جـــــامعة قاصدي مرباح ورقلـــــة

كلية العلوم والعلوم الهندسية

قسم هندسة الطرائق

رقم الترتيب:...07196

رقم التسلسل:... THE.CH

مذكرة

مقـــدم لنيل شهـــــادة المـــاجستير

تخصص : تحضير عضوي و فيتوكيمياء

فرع : كيمياء

من إعداد الطالب: زمالي جعفر

تحت عنوان:

دراســة فيتوكيميائيــة وبيولوجيــة لنبتــة **Solanum Nigrum** الصحراوية

نوقشت يوم: 06 /12 /2007

أمام اللجنة المناقشة مكونة من السادة:

- د. سقني لعجال	أستاذ محاضر	بجامعة ورقلة	رئيسا
- د. غراف نور الدين	أستاذ محاضر	بجامعة ورقلة	مناقشا
- د. صخري لخضر	أستاذ التعليم العالي	بجامعة ورقلة	مناقشا
- د. وهراني محمد رضا	أستاذ محاضر	بجامعة ورقلة	مشرفا

الإهداء

بســـــم الله وصلاة والسلام على رسول الله الرحمة المهداة والنعمة المزداة والسراج المنير

أمـــا بعـــد: بعد الحمد الله والثناء *** ولمن جلت صفاته والأسماء

أهدي ثمرة هذا الإنجاز المتواضع:

* إلى نبع الصفاء إلى كنز الدنيا إلى من سهرت الليالي لراحتي رغم الشقاء إلى التي رافقتني دعواتها دائما فكانت الأنيس في وحدتي إلى من يهتز لها كياني وروحي إلى من علمتني الصبر إلى التي لو أفنيت عمري لأرضيها ما أوفيت حقها إلى من أحيا لسعادتها ... أمي الحبيبة حفظها الله ورعاها.

* إلى زوجتي وأبنائي الأعزاء: سارة –سامي– معمر – عقبة وإلى كافة العائلة والأقارب.

وإلى من ضاقت عليه الصفات *** واتسعت له في القلب الطيات

إلى الرفقاء والأصدقاء في كل مكان

إلى كل من يتصفح هذه المذكرة أرجوا أن يدعوا لنا بصالح الدعاء.

زمـــالي جـــعفر

الشكر

قال الله تعالى : ﴿ قل إن الفضل بيد الله يؤتيه من يشاء والله واسع عليم ﴾

- أشكر الله العلي القدير الذي وفقني وأعانني بفضله على إتمام هذا العمل الذي أنجز على مستوى مخبر التثمين الموارد الصحراوية بجامعة ورقلة والمشرف عليه الدكتور الفاضل العانز التهامي أستاذ التعليم العالي بجامعة ورقلة , الذي أقدم له جزيل الشكر والاحترام على مساعدته نصائحه القيمة.

- وبالمثل أقدم شكري وعرفاني للدكتور الفاضل سعيدي مختار أستاذ التعليم العالي المشرف على مخبر الكيمياء التحليلية بجامعة ورقلة.

- انه لمن دواعي الاعترافه بالجميل أن أتقدم بالشكر الجزيل والعرفان إلى أستاذي الفاضل الدكتور محمد رضا وهراني، أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على قبوله الإشرافه على هذا البحث وعلى توجيهاته ونصائحه ومساعدته لي خلال مراحل انجاز هذه الرسالة.

- كما يسرني أن أتقدم بجزيل الشكر وتقدير إلى الدكتور سقني لعجال أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على قبوله ترأس لجنة المناقشة وعلى المجهودات التي بذلها طول فترة دراستنا.

- كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى أستاذي المحترم الدكتور عرافه نور الدين ، أستاذ مكلفه بالدروس بجامعة ورقلة على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة.

- كما أتوجه بالشكر الخالص إلى أستاذي الدكتور صخري لخضر ، أستاذ التعليم العالي بجامعة ورقلة على تدريسه وإرشاده وقبوله المشاركة في لجنة المناقشة واثر هذا العمل.

- كما أوجه شكري أيضا إلى الدكتور المحترم حسين دندوقي أستاذ محاضر بجامعة ورقلة على مساعدته من خلال المراجع التي وفرها لنا أثناء فترة البحث.

- كما أتوجه بالشكر الجزيل إلى أستاذي الفاضل سعد الزغدي على تدريسه ومساعدته لنا

- أقدم شكري إلى مدير مستشفى محمد بوضياف بور قلة . والى كافة عمال المخبر بمستشفى الشهيد بشير بن الناصر بالوادي ، وأخص بالذكر التقنيين :

حشفه الناصر، مستور علي ، بن علي ابراهيم على مساعدتهم لي لانجاز الجزء العملي الخاص بالفعالية البيولوجية.

- والى الأساتذة الكرام: الزاوية قندور، بالغار محمد الأخضر ، غيلاني جمال، نعوسة التجاني.

أقدم لهم الشكر والعرفان على مساعدتهم لنا ، كما لا ننسى عمال المكتبة الرئيسية بجامعة ورقلة وعلى رأسهم ونيسي السعيد.

- كما أتوجه بالشكر الخالص إلى أصدقائي الأعزاء على المجهودات التي بذلها في إتمام هذا البحث وأخص بالذكر: غزال محمد ، زيدا ن محمد ، غربي عبد الكامل ، عطية جمال و مصري المكي ، غربي بلقا سم ، قدا درة محمد الطاهر، بن خليفة محمود ، حشية الهاشمي.

- وأتوجه بشكري إلى طلبة دفعتي كل باسمه على دعمهم المعنوي لإتمام هذا العمل وهم: سلمي السعيد ، مشراوي عمار، هقي عبد الغني، تامة نور الدين، بن منين عبد القادر وفي الأخير اشكر كل أساتذتي الكرام الذين ساهم في تكويني وكل من ساعدني.

الملخص:

تحتوي هاته النبتة على عدة عائلات كيميائية ذات أهمية عالية كالقلويدات والصابونيزيدات وغيرها.

هاته الدراسة تمكننا من معرفة معظم مكونات النبتة ودراسة فعاليتها البيولوجية.

الكلمات الدالة : نباتات صحراوية ،استخلاص ، فعالية بيولوجية.

Abstract :

This Plant Contains a lot of compounds of high importance such as Alkaloids, Saponisids and others.

This Study enables us to Know all The components of This plant and to study its biological efficiency.

Kev Word : Saharant plants, Extraction, biological activity.

Résumé :

Cette plante contient plusieurs composés de très grande Importance comme les alcaloïdes et les saponisides et autres.

Cette étude nous permet de connaître tous les Composants de la plante et pervret l'éutude de son activité biologique.

Mots clés :plantes sahariennes ,Extraction , Activité biologique.

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
الشكل-1: مخطط دراسة النباتات الطبية	5
الشكل-2: العلاقة مابين الميتابوليزم الأولي والثانوي	10
الشكل-3: الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية في النبات	13
الشكل-4:مراحل استخلاص القلويدات بالمذيبات العضوية القطبية	20
الشكل-5: توزيع الفلافونويدات في المملكة النباتية	44
الشكل-6: مراحل استخلاص الفلافونونيدات	48
الشكل-7: صورة فوتوغرافية لنبتة Solanum Nigrum	65
الشكل-8: صورة فوتوغرافية لورق وأزهار وثمار نبتة Solanum Nigrum	66
الشكل-9: خريطة تبين المنطقة التي تم فيها قطف النبتة ببلدية كونين - ولاية الوادي	68
الشكل-10: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص المائي لثمار النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة	90
الشكل-11: الأثر التثبيطي للمستخلصات المائية لثمار Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع من البكتيريا.	91
الشكل-12: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص الميثانولي لثمار النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.	92
الشكل-13: الأثر التثبيطي للمستخلصات والميثانولية لثمار Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع بكتيريا.	93
الشكل-14: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص المائي لورق النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة	94
الشكل-15: الأثر التثبيطي المستخلصات المائية لورق Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع بكتيريا.	95
الشكل-16:هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص الميثانولي لورق النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.	96
الشكل-17: قرص المضاد الحيوي ذو التركيز CMI	118
الشكل-18: أنواع القراءات (مم)	119
الشكل-19: فئات الفاعلية حسب تراكيز المضاد الحيوي	120

قائمة الجداول

الجـــــــــــدول	الصفحة
الجدول-1: تقسيم التربينات	30
الجدول-2: أنواع الفلافونيدات مع بعض الأمثلة	46
الجدول-3: بعض الأمثلة عن الكومارينات	49
الجدول-4: قيم الثابت ε عند الدرجة 25 مْ والنقطة الغليان للمذيبات في الاستخلاص النباتي	56
الجدول-5: تصنيف النبتة Solanum Nigrum	63
الجدول-6: تاريخ القطف ومدة التجفيف النبتةSolanum Nigrum	70
الجدول-7: بيئة الحساء المغذي	84
الجدول-8: بيئة الآجار المغذي	84
الجدول-9: الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة	88
الجدول-10: المستخلص المائي والميثانولي لثمار ولورق سولانم نقروم	89
الجدول-11: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص المائي لثمار النبتة	90
الجدول-12: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص الميثانولي لثمار النبتة	92
الجدول-13: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص المائي لورق النبتة	94
الجدول-14: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص الميثانولي لورق Solanum Nigrum	96
الجدول15: الفاعلية البيولوجية للمستخلصات على أنواع البكترية المختارة	101

قائمة الصيغ الكيميائية

الصيغة الكيميائيـــــــة	الصفحة
الصيغة-1: Morphine	16
الصيغة-2: (-)-Hyoscy amine (Atropine)	17
الصيغة-3: Mescaline	17
الصيغة-4: (+)-Conine	18
الصيغة-5: Solasodine	18
الصيغة-6: Caffeine	19
الصيغة-7: ß-amyrine	22
الصيغة-8: Furostanes	22
الصيغة-9: Salecin	24
الصيغة-10: Arbutin	25
الصيغة-11: Rutine	25
الصيغة-12: Senoside	26
الصيغة-13: Amygdalin	27
الصيغة-14: Isoprene	30
الصيغة-15: α-Pinèue	32
الصيغة-16: ß-Pinène	32
الصيغة-17: Artemisine	33
الصيغة-18: Phytol	34
الصيغة-19: Vitamine A	34
الصيغة-20: Cyclo-artenol	36
الصيغة-21: Dammarane	36
الصيغة-22: Stigmasterol	36
الصيغة-23: Sitosterol (R=ET)	36
الصيغة-24: Campesterol (R=ME)	36
الصيغة-25: ß-Carotène	38
الصيغة-26: Tanin gallique	40
الصيغة-27: Proanthocyanidols Polymere	41
الصيغة-28: Flavone(Phenyl -1,2-chromone)	42
الصيغة-2: Coumarine (Benzo -α- Pyrones)	49
الصيغة-30: P-hydroybenzal de hyde	51
الصيغة-31: Aldehydeanisique	51
الصيغة-32: Vanilline	51

الفهرس

الصفحة	الفهــــــــــــــــرس
	الـمــــلخـــــــص:
	قائمة الأشكـــــــــال:
	قائمة الجـــــــداول:
	قائمة الصيغ الكيميائية:
أ	المــــقدمـــــــة:
	الجزء النظـــري:
	الفصل الأول I:النباتات الطبية
3	I- النباتات الطبية
3	I-1- تعريف النباتات الطبية
3	I-2- أهمية النباتات الطبية
4	I-3- دراسة النباتات الطبية
6	I-4- طرق استخلاص النباتات الطبية
	الفصل الثاني II: المنتجات الطبيعية
8	II- المنتجات الطبيعية
8	II-1- تعريف المنتجات الطبيعية
8	II-2- تصنيف المنتجات الطبيعية
11	II-3- دراسة المنتجات الطبيعية
11	II-4- الاصطناع الحيوي للمنتجات
	الفصل الثالث III:المواد الفعالة
15	III- المواد الفعالة
15	III-1- القلويدات
15	III-1-1- تعريف القلويدات
15	III-1-2- وجودها في الطبيعية
16	III-1-3- تصنيف القلويدات
19	III-1-4- استخلاص القلويدات
21	III-2- الصابونيات
21	III-2-1- تعريف الصابونيزيدات
21	III-2-2- وجودها في الطبيعة
22	III-2-3- تصنيف الصابونيات

III-2-4- استخلاص الصابونيات	23
III-3- الغليكوزيدات	23
III-3-1- تعريف الغليكوزيدات	23
III-3-2- وجودها في الطبيعة	24
III-3-3- تصنيف الغليكوزيدات	24
III-3-4- استخلاص الغليكوزيدات	28
III-4-التربينات	30
III-4-1- تعريف التربينات	30
III-4-2- وجودها في الطبيعة	30
III-4-3- تصنيف التربينات	31
III-4-4- استخلاص التربينات	38
III-5- التنينات	39
III-5-1- تعريف التنينات	39
III-5-2- وجودها في الطبيعة	39
III-5-3- تصنيف التنينات	39
III-5-4- استخلاص التنينات	41
III-6- الفلافونيدات	41
III-6-1- تعريف الفلافونيدات	41
III-6-2- وجودها في الطبيعة	43
III-6-3- تصنيف الفلافونيدات	45
III-6-4- استخلاص الفلافونيدات	47
III-7- الكومارينات	49
III-7-1- تعريف الكومارينات	49
III-7-2- وجودها في الطبيعة	50
III-7-3- استخلاص الكومارينات	50
III-8- زيوت الطيارة	51
III-8-1- تعريف الزيوت الطيارة	51
III-8-2- وجودها في الطبيعة	52
III-8-3- استخلاص زيوت الطيارة	52
الفصل الربع IV:طرق استخلاص بالمذيبات	
IV- طرق الاستخلاص بالمذيبات	54
IV-1- استخلاص: صلب – سائل	57
IV-1-1- الانقاع في البارد	57

IV-1-2- الاستخلاص بالساخن	57
IV-1-2-1- بواسطة الماء	57
IV-1-2-2- بواسطة مذيب	58
IV-2- طريقة الاستخلاص بالحلحلة	59
IV-3- طريقة لاستخلاص باستعمال سوكسلي	60
IV-4- طريقة الاستخلاص بواسطة جهاز كوماغاوه	60
IV-5- طريقة الاستخلاص: سائل – سائل	60
الجزء العملـــي: (يتضمن المواد والطرق)	
الفصل الأول I:العينة النباتية المدروسة	
I- العينة النباتية المدروسة	63
I-1- تصنيف النبتة	63
I-2- وصف النبتة	64
I-3- الانتشار الجغرافي	67
I-4- الاستعمالات الطبية	67
I-5- منطقة الدراسة ومميزاتها	67
I-6- جمع العينات النبتية المدروسة	69
I-6-1- القطف	69
I-6-2- التجفيف	70
I-6-3- الحفظ	71
الفصل الثاني II:الدراسة الفيتوكيميائية	
II- الدراسة الفيتوكيميائية	73
II-1- المحاليل والأجهزة المستعملة	73
II-2- الكواشف المستخدمة	75
II-3- الكشف عن المواد الفعالة	77
II-3-1- اختبار القلويدات	77
II-3-2- اختبار الصابونيات	77
II-3-3- اختبار الغليكوزيدات	77
II-3-4- اختبار التربينات	77
II-3-5- اختبار التنينات	78
II-3-6- اختبار الفلافونيدات	78
II-3-7- اختبار الفلافونيدات الحرة	79
II-3-8- اختبار الفلافونيدات المرتبطة	79
II-3-9- اختبار الكومارينات	79

II-3-10- اختبار الزيوت الطيارة	79
II-4- الاستخلاص بالماء والميثانول	80
II-4-1- الاستخلاص بالماء والميثانول لثمار سولانم نقروم	80
II-4-2- الاستخلاص بالماء والميثانول لورق سولانم نقروم	80
الفصل الثالث III:الدراسة البيولوجية	
III- الدراسة البيولوجية	82
III-1- جمع سلالات البكتيرية المستهدفة	82
III-2- تحضير السلالات البكتيرية المستهدفة	83
III-3- تحضير المحاليل المستخلصات المائية والميثانولية	83
III-4- تحضير الأقراص	83
III-5- الوسط الزراعي	85
III-6- المعلق البكتيري	85
III-7- الزراعة والحضن	85
III-8- الاختبار البيولوجي للمستخلصين المائي والميثانولي على البكتيريا	86
III-8-1- تأثير محاليل المستخلص المائي والميثانولي لثمار النبتة	86
III-8-2- تأثير محاليل المستخلص المائي والميثانولي لورق النبتة	86
النتائج الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية	
I- الدراسة الفيتوكيميائية	88
I-1- الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة	88
I-2- الاستخلاص بالماء الميثانول	89
II- الدراسة البيولوجية	89
II-1- دراسة تأثير محاليل المستخلص المائي لثمار النبتة	89
II-2- دراسة تأثير محاليل المستخلص الميثانولي لثمار النبتة	92
II-3- دراسة تأثير محاليل المستخلص المائي لورق النبتة	94
II-4- دراسة تأثير محاليل المستخلص الميثانولي لورق النبتة	96
مناقشة النتائج	
مناقشة النتائج الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية	98
الخلاصة العامة للفعالية البيولوجية	101
الخاتمـــــــة:	103
المراجـــــــع:	106
الملـــــــحق:	113

المقدمـــــة

يشهد العالم في السنوات الأخيرة اهتماما متعاظما بالنباتات الطبية والتي تعتبـر مـصدرا طبيعيا للمعالجة على شكل مستحضرات تقليدية أو مواد فعالة نقية.

