في حين قد يعود سبب ظهورها من جديد في المرحلة الخضرية الثانية إلى زيادة النشاط الهرموني للنبات وذلك بهدف الاستعداد لدورة حياة جديدة (CHOUIKH et *al*., 2014).

تعد التربينات الثلاثية والسترويلات مهمة لكونها تمتلك فعالية مضادة للحشرات وللميكروبات (DENWICK., 2002).

- **السكريات المرجعة**

تواجد السكريات المرجعة في جميع مراحل النمو الفيزيولوجية لنبات *G. saharae* وخاصة في المرحلة الخضرية الأولى وهذا ما يتوافق مع نتائج تقدير الكربوهيدرات في القيمة الغذائية؛ إذ لوحظ أن أعلى قيمة لها كانت في هذه المرحلة العمرية، وذلك لأنها تستخدم كمصدر لمختلف النشاطات الحيوية في النبات (GUETTAF et *al*., 2016). كما تعتبر مصدر للكربون المستخدم في معظم عملية تكوين المركبات العضوية الأخرى، إضافة لهذا تستخدم كوحدات بنائية وتركيبية للخلايا والأنسجة (ABELES et TAKEDA, 1990).

إن النبات يحتفظ بمثل هذه المركبات والتي يعتمدها كعناصر تخزين احتياطية يمكن استخدامها خلال مختلف مراحل حياته (CHOUIKH et *al*., 2014).

- **الأنثوسيانينات**

تعتبر الأنثوسيانينات صبغات مسؤولة عن إعطاء اللون للنبات (RANA and GULLIYA, 2019) ويفسر غياب الأنثوسيانينات في جميع مراحل النمو لكونها مواد منفرة للحيوانات الرعوية؛ حيث تعطي اللون المحمر للنبات (PINCEMAIL, 1986). لهذا فإن النبات ليس بحاجة النبات إليها كونه نبات رعوي.

3. الدراسة الفيتوكيميائية

1.3. المردود (Y%)

تم الحصول على المستخلصات الفلافونويدية لنبات *G. saharae* لمختلف المراحل النمو الفيزيولوجية من طور خلات الايثيل؛ والذي يعتبر الأكثر استعمالا لاستخلاص الفلافونويدات (Aglycones polyhydroxylés وMonoglycosylés) (BOUKAABACHE, 2015). تم حساب نسبة المردود لكل مستخلص؛ حيث أشارت النتائج لوجود تذبذب طفيف فيما بينها، رغم أنها حُضرت في نفس الشروط المخبرية وباتباع نفس الخطوات التجريبية؛ وعليه يمكن أن يرجح هذا التذبذب إلى:

- المرحلة الفيزيولوجية للنبات (CHOUIKH et *al*, 2018)، حيث تتزايد الفلافونويدات في الجزء الهوائي أثناء عملية تشكل الأعضاء النباتية الجديدة كالأزهار، الأوراق، الثمار والبذور (MICHALAK, 2006).
- تغير طبيعة المركبات الكيميائية (درجة التعقيد وطول سلاسل الكربون) (CHOUIKH et *al*, 2018).
- الظروف المناخية السائدة في بيئة نمو النبات خلال مختلف مراحل نموه (KSOURI, 2008).
- النشاط وحالة النباتات في مختلف المستويات العمرية وقت الدراسة (CHOUIKH et *al*., 2018).

تشير النتائج المقدمة في هذه الدراسة إلى أن أعلى نسبة في المرحلة الزهرية وهذا يتوافق مع نتائج CHOUIKH وآخرون (2018) بالنسبة للمستخلص الميثانولي الخام، وكذلك يتوافق مع نتائج الدراسة المنجزة من طرف MERIANE وزملائها (2014) لمستخلص مختلف أجزاء النبات (الجذور، السيقان، الازهار، والثمار) أثناء مرحلتي الإزهار وعقد الثمار، فتفوق مستخلص الإزهار بأعلى نسبة مردود وأعلى محتوى فلافونويدي.

- زيادة مردود المواد الفعالة (المركبات الفلافونويدية) أثناء الإزهار لها علاقة وثيقة مع الملقحات (CHOUIKH et *al*., 2015). أو قد يرجع للفلافونويدات التي تمنح اللون للأزهار (KETAREN et *al*., 2015).

بينما أظهرت النتائج أن أقل نسبة مردود كانت في المرحلة الخضرية الأولى وهي لا تتوافق مع نتائج الدراسات سالفت الذكر إذا تحصلوا على أقل نسبة مردود في مرحلة الإثمار؛ وقد يفسر هذا الاختلاف بـ:

- الطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في النبات خلال هذه المرحلة(CHOUIA et *al*., 2018). قد تكون أقل ذوبانية في المذيب المستعمل وهذا يرجع لخصائص وطبيعة المذيب من حيث القطبية (SELAIMIA et *al*., 2020).
- فترة القطف والمنطقة الجغرافية (CHOUIA et *al*., 2018).
- طريقة الاستخلاص وظروفها (YEO et *al*., 2014) غالبًا ما تسبب طرق الاستخلاص التقليدية للفلافونويد مشاكل وعدم الكفاءة (WEISHENG et *al*, 2017).

عموما يعتبر مردود النبات ضعيف وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة BOUCHOUKA واخرون (2012)، الذي توصل إلى أن نسبة المردود لمستخلص طور خلات الايثيل ضعيفة مقارنة بالمستخلص المائي لنفس النبات أثناء مرحلة الإزهار.

2.3. تقدير النشاطية المضادة للأكسدة

أ. اختبار الجذر الحر الـ $DPPH^{\bullet}$

يعتبر تقدير النشاطية المضادة للأكسدة مهم جدا، وذلك بسبب الأضرار الناجمة عن الجذور الحرة ROS (KHERRAZ et *al*., 2019) التي تتشكل في الجسم بشكل طبيعي أو عن طريق مؤثرات خارجية. تصبح هذه الجذور خطيرة عندما يفقد الجسم التوازن بين مضادات الأكسدة والمؤكسدات التي تسبب عدة أمراض (RÉ, 2005)، لذا فإن الدراسات مستمرة في البحث عن مصادر مضادات الأكسدة الطبيعية الأكثر أمانا من الكيماويات.

تشير النتائج المتحصل عليها إلى أن نشاط مسح الجذر الحر للمستخلصات المدروسة ضعيفة مقارنة بحمض الأسكوربيكAA المركب المرجعي في هذه الدراسة، وهذا ما يتوافق مع نتائج BOUCHOUKA

وآخرون (2012) وGUETTAF وزملائه (2016). ويمكن تفسير ذلك بأن كمية قليلة من الفلافونويدات في هذه المستخلصات التي يمكن أن تحتوي على مجموعات مرجعة للجذر الحر؛ حيث تشير الدراسات إلى أن النشاط الجيد لمضادات الأكسدة يرجع لوجود العديد من مجموعات الهيدروكسيل OH التي يمكن أن تتفاعل مع الجذر الحر (CHOUIKH et *al*., 2018).

وتشير النتائج أيضا إلى أن مستخلص المرحلة الثمرية يتميز بأفضل نشاطية مضادة للـ $DPPH^{\bullet}$. وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه BOUCHOUKA وآخرون (2012) في دراسة للمستخلص الميثانولي الخام لنفس النبات، وقد يرجع ذلك إلى:

★ تخزين بعض هذه المواد الفعالة كاحتياط يتم تجميعها في الثمار (CHOUIKH et *al*., 2015).

★ نوع المركبات المتشكلة في هذه المرحلة تمتلك قدرة إرجاع أفضل، حيث بين العديد من الباحثين أن النشاطية الإزاحية للجذور الحرة لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية للمركبات الفلافونويدية (WILLIAMS, 1995).

وأقلها عند المرحلة الزهرية وهذا لا يتوافق مع نتائج كل من CHOUIKH وآخرون (2018)، وMERIANA وآخرون (2014)؛ حيث قد يرجع هذا الاختلاف لنوع المذيب وكفاءته في استخلاص المركبات الفعالة (جيدل،2015)؛ إما من ناحية تركيزها في المستخلص أو من ناحية نوع بنيتها الكيميائية التي من شأنها أن تأهل هذه المواد لإرجاع $DPPH^{\bullet}$ كاحتوائها على مجاميع هيدروكسيل أو الروابط المزدوجة بين ذرتي الكربون C_2=C_3، إضافة إلى وجود مجموعات 4-OX غير متجانسة (CHOUIKH et *al*., 2018).

أظهرت المستخلصات الفلافونويدية المدروسة ان لها قدرة على تعديل الجذر الحر DPPH بقيم متفاوتة ($P>0.001$)، حيث حدد ذلك من خلال قيمة IC_{50}. رغم النشاط الضعيف للمستخلصات النباتية إلا أنه يفضل استعماله بدلا من المركبات الكيميائية، لاحتوائها على الفلافنويدات التي لها العديد من التأثير العلاجي والتي تكمن في كونها مضادات اكسدة ونذكر منها: البكتيريا والميكروبات والفطريات، مزيلة للأكسدة والسموم والتشنجات، مثبطة للأنزيمات والأورام، مخفضة لارتفاع ضغط الدم ومستوى السكري في الدم، مضادة للقرحة (MILLS & BONE, 2013; RANA & GULLIYA, 2019).

