الجمهورية الجزائرية الديموقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح– ورقلة –

كلية الرياضيات وعلوم المادة

قسم الكيمياء

مذكرة مقدمة لاستكمال متطلبات نيل شهادة ماستر أكاديمي

الميدان: علوم المادة

فرع: الكيمياء

التخصص: كيمياء المنتجات الطبيعية

مقدمة من طرف:

أوماية حليمة – دليل فاطمة الزهراء

الموضوع:

الدراسة الفيتوكيميائية والفاعلية المضادة للأكسدة لنبات طبي من العائلة الشفوية (الضرم الزغبي)

تاريخ المناقشة:...../...../.....

لجنة المناقشة مكونة من السادة:

مخلفي طارق	أستاذ محاضر أ	جامعة قاصدي مرباح – ورقلة	رئيسا
علاوي مسعودة	أستاذ محاضر أ	جامعة قاصدي مرباح – ورقلة	مناقشا
حمادة جميلة	أستاذ محاضر أ	جامعة قاصدي مرباح – ورقلة	مؤطرا
ذوادي علي	أستاذ التعليم العالي	جامعة قاصدي مرباح – ورقلة	مساعدالمؤطر

السنة الجامعية : 2020/2019

إهداء

الحمد لله والشكر لله.

أهدي ثمرة هذا العمل:

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار.. إلى من علمني العطاء بدون انتظار.. إلى الذي أحمل اسمه بكل افتخار، الذرع الواقي أبي الغالي حفظه الله لي وأطال في عمره.

إلى رمز العطاء وصدق الإباء، إلى ذروة العطف والوفاء،لك يا أجمل حواء، أنت أمي الغالية حفظك الله لي وأطال في عمرك.

إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله، من علموني علم الحياة، من أظهروا لي ما هو أجمل من الحياة سندي وقوتي إخوتيالأعزاء.

إلى كل عائلتي وأحبتي وأصدقائي وزملائي خاصة فاطمة.

إلى كل من وضع لي شمعة في مسيرتي وكل من سقط سهوا من قلمي ولم يسقط من قلبي.

يا رب لا تدعني أصاب بالغرور إذا نجحت ولا أصاب باليأس إذا فشلت بل ذكرني دائما بأن الفشل هو التجربة التي تسبق النجاح أمين يا رب العالمين.

أوماية حليمة

إهداء

أولا الحمد لله والشكر لله الذي أعاننا في الوصول إلى هذه المرتبة

أهدي ثمرة هذا العمل:

إلى اللذين وهبا لي كل ما يملكان حتى أحقق لهما آمالهما وكانا سندا لي في الشدائد وكانت دعوتهما تتبعني خطوة بخطوة في مساري إليهما أهدي هذا العمل المتواضع.

والداي الكريمين حفظهما الله لي.

إلى الذين تقاسموا معي عبء الحياة سندي وعضدي ومشاطري أفراحي وأحزاني

إخوتي وأخواتي.

إلى كل الأهل والأحبة والأصدقاء خاصة حليمة.

إلى كل من ضاقت السطور عن ذكرهم فوسعهم قلبي.

دليل فاطمة

شكر وعرفان

الحمد لله أولا وأخرا

نحمد الله ونشكره الذي مكننا وهيأ لنا من الظروف ما به وفقنا لإنجاز هذا العمل.

نتوجه بالشكر والثناء للأستاذة الفاضلة حمادة جميلة والأستاذ الفاضل ذوادي علي على قبولهما الإشراف على هذا العمل وعلى توجيهاتهما، ونصائحهما القيمة، وصبرهما معنا لإنجاز وإتمام هذا العمل.

كما نتوجه بالشكر الجزيل للأساتذة الذين يتولون مناقشة هذه المذكرة لما يبذلونه من جهد ووقت لتقييم هذا العمل.

كما نوجه خالص عبارات الشكر والامتنان لجميع عمال المخبر.

ولا يفوتنا أن نتقدم بالشكر والعرفان لكل الأساتذة الذين ساهموا فيتكويننا طيلة مشوارنا الدراسي، وكذا طلبة دفعة ماستر كيمياء 2019 -2020 بالأخص طلبة ماستر كيمياء المنتجات الطبيعية، والى كل من ساعدنا من قريب أو من بعيد.

فهرس المحتويات

قائمة المحتويات	رقم الصفحة
إهداء	I
الشكر والعرفان	III
فهرس المحتويات	IV
فهرس الجداول	VII
فهرس الأشكال	VIII
قائمة الرموز	IX
مقدمة عامة	1
الجزء النظري	
الفصل الأول:النباتات الطبية	
I.1.النباتات الطبية	3
I.1.1.تعريف النباتات الطبية	3
I.1.2.دراسة النباتات الطبية	3
I.2.النبتة المدروسة	3
I.2.1.العائلة الشفوية	3
I.2.2.الوصف المورفولوجي للضرم الزغبي	4
I.2.3.تسمية النبات	6
I.2.4.التصنيف النظامي للنبات	6
I.2.5.مناطق انتشار نبتة الضرم الزغبي	7
I.2.6.منطقة الدراسة	7
I.2.7.المسح البيولوجي للضرم الزغبي	8
I.2.8.المسح البيبليوغرافي	8
I.2.8.1.المسح البيبليوغرافي للعائلة	8
I.2.8.2.المسح البيبليوغرافي لجنس الضرم	9
I.2.8.3.المسح البيبليوغرافي للضرم الزغبي	10
الفصل الثاني : الزيوت الأساسية والفلافانويدات	
II.1.منتجات الأيض الثانوي	15

II.1.1.الزيوت الأساسية	**15**
II.1.1.1.تعريف الزيوت الأساسية	**15**
II.1.1.2.خصائص الزيوت الأساسية	**16**
II.1.1.3.مكونات الزيوت الأساسية	**16**
II.1.1.4. طرق استخلاص الزيوت الأساسية	**16**
II.1.1.4. أ . التقطير	**16**
التقطير المائي	**17**
التقطير بالبخار	**17**
II.1.1.4.ب. الاستخلاص بواسطة المذيبات العضوية	**18**
II.1.1.4.ج. الاستخلاص بالضغط البارد	**19**
II.1.1.4.د . الاستخلاص بثاني أكسيد الكربون فوق الحرج	**20**
II.1.1.4.هـ. الاستخلاص بواسطة الأمواج فوق الصوتية	**21**
II.1.1.5.تحليل الزيوت الأساسية	**21**
II.2.1.التربينات Terpenoids	**21**
II.1.2.1.تعريف التربينات	**21**
II.2.2.1.تصنيف التربينات	**22**
II.3.2.1.خواص التربينات	**23**
II.3.1.الفلافانويدات Flavanoïds	**24**
II.1.3.1.تعريف الفلافانويدات	**24**
II.2.3.1.تصنيف الفلافانويدات	**24**
II.3.3.1.التصنيع الحيوي للفلافانويدات	**25**
II.3.3.1. أ .البناء الحيوي للشالكون	**26**
II.3.3.1.ب. البناء الحيوي لمختلف هياكل الفلافانويدات بدءا من الشالكون	**27**
II.4.3.1.خواص الفلافانويدات والاهمية البيولوجية	**29**
II.5.3.1.الدراسة الكيميائية للفلافانويدات	**29**
الفصل الثالث : الدراسات البيولوجية	
III.الدراسات البيولوجية	**32**
III.1.الإجهاد التأكسدي	**32**

III.1.1.الجذور الحرة	**32**
III.1.1.1.تعريف الجذور الحرة	**32**
III.2.1.1.تصنيف الجذور الحرة	**32**
III.2.مضادات الأكسدة	**33**
III.1.2.تعريف مضادات الأكسدة	**33**
III.2.2.تصنيف مضادات الأكسدة	**33**
III.1.2.2.مضادات الأكسدة الطبيعية	**33**
III.1.2.2. أ .مضادات الأكسدة الذاتية	**33**
III.1.2.2.ب.مضادات الأكسدة الخارجية	**34**
III.2.2.2.مضادات الأكسدة المصنعة	**34**
III.3.2.آلية عمل مضادات الأكسدة	**35**
III.4.2.طرق تقدير مضادات الأكسدة	**35**
أ – اختبار DPPH	**35**
ب– اختبار $ABTS^{+\cdot}$	**36**
الجزء التطبيقي	
الفصل الرابع: الدراسة الفيتوكيميائية	
IV.1.الطرق المستعملة في الدراسة	**37**
IV.1.1.جمع وتهيئة المادة النباتية	**37**
IV.1.1.1.جني النبتة	**37**
IV.1 .2.1.تجفيف النبتة	**37**
IV.1 .3.1. طحن النبتة و تخزينها	**37**
IV.2.1.الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية : (التحليل الكيفي)	**37**
IV.3.1.الاستخلاص	**40**
IV.1.3.1.استخلاص المركبات الفينولية	**40**
الاستخلاص صلب – سائل	**40**
الاستخلاص سائل – سائل	**41**
IV.2.3.1. استخلاص الزيت الأساسي	**43**
IV.3.3.1. مردود الاستخلاص	**45**

4.1.IV.التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافانويدية	**45**
أ) التقدير الكمي للفينولات الكلية TPC	**45**
ب) التقدير الكمي للفلافانويدات الكلية TFC	**46**
الفصل الخامس: النتائج و المناقشة	
1.V.نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	**47**
1.1.V.مناقشة النتائج	**49**
2.V.نتائج الفصل سائل–سائل	**49**
3.V.نتائج تحليل الزيت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة	**50**
1.3.V.مناقشة نتائج تحليل الزيت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة	**54**
الخلاصة العامة	**55**
قائمة المراجع	**57**

فهرس الجداول

رقم الجدول	الجدول	الصفحة
1	تصنيف نبات الضرم الزغبي	**6**
2	بعض المركبات المفصولة من نباتات العائلة الشفوية	**8**
3	اختبارات الكشف الفيتوكيميائي	**38**
4	نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية	**48**
5	مكونات الزيت الاساسي للضرم الزغبي	**51**

فهرس الأشكال

رقم الشكل	الشكل	الصفحة
1	زهرة الضرم الزغبي	5
2	ورقة الضرم الزغبي	5
3	صورة للضرم الزغبي	5
4	موقع ولاية تبسة على الخريطة الجزائرية	7
5	بعض المركبات المفصولة من جنس الضرم	10
6	صيغة مركب Acacetin-7-o-glucoside	14
7	صيغة مركب Gallic acid	14
8	رسم تخطيطي لجهاز الاستخلاص المائي	17
9	تركيب الاستخلاص بالبخار	18
10	رسم تخطيطي لجهاز Soxhlet	19
11	رسم تخطيطي لجهاز الاستخلاص بالضغط البارد	20
12	وحدة الايزوبران	22
13	أمثلة عن التربينات الأحادية	22
14	أمثلة عن السيسكيتربينات	23
15	الهيكل العام للفلافانويد	24
16	أهم أقسام الفلافانويدات مع أمثلة عنها	25
17	تشكيل Coumaroyl-CoA انطلاقا من Phenylalanine	26
18	تشكل الشالكونات والستيلبين	27
19	الاصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات انطلاقا من الشالكون	28
20	مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية	34
21	معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضاد الأكسدة	35
22	معادلة تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ وتثبيطه بواسطة مضادات الأكسدة	36
23	المادة النباتية الجافة	37
24	صورة المستخلصات	38
25	صور من عملية الاستخلاص	41
26	مخطط يوضح مراحل الإستخلاص	42

27	تركيب التقطير المائي(جهاز كلفنجر)	43
28	جهاز GC–MS	44
29	نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية للمستخلص الإيثانولي	47
30	نتائج الاختبارات الأولية للمستخلص الكلوروفورمي	47
31	صور من عملية الفصل سائل – سائل	49
32	صورة المستخلصات	50
33	بنية المركبات المفصولة من الزيت الأساسي للضرم الزغبي	53

قائمة الرموز والمختصرات

الرمز	الأجنبية	العربية
Abs	Absorbance	الإمتصاصية
CC	Column chromatography	كروماتوغرافيا العمود
CP	Paper chromatography	الكروماتوغرافيا الورقية
CPG	Gas Chromatography	الكروماتوغرافيا الغازية
GC–MS	Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry	الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة
DPPH	α,α,–diphenyl– β–picrylhydrazyl	ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل
I %	Percentage of inhibition	النسبة المئوية للتثبيط
NMR	Nuclear magnetic resonance	الرنين النووي المغناطيسي
RNS	Reactive nitrogen species	أنواع النتروجين التفاعلية
ROS	Reactive oxygen species	أنواع الأوكسجين التفاعلية
TFC	Total flavonoids content	المركبات الفلافانويدية الكلية
TLC	Thin layer chromatography	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
TPC	Total phenolic content	المركبات الفينولية الكلية
UV	Ultraviolet	الأشعة فوق البنفسجية

المقدمة العامة

مقدمة عامة:

على مر الآلاف العديدة من السنين التي عاش فيها الإنسان على وجه الأرض كانت حياته أكثر اتصالا بالطبيعة يتأثر بظواهرها ويستفيد مما يبرز في إحيائها من نبات وحيوان في طعامه وكسائه ودوائه. حيث استطاع أن يتعرف فيها على النباتات التي تنمو من حوله وأدرك صفاتهاوخواصها باحثا عن الطعام، ومن خلال تذوقه لها استطاع التمييز بين ماهو نافع وماهو ضار ووجد أنها تعالج الأمراض التي يصاب بها، وقد أعطى الله سبحانه وتعالى للإنسان غريزة يهتدي بها إلى النباتات بمساعدة الحيوانات فلقد كان شكل النبتة ولونها يعطي فكرة لاستعمالها ضد مرض معين وكذلك النباتات التي لا تقترب منها الحيوانات تكون سامة في الغالب. فأصبحت النباتات الطبية مصدر علاجه فبدأ بتطويرها والبحث عن المواد الفعالة التي تساعد على العلاج.

ومع التقدم العلمي وظهور ثورة المواد الكيميائية المصنعة التي أصبحت طاغية نظرا لكثرتهاومفعولها اعتقد الكثير أنها ستحل محل العقاقير النباتية الطبيعية إلا أن تسببها بظهور أمراض لم تكن معروفة من قبل وظهور الأمراض المزمنة بسبب الاستعمال اللامحدود للمواد الكيميائية وكذا الآثار الجانبية لبعض الأدوية المصنعة جعل استعمالها محدود، بينما أبت حكمة الخالق إلا أن تجعل المواد الفعالة في النباتات بتراكيز منخفضة يمكن للجسم البشريالتفاعل معها في صورتها الطبيعية، قال سبحانه وتعالى: ألم تروا أن الله سخر لكم ما في السموات و ما في الأرض و أسبغ عليكم نعمه ظاهرة و باطنة (لقمان الآية 20)[1].

نظرا لما تتميز به بلادنا الجزائر من اتساع رقعتها وموقعها الجغرافي المميز وتنوع مناخها ما يعكس الغطاء النباتي المتنوع فيها خاصة النباتات الطبية حيث يصل عدد النباتات فيها إلى 3000 نبتة

تنتمي إلى مختلف العائلات النباتية[2] إلا أن الأبحاث العلمية بخصوصها قليلة على مستوى الفيتوكيمياء و الفارماكولوجيا.

في الوقت الحالي بدأ الباحثون الجزائريون والأجانب في استغلال الثروة النباتية في الجزائر خاصة في مجال الكيمياء والطب بغرض تثمين هذه الثروة، ولهذا كان الهدف من دراستنا هو المساهمة في تثمين هذه الثروة حيث وقع اختيارنا على إحدى نباتات العائلة الشفوية ألا وهي الضرم الزغبي.

وتتمحور دراستنا حول الدراسة الفيتوكيميائية للضرم الزغبي وتشمل المذكرة جزء نظري يحوي مقدمة عامة وثلاثة فصول:

الفصل الأول: يضم دراسة نظرية شاملة للنبتة.

الفصل الثاني: يضم عموميات حول بعض منتجات الأيض الثانوي.

الفصل الثالث: خصص للدراسة البيولوجية والفاعلية المضادة للأكسدة.

أما الجزء العملي يحوي فصلين:

الفصل الرابع: اشتمل على طرق والمواد المستخدمة في هذه الدراسة.

الفصل الخامس: خصص لعرض النتائج ومناقشتها.

الجزء النظري

الفصل الأول
النباتات الطبية

I.1.النباتات الطبية

I.1.1.تعريف النباتات الطبية:

عرف العالم Dragendroff أن كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي. ويدعى النبات نباتا طبيا إذا امتلك عضو على الأقل من أعضائه مادة كيميائية فعالة واحدة أو أكثر بتراكيز منخفضة أو مرتفعة لها خصائص علاجية إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية، أو في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا[3] .

I.1.2.دراسة النباتات الطبية:

عموما الاستعمال التقليدي هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطات الفيزيولوجية أو الطبية لأي دواء نباتي، وذلك من خلال استخدامه 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 وتعيين التركيب البنائي، ودراسة التأثيرات السمية والعلاجية[4] ، لذا فالدراسة الدقيقة للنباتات الطبية يجب أن تكون وفق منهجية موجهة ومرتبة، ويجب إتباعها خطوة بخطوة للوصول إلى الهدف[3] .

I.2.النبتة المدروسة:

I.2.1.العائلة الشفوية:

تعد نباتات العائلة الشفوية نباتات حولية أو معمرة، موطنها الأصلي المناطق المعتدلة موزعة عبر أنحاء العالم إلا أنها تميل للتمركز في مناطق البحر الأبيض المتوسط وتتميز النباتات العشبية منها

بأنها ذات سيقان مربعة الشكل، والأوراق بسيطة متقابلة ومتصالبة ومعظم المجموع الخضري يغلب عليه وجود الزغب[5] .

وتعرف نباتات هذه العائلة بأنها شجيرية أو شجيرات فرعية أو نباتات عشبية، أغلبها عطرية، الأوراق عادة متقابلة بدون أذينات. الإزهار إبطي، تكون الأزهار دائرية على الساق المحور الحامل لها، وهي أكثر كثافة عند القمة نهاية الساق، أو تكون نورة سنبلية، غير محدودة أو محدودة [6] .

