الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح- ورقلة

كلية الرياضيات و علوم المادة

فرع الكيمياء

مذكرة

لنيل شهادة ماستر أكاديمي

تخصص كيمياء المنتجات الطبيعية

من إعداد الطالبة

كودية بلقيس

الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة طبية جزائرية من عائلة *Lamiaceae*

نوقشت في 2019/07/01، أمام لجنة المناقشة

مخلفي طارق	أستاذ محاضر "أ"	جامعة قاصدي مرباح –ورقلة-	رئيسا
علاوي مسعودة	أستاذة محاضر "أ"	جامعة قاصدي مرباح –ورقلة-	مناقشا
زاوي منال	أستاذة محاضر "أ"	جامعة قاصدي مرباح –ورقلة-	مؤطرا
خلاصي أسماء	أستاذة محاضر "ب"	مركز جامعي –مغنية-	مساعد مؤطر

السنة الجامعية 2018 / 2019

الإهداء

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف المرسلين ... انقضت خمس سنوات بحلوها ومُرّها وتعبها وعنائها .. وكان وراء كلّ نجاح فيها أناسٌ لم يتوانوا لحظةً عن مساندتي

إلى من علَّمني الحُب بأسمى معانيه .. إلى من ينبض القلب باسمه .. وتشرق شمس عمري عند رؤيته .. إلى من بذل حياته في سبيل راحتنا .. إلى طمأنينة القلب .. إلى الكتف التي أستند عليها حين يثقل العالم كاهلي.

أبي الغالي

إلى العظيمة .. الغالية .. سر نجاحي في هذه الحياة .. إلى ملاذ القلب وملجأ الروح .. إلى من لاتنصفها الكلمات .. إلى من اختزلت جمال الدنيا كله في حسنها وحنانها .. إلى نور عينَيّ ..

أمي الغالية

إلى من لاتحلو الحياة إلا بوجودهم إخواني الأعزاء : قصي، محمد وائل، سهيل، نزار، ضرار، براء

إلى جميلاتي الصغيرات الى فرح البيت وسروره أخواتي الغاليات : ميس، سندس، أميمة

إلى ريحانة القلب .. إلى زهرتي الفواحة .. وبيت أسراري .. إلى الروح التواقة .. إلى من كانت بجانبي في كل خطوة .. إلى جميلتي سليمة

إلى جميلات المشروع إلى صانعات الفكر سفيرات أصبوحة _180

إلى أخت لم تلدها أمي إلى نعمة من عند الله إلى أنا في بلد ثاني مرام محمود

إلى من قضيت معهم أجمل اللحظات .. وتشاركنا الهموم والآمال و الآلام .. إلى من تحلو الحياة معهم..

أصدقائي جميعاً

إلى أساتذتي وآنساتي الأفاضل في جميع المراحل الدراسية وفي المسجد .. جزاكم الله عني كل خيرٍ .. لولاكم لما خطونا خطوة نحو النجاح..

*إلى كل من كان له أثر طيب في حياتي ..أو حمل لي في قلبه وداً..

بلقيس

شكر وعرفان

الحمد لله على كل نعمه الصغيرة قبل الكبيرة منها، الحمد لله الذي وفقني على القيام بهذا العمل.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتورة زاوي منال، أستاذة محاضرة "أ" بجامعة قاصدي مرباح - ورقلة لقبولها الإشراف على هذا العمل و التي كانت لي المشرف و الموجه والحافز وذلك عبر نصائحها و إرشاداتها القيمة خلال انجاز هذا العمل القيم .

كما أتقدم بالشكر الخالص إلى الدكتور مخلفي طارق، أستاذ محاضر "أ" بجامعة قاصدي مرباح – ورقلة لقبوله ترأس لجنة المناقشة بالإضافة الى تعاونه اللامتناهي و نصائحه القيمة.

كل الامتنان و التقدير إلى السيدة الدكتورة علاوي مسعودة، أستاذة محاضرة "أ" بجامعة قاصدي مرباح - ورقلة لقبولها تقييم أطروحتي و الوقت الذي ستكرسه من اجل تفحصها.

إلى الدكتورة رحيم أم الخير، أستاذة محاضرة "أ" بجامعة قاصدي مرباح - ورقلة، الدكتورة بن ساسي شيماء بالإضافة إلى طلبة الدكتوراه بجامعة قاصدي مرباح – ورقلة : خضراوي عباس، سعيدة بن فردية وطواهري تاتو، شكرا على كل الدعم المعنوي والمساعدات والنصائح المقدمة من طرفكم.

لا أنسى التوجه أيضا بالشكر إلى كل عمال المخبر الذين سهروا على توفير كل المتطلبات من مواد و أجهزة و أدوات.

و أتقدم بخالص الشكر إلى كل إنسان علمني حرف و جعلني في هذه المرتبة التي أنا عليها.

الفهرس

الصفحة	العنوان
2	المقدمة..
	الباب الأول: الجزء النظري
	الفصل الأول: دراسات حول النبتة
5	I_I_1_النباتات الطبية.
5	I_I_1_1_تعريف النباتات الطبية..
5	I_I_1_2_ دراسة النباتات الطبية...
6	I_I_2_النبتة المدروسة نبتة ضرم المكور L.Stoechas..
6	I_I_1_نبات ضرم المكور ووصفه..
7	I_I_2_2_مناطق انتشار النبتة..
7	I_I_2_3_تصنيف النبتة العلمي..
8	I_I_2_4_إستعمالاتها في الطب الشعبي..
8	I_I_2_5_الدراسات السابقة..
	الفصل الثاني :المواد الفعالة
11	I_II_1_بعض مواد الأيض الثانوي..
11	I_II_1_1_الفلافونيدات...
11	I_II_1_1_1تعريف..
12	I_II_1_1_2_تصنيف الفلافونيدات...
13	I_II_1_1_3_التصنيع الحيوي للفلافونيدات..
16	I_II_1_1_4_ خواص الفلافونيدات..
17	I_II_1_2_ التربينات..
17	I_II_1_2_1_ تعريف ....
17	I_II_1_2_2_تصنيف التربينات ....
18	I_II_1_2_3_الاستعمالات المختلفة لتربينات...
18	I_II_1_3_القلويدات ....
18	I_II_1_3_1_ تعريف ....

I_II_1_3_2_التصنيف 18
I_II_1_3_3_خصائص 19

الفصل الثالث: الدراسة البيولوجيا

I_III _الدراسات البيولوجية........
I_III _1_ مضادات الأكسدة........ 21
I_III _1_1_ مدخل........ 21
I_III _1_2_تعريف مضادات الأكسدة 21
I_III _1_3_آلية عمل مضادات الأكسدة 21
I_III _2_مضادات البكتيريا 22
I_III _2_1_تعريف البكتيريا........ 22
I_III _2_2_خصائص البكتيريا........ 22
I_III _3_طرق الفصل........ 22
I_III _3_1_كروماتوغرافيا العمود........ 23
I_III _3_2_كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM........ 23

الباب الثاني : الجزء العملي

الفصل الأول: الدراسة الفيتوكيميائية

II_I_1 الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة L. Stoechas 26
II_I_1_1 المادة النباتية........ 26
_I_1_2 الاختبارات الفوتوكيميائية الأولية لنبتة........ 27
II_I_1_3 الاستخلاص........ 27
II_I_1_4 الفحص الكروماتوغرافي للمستخلصات........ 30
صل والتنقية........ 30
تحضير العمود........ 30
II_I_1_5_2 تحضير المستخلص........ 31
II_I_1_6_نتائج الدراسة الفيتوكيميائية........ 33
II_I_1_6_1_نتائج الاستخلاص........ 33
II_I_1_6_2_نتائج الفصل........ 34

الفصل الثاني: الدراسة البيولوجية للنبتة

1_II_II _ الدراسة التحليلية الكمية لمستخلصات الجزء الهوائي لنبتة L. Stoechas 37

1_1_I التقدير الكمي للفينولات.. 37

2_1_II_II التقدير الكميي للفلافونيدات 38

3_1_I التقدير الكميي للعفصينات... 38

2_I _ دراسة الفاعلية المضادة للاكسدة 39

1_2_I اختبار *DPPH.. 39

2_2_I اختبار موليبدات الفوسفات... 41

3_II_II _ الدراسة البيولوجيا دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا.. 42

1_3_II_II تحضير الأقراص.. 42

2_3_II_II تحضير الوسط الزراعي البكتيري... 42

3_3_II_II تحضير المعلق البكتيري.. 42

4_3_II_II وضع الأقراص 43

4_II_II _ نتائج التحليل الكمي لمستخلصات النبتة... 44

1_4_II_II التقدير الكمي للفينولات.. 44

2_4_II_II التقدير الكمي للفلافونيدات.. 45

3_4_II_II التقدير الكمي للعفصينات... 45

5_II_II نتائج الفاعلية المضادة للأكسدة.. 47

1_5_II_II نتائج ال DPPH.. 47

2_5_II_II نتائج موليبدات الفوسفات... 51

6_II_II نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا... 51

الخاتمة.. 53

المراجع... 55

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
الجدول(I-1)	**التصنيف العلمي لنبتة**	**7**
الجدول(I-2)	**جدول الدراسات السابقة**	**8**
الجدول(I-3)	**جدول الكسور**	**31**
الجدول(II-1)	**نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية**	**33**
الجدول(II-2)	**مردود الإستخلاص**	**33**
الجدول(II-3)	**نتائج التقدير الكمي للفينولات**	**44**
الجدول(II-4)	**نتائج التقدير الكمي للفلافونيدات**	**45**
الجدول(II-5)	**نتائج التقدير الكمي للعفينات**	**46**
الجدول(II-6)	**نتائج التثبيط بالنسبة للمستخلصات**	**48**
الجدول(II-7)	**نتائج القدرة الإرجاعية للموليبدات**	**50**
الجدول(II-8)	**نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا**	**51**

قائمة الصور والأشكال

الصورة/ الشكل	العنوان	الصفحة
الصورة (I-1)	صورة نبات L.Stoechas	6
الصورة (I-2)	صورة توضح مكان انتشار نبات L.Stiechas	7
الشكل (I-1)	الهيكل الأساسي للفلافونيد	11
الشكل (I-2)	أهم أقسام الفلافونيد	12
الشكل (I-3)	تكوين حمض(C6-C3 Ac.p-Coumarique) إنطلاقا من الغلوكوز مرورا بحمض الشيكيميك	14
الشكل(I-4)	بعض الهياكل الفلافونيدية التي تنحدر منالشالكون	16
الشكل(I-5)	وحدةالإيزوبران	17
الصورة (II-1)	المادة النباتية بعد التجفيف والتقطيع	26
الصورة (II-2)	مكان القطف	26
الصورة (II-3)	جهاز المبخرالدوارالمستعمل في عملية الاستخلاص	28
الصورة (II_4)	ترشيح العينة بعد عملية النقع	29
الصورة (II-5)	صورة من عملية الاستخلاص سائل-سائل	29
الشكل (II-2)	مخطط الاستخلاص	30
الصورة (II-6)	عمود الفصل الكروماتوغرافي	31
الشكل (II-3)	تفاعل مضاد الأكسدة	39
الصورة (II-9)	تحضير الأقراص	42
الصورة (II-10)	المعلق البكتيري	43
الصورة (II-11)	وضع الأقراص	43
الصورة (II-7)	نتائج المركبينP1وP2 على ورق ccm	34
الصورة(II-8)	المركب P3 على الCCM	34
الشكل(II-4)	قيم كمية الفينولات في المستخلصات	44
الشكل(II-5)	قيم كمية الفلافونيدات في المستخلصات	45
الشكل(II-6)	قيم كمية العفصينات في المستخلصات	46
الصورة (II-12)	نتائج الفاعلية المضادة للأكسدة	34

قائمة المنحنيات

المنحنى	العنوان	الصفحة
المنحنى (II-1)	المنحنى القياسي لحمض الغاليك	37
المنحنى (II-2)	المنحنى القياسي لمركب الكيرسيتين	38
المنحنى (II-3)	المنحنى القياسي لمركب الكاتشين	39
المنحنى (II-4)	منحنى CI لحمض الأسكوربيك	40
المنحنى (II-5)	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك	41
المنحنى (II-6)	منحنى نسبة التثبيط لمستخلص الكلوروفورم في إختبارالDPPH	46
المنحنى (II-7)	منحنى نسبة التثبيط لمستخلص الأسيتات في إختبار الDPPH	46
المنحنى (II-8)	منحنى نسبة التثبيط لمستخلص البيتانول في إختبار الDPPH	47
المنحنى (II-9)	منحنى القدرة الإرجاعية لمستخلص الكلوروفورم في إختبار الموليبدات	48
المنحنى (II-10)	منحنى القدرة الإرجاعية لمستخلص الاسيتات في إختبار الموليبدات	48
المنحنى (II-11)	منحنى القدرة الإرجاعية لمستخلص البيتانول في إختبار الموليبدات	49

قائمة الرموز

الرمز	المدلول
L	Lavanula
CCM	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
TAC	القدرة لمضادة للاكسدة الكلية
IC_{50}	تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50% من جذر ال DPPH
DPPH	الجذر الحر 2.2depheny-1-picrilhydrazyl
EP	مستخلص ايثر البترول
n-but	مستخلص البيتانول
البكتيريا E	Escherichia coli
البكتيريا P	Pseudomonas aerugimos
البكتيريا S	Staphylococcus aureus

مقدمة

المقدمة :

خلال الالاف من السنين التي عاش فيها الإنسان على وجه الأرض احتك بالطبيعة كثيرا ،. فالحشد الهائل من النباتات المحيطة به والتباين الكبير بينه وبين الحاجة إليها ولد لديه القدرة على تلك الصالحة للأكل أو تلك التي يستعملها كوقود و النباتات الطبية من السامة . حيث تشير كل من الحضارات المختلفة كالحضارة الصينية والهندية و حضارة شمال إفريقيا أن الإنسان استعمل النباتات و الأعشاب في علاج بعض الأمراض التي كانت تصيبه ، أو تصيب حيواناته الأليفة، و استخدمها إما في صورتها الطبيعية، أو مستخلصة كالزيوت الأساسية وهذا لفترة زمنية تقارب 6000 سنة .(Fang،1979)

يعد المجتمع العربي من أحرص المجتمعات على تدوين و تطوير استخدام النبات في معالجة الأمراض ، فقد برع الكثيرون منهم في هذا المجال حتى وصل هذا إلى البلدان المجاورة ، لذلك ارتأينا أن نتطرق في هذه الدراسة إلى أحد النباتات المعروفة في بلادنا بالأساليب العلمية ، ووقع اختيارنا على نبتة *Lavandula Stoechas* التي لها فوائد جمة اذ تستعمل ضد نزلات البرد وتستع مل كمكمد للجروح والالتهابات .... الخ .

والهدف من دراستنا هو فصل المركبات الفلافونيدية من النبتة ودرا سة الفاعلية ضد الأكسدة والفاعلية ضد البكتيريا لمختلف المستخلصات ، ومن أجل انجاز هذا العمل تم تقسيمه الى ثلاث أقسام :

الفصل الأول : الجانب النظري وتطرقنا فيه إلى الدراسة الن ظرية للنبتة وبعض مواد الأيض الثانوي إضافة إلى الاختبارات التي ستجرى في هذا العمل.

الفصل الثاني : الجانب العملي وقمنا بشرح كل خطوات العمل فيه.