ب. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hemolyse

تستهدف كريات الدم الحمراء بشكل رئيسي من طرف للجذور الحرةROS؛ وذلك بسبب احتوائها على تراكيز عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة (مثل: حمض اللينوليك وحمض الاركيدونيك) المسؤولة عن نقل الأكسجين لجزيئات الهيموغلوبين (CHOUIKH et *al*., 2018; CHAKRABORTY & SHAH, 2011)، لذا فإن الحصول على مضادات الأكسدة الخارجية (عبر الغذاء) ضروري بغض النظر عن قدرة العضوية على تخليق هذه المركبات ذاتيا (KHALILI et *al*., 2014).

ومن هذا المنطلق تم تقييم قدرة المستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ خلال مراحل نموه الفيزيولوجية في حماية كرات الدم الحمراء ضد الضرر التأكسدي الناتج جراء تعريضها لعاملين مؤكسدين هما: $FeCl_3$ وH_2O_2 وهما جذران يهاجما كريات الدم الحمراء للحث على سلسلة من تفاعلات أكسدة الدهون والبروتينات (SUPRIYA et *al*., 2013)، وتخريب الغشاء مما يؤدي في النهاية إلى انحلال كريات الدم الحمراء وتحرير الهيموغلوبين (ABIRAMI, 2014). وعليه يمكن تفسير قدرة حماية كريات الدم المسجلة عند المستخلصات النباتية المدروسة بالفرضيتين التاليتين:

- إما تتفاعل الفلافونويدات المتواجدة في المستخلصات مع الجذر الحرة وتبطل مفعولها (SEYED et *al*., 2013).
- أو تتفاعل فلافونويدات المستخلصات مع مكونات غشاء الخلايا (الدهون، البروتين) وتحميها (CHAUDHURI et *al*., 2007).

حيث أبدت جميع المستخلصات قدرة على حماية كريات الدم الحمراء؛ فكلما زاد تركيز المستخلص زادت حماية كريات الدم الحمراء ونقص الانحلال، إذا يمكن تخمين هذا لاحتوى المستخلصات على مركبات فلافونويدية لها القدرة الإرجاعية واستقرار المؤكسدات، وذلك من خلال قدرتها على منح الإلكترونات أو البروتونات المعدلة لها (NABAVI et *al*., 2006). أو قد يعزى إلى التفاعل المحتمل بين الفلافونويدات ومكونات الغشاء (الدهون والبروتينات) التي يتم استهدافها بشكل عام بواسطة بيروكسيد الدهون (KHALILI et *al*., 2014)، وهذا ما يفسر العلاقة العكسية القوية (R=-0.696) بين الدهون ونسبة التحلل، والعلاقة المتوسطة (R=-0.696) بين البروتينات ونسبة التحلل؛ فكلما زادت نسبة الدهون والبروتينات المتفاعلة مع الفلافونويدات تتناقص نسبة التحلل.

تشير الأبحاث والدراسة إلى أن لنوع الفلافونويدات المتواجدة في المستخلص دور كبير في فعاليته، حيث كلما زادت الفلافونويدات الأقل قطبية - أي محبة للذوبان في الدهون - كلما زادت سهولة عبوره للطبقة الفوسفوليبيدية للغشاء؛ وبالتالي زيادة قدرته في الحماية من الجذور الحرة والمؤكسدات (جديل، 2015).

من ناحية الفعالية تعتبر قدرة المستخلصات المدروسة ضعيفة نوعا ما ضد انحلال كريات الدم؛ حيث تقاربت قيمها احصائيا (P>0.05)، فيما عدا حمض الأسكوربيك المعتمد كمركب مرجعي في هذه الدراسة؛ والذي تفوق على جميع المستخلصات بأدنى قدرة انحلال وأقصى حماية، وعليه يمكن تخمين هذا إلى:

نوع المركبات المتواجدة في هذه المستخلصات التي يمكن أن تكون أقل تفاعلا وتكافؤا مع الجذور الحرة، حيث من المحتمل أن يعود ذلك إلى التركيب الكيميائي لها؛ الذي قد يكون ذو قدرة ضعيفة على فقد الالكترونات والبروتونات (NABAVI et *al*., 2006). أو قد يعود إلى قلة تركيز الفلافونويدات السكرية في هذه المستخلصات؛ حيث أثبت DYT واخرون (2006) أن الفلافونويدات السكرية لديها قدرة كبيرة في

التفاعل مع المركبات الغشائية وحمايتها من الأكسدة، وهذا ما يفسر العلاقة العكسية القوية بين الكربوهيدرات ونسبة التحلل (R=-0.812)، أما MELZIG (2001) فقد فسرت هذه العلاقة بالتفاعل الحادث بين الفلافونويدات والكربوهيدرات الغشائية المشحونة سلبا؛ حيث تعمل الشحنة السالبة على زيادة التفاعل مع الفلافونويدات، كما إن تفاعل بعض المركبات الكيميائية مع الستيرولات، البروتينات والفسفولبيدات قد يؤدي إلى تغيير نفاذية الغشاء البلازمي العامل الذي يساعد على زيادة تحلل كريات الدم (جرموني.،2014)، وهذا ما يفسر العلاقة الطردية القوية (R=0,708) بين نسبة المردود والنسبة التحلل.

ومن ناحية أخرى؛ إن النتائج المتحصل عليها لا تتوافق مع ما توصل إليه CHOUIKH وزملائه (2018) في دراستهم على المستخلصات الخامة لنفس النوع النباتي، التي أظهرت أن للمستخلص الفينولي الخام قدرة حماية معتبرة تجاه انحلال كريات الدم الحمراء، وعليه يمكن أن يعزى هذا الاختلاف إلى طبيعة المركبات؛ حيث أن المستخلص الخام يحتوي على الفينولات والعفصيات ... التي يمكن أن تكون هي من أعطت هذه الحماية من خلال قدرتها على منح الإلكترونات لـ H_2O_2 وارجاعه إلى الماء (EBRAHIMZADEH et *al.*, 2010). أو قد يرجع لغنى المستخلص بالمركبات التي تحتوي على جذور سكرية والتي لها القدرة العالية للاندماج مع الغشاء وحمايته (DYT et *al.*, 2006)، والتي كانت غائبة في المستخلص الفلافونويدي المدروس وهذا ما اثبتته نتائج التحليل الطيفي FTIR والتي سجلنا خلالها غياب روابط الوظائف الألدهيدية.

3.3. اختبار النشاطية المضادة للالتهاب

تشوه البروتين هي ظاهرة يفقد فيها البروتين بنيته الثانوية أو الثلاثية (GONZAL et *al.*, 2019)، نتيجة تعرضه لعدة عوامل كالحرارة، العوامل مؤكسدة أو مواد كيميائية (ADARSH et *al.*, 2011). تفقد البروتينات وظيفتها البيولوجية عندما تتشوه فيؤدي ذلك للعديد من الأمراض الالتهابية (DHARA & SHARAV, 2016). بغية التحقق في هذه الآلية، تم تقييم قدرة مستخلصات نبات *G. saharae* في مراحله الفزيولوجية المختلفة على منع تمسخ البروتين مخبريا؛ حيث أسفرت النتائج على أن للمستخلصات الفلافونويدية المدروسة قدرة متفاوت (P>0.001) في تثبيط تمسخ الألبومين البشري الناجم عن الحرارة، وهذا ما يؤكد نشاطها المضاد للالتهابات؛ إذ يمكن أن يكون هذا النشاط بسبب تفاعل الفلافونويدات مع الألبومين (DUFOUR et *al.*, 2007)، وهذا ما يثبت المغزى من استخدام النبات في الطب التقليدي (BOUCHOUKA et *al.*, 2012)، بحيث تمارس الفلافونويدات آثار الأدوية بفضل قدرتها على الارتباط ببروتينات البلازما (DUFOUR et *al.*, 2007).

عموما تعتبر النشاطية المضادة للالتهاب للمستخلصات المدروسة جيدة، وذلك حسبWILLIAMS وآخرون (2008) الذي أقرّ أن المركبات التي تمنع تمسخ البروتين بنسبة تزيد عن 20٪ وتعتبر ذات خصائص مضادة للالتهابات، وقد ترجع هذه الفعالية لاحتواء الفلافونويدات على العديد من مجاميع

الهيدروكسيل OH التي تعمل على تكوين اواصر هيدروجينية مع البروتينات وتمنع تشويهها (غزوان ونوري، 2008).

تميزت المرحلة الزهرية بأعلى قدرة تثبيط وقد يرجع ذلك لوجود تراكيز مرتفعة من الفلافونويدات غير السكرية التي أثبت أن لها قدرة مضادة للالتهاب معتبرة؛ أو قد يرجع لطبيعة المركبات الفلافونويدية في هذا المستخلص والتي لها القدرة في التفاعل مع بروتين (الألبومين) (DUFOUR et *al*., 2007). هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه GUETTAF (2016)، أن المستخلص المائي لـ *G. saharae* له قدرة معتبرة على تثبيط تخريب البروتينات.

إن العلاقة القوية (R=-0.829) بين اختبار النشاطية المضادة للالتهاب والنشاطية المضادة للأكسدة قد ترجع لكون نفس المركبات تتدخل في التأثير المضاد للالتهاب والمضاد للأكسدة على غرار جذر DPPH، وذلك لأن بعض الأمراض الالتهابية تنجم عن الجذور الحرة أصلا (GONZAL et *al*., 2019).

4. التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريي FTIR

يتم استخدام طيف الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريي (FTIR) بشكل رئيسي لتحديد أنواع المجموعات الوظيفية، مثل كربونيل، الفينول، هيدروكسل، الجليكوزيل والمثوكسيل للمركبات العضوية (WEISHENG et *al*., 2017).

تم في هذه الدراسة تسجيل أطياف متشابهة باستخدام هذه التقنية للمستخلصات الفلافونويدية؛ حيث يمكن أن يرجع ذلك لتماثل نوع روابط المجموعات الوظيفية.

انطلاقا من نتائج FTIR تبين أن مركبات المستخلصات الفلافونويدية المدروسة تحتوي على مجاميع OH، وتتميز بغياب روابط الوظائف الألدهيدية والميثوكسيلية؛ وعليه بناء على ما توصلنا إليه؛ وبالاعتماد على الدراسات السابقة لتحليل النوعي للمركبات المستخلصة من نبات *G. saharae* يمكن الحكم على أن طبيعة المركبات المستخلصة في هذه الدراسة عبارة عن فلافونويدات غير سكرية عديدة الهسيدروكسيل؛ قد تنتمي لأحد الأقسام التالية: الفلافونول، فلافانون، ايزوفلافون (عاشوري، 2012؛ MERIANE et *al*., 2014؛ BAREK et *al*., 2019).

إن إحتواء هذه المركبات على مجاميع OH والحلقة الفينولية، تجعلها ذات أهمية بالغة من الناحية البيولوجية حيث تعمل على تثبيط الجذور الحرة (SIM et *al*., 2007)، كما يمكن أن تُلعب دور مهم كمضادات للالتهاب، البكتيريا والفيروسات (غزوان ونوري، 2008)؛ وضد السرطانات (PIETTA., 2000).

الخاتمة

خـاتمة

تشكل النباتات الصحراوية خزانا من الجزيئات الحيوية الطبيعية الآمنة والفعالة التي يمكن أن تكون مفيدة، وفي سبيل المساهمة في تثمين المنتجات الطبيعية والكشف عن تأثيراتها البيولوجية، قمنا بالدراسة الفيتوكيميائية والنشاطية البيولوجيا للمستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ *G. saharae* النامي بمنطقة واد سوف خلال مراحل النمو الفيزيولوجية المختلفة.

تم في هذه الدراسة إستعمال الجزء الهوائي من النبات خلال مختلف مراحل نموه الفيزيولوجية (الخضرية الأولى، الزهرية، الثمرية والخضرية الثانية)، حيث قمنا بتقدير القيمة الغذائية للنبات من خلال تقدير المحتوى الكمي للبروتين، الكربوهيدرات واللبيدات، إذ ظهر أثر ذلك خلال المراحل الفيزيولوجية من عمر النبات؛ حيث أبدت النتائج احتواءه على كمية معتبرة من الكربوهيدرات في المرحلة الخضرية الأولى (24.41 mg/gMS). في حين سُجلت أعلى قيمة لمحتوى البروتين في المرحلة الزهرية (12.10 mg/gMS)، أما المرحلة الثمرية فتفوقت بأعلى كمية من الدهون (0.97 mg/gMS). كما قمنا بالمسح الفيتوكيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوي، الذي أسفر على وجود الفلافونويدات، السكريات المرجعة، القلويدات، والصابونوزيدات، إضافة لهذا أظهر الكشف الكيميائي تبدل في نوع التانينات من غاليكية في المرحلتين الخضريتين الأولى والثانية إلى تانينات كاتشيكية في المرحلتين الزهرية والثمرية؛ كما تباينت التربينات الثلاثية والستيرولات حيث غابت في مراحل وظهرت في مراحل أخرى.

وكخطوة ثانية تم استخلاص الفلافونويدات بواسطة المذيب العضوي خلات الأسيتات؛ ثم قُدرت نسبة المردود للمستخلصات؛ والذي أبدى تفوق المرحلة الزهرية بأعلى مردود (1.404 %)، كما قمنا بتقدير النشاطية المضادة للأكسدة وفق إختبارين:

- اختبار الجذر الحر DPPH الذي أظهرت قيم الـ IC_{50} المتحصل عليها تفوق المرحلة الزهرية بقيمة قدرت بـ (0.138 mg/ml).
- واختبارHémolyse الذي أسفرت نتائجهعلى وجود تقارب في نسب التأثير التثبيطي للانحلال عند جميع المستخلصات المدروسة.

أما عن النشاطية المضادة للالتهاب فأبدت المستخلصات القدرة على حماية البروتين؛ وأظهرت تفوق المرحلة الزهرية بأفضل قدرة تثبيط قدرت بـ (5.63mg E Dic/mgEx)

وبغية تحديد المجموعات الوظيفية للمستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ *G. saharae* تم إجراء التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت عند طول موجي ($400\text{-}4000 cm^{-1}$)، والذي أظهر احتواء المركبات الكيميائية للمستخلصات عموما على: رابطة C-H وO-H أليفاتية وألكالية ورابطة مزدوجة C=O؛ إضافة إلى الحلقة العطرية.

الخاتمة

وبعد تحليل النتائج المتحصل عليها يمكن أن نستنتجأن للحالة الفيسيولوجية أثر على المحتوى الكمي والنوعي لنواتج الأيض الأولي والثانوي؛ كما أن أفضل الفترات والحالات الفيزيولوجية لقطف النبات تمثلت في المرحلتين الخضرية الأولى والزهرية؛ إضافة إلى كون النبات ذو قيمة غذائية علفية إذ يمكن أن يستخدم لرعي الحيوانات، كما يمتلك عدة فوائد طبية بما فيها كمضادات للأكسدة ومضاد للالتهاب، حيث أن فعالية هذا النبات تكمن فيما يحويه من عناصر فعالة خاصة المركبات الفلافونويدية.

وختاما وكتوصيات مستقبلية نوصي بـ:

- تسليط الضوء على أهمية الغطاء النباتي الصحراوي لحمايته وتعزيزه بشكل أفضل.
- نشر بذور هذه النباتات في المراعي على أوسع نطاق باعتبارها مصادر علفية جيدة.
- على الباحث مراعاة الحالة الفيزيولوجية أثناء جمعه للنبات لغرض الدراسة المخبرية.
- استعمال النبات في الطب التقليدي بحذر لإحتواءه على القلويدات التي قد تكون ذات سمية.
- عزل وتحديد المواد النشطة بيولوجيا.
- إجراء اختبارات حيوية لتأكيد الأنشطة المخبرية التي لوحظت خلال هذا العمل من أجل تقديم بدائل علاجية أقل تكلفة وأقل سمية.

قائمة المراجع

قائمة المراجع

أولا: المراجع الأجنبية

1. Adarsh, V., Ajay, K., Kavitha, D., And Anurag, B., (2011): Antidenaturation and antioxidant activities of *Annona cherimola in vitro*. Int. J. Pharm. Biol. Sci., (2):1–6.

2. Agrawal, N., Minj, D., And Rani, K., (2015) : Estimation of Total Carbohydrate Present in Dry Fruits. J. of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 1 (2319-2402): 24-27.

3. Albalasmeh, A., Berhe, A., And Ghezzehei, T., (2013): A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. Carbohydrate Polymers, 97: 253-261.

4. Ammar, H., López, S., González, J., And Ranilla, M., (2004): Seasonal variations in the chemical composition and *in vitro* digestibility of some Spanish leguminous shrub species. Animal Feed Science and Technology, 115: 327–340.

5. Ati, S., (2018): Etude Biologique et Phytochimique de Trois Genêts Endémiques en Algérie: «*Genista Numidica* Spach, *Genista Ferox* Poiret Et *Genista Tricuspidata* Desf», Theseen Vue de L'obtention du Diplome de Doctorat en Sciences, Spécialité: Biologie Végétale, Université Badji Mokhtar – Annaba, P: 4-10.

6. Bahi Gnogbo, A., N'guessan, J., And Coulbaly, A., (2014): *In Vitro* Antioxidant Activity of Extracts of The Root *Cochlospermum planchonii* Hook. Fexplanch (Cochlospermaceae). Journal of Pharmacognosy And Phytochemistry, 3(4): 167.

7. Banothu, V., Neelagiri, C., Adepally, U., Lingam, J., And Bommar Eddy, K., (2017): Phytochemical screening and evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant *Albizia odoratissima*, Published online Pharm. Biol., 55(1): 1155–1161. http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/:27-02-2020.

8. Barek, S., Rahmoun, N., Aissaoui, M., El Haci, I., Bensouici, C., And Choukchou-Braham, N., (2019): Phenolic Contents, Antioxidant, and Antibacterial Activities of the Algerian *Genista saharae* Solvent Extracts. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants ISSN: 1049-6475 (Print) 1540-3580 (Online) Journal homepage: https://www.tandfonline.com/loi/whsm20.

9. Barile, E., Bonanomi, G., Antignani, V., Zolfaghari, B., Ebrahim Sajjadi, S., Scala, F., And Lanzotti, V., (2007): Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity. Phytochemistry, 68: 596-603.

10. Beddiaf, S., (2016): Determination of the molecular composition and the quartez concentration in the different granular types of Ouargla dunes sand using spectroscopic

techniques. Thesis doctorate in physics, specialty: spectroscopy of material. University of Kasdi Merbah Ouargla, Algeria, P.1-3.