تمثل العائلة الشفوية حوالي 200 جنس و4000 نوع أغلبها لها أهمية اقتصادية كبيرة لاحتوائها على الزيوت الأساسية، وعدد كبير من الأجناس تعتبر مصدر غني بالتربينات والفلافونيدات[7] .

في الجزائر يوجد 140 نوع نباتي موزعة على 29 جنس من العائلة الشفوية تنتشر في مختلف مناطق البلاد[8] .

I.2.2. الوصف المورفولوجي للضرم الزغبي:

يعد الضرم الزغبي إحدى نباتات العائلة الشفوية، من جنس الضرم، و هو عبارة عن شجيرة معمرة يصل ارتفاعها إلى متر تقريبا، عطري له الخصائص التالية[6] :

الأوراق: خضراء داكنة، متقابلة، ذات حواف منحنية، عميقة التفصيص تغطيها شعيرات.

الأزهار:من 12 –15 ملم، ذات لون أزرق داكن، خنثوية، ذات شكل سنبليépi.

الكأس: أنبوبي مخروطي ينتهي بخمسة أسنان غير متكافئة.

التويج: أنبوبي متمدد، ثنائي الشفة، السفلية منها تتكون من ثلاث فصوص والعلوية تتكون من فصين . [2]

الثمار: تتكون من أربعة أجزاء(Tétrakène)[2] ، بيضاوية الشكل، لونها بني لامع.

البذور: بيضاوية الشكل ذات لون بني مسود.

الشكل(1): زهرة الضرم الزغبي

الشكل(2): ورقة الضرم الزغبي

الشكل(3) : الضرم الزغبي

I.3.2.تسمية النبات:

الاسم العلمي: *Lavandula pubescens Decne*

للضرم الزغبي العديد من الأسماء الشائعة حيث يعرف عربيا باسم الضرم الزغبي، و في الجزائر يعرف باسم:*Tehenok* [6] ، زعتر جبال، فيجل غدران، وفي اليمن يعرف باسم الفحية...

I.4.2.التصنيف النظامي للنبات:

حسبQUEZEL et SANTA, 1963 فإن الضرم الزغبي يتبع التصنيف التالي:

الجدول (1): تصنيف نبات الضرم الزغبي

المملكة	النباتية
المملكة الفرعية	نباتات الأرض
فوق الشعبة(القسم)	النباتات الوعائية
الشعبة	كاسيات البذور
الصنف	ثنائية الفلقة
تحت الصنف	Asterid
الرتبة	الشفويات
العائلة	الشفوية
الجنس	الضرم (اللافندر) *Lavandula*
النوع	الزغبي *pubescens*

I.5.2.مناطق انتشار نبتة الضرم الزغبي:

يتوزع الضرم الزغبي في مناطق البحر الأبيض المتوسط،شمال إفريقيا، جنوب غرب آسيا، غرب إيران والهند الشرقية [9]. وبشكل عام فان اللافندر ينمو ويزهر بشكل أفضل في التربة الجافة والصافية الخفيفة الرملية والصخرية. هذا التوزيع يتعلق بالمناخ وتكتونية الصفائح الأرضية.

I.6.2.منطقة الدراسة:

تقع ولاية تبسة شرق الجزائر، تقع بين خطي عرض 32 / 30 شمالا وخط طول 5,54، بين جبال دوكان والقعقاع وبورمان، وهي جزء من سلسلة جبال الأوراس. يحدها شمالا ولاية سوق أهراس ومن الشرق الجمهورية التونسية وغربا ولاية خنشلة وأم البواقي وجنوبا ولاية الوادي.

الموقع الجغرافي الذي تحتله وارتفاعها عن مستوى سطح البحر (900 م) يجعلها تتميز بنوعين مناخيان:

مناخ متوسطي: يسود الولاية من شهر سبتمبر إلى ماي يتميز بتساقط الأمطار والثلوج.

مناخ صحراوي: يسود الولاية من شهر ماي إلى شهر أوت ويتميز بالجفاف وهبوب رياح جنوبية حادة .[10]

الشكل(4):موقع ولاية تبسة على خريط الجزائر

I.7.2.المسح البيولوجي للضرم الزغبي:

يملك الضرم الزغبي خصائص طبية وعلاجية عديدة منها:

مضاد للجراثيم والفيروسات،معالج الاكتئاب[9]، مهدئ و مضاد للالتهاب[18،9،11] ، مطهر[12-15]، مضاد للبكتيريا [9،12-19] ، معالج للقصبات الهوائية، طارد للغازات، طارد للحشرات. يستخدم أيضا في صناعة العطور، وصناعة الصابون، غسول الفم والشامبو، ومستحضرات التجميل، الأغذية (منكهات ومواد حافظة ضد الكائنات الحية الدقيقة) [9،18].

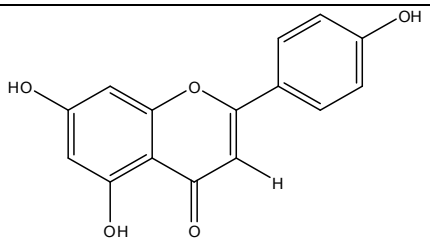
I.8.2.المسح البيبليوغرافي:

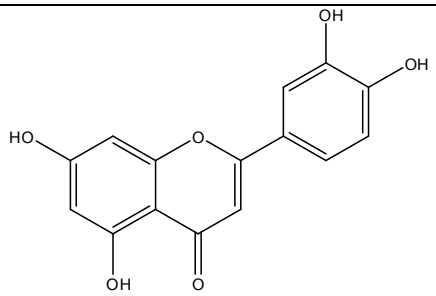
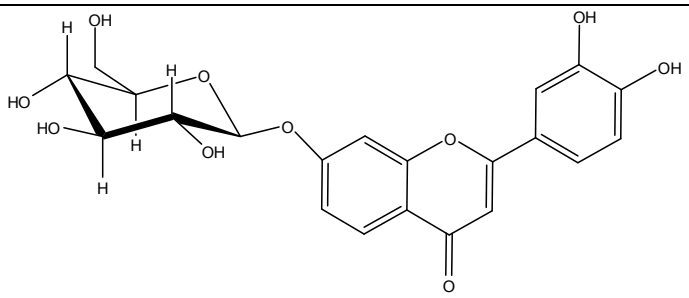
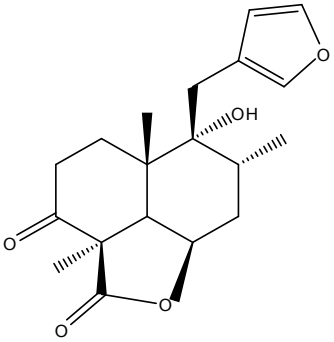
I.1.8.2.المسح البيبليوغرافي للعائلة:

العائلة الشفوية جد مدروسة من الناحية الكيميائية وتم عزل عدد كبير من المركبات المختلفة من بينها التربينات، الفلافونيدات، الزيوت الأساسية ...إلخ.

من بين هذه المركبات المفصولة[7]:

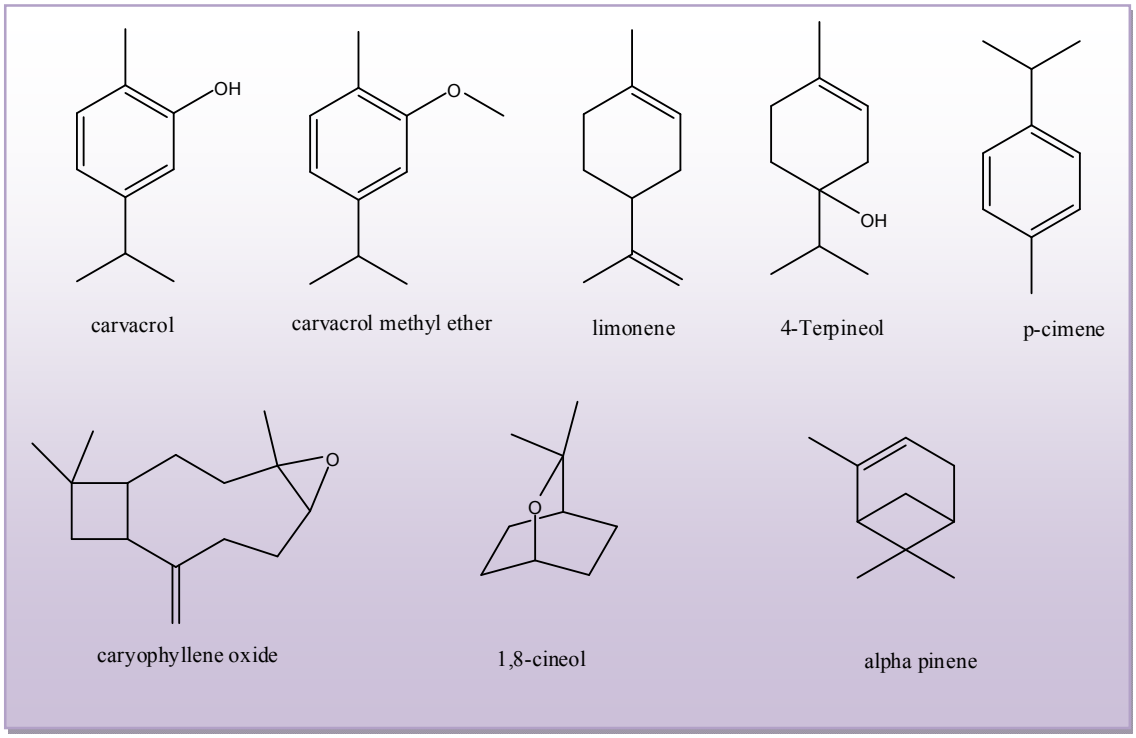
الجدول (2): بعض المركبات المفصولة من العائلة الشفوية.

الإسم	الهيكل
Apeginine	

	Luteoline
	7-O-β-D-glucosylluteoline
	Peregrinine

I.2.8.2.المسح البيبليوغرافي لجنس الضرم:

جنس الضرم يحوي العديد من الأنواع تتوزع عبر مختلف أنحاء العالم. منها ماهي مدروسة بشكل كبير ومنها ماقلت الدراسات بشأنها أو ارتكزت على جانب معين فقط.حيث تم فصل العديد من المركبات نذكر منها[9،12،17]:



الشكل (5): بعض المركبات المفصولة من جنس الضرم

I.3.8.2.المسح البيبليوغرافي للضرم الزغبي:

أولا: على مستوى الجزائر:

الدراسات التي تخص الضرم الزغبي في الجزائر قليلة جدا نذكر منها الدراسة التي قامت بها الأستاذة حمادة جميلة (2020) والتي هدفت من خلالها إلى الحصول على الزيت الأساسي من عينات الضرم الزغبي التي تم جمعها من منطقة المرموثية في ولاية تبسة عن طريق التقطير المائي، وإخضاعها لفحوصات لمعرفة فعاليتها المضادة للميكروبات والمضادة للأكسدة.

قامت باختبار النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة نشر الأقراص حيث تم تسجيل أهم نشاط ضد (ATCC 29212) *Entrococcus faecalis* و(ATCC 25922) *Escherichiacoli*، حيث كانت منطقة التثبيط 24,5mm بالنسبة ل *Entrococcus faecalis* و20,2*mm* بالنسبة ل *Escherichia coli*.

وقامت باختبار الفعالية المضادة للأكسدة بواسطة اختبارين DPPH واختبار القدرة الإرجاعية للحديد وتوصلت إلى أن حمض الأسكوربيك يملك معدل منخفض لـIC□□ مقارنة بالزيت الأساسي للضرم الزغبي حيث بلغت قيمها بالنسبة لحمض الأسكوربيك IC_{50}=8,86µg/ml، IC_{50}=20,06µg/ml لكل من DPPH و FRAP على التوالي بينما كانت قيمها IC_{50}=17 ,24µg/ml ، IC□□=33 ,38µg/ml لكل من DPPH و FRAP على التوالي[19].

ثانيا: على المستوى الخارجي:

هناك عدة دراسات تخص الضرم الزغبي لكن معظمها كان يخص الزيوت الأساسية نذكر منها:

✓الدراسة التي قام بهاNuru ورفقائه (2015): هدفت هذه الدراسة إلى تحديد الظواهر الزهرية وديناميكيات إفراز الرحيق ومدى إمكانية إنتاج العسل لنوعين من الخزامى في جنوب غرب المملكة العربية السعودية، أي دراسة بيولوجية.

توصلوا إلى أن النبتة تنتج كميات كبيرة من الرحيق في الصباح الباكر وفي وقت متأخر من الليل بعد حلول الظلام[20].

✓الدراسة التي قامت بها Rowaida N. Al badani ورفقائها(2016): حيث تم جمع عينات من الأجزاء الهوائية للضرم الزغبي من مناطق مختلفة من اليمن وتم الحصول على زيتها الأساسي عن طريق التقطير المائي. وتم تحليلها بواسطة GC-MS وتم استخدام تحليل المكون الرئيسي PCA والتحليل العنقودي الهرمي HCA للتمييز بين عينات الضرم حيث استطاعوا تعريف 56 مركبا.

كانت الزيوت الأساسية غنية بالكارفاكرول (60,9 – 77,5 %) مع تركيزات أقل من أيثر مثيل كارفاكرول (4,0 –11,4 %) وأكسيد الكاريوفلين (2,1 – 6,9 %) والترينولين (0,6 –9,2 %).

كما أظهرت تركيبات الزيوت العطرية في هذه الدراسة تشابها كبيرا جدا، ولكن كان من الممكن تمييز مجموعتين منفصلتين بناءا على مكونات ثانوية لا سيما تركيز الترينولين، أيثر مثيل كارفاكرول و m-cymen-8-ol وأكسيد الكاريوفيلين[12].

✓الدراسة التي قامت بها Rowaida N. Al badani ورفقائها(2017): في هذه الدراسة تم استخلاص الزيت الأساسي من الأجزاء الهوائية للضرم الزغبي للعينات التي تم جمعها من منطقة عمران في اليمن بواسطة التقطير المائي بجهاز كلفنجر،بعدها تم تحليلها وتعيين التركيب الكيميائي لها بواسطة GC-MS وذلك بالاعتماد على المقارنة بين الأطياف الكتلية للشظايا مع تلك المخزنة في قاعدة البيانات لل GC-MS. المركبات الرئيسية هي الكارفاكرول (72,7%)،أيثر مثيل كارفاكرول (7%)، أكسيد الكاريوفيلين (5,9%).

كما تم تقييم نشاطها السام للخلايا، وكذا فعاليتها البيولوجية، حيث أظهرت النتائج أن الزيت له سمية خلوية قوية ضد خطوط خلايا هيلا (عنق الرحم) و ags (المعدة) مع IC_{50}< 10 µg/ml.

كما أنه يملك نشاط مثبط ممتاز ل (XO) بنسبة 26,1% عند 10 µg/ml و IC_{50} = 3 ,8 µg/ ml .

واظهر الزيت أيضا نشاطا مضادا للإشعاع بقيمة 75,08µg/ ml، بالإضافة إلى أن أعلى نشاط مضاد للجراثيم ضد المكورات العنقودية الذهبية، المكورات العنقودية الصغيرة و*Escherichia coli* بقيمة MIC = 0 ,078 µl/ml [17].

✓الدراسة التي قام به Chang Ha Park et al (2019): في هذه الدراسة تم تحديد التركيب الكيميائي للزيت الأساسي من أعضاء مختلفة من الضرم الزغبي (الزهور، الأوراق، السيقان، الجذور) باستخدام قياس الطيف الكتلي للغاز GC-MS، علاوة على ذلك تم تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات لمستخلصات (ميثانول، إيثانول، ثنائي إيثيل أيثر، هكسان، أسيتات الإيثيل).

أظهرت النتائج أن مستخلص الأسيتات أكثر نشاطا مضاد للبكتيريا ضد جميع السلالات المختارة بما في ذلك المكورات العنقودية، *Escherichia coli*، .... وأيضا كان مستخلص الأوراق لأسيتات الايثيل الأكثر نشاطا ضد جميع السلالات البكتيرية المختارة.

أظهرت جميع المستخلصات نشاطا كبيرا ضد S-heemolyticus.

كما أظهرت النتائج أن الزيت غني بالتربينات[9].

✓الدراسة التي قام بها Mousa O Gouda ورفقائه (2018): تم في هذه الدراسة تقدير المحتوى الفينولي والفلافانويدي للضرم الزغبي المتواجد في مصر.

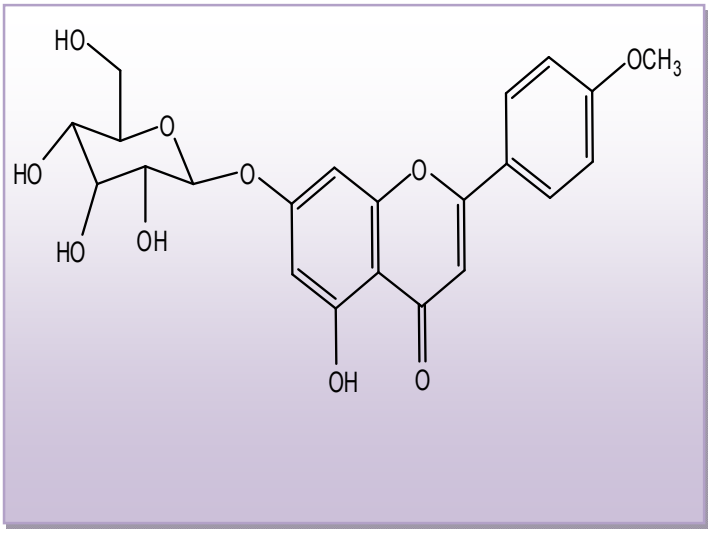
تم تقديرالمحتوى الفينولي للمستخلص الإيثانولي بإتباع الطريقة اللونية باستخدام كاشف Folin-ciocalteu وقدر ب 234 ,17 ±0,37 µg GAE /mg من العينة.

المحتوى الفلافانويدي للمستخلص تم تقديره باستخدام كلوريد الألمنيوم عن طريق قياس امتصاصية العينات باستخدام جهاز UV Spectrophotometre عند الطول الموجي 760 nm وقدرت نسبة الفلافنويدات بــ134,36 ±0,067 µg quercetin /mg للعينة.