وهي تمتاز عن الأدوية الكيميائية بفعاليتها العلاجية العالية وكذلك قلة تأثيراتها الجانبية. وفـي كل عام تكتشف الهيئات الدولية المعنية بالصحة والدواء، أن دواء كيميائيا متداولا لعدة سـنوات أصبح يمثل خطرا على متناوليه، تبادر بإبلاغ الدول المختلفة للتوقف عن استعماله

فالنباتات الطبية تحتل مكانة مميزة في الإنتاج الاقتصادي وتخص في الوقت الراهن بعناية بالغة. إذ تعتبر أهم المواد الإستراتيجية في صناعة الأدوية أو بالأحرى النواة البادئة فـي الاصـطناع الكيميائي للأدوية.

كما تسوق النباتات الطبية والعطرية أو أجزاء منها والتي تستخدم فـي تـصنيع الأدويـة أو تصديرها خارج البلاد سواء بعد تجفيفها أو تصنيعها جزئيا كعمل المستخلصات كما هو الحـال بالنسبة لنبات السكران و البلادونا والعرقسوس والخلة بنوعيها وغيرها،وذلك وفق المواصـفات المنصوص عليها في دساتير الأدوية للدول المستورد لها.

وعليه انصب التفكير العلمي الحالي في العلاج باستعمال التداوي بالنباتات الطبية بشعار جديـد هو العودة إلى الطبيعة [1] [2].

نظرا لما تزخر به بلادنا من نباتات متنوعة – لاسيما الطبية منها – موزعة على بيئات مختلفـة و مناخات متباينة وتضاريس عدة، لكل منها صفاتها وخصائصها .

فكرنا في إطار هذا البحث الوقوف بحق على الأجزاء والجهات التي ترجع إليها الفعالية سـواء كانت علاجية أو غير ذلك.

من خلال إشكالية يدور حولها مجهودنا العلمي في هذه الدراسة نعبر عنها بطرح التـساؤل التالي:

-هل الدراسة الفيتو كيميائية لنبتة سولانم نقروم والاختبار البيولوجي لمستخلصاتها المائيـة والميثانولية يكشف عن مواد فعالة تجعل هذه النبتة ذات أهمية حيوية طبيا والفائدة الاقتصادية ماديا ؟ .

لإجابة عن هذا التساؤل قمنا بقراءة مستفيضة سمحت لنا بإستطلاع الموضـــوع مـــن مختلـــف جوانبه، ما جعلنا نصل للاقتراح إجابة في شكل فرضية عامة نعبر عنها بالصيغة التالية:

– تحتوي نبتة سولانم نقروم على عـــدة مركبـــات ذات أهميـــة علاجيـــة عاليـــة كالقلويـــدات والصابونيات وغيرها.

يمكن أن نجزء الفرضية العامة إلى فرضيتين جزئيتين.

* **الفرضية الجزئية الأولى** : المسح الفيتو كيميائي سوف يظهر أن نبتة السولانم نقـــروم غنيـــة بالمنتجات الطبيعية.

ارتأينا أن تكون اختبارات الكواشف المواد الفعالة مؤشرات لهذه الفرضية في حالة إيجابيتها مع مستخلصات النبتة.

* **الفرضية الجزئية الثانية:** الاختبار البيولوجي للمستخلصات المائية والميثانولية على بعـــض أنواع البيكتيريا حسب تركيز المادة الفعالة.

ارتأينا نتائج قياس أنصاف أقطار التثبيط تلائم عملنا كمؤشرات علمية في تحقيـــق الفرضـــية أو نفيها.

– **المنهج والأدوات المنهجية:**

اخترنا لعملنا منهجا يناسبنا كون البحث في ميدان الكيمياء يعتمد علـــى الإنجـــاز التجـــارب المخبرية للتحقق من تكهنات ينطلق منها الباحث في بناء عمله العلمي لذلك كان منهجنا منهجـــا تجريبيا يعتمد على أداة أساسية هي الملاحظة العلمية المسلحة بأدوات مخبرية وشبكات مدعمـــة بحواس الباحث.

– **حدود الدراسة** : والمراد بها مجالات التي ينحـــصر حولهـــا مجهـــود الباحـــث و اهتمامـــه العلمي ويمكن أن نقسمها إلى ثلاثة مستويات:

1- **النبتة المختار** : نبتة سولانم نقروم النامية بمنطقة كونين بوادي سوف.

2- **المجال الجغرافي** : بلدية بولاية صحراوية تقع بالجنوب الشرقي بالجمهورية الجزائرية.

3- **المجال الزمني** : استغرقت هذه الدراسة البحثية سنة كاملة من مجهود الباحث عبر محطات علمية بدأت بعملية قطف النبتة خلال خريف 2006 م جمعت فيها 5 عينات من النبتة.

لننتقل بعدها لمحطة مهمة في البحث هي عملية المسح الفيتوكيميائي والتي أخـذت منـا شـهرا كاملا، بدأت من منتصف شهر أكتوبر لنفس السنة ،لندخل بعده مرحلـة الاختبـار البيولـوجي للمستخلصات والتي كانت أطول المراحل كونها دامت أربع شهور كاملة.

*** أسباب اختيار الموضوع:**

أ- كوني مطالب بتقديم عمل علمي في شكل مذكرة من أجل نيل شهادة الماجستير في تخـصص تحضير عضوي و الفيتو كيمياء، وأسكن في منطقة صحراوية دفعنـي لدراسـة هـذه النبتـة المتواجدة بكثرة في منطقة الوادي وخاصة بلدية كونين.

ب- الدراسة في المجال النباتات الطبية بالجزائر مازالت بكرا ،ويكفي أن نذكر بأن عدد النباتات المتوفرة في بلادنا وصلت إلى حوالي 3000 نبتة درس منها فقط 250 أي بنسبة 8.30% [03]. من مجموع النباتات المتواجدة في بلادنا ما كان دافعا للاختيار هذا الموضوع.

ج- تمثل الصحراء ثلاثة أرباع الأرض ببلدي وهي غنية بالنباتات الطبية ،والجزائـر تـستورد مابين 10و15 طن من مستخلصات النباتية سنويا.

د- قلة الاهتمام بضرورة القيام بالمسح الكامل والتعرف الشامل لجميع النباتات سـواء أكانـت عشبية أو شجرية أو أشجار والموجود ربانيا والنامية بريا ، لمعرفتها وتحديـدها مورفولوجيـا وتحليلها كيميائيا للوقوف على الفصائل النباتية والتأكد من مكوناتها ومنتجاتها الطبيعيـة، دفعنـا للتفكير في إتمام هذا النقص.

هـ - شيوع استعمالها في العلاج التقليدي الشعبي لدى سكان الصحراء أثار فضولي العلمي من أجل الوقوف على حقيقة فائدتها الطبية في علاج بعض الأمراض ، فمنهم من يستعملها كملين (مسهل) للاضطرابات الهضمية أي أوجاع المعدة والأمعاء ، وكذلك من يستعملها لعلاج الامراض الجلدية [4].

الأهداف:

1- هذه الدراسة نأمل أن تمكننا من معرفة مكونات النبتة ودراسة فعاليتها البيولوجية.

2- هذه الدراسة البحثية تعزز عمليات التصنيف من خلال الكشف عن مكونات النبتة ومحتوياتها من الأيوض الثانوية والتي اعتمد البعض منها حديثا لا سيما القلويدات والتربينات كمؤشرات وراثية.

3- الاختبار البيولوجي للمستخلصات المائية والميثانولية لورقة وثمار سولانم نقروم على بعض أنواع البكتيريا يسمح لنا بإبراز فعالية مستخلصاتها.

خطة البحث:

قسمنا هذه الدراسة إلى جزئين الأول نظري والثاني عملي :

الجزء النظري :جعلناه أربع فصول خصصنا الأول منه للنباتات الطبية والثاني للمنتجات الطبيعية أما الثالث فارتأينا أن يكون موضوعه المواد الفعالة من القلويدات والصابونيات والغليكوزيدات والتربينات وغيرها. أما الفصل الأخير منه حصرناه لطرق عامة تستعمل للاستخلاص بمذيبات بهدف الحصول على مستخلصات أو نواتج نقية انطلاقا من النباتات الطبية.

أما الجزء العملي:

فقد بدأناه بالحديث عن العينة المدروسة (النبتة) من حيث تسميتها وتصنيفها ووصفها ثـم منطقة الدراسة ومميزاتها وطريقة جمعها ،لنعرج في القسم الثاني من هذا الجزء على الدراسـة الفيتوكيميائية ونتناول فيه المحاليل والأدوات والأجهزة ثم الكشف عن المـواد الفعالـة و يتبـع بالاستخلاص بالماء والميثانول لورق وثمار سولانم نقروم ،أما الفصل الثالث منـه ففـضلنا أن يكون حول الدراسة البيولوجية التي تضمنت إجراءات عملية منها: جمع وتحـضير الـسلالات البكتيرية المستهدفة، تم تحضير المحاليل المستخلصات المائيـة والميثانوليـة، ليليـه تحـضير الأقراص والمزارع والمعلق البكتيري ثم يتبع ذلـك الفـصل خـاص بالاختبـار البيولـوجي للمستخلصات على بعض أنواع البكتيريا. كما تعرضنا فيه للنتائج المحصلة من القيـاس لتكـون محطتنا الأخيرة في هذه الجولة العلمية عرضا خاصا بأهم نتائج الدراسة الفيتوكيميائية وعرضـا لنتائج الفعالية البيولوجية لمستخلصاتها ومناقشتها، آملين أن يكلل هذا الجهد بالفائدة علـى كـل مهتمين الذين يطلعون عليه.

كما نتمنى أن نكون قد ساهمنا بهذه الدراسة البحثية في إثراء المكتبة العلمية لجامعة ورقلة.

الجـــزء النظـــري

الفصل الأول I :

النباتات الطبية

I - النباتات الطبية:

I-1- تعريف النباتات الطبية:

وقد عرف العالم Dragendroff إن كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي [5].

ويدعى النبات نباتا طبيا إذا أمتلك عضو على الأقل من أعضائه خصائص علاجية [6].

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 الفسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض.

إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية أو في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا[5].

النباتات الطبية لها القدرة على إنتاج نوع أو عدة أنواع من المواد الفعالة ، وهذا لايعني أن كل ماتنتجه 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 لكن هذه الأخيرة يمكن أن تضم نباتات ليست طبية إلا أنها مستعملة في الصيدلة [6].

I-2- أهمية النباتات الطبية:

تكمن أهمية النباتات الطبية على احتوائها على مواد كيميائية ذات فائدة عظمى وأهمية كبرى لتأثيرها الفسيولوجي ونشاطها الدوائي على أعضاء الجسم البشري والحيواني .

فالنبات الواحد يمكنه أن يحتوي وأن يعالج عدة أمراض وذلك لاحتوائه على أكثر من مادة فعالة و كما أن فعل المؤازرة المتوفر طبيعيا في النبات وذلك بتداخل تأثير مادة فعالة مع أخرى له الأثر البالغ في إحداث الشفاء دون أعراض جانبية .

إن فعل هذه المنتجات الطبيعية يختلف حسب تركيزها ومحتواها ونوعها في النبات وعلى هذا الأساس أجريت بعض التسميات على أنها نباتات قلويدية، ترينية ، كومارينية وهكذا [7].

I-3- دراسة النباتات الطبية:

على العموم الاستعمال التقليدي للنبات هو الأساس الذي تنطلق منه دراسة النشاطية الفيزيولوجية أو الطبية لأي دواء نباتي الأصل [5] [8].

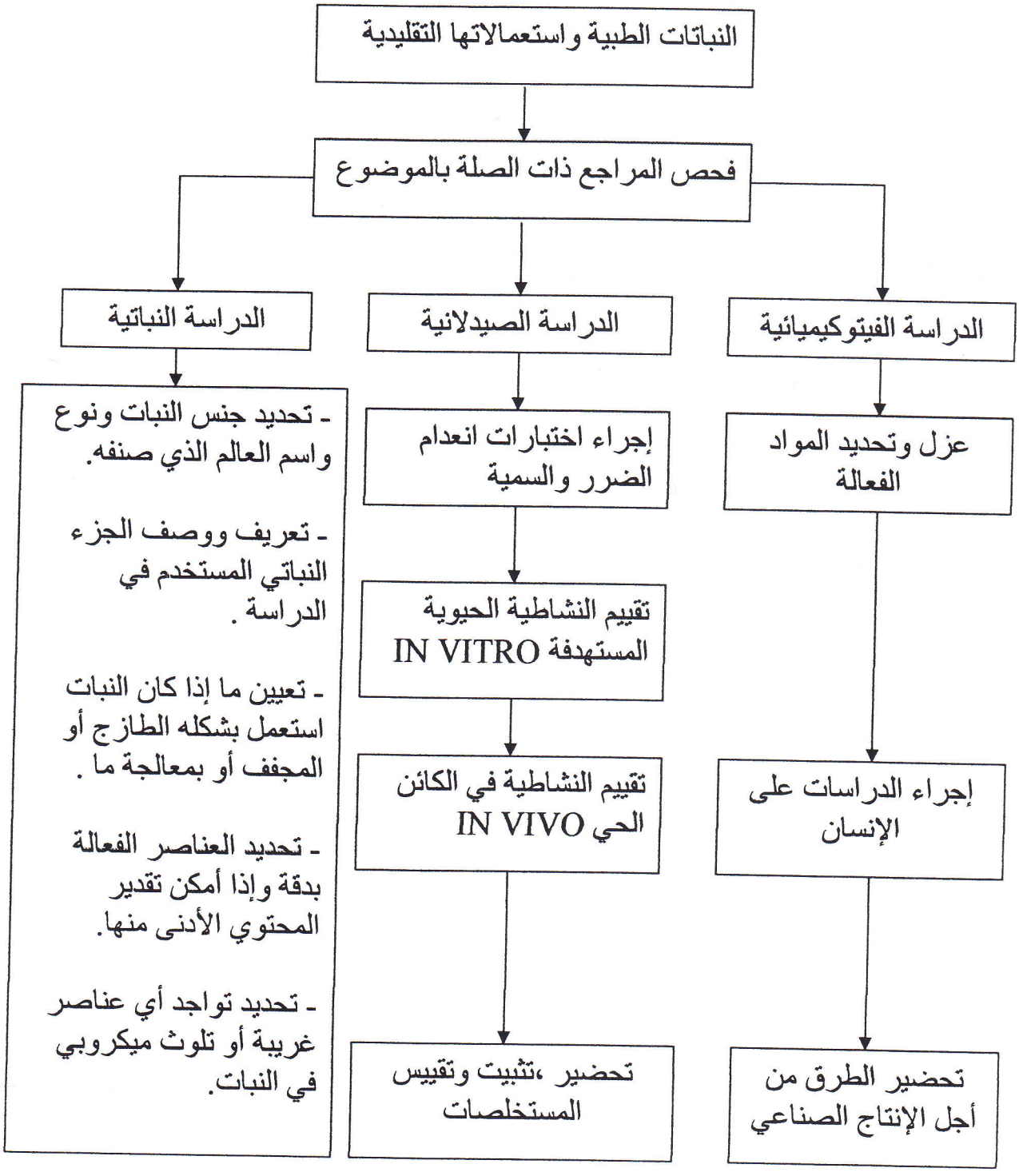
وذلك من خلال استخدامه في مجال الطب الشعبي بوصفة تقليدية محدده، فإن أول عمل يقوم به الباحث هو استخلاص وتنقية جميع المكونات الفعالة المعروفة من أعضاء النبات المختلفة.

ثم تتبع بدراسة خواص المادة وصفاتها الكيميائية وتعيين التركيب البنائي، مع إجراء بحوث معمقة لدراسة التأثيرات السمية والعلاجية والجرعات المسموح بها ودواعي ومحاذير استعمالاتها من عدمه.

كذلك يمكن إدراج بعض النباتات بقائمة النباتات الطبية إذا أمكن فصل واستخلاص بعض المكونات الطبيعية منه والتي ليس لها إثر علاجي، وهي على صورتها المفصولة, إلا أنه يمكن استخدامها كمواد أولية في تحضير بعض المواد الطبية [5].

والدراسة الدقيقة للنباتات الطبية يجب أن تكون وفق منهجية موجهة ومرتبة, ويجب إتباعها خطوة بخطوة للوصول إلى الهدف (الشكل 1).

وهذه المنهجية موجهة أساسا لإنتاج مستحضرات نافعة لكن بشرط أن تكون خالية من الخطر، لذلك فمن الواجب تحديد عدم ضرر المستحضر, ولو على حساب استبيان فعاليته [8].



الشكل-1:مخطط دراسة النباتات الطبية [8].

I-4- طرق استخلاص النباتات الطبية:

إن معرفة طرق الاستخلاص ضرورية التي تمكن انطلاقا من نبتة طبية الحصول على مستحضرات بأشكال طبية.

إنها مستحضرات معرفة من طرف دليل الأدوية، مستحضرات طبية حديثة مثل المعلقات الكاملة لنباتات طازجة أو منقعات بها الغليسيرين لمستخلصات نقية بعض الشيء ونواتج نقية تستعمل في العلاجات.

بالإضافة لجزيئات ذات فائدة طبية، فإن طرق الاستخلاص تمكن من عزل العديد من الجزيئات النقية التي تكون معرفتها ضرورية في المراقبة الكيميائية للنبتة.

دراسة التركيب الحيوي لبعض المجاميع الكيميائية وتعرف على الفعالية لبعض المستخلصات نسبة لناتج نقي مسؤول عن الفعالية.

يمكن تقسيم هذه الطرق إلى 4 مجموعات:

1- طرق الاستخلاص بواسطة المذيبات.

2- طرق تستعمل عمليات للإدمصاص.

3- طرق بيولوجية.