11. Belfennache, E., (2012): Elaboration et Etude de Nanoparticules Au/TiO_2 et Ag/TiO_2, présenté pour obtenir le Diplôme de Magister en physique, université Mentori, Constantine, 44.

12. Bensafi-Gheraïbia, H., (2015): Evaluation du spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophilame lanogaster*: aspects toxicologique, biochimique et comportemental. Thèse de docteur, Universite Badji-Mokhtar Annaba, p:11-13.

13. Boatwright, J., Tilney, P., And Van Wyk, B., (2009): The generic concept of Lebeckia (Crotalarieae, Fabaceae): Reinstatement of the genus Calobota and the new genus Wiborgiella. South African Journal of Botany, 75: 546–556.

14. Botineau, M., (2010): Botanique Systématique Et Appliquée Des Plantes A Fleurs; Edition Tec & Doc, Laviosier, Paris. P:1403.

15. Bouchouka, E., Abdelouahad, D., And Bekkouche, A., (2012): - Antibacterial Antioxidant Activities of Three Plants from Algerian Sahara. Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment, 11: 61–65.

16. Bouheroum, M., Zaiter, L., Benayache, S., Benayache, F., Bermejo, J., Leon, F., And Garcia, V., (2009): Four flavonoids from the aerial part of *Ononis angustissima* species. Chemistry of Natural Compounds, 45: 6.

17. Boukaabache, R., (2015): Recherche et Détermination des Métabolites Secondaires de Plantes Issues de la Famille des Fabacées. Thèse Doctorat. Université Des Frères Mentouri Constantine, P40.

18. Brang, P., Schönenberger, W., Ott, E., And Gardner, B., (2001): Forests as protection from natural hazards. In: Evans, J. (Ed.). The Forests Handbook. Blackwell Science Ltd., Oxford, 53-81.

19. Bruneton, J., (1999): Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. $3^{ème}$ édition, Technique & Documentation, Paris, p: 393-397.

20. Bruneton, J., (2009): Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{e} ed. P: 1292.

21. Burda, S., Oleszek W., (2001): Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. J. Agric Food Chem., 49: 2774-2779.

22. Chaïch; K., (2018): Diversité des associations Rhizobium-Légumineuses de quelques espèces spontanées du Sahara septentrional. Thème pour l'obtention du diplôme de doctorat sciences, Université Kasdi Merbah Ouargla, P:17.

23. Chakraborty, D., Shah, B., (2011): Antimicrobial, Anti-oxidative And Anti-hemolytic Activity of Piper Betel Leaf Extracts, Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 3:192-199.

24. Chatoui, K., Talbaoui, A., Aneb, M., Bakri, Y., Harhar, H., And Tabyaoui, M., (2016): Phytochemical Screening, Antioxidant and Antibacterial activity of *Lepidium sativum* seeds from Morocco. J. Mater. Environ. Sci., 7 (8): 2938-2946.

25. Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., And Sengupta, P., (2007): Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. International Journal of Biological Macromolecules, 41: 42-48.

26. Chehma, A., (2005): Etude Floristique et Nutritive des Parcours Camelins du Sahara Septentrional Algerien Cas des Régions de Ouargla et Ghardaia. Thèse doctorat, Université de Annaba, P: 11.

27. Chehma, A., (2006): Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Laboratoire de protections des écosystèmes en zones arides et semi arides. UKM Ouargla. Ed: Dar El Houda. P 51-98.

28. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K., Lattanzio, V., And Martens, S., (2013): Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry, 72: 1-20.

29. Chouia, A., Chouikh, A., Alia, F., Adjal, E., Chefrour, A., And Ait Kaki, Y., (2018):Antibacterial Activity And DPPH$^{\bullet}$ Radical Scavenging of Differents Metabolites Extracted from Two Plants: Essential Oil from (Matricaria Recutital.) and Flavonoids from Flowers and Leaves of (*Hibiscus Rosa-Sinensisl*) Researchgate. Tom Xxv, Issue 1: 26-32.

30. Chouikh, A., Adjal, E., Adaika, A., Et Chefrour, A., (2014): Screening chimique d'une plante pastorale Saharienne *Heliathemum lippii* (famille Cistaceae) dans différents phases de la croissance (végétative; floraison; fructification) à Sahara d'Oued Souf (Est-sud Algérie). ScienceLib Editions Mersenne, 6 (141115): 12.

31. Chouikh, A., Alia, F., Neffar, S., Rebiai, A., Adjal, El-H., And Chefrour, A., (2018): Evaluation of Phenolic Contents (Quantitative and Qualitative) and Antioxidant Activities in Different Physiological Phases of *Genista Saharae* Coss. & Dur. Growing in the Sahara of Algeria. Researchgate, Tom. XXV, Issue: 2, p: 115-121. https://www.researchgate.net/publication/328853393.

32. Chouikh, A., Mayache, B., Maazi, M., Hadef, Y., And Chefrour, A., (2015): Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils in Xerophytic plant *Cotula cinerea* Del (Asteraceae) during two stages of development: flowering and fruiting. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5 (03): 029-034.

33. CJB - Base de données des plantes d'Afrique., (2013): *Calobota saharae* (Coss. & Dur.) Boatwr. & B.-E. van Wyk. Carte.10-4-2020. http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/ africa/details.php?langue=fr&id=224714.

34. Claudine, M., Augustin, S., Christine, M., Christian, R., And Liliana, J., (2019): Polyphenols: food sources and bioavailability1,2 Downloaded from https://academic. oup.com/ajcn/article-abstract/79/5/727/4690182 by guest on 22 July 2019.

35. Cosson, E., Et Durieu, De-M., (1855): Bulletin de la Société Botanique de France, Tome I, p: 247.

36. Cushine, T., And Lamb, A.J., (2005): Antimicrobial activity of flavonoids. Int. J. antimicrob. Ag., 26: 343-356.

37. Dai, F., Miao, Q., Zhou, B., Yang, L., And Liu, Z., (2006): Protective effects of flavonols and their glycosides against free radical-induced oxidative hemolysis of red blood cells. Life Sciences, 78: 2488-2493.

38. Debray; M., Jacquemin, H., & Razafindrambo, R., (1971):Travaux et documents de l'Orstom. Paris, N°8, p 150.

39. Denwick, P., (2002): Natural Products: A Biosynthetic Approach. 2nd Ed. England. John Wiley and Sons, Ltd, pp: 241-243.

40. Derbel, S., And Chaieb, M., (2007): Germination behaviour and seedling establishment of two desert shrubs, *Calligonum polygonoides* (Polygonaceae) and *Spartidium saharae* (Fabaceae), under experimental conditions, Acta Botanica Gallica, 154 (4): 533-544

41. Dhara, P., And Sharav, D., (2016): Phytochemical screening, *in vitro* anti-microbial and anti-inflammatory activity of methanolic extract of *aster lanceolatus* willd leaves. International Journal of Medicine Research, 1 (1): 26-30.

42. Divya, N., Nagamani, J., And Suma, P., (2012): Antioxidant and Antihemolytic Activities of Bombax Ceiba Pentandra Spike and Fruit Extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4 (5): 311-315.

43. Djemai, S., (2009): Etude de l'activité Biologique des Extrait du Fruit de *Zizyplus Lotus* L. Mémoire de Magister. Université -El Hadj Lakhater-Batna, 91 p.

44. Doyle, J., And Luckow, M., (2003): The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*, 131: 900-910.

45. Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., And Smith, F., 1956-Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28:350-356.

46. Dufour, C., Loonis, M., And Dangles, O., (2007): Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. Free Radic. Biol. Med., 43 (2): 241-252.

47. Dupont, F., Et Guignard, J. (2007): Abrégé de Botanique, Les familles de plantes. 14ème édition Editions, Masson, Paris; 285 p.

48. Dzoyem, J., Kuete, V., And Elof, J., (2014): Biochemical Parameters in Toxicological Studies in Africa: Significance, Principle of Methods, Data Interpretation، and Use in Plant Screenings, Toxicological Survey of African Medicinal Plants, 659-715 p:689.

49. Ebrahimzadeh, Ma., Nabavi, S.M., Nabavi S.F., Eslami, B., And Rahmani, Z., (2010): Antioxidant and Antihaemolytic Activities of the Leaves of Kefe cumin (*Laser trilobum* L.) Umbelliferae.Tropical Journal of Pharmaceutical; 9 (5): 441-449.

50. El-Barasi, Y., And Barrani, M., (2012): Factors affecting natural vegetation on EL-Harouge mountain, Central part of Libyan desert (Sahara). Bocconea 24: 199-211-ISSN 1120-4060.

51. Erica, L., Beatriz Helena, L.N., Sales, M., Aurea, P., And Sirlei Dias, T., (2017): Flavonoids: Classification, Biosynthesis and Chemical Ecology. http://dx.doi.org/10.5772/67861. 27-02-2020.

52. Fuller, M., (2004): The encyclopedia of form animal nutrition. CABI publishing, London, UK, 581p.

53. Ghasemzadeh, A., Nasiri, A., Jaafar, H., Baghdadi, A., And Ahmad, I., (2014): Changes in Phytochemical Synthesis, Chalcone Synthase Activity and Pharmaceutical Qualities of Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans* L.) in Relation to Plant Age. Molecules, 19: 17632-17648.