الفصل الثالث : النتائج ومناقشتها وتم فيه عرض النتائج ومناقشتها.

وفي الأخير الخاتمة التي لخص فها زبدة العمل.

الباب الأول

الجزء النظري

الفصل الأول

دراسات حول النبتة

الفصل الاول : دراسات حول النبتة

I_I_1 النباتات الطبية

I_I_1_1 تعريف النباتات الطبية

عرف العالم Dragendroff أن كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي . و يدعى النبات نباتا طبيا إذا أمتلك عضو على الأقل من أعضائه خصائص علاجية. وأكثر دقة ، يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة على مادة كيميائية فعالة واحدة أو أكثر بتراكيز منخفضة أو مرتفعة ، ولها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية أو في صو رة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا. النباتات الطبية لها القدرة على إنتاج نوع أو عدة أنواع من المواد الفعالة، وهذا لا يعني أن كل ما تنتجه النبتة هي مواد فعالة، بل هناك مواد غير فعالة وليس لها تأثير طبي مثل : السيليلوز ومعظم مكونات خلايا النبات . إذا عين نبات على أنه نبات طبي ، فإنه يدرج ضمن الدساتير الدوائية (Pharmacopia (لكن هذه الأخيرة يمكن أن تضمن نباتات ليست طبية إلا أنها مستعملة في الصيدلية.(العابد،2009).

I_I_1_2 دراسة النباتات الطبية

على العموم الاستعمال التقليدي هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطات الفيزيولوجية أو الطبية لأي دواء نباتي الأصل، وذلك من خلال استخدامه في مجال الطب الشعبي بوصفة تقليدية محددة، فإن أول عمل يقوم به الباحث هو استخلاص وتنقية جميع المكونات الفعالة المعروفة من أعضاء النبات المختلفة ثم تتبع بدراسة خواص المادة وصفاتها الكيميائية وتعين التركيب البنائي ، مع إجراء بحوث معمقة لدراسة التأثيرات السمية والعلاجية والجرعات المسوح بها ودواعي استعمالاتها من عدمه .كذلك يمكن إدراج بعض النباتات في قائمة النباتات الطبية إذا أمكن فصل و استخلاص بعض المكونات الطبيعية منه، والتي ليس لها أثر علاجي، وهي على صورتها المفصولة إلا أنه يمكن استخدامها كمواد أولية في تحضير بعض المواد الطبية. والدراسة الدقيقة للنباتات الطبية يجب أن تكون وفق منهجية موجهة ومرتبة، ويجب إتباعها خطوة بخطوة للوصول إلى الهدف (العابد،2009).

I_I_2_النبتة المدروسة نبتة ضرم المكور (*Lavandula Stoechas*)

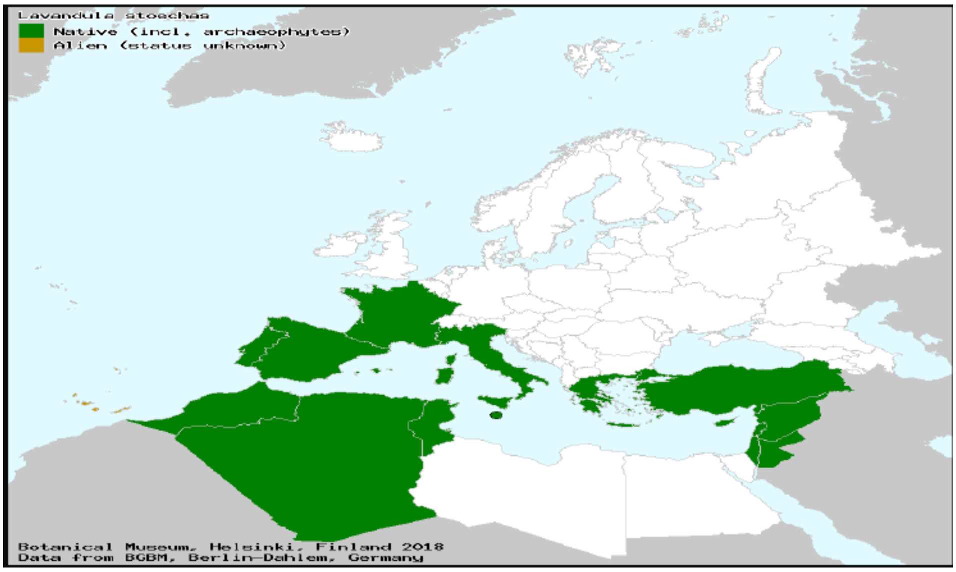
I_I_2_1_ضرم المكور ووصفه

شجيرة معمرة عطرية ليفية من فصيلة الشفويات تنمو في الأحراج والغابات، وتنمو فوق التربة الرملية السليسية بإقليم التل كله تعلو من 20 إلى 50سم. سيقانها آثيرة قائمة مربعة آثيرة الأوراق الرمادية اللون، الزباء النصل المنعطف الأطراف إهليليجية الشكل، أذينية.الضيقة، أزهارها سنابل مربعة التصفيف تقوم على ضمة من القنابات. أزهارها بنفسجية اللون، أنبوبية. العليا منهما لها فصان والسفلى لها ثلاث فصوص، الشكل، ثنائية الشفاه الأسديات داخلية وكذالك ذلك الثمار المنغطسة في الكم. والحلحال حريف الطعم مع مرارة يسيرة(1997،حليمي).

صورة (I-1) : صورة لنبات*L. Stoechas*

I_I_2_2_ مناطق انتشار النبتة

تتواجد نبتة ضرم المكور *L. Stoechas* في مناطق حوض البحر الأبيض المتوسط وبلاد الشام كما تظهره الخريط أدناه.(Moncef،2017)



صورة(I-2) : صورة توضح إنتشار نبات *L. Stoechas*

I/2_3_ تصنيف النبتة العلمي

الجدول (I-1): يمثل التصنيف العلمي للنبتة

المملكة	النباتية
النطاق	حقيقيات النوى
الفرق العليا	نبات أرضي
القسم	النباتات الوعائية
الشعبة	مغطاة البذور
الطائفة	ثنائيات الفلقة
الرتبة	الشفويات *Lamiales*
الفصيلة	الشفوية *Lamiaceae*
الجنس	الضرم *Lavandula*
النوع	المكور *Stoechas*
الإسم العلمي	*Lavandula Stoechas*

I_2_4_ إستعمالاتها وفوائدها في الطب الشعبي

مفتح و محلـل، مفـرح، مقـوى للقلب وينقــي الدمـاغ ويذكيه. وفعلــه في تنقيــة الصدرمن المواد والسعال جيد للغايـة طبيخـا وإن شرب بالسكنجبين كان أصلـح والمنقـوع منه في العصيرلايعدلـه شيء في تنقيـة الكلى والطحال والمعدة والكبـد. وخلطـه مع اللبـان يصلح أمراض المقعـدة شربـا وإحتمــالا . ويحـد البصـر وشربـه يسكن المغص و الرياح .(1997،حليمي)

لنبتة *L.Stoechas* فوائد كثيرة كما جاء على لسان الأشخاص الذين لهم تجارب عديدة مع الأعشاب الطبية فمما ذكر عنها أنها مفيدة للأمراض الصدرية ونزلات البرد ، كما يستعمل مغلى العشبة كمكمد للجروح ويمكن غرغرته أيضا لتخلص من الالتهابات داخل الفم ، وتستعمل العشبة أيضا كفاتح للشهية ،ويقال أن العطر المستخرج من العشبة يفيد الصرع .

I_2_5_ بعض الدراسات السابقة

جدول(I-2) : جدول الدراسات السابقة

الدراسة	المصدر
تم في هذا العمل الدراسة الفيتو كيميائية لنبات *Lavandula stoechas* المتواجد في المغرب حيث تم الكشف عن العديد من العائلات اهمها الفلافونيدات ، القلويدات ، وجود الصابونيزدات .... الخ	Phytochemical screening of a medicinal plant: Lavandula stoechas (Lamiaceae(
تم في هذه العمل دراسة النشاط الحيوي والتخليق الحيوي لمركبات التربينات المتطايرة ل *Lavandes*.	Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Compose Terpéniques Volatils des *Lavandes* Ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique
وبحكم أن نبتة *Lavandula stoechas* عطرية فقد أجريت العديد من الدراسات حول زيوتها	Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and

الأساسية من بينها هذا العمل الذي درس امكانية هذه الزيوت في أن تكون مضادة للالتهابات أو الفطريات .	Thymus herba-barona essential oil.

ومن خلال الدراسات التي إطلعنا عليها (الدراسات السابقة) نجد أن العمل الذي نحن في صدد إنجازه يتميز بالأصالة و تتجلى أصالته في أن المنطقة (بجاية) التي أخذنا منها العينة لم تدرس قبل على المستوى الوطني.

الفصل الثاني

المواد الفعالة

II الفصل الثاني : المواد الفعالة

I_II_1 بعض المواد الفعالة في النبتة

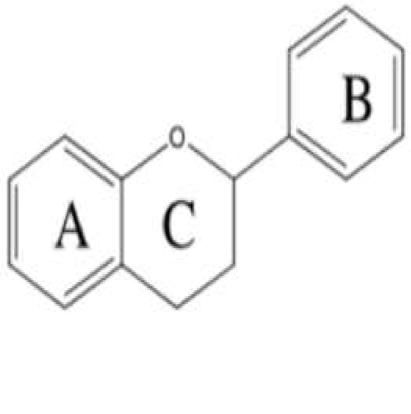
I_II_1_1 الفلافونيدات

I__II_1_1_1 تعريف :

يشير مصطلح "الفلافونويد" إلى مجموعة واسعة جدًا من المركبات الطبيعية التي تنتمي إلى عائلة البوليفينول. كما أنها تعتبر أصباغ عالمية تقريبا النباتات. جميع مركبات الفلافونويد لديها نفس العنصر الهيكلي الأساسي.

الفلافونويد هي فئة من المستقلبات الثانوية موزعة على نطاق واسع في المملكة النباتية. هذه أصباغ عموما تكون مسؤولة جزئيًا عن تلوين الزهور والفواكه وأحيانًا الأوراق. كما أن للفلافونويدات ذات خصائص مختلفة: مضادات الأورام ومضادات السرطانات ومضادات الأكسدة المضادة للالتهابات ومضادة لارتفاع ضغط الدم [Gilg،1984]. ومن المعروف أيضًا أنها تعدل نشاط العديد من الإنزيمات أو المستقبلات الخلوية. يشمل مصطلح الفلافونويد مجموعة واسعة جدًا من مركبات البوليفينول الطبيعية.هناك أنواع مختلفة من النوى: فلافون ، فلافونول ، فلافونونول .... إلخ.

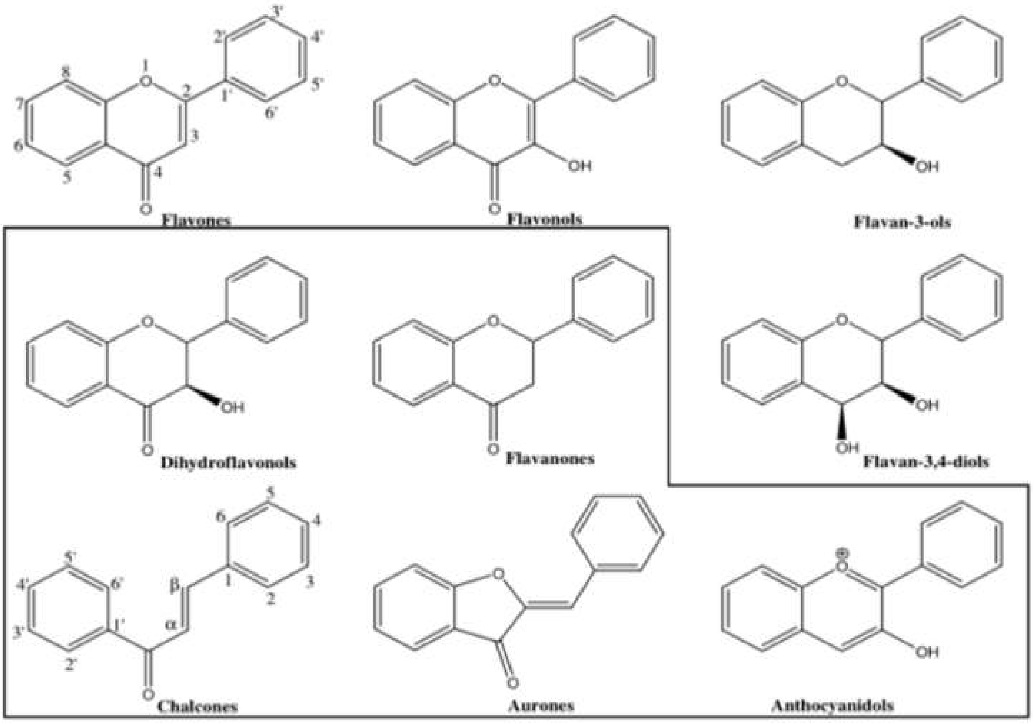
الفلافونويدات جميعها لها أصل حيوي مشترك. يتم تعريف هذه المجموعة من المركبات ببنية عامة C15 ، تتميز بتسلسلAr-C3-Ar.



الشكل (I_1): الهيكل الأساسي للفلافونيد

I_II_1_1_2_ تصنيف الفلافونيدات

يمكن تجميعها في أكثر من عشرة فصول وفقًا لدرجة أكسدة نواة الحمر المركزية ، والتي يمكن فتحها وإعادة تدويرها في نمط فوراني (dihydrofuranone). يوضح الشكل 2 الفئات الرئيسية من الفلافونويد بشكل عام ، يمكن أن تتأكسد مركبات الفلافونويد في الموضع 3 و 5 و 7 و 3 'و 4' و 5 'و / أو 6'. واحدة أو أكثر من مجموعات الهيدروكسيل هذه كثيراً ما يتم ميثليتها أو أسيتيلها أو مادة سلفينيل أو كبريتات. تسمى الأشكال الحرة ، بدون السكريات المرفقة ، الجينات أو الغليكونات (Boudjelal، 2013)الفلافونويدات الصغرى" ممثلة بالعاشرون ، ثنائي هيدروكالكون ، الأورون ، الفلافونون ، ثنائي هيدروفلافونول وأنثوسيانيديينز (هياكل مؤطرة في الشكل 2) (Azza، 2015).