4- طرق حديثة في التنقية.

الفصل الثاني Π :

المنتجـــــات الطبيعيـــــة

II- المنتجات الطبيعية:

II-1- تعريف المنتجات الطبيعية:

استعمل اصطلاح منتجات الطبيعية الذي يعبر عن المركبات العضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المكونات أهمية هي تلك المنتجات التي تؤدي دورا في التفاعلات الأيضية والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة [9].

II-2- تصنيف المنتجات الطبيعية:

تصنف المنتجات الطبيعية حسب ما ذكره [10] . (Simpson,1984).

إلى قسمين كبيرين:

القسم الأول :المركبات الداخلة في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية Métabolites primaires التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون والبروتينات، وتعبر مكونات هذا القسم المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها مركبات القسم الثاني المتمثلة في مركبات الأيض الثانوي Métabolites Secondaires.

وهناك ثلاثة مواد رئيسية:حمض الشيكميك، الأسيتات والأحماض الأمينية، تعتبر وحدات للأيوض الثانوية.

وتقسم منتجات الأيض الثانوي في حد ذاتها إلى أصناف مختلفة لتسهيل دراستها، إلا أن الطريقة المتبعة في تقسيمها تختلف من مصدر لآخر.

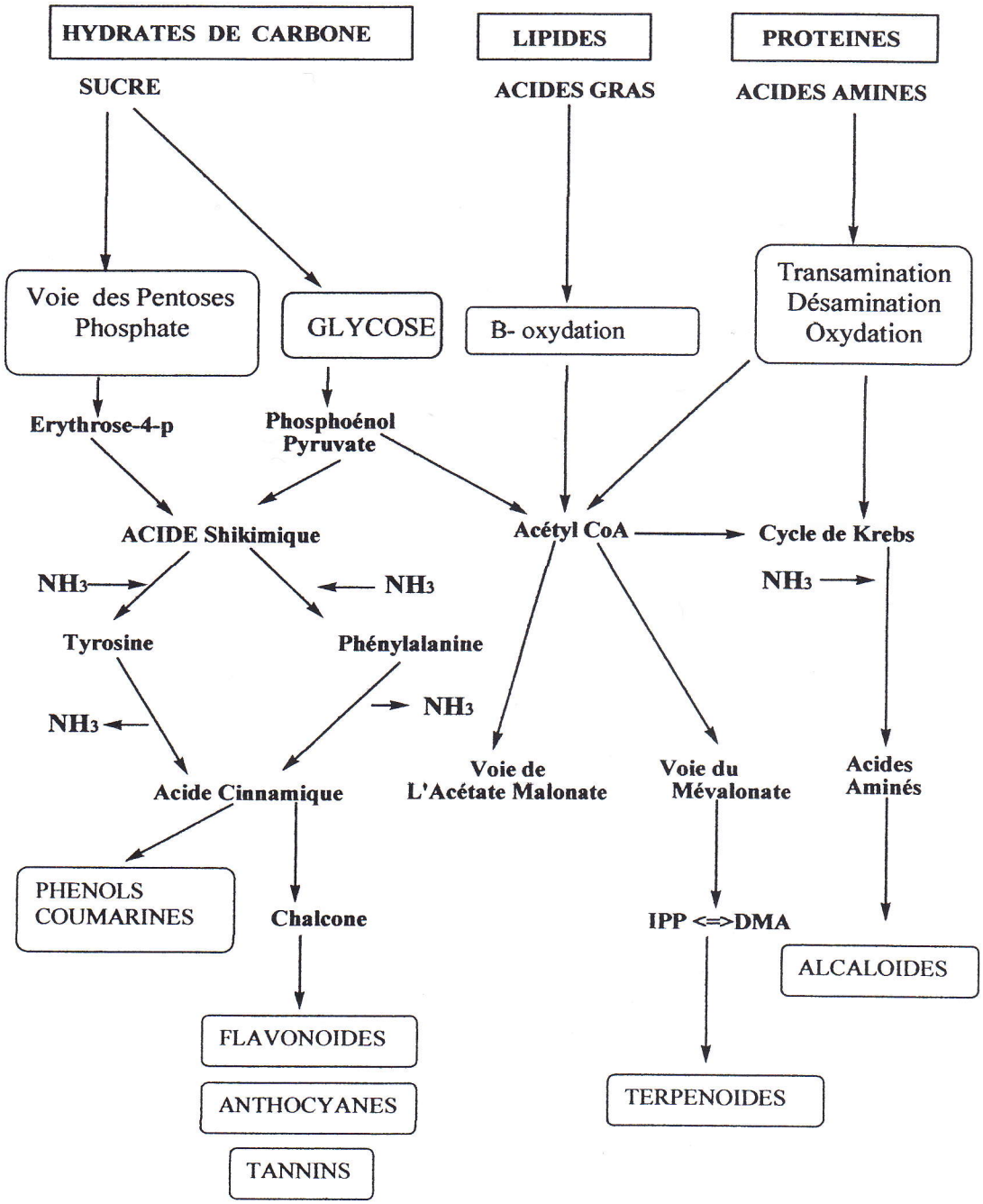
فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها، وتصنف أحيانا أخرى لتأثيرها الفسيولوجية (إذ يستخدم بعضها كمضادات حيوية، وبعضها مضادات جرثومية وبعض الآخر مسكن للآلام), كما قد تصنف وهي أكثر شيوعا تبعا لتركيبها البنائي أو على الأقل دراستها على هيئة مجموعات، حيث تصنف إلى : - التربينات وأشباهها - المركبات الفينولية - القلويدات وأشباهها - المضادات الحيوية والفيتامينات.

وعلى الرغم من أن هذا التصنيف يعتبر الأنسب إلا أنه قد تكون هناك تداخلات, فقد يندرج مركب طبيعي تحت أكثر من مجموعة . على سبيل المثال القلويدات التي يدخل في بنائها 25 ذرة كربون, قد تصنف ضمن مجموعة التربينات, وذلك وفق لهيكلها الكربوني. كما يمكن أن تصنف بعض الفيتامينات تحت مجموعة التربينات, مثل فيتامين A. الذي يعتبر من أبرز الأمثلة عن التربينات الثنائية. وكذلك المضادات الحيوية الستيرويدية تصنف ضمن مجموعة الستيرويدات, وذلك تبعا لتركيبها البنائي.

هناك بعض المصادر تلجأ لتصنيف المنتجات الطبيعية وفق المنشأ, أي الطريقة أو المسار التي تتكون بواسطتها داخل مصادرها الطبيعية . إلى عدد أقل من الطوائف متمثلة في أربع مجموعات هي:

- الغليكوزيدات .
- التربينات .
- القلويدات .
- الفينولات .

وبالرغم مما تقدمه العديد من المركبات المستخلصة من مصادرها الطبيعية من فوائد عظيمة للإنسان، إلا أن دورها في النبات لم يكن محددا من قبل، غير أنه في السنوات الأخيرة تبين أن من ضمن وظائفها تأمين العيش لكائن حي معين في ظروف حياتية قاسية[7]. كما تعبر منتجات الأيض الثانوي ذات خصائص علاجية متنوعة إذ تؤدي دورا كبيرا في ميدان الطب والصيدلة، لما لها من تأثيرات فيزيولوجية على الكائن الحي سيما الإنسان مثل Penicillin المضاد الحيوي المشتق من الفطريات أو الإيفدرين الذي استخلص من الإفدرا الذي ليس له دورا محددا في النبات, وتواجده في النبات يكسبها تصنيفا خاصا على أنها نباتات طبية. كما نشير إلى وجود علاقة تجمع بين الأيض الأولي والثانوي كما هي موضحه في الشكل (2).



الشكل-2:العلاقة مابين الميتابوليزم الأولي والثانوي [11] .

I-3- دراسة المنتجات الطبيعية:

باعتبار المنتجات الطبيعية هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، أنتجتها الكائنات الحية وبالتالي يشمل هذا التعريف العديد من المركبات المختلفة ولهذا يتم دراستها بصورة تفصيلية في مراجع الكيمياء العضوية مثل الأحماض الكربوكسيلية والأحماض الأمينية، السكريات والدهون والبروتينات ومنها مايبحث عنه في مراجع متخصص وضعت لهذا العرض، لكن المنتجات أكثر أهمية هي التي يتم فصلها من النباتات والكائنات الدقيقة.

وأهم الخطوات العملية التي يتعرض لها الدارس في حقل المنتجات الطبيعية يمكن حصرها في:

- كيفية الحصول على هذه المنتجات واستخلاصها من مصادرها الطبيعية.
- كيفية فصل وتمييز هذه المركبات الطبيعية بغية الحصول على مركبات نقية.
- كيفية التعرف على التركيب البنائي للمركبات نقية باستخدام الطرق الفيزيائية والكيمائية وإجراء بعض التفاعلات في تحديد هوية المجموعات الفعالة التي يحتويها المركب الطبيعي وكذا طرق التحليل الطيفي.
- الطرق التي تتكون بواسطتها المركبات الطبيعية داخل مصادرها الطبيعية، أي عملية الاصطناع الحيوي Biosynthes [12].

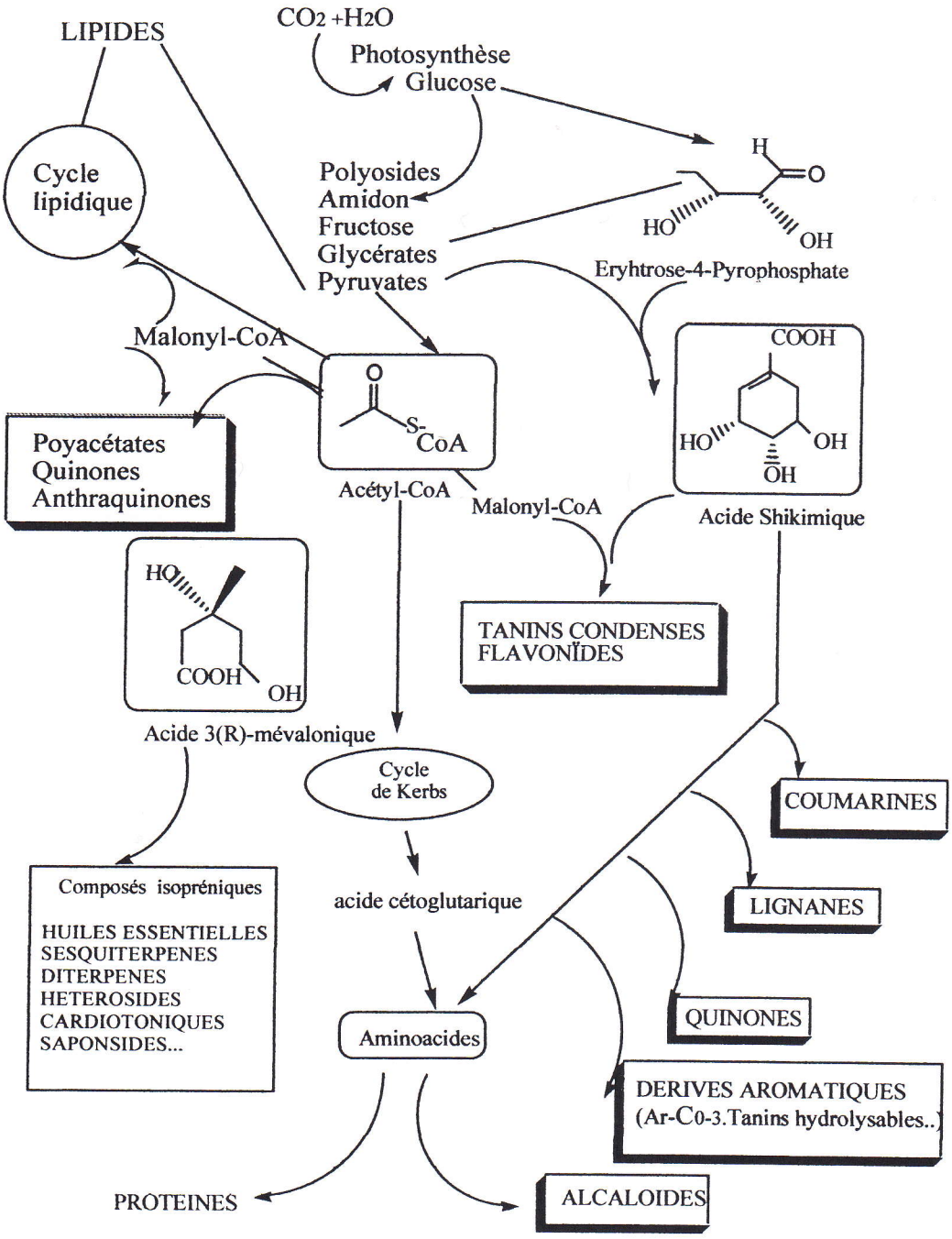
II-4- الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية:

يقصد بالاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية الطريقة التي تتكون بواسطتها هذه المنتجات داخل مصادرها الطبيعية.

العمليات الكيميائية التي تحدث خلال عمليات الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية هي تفاعلات أكسده، إرجاع، ألكله ذره نتروجين أو أوكسجين، أسيلة، انتزاع ثاني وأكسيد الكربون من مجموعة كربوكسيل وغيرها من التفاعلات العضوية المألوفة لدارسي الكيمياء العضوية.

الفرق بين إجراء هذه التفاعلات في المخبر وحدوثها داخل جسم الكائن الحي فيكمن في الظروف التي تتم فيها هذه التفاعلات، حيث ينجز الكثير منها في المخبر عند درجات حـــرارة مرتفعـة نسبيا، الأمر الذي لايمكن حدوثه داخل الجسم الكائن الحي، وعلى الرغم من أن درجة الحـرارة الكائن الحي ملائمة لمعشيته تكون منخفضة مقارنة بدرجة حرارة التفاعلات التي يتم أنجزهـا في المخبر، إلا أن هذه التفاعلات تتم بسرعة فائقة وتنظيم دقيق هذه التفاعلات تسير ببطء شديد خارج الخلايا الحية وقد لاتحدث أصلا.

العوامل المحفزة لتلك التفاعلات البيوكيميائية ذات طابع بروتيني تنتجها الخلايا الحـية تـدعى الإنزيمات(مفاتيح الاصطناع الحيوي) الموجودة داخل الخليـة ومـن المعتقـد أن الوحـدات الأساسية الـتي تستخدمها الخلية في صنع وبناء المركبات الطبيعية هي الماء، وثـاني أكـسيد الكربون وحمض فورميك و حمض الأسيتيك, ويكون هذا الأخير علـى هيئـة الاسـتيل CoA المركب الغني بالطاقة بمثابة المركب الأساسي، الذي تبدأ منه بناء معظـم المنتجـات الطبيعيـة و كالأحمـاض الأمينية، التـربينات، المركبات الفينولية المضادات الحيويـة وغيرهـا [12]. والشكل (3) يوضح الاصطناع الحيوي لأغلب المنتجات الطبيعية في النبات.



الشكل-3: الاصطناع الحيوي للمنتجات الطبيعية في النبات .

الفصل الثالث III :

المـــــــواد الفعالـــــــــة

III- المواد الفعالة:

تعتبر المكونات الكيميائية الفعالة بالنباتات الطبية أحد نواتج عملية التمثيل الضوئي المباشرة كالغليكوزيدات أو غير المباشر كالقلويدات والزيوت الطيارة أو الثابتة وغيرها.

وتبعا لفاعليتها العلاجية لكثير من الأمراض وسرعة شفائها وإزالة أعراضها لذلك تسمى هذه المنتجات بالمواد الفعالة Active ingredients.

وأهم هذه المواد هي:

III-1- القلويدات Alkaloids:

III-1-1- تعريف القلويدات:

اقترح هذا المصطلح حسب [13] . Cordell (1981) لأول مرة سنة 1818 من طرف الباحث: MEISSER ولفظ كلمة القلويد عبارة عن مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية ومنها اشتقت وتحولت إلى كلمة القلويد أي القاعدة النباتية [5] [6].

وبصفة عامة القلويدات هي قواعد أزوتية معقدة البنية تحتوي على وظيفة حمضية آمينيه واحدة أو عدة وظائف [6].

وهي مركبات لها أهمية عند البيولوجيين والصيادلة نظرا لخصائصها السمية والدوائية.

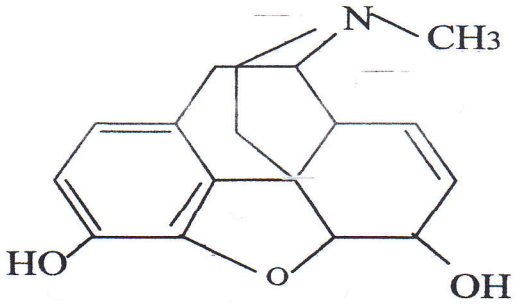
وأول مركب قلويدي عزل هو الأفيون سنة 1803[14]. من طرف ديرسون (Derson). والذي استخدم كمنوم ومسكن لقرون عديدة بواسطة الأطباء الشعبيين.

III-1-2- وجودها في الطبيعة:

لقد كان المصدر الرئيسي للقوليدات في الماضي النباتات الزهرية إلا أنه في الوقت الحاضر قد تم عزل الكثير من هذه المركبات من مصادر مختلفة، مثل الحشرات والكائنات الحية الدقيقة.

وتوجد بكثرة عن مغلفات البذور Argiospermes وخاصة في ثنائيات الفلقة وهي الفصيلة البنية Rubiaceae، الفصيلة الأبوسينية .Apocianaceae، الفصيلة البقولية Leuguminoseae، والفصيلة الباذنجانية Solanaceae، ونادرا في أحاديات الفلقة ماعدا الفصيلتين الأمارلية Amarillidaceae، والزنبقية Liliaceae.