54. Goldsworthy, A., Mordue, W., And Guthkelch, J., (1972): Studies on insect adipokinetic hormone. Gen. Comp. Endocrinal., 18: 306-314.

55. Gonzal, T.E., Mbiantcha, M., Gilbert, A., Atsamo, A., Yousseu Nana, W., Marthemba, V., And Adjouzem, C., (2019): *In Vitro* Anti-Inflammatory and *InVivo* Antiarthritic Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Dissotisthollonii cogn*. (Melastomataceae) in Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 3612481: 17.

56. Guettaf, S., (2016): Recherche D'activités Biologiques Des Plantes Endémiques Du Sahara Algérien; *Genista Saharae* Coss. & Dur. Et Ononis Angustissimalam. (Fabaceae). École Normale Supérieure -Kouba- Alger, Mémoire Magister, En Physiologie Animale. P: 60.

57. Guettaf, S., Abidli, N., Kariche, S., Bellebcir, L., And Bouriche, H., (2016): Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur), Der Pharmacia Lettre, 8 (1): 50-60

58. Hall, M., (2013): Efficacy of reducing sugar and phenol–sulfuric acid assays for analysis of soluble carbohydrates in feedstuffs. Animal Feed Science and Technology, 185: 94-100.

59. Harborne, J., (1973): Flavonoids in phytochemistry. Vol 2, (L.P. Miller. ed), Van Nostrand-Reinhold, New york. 344-380.

60. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., And Bobilya, D.J., (2002): Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J. Nutr. Biochem., 13: 572-584.

61. Heywood, V., Brummitt, R., Culham, A., Seberg, O., (2007): Leguminosae (Fabaceae). In: Flowering Plant Families of the World. New York, Firefly Books. P: 185-188.

62. Hooper, L., Kroon, P., Rimm, E., Cohn, J., Harvey, I., Le Cornu, K., Ryder, J., Hall, W., And Cassidy, A., (2008): Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: A meta-analysis of randomized controlled trials. Am. J. Clin. Nutr., 88: 38-50.

63. Jain, V., Karibasappa, G., Dodamani, A., And Mali, G., (2017): Estimating the carbohydrate content of various forms of tobacco by phenol-sulfuric acid method. J. Edu Health Promot; 6:90.

64. Kanoun, K., (2011): Contribution àl'étudephytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister, Universite Aboubekr Belkaid Tlemcen, P: 44.

65. Ketaren, B., Siti, H., Sanusi, F., Munirah, M., Nor Elliza, T., And Parvez, A., (2015): Changes in Phytochemical Contents in Different Parts of *Clinacanthus nutans* (Burm. F.) Lindau Due to Storage Duration. Bragantia, Campinas, 74 (4): 445-452.

66. Khalili, M., Ebrahimzadeh, M., And Safdari, Y., (2014): Antihaemolytic Activity of Herbal Extracts in Mouse Red Blood Cells. Arh. Hig. Rada. Toksikol., 65:399-406

67. Kherraz, K., Chouikh, A., Chefrour, A., And Ghemam Amara, D., (2019): Estimation of Total Phenolic and Flavonoids Contentand Anti-Free Radical Scavenger, Antibacterial and Antifungal Activities of Extract *Ofmatricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. Collected from South East of Algeria. Researchgate, Tom. Xxvi, Issue: 1: 38-42.

68. Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., And Abdelly, C., (2008): Influence of Biological Environmental and Technical Factors on Phenolic Content and Antioxidant Activities of Tunisian Halophytes. C. R. Biol., 331: 865-873.

69. Le Floc'h, É., Boulos, L., & Vela, E., (2010): Catalogue synonymique commente de la flore de tunisie. P:500

70. Liu, D., Guo, Y., Wu, P., Wangy., Kwaku, G.M., And Ma H., (2019): The necessity of walnut proteolysis based on evaluation after in vitro simulated digestion: ACE inhibition and DPPH radical-scavenging activities. Food Chemistry, 125960. doi:10.1016/ j.foodchem. 2019.125960.

71. Lograda, T., Chaker, A.N., Chalard, P., Ramdani, M., Chalchat, J.C., Silini, H., & Figueredo, G., (2009): Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Genista numiduca* Spach. and *Genista saharae* Coss et Dur. Asian Journal of Plant Sciences. 8 (7): 495.

72. Louiz, I., Sellem, F., Tekitek, A., Langar; H., Et El Abed; A., (2003): Etude Des Saponines Isolees D'une Espece *D'holothurie Holothuria Tubulosa* De La Lagune De Bizerte. Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô, 30: P115-122.

73. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., And Randall, R., (1951): Protein measurments with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.

74. Ma, X.M., Liu, Y., And Shi, Y.P., (2007): Phenolic derivatives with free-radical-scavenging activities from Ixeridiumgracile (DC.) SHIH. Chem. Biodiv., 4: 2172-2181.

75. Mahdhi, M., Nzoue, A., Gueye, F., Merabet, C., Lajudie, P., And Mars, M., (2007): Phenotypic and genotypic diversity of *Genista saharae* microsymbionts from the infra-arid region of Tunisia. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254, (45): 604-609.

76. Manthey, A., John, N., And Guthrie, K., (2001): Biological Properties of Citrus Flavonoids Pertaining to Cancer and Inflammation.Curr. Med. Chem., 8 (2): 135-153.

77. María, L., Falcone, F., Sebastián, P., And Paula, C., (2012): Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. Plante physiology, 3 (222): 4.

78. Martins, A., Wink, M., Tei, A., Brum-Bousquet, M., Tillequin, F., And Rauter, A., (2005): Phytochemical Study of the Quinolizidine Alkaloids from *Genista tenera* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Phytochemical Analysis.16: 264- 266.

79. Medjekal, S., (2016): Effet de la saison de collecte sur la valeur nutritive, la production de méthane et de tannins condensés d'arbustes fourragers locaux. Essai de contrôle *in vitro* de la méthanogenèse ruminale d'ovins par l'utilisation de plantes médicinales. Thèse Doctorat. Université des Frères Mentouri Consatntine 1, P: 2,72.

80. Medjekal, S., Ghadbane, M., And Bousseboua, H., (2015): Impact of Season of Harvest on Potential Nutritive Value, Methane Production and Condensed Tannins Content of *Calobota Saharae* in M´Sila, North-Central Algeria, Ejpau 18 (2). 9.

81. Mekkiou, R., (2005): Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae): *G. saharae, G. ferox*. Thèse de doctorat. Université Mentouri, Constantine, P: 157-198.

82. Melzig, M., Bader, G., And Loose, R., (2001): Investigations of the mechanism of membrane activity of selected triterpenoid saponins. Planta. Med., 67: 43-48.

83. Mercader, A.G., Duchowicz, P.R., Fernández, F.M., Castro, E.A., Bennardi D. O., Autino J. C., And Romanelli G. P., (2008): QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. Bioorgan. Med. Chem., 16: 7470–7476.

84. Meriane, D., (2018): Etude biologique et phytochimique de *calobota saharae* (Coss. & Dur.) Boatwr. & B.E. van Wyk. Thèse Doctorat. Spécialité biologie végétale. Univarsite Ferhat Abbas stéf 1. P: 58.

85. Meriane, D., Genta-Jouve, G., Kaabeche, M., Michel, S., Boutefnouchet, S., (2014): Rapid Identification of Antioxidant Compounds of *Genista saharae* Coss. & Dur. by Combination of DPPH Scavenging Assay and HPTLC-MS. Molecules, 19: 4369-4379.

86. Michalak, A., (2006): Phenlic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing Under Heavy Metal Stress. J. of Environ. Stud.,15 (4): 526.

87. Middleton, E., (1996): Biological properties of plant flavonoids: an overview. International Journal of Pharmacognosy, Vol (34): P348-344 .

88. Middleton, E., Kandaswami, C., And Theoharidesi, T., (2000): The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacol. Rev. 52: 673–751.

89. Mills, S., And Bone, K., (2013): Principles of herbal pharmacology in principles and practice of phytotherapy, modern herbal medicine. 2nd ed. USA: Churchill Livingstone.p 1065

90. Mohammedi D., Mohammedi S., Et Keck G., (2014): Principales intoxications végétales en los ruminantes en zona méditerranée, Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 67 (4): 163-171.

91. Monika, W. H., And Joseph, S., (2010): High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis CHROMATOGRAPHIC SCIENCE SERIES, 102: 996.

92. Musialik, M., Kuzmicz, R., Pawtowski, T.S., And Litwinienko, G., (2009): Acidity of hydroxyl groups: An overlooked influence on antiradical properties of flavonoids. J. Org. Chem., 74: 2699-2709.

93. Nabavi, S., Ebrahimzadeh M., Nabavi S., Eslami B., And Dehpour A., (2010): European Review for Medical and Pharmacological Sciences Antihemolytic and antioxidant activities of Biebersteinia multifida. Researchgate, 14: 823-830.

94. Nahed, N., And Ahmed, F., (2004): Effect of seasonal variation on secondary metabolites and nutritive value of Crotalaria Aegyptiaca Benth. Egyptian. J. Desert Res., 54, No.1(9): 129-147.

95. Nayak, S., Mishra, B., (2020): Arbuscular Mycorrhizal Fungi Colonization of *Spartidium saharae* and their Impact on Soil Microbiological Properties. Taylor & Francis Online, London, P: 26.

96. Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Van Norren, K., And Van Leeuwen, P.A.M., (2001): Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr*., 74: 418-425.

97. Ozenda, P., (1991): Flore de sahara (3 édition mise à jour et augmentée). Paris, Editions du CNRS, p 662.

98. Paris, R., Et Moyse, H., (1969): Précis de matière médicinale. Paris: Masson, p: 041

99. Patel, D., And Desai, S., (2016): Phytochemical screening, in vitroanti-microbial and anti-inflammatory activity of methanolic extract of aster lanceolatuswilldleaves. J of Medicine Research., 1: (2455-7404): 26-30.

100. Pietta, P., (2000): Flavonoids as antioxidants, Journal of natural products, ACS Publications.63:1035-1042.

101. Pincemail, J., Deby, C., Lion, Y., Braguet, P., Hans, P., Drieu, K., And Goutier, R., (1986): Role of flavonoids in lipoperoxidation and radicular reactions. Stud. Org. Chem., 23: 423.

102. Quattrocchi, U., (2012): CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants: M-Q, CRC Press, New York P: 4013.

103. Quezel, P., Et Santa, S., (1962): Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. C.N.P.S. Paris.P: 383.

104. Rana, A.C., And Gulliya, B., (2019): Chemistry and Pharmacology of Flavonoids- A Review. Indian J. of Pharmaceutical, Education and Research., 53(1): 8-20.

105. Re, D., Nafia, I., Nieoullon, A., Kerkerian, L.L., Et Had-Aisouni, L., (2005): Stress oxydatif cérébral: les astrocytes sont-ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate? Implication sur la survie neuronale. Ann. Fr. Anesth. Réanim, 24: 502-509.

106. Rice-Evans, C., Miller, N., And Paganga, G., (1996): Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biol. Med., 20: 933-956.

107. Sampletre, D., Catalan, C., And Vattuone, M., (2009): Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products. Science Editor S. S. Narwal; Publishers Series, India, P 551.

108. Scandalis, J., (2005): Oxidative stress: molecular perception and transduction of singals triggering antioxidant gene defence. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 38 (7): 995-1014.

109. Sekar, D., Kolanjinathan, K., Saranraj, P., And Gajendiran, K., (2012): Screening of *Phyllanthus amarus*, *Acalypha indica* and *Datura metel* for its antimicrobial activity against selected pathogens. Inter. J. Pharm. Biol. Arch., 3(5): 1231-1235.

110. Selaimia, A., Azouz, M., Chouikh, A., Zga, N., And Besbes, N., (2020): Phytochemical Study, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Flavonoids and Diethyl Ether Extracts from Leaves and Seeds of Medicinal Plant of Algeria Flora: *Retama Monosperma* (L.) Boiss. Ponte International Journal, 76(4): 42-52.

111. Seyed, F.N., Seyed, M.N., Ebrahimzadeh, M.A., Eslami, B., And Jafari, N., (2013): *In Vitro* Antioxidant and Antihemolytic Activities of Hydroalcoholic Extracts of *Allium scabriscapum Boiss*. & Ky. Aerial Parts and Bulbs. Journal International of Food Properties, 16 (4): 713-722.

112. Sharma, B., Viswanath, G., Salunke, R., And Roy, P., (2008): Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chem., 110: 697-705.

113. Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratyneck, C., Hall, N., And Feidman, L., (1966): A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. Analyt. Biochem., 19:528-415.

114. Sim, G., Lee, B., Cho, H., Lee, J., Kim, J., Lee, D., Pyo, H., Moon, D., (2007):Structure activity relationship of antioxidative property of flavonoids and inhibitory effect on matrix metalloproteinase activity in UVA-irradiated human dermal fibroblast.Arch. Pharm. Res, 30, 290-298.

115. Spichiger, R., Savolainen, V., Figeat, M., Et Jeanmonod, D., (2002): Botanique Systématique des Plantes a Fleurs: Une Approche Phylogénétique Nouvelle des Angiospermes des Régions Temérée Tropicales. 3^{éme} Edition, Presses Polytechnique et Universitaires Ronandes, P: 413 .

116. Steviol, G., (2018): Cultivation, Processing, Analysis and Applications in Food. Published Published on 25 October 2018 on https://pubs.rsc.org doi:10.1039/9781788010559-FP001: View Online

117. Supriya, M., Nagamani, J., And Komal, K.J., (2013): Cytoprotective And Antimicrobial Activities of Stem Extract of *Caesalpinia Mimosoides*. International Journal of Pharmaceutical and Biological Research, 4 (1):18-25.

118. Tan Z., Wang L., (2017): Chemical Biology of Glycoproteins - Chimical Biology. The Royal Society of Chemistry, England: 412.

119. Trabsa, H., Boumerfeg, S., Baghiani, A., Boussoualim, N., Krache, I., Khennouf, S., And Arrar, L., (2014): Anti-Haemolytic, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory effect of *Sedum sediforme* shoot extracts. International Journal of Indigenous Medicinal Plants, 47: 1502-1510.

120. Trease, E., Et Evans, W.C., (1987): Pharmacognosie, Billiaire Tindall. 13 th Edition, London, p: 61-62.

121. Triki; T., Guasmi, F., Ben Ali, S., Ben Mohamed, M., Drine, S., Yahya, H., Nagaz, k., Et Ferchichi, A., (2016): Etudes de la variabilité biochimique de cinq cultivars de *chénopoduim quinoa*. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 25 (5): 1161-1166.

122. Ursula, W.R., (2018): Steviol Glycosides: Cultivation, Processing, Analysis and Applications in Food. Royal Society of Chemistry, p: 210

123. Venkannab, A., Chandrasekharn, A., Uma, A., Jayalakshmi, L., And Kesavaharshini, B., (2017): Phytochemical screening and evaluation of *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the indigenous medicinal plant *Albiziaodora tissima*, Pharm Biol, 55(1): 1155-1161.

124. Vermerris, W., And Nicholson, R., (2007): Phenolic compound biochemistry. Spinger science + Business Media, Florida, p 276.

125. Walker, J., (2002): The Protein Protocols. Handbook 2nd Edition, Humana Press. p1139.

126. Weisheng, F., Zhiyou, H., Meng, L., (2017): Isolation and Structure Identification of Flavonoids. In tech., 2:17-44. Http://Dx.Doi.Org/10.5772/67810.

127. Williams, C., Hoult, J., Harborne, J., Greenhame, J., Et Eagles, J., (1995): A biologically active lipophilic flavonoid from *Tancetum parthenium*. Phytochemistry, 38: 267-270.

128. Williams, L., O'connar, A., Latore, L., Denis, O., Ringer, S., Whittaker, J., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., And Kraus, W., (2008):The *in vitro* antidenaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. West Indian Med. J., 57: 327–31.

129. Wink, M., (2010): introduction: Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites, university Heidelberg. Germany, p: 445.

130. Winkel-Shirley, B., (2001): Flavonoid biosynthesis a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126: 485-493.

131. Winters, A., & Minchin, F., (2005): Modification of the Lowry assay to measure proteins and phenols in covalently bound complexes. Analytical Biochemistry, 346 (1): 43–48.

132. Woodicidn, D., And Price, C., (1972): Estimation of serum total lipids. Clinicachimicaacta, 38:39-43.

133. Yang, Z., Et Ohlrogge, J., (2009): Turnover of fatty acids during natural senescence of Arabidopsis Brachypodium and switchgrass and in Arabidopsis β -oxidation mutants. Plant Physiol., 150: 1981–1989.

134. Zammouri, J., Guete, T., And Neffati, M., (2009): Germination responses of *Spartidium saharae* (Coss. & Dur.) Pomel (Fabaceae) to temperature and salinity. Blackwell Publishing Ltd, Afr. J. Ecol., 48: 37–44.

135. Zhang, J., Subramanian, S., Stacey, G., And, Y.O., (2009): Flavones and flavonols play distinct critical roles during nodulation of medicago truncatula by sinorhizobium meliloti. The Plant Journal, 57: 171-183.

ثانيا: المراجع العربية

136. أبوزيد، ش.، (2005): فسيولوجيا وكيمياء القلويدات في النباتات الطبية وأهميتها الدوائية والعلاجية. دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع، القاهرة، 496 ص.

137. أكساد، و.، (2007): أطلس النبتات الطبية والعطرية في الوطن العربي. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة، دمشق، ص: 630.

138. بسام طه، ي.، 2001- أساسيات فيزيولوجيا النبات، دار الكتب القطرية، ص: 648.

139. بن حميدة، ع.، الجيلاني م.، الالوسي ح.، (2014): فيزيولوجيا النبات، مكتبة نرجسPDF، ص: 786.

140. بوقوادة، م.، (2008): دراسة فيتوكيميائية للبيبيدات والفينولات في بعض أنواع نوى التمر المحلى. مذكرة ماجستير ، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص: 5.

141. جديل، ص.، (2009): تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستعملة تقليديا في علاج اضطرابات الجهاز الهضمي وارتفاع ضغط الدم. مذكرة لنيل

شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفيزيولوجيا التجريبية، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 101ص.

142. جرموني، م.، (2014): دراسة التاثير المضاد للاكسدة لنبتتي الحرمل *Peganum harmala* والجعدة *Santolina chamaecyparissu* . مذكرة لنيل شهادة دكتوره، جامعة فرحات عباس سطيف 1، ص: 79-84.