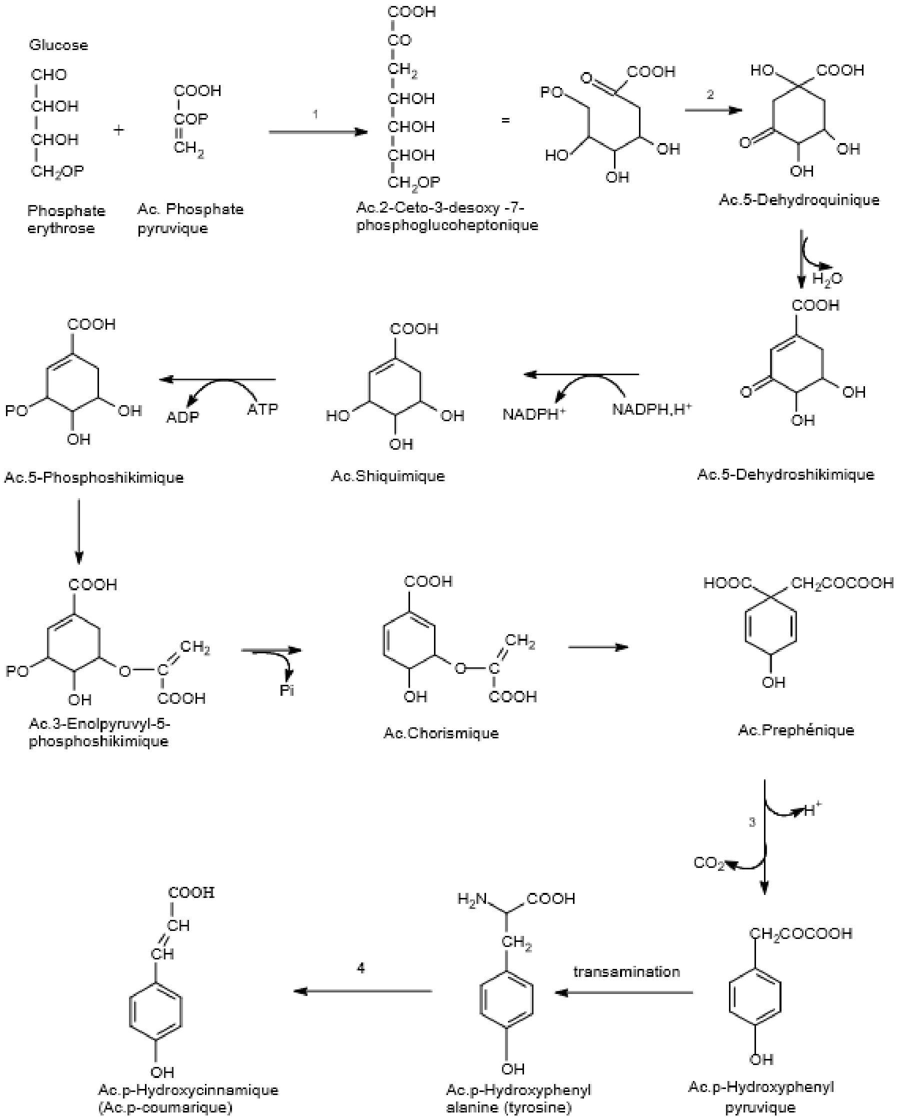
الشكل (I_2): أهم أقسام الفلافويدات (Boudjelal، 2013)

I_II_1_1_3_ التصنيع الحيوي للفلافونيدات

إن الإ صطناع الحيوي للمركبات الطبيعية ليس الا الطريقة التي تتكون بواسطتها هذه المركبات داخل مصادرها الطبيعية . و ذلك عن طريق تفاعلات الأكسدة، الارجاع، الالكلة، الحلمهة .. الخ؛ و يكون هذا طبعا بتوافر إنزيمات خاصة تساعد في هذه التفاعلات . و لمتابعة آلية هذا الأخير تم إجراء تجارب عدة باستعمال النظائر الموسومة C^{14} المشع، فمثلا R " لاحظ الباحث Robinsonسنة 1936 (Robinson،1936) أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونيدية مختلف جوهريا فاستنتج أنه ليس لهما نفس الأصل الوراثي الحيوي و عليه تتم عملية الاصطناع الحيوي خلال ثلاث مراحل:

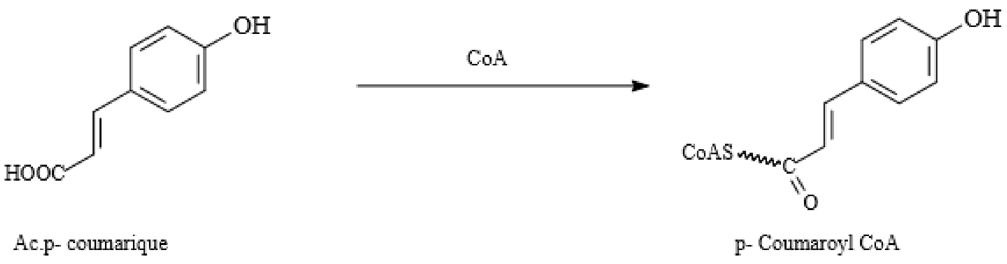
II_1_1_3_أ المرحلة الأولى

- طريق الشيكيميك : أثبت الباحث "Davis" سنة 1955 (Davis،1955) دور حمض الشيكيميك في تكوين الحلقة B والسلسلة الكربونية الثلاثية (C_3) وذالك بدأ من الغلوكوز، كما هو موضح في المخطط الموالي "الشكل 3" :



الشكل (3_I): تكوين حمض (C_6-C_3Ac.p-Coumarique) إنطلاقا من الغلوكوز و مرورا بحمض الشيكيميك

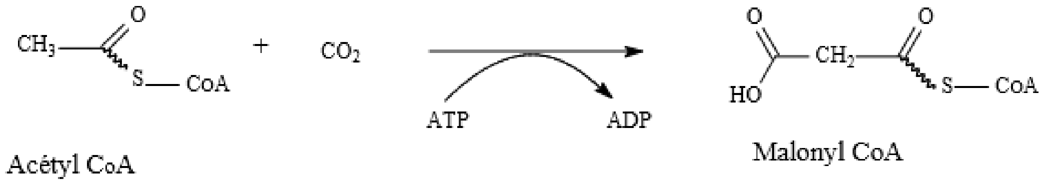
- يليه تحول الناتج و المتمثل في Ac.4-coumaroyl (Ac.p-coumarique) إلى 4-coumaroyl- CoA الذي يكون جاهزا للإتحاد مع Malonyl-CoA في مرحلة قادمة.



I_II_1_1_3_ ب المرحلة الثانية

- طريق الخلات :

تتشكل الحلقة (A) من تكاثف ثلاث وحدات من CoA-Malonyl الناتجة من تثبيت مجموعة كربوكسيل مع أستيل مرافق إنزيم (CoA-Acétyl).

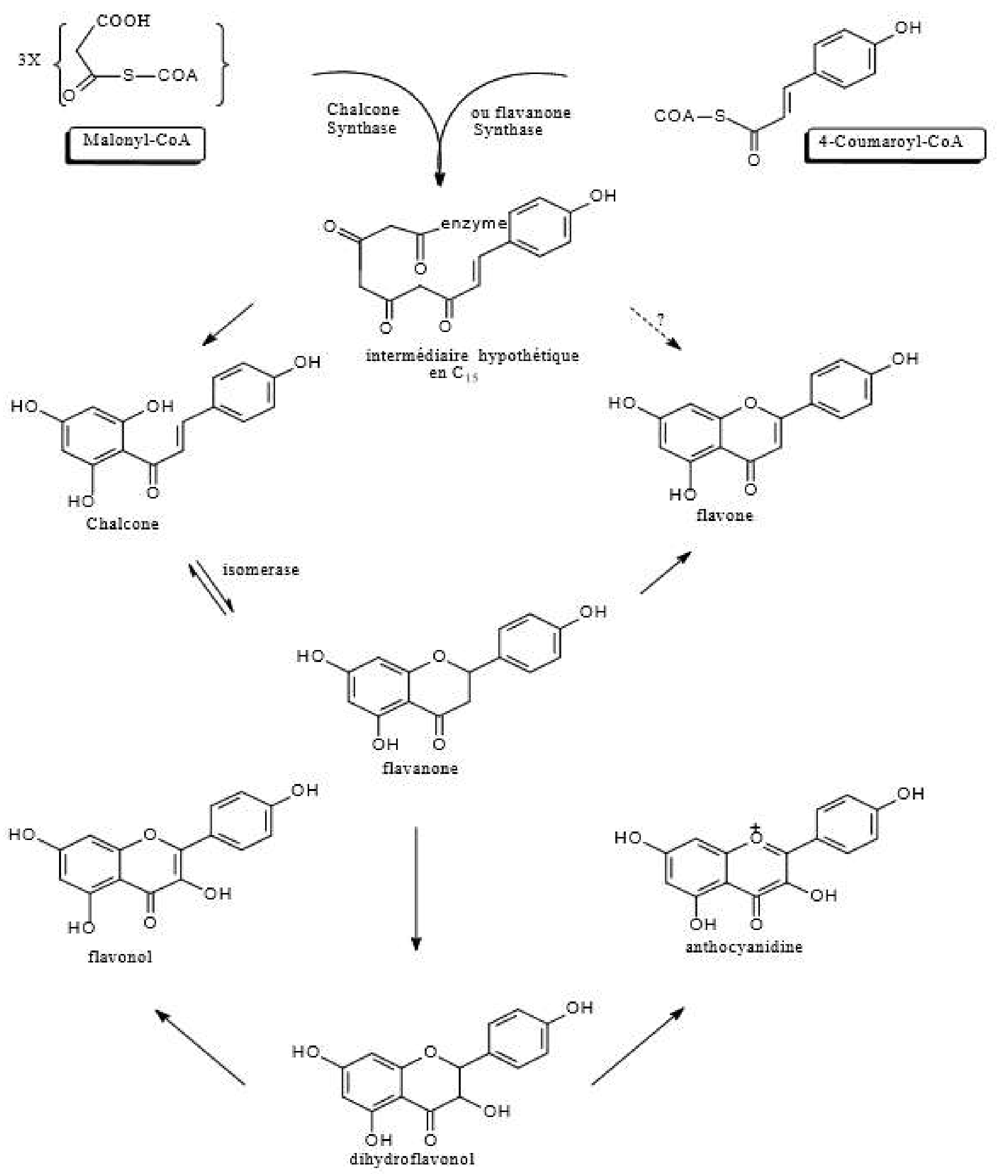


تشكيل Malonyl-CoA انطلاقا من Acétyl CoA و CO_2

I_II_1_1_3_ج المرحلة الثالثة

- طريق الشالكون:

يعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تنحدر منها مختلف هياكل الفلافونيدات و الذي يتكون من تكاثف ثلاث وحدات من 4 malonyl-CoA مع - 4-coumaroyl-CoA والشكل 4 يوضح ذلك :



الشكل (I_4): بعض الهياكل الفلافونيدية التي تنحدر من الشالكون .(Robinson،1957)

I_II_1_1_4_ خواص الفلافونيدات

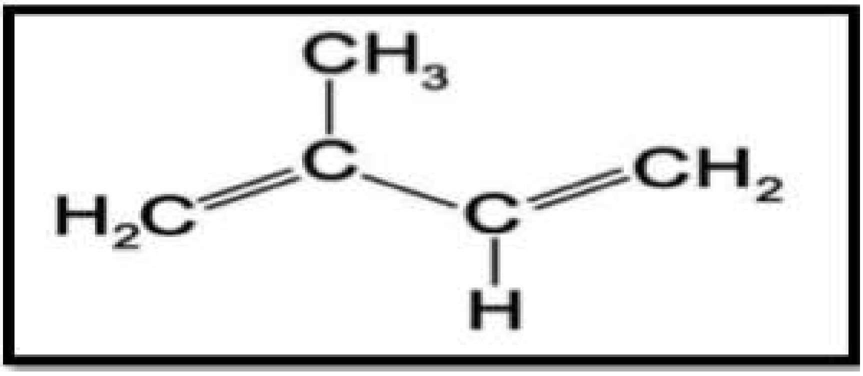
الفلافونيداتمركبات فينولية ذات صفة حمضية ضعيفة، سهلة الذوبان في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH، أما الفلافونيدات التى تحتويعلى عدد كبير من مجموعات الهيدروكسيل الحرة الأوالفلافونيدات الايتيروزيدية التي تتميز بصفة قطبية عالية فهي قابلة للذوبان في الكحولات ومختلف المذيبات العضوية القطبية، أماالفلافونيدات الأقلقطبية مثل الايزوفلافونات والفلافونونات المحتوية على مجموعة مستبدلة ميثوكسيلية، فهي قابلة للذوبان في المذيبات العضوية غير القطبية مثل:الكلوروفورم و الايثر. (عاشور،2006)

تعمل الفلافونيدات على حماية نسيج النبات تمتص الأشعة فوق البنفسجية وعليه فهي تحمي المواد الأساسية (البروتينات والأحماض النووية)من الآثار السامة لهذه الاشعاعات ،كما تساعد على انقاص عملية النتح في المناطق الجافة. (شباح،2007)

I_II_1_2_ التربينات

I_II_1_2_1_ تعريف

اقترح عام مصطلح التربين في عام 1880 ،عندما عثر على المركب $C_{10}H_{16}$ في زيت التربنين (حوه،2013)، التربينات هي مركبات هيدروكربونية طبيعية ناتجة عن تكثيف وحدات لإيزوبرين Isoprène (isoprène 5-carbone 2-méthyle-1,3-butadière) ذات 5 ذرات كربون كما هو موضح في الشكل (5) (PHILIPPE, 2007) ، والتربينات مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الكربونية المتنوعة بدءا من السلاسل الخطية البسيطة و إنتهاء إلى بنى متعددة الحلقات الكربونية (حوه،2013)، وقد تم تحديد أكثر من 36000 هياكل مختلفة ، حيث تم عزل العديد منها من الزهور ، الساق، الجذور، وأجزاء مختلفة من النبات، وكذلك يمكن أن نجدها في الحيوانات، الحشرات والكائنات البحرية (AYAD, 2008).



الشكل (I_5) : وحدة الايزوبرين (Dacosta،2003)

I_II_1_2_2_ تصنيف التربينات

تتميز التربينات بأنها تشترك في الوحدة الأساسية، و تصنف على أساس عدد الوحدات الأساسية المكررة الى: (Haba،2008)

- تربينات أحادية Monoterpénes: وحدتين من الايزوبرين أي 10ذرات كربون .
- سيسكوتربينات Sesquiterpènes :3وحدات ايزوبران أي 15ذرة كربون.

- التربينات الثنائية Diterpènes: 4 وحدات ايزوبران أي 20 ذرة كربون .
- السيسترتربينات Sesterterpènes : 5وحدات ايزوبران أي 25 ذرة كربون .
- التربينات الثلاثية Triterpènes : 6 وحدات ايزوبران أي 30 ذرة كربون .
- التربينات الرباعية tetraterpènes : 8 وحدات ايزوبران أي 40 ذرة كربون .
- متعدد التربينات Polyterpènes : تنتج عن إتحاد عدد كبير –أكثر من 40 ذرة جزيئية من الأيزوبران .

I_II_1_2_3_ الاستعمالات المختلفة لتربينات

تستخدم العديد من تربينات كإضافات في الصناعات الغذائية و مستحضرات التجميل والكثير منهم لديهم أنشطة بيولوجية تتمثل في : مضادات للميكروب، مضادة للسرطان، مضادة للألتهابات، مضادات للهيستامين (أحاديات وثنائيات التربين) ، مسكنات (التربينات الثلاثية) مخدر، وكذلك مدر للبول (Ayad، 2008) ، ويتم استخدام التربينات الثنائية في العلاج الكيميائي لسرطان الرحم والثدي وبعض أنواع سرطان الرئة (Oswald, 2006) .

I_II_1_3_ القلويدات

I_II_1_3_1_ تعريف

أدخل مصطلح قلويد في عام 1818 م من طرف (Meissner (وهذه الكلمة تطلق على كل مركب عضوي قاعدي له الصفات القلوية ومنها اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد وهي القاعدة النباتية و هذا راجع إلى قواعد نتروجينية معقدة التركيب الكيميائي.(العابد،2009)

I_II_1_3_2_ التصنيف

توجد العديد من التصنيفات للقلويدات تبعا لمصادرها وتأثيراتها وكذلك للأحماض الأمينية المخلقة منها (أبو زيد ،2005) وقد تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها، ولكن تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون استخدام مثل هذا التقسيم.
وهناك تصنيف جامع إلى حد ما للأنواع المختلفة من القلويدات (الحازمي، 1995) وتنقسم إلى ثلاثة أقسام رئيسة هي :قلويدات الأولية، القلويدات الحقيقة، و القلويدات الكاذبة (Boukri،2014).