كما يمكن للنبات الواحد أن يحتوي على أكثر من قلويد وقد تختص بعض الفصائل بإنتاج قلويد معين كإنتاج قلويد المورفين في الفصيلة Papaveraceae . الذي صيغته الكيميائية (1):



الصيغة الكيميائية-1: لـ morphine

III-1-3- تصنيف القلويدات:

تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها, ولكن تزايد اكتشاف المئات من هذه المركبات حال دون استخدامها، أو حسب خصائصها الصيدلانية و تركيبها الحيوي أو حسب بنيتها الكيميائية.

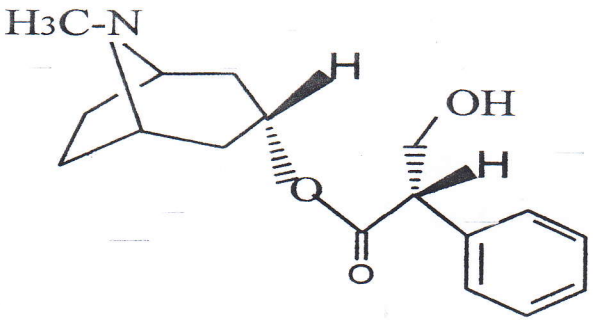
ولقد كانت أكثر المحاولات قبولا وانتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعه هيجا ور (Heganauer) [5] [6].

الذي قسم القلويدات إلى ثلاثة (3) أقسام رئيسية هي:

1- القلويدات الحقيقية True Alkaloids:

هي قلويدات سامة لها تأثيرات فيزيولوجية متباينة، تحتوي على ذرة نتروجين واحد أو أكثر في حلقات متغايرة، وهي مركبات تشتق من الأحماض الأمينية [5] [6].

كمثال عنها:



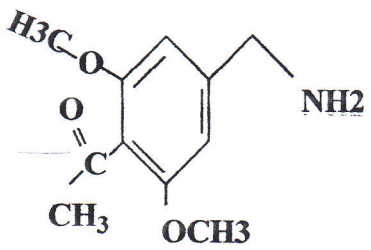
الصيغة الكيميائية-2: لـ (-)-HYOSCYAMINE (ATROPINE)

2- القلويدات الأولية Proto- Alkaloids:

هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بـل تكون مجموعة أمينيه جانبية وهي تشتق من الأحماض الأمينية [5] [6].

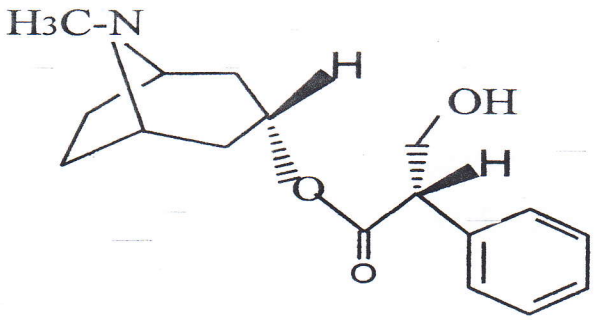
ويطلق أحيانا على القلويدات التي تنتمي إلى هذا القسم الأمينات البيولوجية.

ومن أهمها:



الصيغة الكيميائية-3:لـ Mescaline

3- القلويدات الكاذبة Pseudo Alkaloids:



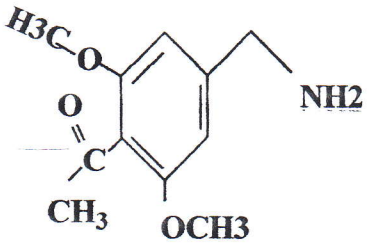
الصيغة الكيميائية-2: لـ (-)-HYOSCYAMINE (ATROPINE)

2- القلويدات الأولية Proto- Alkaloids:

هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الأزوت لا تنتمي إلى النظام الحلقي بـل تكون مجموعة أمينيه جانبية وهي تشتق من الأحماض الأمينية [5] [6].

ويطلق أحيانا على القلويدات التي تنتمي إلى هذا القسم الأمينات البيولوجية.

ومن أهمها:

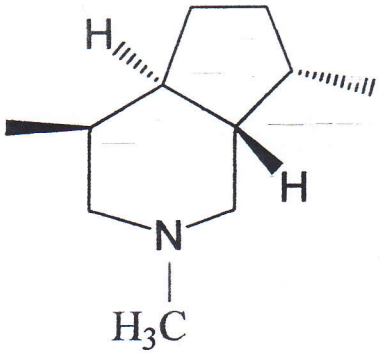


الصيغة الكيميائية-3:لـ Mescaline

3- القلويدات الكاذبة Pseudo Alkaloids:

وهي قلويدات لها نفس خصائص القلويدات الحقيقية إلا أنها لا تشتق من الأحماض

الأمينية [5]. كمثال عنها:

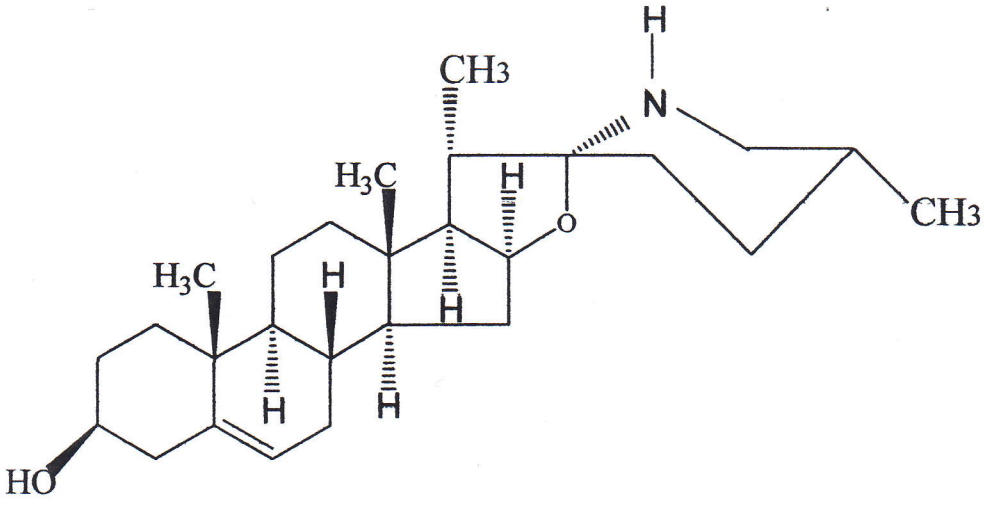


الصيغة الكيميائية-4: لـ (+)- CONINE

ويندرج تحت هذا القسم القلويدات الستيرودية والقلويدات البيورنية(porine) [5] [15].

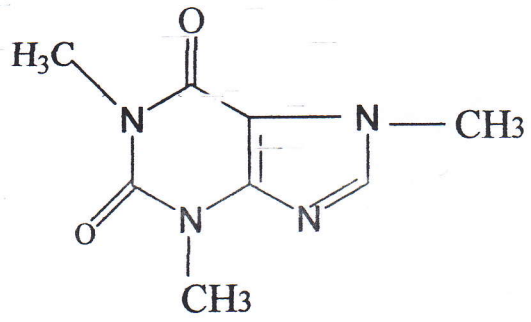
إن القلويدات السيترويدية تنتشر بوفرة في الفصيلة الباذنجانية وعلى الأخص في جنس (solanum).

وتعبر الأنواع المختلفة من جنس سولانم المصدر الرئيسي لمثل هذه القلويدات والتي تستخدم بصورة رئيسية كمواد بادئه لتحضير الكثير من المركبات الستيرويدية ذات الأهمية البيولوجية، وأكثر ما يستخدم لهذا الغرض هو القلويد سولاسودين (solasodine) . الذي يتواجد في جميع أنواع السولانم على وجه التقريب وقد يكون في الصورة الحرة أو على هيئة غليكوزيدية.



الصيغة الكيميائية-5: لـ Solasodine

أما القلويدات التي تحتوي على مجموعة البيورين وأهم قلويدات هذا القسم هو الكافين الموجـــود في كل من القهوة والشاي [16].



الصيغة الكيميائية-6: لـــ Caffeine

III-1-4- استخلاص القلويدات:

إن استخلاص القلويدات يعتمد على اختلاف ذوبانيتها في الوسط الحمضي والوســـط القاعـــدي وهذه الذوبانية تكون بدلالة pH [5] [6].

وهناك (3) طرق عامة للاستخلاص القلويدات:

- الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية.
- الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية.
- الاستخلاص بالماء الحمضي.

1- الاستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية:

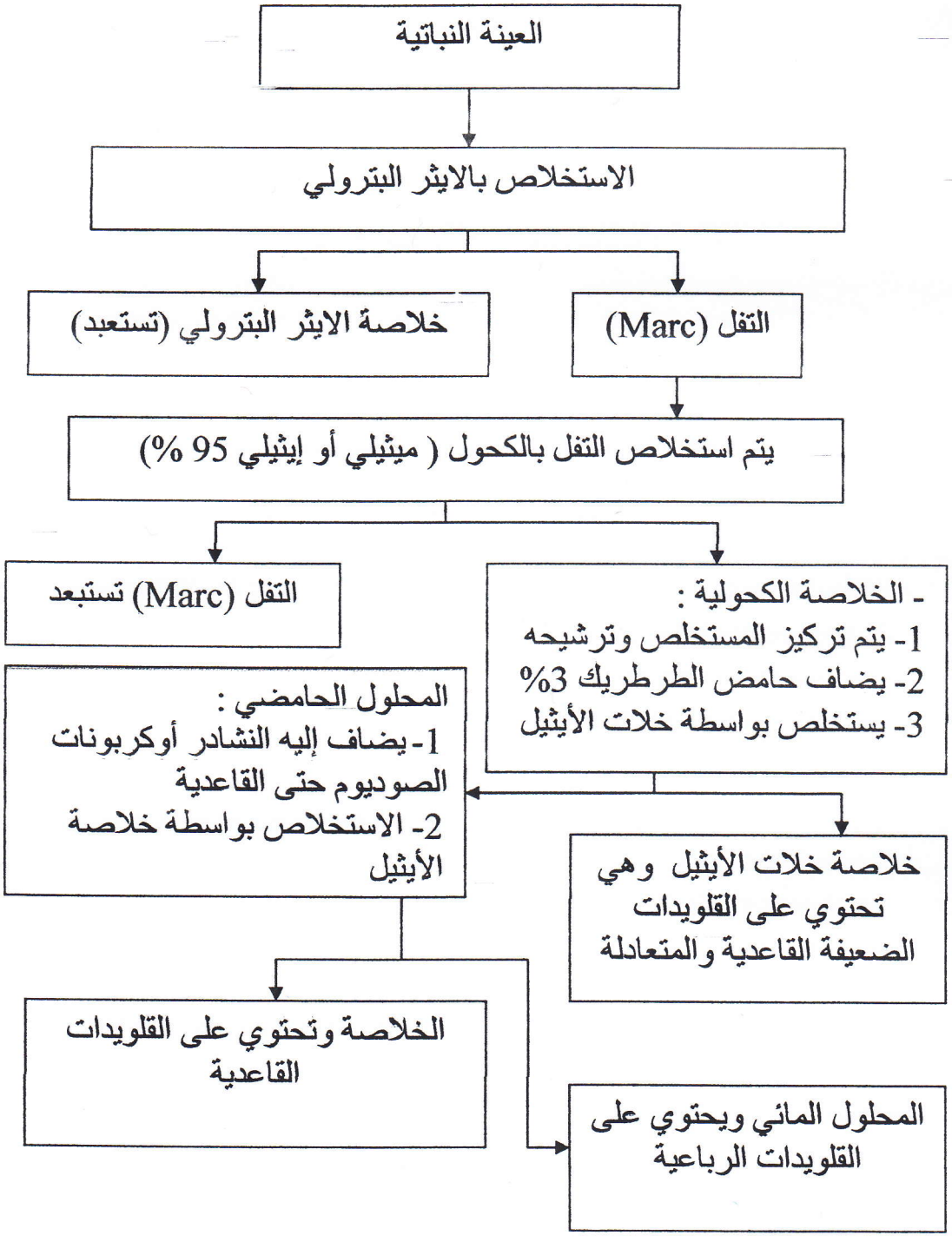
يكون الاستخلاص بمعالجة مسحوق النبات بالكحول ثم يبخر والناتج يذاب في محلول حمـــضي ممدد، أو يعالج بمحلول (كحول - ماء) حمضي بعدها يبخر الكحول والنـــاتج يمـــدد بمحلـــول حمضي مخفف . كما في الشكل (4).

2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية:

يعالج مسحوق النبات بقاعدة ضعيفة مثل النشادر أو كربونات الصوديوم، وبهـــذه الطريقـــة تتحرر القلويدات (من الطور العضوي إلى الطور المائي للتخلص من الشوائب) ثم تـــستخلص بمذيب عضوي لا قطبي مثل أسيتات الأثيل.

3- الاستخلاص بالماء الحمضي:

عند معالجة مسحوق النبات الجاف بمحلول حمضي ممدد،نحصل على محلول قلويدات ملحية.



الشكل-4: مراحل استخلاص القلويدات بالمذيبات العضوية القطبية .

III-2- الصابونيات Saponins:

III-2-1- تعريف الصابونيزيدات:

وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية ويتعدد السكر ليصل من اثنين إلي عشرة وعليه فالصابونيات ذات وزن جزيئي عالي وعند حلمهة تحرر سكر أوعده سكريات ,

(D-xylose ،D-Fructose ،L-arbinose ،rhammose ،D-galactose ، D-glucose)

معgenie يسمي Sapogenine هذا الأخير عبارة عن نواة إستيرويدية وقليل منها يتألف من نواة ثلاثية التربين.

وقد اشتق أسمها من الكلمة اليونانية sapo بمعنى صابون لأنها تعطي رغوة كثيفة إذا رجت مع الماء أو الكحولات المخففة وتستمر مدة طويلة.

III-2-2- وجودها في الطبيعية:

إن الصابونيات ذات genine إستيرويدية تتواجد في النباتات أحادية الفلقة Monocotyledonae مثل الفصيلة الأمارلية Amarilidaceae والأليلية Liliaceae.

وقليل جدا في ثنائيات الفلقة Dicotyledonae مثل Scrophylariace. بينما إذا كان الـ genine ثلاثي التربين تكون نادرة جدا في أحاديات الفلقة لكن تنتشر في ثنائيات الفلقة مثل Polygalaceae، primulaceae، Carryophyllaceae، Rosaceae، Heppocastanaceae [17].

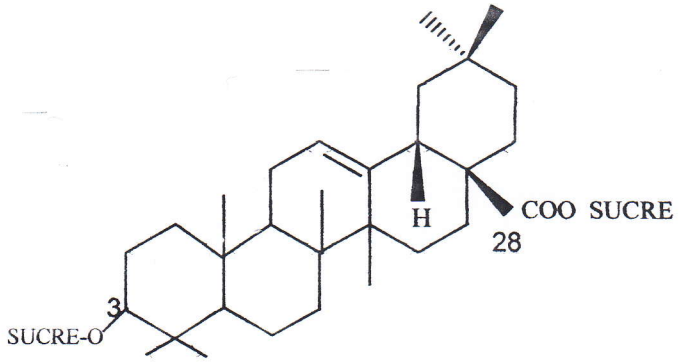
III-2-3- تصنيف الصابونيات:

و من أهم هذه التصنيفات:

1- الصابونيات ذات نواة ثلاثية التربين Group des triterpénes:

كمثال عنها:

مونو - بـدسموزيدات (Mono – bidesmosides) يصل إلى ما يحتويه 11 سـكر أحـادي (غالبا من 3 إلى 5 سكر أحادي) وأكثرها يرتبط السكر البسيط مع C_3 براطه ايثيرية وأيـضا يرتبط مع C_{28} برابطه استيرية .

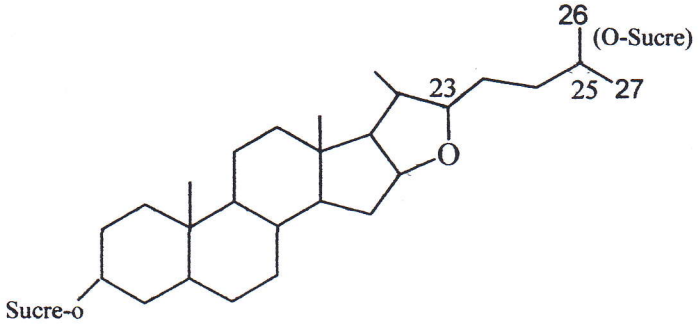


الصيغة الكيميائية-7: لـ β-amyrine

2- الصابونيات ذات نواة تربينية استيرويدية Group des steroides:

كمثال عنها:

مونو (سكر أحادي مرتبط مع C_3) و**bidesmosides** (سكر أحادي مرتبط مع C_3 وC_{26}).



الصيغة الكيميائية-8: لـ FUROSTANES

- الأهمية العلاجية للعديد من العقاقير ذات الصابونيات المستعملة في استخلاص الجزيئات الفعالة (glycyrrhizine escire) للحصول على مستحضرات طبية جهاز بسيطة أو تلك الخاصة بمستحضرات العلاج النباتي.

- إمكانات علاجية كامنة في مجالات مختلفة : موفقات للتكاثر الخلوي، و مبيدات حشرية، مسكنات للألم.

- وكذلك الصابونيات أهمية في كون وجودها يمكن أن ينقص بشكل كبير القيمة الغذائية لكلأ أو يضفي على النباتات محيطا سمومه معتبرة (أي حماية ذاتية في كلتا الحالتين).