143. جيدل، ص.، (2015): تقدير المحتوي الفينولي والتاثير المضاد للاكسدة لمستخلصات نبات *Pistacia lentiscus* L. و*Artemisia camespestris* و*Argania spinia* L. مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة فرحات عباس سطيف 1، ص: 76-85.

144. حجاوي، غ.، المسيمي ح.، قاسم م.، (2004): علم العقاقير. الطبعة الأولى، مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع، عمان، الأردن، ص: 312.

145. حسين، ع.، الموسويز، ع.، عبدم، خ.، (2008): دراسة وتقدير بعض الصفات الكيميائية النوعية والكمية لأوراق ولب نبات أكي الدنيا Loquat المحلي. كلية الزراعة، جامعة بغداد، العدد 31، ص 274-293.

146. حليس، ي.، (2007): الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الصحراوية -الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. مطبعة الوليد، الوادي، ص: 224.

147. العابد، إ.، (2009): دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الظمران.*Traganum nudatum*. مذكرة ماجستير، جامعة قصدي مرباح، ورقلة، 106 ص.

148. عاشوري، آ.، (2004): فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي (*Pulicaria crispa (Forsk .*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة الأخوة منتوري قسنطينة: ص 22.

149. العبادي، إ.، شاكر خ.، خليل أ.، (2011): التركيب الكيميائي والمكونات الفعالة للأجزاء الهوائية لنبات الاشنان المحلي العراقي *Seidlitziaros marinus*. المجلة العراقية لبحوث السوق وحماية المستهلك، المجلد 3 (6)، العدد 30، ص:11-30 .

150. علاو، م.، (2003): مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث (*Haloxylon scoparium*). مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، ص: 24.

151. عمر، أ. م.، (2013): التباين المظهري في الريزوبيا المتكافلة مع بعض النباتات البقولية البرية النامية في ليبيا. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة سبها، كلية العلوم قسم علم النبات، ص:21.

152. عمران، ر.، (2016): تأثير مستخلصات نبات الدلاوودي *Chrysanthemum cinerariaefolium* في بعض جوانب الأداء الحياتي لبعوض *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة القادسية، ص: 64-67.

153. غزوان، ط.، نوري، ج.، (2008): الفعالية ضد الجرثومية لمستخلص اثنين من المركبات الفينولية لنبات الصماق*Rhus sp*. مجلة أبحاث البصرة (العلميات)، 34 (22)، ص: 22-32.

154. منصور، ح.، (2006): النباتات الطبية العلمية وصفها مكوناتها طرق استعمالها وزراعتها. جامعة الزقازيق، القاهرة، مصر، ص: 355-378.

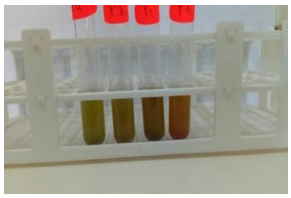
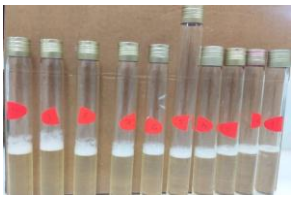
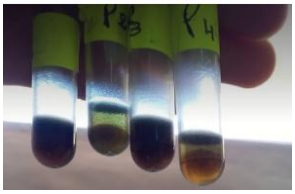
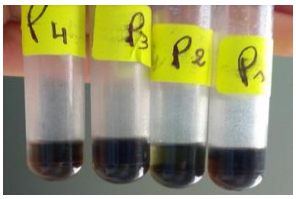
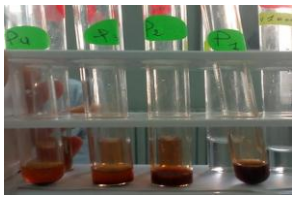
الملاحق

الملاحق

الملحق رقم 01: معلومات حول الأجهزة المستعملة في المخبر

الجهاز	المعلومات
المبخر الدوراني Rotavapeur	BUCHI LAORTECHNIC AG CH-9230 FLAWIL 1/ SWITZERIAND Type: R-210 SN: 1000048012 Volt: 100-240VAC Frequ: 50 / 60 Hz Power: 60 W Built 2010 T 1.6 A L 250 V (2x)
جهاز المطيافية الضوئية **Spectrophotomètre**	Designed and Manufactured in the UK by Cole-parmer Ltd. Stone, Staffs, UK, ST15 OSA. MODEL JENWAY 7300 Volts 24V DC Power 50VA SERIAL NO.65474
جهاز الطرد المركزي Centrifugeuse	Sigma Laborzentrifugen™ Compact Centrifuge Marque: Sigma Laborzentrifugen™ 10208 Code nomenclature Nacres: NB.81
الحاضنة Etuve	LAB TECHASIA PTE. LTD. ISO 9001 CERTIFIED MODEL LIB-060M Volts 220V 50 HZ Watts 200W/1A SERIAL NO. 08061323

الملحق رقم 02: نتائج المسح الفيتوكيميائي

المركب الفعال	النتيجة	
الفلافونويدات	ظهور اللون الوردي أو الأحمر	
المركبات المرجعة	ظهور راسب أحمر آجوري	
الصابونوزيدات	ظهور رغوة	
السيرولات والتربينات الثلاثية	ظهور حلقة حمراء بنية أو بنفسجية	
التانينات	ظهور اللون الأزرق المخضر/اللون الأزرق المسود	
القلويدات	ظهور راسب بني	

الملحق رقم 03: معامل الرغوة

$$I = \text{Hauteur de mousse (en cm) dans le x tube} \times 5/0.0x$$

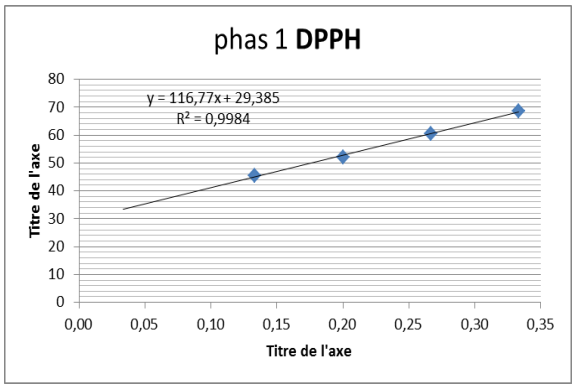
حيث:

- I: معمل الرغوة
- Hauteur de mousse (en cm) dans le x tube: ارتفاع الرغوة في الأنبوب الاقرب إلى 1 cm
- x: رقم الأنبوب الذي تكون فيه الرغوة الأقرب إلى 1 cm

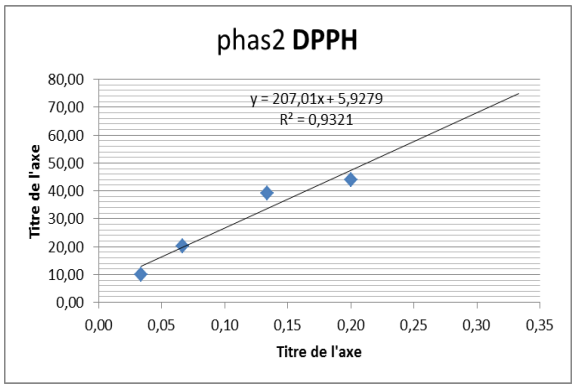
الملحق رقم 04: أوزان المستخلصات

المرحلة	وزن القارورة فارغة بـ mg	وزن القارورة مع المستخلص بـ mg	وزن المستخلص بـ mg	نسبة المردود %
P 01	26259.8	26407	147.2	0.736
P 02	27468.6	27749.4	280.8	1.404
P 03	27555.4	27790.7	235.3	1.177
P 04	27179.4	27440	260.6	1.303

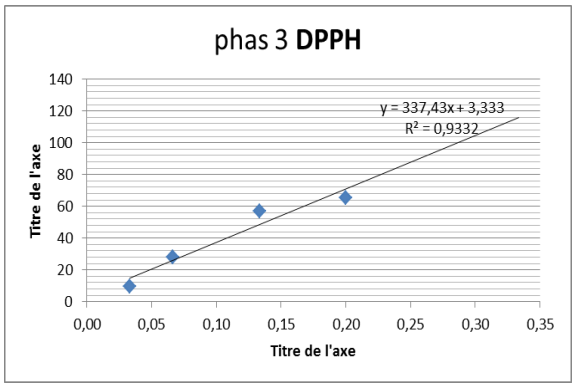
الملحق رقم: منحنيات نسبة التثبيط في المستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ عند نتائج DPPH•



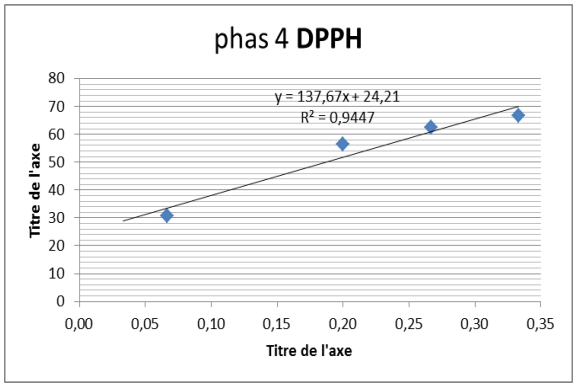
المرحلة الخضرية الأولى



المرحلة الزهرية



المرحلة الثمرية



المرحلة الخضرية الثانية

الشكل (01): منحنيات نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH• بدلالة تركيز مستخلصات نبات المرخ *G. saharae*

الملحق رقم 05: جدول يوضح أنواع الارتباط واتجاه العلاقة.