I_II_1_3_3_خصائص

بعض القلويدات هي أدوية معروفة بفاعيليتها العلاجية المؤكدة مثل الفينبلاستين ، يستعمل لعلاج أنواع أمراض السرطان، فالبعض من هذه المركبات تؤثر في مستوى النظام العصبي المركزي كالمحثات مثل (الكافيين)أو مثبطات والبعض الاخر يؤثر على مستوى الجهاز العصبي الذاتي بعض الأنواع مثل أتروبين تؤثر مباشرة على الجسم حيث تساعد على تخفيف التشنج وتسكين الألم (علاوي،2003)

الفصل الثالث

الدراسات البيولوجية

الفصل الثالث : الدراسات البيولوجية

I_III_1 الدراسات البيولوجية

I_III_1_1 مضادات الاكسدة

I_III_1_1_1 مدخل

.إن جزيئات الأكسجين التفاعلية ROS تنتج طبيعيا خلال التمثيل الغذائي، وقد وضعت الحاليا عدة آليات وقائية لمنع تشكيل ROS أو إلزالة السموم من ROS .هذه اآلليات تستخدم جزيئات تسمى مضادات الأكسدة، هذه األخيرة هي المادة التي تمنع أو تؤخر و بتراكيز منخفضة جدا أكسدة الركيزة كما تتصف بقدرتها و قابليتها على أن تتأكسد و لذلك تساهم في إيقاف سلسلة التفاعالت الناتجة من الجذور الحرة و بالتالي الحد من تدهور الخاليا و ضعفها و لذلك فإن لمضادات الأكسدة فوائد عديدة منها الجذور الحرة تنتج داخلياً زيادتها في الجسم الحد من انتشار و زيادة استمرار بعض األمراض، أو لن تساهم. (بن ساسي،2018)

I_III_1_1_2 تعريف مضادات الاكسدة

مضادات الأكسدة هي مجموعة من المواد التي تحمي الخلايا من الأضرار التي تسببها الجزيئات غير المستقرة و التي تعرف بالجذور الحرة ويمكن تعريفها في النظام البيولوجي على أنها أي مادة تكون بتراكيز منخفضة مقارنة بما كانت عليه المواد القابلة للأكسدة و تمنع أكسدتها ، و توجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في معظم الخضراوات و الفواكه و الأعشاب الطبية، فهي تعد كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة وعليه فدورها الأساسي هو كسر سلسلة التفاعلات الجذرية الناتجة من الأكسدة (2012،Moulay) ، (2007،Hamia) .

I_III_1_1_3 ألية عمل مضادات الأكسدة

تعمل مضادات الأكسدة على منع تكوين أومنع تأثير أصناف الأكسجين والنيتروجين الفعال الناشئين داخل الجسم والذين يؤديان الى أضرار في الأحماض النووية والدهون والبروتينات و الجزيئات الحيوية الأخرى. وتصنف المادة المضادة للأكسدة بأنها المادة التي لديها القدرة على تثبيط المادة الحرة أو تقليلها، لذا فان القليل من جزيئات مضادات الأكسدة كبعض الإنزيمات تكون غير كافية لمنع هذا الضرر تماما ، إن إزالة الجذورالحرة بواسطة مضادات الأكسدة تبدو هامة لصحة الإنسان، رغم ذلك لايمكن أن نعيش بدون جذور حرة، فالجسم يستخدم الجذورالحرة لتحطيم الجراثيم ، وتستخدم و

المشكلة تكمن في أن معظم الناس يتعرضون لكميات فائضة)زائدة(من الجذور الحرة ولكن يمكن تجنب ، أيضا في إنتاج الطاقة العوامل التي تزيد من تعرضنا للجذور الحرة أوتزيد من إنتاج أجسامنالها بتناول الأغذية الأكسدة الغنية بالمضادات كالخضروات و الفواكه (Hamia،2007) .

I_III_1_2_ مضادات البكتيريا

I_III_1_2_1_ تعريف البكتيريا

البكتيريا كائنات دقيقة الحجم ، لا ترى إلا بالمجهر ، توجد البكتيريا في كل مكان ، في الهواء وفي الماء ، وعلى جسم الإنسان ، وداخل قناته الهضمية ، وجهازه التنفسي . وتستطيع جرثومة البكتيريا العيش لأعوام طويلة متحملة جميع الأحوال غير الملائمة من إرتفاع درجة الحرارة ، أو انخفضها ، أو غير ذلك من الظروف البيئية القاسية ، وعند تحسن الظروف البيئية المحيطة تتخلص الجرثومة من الغشاء السميك ، وترجع إلى سابق عهدها نشاطا وحيوية. (العابد،2009)

I_III_1_2_2_ خصائص البكتيريا

- البكتيريا كائنات دقيقة بدائية النوى يتر او ح حجمها بين 3.0 – 2 ميكرون.

- تتميز البكتيريا ببساطة التركيب، إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبالزم الذي يحوي كروموزوما حلقيا واحدا.

- تحتوي الخلية البكتيرية على غالف قاس، متماسك، متمـــم للبكتيريا، و هو المســؤول عن حماية شكل الخلية من االضطرابات النـــاتجة عن تأثير الضغط الخارجي كالأجسام الغـــريبة. و هناك أنواع أخرى تحتوي على حافظة خارجية حول الغالف تدعى Capsule.

- درجة الحرارة المناسبة لنمو البكتيريا تتراوح بين 37-45 °م بحيث يمكنها التكاثر خلال مدة وجيزة إلى أعداد كبيرة (Emili،1973).

I_III_2_ طرق الفصل

في الفصل فإن التقنية الأساسية المستعملة لذلك هي الكروماتوغرافيا بمختلف أقسامها ، و كلمة " كروماتوغرافيا " تستخدم الآن للإشارة إلى تقنيات الفصل المختلفة تعتمد جميعها على توزيع مادة تحت الدراسة بين طورين أحدهما ثابت و الآخر متحرك؛ حيث الأول قد يكون جامدا أو سائلا ممتزا على الدعامة الجامدة أما الثاني فعادة ما يكون مذيبا عضويا . (Abd Elchakour،1987)

كما يمكن تعريف الكروماتوغرافيا على أنها طريقة فيزيائية تستعمل أساسا للفصل ، أو هي طريقة تحليلية تحضيرية لفصل المركبات و الخلائط .

و تنقسم تقنيات الفصل الكروماتوغرافي حسب ميكانيكية الفصل إلى قسمين أونمطين هامين هما كروماتوغرافيا الامتزاز (Yahiaoi،1993) و كروماتوغرافيا التوزيع ،(Abd Elchakour،1987) و بالنسبة لدراستنا الفيتو كيميائية فإن هدفنا هو التحصل على مركبات نقية لأجل ذلك يستعمل طرق فصل متتالية أهمها:

- كروماتوغرافيا العمود CC
- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

I_III_2_1 كروماتوغرافيا العمود

و هي طريقة الهدف منها هو فصل خليط معقد من المركبات الفلافونيدية تستعمل هذه التقنية من أجل فصل خليط معقد يحتوي على عدد كبير من المركبات و ليس الغرض من هذه التقنية هو الحصول على مركبات نقية و لكن الهدف الأساسي منها هو الحصول على كسور أقل تعقيدا يمكن فصبها بطرق كروماتوغرافية أخرى ، و يستعمل لهذا الغرض كدعامة ثابتة كل من(السليكاجل، السيلولوز،و متعدد الاميد).

حيث يعتبر السيليكاجال دعامة جيدة لفصل الفلافونيدات الأقل قطبية ، أما السيليلوز فيستخدم لفصل ، الفلافونيدات الجليكوزيدية خاصة على عكس متعدد الأميد الذ ي يعد أفضل دعامة لفصل المركبات الفلافونيدية على اختلاف أنواعها الجليكوزيدية و غير ذلك.

I_III_2_2 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

تستعمل هذم الطريقة لفصل عدد قليل من المركبات ، ثلاث حتى أربع مركبات على الأكثر ، وإلا فمن الأفضل الرجوع الى كروماتوغرافيا العمود .

الباب الثاني

الجزء العملي

الفصل الاول

الدراسة الفيتو كيميائية للنبتة

الفصل الاول : الدراسة الفيتوكيميائية

1_I_II الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة *L. Stoechas*

1_1_I_II المادة النباتية

تم تجميع الاجزاء الهوائية لنبتة *L. Stoechas* في بداية شهر فيفري 2019 من ولاية بجاية ، وتجفيفها تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة ، بعد التجفيف تم تقطيع النبتة قطع صغيرة وتجهيزها لعملية النقع ، حيث كان الجزء المستعمل في الدراسة هو(1126غ) .

الصورة (1_II) : المادة النباتية بعد التجفيف والتقطيع

الصورة (2-II) : مكان منطقة القطف

II_I_1_2الاختبارات الفوتوكيميائية الأولية لنبتة

قمنا بنقع 14غ من النبتة في(ايثانول +ماء) بنسبة (70_30) ، بعدها نستخدم المستخلص في الكشف عن مواد الايض .

_الكشف عن الفلافونيدات

في أنبوب اختبار نضع 1 مل من المستخلص الخام المحضر سابقا ونضيف له قطرات من HCL و قليل من Mg يسمى اختبار Shinoda ظهور اللون الأحمر دليل على وجود الفلافونيدات.

_ الكشف عن العفصينات

في أنبوب اختبار نضع 2 مل من المستخلص الخام و نضيف لها 2مل من HCL ونسخن .

_الكشف عن الصابونيزدات

في أنبوب اختبار1 مل من المستخلص الخام ونضيف له الماء ثم نرج ظهور رغوة دليل على وجود الصابونيزدات .

_الكشف عن القلويدات

في أنبوب اختبارنضع 1مل من المستخلص الخام ونضيه له قطرات من كاشف ماير تشكل راسب أبيض مصفر دليل على وجود القلويدات .

_الكشف عن الكومارين

في أنبوب اختبار نضع 1 مل من المستخلص الخام ونضيف له 1.5 مل محلول NaOH(10%) هيدروكسيد الصوديوم ،ظهور اللون الأصفر دليل على وجود الكومارينات .

_الكشف عن الكربو هيدرات

في أنبوب اختبار نضع 1 مل من المستخلص ونضيف له قطرات من محلول فيهلينج A+B ، ظهور لون أحمر آجوري جلالة على وجود الكومارين.

II_I_1_3 الأستخلاص

قمنا في هذه العملية بإتباع الخطوات التالية:

بعد القيام بعملية تقطيع للأجزاء النباتية الجافة (1126غ)،تم نقعها في خليط هيدروكحولي من الايثانول بنسبة (7/3) ثم تركت لمدة 24 ساعة ، و للحصول على كمية المستخلص بصفة كلية كررت العملية 3مرات متتالية مع تجديد المذيب كل 24 ساعة بإضافته إلى النبتة بعد ترشيحها ، ليستقبل المرشح الهيدروكحولي في دورق أثناء كل عملية ترشيح ،عندها ركز هذا الأخير حتى الجفاف تحت ضغط منخفض ودرجة حرارة (37°) أين تحصلنا على المستخلص الخام، وعاملنا هذا الأخير بالماء المقطر و تركناه للراحة مدة ليلة كاملة، بعدها رشح المحلول اين تحصلنا على الطبقة المائية حيث أجرينا عليها عملية إستخلاص من نوع سائل- سائل باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية وهي:

- إيثر البترول 3 مرات متتابعة بعد التبخير تحصلنا على 1.02 غ من مستخلص الإيثير.

- الكلوروفورم 3 مرات متتابعة بعد التبخير تحصلنا على3.01 غ من مستخلص الكلوروفورم.

- أسيتات الإثيل 5 مرات متتابعة بعد التبخير تحصلنا على ت 6.4 غ من مستخلص الأسيتات.

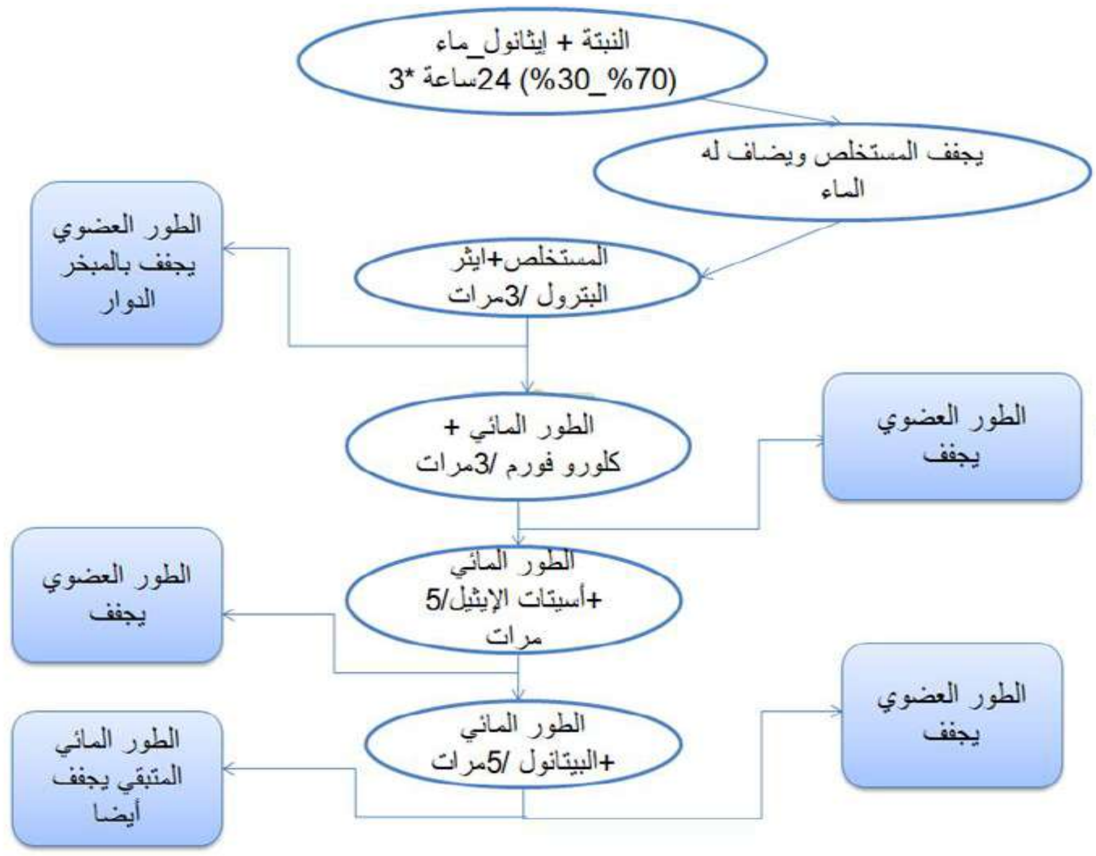
- البوتانول 5 مرات متتابعة بعد التبخير تحصلنا على 14غ من مستخلص البوتانول.