III-2-4- استخلاص الصابونيات:

- ذوابة في الماء الدافئ (قابله لإماهة بسهولة).

- ذوابة في مزيج (ماء - كحول) بعد استخلاصها بإيثر البترولي.

III-3- الغليكوزيدات Les Glucosides :

III-3-1- تعريف الغليكوزيدات:

هي عبارة عن مجموعة من المركبات العضوية الناتجة من الأيض الثانوي ولفظ الغليكوزيدات مشتق من ارتباط نوع خاص من المواد العضوية الناتجة من عمليات التمثيل والأيض مع جزيء أو أكثر من السكريات البسيطة.

وهذه الغليكوزيدات تتحلل سريعا بفضل الأحماض المعدنية والنشاط الإنزيمي المتخصص مكونة نوعين من المواد العضوية إحداهما سكري يعرف بالغليكون (glucon) والثاني غير سكري يدعى بالاغليكون (Aglucon أو Genine).

وهذا الأخير يعزى إليه التأثيرات الفيزيولوجية أو العلاجية وكذلك الخواص الكيميائية للغليكوزيدات[5] [18].

وتكمن أهمية الغليكوزيدات في النبات الحامل لها تعبر مصدر التخزين للمواد السكرية التي بدورها تدخل في عملية التمثيل وتنظيم الضغط الاسموزي وانتقال بعض المواد اللازمة لعملية التمثيل (الضوئي) الغذائي في النبات.

III-3-2- وجودها في الطبيعية:

تتواجد الغليكوزيدات بكثرة في معظم أجزاء النباتات الرقية ونادرا ما توجد في الدنيئة ويتركز توافرها في العصير الخلوي لفجوات النباتية.

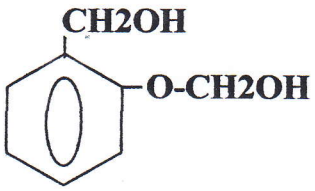
III-3-3- تصنيف الغليكوزيدات:

نظرا لكثرة أنواع الغليكوزيدات وتبعا لتركيبها الكيميائي واحتوائها على الغليكوزيدات المختلفة كيميائيا، يمكن تصنيفها إلى المجموعات غليكوزيدية كما يلي:

1- الغليكوزيدات الكحولية:

والتي توجد في أوراق نبات الصفصاف Salix albal [18].

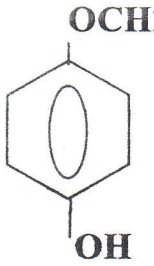
ويتميز شقها غيرالسكري بأنه ذو طبيعة كحولية كما في Salecin والذي تتميز بأن طعمها مرّ، وتذوب في الماء والكحول الايثانول وهي عديم اللون، درجة انصهارها 201 مْ.



الصيغة الكيميائية-9:لـ Salecin

2- مجموعة الغليكوزيدات الفينولية Penolique Glucosides:

يمثل مركب أربيوتين Arbutin أحد الغليكوزيدات الفينولية الهامة أمكن فصله من أوراق نبات عنب الدب Uva –Ursi ويذوب في الماء والكحول بسهولة ودرجة انصهاره 200م° ورمزه الكيميائي.



الصيغة الكيميائية-10: لـ Arbutin

ويتحلل إلى جزيء، الغلوكوز ومادة الكينول بفعل إنزيم إيملسين.

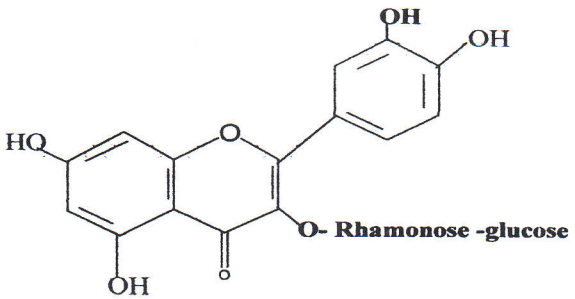
وبفعل الأحماض ويستخدم كمطهر للمجاري البولية [5].

3- مجموعة الغليكوزيدات الفلافونيدية Flavonoide glycoside:

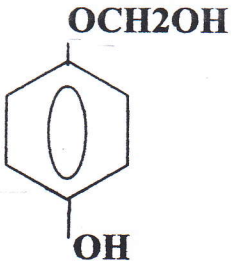
ترتبط في هذه المجموعة مع الجزء السكري للمركبات الفلافونيدية أو مشتقاتها والمسؤولة عن مختلف الألوان في بتلات الأزهار ومن أهمها:

- مركب الروتين (Rutine) والذي يتواجد في نبات الحنطة السوداء Fsculentun esculentun ولون هذا الغليكوزيد أصفر ودرجة انصهاره 184م° ويتحلل كيميائيا متحولا إلى جزء غلوكوز، جزيء رامنوز ومركب الأغليكون كرستين (Quercetin).

ومركب Apiin في أوراق الكرافس Apuigraweadens [18].



الصيغة الكيميائية-11: لـ Rutine



الصيغة الكيميائية-10: لـ Arbutin

ويتحلل إلى جزيء، الغلوكوز ومادة الكينول بفعل إنزيم إيملسين.

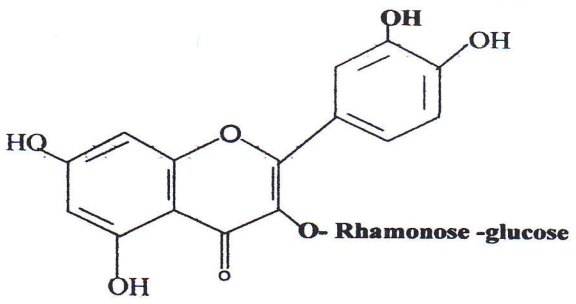
وبفعل الأحماض ويستخدم كمطهر للمجاري البولية [5].

3- مجموعة الغليكوزيدات الفلافونيدية Flavonoide glycoside:

ترتبط في هذه المجموعة مع الجزء السكري للمركبات الفلافونيدية أو مشتقاتها والمسؤولة عن مختلف الألوان في بتلات الأزهار ومن أهمها:

- مركب الروتين (Rutine) والذي يتواجد في نبات الحنطة السوداء Fsculentun esculentun ولون هذا الغليكوزيد أصفر ودرجة انصهاره 184م° ويتحلل كيميائيا متحولا إلى جزء غلوكوز، جزيء رامنوز ومركب الأغليكون كرستين (Quercetin).

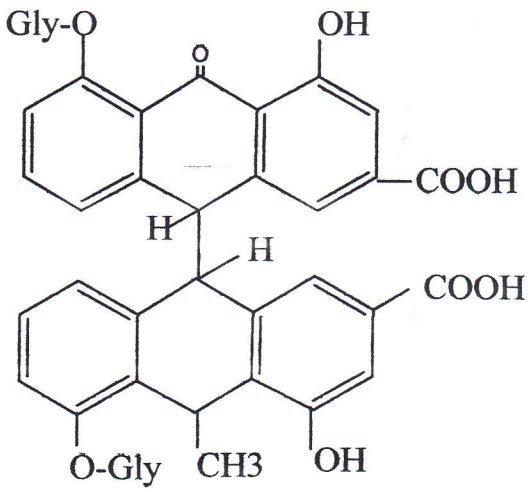
ومركب Apiin في أوراق الكرافس Apuigraweadens [18].



الصيغة الكيميائية-11: لـ Rutine

4- مجموعة الغليكوزيدات الأنثراكينونية Antharaquinone glycoside:

وفي هذه المجموعة شقها غير السكري يكون Antharaquinone أو مشتقاته يتحد مع السكر الغليكوزيد الأنثراكينوني مثل Senoside في النبات السينامكي Cassia acutifolla [18]. الذي صيغته الكيميائية:



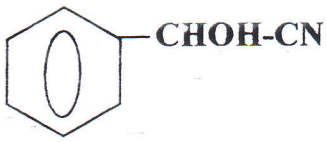
الصيغة الكيميائية-12:لـ Senoside

5- مجموعة الغليكوزيدات السيانيدية Cyrophore glycosides:

يحتوي شقها غير السكري على حامض الهيدروسيانيك (Hydrocyanique) وأهمها:

-Linamarin: في بذور نبات الكتان Linum usitatissimun [18].

-Amygdalin : الذي يتواجد في ثمار نبات اللوز المر Amygdalus Commuis-dulcis ويتحلل إنزيميا إلى 2 جزيء من الغلوكوز، البتوالدهيد، وحمض الهيدروسيانيك. ورمزه الكيميائي هو كالآتي:



الصيغة الكيميائية-13: لـ Amygdalin

6- مجموعة الغليكوزيدات الكبريتية Thioglycosides:

الشق الغير السكري فيها يكون أملاح الكبريت ذات التأثير الطبي ومن أهمها:

- جلوكونابين Gluconapin الذي يتواجد في بذور اللفت Brassica napus [18].
- سينالبين Sinalbin : في بذور نبات الخردل الأبيض Brassica alba هذا المركب الأصفر اللون ويذوب في الماء والكحول، عند التحلل الإنزيمي يعطي كل من الغلوكوز، كونين، بارا
- هيدروكسي بنزيل إيزوسيانات وحمض سيابينك، كبريتات البوتاسيوم.

7- مجموعة الغليكوزيدات القلبية Cardiac Glycosides:

يحتوي شقها غير السكري في الغليكوزيدات القلبية على النواة الاستيرويدية بحيث يرتبط بها كل من السكر واللاكتون، ويعود الفضل لهذه المجموعة في علاج حالات القلب المختلفة، كتنظيم ضرباته وانقباضات عضلاته وتقويته كما لها تأثير على إدرار البول[18] .

ومن أهم الغليكوزيدات التابعة لهذه المجموعة:

- Digitoxin و Gitoxin و Gitalin في أوراق نبات الديجيتاليس Digitalis.lutea-L.
- Sullarin B و Sullarin A في أوراق نبات بصل العنصل Urignia.maritima

8- مجموعة الغليكوزيدات الصابونية Saponical Glycosides:

شقها غير السكري يكون الصابونين الذي يؤدي تعاطيه في الدم إلى تحطيم الكريات الحمراء وفقد الهيموغلوبين فيها، مؤدية إلى تسمم ولكن تناولها عن طريقه الجهاز الهضمي لايبدي أي تسمم [18]. كما توجد في جذور نبات عرق السوس والمسبب لتطعم المميز والرغوة الصابونية.

ويعتبر الغليكوزيد الرغوي المعروف غلسيرازين (Glycyrrhizin) والمسبب للطعم المرّ والمميز بالرغوة الصابونية.

وعندما يتحلل كيميائيا يتحول السابوجينين (الأغليكون) المعروف باسم حمض غلسيريتك Glycyrrhetic acid (C_{30} H_{46} O_4) ويوجد منه نظيرين النظير الأول انصهاره 287مْ والثاني 300مْ ، وعدد جزئين لمركب أخر سكري من حمض غلوكويورونك Glucuronic .

III-3-4- استخلاص الغليكوزيدات:

إن طرق استخلاص وفصل الغليكوزيدات محدودة بالرغم من أنها سهلة الذوبان في الماء وكحول الايثانول المخفف.

وعلى العموم، بعد قطف وجمع الأعضاء النباتية الحاملة للغليكوزيدات، يجب وقف النشاط الإنزيمي المحلل لهذه المواد الفعالة وقبل فصلها وذلك بإتباع الأتي:

أ- غمس الأجزاء النباتية مباشرة في محلول الكحول الايثانولي المغلى أو الإسيتون في وجود كربونات الكالسيوم أو الصوديوم لمعادلة الأحماض العضوية الحرّة في الأنسجة النباتية.

ب- إضافة سلفات الأمونيوم اللامائية في صورة صلبة مع الأجزاء النباتية الصغيرة أثناء طحنها وهي طازجة وحفظها في الثلاجة.

ج- استخلاص الزيوت الثابتة مع بعض الأعضاء النباتية، المجروشة سواء كانت بذورا أو جذورا باستعمال البترول الايثري أو الهكسان قبل فصل الغليكوزيدات كيميائيا.

وطرق فصل الغليكوزيدات من النباتات المختلفة تختلف باختلاقه نوع الغليكوزيد ودرجة قابليته للذوبان في المذيبات العضوية خاصة الايثر المشبع بالماء (لعدم تكسير أو تحويل) أو الميثانول المحمض أو الايثانول المحمض.

إلا أن اغلب الغليكوزيدات يمكن استخلاصها وفصلها باستعمال الايثانول المغلي أو البارد، بينما الغليكوزيدات القلبية قد تستخلص وتفصل بسهولة باستعمال الايثر المشبع بالماء لعدم تكسير أو تحويل الغليكوزيدات الأولية إلى الغليكوزيدات ثانوية، ولمنع التفاعلات الكيميائية التي تحللها الإنزيمات ، بينما الغليكوزيدات الملونة والحاملة للفلافونيدات والانثرسيانينات, يمكن عزلها بالماء المغلي أو بمحلول الميثانول المحمض بحمض يدكل 1%.

بعد الحصول على معظم أنواع الغليكوزيدات المنعزلة بالطرق السابقة، يضاف إليها الايثر مع الرّج الشديد على أن تكرر عدة مرات. ويضاف إليها محلول خلات الرصاص المشبعة لترسيب البروتينات والراتنجات والكلوروفيل والتنينات ثم نرشح، و المترشح يحتوي على الغليكوزيدات النقية. وفي حالة وجود بقايا من خلات الرصاص بعد الترشيح، يمكن إزالتها بالترشيح بعد إمرار تيار من غاز كبريتوز الهيدروجين، ثم تجفف أو يركز مستخلص الاثير تحت ضغط ودرجة حرارة لا تزيد عن 25- 30 مْ.

III-4- التربينات Les Terprenes:

III-4-1- تعريف التربينات:

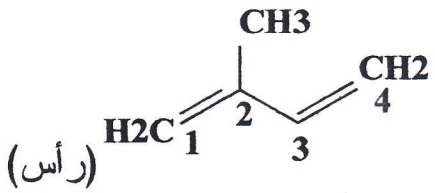
هي مركبات هيدرو كربونية الوحدة البنائية لها هي الايزوبرين IsoPrenne (C_5H_8) ذات 5 ذرات كربون وهي: ناتجة عن تجمع من وحدات الـ IsoPrene [18].

وحسب هذه القاعدة تقسم التربينات حسب مذاكره [19] .(Guignard) إلى:

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	أحداث التربين MonoTerpènes	2
15	سيسكوتربيناتSesquiTerpènes	3
20	ثنائي التربين Diterpénes	4
30	الثلاثي التربين tri terpènes	6
40	رباعي التربين Tètra terpènes	8
أكبر من 40	متعدد التربين poly terpènes	أكبر من 8

الجدول-1: تقسيم التربينات

(ذيل)



(رأس)

الصيغة الكيميائية-14: لـ IsoPrenne

III-4-2- وجودها في الطبيعة:

- التربينات الأحادية Monoterpenes:

ويكون محتوى النبات منها مختلف من نوع لآخر وحسب عمر النبات والعضو النباتي لهذه المادة، وتتواجد عادة في الفصائل التالية في الفصائل التالية:

Rutaceae ,Lamiaceae,Myraceae. [17].

- السيسكوتربينات Sesquiterpenes:

السيسكوتربينات اللاكتونية مدى انتشار نباتي جد متنوع ،فهي موجودة في الفطريات والطحالب كما نجدها عند كاسيات البذور Angiospermea . Lauraceae , Merispermaceae و Apiàcea وتتواجد بكثرة عند النجميات Asteraceae(Compositae) و تتمركز هذه الأخيرة عموما في الزغب المفرزة الموجودة على مستوى الأوراق، السيقان ، و القنابات المزهرة كما توجد بكثرة في الثمار اليابسة وحيدة البذرة (abénes) وهي قليلة في الأجزاء الأرضية يمكن أن تتواجد في صورة سيسوكوتربينات كومارنية رغم ندرتها وتنحصر في فصائل قليل جدا مثل الفصيلة الخيمية [17].

- التربينات الثلاثية Triterpenes:

التربينات الثلاثية تنتشر في الطبيعية بكثرة إذ وجدت لحد الآن 4000 مركب تشكلت من أكثر 40 هيكل. وتتواجد في الفصائل السندابية Rutaceae، الميلية Meliaceae، السماروبية Simarubaceae.

وهناك من صنف التربينات الثلاثية إلى عدة مجموعات جزئية: تربينات حقيقية، ستيرويدات (Steriotniques)، قلويدات ستيرويدية steroide alcamines، صابونيات saponosides قلويدات قلبية glycosides cœur والمجموعات الأخيرتان هما الأساس.

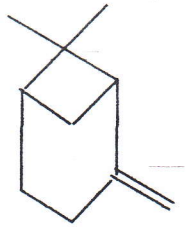
III-4-3- تصنيف التربينات:

1- التربينات الأحادية Monoterpenes:

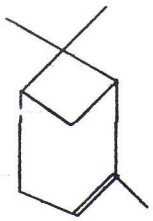
تتكون من وحداتين إيزوبرين أي (C_{10}) وهي مركبات طيارة لها الرائحة الزكية التي يتميز بها الكثير من النباتات وأيضا لها أهميتها التجارية لأنها تستخدم في العطور ولبعضها استخدام طبي وفي أغراض أخرى مختلفة .

أمّا بالنسبة للنبات ذاته يعتقد أنها تلعب دورا تنافري اتجاه الأحياء التي تأكلها مثل الحشرات أو الإوز الذي لا يأكل أوراق النعناع وكذلك الحيوانات المجترة لا تأكل الأوراق الأشجار الغرائية

بسبب وجود تربينات أحادية مثل :البينين، كما تلعب دورا جذاب للحشرات لإتمام عملية التلقيح.