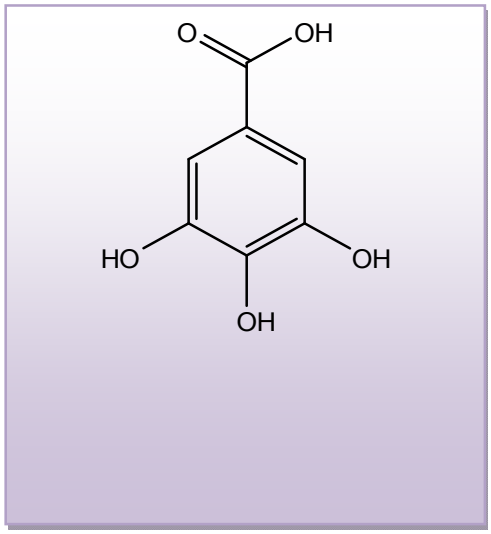
كما تم فصل مركبين من مستخلص أسيتات الإيثيل بواسطة العمود الكروماتوغرافي وتم تعريفهما بمطيافيتي الرنين النووي المغناطيسي للبروتون(RMN ^{1}H(400 MHz والكربون13 (NMR ^{13}C(100MHz.

المركبين هما: *Acacetin-7-o-glucoside* الشكل(6) و *Gallic acid* الشكل(7).

في الأخير تم دراسة الفعالية البيولوجية عن طريق 3 اختبارات، وأظهرت النتائج أن له تأثيرا مكافحا للالتهاب، مسكنا، كما أنه يحمي الكبد[11].



الشكل (6): مركب *Acacetin-7-o-glucosie*



الشكل(7): مركب *Gallic acid*

من خلال هذا المسح الذي مكننا من الاطلاع على بعض الدراسات السابقة نجد أن العمل الذي نحن بصدد القيام به عمل أصيل وتتجلى أصالته في أن معظم الدراسات التي أجريت على النبتة المدروسة هي دراسات تخص زيوتها الأساسية، وأيضا منطقة الدراسة "تبسة" لم يسبق أن تم فصل واستخلاص منتجات الأيض الثانوي من الضرم الزغبي.

الفصل الثاني
الزيوت الأساسية والفلافونيدات

الفصل الثاني: الزيوت الأساسية والفلافونيدات

II.1.منتجات الأيض الثانوي:

تعد المنتجات الطبيعية مركبات من أصل طبيعي أنتجتها الكائنات الحية وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في تفاعلات الاستقلاب والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة[21] .

من خلال المسح الكيميائي لجنس الضرم تبين أن من بين أكثر منتجات الأيض الثانوي انتشارا هي الزيوت الأساسية، التربينات، الفلافونيدات. وهو ما يدفعنا للاقتصار على تعريف ودراسة هذه الأنواع من منتجات الأيض الثانوي.

II.1.1.الزيوت الأساسية Essential oils

II.1.1.1.تعريف الزيوت الأساسية:

الزيوت الأساسية أو الزيوت الطيارة هي عبارة عن خلائط من المواد العطرية ذات المصدر النباتي تنتج عن عملية التحول الأيضي في النبات. تتجمع داخل تراكيب خاصة مثل الشعيرات الغدية كما في العائلة الشفوية أو القنوات الزيتية كما في العائلة الخيمية أو الغدد الزيتية كما في العائلة السذبية. تتواجد الزيوت العطرية في جميع أجزاء النبات لكنها تتركز في بعض أجزائه. وهي عبارة عن تربينات أحادية وسيسكيتربينات نصف ثلاثية. وتسمى الزيوت الطيارة بعدة أسماء منها الزيوت العطرية، الزيوت الأثيرية، الزيوت الأساسية [22] .

II.1.1.2.خصائص الزيوت الأساسية:

رغم اختلاف التركيب الكيميائي للزيوت الطيارة إلا أنها تشترك في بعض الصفات نذكر منها:

سائلة في درجة الحرارة العادية، وتتميز بكونها طيارة وهذا ما يميزها عن الزيوت الثابتة، ونادرا ما تكون ملونة.

عموما كثافتها أقل من كثافة الماء، تملك ذوبانية ضعيفة في الماء وقابلة للذوبان في المذيبات العضوية ولها معامل انكسار عالي وهي قادرة على تحريف الضوء المستقطب[23] .

II.1.1.3.مكونات الزيوت الأساسية:

يمكن أن يحتوي الزيت الأساسي على مائة مركب مختلف، تنتمي إلى مجموعتين تتميزان بأصول وراثية محددة: التربينات ومشتقات الفينيل بروبان التي يتم تخليقها حيويا بشكل أساسي من حمض الشيكيميك[24] .

II.1.1.4.طرق استخلاص الزيوت الأساسية:

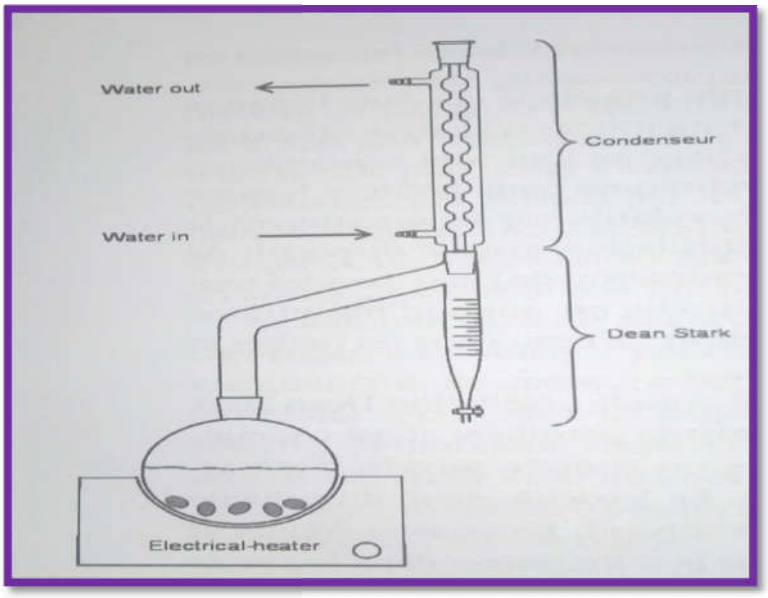
يتم استخلاصها بواسطة العديد من الطرق نذكر أهمها:

II.1.1.4.أ. التقطير:

يعرف التقطير على أنه فصل مركبات مزيج من مركبين أو أكثر تبعا لدرجة حملها وهي في حالتها الغازية. وهو يعتمد أساسا على خاصية التطاير في الزيوت تحت تأثير درجة الحرارة، فيحمل بخار الماء الزيت معه وبعدها يتكاثف ليفصل بعدها الزيت بواسطة الفصل.

التقطير المائي:

التقطير المائي هي طريقة مضبوطة من قبل AFNOR لاستخلاص الزيوت الأساسية. حيث يتم غمس المادة النباتية المراد استخلاص الزيت الأساسي لها في الماء، ويتم إخضاع الكل للحرارة حتى الغليان. تسمح الحرارة المرتفعة بانفجار الخلايا النباتية وتحرير الجزيئات العطرية، تتصاعد هذه الجزيئات مع بخار الماء مشكلة خليط ايزوتروبي، يتم تكثيف الزيت عن طريق خفض درجة الحرارة في المكثف ليتحول إلى سائل بعدها يتم فصله عن الماء[25] .

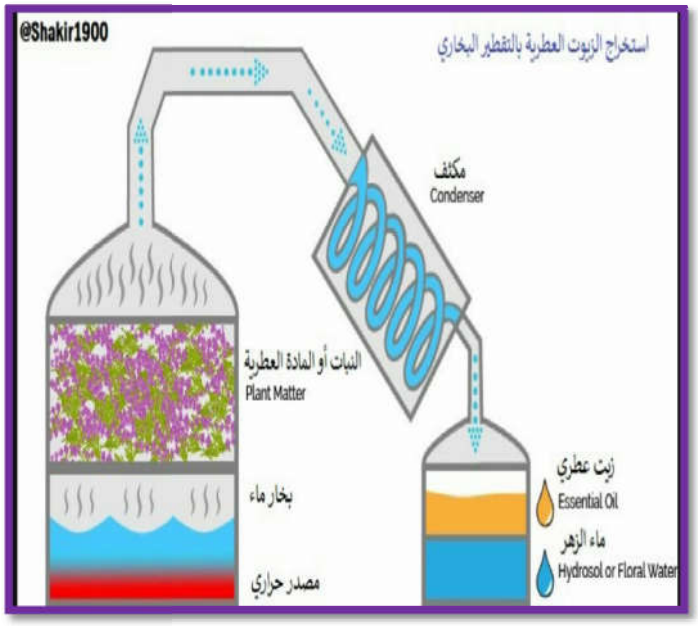


الشكل (8): رسم تخطيطي لجهاز الاستخلاص المائي

التقطير بالبخار:

التقطير بالبخار هي إحدى الطرق الأساسية للحصول على الزيت الأساسي، في هذه التقنية توضع المادة النباتية في أوعية شبكية في معزل عن الماء بطريقة تسمح لبخار الماء أن يتخللها. خلال مرور البخار على المادة النباتية تنفجر الخلايا وتطلق الزيت العطري الذي يتبخر تحت تأثير الحرارة،

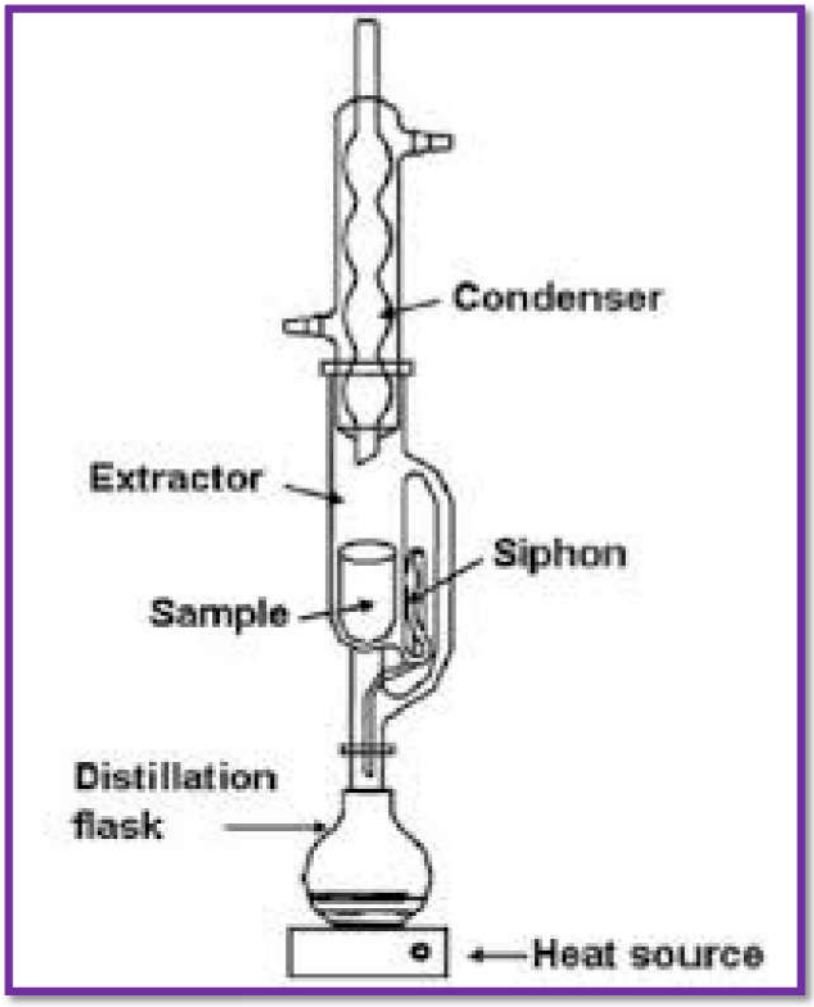
يتصاعد الزيت العطري مع بخار الماء ليتكاثف في المكثف ويتحول إلى الحالة السائلة. في الأخير يتم الحصول على طورين طور مائي وطور عضوي الذي يمثل الزيت الأساسي[26] .



الشكل (9): تركيب الاستخلاص بالبخار.

II.4.1.1.ب. الاستخلاص بواسطة المذيبات العضوية:

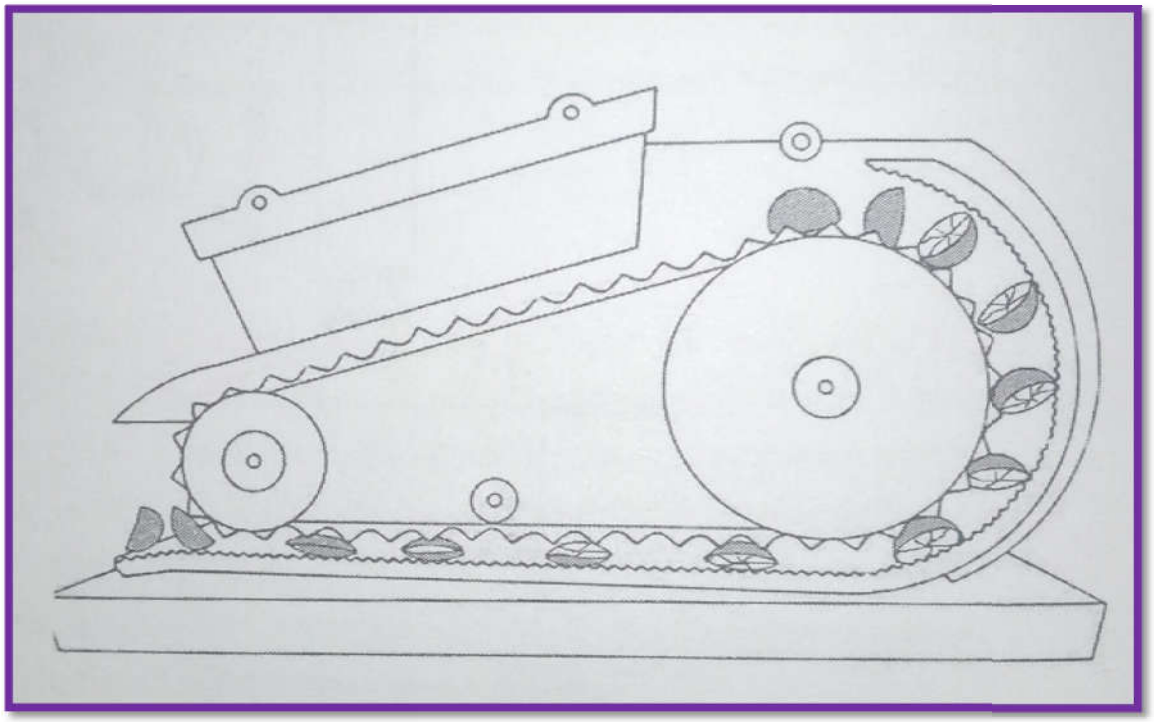
تستخدم هذه الطريقة لاستخلاص الزيوت الطيارة الحساسة، والتي تتأثر بالحرارة، أو تلك التي تتواجد بكميات ضئيلة في أجزاء النبات. وتعتمد الطريقة على وجود تماس بين المادة النباتية والمذيب العضوي باستخدام جهاز خاص مثل جهاز Soxhelet. يجب أن يكون للمذيب المختار استقرار معين ضد الحرارة والضوء والأوكسجين ويفضل أن تكون درجة حرارته منخفضة من أجل تسهيل عملية التخلص منه، كما يجب ألا يتفاعل كيميائيا مع المستخلص. وعادة ما يستعمل الميثانول والإيثانول وإيثر البترول، الهكسان...[27].



الشكل(10):رسم تخطيطي لجهاز Soxhlet

II.4.1.1.ج. الاستخلاص بالضغط البارد:

تستخدم عادة لاستخلاص الزيوت الموجودة في قشور الحمضيات والتي تتميز بكونها منتجات هشة بسبب تركيبتها التي تحوي تربينات وألدهيدات، هذا هو السبب الذي يجعلها تستخلص بالضغط البارد. يعتمد مبدأ هذه التقنية على كسر جدران أكياس الزيت الموجودة في قشور الثمار عن طريق كبس المادة النباتية الموضوعة في أكياس خاصة، ويمرر عبرها تيار من الماء البارد الذي يحمل معه الزيت الطيار، بعدها يتم عزل الزيت[27] .



الشكل (11): رسم تخطيطي لجهاز الاستخلاص بالضغط البارد.

II.4.1.1.د . الاستخلاص بثاني أكسيد الكربون فوق الحرج:

هي أحدث طرق الاستخلاص. يتم فيها استخدام ثاني أكسيد الكربون بشكل أساسي لأنه مذيب صحي وغير قابل للاحتراق وغير سام ومتوفر.

يتم التأثير على ثاني أكسيد الكربون بدرجة الحرارة والضغط للوصول إلى حالته الحرجة (31 درجة مئوية، 72,9 جوي) يتسرب المركب إلى المادة النباتية ويتشبع بالزيت، بعدها يتم التأثير عليه مرة ثانية بالضغط ودرجة الحرارة للرجوع للحالة السائلة أين يتم فصل الزيت عنه.

II.1.1.4.هـ. الاستخلاص بواسطة الأمواج فوق الصوتية:

إن استخلاص المركبات الفعالة بواسطة هذه التقنية يوفر كفاءة عالية في مدة زمنية قصيرة، وانخفاض استهلاك المذيبات والحرارة.

يتم وضع المادة النباتية في غرفة الاستخلاص وهي عبارة عن اسطوانة مغلقة من الفولاذ المقاوم للصدأ مع أغطية مدمجة مع نظام ديناميكي ومليئة بالمذيبات ويتم التأثير عليها بواسطة الموجات فوق الصوتية(موجات ذات ترددات صوتية تفوق 20 كيلوهرتز) وكذا بتأثيرات ميكانيكية فتحدث خللا في جدران الخلايا مما يسمح بتغلغل المذيب داخل المادة النباتية ويسمح باستخلاص المنتج[28].

II.1.1.5.تحليل الزيوت الأساسية

الطرق الفيزيوكيميائية

تحليل الزيوت الأساسية يتعلق أساسا بعدة معايير فيزيوكيميائية وهي: الكثافة، معامل الانكسار، القدرة الدورانية، مؤشر الحموضة، الأس الهيدروجيني. كما يمكن أيضا تعريفها من خلال خصائص حسية كاللون والرائحة والمظهر.