قيمة معامل الارتباط	المعنى
+1	ارتباط طردي تام
من 0.70 إلى 0.99	ارتباط طردي قوي
من 0.50 إلى 0.69	ارتباط طردي متوسط
من 0.01 إلى 0.49	ارتباط طردي ضعيف
0	لا يوجد ارتباط

- العلاقة الارتباط العكسية تنطبق معها والنوع وتعاكسها في الإشارة (السالبة)

الملحق رقم 06

المساهمة في دراسة الكشف الكيميائي والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الفلافونويدية لنبات المرخ *Genista saharae* Coss. et Dur. النامي في منطقة وادي سوف خلال مراحل النمو الفسيولوجية المختلفة.

قاري سعيدة ، لمقدم مبروكة ، عاطف شويخ ، علية فاطمة

قسم البيولوجيا، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي 390000، الجزائر

الملخص

تهدف هذه الدراسة الى المساهمة في دراسة الكشف الكيميائي والنشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الفلافونويدية لنبات صحراوي المرخ *Genista saharae* Coss. et Dur النامي في منطقة واد سوف خلال مراحل النمو المختلفة . تم من خلال هذه الدراسة تقدير مردود مستخلص العينات النباتية لمراحل نمو نبات المرخ المختلفة والذي اظهرت نتائجه تفوق المرحلة الزهرية على باقي المراحل اذ بلغت النسبة المئوية لها 14.04% وأقل قيمة لها في المرحلة الخضرية الأولى بنسبة 7.36%، كما قمنا بالكشف عن المركبات الكيميائية في النبات والذي تبين من خلاله وجود اختلافات في المحتوى الكيميائي من مرحلة لأخرى. اضافة الى هذا تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص الفلافونويدي وذلك بالاعتماد على الجذر الحر DPPH° والذي اظهرت نتائجه تميز المرحلة الثمرية بأفضل قدرة تثبيط حيث بلغت قيمة IC50 =0.41mg/ml في محلول المستخلص.

المقدمة

يتم حاليا إجراء عدد متزايد من الدراسات لاستكشاف النباتات الطبية بشكل النشطة بيولوجيا، وخصائصها المضادة للأكسدة بسبب أهميتها في علاج الاضطرابات المزمنة المختلفة. من المتوقع أن يكون حوالي ثلثي الأدوية المعتمدة في جميع أنحاء العالم من المشتقات النباتية (Venkanna and al,2017)، ومن المركبات الكيميائية الفينولات، الفلافونويدات، التربينات، القلويدات و الكومارينات...الخ، و تعد الفلافونويدات من نواتج الأيض الثانوي الأكثر انتشارا في المملكة النباتية حيث تم حصر أكثر من 10000 مركب فلافونويدي، مما جعل لها أهمية كبيرة للنبات و للإنسان (Erica and al,2017) .

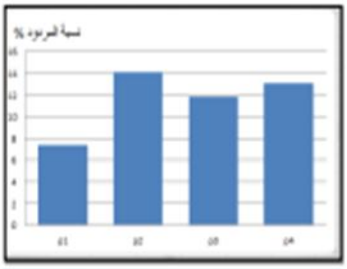
و بما أن الدراسات العلمية الحديثة انبثت على النباتات الصحراوية بشكل النشطة بيولوجيا ارتأينا إلى دراسة إحدى الأنواع المستوطنة في الصحراء الجزائرية من العائلة fabaceae المرخ تحت جنس Genista، حيث تم إجراء الكشف الكيميائي عن محتوى الأيض الثانوي ، و تقدير نسبة المردود لمستخلص الفلافونويدي و دراسة النشاطية المضادة للأكسدة بهدف التوصل للإجابة على الإشكال المطروح: ما مدى تأثير المرحلة العمرية على المحتوى الكيميائي للنبات و نشاطية المضادة للأكسدة؟

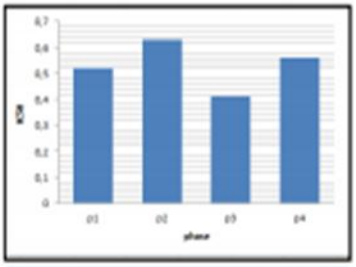
وصف نبات: شجيرة معمرة يبلغ ارتفاعها حوالي 1 إلى 2 م، أغصانها طويلة، ذات وريقة واحدة ، تسقط سريعا. أزهار صفراء متباعدة على طول الأغصان تظهر خلال شهري فيفري ومارس. ثمارها بشكل قرون طويلة ملتوية. تنتشر في الأراضي الرملية و المنخفضات و الأودية. تستخدم في الطب التقليدي لعلاج امراض الجهاز التنفسي. كما لديها خصائص مدرة للبول (Chahma, 2006)

تحليل ومناقشة النتائج

الجدول 1: الكشف الكيميائي للمادة الجافة لأربع مراحل مختلفة من دورة حياة نبات المرخ

المركبات\المرحلة	P1	P2	P3	P4
الفلافونويدات حسب (Debrayb et al., 1971 ; Paris et Moyse, 1969)	+++	+++	+++	+++
السكريات المرجعة حسب (Trease et Evans, 1987)	+++	+	+	+
الانثوسيانينات حسب (Debrayb et al, 1971 ; Paris et Moyse, 1969).	-	-	-	-
القلويدات حسب (Paris et Moyse, 1969	+++	+	++	++
الصابونوزيدات حسب Trease et Evans, 1987	++	+++	+++	++
ستيرولات وتربينات حسب (Trease et Evans, 1987)	-	+	-	+
التانينات حسب (Trease et Evans, 1987	+G	+k	+k	+G





الشكل 1 : نسبة المردود لمستخلص الفلافونويدي لأربع مراحل مختلفة من دورة حياة نبات المرخ

الشكل 2: قيم IC50 المثبطة لنسبة 50% من جذور DPPH° لمستخلص الفلافونويدي لأربع مراحل مختلفة من دورة حياة نبات المرخ

تحليل نتائج الكشف الكيميائي

من نتائج الجدول نلاحظ اختلاف في محتوى الأيض الثانوي للنبات من مرحلة لأخرى فكانت نتائج ما الكشف كما يلي:

- احتواء النبات على الفلافونويدات، السكريات المرجعة، القلويدات والصابونوزيدات في جميع المراحل بكميات مختلفة.
- كما نلاحظ غياب الانثوسيانين والستيرولات في المرحلتين الخضرية الأولى والثمرية .
- وجود التانينات الغاليكية في المرحلتين الخضرية الأولى والخضرية الثانية
- وجود التانينات الكاتشيكية في المرحلتين الزهرية والخضرية .

تحليل نتائج المردود

من نتائج الشكل 1 لنسبة مردود المستخلص الفلافونويدي حيث اعلى قيمة في المرحلة الزهرية بنسبة 14.04% وادناها عند المرحلة الخضرية الاولى بنسبة 7.36 % .

تحليل نتائج DPPH

نتائج كسح الجذر الحر DPPH لمستخلص الفلافونويدي تظهرها الشكل 2. تشير الى ان اعلى قيمة للنشاط المضاد للأكسدة كانت المرحلة الثمرية حيث كانت قيمة IC50= 0.41 mg/ml وادناها في المرحلة الزهرية IC50= 0.63 mg/ml . علاوة على ذلك فان النشاط المضاد للأكسدة يعتبر ضعيف مقارنة مع نشاط حمض الأسكوربيك.

تفسير نتائج الكشف الكيميائي

احتواء نبات *Genista saharae* على العديد من مواد الأيض الثانوي لكونه نبات صحراوي تساعده على التأقلم مع الظروف البيئية و الدفاع عن النبات، و كذلك حمايته من الاشعة فوق البنفسجية UV . (Rana and Gulliya 2019)

تفسير نتائج المردود

يرجع الاختلاف في نسبة المردود لان النبات يغير محتوى المركبات بما يتناسب مع وظائفه الفزيولوجيا و بيولوجيا.

كما تفسر زيادة نسبة المردود في المرحلة الزهرية راجع الى زيادة المركبات الفلافونويدية لما لها من اهمية ,بحيث تعمل على اعطاء اللون للأزهار كذلك تساهم في عملية الالقاح . (chouikh and al,2015)

تفسير نتائج DPPH

تفسر اعلى قيمة للنشاط المضاد للأكسدة في المرحلة الثمرية باستعمال النبات المواد الفلافونويدية المضادة للأكسدة كمخزون في الثمار . اما انخفاضها في المرحلة الزهرية يفسر ب تغير نوع المركبات حيث تملك هذه المركبات نشاطية ضعيفة. (Venkanna and al,2017)

الخلاصة

من نتائج هذه الدراسة يمكن القول: ان نواتج الأيض الثانوي والنشاطية المضادة للأكسدة لنبات المرخ (G.saharea) تتغير بتغير الحالة الفسيولوجية للنبات خلال مراحل النمو المختلفة، وكذا الظروف البيئية المحيطة به، حيث أبدت مستخلصات النبات نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة نوعا ما وذلك لقلة التنوع الحيوي لهذه المركبات.

المراجع المعتمدة

الملحق رقم 07

بحمد الله