الصيغة الكيميائية-16: لـ β- Pinène



الصيغة الكيميائية-15: لـ α- Pinène

1- التربينات نصف الثلاثية(السيسكوتربينات) Sesquiterpenes:

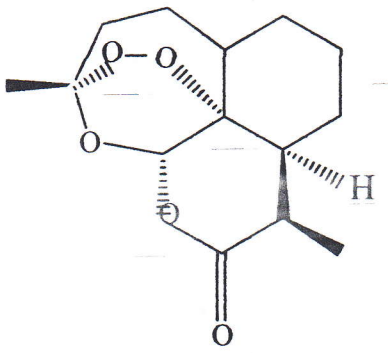
تتكون من ثلاثة وحدات ايزوبرين (C_{15}) كما تتشكل في بنى مختلفة فقد تكون مفتوحة أو حلقية، أحادية، ثنائية أو ثلاثية الحلقة وتعد أحادية الحلقة أكثر انتشارا في الطبيعة وتوجد على هيئة سيسكوتربينات لاكتونية.

معظم السيسكوتربينات اللاكتونية شديدة المرارة والكثير منها سام، وهذه الخصائص توحي بأنها تتضمن حماية ضد آكلات الأعشاب والطفيليات النباتية.

باستثناء مشتقات Artemisine لا يستعمل الإستطباب المعاصر السيسكوتربينات اللاكتونية، ولم يحتفظ

إلا بعدد قليل من الأدوية ذات الأساس السيسكوتربيني اللاكتوني، وإن كان الطب الشعبي و التداوي بالأعشاب يستعينان ببعض العقاقير ذات «المواد المرّة» فإن لا شيء يثبت على الأقل بالنسبة لبعضها إن النجاعة المنسوب لها مردها لوجود هذا النمط من المكونات في تركيبها ورغم ذلك فالفائدة الكامنة للسيسكوتربينات أبعد من أن تكون مهمة وهو المنطق الذي يتماشى وأهمية فعاليتها.

غير أن مشتقات مصنعة مشابهة لـ Artemisine أثبت فعاليتها وأدت تجربتها السريرية لنتائج مرضية.



الصيغة الكيميائية-17: لـ Artemisine

ومما تجدر ملاحظته بهذا الخصوص أن وجودالسمية والفعالية معا لا يعني بوجه من الوجوه وجود تناقض.

استخلاصها:

يعالج الجزء النباتي الهوائي المسحوق بالكلوروفورم ($CHCL_3$)، يركز الراشح تحت ضغط منخفض ويذاب المتبقي في كحول الايثانول (C_2H_5OH) 95 % على البارد أو بالتدفئة على حمام بخاري لفترة وجيزة.

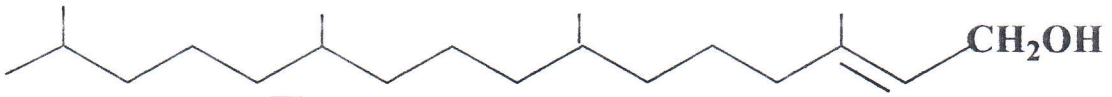
بعدها يعامل المحلول بخلات الرصاص المائية 4 % يرشح المحلول ويركز الراشح إلى حجم أقل، إلى أن تبقى الماء أو تظهر قطرات زيتية، عندها يتم الاستخلاص بالكلوروفورم ($CHCL_3$) فيركز المستخلص وتجفف.

3- التربينات الثنائية Diterpenes:

تتكون من أربع وحدات إيزوبرين (C_{20}). معظمها مواد صلبة وقد تكون هذه التربينات مركبات مفتوحة مثل Phytol الذي ينحل في تركيب الكلوروفيل،وقد تكون ذات صيغ حلقية أمّا أحادية أو ثنائية أو حتى رباعية الحلقة.

ومن أمثلة التربينات الثنائية الحلقة هو فيتامين A الذي يوجد في نبات البقدونس Petroselinum Saltvium [18].

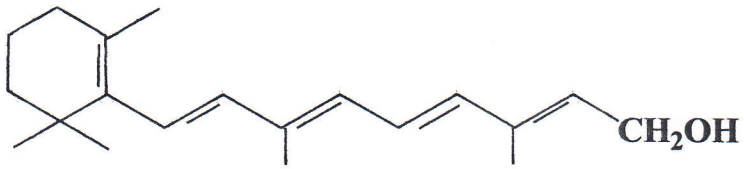
الذي تنتشر في الفصيلة النباتية Taxaceae .



الصيغة الكيميائية-18: لـ Phytol

كما يدخل Phytol في تركيب vitamine K ,vitamine E

إما الفيتامين A له الصيغة الكيميائية التالية:



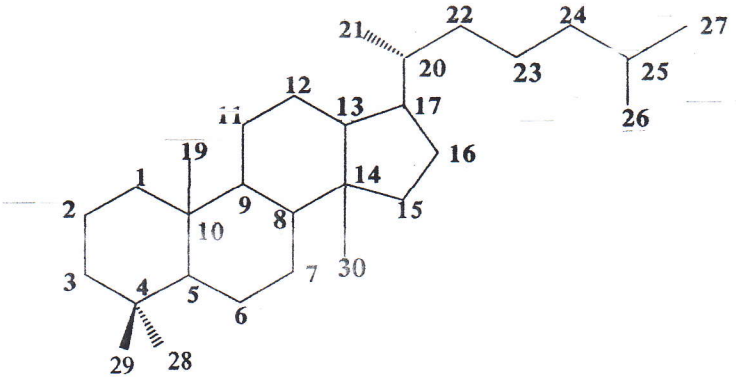
الصيغة الكيميائية-19: لـ Vitamine A

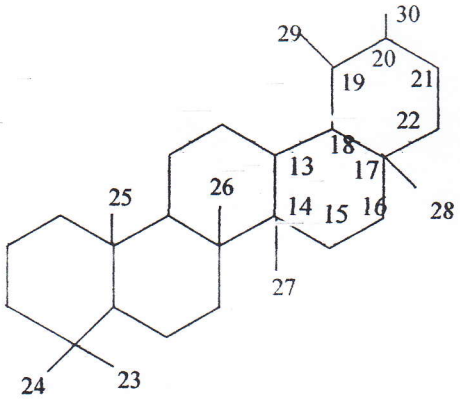
4- التربينات الثلاثية Triterpenes:

تتكون من 6 وحدات إيزوبرين (C_{30}) وهي مركبات عديمة اللون، صلبة أغلبها ينصهر عند الدرجة حرارة عالية، وهي مواد فعالة ضوئيا (متعدد المراكز الكيرالية)،

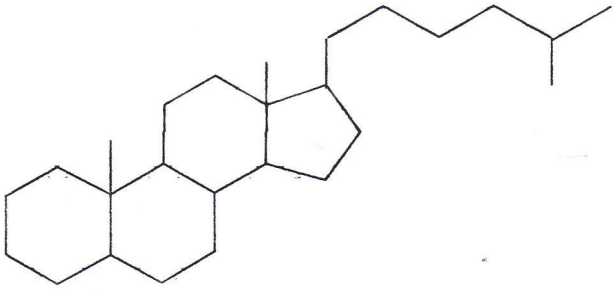
وتتواجد في الطبيعية في صورة حرّة أو على هيئة إيتروزيدية، ويُعتبر السكوالين المركب الأم لمختلف التربينات الثلاثية .

وهي تحتوي في أغلب الأحيان مجموعة هيدروكسيل في الموقع (C_3) بسبب فتح الأبيوكسيد وتمثل التربينات وحده بنائية كبيرة معقدة نسبيا ، تشمل حلقات متعددة مندمجة مع بعضها .





تربين ثلاثي خماسي الحلقة تربين ثلاثي رباعي الحلقة



ستيرويد

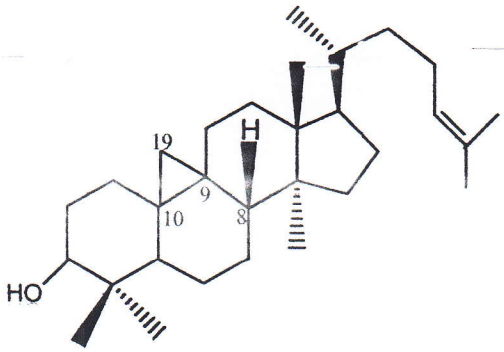
وتتميز بعض التربينات الثلاثية بخواص المذاقية البارزة بالأخص مرارتها الحادة.

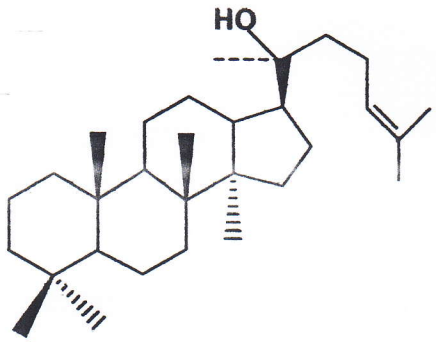
فالليمون limonine هو الأساس المرّ لثمار الحمضيات ينتمي إلى سلاسل التربينات الثلاثية خماسية الحلقة [17].

الستيرويدات steroides:

بين Makin [20] . أن الستيرويدات تربينات ثلاثية، رباعية الحلقة فقدت على الأقل ثلاث مجموعات ميثيلية . إضافة إلى ذلك يستخدم في الأصل وجود ميثيلات المواقع 14،4،4 لتميز الستيرويدات عن التربينات الثلاثية، ويؤخذ الاصطناعي الحيوي بعين الاعتبار لتمييز المجموعتين, فمركب مثل Cyclo-artenol

بـ (C_{30}) ينبغي اعتباره مفضي للستيرويدات بينما euphol أو dammaranes بـ (C_{30}) أيضا هي تربينات رباعية.

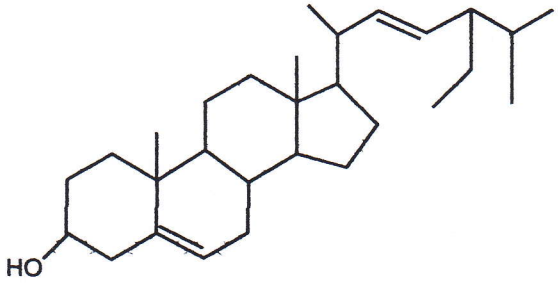


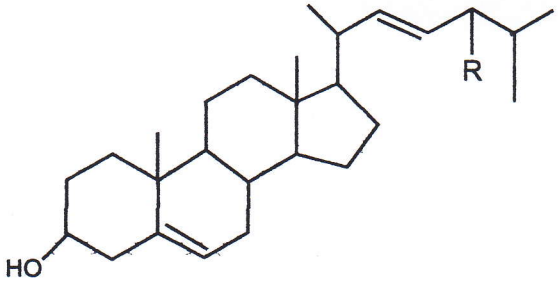


الصيغة الكيميائية-21: لـDammarane الصيغة الكيميائية-20: لـ Cyclo-artanol

الستيرولات Sterols:

أوضح Danelssan [21]. أن الستيرولات عبارة عن ستيرودات أحادية الكربوكسيل تملك 27، 28 أو29 ذرة كربون وجميع الستيرويلات الطبيعية تملك مجموعة هيدروكسيل (OH) في الموقع 3 ومعظمها تحتوي رابطة ثنائية أو أكثر ويكون عادة في الموقع 5، 22 أو 7 وقد كان الاعتقاد سائدا بأنها نتاج حيواني، غير أنه اتضح أن هناك عددا معتبرا موجود في الأنسجة النباتية، ومما أكد ذالك، المركبات الثلاثة الشائعة والمعروفة بالستيرولات النباتية.





الصيغة الكيميائية-23: لـSitosterol(R=ET) الصيغة الكيميائية-22: لـStigmasterol

الصيغة الكيميائية-24:لـ Campesterol (R=ME)

ويمكن لهذه الستيرولات أن تتواجد في صورة حرة أو صورة غليكوزيدية ويوجد بعض الستيرولات أقل انتشارا تعزى إلى النباتات الواطئة مثل estrone و ergosterol الذي وجد في عدد من الفصائل والفطر وتتحول هذه الستيرولات بعد عمليه الاستخلاص والتنقية بطرق ميكرو بيولوجية إلى ستيرويدات ذات فوائد صيدلانية.

وestrone الموجود في أنبوبة وحبوب طلع النخيل المثمر، كذلك تم اكتشاف cholestrol في النخيل المثمر.

استخلاص التربينات الثلاثية:

في البداية يجرى استخلاص بإيثر البترول، حيث تنقع الأنسجة النباتية المسحوقة في ايثر البترولي (60-80 مْ) بغية تخليصها من الدهون والكلوروفورم ثم يُجرى استخلاص كحولي باستعمال ميثانول(أو إيثانول) ساخن أو بارد مع إطالة المدة (أسبوعا) يركز بعدها المستخلص الكحولي تحت ضغط منخفض

ويجرى لقسم منه حلمهة حمضية أو إنزيمية لتحرير الأغليكونات (عند وجود الغليكوزيدات) يليه استخلاص بالكلوروفوم، يركز المستخلص الأخير ويكون جاهزا للفصل، وقد يلجا بعد الاستخلاص الكحولي مباشرة لعملية توزيع بين الماء ومذيب عديم الامتزاج معه باستخلاص سائل – سائل.

وذلك باستعمال مذيب متوسط القطبية، عادة ما يكون الكلوروفورم، كما قد يجرى استخلاص التربينات الثلاثية عن طريق Soxlet باستعمال المذيبات:

الهكسان النظامي، الكلوروفوم، الأسيتات الإيثيل.

5- التربينات الرباعية TeraTerpenes:

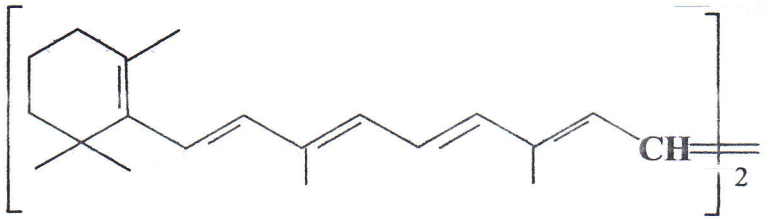
تسمى هذه المجموعة ذات (C_{40}) من التربينات حسب ما ذكره Guignard [19].

وهي تلك المواد المسؤولة عن الألوان: الأصفر، البرتقالي أو الأحمر في العديد من الفواكه والأزهار وقد أشتق اسمها من جذور الجزر من قبل الصيدلي Arnaud سنة 1885.

كما تلعب دور وقائي لنبات ضد الإشعاعات المضرة كالأشعة البنفسجية [22].

وتنتشر الكروتنويدات في عدة فصائل نباتية أهمها :.Solanaceae ,Bixaceae ,iridaceae

والصيغة –ß– كاروتين هي:



الصيغة الكيميائية–25:لـ ß- Carotène

III–4–4– استخلاص التربينات:

هناك عدة طرق متبعة لاستخلاص التربينات من النباتات المتعددة أهمها التقطير بالبخار أو الاستخلاص بواسطة مذيبات عضوية متطايرة وتعتبر طريقة التقطير بالبخار أكثر طرق استخدما، وعلى الأخص لاستخلاص التربينات الأحادية والسيسكوتربينات وبعض التربينات حيث تسحق الأجزاء النباتية جيدا ومن ثم تقطر في البخار لكن من عيوبها تؤدي إلى تحطيم بعض التربينات تحت هذه الظروف, وبتالي الباحث يلجا لطريقة ثانية يستخدم فيها أيثر البترول للاستخلاص عند 50 درجة مئوية حتي يتمكن من استخلاص أغلب التربينات.

ومن ثم يتبع بتقطير الايثر عند ضغط منخفض, ثم يستخدم التقطير التجزيئي لاستخلاص الزيوت الطيارة حيث تتقطر التربينات الهيدرو كربونية أولا, ومن ثم تتقطر التربينات الأوكسجنية والسيسكوتربينات.ومن طرق مستخدمة لفصل وتميز التربينات طريقة الفصل اللوني، سواء طريقة الطبقة الرقيقة أو طريقة العمود أو HPLC. لكن تعتبر طريقة العمود (على Silica gel) من أنسب طرق فصل اللوني حيث يتم فصل التربينات العالية مثل التربينات الثنائية، الثلاثية والرباعية وذلك يتم استخلاصها بواسطة مذيبات معتدلة القطبية مثل: الكلوروفورم.

III-5- التنينات Les Tanins:

III-5-1- تعريف التنينات:

مركبات عديدة الفينولات ذات تراكيب متنوعة ومذاق غير مستساغ، ذات وزن جزئي من 500-3000 ولها بالإضافة الفينولات : ترسيب القلويدات (alcaloids) وجلاتين(Gelatine) والبروتينات الأخرى.

وحسب الاشتقاق فإن التنينات هي المركبات المستخدم في الدباغة (Tanerie) والتي لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن وقليلة النفاذية ويعزى ذلك على قدرتها على الإتحاد بالبروتينات.

III-5-2- وجود في الطبيعة:

تنتشر بوفرة في المملكة النباتية وخاصة في الفصائل:

Leguminaseae، Rosaceae، Myrtaceae، Rubiaceae، Polygoniaceae.

وتتوزع في جميع الأعضاء النباتية وخاصة القلف أمّا داخل الخلية فتتواجد في الفجوات [17].