الطرق الكيميائية

يتعلق هذا التحليل بتحديد نوعي وكمي لمختلف مكونات الزيت العطري، يمكن استخدام الطرق التالية: CPG، GC-MS، الرنين النووي المغناطيسي بمختلف أنواعه، الأشعة تحت الحمراء، والأشعة فوق البنفسجية...[29] .

II.1.2.التربينات Terpenoids

II.1.2.1.تعريف التربينات:

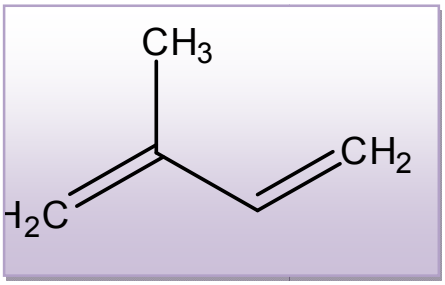
اقترح مصطلح التربين عام 1880. وهي مجموعة هائلة من منتجات الأيض الثانوي ذات الهياكل الهيدروكربونية المتنوعة بدءا من السلاسل الخطية وانتهاء إلى بنيات متعددة الحلقات الكربونية.

يطلق اسم التربينات على الهيدروكربونات الطبيعية، المسؤولة عن الرائحة الزكية للنباتات، إذ أحصى العلماء أكثر من 30.000 مركب إلى الآن، إذ أنها تلعب دورا مهما في البيولوجيا (هرمونات، فيتامينات) وتستعمل بشكل كبير في العطور والمشتقات الصناعية[30،31] .

II.2.2.1.تصنيف التربينات:

تتميز التربينات بأنها تشترك في الوحدة الأساسية التي تعرف بوحدة الإيزوبران

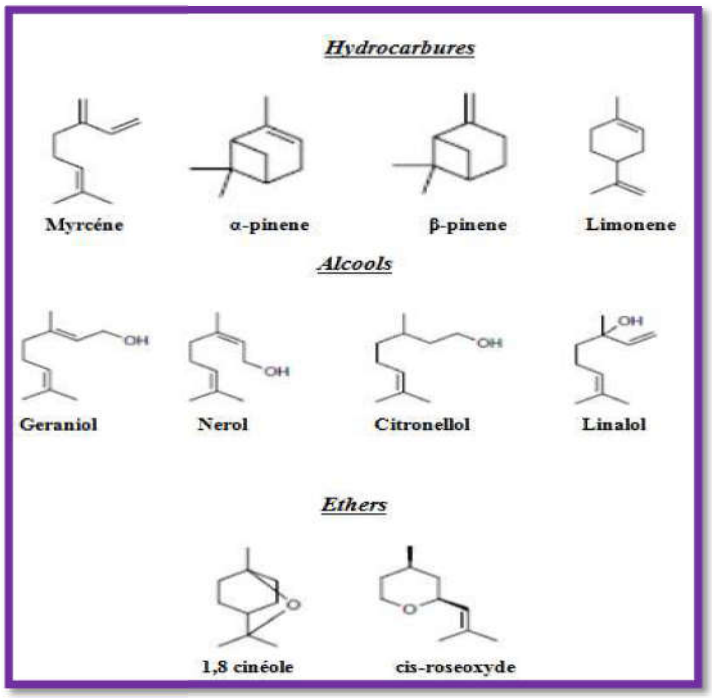
.Iso pentenyle pyrophosphate (IPP)



الشكل (12): وحدة الإيزوبران

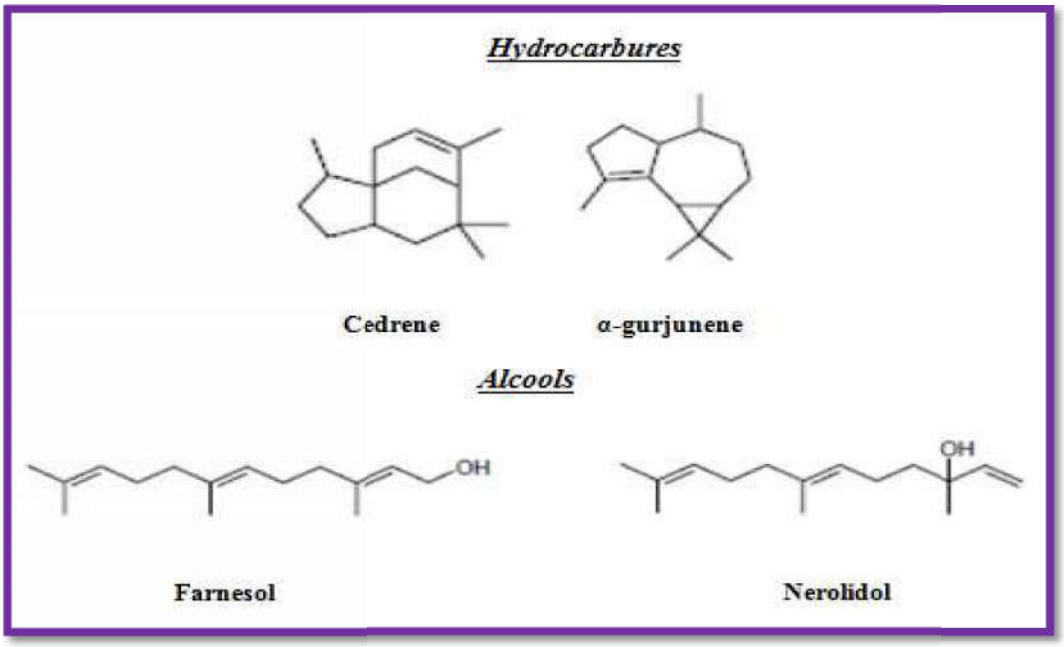
تصنف التربينات تبعا لتضاعف وحدة الايزوبران الى:[32]

- ✓ **التربينات الأحادية:** تنتج من اتحاد وحدتين من الايزوبران أي 10 ذرات كربون.



الشكل (13): أمثلة عن التربينات الأحادية

✓ **السيسكيتربينات:** تتكون من 3 وحدات ايزوبران أي 15 ذرة كربون.



الشكل (14): أمثلة عن السيسكيتربينات

✓ **التربينات الثنائية:** تتكون من 4 وحدات ايزوبران أي 20 ذرة كربون.

✓ **السيستربينات:** تتكون من إتحاد 5 وحدات ايزوبران أي 25 ذرة كربون.

✓ **التربينات الثلاثية:** تتكون من 6 وحدات ايزوبران أي 30 ذرة كربون.

✓ **التربينات الرباعية:** تتكون من 8 وحدات ايزوبران أي 35 ذرة كربون.

✓ **متعدد التربينات:** تنتج عن إتحاد أكثر من 40 وحدة ايزوبران.

II.3.2.1.خواص التربينات:

تعتبر التربينات مركبات نشطة بيولوجيا، فهي تعتبر مضادة للفيروسات والفطريات وكذا الالتهابات، كما أن العديد منها مضادة للأورام السرطانية [33].

لها نشاط مضاد للأكسدة [34] وتستخدم كمضافات غذائية ومواد تجميل [35]، مضادة للميكروبات والالتهاب والسرطان[36-39] .

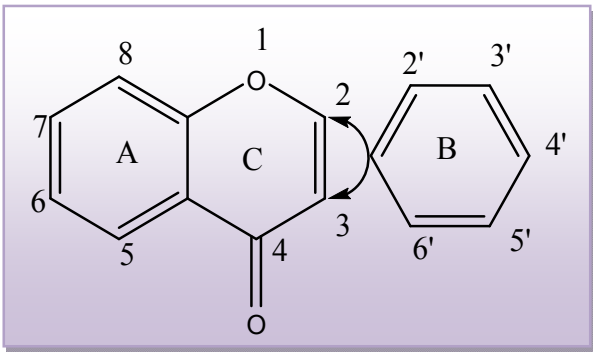
II.3.1.الفلافونيدات Flavanoids

II.3.1.1.تعريف الفلافونيدات:

مصطلح Flavanoid في اللغة اللاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus وتعني أصفر، وهي عبارة عن صبغات نباتية موزعة على جميع أجزاء النبات، وبشكل أكبر في الجزء الهوائي منه، مسؤولة عن ألوان الأزهار الفواكه وأحيانا الأوراق[40] .

تتوزع بشكل كبير في النباتات الراقية خاصة كاسيات البذور وبصفة متوسطة عند عاريات البذور وشبه منعدمة عند الفطريات والطحالب[41] .

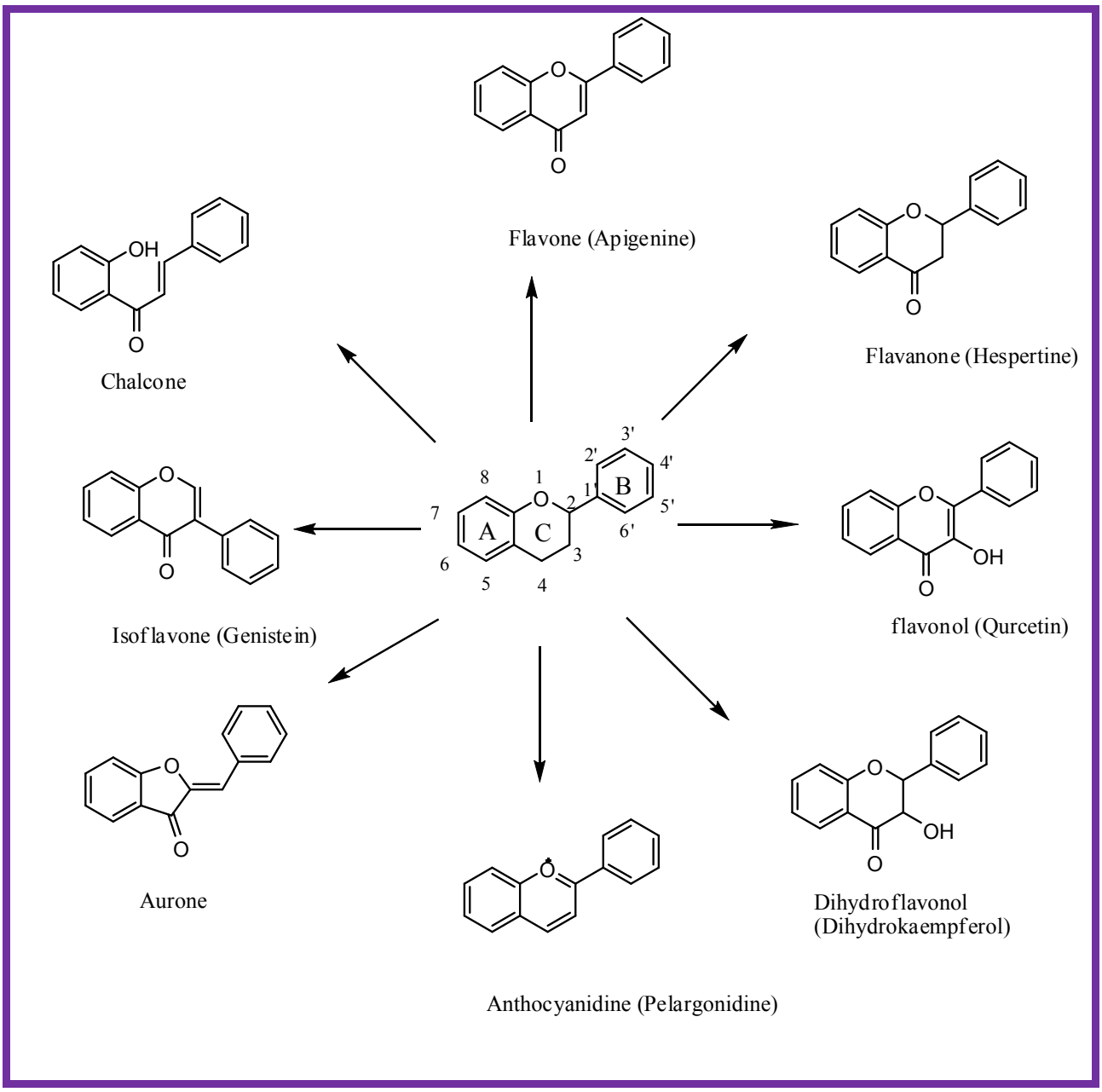
اكتشف الفلافونيدات من طرف عالم الكيمياء الحيوية Albert Szent-Györgyi [42]. تحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على الشكل($C_6-C_3-C_6$)[43] ، مكونة من وحدتين عطريتين تعرف إحداهما بالنواة A والأخرى بالنواة B ترتبطان بسلسلة من ثلاث ذرات كربون قد تبقى مفتوحة وقد تشكل الحلقة C والتي تمثل حلقة أوكسيجينية (حلقة Chromane) كما هو موضح في الشكل (15)[44].



الشكل(15): الهيكل العام للفلافونيد

II.3.1.2.تصنيف الفلافونيدات:

تصنف الفلافونيدات بنيويا إلى عدة أنواع على حسب عدد ونوع وطبيعة المستبدلات على الحلقتين A و B التي تكون عن مجموعات ميثوكسيل أو غليكوزيل في أغلب الأحيان، وكذلك حسب درجة تأكسد الحلقة غير المتجانسة C [45] كما هو ملخص في الشكل (16):



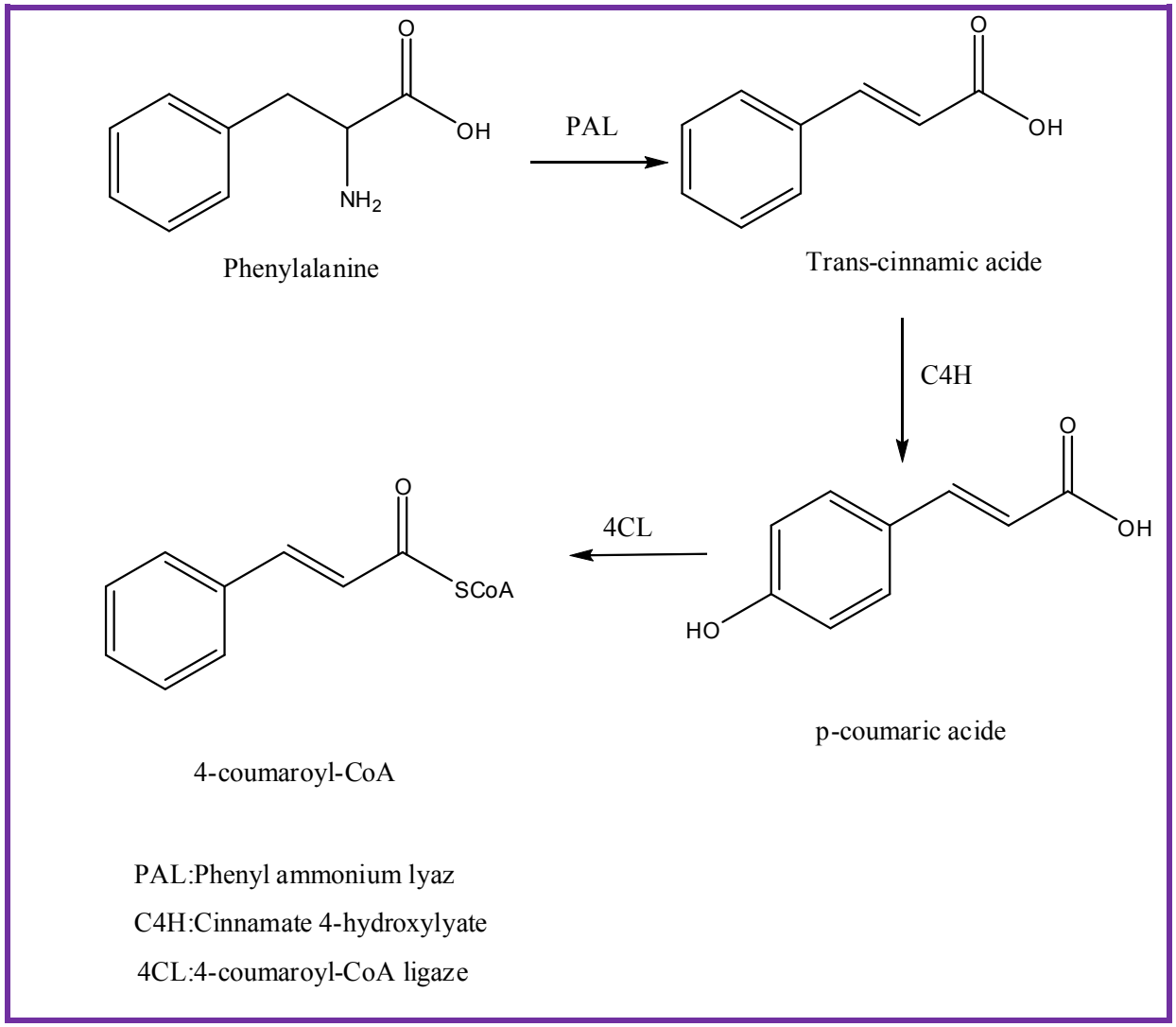
الشكل (16): أهم أقسام الفلافونيدات مع أمثلة عنها.

II.3.3.1.التصنيع الحيوي للفلافونيدات:

يتم بناء الفلافونيدات في الخلية النباتية انطلاقا من تشكيل الهيكل الأساسي وفق عملية معقدة تشمل سلسلة من التفاعلات[45].