الصورة (II_3): جهاز التبخير الدوراني المستعمل في عملية الاستخلاص

الصورة (4_II) : ترشيح العينة بعد عملية النقع

الصورة (5_II) : صور من عملية الاستخلاص سائل- سائل

ونلخص خطوات هذه العملية في المخطط التالي:



الشكل(II_1): مخطط الاستخلاص

II_I_1_4 الفحص الكروماتوغرافي للمستخلصات

قمنا بإجراء فحص أولي للمستخلصات بواسطة CCM فكانت النتيجة ظهور مركبات فلافونيدية واضحة وسهلة الفصل مما جعلنا نركز على هذا المستخلص بشكل كبير، وحفظت المستخلصات الأخرى لدراسات أخرى تعزز من قيمة عملنا هذا .

II_I_1_5 الفصل والتنقية

لجأنا في عملية الفصل إلى كروماتوغرافيا العمود كفصل أولي لما يفوق 3غ مستخلص الأسيتات وكانت خطوات العمل كالتالي :

II_I_1_5_1 تحضير العمود

قمنا باحضار العمود وثبتناه على الحامل ومن ثم قمنا برصه (بالطريقة الرطبة) بسيليكاجال ممزوج ب ثنائي كلورو ميثان بعد رصه جيدا أصبح جاهزا لوضع المستخلص فيه .

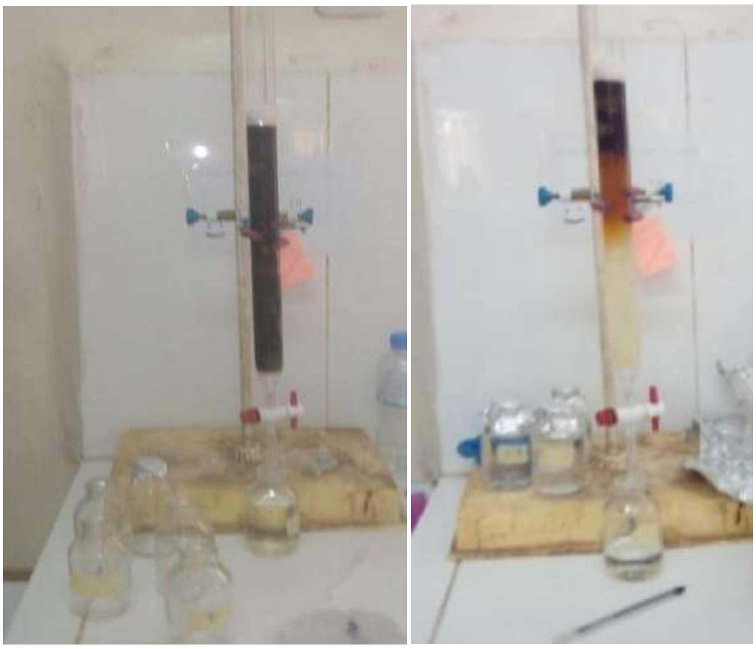
II_I_1_5_2 تحضير المستخلص

قمنا بتحضير المستخلص على شكل مسحوق وذالك بإذابة المستخلص في كمية من الميثانول ثم أضفنا له القليل من السيليكاجال حتى يتجانس، و من ثم يجفف تحت الضغط في المبخر الدوار ليصبح جاهزا للوضع في العمود .

_بعد ذالك يوضع المستخلص بعناية في العمود ثم يغسل بدفعات متتالية من المذيب ثنائي الكلورو ميثان بعدها ترفع نسبة الميثانول تدريجيا إلى أن تصل إلى 100%.

_ومن ثم تستقبل العينات أسفل العمود على شكل كسور، ثم نقوم بتركيز الكسور تحت ضغط منخفض، ليتم اختبارها بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة فيما بعد .

_كما نشير إلى أن حجم الكسر 100 مل.



الصورة (II _6): عمود الفصل الكروماتو غرافي

الجدول(II_1) يوضح الكسور المتحصل عليها :

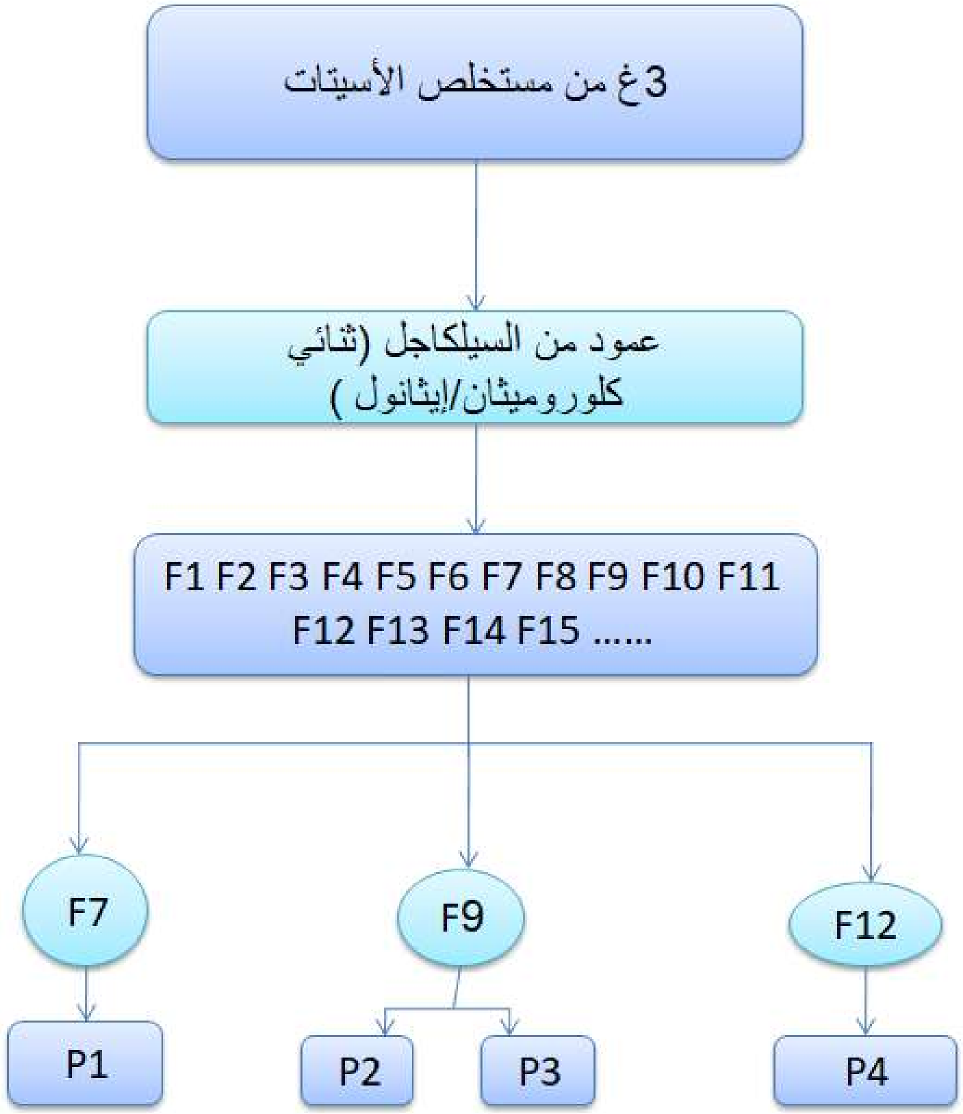
الكسور	ثنائي كلورو ميثان	ميثانول
F2_F1	%100	%0
F4_3F	%98	%2
F6_F5	%97	%3

F8_F7	%95	%5
F10_F9	%93	%7
F12_F11	%90	%10
F15_F13	%85	%15
F18_F16	%80	%20
F21_F19	%70	%30
F24_F22	%50	%50
F27_F25	%0	%100

_ أثناء عملية تركيز الكسور وبالضبط في الكسر F7 في عملية التركيز تشكلت لنا بلورات و ماهي الا ثواني حتى تبلور كل ما في الدورق قمنا بعدها باذابة ما في الدورق في ثنائي كلورو ميثان أولا وما تبقى أذيب في الميثانول ثم اختبرنا الناتجين بواسطة CCM فوجدنا أن الجزء المذاب في الميثانول عبارة عن فلافونيد نقي .

_ بعدها أكملنا عملية التركيز واختبرنا الكسور فوجدنا 2 من المركبات الفلافونيدية أحدهما في الكسر F9 والاخر في الكسرF12 بحاجة الى فصل وتنقية .

_لخصنا ما تحصلنا عليه من العمود الكروماتوغرافي و بعد عملية التركيز والفصل في المخطط التالي :



الشكل(II_2) نتائج الكسور

II_I_1_6 نتائج الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة *L.Stoechas*

II_I_1_6_1 نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية

الجدول(II_2):نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية

مواد الأيض الثانوي	المستخلص الخام
الفلافونيدات	+
العفصينات	+
الصابونيزدات	+
الكومارين	+
الكربوهيدرات	+
القلويدات	+

_من خلال النتائج المتحصل عليها من الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية تبين لنا أن نبتة L.Stoechas غنية بمنتجات الأيض الثانوي .

II_I_1_ 6_2 نتائج الإستخلاص(المردود)

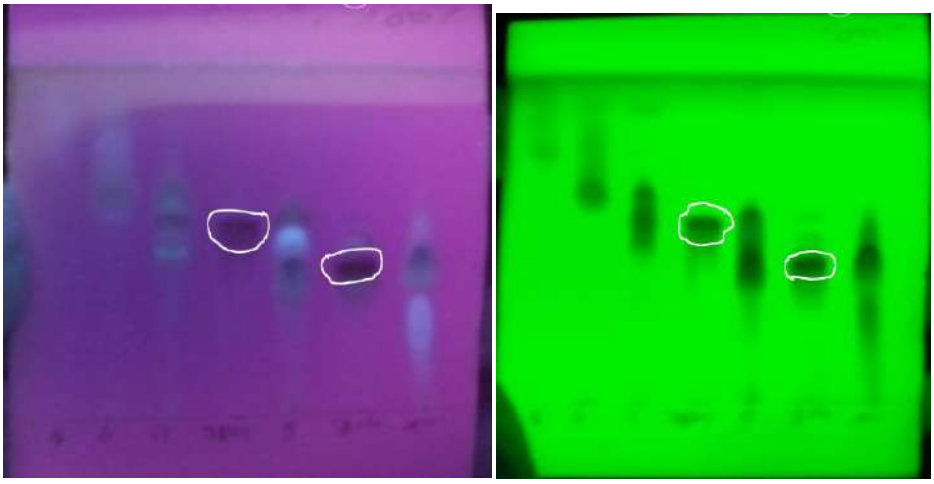
الجدول(II_3)مردود الستخلاص

المستخلصات	الكمية (غ)	المردود
الخام	314.02	%27.88
إيثر البترول	1.02	%0.32
الكلوروفورم	3.01	%0.95

الأسيتات	6.4	%2.03
البيتانول	14.01	%14.45

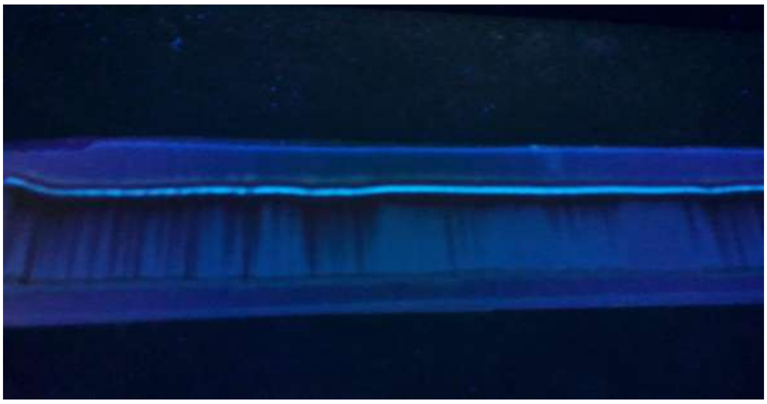
3_6_1_I_II نتائج الفصل

أظهرت نتائج الفصل فصل ثلاث مركبات P3،P2،P1 ،و حددنا العائلة للمركبين P1 وP2 إذ انهما ينتميان لعائلة الفلافونيدات بينما المركب P3 فمن المرجح أن يكون حمض فينولي .



الصورة(II_7): نتائج المركبين P1وP2على CCM

_ الCCM توضح المركبين الفلافونيديين الفصل و التنقية.



الصورة (II_8) صورة المركب P1 في ورق ccm

_الشريط الأزرق هو المركب P3 ومن المرجح أن يكون حمض فينولي .

_ونحن في صدد إنجاز التحاليل الطيفية للمركبات .

الفصل الثاني

الدراسات البيولوجية للنبتة

الفصل الثاني : الدراسة البيولوجية لنبتة

II_II_1_ الدراسة التحليلية الكمية لمستخلصات الجزء الهوائي لنبتة *L. Stoechas*

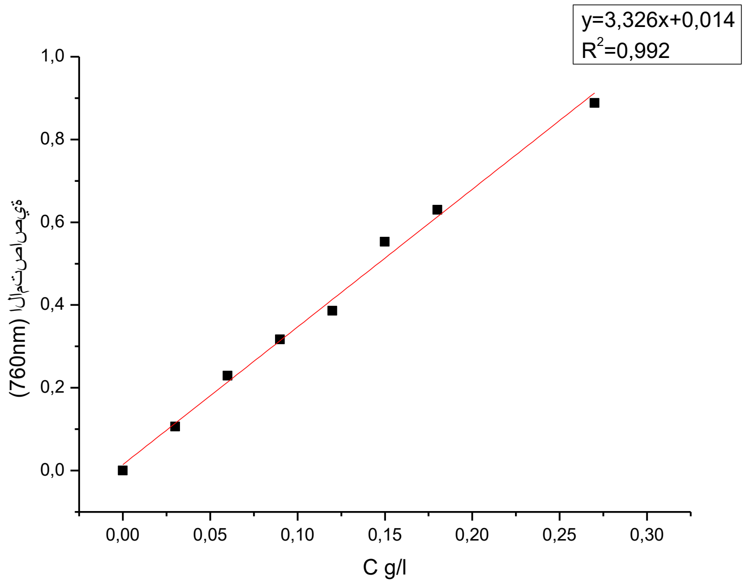
II_II_1_1التقدير الكمي للفينولات

قدرنا كمية المركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu في وسط قاعدي، وتقدر كمية الفينولات بقياس امتصاصية العينة باستخدام جهاز سبيكتروفوتوميتر UV عند طول الموجة nm760.

_ وقمنا بأخذ الغاليك كفينول مرجعي.

_ حضرنا محاليل ممدة من مختلف المستخلصات.

بعدها اخذنا 0.1 مل من كل مستخلص وأضفنا له 0.5 مل من كاشف Folin-Ciocalteu (ممدد 10مرات) بعدها نتركه مدة 5 دقائق زمن ثم نضيف له 2مل من محلول كربونات الصوديوم (20%) ونتركه مدة 30دقيقة في الظلام وفي حرارة الغرفة.