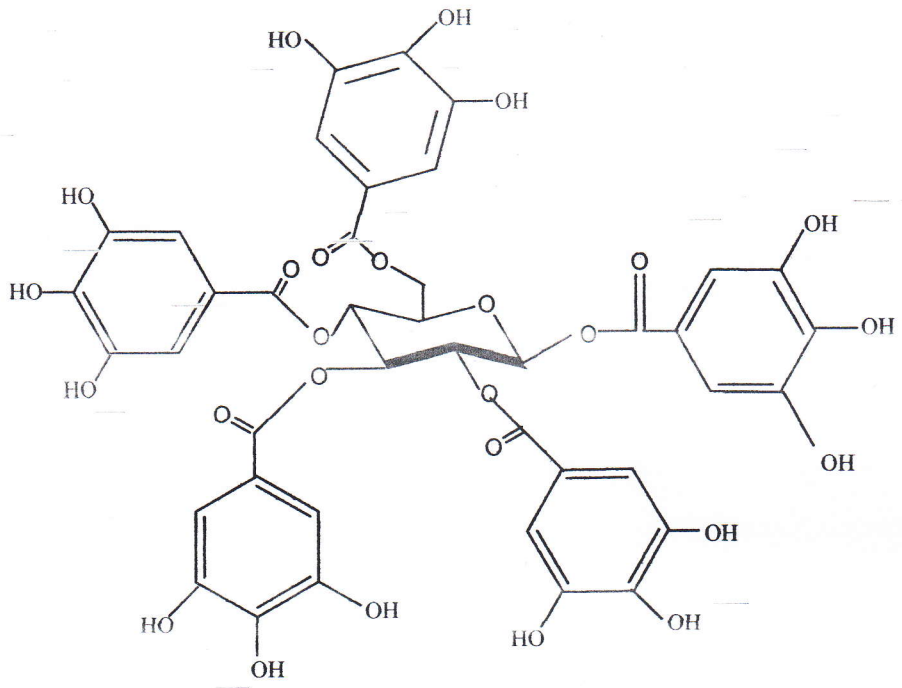
وقد تصل نسبة التنينات في بعض النباتات إلى 70% (مثل ما هو الحال عند البلوط) [17].

III-5-3- تصنيف التنينات:

تصنف التنينات في النباتات الراقية وذلك تبعا لبناها ولمنشئها الحيوي الوراثي إلى:

1- التنينات المتحللة Les Tanins hydroly sables:

هي جزيئات معقدة أسترات لسكر أو عديد الهيدروكسي وعدد متغير من جزئيات حمض الفينول وعند أماهتها ينتج شقا سكريا في أغلبه الحالات يكون غلوكوز Glucose وشقا فينوليا مشكل أساسا من حمض AC.gallique.



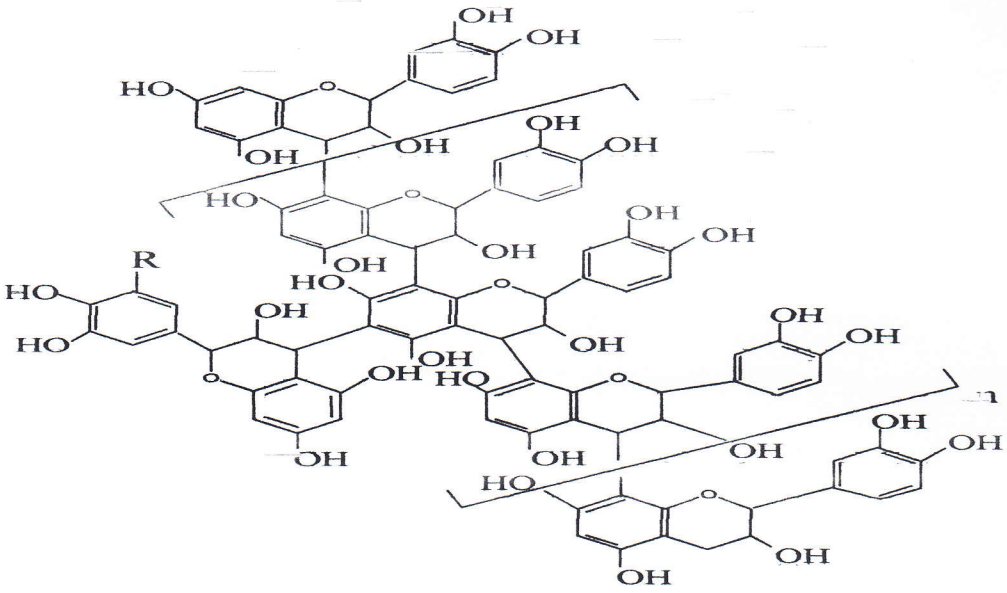
الصيغة الكيميائية- 26:لـ TANIN GALLIQUE

2- التنينات المتراكمة Tanins condensés(أو proanthocyamidols):

هي التنينات الأكثر أهمية وهي مركبات ناتجة من بلمرة لجزئيات أولية تملك البنية العامة للفلافونيدات ويعد catéchins (flavan-3-ols) و(flavan-3,4-diols) Leucoanthocyanidine الأكثر أهمية وترتبط فيما بينها بروابط C-C وكما تؤدي البلمرة المشتركة catéchins مع Leucoanthocyanidine إلى Biflavones.

وقد تم فصل proanthocyamidols كما يتواجد في جميع المجموعات النباتية بما فيها عاريات البذور (gymnospermes) و السراخس (Fougéres).

وصيغته الكيميائية-27: كمايلي:



PROANTHOCYANIDOLS POLYMERE

III-5-4- الاستخلاص التنينات:

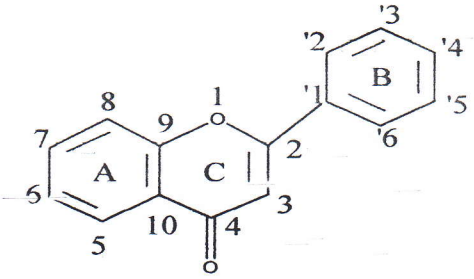
حيث يتم استخلاصها بواسطة خليط (مزيج) من الماء + الأسيتون (مع استبعاد déradations في حدود الإمكان).

III-6- الفلافونيدات Les Flavonaïdes:

III-6-1- تعريف الفلافونيدات:

تتشكل أساسا من العنصر ذي البنية $C_6-C_3-C_6$ موزعة على ثلاث حلقات تدعى بـالفلافون Flavone, الشكل-28: والذي يعتبر المركب الأم للفلافونيدات [12].

وصيغته الكيميائية هي :



الصيغة الكيميائية-28: لـ Flavone (phenyl -1,2- chromone)

اشتقت كلمة الفلانويد من الكلمة اللاتينية flavus والتي تعني اللون الأصفر والفلافونيدات تمثل غالبا المركبات المسؤولة عن اللون الأصفر المميز للأزهار، الثمار وأحيانا الأوراق [23].

ويضيف Markam [24] .على أن الفلافونيدات بالمعنى العام هي شبه أصباغ مسؤولة عن وجود الألوان في الأزهار والفواكه وأحيانا الأوراق.

تصنع الفلافونيدات في الكلوروبلاست (Chloroplaste) وذلك من خلال مركب Cinnamoyl CoA الذي يأتي من الشبكة الأندوبلازمية (endoplasmique) من المالونات (malonate) بعض الفلافونيدات تغادر البلاستيدات وتخزن في الفجوات [25].

ومن أهم فوائدها:

1- الفعل الجاذب : تعمل على جذب الكائنات بواسطة اللون، الذوق والرائحة.

2- اللون : خاصة لجذب الحشرات لإتمام عملية التلقيح وتوزيع البذور.

3- الذوق : بعض النباتات تطرد الحشرات بواسطة ذوقها غير المستساغ.

4- الحماية : بعض الفلافونيدات الموجودة في الخشب الصلب لها خواص مبيدة للفطريات والبكتيريا وحتى الحشرات.

كما تلعب دور شاشة لتصفية الأشعة الشمسية، فهي تحمي النباتات من الأشعة فوق البنفسجية، خاصة الأحماض النووية.

III-6-2- وجودها في الطبيعة:

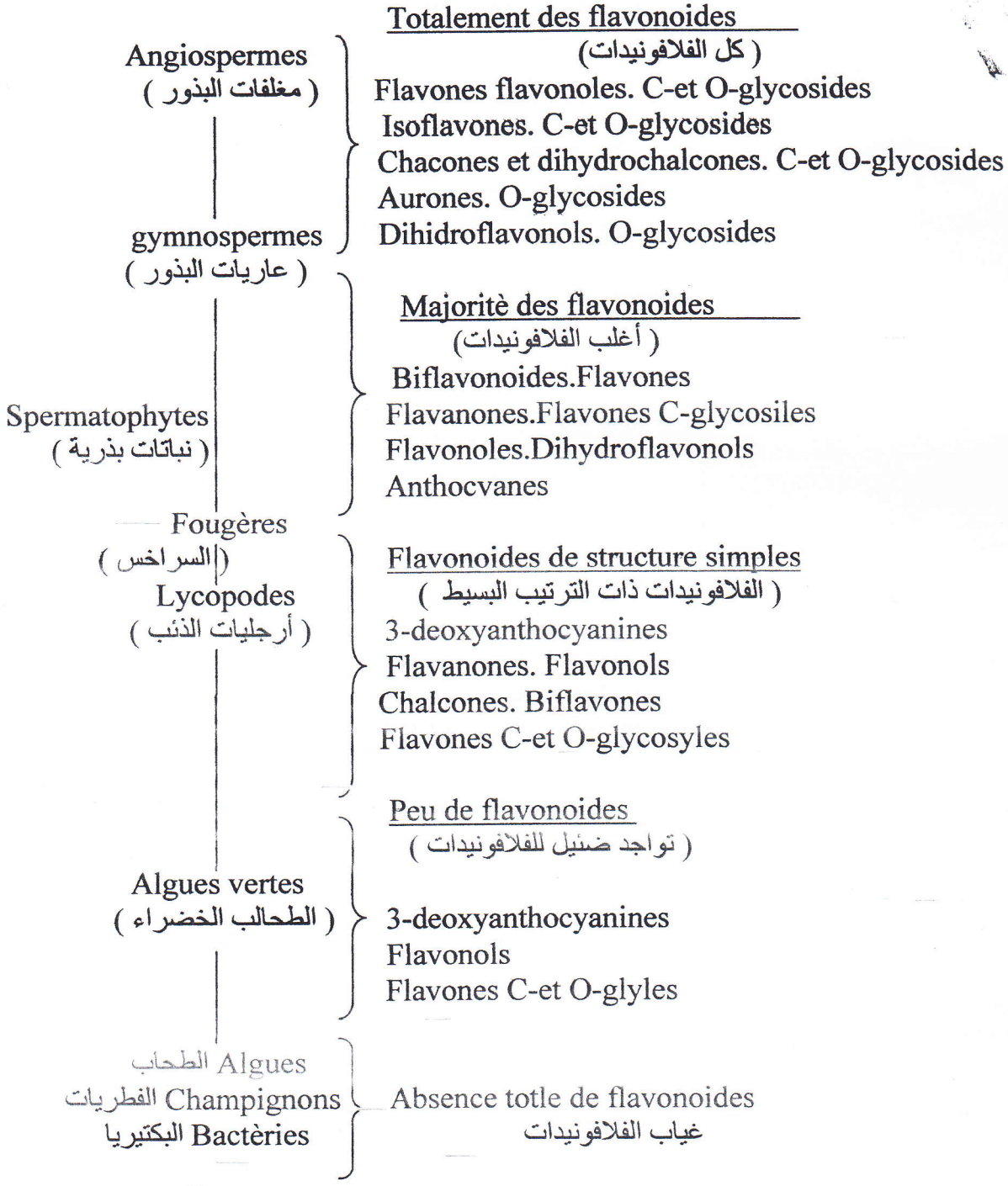
تتواجد هذه المواد التي تشمل قسما كبيرا من نواتج الأيض الثانوي في النباتات الراقية حسب ما ذكره Harborne [26].

بصورة أكبر في الأجزاء الهوائية خاصة الأزهار والأوراق وذلك بشكل ايتروزيدات تذوب في الماء تتمركز في حوصلة الخلية، أمّا الفلافونيدات التي تذوب في المذيبات غير القطبية مثل عديدة الميتوكسيل فتتواجد في سيتوبلازم الخلية.

وتوجد الفلافونيدات في السراخس وعاريات البذور أين يختلف توزيعها تبعا للأعضاء (خشب، أوراق، أزهار، بذور، حبوب الطلع والخشب) .

لكن تنوعها التركيبي الأقصى يظهر عند مغلفات البذور كما هي موضحة في الشكل(5).

الذي يبين تواجد وتوزيع الفلافونيدات في المملكة النباتية.



الشكل-5 : توزيع الفلافونيدات في المملكة النباتية [27].

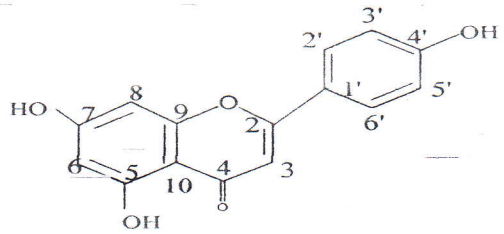
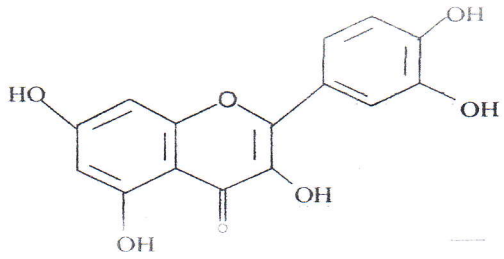
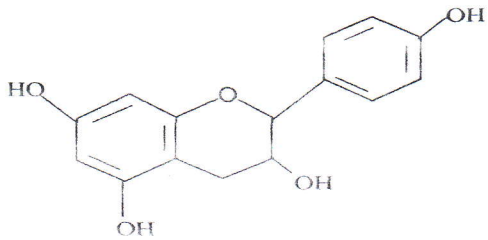
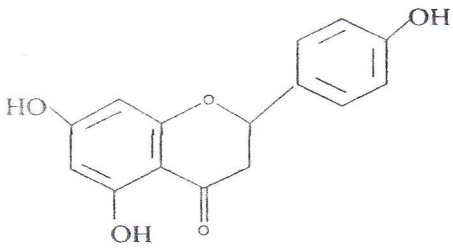
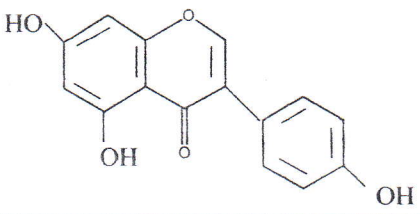
III-6-3- تصنيف الفلافونيدات:

غالبا ما تحتوي الفلافونيدات على مجموعات بديلة هي الميتوكسي أو الهيدروكسيل، كما يمكن أن تتواجد الفلافونيدات على هيئة غليكوزيدية لاحتوائها على وحدات سكرية بسيطة (غلوكوز، الغلاكتوز، الأرابينوز، الرامنوزوالسيلوز) مرتبطة إلى ذرة الأوكسجين المجموعة الهيدروكسيل أو مرتبطة مباشرة بإحدى ذرات كربون الحلقة العطرية، يطلق على الفلافونيدات التي تحتوي مجموعة أو كثر من المجموعات السابقة على حلقتي A وB أو إحداهما: بالفلافونات.

و إذا كانت المجموعة البديلة هيدروكسيلية على الموضع 3 المركب فلافوني سمي المركب في هذه الحالة فلافونول.

أمّا إذا كان الموضع 3 مشبعا في مركب فلافون فيدعى المركب بفلافانون وهي تختلف في بنائها على الفلافونات إلا باختلاف موضع ارتباط الحلقة حيث توجد مرتبطة بالموضع 3.

الجدول (2) يبين بعض الأمثلة [12] .

FLavone 	Chrysin Apigenin Salviginin Letecolin Diosmetine
FLavonol 	Quercetine Kaemphexol Rhamnetin Patuletin Myrecetin
Flavan-3ol 	FLavanol
Flavanone 	Naringenin Pinocembrin Eriodietyol
isoflavone 	Ginestein Orobol Formononetin

الجدول-2: أنواع الفلافونيدات مع بعض الأمثلة [12] .

III-6-4- استخلاص الفلافونيدات:

إن استخلاص والفصل الفلافونيدات تتم بإتباع الطريقة الكلاسيكية المبينة في الشكل(6) بحيث ينقع المسحوق الجاف للأعضاء النباتية الهوائية في كحول الايثانول ،تترك مدة 24 ساعة وترج ميكانيكيا من حين لآخر.

على أن يتم تجديد المذيب كل 24 ساعة بعد كل عملية ترشيح .