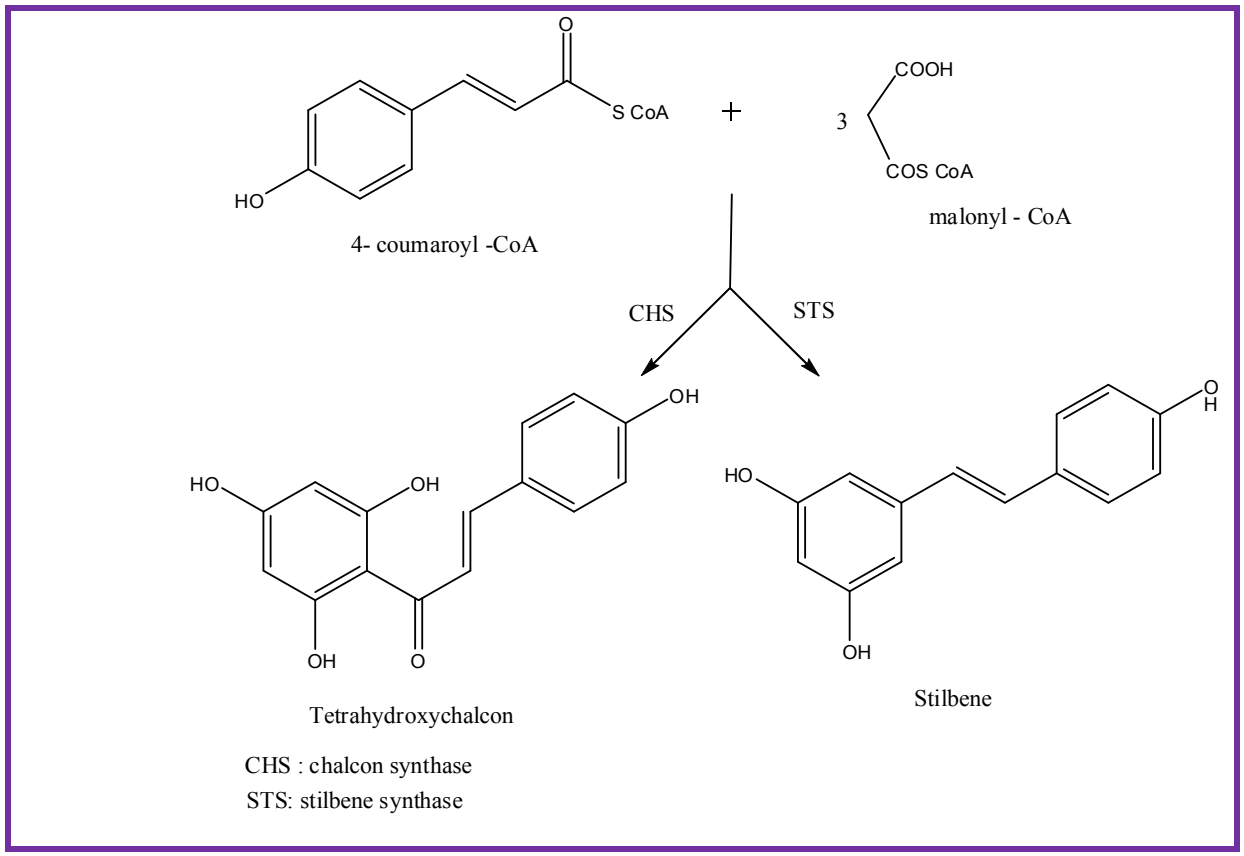
II.1.3.3.أ. البناء الحيوي للشالكون:

عموما البناء الحيوي للفلافونيدات يبدأ من Phenyl propanoid الذي يتشكل بإزالة مجموعة الامين لمركب Phenylalanine بواسطة إنزيم (PAL) لإنتاج حمض السينامي Trans-acide cinnamique ثم تثبت مجموعة الهيدروكسيل على الحلقة الأروماتية بواسطة إنزيم (C4H) لينتج المركب Acide p-coumarique الذي يعطي 4-Coumaroyl-CoA بتحفيز إنزيم (4CL) والتفاعلات موضحة في الشكل (17)[45].



الشكل (17): تشكيل Coumaroyl-CoA انطلاقا من Phenylalanine

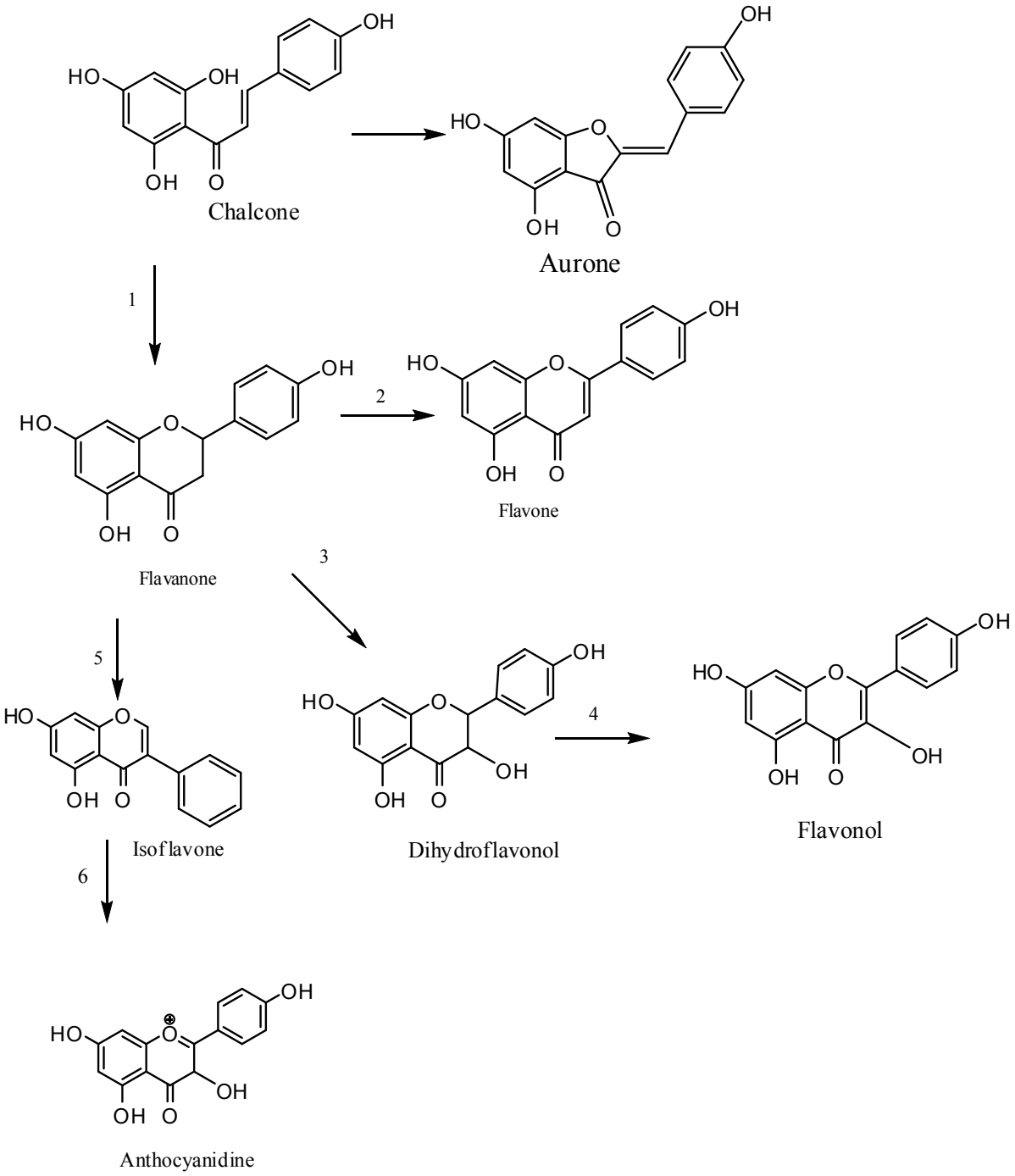
يبدأ اصطناع الفلافونيدات في الخلية بتكاثف4-Coumaroyl-CoA مع ثلاث وحدات من (Malonyl-CoA) بتحفيز كلا الإنزيمين (CHS) و(STS) لإنتاج الشالكونات والستيلبين. هذه المراحل موضحة في الشكل (18)[45].



الشكل (18): تشكل الشالكونات والستيلبين

II.3.3.1.ب.البناء الحيوي لمختلف هياكل الفلافونيدات بدءا من الشالكون:

يعتبر تكوين نواة الشالكون نقطة انطلاق باقي الفلافونيدات الأخرى، ويتم ذلك في البلاستيدات الخضراء. وينتج التنوع الفلافانويدي من التسلسل المثبت على الجذع الأيضي المركزي Flavanone-chalcone ويعبر عن كل تسلسل بمواد متراكمة ذات تعقيد بنيوي يتغير بدلالة الإنزيمات القائمة على تركيبها. فهناك إنزيمات محفزة لتفاعلات التماكب، الأكسدة، الألكلة، الأسيلة، تثبيت السكر... الشكل (19) يمثل تشكل مختلف أصناف الفلافونيدات.



الشكل (19): الاصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات انطلاقا من الشالكون.

1- Chalcone isomérase

2- Flavone synthase

3- (2S)-Flavanone 3-hydroxylase

4- Flavonol synthase

5- 2-Hydroxyisoflavanone synthase

6- Anthocyanidine/flavonol 3-O glucosyltransférase

II.1.3.4.خواص الفلافونيدات والأهمية البيولوجية: [46-47]

تعتبر الفلافونيدات مركبات فينولية ذات حمضية ضعيفة، تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم والفلافونيدات التي تحوي عدد كبير من المستبدلات الهيدروكسيلية أو الفلافانويدات الإيتيروزيدية تتميز بقطبية عالية فهي تذوب في الكحولات والمذيبات العضوية القطبية، أما الفلافانويدات الأقل قطبية التي تحوي مستبدلات ميثوكسيلية فهي قابلة للذوبان في المذيبات العضوية غير القطبية.

تمتص الفلافونيدات الأشعة فوق البنفسجية مما يجعلها تحمي النبات (البروتينات وغيرها) من آثار هذه الأشعة.

للفلافونيدات أنشطة بيولوجية مختلفة فهي تعد مضادة للحساسية والالتهاب، مضادة للفيروسات والبكتيريا....

II.1.3.5.الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

1 – الاستخلاص:

من أشهر الطرق التي تستخلص بها الفلافونيدات هي الاستخلاص الانتقائي باستعمال مزيج من الايثانول أو الميثانول مع الماء بنسبة 70% أو 80%، ثم يبخر الكحول ويخضع المستخلص المائي لعملية فصل سائل–سائل بمذيبات مختلفة وفقا لتدرج قطبيتها.

2 – الفصل والتنقية:

يتم إجراء فصل أولي عن طريق الاستخلاص المتتابع بواسطة المذيبات وفق تدرج القطبية مما يسمح بفصل المركبات القطبية عن الأقل قطبية.

تستخدم الكروماتوغرافيا بمختلف أنواعها على نطاق واسع لفصل المركبات الفلافونيدية، وتعتبر كروماتوغرافيا العمودCC الأنجع لفصل كميات كبيرة وبشكل عام يستخدم هلام السيلكا أو السيليلوز أو البولي أميد كمواد مازة أو ماصة[48] .

3 – التعيين البنيوي: يعتمد في تعيين البنية على:

1 – الخصائص الكروماتوغرافية:

أ) اللون الاستشعاعي:

يقصد به لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية، ويعتبر أول ما يعتمد عليه لمعرفة الصيغة البنيوية بشكل عام.

ب) تحديد ثابت الانحباس:

يعرف على أنه النسبة بين المسافة المقطوعة من طرف المركب انطلاقا من نقطة البداية والمسافة المقطوعة من طرف المذيب انطلاقا من نفس النقطة. وهو قيمة مميزة لكل مركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة حرارة، المذيب)، وترتبط قيمته بطبيعة المستبدلات الموجودة على المركب[49-50].

2– الطرق الطيفية:

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية:

تعتبر من أهم التقنيات المستخدمة لتحديد بنية الفلافونيدات نظرا لسهولة تحقيقها، إذ أنها لا تحتاج كمية كبيرة من المادة والمعلومات التي تعطيها مهمة جدا. وتعتمد على أن لكل مركب طيف

امتصاص مميز في الوسط الكحولي (ميثانول) ويتغير هذا الطيف بإزاحات معينة بعد إضافة الكواشف (NaOH, MeONa,$AlCl_3$), ($AlCl_3$+HCl), NaOAc,(NaOAc+H_3BO_3) التي تتفاعل مع مجموعة وظيفية واحدة أو أكثر في نواة الفلافونيد[48] .

مطيافية الرنين النووي المغناطيسي:

يعتبر طيف الرنين النووي المغناطيسي أهم التقنيات المتاحة للحصول على التركيب الكيميائي للمركبات سواء طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتونH^1 أو للكربونC^{13} وكذا طيف الرنين النووي المغناطيسي ثنائي البعد بمختلف تقنياته (Cosy, Noesy, HMBC, HSQC , …).

مطيافية الكتلة:

تستعمل هذه التقنية للتعرف على البنية الكيميائية للمركب اعتمادا على الوزن الجزيئي، وبدراسة مختلف الشظايا الناتجة عن انقسامه. ومن التقنيات المستخدمة:

تقنية القذف الإلكتروني EI، تقنية القذف السريع بالذرات FAB، تقنية الإلكتروسبراي.

الفصل الثالث
الدراسة البيولوجية

الفصل الثالث: الدراسات البيولوجية

III.الدراسات البيولوجية:

III.1.الإجهاد التأكسدي:

هو اختلال التوازن بين العناصر الفعالة وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة، فالعديد من الأمراض المزمنة بما في ذلك الأعصاب و أمراض القلب والأوعية الدموية السبب فيها هو الضرر التأكسدي في الخلايا بسبب هجوم أنواع من الأكسجين التفاعلية ROS ونقص في مضادات الأكسدة داخل خلايا الدفاع. وللجسم البشري عدة آليات لمواجهة الإجهاد ألتأكسدي من خلال إنتاج المواد المضادة للأكسدة [52].

III.1.1.الجذور الحرة:

III.1.1.1.تعريف الجذور الحرة:

عادة ما تكون الالكترونات مرتبطة بصفة زوجية على مستوى الذرات والجزيئات كل زوج يتحرك في منطقة من الفضاء جد معرفة متواجدة حول النواة. هذه المنطقة من الفضاء تسمى المحط.

الجذر الحر هو نوع كيميائي له إلكترون أو عدة الكترونات غير مقترنة، أي على الأقل أحد الكتروناته يتواجد وحده على المحط. بالاتفاق يرمز للجذر الحر بنقطة متواجدة فوق وعلى يمين رمز الذرة، ويكون الجذر الحر غير مستقر[53] .

III.1.1.2.تصنيف الجذور الحرة[52] :

✔الجذور حرة ذات مدة حياة قصيرة:

هي جذور مدة عيشها قصيرة جدا في الظروف الطبيعية، أي أنها غير مستقرة ذات أوزان جزيئية منخفضة، تقدر أعمارها بالميكروثانية وقد تصل الى البيكوثانية. ويحوي هذا النوع ذرات العناصر مثل الهيدروجينH، النتروجينN، الفلور F، الكلور Cl.

✔ جذور حرة ذات مدة حياة طويلة:

وهي الجذور التي لها أعمار طويلة تقدر بالثواني، الدقائق أو الساعات أو الأيام مثل جذر DPPH، كما يمكن القول إنه بزيادة ثبات الجذر تقل فعاليته وذلك لحاجته لطاقة تنشيط أثناء التفاعل.

III.2.مضادات الأكسدة:

III.2.1.تعريف مضادات الأكسدة:

هي جزيئات أو أيونات أو جذور مستقرة نسبيا قادرة على تأخير أو منع أكسدة جزيئات أخرى تحمي الخلايا من الأضرار التي تسببها الجزيئات غير المستقرة والتي تعرف بالجذور الحرة، حيث تعرف على أنها أي مادة تكون بتراكيز منخفضة مقارنة بالمواد القابلة للأكسدة. وتشمل المركبات داخلية المصدر ذات طبيعة إنزيمية مثل CAT وبعض الجزيئات غير إنزيمية. وأخرى ذات مصدر خارجي من بينها الفيتامينات المضادة للجذور الحرة، ومركبات طبيعية مثل متعددات الفينول كالفلافونيدات وبعض المعادن مثل الزنك والنحاس[46،54] .

III.2.2.تصنيف مضادات الأكسدة:

يمكن تقسيمها إلى قسمين حسب مصدرها:

III.2.2.1.مضادات الأكسدة الطبيعية:تنقسم إلى قسمين:

III.2.2.1. أ.مضادات الأكسدة الذاتية:

يملك الجسم مجموعة متنوعة من مضادات الأكسدة الذاتية التي تعمل على موازنة تأثير المؤكسدات، وهي في الأساس عبارة عن إنزيمات مثل:

✓(Superoxide dismutase) SODs (EC 1.15.1.11): الذي يعمل على تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، وذلك بإزالة الجذر $O_2^{\cdot}$ عن طريق تسريع معدل تحوله إلى H_2O_2.

✓Catalase (EC 1.11.1.6) متواجد في كل أعضاء الجسم خاصة في الكبد وكريات الدم الحمراء والكلى، يعمل على تحويلH_2O_2إلى H_2O و O_2.

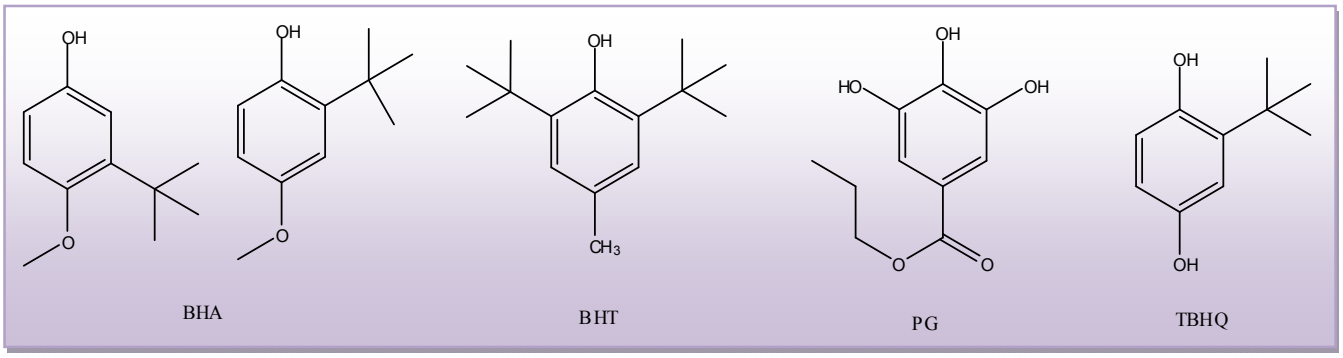
✔peroxiredoxins (PRXs, EC 1.11.1.15) يتوضع أساسا في السيتوزول والميتوكندري، فعاليته ضعيفة مقارنة ب CAT إلا أنه يلعب دورا مهما في التخلص من الجذور الحرة.