المنحنى(II_1) المنحنى القياسي لحمض الغاليك

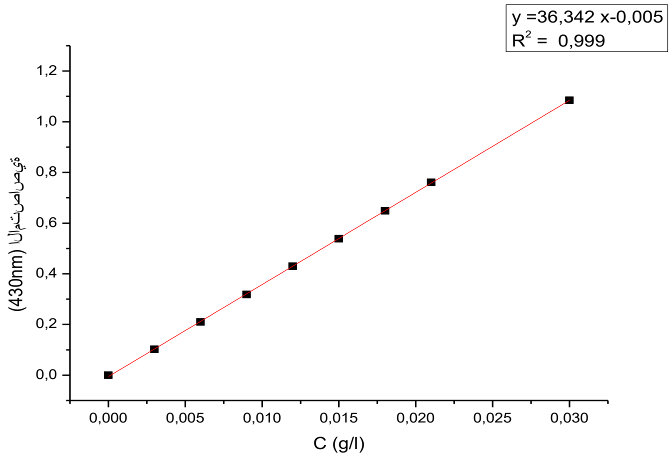
II_II_1_2 التقدير الكمي للفلافونيدات

قدرنا كمية المركبات الفلافونيدية باستخدام $AlCl_3$، وتقدر كميةالفلافونيدات بقياس امتصاصية العينة باستخدام جهاز سبيكتروفوتوميتر UV عند طول الموجة430 nm.

_وقمنا بأخذ مركب الكيرسيتين كفلافونويد مرجعي.

_ حضرنا محاليل ممدة من مختلف المستخلصات.

اخذنا من كل مستخلص 1.5 مل ونضيف له 1.5 من محلول $AlCl_3$(2%) ونتركه في الظلام مدة 30دقيقة وبعدها قمنا بقياس امتصاصية كل مستخلص عند طول الموجة 430 nm.



المنحنى(II_2) المنحنى القياسي لمركب الكيرسيتين .

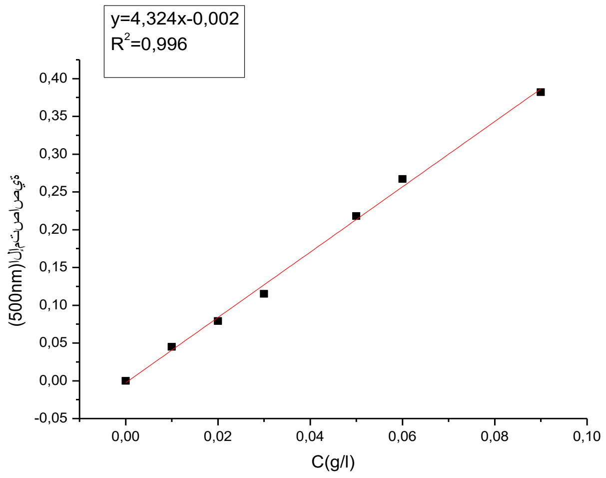
II_II_1_3 التقدير الكمي للعفصينات

قدرنا كمية العفصينات باستخدام Vanilin (4%)و محلول HCl المركز ، وتقدر كمية العفصينات بقياس امتصاصية العينة باستخدام جهاز سبيكتروفوتوميتر UV عند طول الموجة 500 nm.

_قمنا بأخذ الكاتشين كعفصين مرجعي .

_ حضرنا محاليل ممدة من مختلف المستخلصات.

_أخذنا 0.4 من المستخلص ثم نضيف له مل من 1.5 من HCl المركز ثم تضاف 3 مل من Vanilin (4%) ، ثم تترك مدة 30 دقيقة في الظلام وتقاس الإمتصاصية عند طول الموجة 500 nm.



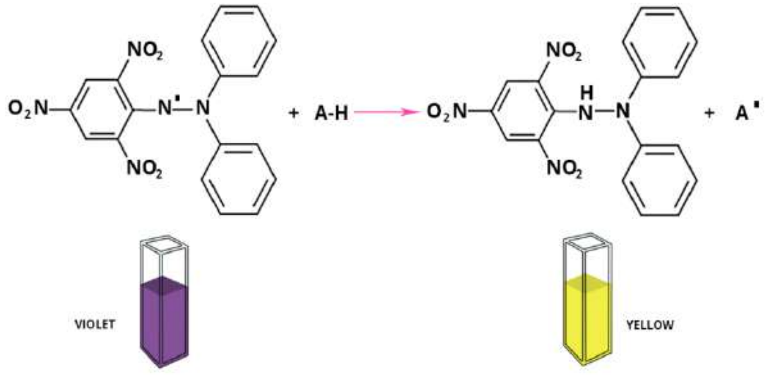
المنحنى(II_3): المنحنى القياسي لمركب الكاتشين

II_2_ دراسة الفاعلية المضادة للاكسدة

II_2_1 اختبار DPPH*

المبدأ:

لقد قمنا بقياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص النباتي المستعمل في دراستنا هاته من خلال قدرته على منح ذرة هيدروجين أو إلكترون ، والمتمثل في أسر الجذر الحر DPPH* ويعتمدهذا الاختبار على قدرة المستخلص على اسر الجذر المستقر،ويطهر ذالك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلىDPPH-H ذو اللون الأصفر.



الشكل (II_3) تفاعل مضاد أكسدة مع DPPH*

طريقة العمل :

_تحضير محلول الميثانولي للجذر الحر DPPH بتركيز 9.89 *10^{-5}M.

_نحضر تراكيز مختلفة من المستخلصات تتراوح هذه التراكيز مابين 0.3 الى 0.6 (g/ml).

_نضع في انابيب الاختبار0.5 مل من كل تركيز ونضيف له 1.5 مل من محلول ال DPPH* ونرج المزيج جيدا .

_نتركه في الظلام مدة 30 دقيقة .

_ بعدها نقوم بقياس الامتصاصية عند طول الموجة 517nm.

من خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية لتثبيط (I%) وذالك وفق العلاقة التالية :

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100 \qquad (1_II)$$

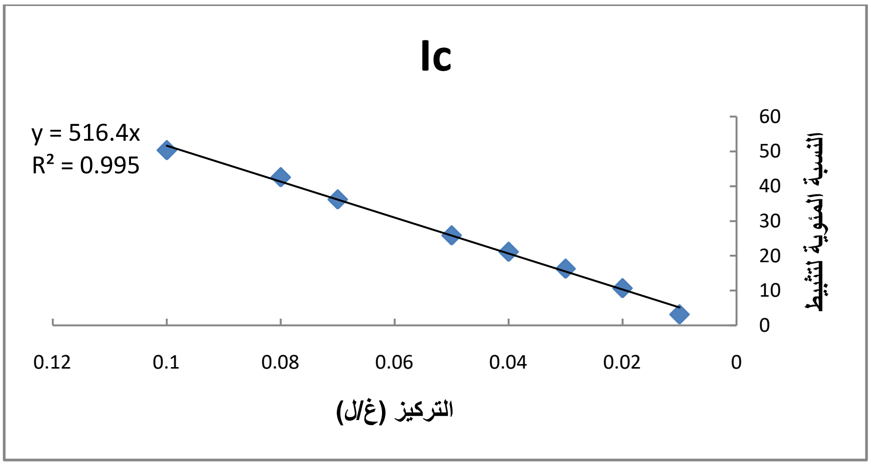
حيث أن :

A_0:الامتصاصية للجذر الحر في غياب المستخلصات .

A_i:الامتصاصية للخليط (جذر حر + مستخلص).

_نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية لتثبيط بدلالة التركيز $I\% = f(C)$

_ ونأخذ حمض الأسكوربيك كمرجع لقياس IC_{50}.



المنحنى(5_II) : منحنى IC لحمض الأسكوربيك(2018،بن ساسي)

II_II_2_2 اختبار موليبيدات الفوسفات

المبدأ:

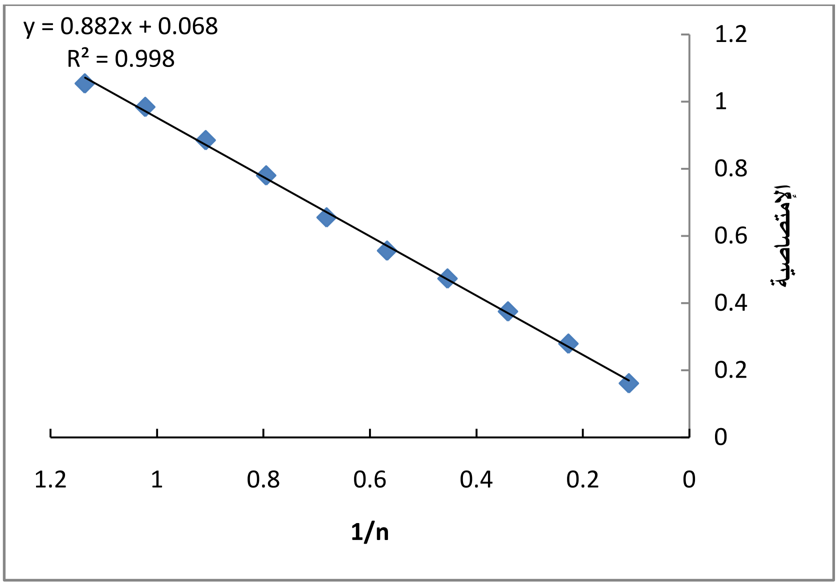
موليبدات الفوسفات هو من الطرق المباشرة لقياس القدرة الارجاعية لمضادات الأكسدة ،تعتمد على إرجاع الموليبدات (MoO_4^{-2}) إلى (Mo) هذه الأخيرة تتميز بلون أخضر باهت، ويمكن قياس الامتصاصية بجهاز UV.Visible عند طول الموجة 695 nm.

في هذه الدراسة استعملنا حمض الأسكوربيك (V.C) كأساس مرجعي في أسر الجذور الحرة.

طريقة العمل :

نأخذ 0.3 مل من التراكيز المحضرة سابقا لحمض الاسكوربيك التي تتراوح ما بين 0.02 الى 0.2 (غ/ل)، ونضيف له 3 مل من محلول موليبدات الفوسفات الذي حضر بمزج 16.75 مل من حمض الكبريتيك H_2SO_4و 1.67 غ من فوسفات الصوديوم($Na_2(PO_4$ و 2.47غ من موليبدات الأمونيوم $4H_2O(NH_4)_6MO_7O_{24}$ لكل 500مل من المحلول يوضع في حمام مائي درجة حرارته 95°C لمدة 90 دقيقة ،بعدها نقوم بتبريد الأنابيب ثم قسنا الإمتصاصية عند طول حوجي 695 nm ثمرسمنا المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك.

_ بنفس الطريقة نعامل المستخلصات بشرط أن نستبدل المحلول المرجعي $(C.V)$ بالمستخلص المدروس ثم نحسب القدرة الإرجاعية للمستخلصات .



المنحنى (II_5) : المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك (2018،بن ساسي)

II_II_3 _ الدراسة البيولوجيا دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا

_ اختبار الفاعلية المضادة للبكتيريا

قمنا في هذا الاختبار بدراسة تأثير المواد الفعالة المستخلصة من النبتة مع ثلاث أنواع مختلفة من البكتيريا ، وذالك بتطبيق طريقة الانتشار حول القرص (Kirby-Bauer) (العابد،2009).

II_II_3_1 تحضير الاقراص

نقوم بقص ورق وتمان 3 على شكل اقراص صغيرة قطرها 5 مم ونقوم بتعقيمها لتصبح جاهزة للاستعمال لاحقا .ثم تغمر في المستخلصات المحضرة سابقة لتصبح جاهزة للوضع.

الصورة (II_9) : تحضير الأقراص

II_II_3_2تحضير الوسط الزراعي البكتيري

_تجهيز وسط مولر هينتون (Mueller Hinton) وضعنا القوارير الحاوية لوسط مولر هينتون داخل الضاغطة لمدة تراوحت بين 20_25 دقيقة ،بعدها يوضع ليبرد قليلا ليتم سكبه بكميات محددة في علب بيتري المعقمة .

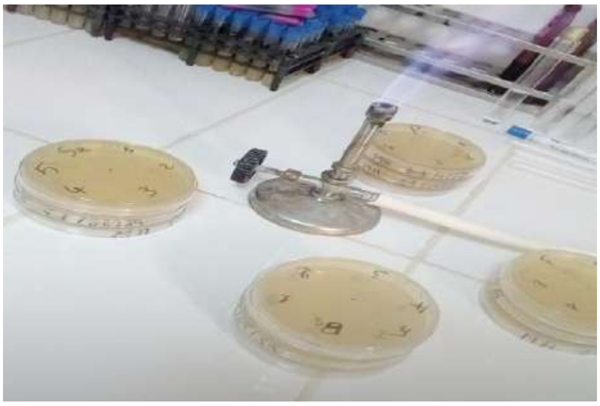
II_II_3_3 تحضير المعلق البكتيري

_ انطلاقا من زراعة حديثة من 24 ساعة نحضر معلق بكتيري بأخذ 3الى 5 مستعمرات بكتيرية بعيدة عن بعضها ومعزولة توضع في 10 مل ماء فيبولوجي معقم وتخلط جيدا لتصبح جاهزا للاستعمال .

الصورة (II_10): المعلق البكتيري

<u>4_3_II_II وضع الاقراص</u>

_بعد غمر الاقراص في المحاليل مختلفة التراكيز لمستخلصات النبتة توضع في علبة بتري بشكل منتظم حيث تكون هاته الأخيرة قد زرعت فيها البكتيريا ثم تترك لمدة 24 ساعة ليتم بعدها قراءة النتائج .



الصورة(II_11) :وضع الأقراص

II_II_4 نتائج التحليل الكمي لمستخلصات النبتة

من خلال العلاقة التالية تم حساب القيم التقدير الكمي :

$$C = \frac{A}{K} \times F \times \frac{V}{P} \quad \text{.. II_2}$$

C: تركيز المادة المدروسة (mg/g)

A:امتصاصية العينة

K:ثابت المحلول المرجعي

F:عدد التمديدات

V:حجم المحلول الذي اذيب فيه المستخلص اول مرة .

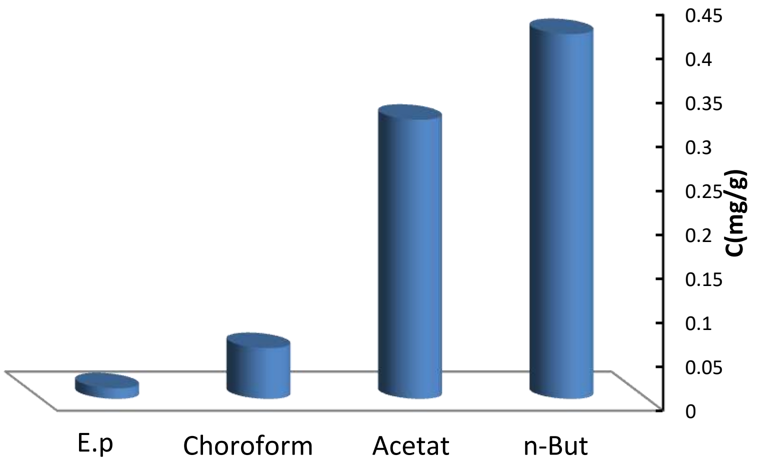
P:كمية النبتة التي بدأنا بها الاستخلاص.

II_II_4_1 التقدير الكمي للفينولات

الجدول(II_4): نتائج التقدير الكمي للفينولات

المستخلص	ايثر البترول	الكلورو فورم	الاسيتات	البيتانول
كميةالفينولات(mg/g)	0.0119	0.0576	0.3171	0.4145

_قدرت كمية الفينولات الكلية باستخدام المنحنى القياسي لحمض الغاليك ، حيث حسبت كمية الفينولات الكلية بعدد الملغرامات المكافئ لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف لنبتة (مغ/غ) ، يبين الجدول أعلاه أن كمية الفينولات الكلية تتراوح بين (0.0119_0.4145) (مغ /غ).



الشكل (II_3): قيم كمية الفينولات في المستخلصات

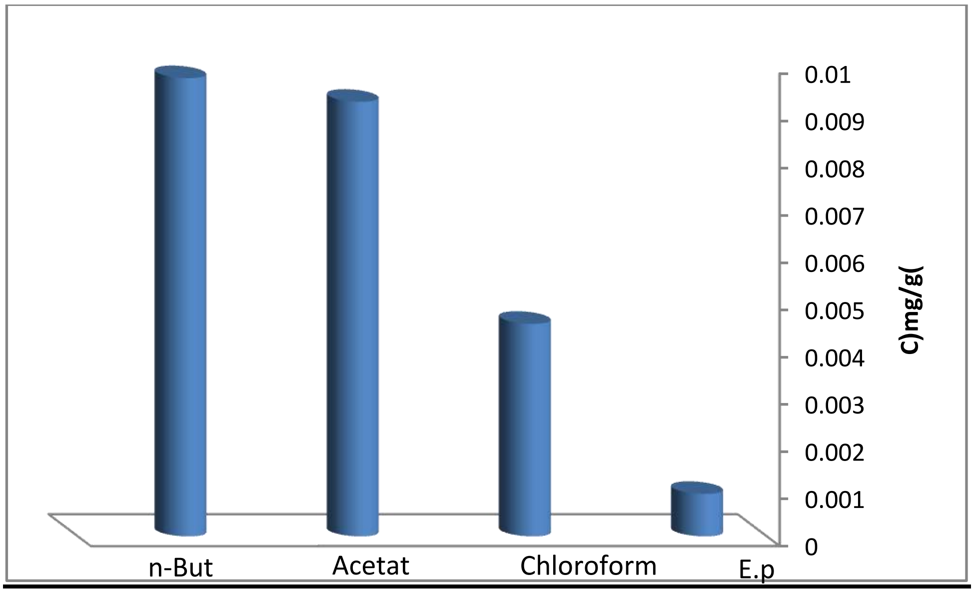
_ كما نلاحظ من خلال الشكل أن أكبر قيمة هي 0.4145 (مغ/غ) كانت في المستخلص البيتانولي وأقل رنسبة كانت في مستخلص إيثر البترول بقيمة 0.0119(مغ/غ)

II_II_4_2 التقدير الكمي للفلافونيدات

الجدول (II_5) : نتائج التقدير الكمي للفلافونيدات

المستخلص	ايثر البترول	الكلوروفورم	الأسيتات	البيتانول
كلامية الفلافونيدات (mg/g)	0.0009	0.0045	0.0092	0.0097

_قدرت كمية الفلافونيدات الكلية باستخدام المنحنى القياسي للكيرستين ، حيث حسبت كمية الفلافونيدات الكلية بال مغ المكافئ للكيرسيتين لكل غرام من الوزن الجاف لنبتة (مغ/غ) ، يبين الجدول أعلاه أن كمية الفلافونيدات الكلية تتراوح بين (0.0009_0.0097) (مغ /غ).



الشكل (II_4):مقارنة الكمية الكلية للفلافونيدات بين المستخلصات

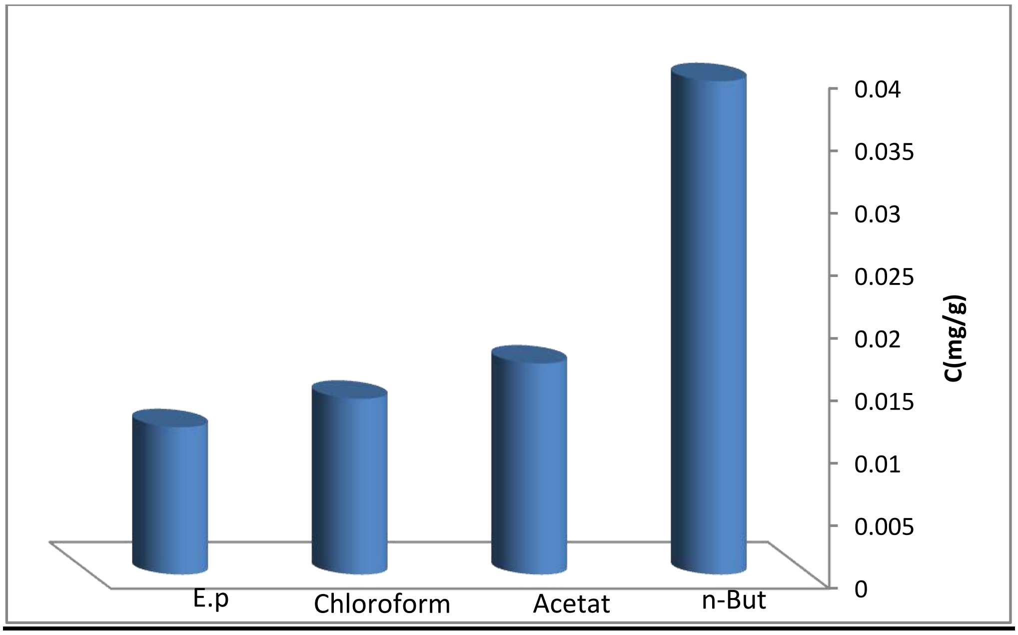
_ كما نلاحظ من خلال الشكل أن أكبر قيمة هي 0.0097 (مغ/غ) كانت في مستخلص البيتانول وأقل نسبة كانت في مستخلص ايثر البيترول بقيمة 0.0009(مغ/غ)

II_II_4_3 التقدير الكمي للعفصينات

الجدول(II_6) : نتائج التقدير الكمي للعفصينات

المستخلص	إيثر البيترول	الكلوروفورم	الأسيتات	البيتانول
كمية العفصينات (mg/g)	0.0117	0.0140	0.0168	0.0394

_قدرت كمية العفصينات الكلية باستخدام المنحنى القياسي للكاتشين ، حيث قدرت كمية العفصينات الكلية بالملغرام المكافئ للكاتشين لكل غرام من الوزن الجاف لنبتة (مغ/غ) ، يبين الجدول أعلاه أن كمية العفصينات الكلية تتراوح بين (0.014_0.0394) (مغ /غ).

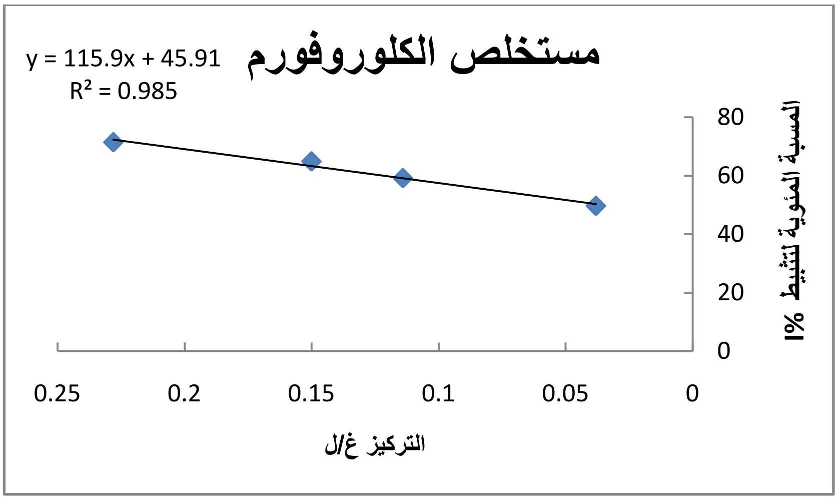


الشكل (II_5):قيم كمية العفصينات في المستخلصات

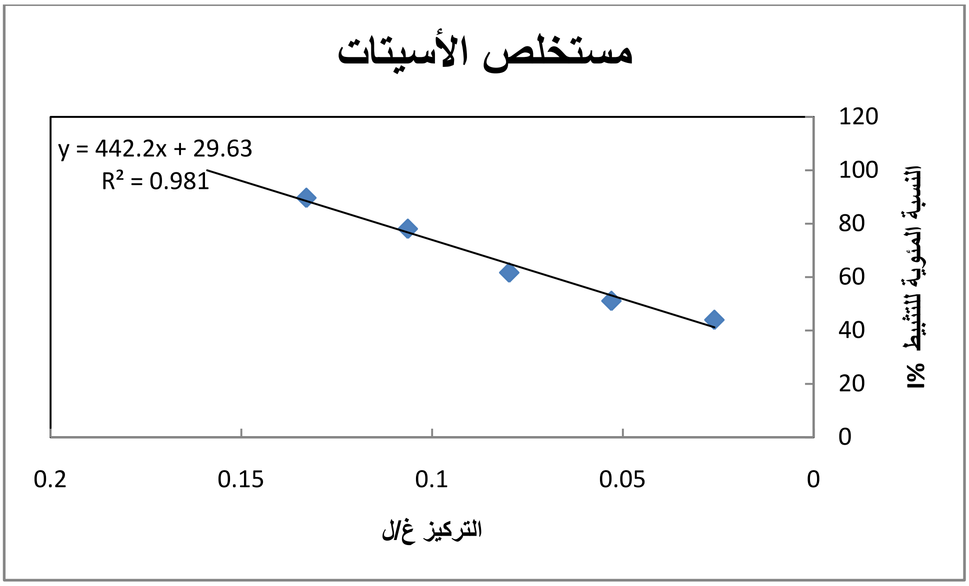
_ كما نلاحظ من خلال الشكل أن أكبر قيمة هي 0.0394(مغ/غ) كانت في مستخلص البيتانول وأقل نسبة كانت في مستخلص إيثر البيترول بقيمة 0.014(مغ/غ)

II_II_5_ نتائج الفاعلية المضادة للأكسدة

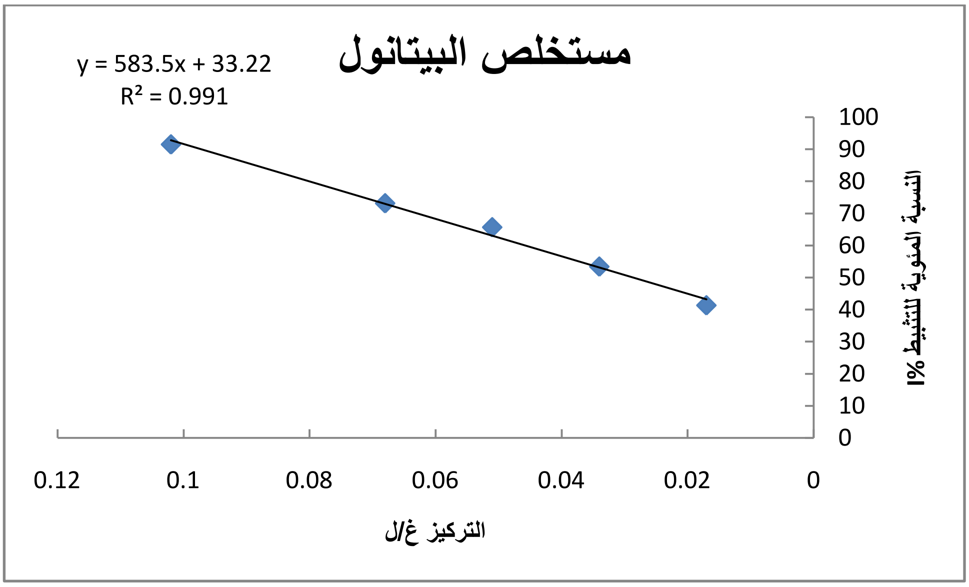
II_II_5_1 نتائج ال DPPH



المنحنى (II_6) منحنى نسبة التثبيط لمستخلص الكلورو فورم في إختبار ال DPPH



المنحنى (7_II) : منحنى نسبة التثبيط لمستخلص الأسيتات في إختبار ال DPPH



المنحنى (8_II) : منحنى نسبة التثبيط لمستخلص البيتانول في إختبار ال DPPH

لمقارنة الفعالية المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات المدروسة حسبت قيمة IC_{50} من معادلة كل منحنى ، لخصت النتائج المتحصل عليها في الجدول التالي :

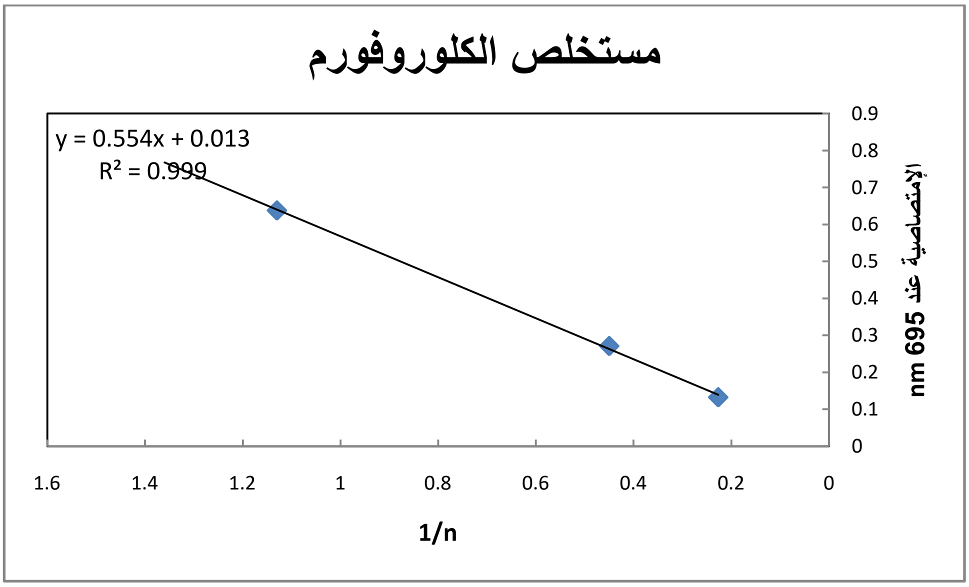
الجدول(7_II): نتائج التثبيط بالنسبة للمستخلصات

المستخلصات	حمض الاسكوربيك	الكلوروفورم	الأسيتات	البيتانول
IC_{50}(غ/ل)	0.075	0.04	0.05	0.025

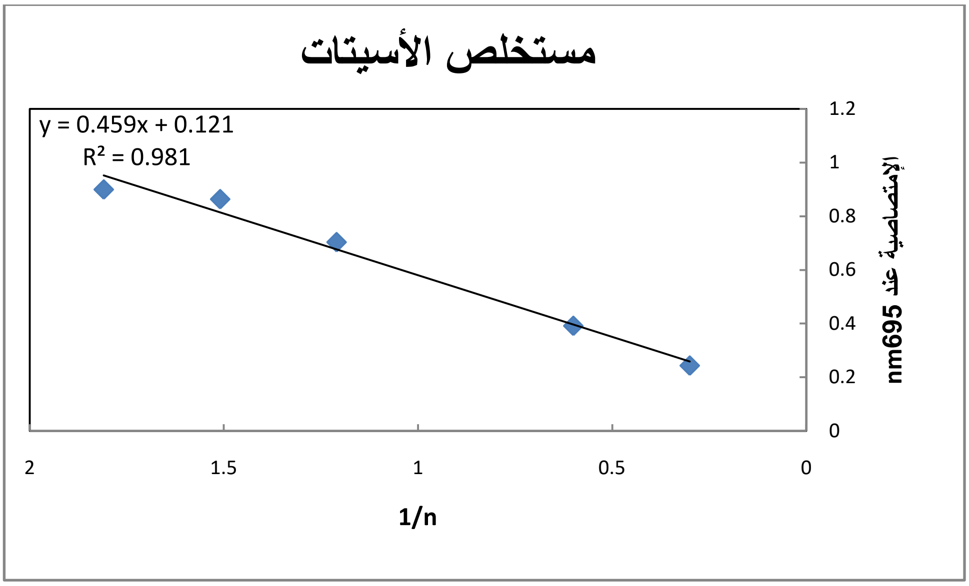
من المعلوم أنه كلما نقصت قيمة IC_{50} زادت الفاعلية المضادة للأكسدة ،وبمقارنة قيمة IC_{50}للحمض الأسكوربيك والتي قدرت ب (0.075 غ/ل) مع قيمة المستخلصات نجد أن الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات أكبر من فاعلية حمض الأسكوربيك و كان لمستخلص البيتانول الفاعلية المثلى حيث قدرت ب (0.025غ/ل).