III.2.2.1.ب.مضادات الأكسدة الخارجية:

وهي التي لا تنتج من طرف العضوية بل تستخلص من الأغذية والتي قد تكون فيتامينات مثل Vitamin C (Ascorbic Acid)وVitamin E (a-Tocopherol) وGlutathione، وقد تكون مركبات فينولية ذات أصل نباتي [55-56].

III.2.2.2.مضادات الأكسدة المصنعة:

تعتبر مضادات الأكسدة المصنعة عنصرا أساسيا يجب إضافته للأطعمة المعلبة للتقليل من إتلافها وذلك لسرعة تأكسدها. ومن بين هذه المضادات التي تستخدم على نطاق واسع في الأطعمة نجد BHT(Buthyl hydroxyl toluene)،PG(Propyl gallate) ،TBHQ(Tertio butyl hydroxy quinone) ، BHA (Buthyl hydroxyl anizole) الشكل(20).



الشكل (20): مضادات الأكسدة المستعملة في الصناعة الغذائية.

هذه المركبات تستخدم على نطاق واسع في الصناعة الغذائية نظرا لأدائها العالي، انخفاض تكلفتها وتوفرها الواسع مقارنة بمضادات الأكسدة الطبيعية.

III.3.2.آلية عمل مضادات الأكسدة:

لمضادات الأكسدة عدة آليات تتمثل في:

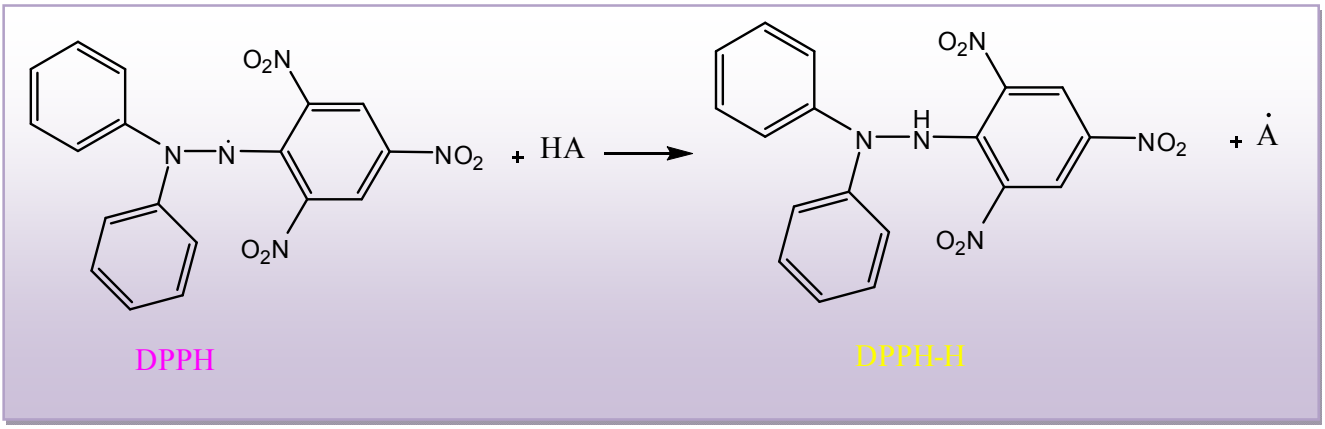
كسر سلسلة تفاعلات جذرية، امتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية، كبح الجذور الحرة، توقيف انتقال الالكترونات وإزالة المعادن الثقيلة بالاستخلاب[57-58] .

III.4.2.طرق تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة:

وهي قياس قدرة المستخلص أو المركب على تثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة وتقدر الفاعلية المضادة للأكسدة منها ماهي كيميائية تعتمد على التغير اللوني قبل وبعد التفاعل مثل:

أ – اختبار DPPH:

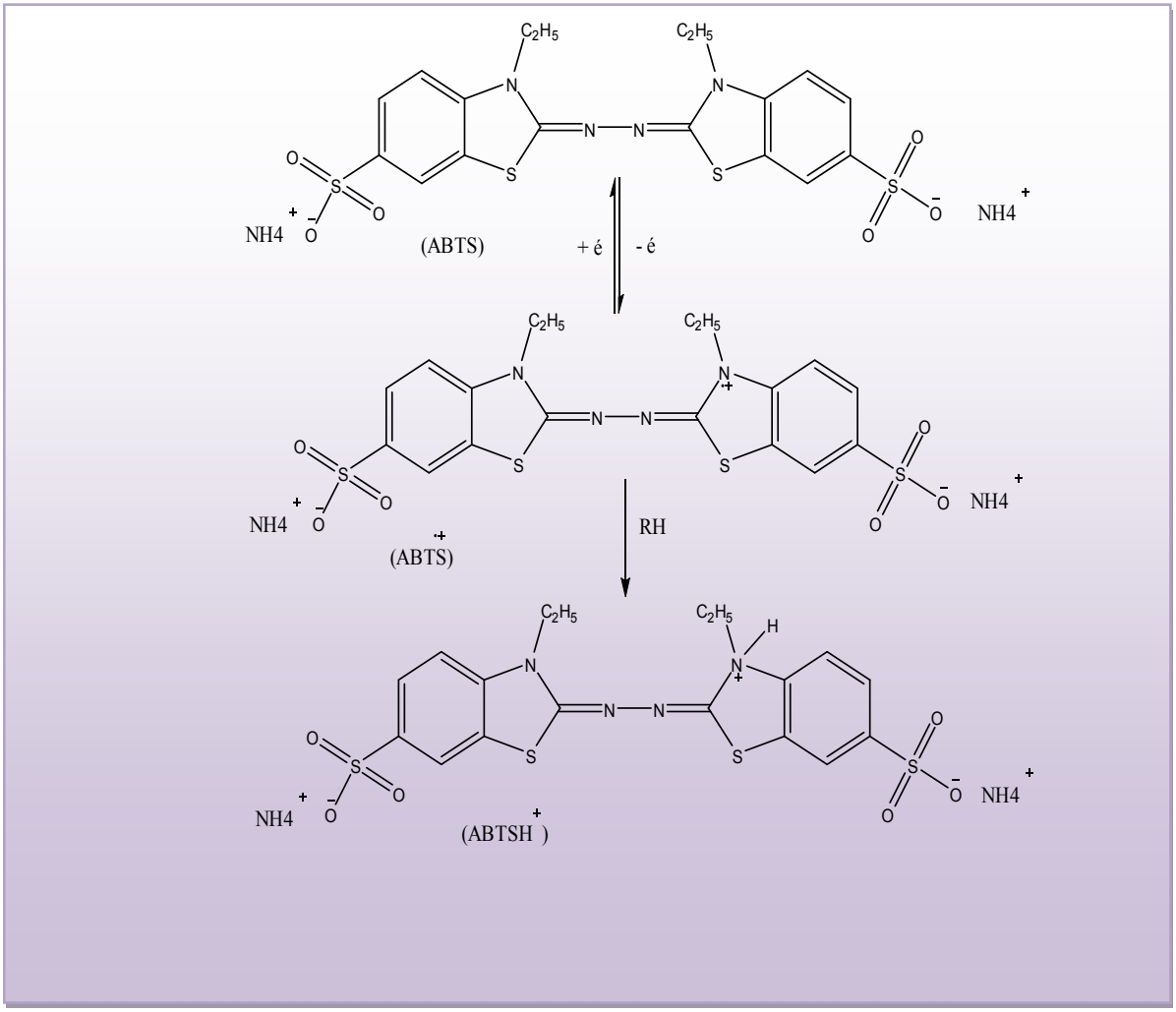
هو اختبار مضاد للجذور الحرة يعتمد على قدرة المستخلصات لتثبيط 50 % من جذور DPPH وتحسب من منحنى تغير نسبة التثبيط بدلالة تركيز المستخلصات. النتيجة يعبر عنها بـIC_{50} (كمية مضادات الأكسدة اللازمة لتثبيط 50 % من الجذر الحر)، فكلما كانت IC_{50} صغيرة كانت فعالية المستخلص كبيرة. في حالة وجود مضادات الأكسدة الاصطناعية كانت أو طبيعية قادرة على منح إلكترون فإن DPPH الذي يتميز بلونه البنفسجي يرجع إلى DPPH-H جزيئة مستقرة ذات لون أصفر والذي يتم قياسه من خلال طيف امتصاصه عند 517nm [59].



الشكل (21): معادلة تثبيط جذر DPPH في وجود مضاد الأكسدة.

ب- اختبار $ABTS^{\cdot+}$:

يعتمد هذا الاختبار على قدرة مضادات الأكسدة على تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ ذو اللون الأزرق المخضر الذي يتشكل بعد أكسدة ABTS من خلال تفاعله مع مركب Ammonium persulfate في وجود مركب مانح للهيدروجين. هذا التفاعل يرافقه اختفاء لون المحلول. يتم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 734 nm [60].



الشكل (22): معادلة تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ وتثبيطه بواسطة مضادات الأكسدة.

الجزء التطبيقي

الفصل الرابع
الدراسة الفيتوكيميائية

الفصل الرابع: الدراسة الفيتوكيميائية

IV.1.الطرق المستعملة في الدراسة:

IV.1.1.جمع وتهيئة المادة النباتية:

IV.1.1.1.جني النبتة:

تم جني النبتة شهر نوفمبر 2019 م من منطقة المرموثية ولاية تبسة الواقعة على بعد حوالي 700 كلم من الجزائرالعاصمة.

IV.1. 1.2.تجفيف النبتة:

تمتنقيتها من الأتربة والنباتات الدخيلة وتجفيفها في الظل بعيدا عن أشعة الشمس والرطوبة.

IV.1.1.3. طحن النبتة و تخزينها:

طحنت النبتة يدويا في مدق خشبي(هاون) وغربلتها وتخزينها في إناء زجاجي عاتم محكم الغلق ووضعه في مكان بعيد عن أشعة الشمس وخال من الرطوبة إلى حين استعمالها.

الشكل (23): المادة النباتية الجافة

IV.1.2.الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية: (التحليل الكيفي)

إن فعالية وأهمية النبتة تعود إلى ما تحويه من عناصر فعالة وهذه العناصر قد تختلف من نبات إلى آخر، وقد تختلف حتى لنفس النبات لكونها قد تتواجد في جميع أعضاء النبتة أو في أجزاء معينة منها،

وأيضا لكونها قد تختلف من منطقة إلى أخرى. تنوع هذه العناصر واختلافها يتطلب طرق كشف مختلفة حسب نوع المادة الفعالة ولذلك لابد من إجراء الفحص الكيميائي للنبتة.

أ. تحضير المستخلصات:

تم تحضير 4 ارلينات ذات سعة 100ml نظفت جيدا، تحوي كل ارلينة 3gمن مسحوق النبتة تنقع في 50ml من المذيب تغطى وتترك لمدة ساعتين ثم ترشح وتستعمل للمسح الفيتوكيميائي.

(الارلينة: 1 ايثر البترول، 2 كلوروفورم، 3 ايثانول، 4 ماء مقطر).

الشكل (24) : صورة المستخلصات

ب.تحضير الكواشف:

1) تحضير كاشف ماير: 5gمن KI + 1,36gمن $HgCl_2$ تذاب في 100ml ماء مقطر.

2) تحضير كاشف واغنر: 2g من KI + 1,27gمن I_2 تذاب في 100ml ماء مقطر.

الجدول (3): اختبارات الكشف الفيتوكيميائي

	الإختبار	الطريقة	الملاحظة
القلويدات[61]	**ماير Mayer**	نأخذ 1g من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار نضيف له قطرات من كاشف ماير	تشكل راسب أبيض يدل على وجود القلويدات
	Wagner	1ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب	تشكل لون احمر قرمزي دليل

		اختبار + نفس الحجم من كاشف Wagner	على وجود القلويدات
	$FeCl_3$	1ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار + قطرات من $FeCl_3$	ظهور راسب أصفر دليل على وجود القلويدات
الفلافونيدات[61]	Shinoda	1ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار + قليل من المغنيزيوم Mg + قطرات من HCl مركز بحذر على جدار الأنبوب	ظهور اللون الأحمر دليل على وجود الفلافونيدات
	NaOH	1ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار + NaOH	تغير لون المستخلص الى الأصفر دليل على وجود الفلافنويدات
	التانينات [62]	نضع كمية من المستخلص الايثانولي في أنبوب اختبار + قطرات من $FeCl_3$	ظهور اللون المخضر دليل على وجود التانينات
	الكومارينات [63]	2ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار+3ml من NaOH (10 %)	ظهور لون أصفر دليل على وجود كومارينات
	الستيرولات والتربينات الثلاثية [61]	1ml من كل مستخلص على حدى في أنبوب اختبار+قطرات من محلول لاماءات الأسيتيك +قطرات من حمض الكبريت المركز	ظهور حلقة حمراء دليل على وجود تربينات ثلاثية ظهور لون أخضر دليل على وجود الستيرولات
	السكريات المرجعة [64]	2ml من المستخلص المائي في أنبوباختبار+2ml من مزيج متساوي الحجم من محلول فهلنج Aو B ويسخن المزيج.	ظهور راسب أحمر آجوري يدل على وجود السكريات المرجعة.
	الصابونيزيدات	2ml من المستخلص المائي أنبوب اختبار + قليل	وجود رغوة ثابتة تؤكد وجود الصابونيزيدات

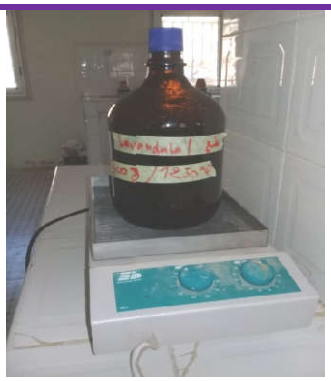
[60]	من الماء والرج بقوة ثم يترك الخليط مدة 20 دقيقة ويحسب ارتفاع الرغوة	لايوجد رغوة الاختبار سلبي(−) الرغوة أقل من 1cm اختبار إيجابي ضعيف + الرغوة من 1 إلى 2cm الاختبار إيجابي ++ الرغوة أكبر من 2cm الاختبار جد إيجابي+++
الزيوت الأساسية[65]	نأخذ 2ml من المستخلص ونسخنه في حمام مائي	وجود رائحة عطرة دليل على وجود الزيوت الأساسية

IV.3.1.الاستخلاص:

IV.1.3.1.استخلاص المركبات الفينولية:

أولا: الاستخلاص صلب – سائل:

بعد أن قمنا بتجفيف النبتة وطحنها قمنا بنقعها في محلول كحولي (ايثانول/ماء: 70 / 30) وتركها للرج في جهاز الرج لمدة 24 ساعة، بعدها رشحنا المحلول واحتفظنا بالرشاحة أما المادة النباتية أعدنا نقعها في نفس المحلول الكحولي (أعدنا العملية 3 مرات لمدة ثلاث أيام متتالية). جمعنا الرشاحة 3+2+1 وقمنا بتبخيرها بجهاز التبخير الدوار من أجل تركيزها تحت درجة حرارة لا تتعدى°40C بعدها أضفنا للمستخلص ماء مقطر ساخن حسب العلاقة (1Kg من النبتة الجافة تحتاج 400ml – 600ml ماء) تركنا المزيج لمدة ليلة كاملة ثم قمنا بترشيحه ترشيحا بسيطا للتخلص من الرواسب.



النقع

تركيب الترشيح تحت الفراغ

تركيب التبخير الدوار

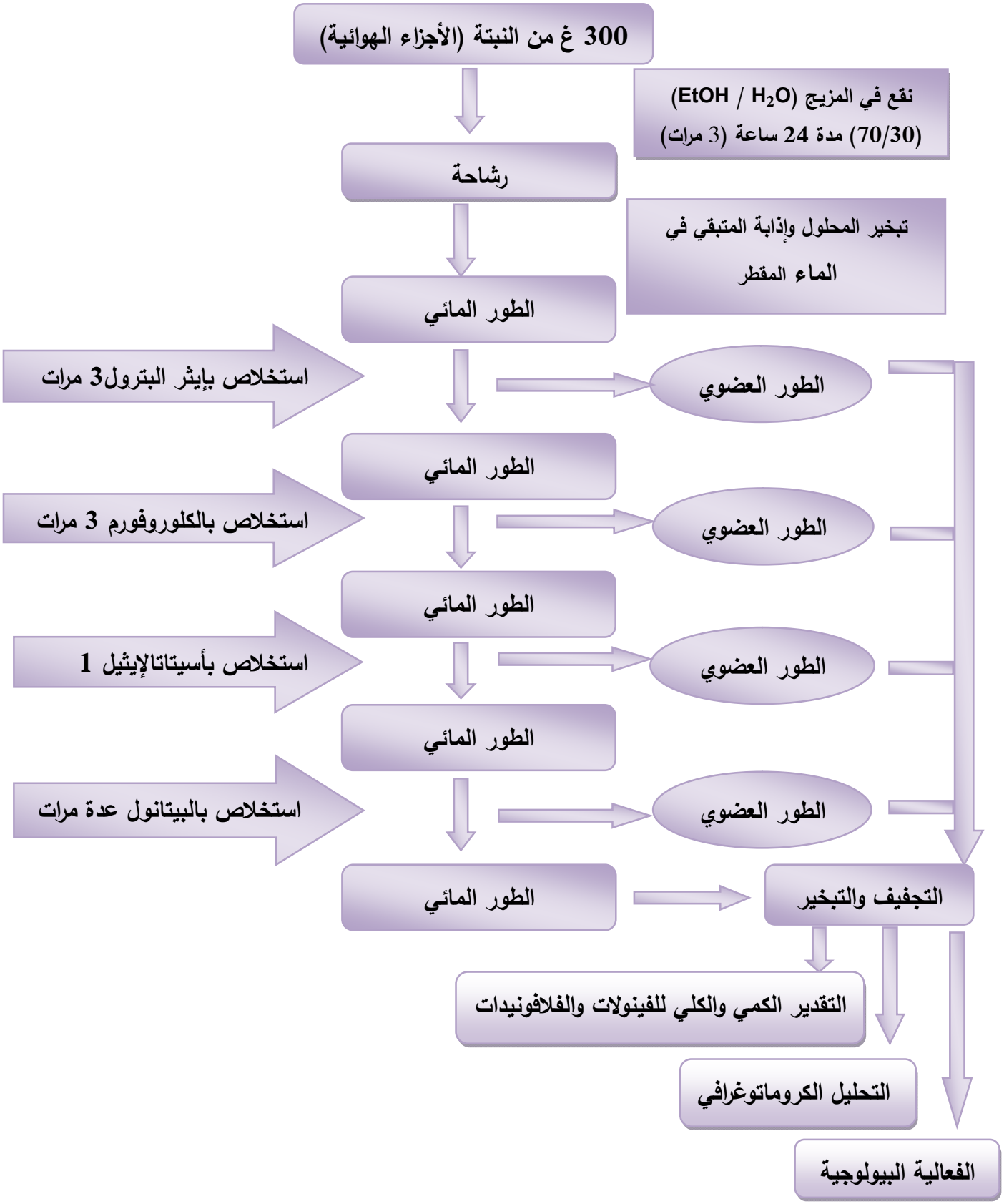
الشكل (25): صور من عملية الاستخلاص

ثانيا: الاستخلاص سائل – سائل:

قمنا بعملية فصل انتقائية سائل – سائل تبعا لتدرج قطبية المذيبات حيث بدأنا بإيثر البترول بنسبة 3/1 من حجم المستخلص المذاب في الماء مع رج خفيف وطرد الغازات وتركنا قمع الفصل لمدة كافية حتى انفصل الطوران قمنا بفصلهما وإعادة العملية 3 مرات، بنفس الطريقة عاملنا الطور المائي بالكلوروفورم (ثلاث مرات) ثم بخلات الإيثيل (مرة واحدة) وأخيرا بالبيتانول النظامي (عدة مرات).

تم تجفيف المستخلصات الأربعة بكبريتات الصوديوم اللامائية وتركيزها تحت ضغط منخفض.

كل المراحل السابقة موضحة في المخطط التالي (الشكل 26):



الشكل (26): مخطط يوضح مراحل الاستخلاص

IV.2.3.1.استخلاص الزيت الأساسي

تخضع المادة النباتية للتقطير المائي باستخدام جهاز كلفنجر وذلك عن طريق وضع المادة النباتية في دورق زجاجي (سعته 1000ml) يحوي ماء مقطر ويخضع للتسخين بواسطة منبع حراري، عند الغليان يتصاعد الزيت مع بخار الماء ليتكاثف في جهاز التبريد بعدها يتراكم في أنبوبة بها ماء مقطر وبعدها يفصل الزيت عن الماء ويحفظ في قارورة زجاجية بعيدا عن الضوء والحرارة الشكل (27).

الشكل (27): تركيب التقطير المائي (جهاز كلفنجر)

يتم تحليل الزيت باستخدام كروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة.

✔الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطيافية الكتلة (GC-MS) :

تم إجراء التحليل باستخدام كروماتوغرافPerkin Elmer autosystem XL، مزود بحاقن آلي وعمود Rtoc-WAX, polyethylene glycol,(60m x 0.25mm id. film thickness: 0.25µm)،إلى جانب كاشف مطياف الكتلة Perkin TURBO MASS، الشكل(28).

تم إجراءالتحليل وفق الشروط التجريبية التالية:

يتم قصف الجزيئات في مصدر تأين عند 150 درجة مئوية بواسطة حزمة الكترونية تبلغ 70 فولت، ويتم الكشف عن طريق محلل رباعي يتكون من أربعة أقطاب كهربائية متوازية ذات مقطع اسطواني .

الغاز الحامل: الهيليوم.

الضغط في الجزء العلوي من العمود: 4 psi.

درجة حرارة الحاقن: 250 درجة مئوية.

درجة حرارة أجهزة الكشف: 250 درجة مئوية.

برمجة درجة الحرارة: من60°C الى 230°C درجة مئوية بزيادة مقدرة ب 2°C/min.

الحقن: وضع الانقسام 80/1.

الشكل (28): جهاز GC-MS.

IV.3.3.1. مردود الاستخلاص:

يحسب وفق العلاقة التالية:

$$R(\%) = (Me/Ms) \times 100$$

R: المردود.

Me: كتلة المادة المستخلصة.

Ms: كتلة المادة الابتدائية.

IV.4.1.التقدير الكمي للمركبات الفينولية والفلافانويدية:

أ) التقدير الكمي للفينولات الكلية TPC:

يتم تقدير الفينولات الكلية لمستخلصات النبتة بإتباع الطريقة اللونية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau حيث يتكون هذا الكاشف من حمض الفوسفوتنغستين وحمض فوسفوموليبديك والذي يرجع إلى أكاسد التنغستين والموليبدين ذات اللون الأزرق. وتقدر كمية الفينولات عن طريق قياس امتصاصية العينات باستخدام جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 760nm بأخذ حمض الغاليك كفينول مرجعي.

يحضر محاليل ممددة لحمض الغاليك مابين0,03 g/l – 0,3.

يأخذ 0,5ml من كل تركيز ويضاف له 0,5ml من كاشف Folin-Ciocalteau 10 % (مخفف 10 مرات) تترك لمدة 5 دقائق في درجة حرارة المخبر، بعدها يضاف إليها 2ml من محلول كربونات

الصوديوم (20 %). تترك لمدة 30 دقيقة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة. تقاس الامتصاصية عند الطول الموجي 760nm بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية.

تعامل مختلف المستخلصات بنفس الطريقة التي عومل بها حمض الغاليك بكاشف Folin-Ciocalteau.

يعبر عن النتائج بالميليغرام من حمض الغاليك المكافئة لكتلة كل مستخلص بالغرام (mg /g).

يتم حساب الكمية الكلية للفينولات وفق العلاقة التالية:

$$C(mg/g) = ((A/K) \times Fx(V/P).$$

C: كمية المركبات الفينولية الكلية.

A: الامتصاصية عند760nm.

K: ميل المنحنى القياسي لحمض الغاليك.

F: معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات.

V: الحجم المذاب فيه المستخلصات.

P: كتلة المستخلصات.

ب) التقدير الكمي للفلافونيدات الكلية TFC :

يتم تقدير الفلافونيدات الكلية بطريقة كلوريد الألمنيوم حيث يؤخذ1 مل من المستخلص ويضاف له 1ml من محلول كلوريد الألمنيوم بتركيز2%. بعد 10 دقائق من الحضن تقرأ الامتصاصية عند طول موجة 430nm.يتم حساب تركيز الفلافانويدات انطلاقا من المنحنى العياري لكل من Quercetin و rutin بتركيز يتراوح بين 1-40 µg/m. يعبر عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة لكل من Quercetin و Rutin لكل غرام من المستخلص[66].

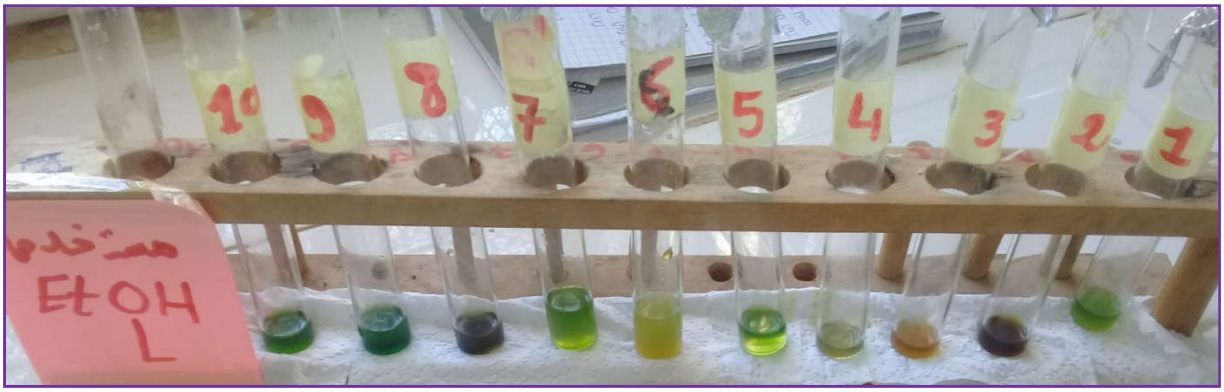
الفصل الخامس
النتائج والمناقشة

V.النتائج والمناقشة:

V.1.نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية الأولية:

تضمنت هذه الاختبارات الكشف عنبعض المركبات الفعالة الموجودة في النبتة المدروسة، هذه الاختبارات عبارة عن تفاعلات نوعية تعتمد على تغيرات لونية أو تشكل رواسب بعد إضافة كاشف خاص.

نلاحظ أن نتائج الكشف الأولي أسفرت عن نتائج ايجابية، والتي بينت إحتواء النبتة على كميات وفيرة من منتجات الأيض الثانوي كما هو ملاحظ في الشكلين (29) و(30) وماهو مدون في الجدول (4):



الشكل(29): نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية للمستخلص الإيثانولي.

الشكل(30): نتائج الاختبارات الأولية للمستخلص الكلوروفورمي.

الجدول (4): نتائج الاختبارات الفيتو كيميائية الأولية

	الاختبار	إيثر البترول	الكلوروفورم	الايثانول	الماء المقطر
القلويدات	ماير Mayer	+	+	+	–
	واغنر Wagner		++	++	++
	$FeCl_3$		++	++	+
الفلافونيدات	Shinoda		+	–	
	NaOH		–		+++
	التانينات		+	+	
	الكومارينات		+		
	Libermann–Burchard		+++ لون أخضر	+ ++ حلقة بنية	
	السكريات المرجعة		+++	+++	++
	الصابونيزيدات				–
	الزيوت الأساسية	+++		+++	+++

ملاحظة:– اختبار سلبي، + اختبار إيجابي ضعيف، ++ اختبار إيجابي، +++ اختبار جد إيجابي

V.1.1.مناقشة النتائج:

من خلال المسح الفيتو كيميائي الأولي تبين لنا أن نبتة الضرم الزغبي غنية بمختلف منتجات الأيض الثانوي وهذا ماأكدته نتائج الاختبارات الأولية التي أجريت على المستخلصات الأربعة التي تم الحصول عليها من خلال الفصل الإنتقائي سائل-سائل والمبينة في الجدول(5).

حيث أسفرت هذه النتائج عن وجود القلويدات الفلافونيدات، التربينات الثلاثية والستيرولات الكومارينات والقلويدات والسكريات المرجعة، في حين لاحظنا غياب الصابونيزيدات وهذه النتائج تتوافق مع المعلومات المعطاة في الدراسات السابقة التي تطرقنا اليها سابقا.

هذه النتائج تعطينا توقعات للنشاط البيولوجي للنبتة كونها مضادة للفيروسات والبكتيريا ومكافحة للالتهابات وكذا مضادة للأكسدة، وبما أنها تحتوي على القلويدات التي تعتبر مواد سامة فالنبتة تحتوي على نسبة من السمية.

V.2.نتائج الفصل سائل-سائل:

قمنا بفصل المستخلص فصلا انتقائيا بمذيبات مختلفة وفقا لتدرج قطبيتها بدءا بإيثر البترول وصولا إلى البيوتانول الشكل (31) والشكل (32)، ولم يتسنى لنا إكمال باقي المراحل.

الشكل (31): صور من عملية الفصل سائل – سائل.

الشكل (32): صورة المستخلصات.

3.V.نتائج تحليل الزيت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة:

من خلال تفسير أطياف الكتلة المحصل عليها ومقارنتها بأطياف الكتلة للمواد المرجعية تم تحديد صيغة المركبات التي يحتويها الزيت الأساسي للضرم الزغبي ونسبها المئوية الممثلة في الجدول (6):

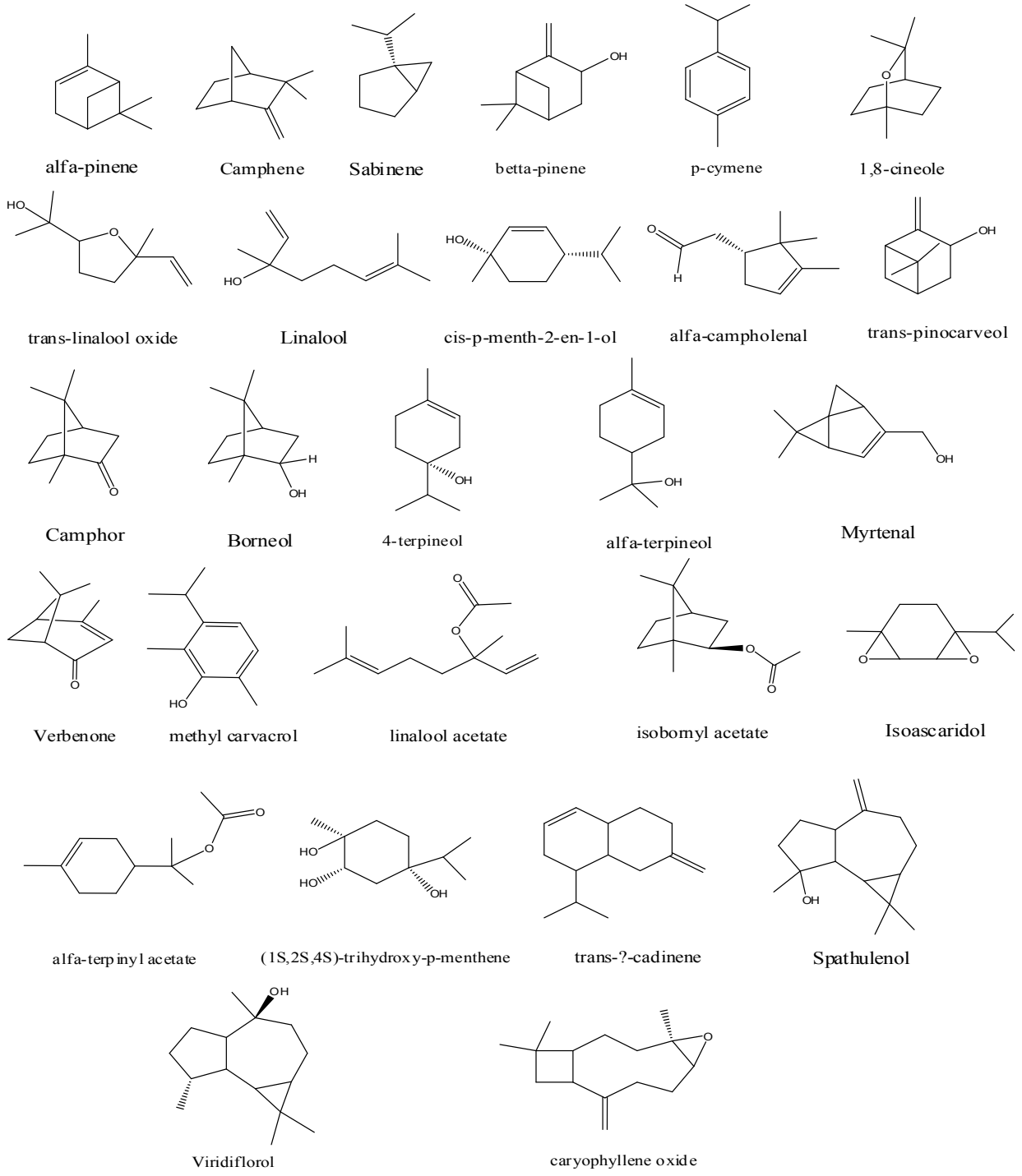
الجدول(5): مكونات الزيت الأساسي للضرم الزغبي.

Constituents	L.r.i.	Relative abundance (%) RA	Brute formula
α-pinene	941	6,4	$C_{10}H_{16}$
Camphene	954	3,3	$C_{10}H_{16}$
Sabinene	976	1,2	$C_{10}H_{16}$
β-pinene	982	1,6	$C_{10}H_{16}$
p-cymene	1027	10,6	$C_{10}H_{14}$
1,8-cineole	1034	12,1	$C_{10}H_{18}O$
trans-linalool oxide (furanoid)	1076	0,4	$C_{10}H_{18}O$
Linalool	1101	2,0	$C_{10}H_{18}O$
cis-p-menth-2-en-1-ol	1124	0,6	$C_{10}H_{18}O$
α-campholenal	1125	0,4	$C_{10}H_{16}O$
trans-pinocarveol	1139	1,0	$C_{10}H_{16}O$
Camphor	1143	6,6	$C_{10}H_{16}O$
Borneol	1167	4,1	$C_{10}H_{18}O$
4-terpineol	1178	14,5	$C_{10}H_{18}O$
α-terpineol	1191	2,0	$C_{10}H_{14}O$
Myrtenal	1194	1,7	$C_{10}H_{14}O$
Verbenone	1205	2,0	$C_{11}H_{16}O$
methyl carvacrol	1241	0,4	$C_{11}H_{16}O$
linalool acetate	1259	1,3	$C_{12}H_{20}O_2$
isobornyl acetate	1285	7,5	$C_{12}H_{20}O_2$

Isoascaridol	1306	0,6	$C_{10}H_{16}O_2$
α-terpinyl acetate	1352	0,7	$C_{12}H_{20}O_2$
(1S,2S,4S)-trihydroxy-*p*-menthene	1487	0,5	$C_{10}H_{20}O_3$
trans-γ-cadinene	1513	0,4	$C_{15}H_{24}$
Spathulenol	1576	0,8	$C_{15}H_{24}O$
caryophyllene oxide	1581	2,5	$C_{15}H_{24}O$
Viridiflorol	1590	10,8	$C_{15}H_{26}O$

Monoterpene hydrocarbons	23,1
Oxygenated monoterpenes	58,4
Sesquiterpene hydrocarbons	0,4
Oxygenated sesquiterpenes	14,1
Total identified (%)	95,9

L.r.i : Linear retention indice



الشكل(33): بنية المركبات المفصولة من الزيت الاساسي للضرم الزغبي.

V.1.3. مناقشة نتائج تحليل الزيت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة

الدراسة التحليلية بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية المدمجة بمطيافية الكتلة *Gas chromatography/mass spectrometry* سمحت بتحديد مكونات الزيت الأساسي للضرم الزغبي وتم التعرف على 27 مركبا.