IC_{50} حمض الأسكوربيك $>IC_{50}$ الأسيتات $>$ IC_{50}الكلوروفورم IC_{50} $>$البيتانول

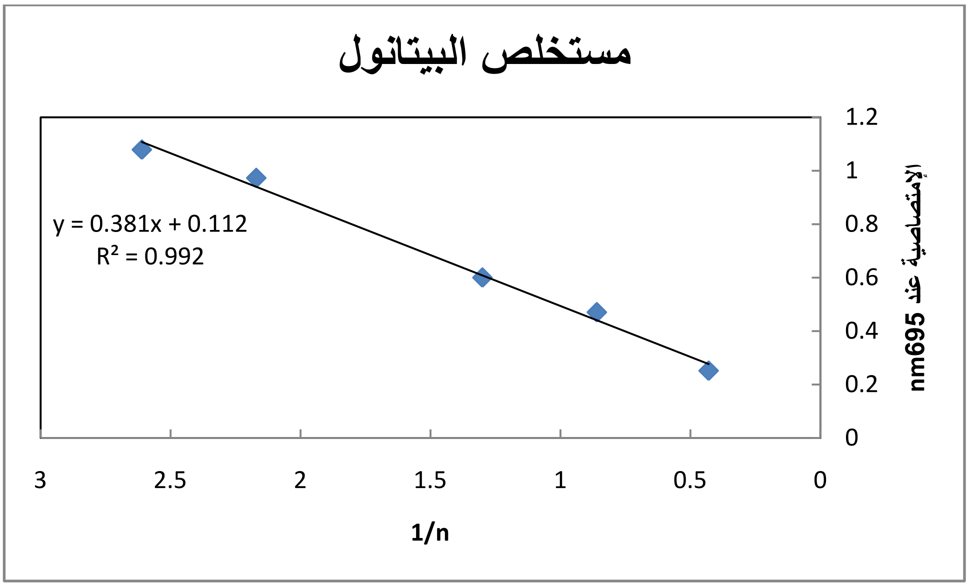
2_5_II_II نتائج موليبدات الفوسفات



المنحنى (9_II) : منحنى مستخلص الكلوروفورم لإختبار الموليبدات



المنحنى (10_II): منحنى مستخلص الأسيتات لإختبار الموليبدات



المنحنى (11_II) : منحنى مستخلص البيتانول لإختبار الموليبدات

لخصت نتائج القدرة الإرجاعية لمستخلصات النبتة في الجدول الموالي وذلك باستعمال العلاقة التالية

$$TAC = \frac{K}{K'} \quad \text{.........} \quad II_3$$

TAC:القدرة الكلية المضادة للأكسدة .

K:ميل المنحنى الخاص بالمستخلص

K':ميل المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك.

الجدول (8_II) : نتائج القدرة الارجاعية للموليبدات

المستخلص	الكلوروفورم	الأسيتات	البيتانول
القدرة الكلية المضادة للأكسدة TCA	0.628	0.52	0.431

قدرت الفعالية المضادة للأكسدة لجميع مستخلصات النبته، حيث كان الكلوروفورم الاكثر فاعلية بقيمة0.628 ، وسجل مستخلص الأسيتات اقل قيمة بما يقارب 0.52.

II_II_6 _ نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا

الجدول(9_II) نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا

المستخلصات	البكتيريا E	البكتيريا S	البكتيريا P
إيثر البترول	_ _	_ _	_ _
الكلورو فورم	_ _	_ _	_ _
الأسيتات	_ _	_ _	_ _
البيتانول	_ _	_ _	__

_ _ : الفاعلية معدومة

الصورة (3_3): نتائج الفاعلية المضادة للبكتيريا

*النتائج المتحصل عليها تظهر أن المستخلصات الخاصة بالنبتة ليس لم تعطي أي فاعلية بيولوجية ، حيث أن البكتيريا المستعملة لم تبدي أي تحسس تجاه أي مستخلص .

*و يمكن تفسير هاته النتائج بأن هاته المستخلصات لا تحتوي على مواد تثبط هاته الأنواع من البكتيريا ، كما بإمكان هاته المستخلصات أن تحتوي على مواد تثبط أنواع أخرى من البكتيريا غير التي أخذناها في هذه الدراسة.

خاتمة

الخاتمة

تركز إهتمامنا في هذا البحث على الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة *L.Stoechas* وذالك الإجراء مسح فيتوكيميائي أولي للتعرف على مختل منتجات الأيض الثانوي المتواجدة بها ، وكذا إستخلاص المركبات الفلافونيدية من النبتة بإستخدام محلول كحولي إيثانول- ماء(30/70)،متبوعا بفصل إنتقائي (سائل- سائل) بإستخدام إثر البيترول _الكلوروفورم_أسيتات الإيثيل_ البيتانول على التوالي،قمنا بالفصل بالعمود والتنقية بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص الأسيتات .

فأعطت النتائج ثلاث مركبات نقية ،وقمنا أيضا بالتقدير الكمي للفينولات والفلافونيدات والفصينات باستخدام كاشف Folin-Cicalteu وكاشف $AlCl_3$ و Valinin على التوالي .

فبينت النتائج أن البيتانول يحتوي على أكبر كمية من الفينولات والعفصيات وإيثر البيترول يحتوي على اكبر كم من الفلافونيدات .

كما تم دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة باستعمال طريقتين إختبار موليبدات الفوسفات إختبار ال DPPH.

فأظهرت النتائج أن مستخلص البيتانول هو الأكثر فاعلية في إختبار ال DPPH بينما كان الكلورو فورم هة الأكثر فاعلية في إختبار موليبدات الفوسفات

وتم أيضا دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا ضد ثلاث أنواع من البكتيريا ،ولم تظهر النتائج أي فاعلية ضد هذه الأنواع الثلاث.

مراجع

1/ المراجع بالعربية :

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

(1995، الحازمي) الحازمي ج .المنتجات الطبيعية. مطابع جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية .ص125 - 120

(2009،العابد)العابد إبراهيم.دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganum nudatum. مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجيستير.جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،2009،ص4_5_6_7 وص78.

(2018،بن ساسي)بن ساسي شيماء.تقييم الفاعلية المضادةللأكسدة والمضادة للبكتيريا للمرجبات الفلافونيدية لبعض أصناف التمور من منطقة واد ريغ بطرق مختلفة،مذكرة تخرج لنيل شهادة الدكتورة ، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،2018 .ص23.

(1997،حليمي) الدكتور حليمي عبد القادر .دليل النباتات الطبية في الجزائر .الوكالة الوطنية لحفظ الطبيعة .1997.ص110.

(2013،حوة) حوة .دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الأكسدة.مذكرة تخرج لنيل شهادة الماجستيرفي الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،2013، ص109.

(2007، شباح) شباح كوثر.فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي لنبتة Phoenix dactylifera .

(عاشور،2006)عاشوري آمال. فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي (Forsk (crispa Pulicaria. مذكرة ماجستير. قسنطينة : جامعة منتوري قسنطينة، 2006 ،21-26-36 ص.

(علاوي،2003)علاوي مسعودة. مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث [Scoparinum haloxylon] مذكرة ماجستير. ورقلة : جامعة قاصدي مرباح، 8،2003ص.

2/المراجع باللغة اللآتينية :

(1987، Abd Elchakour) Abd Elchakour, A.S. (1987). Chimie organique moderne et pratique. Université du Roi Abdel Elaziz, Djedda .

(2008،Ayad) - Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : Zygophyllum cornutum (Zygophyllaceae). Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de magister en Chimie Organique. Université Mentouri. 124 p.

(2015، Azza) Azza, Z., Oudghiri, M., 2015, Pharmacognosy Research, 7(2), 213-216.

(2013، Boudjelal) Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G.,2013, J. Ethnopharmacol, 148 (2), 395-402.

(2014، Boukri) Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout.Thème Master Academique.Université Kasdi Merbah Ouargla. 99 p.

(2003، Dacosta) les phytonutriments bioactifs.Yves Dacosta (Ed). Paris. 317 p. Cité par BOUKRI N H., 2014 - Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique.Université Kasdi Merbah Ouargla. 99 p.

(1955، Davis) DavisBD(1955).Advances in Enzymology.16.22

(1973، Emile) D.L. EMILE Pr ., BURDIN Jean-Claude , , Les Bactéries. 1973, Paris. p. 11-14.

(1984،Gilg) Gilg, E., 1984, Thymelaeaceae. In: Engler, A., Prantl, K. (eds.), Die natürlichen Pflanzenfamilien,Teil III, Abteilung 6a. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp. 216-245.

(2008، Haba) Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : Euphorbia guyoniana Boiss. et Reut. et Euphorbia retusa Forsk. Thèse doctorat, Univesité el- hadj lakhdar.305 p.

(2007، Hamia) C.HAMIA. Contribution à la composition et à l'étude chimique de l'huile du fruit de l'Arganier « Argania spinosa ». Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi merbah, 2007, 80-82 p.

(2012، Mouloy)Y.MOULAY. Investigation phytochimique de l’Acacia arabica aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de Magister. Ouargla : Université Kasdi Merbah, 2012, 5-8 p.

(2017، Moncef) Moncef Boufellous and al 2017 Phytochemical screening of a medicinal plant: Lavandula stoechas (Lamiaceae)p56.

(2006 ،Oswald)- Déterminisme génétique de la biosynt hèse des terpénols aromatique chez la vigne, Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Thèse doctorat. Université Louis Pasteur.279 p.

(2007، Philippe) Cycloisomerisations d’énynes issus de monoterpènes par différentes voies catalyt iques. Thèse doctorat.L’institut national polytechnique Toulouse. 244p

(2005، Redb) Re db, N. I., Le Goff, L .K., Had-Aisouni. L. (2005). Stress oxidatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérable aux faibles concentrations intracellulaires de glatamate ? Implication sur la survie neuronale. Ann. Fr. Anesth. Réanim. 24, 502-509.

(1936، Robinson) Robinson.R.(1936).Natur.137 ،1172 .

(1957، Robinson) Trevor Robinson.(1957). The organic constituents of higher plants, Sixth Edition. 188

(1993، Yahiaoi) Yahiaoui, S., Hraoubia, R. (1993).Structure de la matière. 4 ème edition.

الملخص

إن الهدف من هذا العمل هو

- الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة *L.Stoechas* والمعروفة بإسم الحلحال ، وهو نبات متواجد على نطاق واسع شمال الجزائر ، و منطقة بجاية من المناطق التي ينمو بها بكثرة.
- وتقدير الفاعلية المضادة للأكسدة و الفاعلية المضادة للبكتيريا لجميع المستخلصات . من خلال نتائج الإختبارات الأولية تبين تواجد جل مواد الأيض الثانوي، كالفلافونيدات والقلويدات،العفصينات ...قمنا بالإستخلاص إنطلاقا من محلول كحولي إيثانول - ماء (30/70) ومن ثم الإستخلاص سائل- سائل بإستخدام مذيبات مختلفة القطبية بدءا بإيثر البترول وصولا الى البيتانول.أعطت نتيجة الفصل بإستخدام العمود الكروماتوغرافي و التنقية بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM لمستخلص الأسيتات ثلاث مركبات نقية.

أخضعنا كل المستخلصات للتقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافونيدية والعفصية حيث وجدنا أن أكبر كمية للمركبات الفينولية والعفصية و الفلافونيدية موجودة في المستخلص البيتانولي. كما قمنا بدراسة الفاعلية المضادة للأكسدة بطريقتين إختبار موليبدات الفوسفات و إختبار ال DPPH فكانت فاعلية مستخلص الكلوروفورم هي المثلى في إختبار الموليبدات بينما كانت فاعلية المستخلص البيتانولي هي المثلى في إختبار ال DPPH، كما قمنا بدراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا لجميع المستخلصات ضد ثلاث أنواع من البكتيريا حيث لم تظهر النتائج أي فاعلية ضد هذه البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *L.Stoechas*، الفلافونيدات، العمود الكروماتوغرافي، CCM ، الفاعلية المضادة للبكتيريا، DPPH، موليبدات الفوسفات.

Abstract

The aim of this work is:

- To study the chemical viability of the *L. Stoechas* plant, known as Halhal, a plant widely located in north of Algeria, and the Bejaia region of the growing regions.
- And evaluate the antioxidant efficacy and antibacterial efficacy of all extracts، The results of the initial tests showed the presence of most secondary metabolites, such as flavonoids, alkaloids, and tannins… We extracted from ethanol - water solution (70/30) then extract liquid liquid using various polar solvents, starting with Petroleum ether and n-butanol. The result of the separation using chromatographic column and purification was given by ccm chromatography with a thin layer CCM acetate extraction of three pure compounds. We estimated the amount of phenolic compounds, flavonoids, and tannins in the extracts, where we found that the largest quantity of phenolic compounds and tannins and flavonoids in the extract of butanol.

We also studied antioxidant efficacy in two ways to test phosphate molybdate and DPPH test.The efficacy of chloroform extract was optimal in molybdate testing، while the antioxidant efficacy in the butanol extract is optimal in the DPPH test. We also studied the antibacterial efficacy of all extracts against three types of bacteria where the results did not show any effectiveness against these bacteria.

Keywords:*L.Stoechas*, flavonoids**,** chromatographic column**,** the DPPH test**,** phosphate molybdate test, the antibacterial efficacy.

Résumé

L’objectif de ce travail se résume en l’étude phytochimique de la plante *L. Stoechas* connu sous le nom Halhal. C’est une plante qui se retrouve au nord algérien et surtout dans la région de Bejaia.

D’aprés les résultats primaires, on remarque la présence de presque tous les composés des métabolites secondaire comme les flavonoïdes et les alcaloïdes …ect. L’extraction solide-liquide a été réalisée par la solution (eau -éthanol) avec la proportion 70 / 30, suivi par une extraction liquide-liquide en faisant appel à plusieurs solvants polaires telque l’ether de pétrole et le n-butanol. Trois produits purs est le résultat de la séparation par colonne de l’extrais d’acétate.

Tous les extraits ont été soumis à une estimation quantitative des composés phénoliques, flavonidiques et de la tanins, où nous avons constaté que la plus grande quantité de composés phénoliques, tanins et flavonoïdes était présente dans l'extrait de bétanoli. L’activité antioxydante a été effectuée par deux méthodes connues, celle du DPPH et l’autre des molybdates. Ces deux méthodes ont permis de savoir que l’activité de l’extrait de chloroforme a été parfaite dans le test de molybdate et celle de l’extrait butanolique a été meilleure dans le test DPPH. En revanche le résultat de l’activité antibactériene sur les souches utilisées était négatif.

Mots clés: *L.stoechas*, flavonoïde, test des molybdates, test du DPPH,activité antibactérienne.