أظهرت النتائج أن الزيت يحتوي على التربينات الأحادية (23,1%)، التربينات الأحادية الأكسيجينية(58,4%)، السيسكيتربينات(0,4%) وكذا السيسكيتربينات الأوكسيجينية(14,1%).

كانت المركبات الأكثر وفرة فيه هي: 4-terpenol (14,5%) يليه 1,8-cineol (12,1%) و viridiflorol (10,8%) و p-ocymene (10,6%)، وتراوحت نسبة المركبات المتبقية مابين (0,4- 7,5%).

هذه النتائج أظهرت اختلافا كبيرا عن النتائج التي توصلت إليها Rowaida N. Al Badani ورفقائها[12،17] سواء من حيث عدد المركبات المعرفة، نوعها أو حتى نسبتها. يرجع هذا الاختلاف إلى اختلاف المنطقة المأخوذة منها النبتة والمناخ.

الخلاصة العامة

الخلاصة العامة

تزخر الجزائر بالتنوع الكبير في الغطاء النباتي لاسيما النباتات الطبية اذ يندرج هذا العمل في إطار تثمين هذه الثروة النباتية الطبية. ولهذا اخترنا نبتة الضرم الزغبي والمعروفة بزعتر جبال وهي نبتة متواجدة بولاية تبسة في الشرق الجزائري.

كان الهدف من هذا العمل الدراسة الفيتوكيميائية لنبتة الضرم الزغبي وتقدير الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصاتها وكذا المركبات المفصولة منها. ومن أجل أن يكون العمل أصيلا قمنا ببحث بيليوغرافي والذي من خلاله تبين لنا أن النبتة المدروسة بشكل كبير لكن معظم الدراسات توجهت لدراسة زيوتها الأساسية لكونه نبات عطري.

بدأنا العمل التطبيقي بإجراء فحص فيتوكيميائي أولي بغرض الكشف عن المواد الفعالة في النبتة. أوضحت النتائج أن الضرم الزغبي غني بمختلف مواد الأيض الثانوي: الفلافونيدات، التربينات والسترولات، الزيوت الأساسية، التانينات وكذا القلويدات. متبوعا باستخلاص النبتة بمحلول كحولي ماء/ايثانول (70/30) وبعد التخلص من الايثانول أجرينا استخلاص انتقائي (سائل–سائل) للمستخلص المائي باستخدام أثر البترول، الكلوروفورم، أسيتات الاثيل، البيوتانول على التوالي.

توجهنا بعدها لاستخلاص الزيت الأساسي للضرم الزغبي بواسطة التقطير المائي وتحليله بواسطة GC-MS حيث تمكَّنَّا من التعرف على27 مركبا.

الآفاق المستقبلية:

وفي ضل تداعيات جائحة كورونا19-coronavirus covid والوضع الصحي المتأزم في الجزائر والعالم ككل الذي حال بيننا وبين إكمال عملنا التطبيقي متمثلا في التقدير الكمي الكلي للفينولات والفلافونيدات

المحتواة في المستخلصات النباتية، وكذا فصل وتنقية المركبات من المستخلصات والتعرف على بنيتها، ودراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للزيت الأساسي وللمستخلصات النباتية والمركبات المفصولة، وعليه يمكن تلخيص الآفاق المستقبلية لهذا العمل في النقاط التالية:

- ✓ فصل المركبات.
- ✓ تنقية المركبات المفصولة.
- ✓ الوصول إلى البنية الكيميائية للمركبات المفصولة والتعرف عليها وعلى خصائصها الفيزيوكيميائية.
- ✓ دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات النبتة والمركبات المفصولة وكذا لزيتها الأساسي.

المراجع بالعربية:

[3] العابد إبراهيم. دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganun nudatum.مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجيستير. ورقلة. جامعة قاصدي مرباح،2009، ص4-5.

[5] محمود صالح سراج علي، يونس محمد الحسن, تأثير استزراع النباتات الطبية البرية على خواصها الكيميائية والحيوية. التقرير النهائي المقدم الى عمادة البحث العلمي. جامعة الملك فيصل. السعودية. 2002.

[21] الحازمي حسن م. المنتجات الطبيعية الطبعة الثانية عماد شؤون المكتبات. جامعة الملك سعود.السعودية. ص: 225-229.

[22] ميثاق الجبر. بحث وتحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات من العائلة (Celastraceae) ونبات البوليكاريا Pulicaria jaubertii من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية. مذكرة تخرج لنيل دكتوراه. قسنطينة. جامعة منتوري. 2010. ص57.

[23] بوخبيتي حبيبة. النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف لنوعين من جنس Mentha والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتها الأساسية. مذكرة ماجيستير.سطيف. جامعة فرحات عباس. 2010. ص 25-24.

[25] زردومي سليمان.Artemisia campestris في منطقة آريس،دراسة تشريحية ودراسة النشاطية الضد بكتيرية والضد تأكسدية لزيتها الأساسي. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير. سطيف. جامعة فرحات عباس. 2015. ص25.

[27] محمد السيد هيكل، عبد الله عبد الرزاق عمر. النباتات الطبية والعطرية، كيمياؤها، انتاجها، فوائدها.منشأة المعارف بالاسكندرية.1993.

[29] زعيتر لحسن. تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم والزيوت الاساسية لأنواع من العائلتين المركبة Composites والسيستية Cistaceae. أطروحة دكتوراه. قسنطينة. جامعة منتوري. 2006.

[30] حوة إبراهيم.دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الأكسدة. مذكرة ماجستير ورقلة.جامعة قاصدي مرباح. 2013.

[45] علاوي مسعودة. الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي Haloxy scoparium pomel(Remth)، Traganum nudatum(Thamaran).رسالة دكتوراه. ورقلة. جامعة قاصدي مرباح.2015. ص50.

[46]حميدي نور الدين.الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسبينا FagoniaLongispina) (Zygophyllaceceae) نبات من الجنوب الغربي للجزائر. مذكرة تخرج لنيل دكتوراه. تلمسان. جامعة أبي بكر بلقايد.2015. ص54.

[47] بن مرعاش عباس. دراسة نواتج الأيض الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة للنبتة convolvulus supinus coss kral(convolvaceae). مذكرة ماجيستير. قسنطينة. جامعة منتوري.2012. ص 25.

[52] بن ساسي شيماء. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة. أطروحة دكتوراه. ورقلة. جامعة قاصدي مرباح 2018. ص 23.

[53] بوديار طارق. فصل وتحديد نواتج الأيض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Euphorbia guyoniana. مذكرة ماجستير. قسنطينة. جامعة منتوري. 2008. ص 14.

[54]بن سلامة عبد الرحيم. النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق.L Hertia cheirifolia. مذكرة تخرج لنيل شهادة ماجستير. سطيف. جامعة فرحات عباس.2012. ص17.

[57] بلفار آسيا. دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianum (Dur).أطروحة دكتوراه. ورقلة. جامعة قاصدي مرباح. 2018. ص72،73،20.

[66] جرمونيمريم. دراسةالتأثيرالمضادللأكسدةلمستخلصاتنبتتيالحرمل Peganum harmala والجعدة Santolina chamaecyparissus. أطروحة دكتوراه.سطيف. جامعة فرحات عباس.2014. ص40.

المراجع الأجنبية:

[1] Dendougui, H. Thèse de Doctorat d'Etat. Constantine. Université de Mentouri. 2002.

[2] Ozenda, P. Flore du Sahara.CNRS, Paris. 1962.

[6] Quezel P.et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et de régions désertiques méridionales.CNRS, Paris. 1962.

[7] Nait Said Nadia. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes :Pituranthoschloranthus et Marrubium vulgare. Mémoire de Magister. Batna. Univesité El- Hadj Lakhdar. 2007. p2,6-12.

[8]Belhattab R. Composition chimique et propriétes antioxydantes, antifongiques et antiflataxinogenes d'extrait de ariganum glandulosum Defs et Marrubium vulgarel (Famille des lamiaceae). Thèse de Doctorat d'Etat. Sétif. Université Ferhat Abbas.2005.

[9] Chang Ha Park et al, Chemical Compositions of the Volatile Oils andAntibacterial Screening of Solvent Extract fromDowny Lavender, J. Foods 2019, 8, 132

[10] https://ar.wikipedia.org/wiki/%D8%AA%D8%A8%D8%B3%D8%A9

[11] Mousa O., Gouda B. et al.,Total Phenolic, Total Flavonoid Content, Two Isolates and Bioactivity of Lavandula pubescens Decne,Int. J. Pharm. Phyt. Res., 2018, 10(6), 254

[12] Rowaida N. Al-Badani et al., Variations in essential oil compositions of Lavandula pubescens (Lamiaceae) aerial parts growing wild in Yemen, Chemistry & Biodiversity, 2017, 14(3),

[13] Ghazanfar S. A. Handbook of Arabian Medicinal Plants. CRC Press, Florida. 1994. p 124.

[14] A. Schopen.Traditionelle Heilmittel in Jemen I. Steiner, Wiesbaden. Germany.1983. p66.

[15] Dubai A., A. Alkhulaidi. Medicinal and Aromatic Plants in Yemen. Obadi Centre for Publishing. Sana'a, Yemen. 1997

[16] Alkhyat S. H., MaqtarM. A. A., Alhamzy E. H., Saeed M. A., Ali N. A. A. J. Adv.Biol. 2014, 4, 446-454.

[17] Rowaida N. Al-Badani, et al.Chemical Composition and Biological Activity of Lavandula pubescens Essential Oil from Yemen, TEOP,2017, 20(2), 509-515

[18] Cavanagh, H.M., Wilkinson, J.M. Lavender essential oil: A review, Aust. Infect. Control 2005, 10, 35–37.

[19] Djamila Hamada et al., Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Lavandula pubescens Decne essential oil from Algeria,International Journal of Biosciences,2018, 12(1), 187-192.

[20] Nuru A. et al., Floral Phenology, Nectar Secretion Dynamics and Honey Production Potential of Two Lavender Species (Lavandula Dentata, and L. Pubescens) In Southwestern Saudi Arabia., J. Apic. Sci., 2015, 59(2).

[24] Valnet J. Aromathérapie : Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. Paris.1984. p544.

26] Fernandez X. et Chemat F. La chimie des huiles essentielles tradition et innovation. Vuibert. Paris.2012.p79,94,270.

[31] Arnaud P. Chimie organique cours avec 350 question et exercices corrigés.18ème édition.Dunod.Paris. 2011.714p.

[32] Haba Hamada. Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : Euphorbia guyoniana Boiss. et Reut. et Euphorbia retusa Forsk. Thèse doctorat, Batna. Univesité El-Hadj Lakhdar.2008.p305.

[33] Rezine Fethi et Fedaouche Mohammed Selem. Comarines à intérêt thérapeutique : synthèse et contrôle analytique. Thèse de doctorat. Tlemcen. Université abou bekr belkaid.2017. p144.

[34] Bruneton J. Pharmacognosie -Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition. Tec. et Doc. Lavoisier.Paris. 1999. 1120p.

[35]Ayad R. Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : Zygophyllum cornutum (Zygophyllaceae).Mémoire de Magister. Constantine. Université Mentouri. 2008. 124p.

[36] Cho J. Y., Baik U. K., Jung J. H., Park M., European Journal of Pharmacology, 2000, 398(3), 399-407.

[37] Li J., Wu Q. X., Shi Y. P., Zhu Y., A new sesquiterpene lactone from scorzonera austriaca, Chinese Chemical Letters, 2000, 15(11), 1309-1310.

[38] Bryanskii O. V., Tolstikhina V. V., Zinchenko S. V., Semenov A. A., A sesquiterpene glucoside from cultivated cells. Khimiya Prirodnykh Soedinenii, 1992, 28, 556-560.

[39] Zidorn C., Ellmerer-Muller E. P., Stuppner H., Sesquiterpenoids from Scorzonera hispanica L. Pharmazie,2000, 55(7), 550-551.

[40] Harborne J.B. et al.The flavonoids. Chapman and Hall. London. 1975

[41] Harborne J.B. The flavonoids, advances in research since 1980. Chapman and Hall. New York. 1989.

[42] Mabry T.J.Thomas M.B. Markham K.R. The systematicidentification of flavonoids. Springer-Verlag. Berlin.1970. p13,

[43] SinhaN. HuiY. EvranuzE. SiddiqM. and AhmadJ. Handbook of Vegetables and Vegetable Processing. Willey-Black Well Publication. Blackwell Publishing.Iowa. 2011

[44] ComaladaM., BallesterI., BailonE., SierraS., XausJ., GalvezJ., De MedinaF.S., and ZarzueloA., Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship,Biochem Pharmacol., 2006, 72(8), 1010-21.

[48] Belguidoum Mahdi.Étude de métabolites secondaires et quelques activités de plantes algériennes de la famille Zygophyllaceae. Thèse doctorat. Ouargla. Univesité Kasdi Merbah. 2018.p47,48.

[49] Markham K.R. Techniques of flavonoids identification. academic press. London. 1982.

[50] Alain B. La chromatographic et ses applications. Dunod. Paris.1972.

[55]Birben E. et al.,Oxidative Stress and Antioxidant Defense.WAO journal, 2012, 5(1), 9-19.

[56] Guillouty A. Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de Doctorat. Toulouse. Universite Paul Sabatter. 2016.

[58]HAMIA C. 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. p64-65.

[59] Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (Opuntia ficus indica), Lebanese Science Journal, 2006, 7(1), 3-8.

[60] Hamada Djamila. Etude Structure Activité des Principes Actifs de la Plante Anvillea radiata Asteraceae.Thèse de Doctorat. Ouargla.Université kasdi Merbah.2016.p38,79-80.

[61] Archana P., Samatha T., Mahitha B., Ramaswamy N., Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of Senna alata L. Roxb-an Ethnomedicinal plant, Journal of pharmaceutical and biological research, 2012, 3, 82-85.

[62] Ayoola G., Coker H., Adesegun S., Adepoju-Bello A., Obaweya K., Ezennia E., Atangbayila T., Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria, Journal of pharmaceutical Research, 2008, 7, p1021.

[63] SawantR. and GodghateA, Qualitative Phytochemical Screening of Rhizomes of Cucurma longa Linn, International Journal of Science, Environment and Technology, 2013. 2(4), 634-641.

[64] SamejoM. Q. Sumbl A ShahS. MemonS.B. and ChundrigarS., Phytochemical screening of Tamarix dioica Roxb. ex Roch,Journal of Pharmacy Research, 2013, 7(2), 181-183.

[65] Oswald M. Déterminisme génétique de la biosynthèse des terpénols aromatiques chez la vigne, Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Thèse de Doctorat. Strasbourg. Université Louis Pasteur. 2006. 279p.

ملخص:

يعنى هذا البحث بالمساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية للضرم الزغبي ودراسة الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية والمركبات المفصولة. من أجل إثراء هذا البحث أجرينا دراسة نظرية حول النبتة تطرقنا فيها لجوانب مختلفة تخصها من خصائص، تواجد...وكذا بعض الدراسات السابقة التي أجريت عليها.وبغرض التعرف على المواد الفعالة المحتواة في النبتة أجرينا إختبارات فيتوكيميائية أولية فأوضحت النتائج تواجد جل منتجات الأيض الثانوي كالفلافونيدات والتربينات والقلويدات....، قمنا بالاستخلاص انطلاقا من محلول كحولي ماء/ايثانول (70/30) وبعد التخلص من الايثانول تبعناه باستخلاص انتقائي سائل–سائل باستعمال مذيبات مختلفة القطبية بدءا بإيثر البترول وصولا إلى البيتانول. توجهنا بعدها لاستخلاص الزيت الأساسي للضرم الزغبي بواسطة التقطير المائي وتحليله بواسطةGC–MS حيث تمكنا من التعرف على27 مركبا. كان الهدف بعدها فصل وتنقية المركبات من المستخلصات ودراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لكن ظروف كورونا حالت دون ذلك.

الكلمات المفتاحية: الضرم الزغبي،الفاعلية المضادة للأكسدة، نبات طبي،الزيت الأساسي.

Abstract:

This work aims to contribute to the phytochemical study of *lavandula pubescens* and study of the antioxidant activity of extracts and compounds separated from the plant. In order to enrich this research, we conducted a theoretical study on the plant, in which we dealt with different aspects of its properties, its presence ... as well as some previous studies that were carried out on it.In order to identify the active substances contained in the plant, we carried out preliminary phytochemical tests, the results showed the presence of most of the secondary metabolites such as flavonoids, terpenes and alkaloids ... We carried out an extraction with a hydro-alcoholic water/ ethanol solution (30/70), after elimination of the ethanol, we followed it by a selective liquid-liquid extraction using solvents with different polarity, ranging from petroleum ether to butanol.We then proceeded to the extraction of *lavandula pubescens* essential oil by hydrodistillation and its characterization by GC-MS, where we were able to identify 27 compounds. The circumstance of Covid-19 prevented us from separating and purifying the compounds of the different extracts and to study the antioxidant activity.

Keywords: *Lavandula pubescens*, Antioxidant activity, Medicinal plant, Essential oil.

Résumé :

Ce travail a pour but de contribuer à l'étude phytochimique de *lavandula pubescens* et à l'étude de l'activité antioxydante d'extraits de et de composés séparés de la plante.Afin d'enrichir cette recherche, nous avons mené une étude théorique sur la plante, dans laquelle nous avons traité différents aspects de ses propriétés, de sa présence... ainsi que quelques études antérieures qui ont été menées sur elle.

Afin d'identifier les substances actives contenues dans la plante, nous avons effectué des tests phytochimiques préliminaires, les résultats ont montré la présence de la plupart des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les terpènes et les alcaloïdes...Nous avons réalisé une extraction avec d'une solution hydro-alcoolique eau/éthanol (30/70), après élimination de l'éthanol, nous l'avons suivi d'une extraction liquide-liquide sélective en utilisant solvants à polarité différente, allant de l'éther de pétrole au butanol.

Nous avons ensuite procédé à l'extraction de l'huile essentielle de *lavandula pubescens* par hydrodistillation et sa caractérisation par GC-MS, où nous avons pu identifier 27 composés. La circonstance de Covid-19 nous a empêché de séparer et de purifier les composés des différents extraits et d'étudier l'activité antioxydante.

Mots clés : *Lavandula pubescens*, Activité antioxydante, Plante médicinale, Huile essentielle.