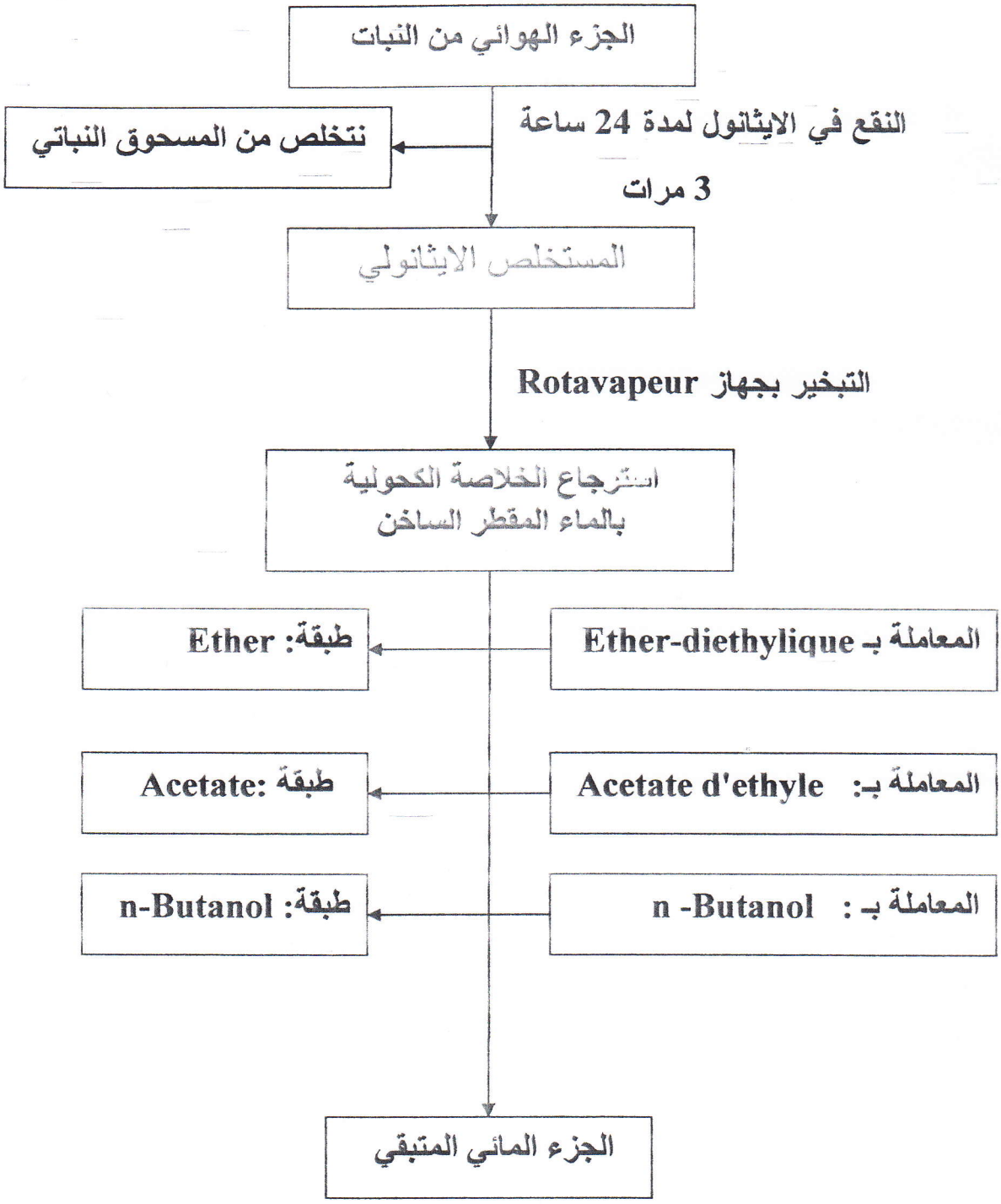
ثم تجمع المستخلصات الميثانولية (الكحولية) وتركز جيدا حتى الجفاف تحت ضغط منخفض، ثم يسترجع المستخلص الكحولي بالماء المقطر المغلي، ترك بعد ذلك للراحة مدة ليلة، ثم ترشح وبعد ذلك نقوم بمعاملته بعدة مذيبات عضوية :

* نضيف Ether للمستخلص الكحولي لنحصل بعد الرج على طبقتين، فتفصل طبقة الإيثر للحصول على طبقة Ether diethyque التي تحتوي على بعض المركبات البسيطة مثل أحماض الفينولية Les Flavonoides.

* والباقي يعامل بـ Acetat de Ethyl وبنفس الطريقة السابقة نتحصل على الطبقة Acetat وتحتوي di-o-glycosides,mon-o-glycosides

* ونفس الشيء من أجل الحصول على طبقة n-Butanol.

التي تحتوي على المتبقي من di-o-glycosides و tri-o-glycosides و C-glycosides .

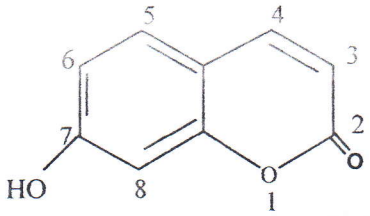


الشكل-6:مراحل استخلاص الفلافونيدات

III -7- الكومارينات les coumarines:

1- تعريف الكومارينات:

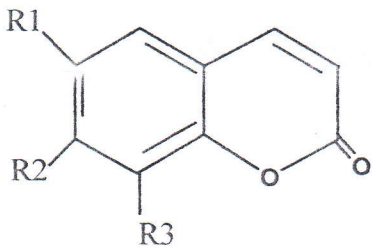
تتشكل أساسا من العنصر ذي البنية C_6-C_3 إذ تمثل السلسلة من C_3 حلقة أكسجينية غير متجانسة.



الصيغة الكيميائية-29: لـ Coumarine(Benzo-α-pyrones)

واشتقت هذه التسمية من النبات الذي فصل منه أول مرة وهو Dipterise odorata,willd من قبل الباحث Vogel عام 1820.

وتعتبر الـ Ombelliferone المركب الأم لكومارينات، ويمكن لهيدركسيلات الكومارينات البسيطة أن تكون مثيلية methylés وقد تكون إحداهما رابطة إتيروزدية:



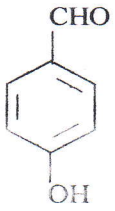
الجذور	R_1	R_2	R_3
Ombelliferone	H	OH	H
Hemiairine	H	OCH_3	H
Esculétol	OH	OH	H
Scopelétol	OCH_3	OH	H
Fraxétol	OCH_3	OH	OH

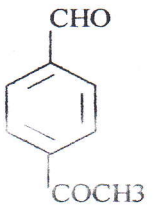
الجدول-3: بعض الأمثلة عن الكومارينات

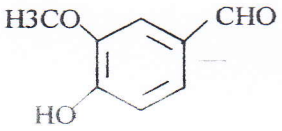
III-8- الزيوت الطيارة Valatil Oils:

III-8-1- تعريف الزيوت الطيارة:

الزيوت الطيارة خليط من مواد ذات رائحة عطرية وطيارة، ما هي إلا تربينات أحادية وسيسكوتربينات، وهذه الأخير تؤلف ذلك الجزء من الزيت الطيار الذي له درجة الغليان أعلى.
وهي عبارة عن مركبات الأوكسجينية التي تذوب في الماء والكحول وأهمها هذه المركبات التي توجد بالزيوت الطيارة الدهيدات المشتقة من أحماض بنزينية والتي تعد كزيوت طيارة و هي:







الصيغة-32:لـ Vanilline الصيغة-31:لـ Aldehyde anisique الصيغة-30:لـ p -hydroybenzal de hyde

تستخدم الزيوت الطيارة في المجالات العلاجية كمواد طاردة للديدان أو مدرة للبول أو مواد مطهر للأرياح والغازات المعوية والمعدية ولها تأثيرات على الجلد.
وتستخدم في المجالات التغذية كتوابل أو بهارات أو مكسبات للطعم أو النكهة أو الرائحة في بعض الأغذية،أو مشروبات وتستخدم في تصنيع الروائح والعطور ومستحضرات التجميل.

III-8-2- وجودها في الطبيعة:

تتواجد الزيوت العطرية الطيارة بالنباتات العطرية بنسب متفاوتة من نبات إلى آخر ،كما تتواجد على صورتها الحرّة مباشرة أو على هيئة مركبات غليكوزيدية أو غير ذلك.

وأهم الفصائل الحاملة لها هي :Myrtaceae، Lauraceae، Lamiaceae، Asteraceae، Apiaceae، Rutaceae.

تتأثر الزيوت الطيارة (الأوكسجين، الرطوبة، والحرارة، الضوء).

III-8-3- استخلاص الزيوت الطيارة:

توجد عدة طرق للاستخلاص الزيوت الطيارة نذكر منها :

1- الاستخلاص بالتقطير:

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

2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية:

وتعتمد على نوع المذيب المستخدم إلى:

1- الاستخلاص بالمذيبات العضوية (الهكسان والإيثر وغيرها).

2- الاستخلاص بالمذيبات العضوية غير الطيارة كالشحوم والدهون.

3- الاستخلاص بالضغط أو الطرد المركزي.

4- الاستخلاص بالمحلل المائي (الأنزيمي أو الحمضي).

الفصل الرابع IV:

طـــــرق الاستخـــــلاص

بالـــمذيبـــات

IV- طرق الاستخلاص بالمذيبات:

- المذيبات:

إن المبدأ هذه الطريقة يقتضي اختيار مذيب ذو قطبية معينة بالنسبة لقطبية الجزيء المستخلص.

إن قطبية مذيب يمكن تعريفها بثابت ثنائي الكهربائي (dielectrique)ε

الذي يعطى بالعلاقة التالية:

$$\varepsilon = \frac{C \leftarrow \text{(سعة المكثفة في السائل)}}{Co \leftarrow \text{(سعة المكثفة في الفراغ)}}$$

إن ثابت ε يتغير حسب درجة الحرارة، ونحدد قيمته عامة عند الدرجة 25 مْ

إن قطبية مذيب تتعلق مباشرة بثابت (dielectrique)ε .

المذيبات ضعيفة القطبية يكون لها ε ضعف فمثلا : ε = 1.89 بالنسبة للهكسان، أما المذيبات القطبية فلها ثبات ε مرتفع فالماء له ε = 78.5

والجدول رقم (4). يعطينا القيم الثابت ε عند الدرجة 25 مْ والنقطة الغليان للمذيبات المستعملة بكثرة للاستخلاص النباتي .

اختيار المذيب في الاستخلاص النباتي يخضع لعدة عوامل هي:

- درجة الغليان : point d'ebullition
- اللزوجة: viscosité
- السمية: toxicité
- الثبات: stabilité
- القدرة على الاشتعال أو الانفجار.
- التداخلات المرتقبة بين المواد المستخلصة .
- التكلفة: coût

لا يوجد مذيب مثالي لقطبية معينة [29] .

وقد قسمنا الجدول (4). إلى ثلاثة أجزاء الجزء (1):

يمثل المذيبات القطبية الممتزجة كليا مع الماء.

الجزء (2) و(3) يمثل المذيبات غير الممتزجة كليا مع الماء، والتي عند إضافة الماء إليها تشكل مزيج ثنائي (Diphasique).

وكمية المذيب التي تمتزج مع الماء تقل كلما كان الثابت ε أقل ارتفاعا.

الجزء (2)، يمثل المذيبات ذات القطبية المتوسطة لكن قليلا ما يستعمل هذا النوع بسبب نقطة الغليان واللزوجة المرتفعتين للكحولات والسمية للبريدين .

وفي هذا المجال (11<ε<18) يصبح من الضروري استعمال مزيج من مذيب ضعيف القطبية ومذيب قطبي.

الجزء (3): يمثل المذيبات ضعيفة و اللاقطبية.

المذيبات المحتوية على الكلور نضعها جانبا لأن قدرتها على الاستخلاص مرتبطة من جهة بثابت ε وكذلك بوجود الكلور في الجزيء فيكسبها ألفة خاصة للجزيئات الأزوتية وخصوصا القلويدات (alcaloïde).

ومن السهل ملاحظة أن العديد من القلويدات شديدة الذوبان في الكلوروفوم (ε=4.30) ورباعي كلور الكربون (ε=2.23) على الرغم أنها لا تذوب في الايثر (ε=4.30) وبجانب مفهوم القطبية الذي هو أساس، يتدخل كذلك مفهوم الـ PH (الحمضية) .

إن تغيير الـ PH خلال الاستخلاص يمكن عزل بعض مجاميع الجزيئية مثل حالة الأحماض العضوية و الفينولات والبوليسكاريدات الحمضية والبيتيدات، البروتينات والقلويدات والقواعد البيورينية .

حمض الساليسيليك مثلا في الصورة الحمضية لا يذوب في الماء ولكنه يذوب في الايثر بينما ملحه الصوديومي يذوب في الماء ولا يذوب في الايثر.

على العكس، القلويدات القاعدية لا تذوب في الماء وتذوب في الكلوروفورم بينما أملاح القلويدات تذوب في الماء ولا تذوب في الكلوروفوم.

SOLVANTS	ε 25°	Pf	Peb	Viscosité
Eau	78,54	0	+100	+ +
Glycérol	42,.5	+20	+290	+ + + + +
Acétonitrile	38,8	- 45	+81	+
Glycol	37,.7	- 17	+197	+ + + + +
1-3Propanediol	35	- 27	+213	+ + + + +
Méthanol	32,65	- 97	+64,5	+
1-2 Propanediol	32	- 60	+189	+ + + + +
Ethanol	24,6	- 11	+78,3	+ +
Acétone	20,7	- 95	+56	+
Propanol	20,1	- 126	+97	+ + +
Isopropanol	19,6	- 89	+82	+ + +

الجزء (1)

SOLVANTS	ε 25°	Pf	Peb	Viscosité
2 Butanone= Méthyl Ethyl Cétone	18,5	-87	+79,6	+
n- Butanol	17,1	-80	+117	+ + + +
Isobutanol (2 méthyl 1 propanol)	17,75	-108	+ 82 +108	+ + + +
2 Butanol	15,80	+25	+131	+ + + +
Alocol isoamylique	15,15	-117	+115	+ + + +
Pyridine	12,3	-42		+ +

الجزء (2)

SOLVANTS	ε 25°	Pf	Peb	Viscosité
1-2 Dichloroéthane	10,36	- 40	+ 83	+ +
Dichloroéthane	9,02	- 97	+79,6	+
Formiate de Méthyle	8,5	- 99	+32	+
Formiate d'Ethyle	7,1	- 80	+54	+
Acétate Méthyle	6,7	- 100	+57	+
Acétate Ethyle	6,00	- 83	+77	+
Acétate d'Isobutyle	5,25	- 99	+116	+ + +
Chloroforme	4,80	- 63	+60	+ +
Ether éthylique	4,30	- 116	+34,5	+
Ether isopropylique	3,88	- 60	+68	+
Trichloréthylène	3,4	- 84	+86	+
Sulfure de carbone	2,64	- 116	+46	+ +
Toluène	2,37	- 95	+110,o	+ +
Benzène	2,27	+ 5,5	+80	+ +
Tétracholorure de carbone	2,23	- 23	+76.6	+ +
Dioxane	2,21	+ 11	+101	+ +
Cyclohexane	2,01	+ 6,4	+81	+ +
Hexane	1,89	- 95	+68	+
Pentane	1,84	- 129	+36	+
Ether Pétrole	1,84		+40+60	+
D. M. S. O	45	+18,4	+189	
D . M. F		-61	+153	
T. H.F	7,6	-100	+66	

الجزء (3)

جدول-4: قيم الثابت ε عند الدرجة 25 مْ والنقطة الغليان للمذيبات في الاستخلاص النباتي.

IV-1- الاستخلاص : صلب - سائل:

أي مبدأ مهما كانت دقته للحصول على محضر طبي أو مستخلص نقي أو جزيء نقي يبدأ دائما باستخلاص صلب - سائل حسب عدة متغيرات.

IV-1-1- الانقاع في البارد La maration à froid:

هذه الطريقة تعتمد على وضع خلال زمن متغير ،2 إلى 21 يوم عند الدرجة حرارة عادية المسحوق النباتي الطبي أولا مع الماء ،مزيج من الماء والكحول أو مزيج ماء- كحول - غليسيرين .

وبهذا يتم تحضير الصبغات الأولية المتجانسة، المنقوعات الغليسيرينية، بعض صبغات الكودكس مثل صبغة Vanille.

وهذه الطريقة تستعمل للحصول بعد عملية تركيز وتجفيف، على مستخلصات رطبة ومستخلصات جافة مائية.

الإنقاع بالبارد تستعمل كذلك لاستخلاص البيتيدات وفي هذه الحالة نعمل بخلط عند درجة حرارة +4 مْ لتجنب degradation.

IV-1-2- الاستخلاص بالساخن Extraction à chaud:

IV-1-2-1- بواسطة الماء:

تقليديا توجد 3 طرق استخلاص يمكن اعتمادها :

- **عملية الإنقاع:** التي تعتمد على سكب الماء المغلي على المسحوق النباتي الطبي وتركها تنقع خلال زمن متغير.
- **الهضم:** التي تعتمد على الحفاظ على المسحوق مغمسا في الماء عند درجة حرارة أقل من درجة الغليان.
- **الاستخلاص بالغليان:** التي تعتمد على الحفاظ على المسحوق في الماء المغلي خلال زمن معين.

بعد التركيز والتجفيف تستعمل هذه الطريقة لتحضير. مستخلصات رطبة ومستخاصات جافة.

أيضا الاستخلاص المائي الساخن تستعمل عامة للحصول على جزيئات قطبية.

وتستعمل هذه الطريقة بشكل واسع لاستخلاص البوليسكاريدات غير الذائبة في المذيبات العضوية وقليلة الذوبان في الماء البارد وذائبة في الماء المغلي, ننقي على الساخن، بعد التبريد نحصل على هلام الذي ينقى وينزع من الماء بهذا يتم تحضير الأغار – أغار (l'agra- agar).

البوليسكاريدات الحمضية يمكن تنقيتها بالتأثير على الـ PH ، إنها تذوب في وسط قاعدي وتترسب في وسط حمضي، بهذا يمكن الحصول على حمض (Alginique).

الاستخلاص المائي على الساخن يستعمل كذلك لتحضير مستخلصات غنية بمركبات قطبية مثل بعض السكريات المتعددة الفلافونيدية Heterosides ← flavoniques، Coumariniques و tanins , iridoides.

وهذا النوع من الاستخلاص يمكن من إبعاد أغلبية المركبات قليلة القطبية التي يمكن أن تؤثر خلال تنقيات قادمة :cires، terpénes، caroténoides، chlorophylles.

IV-1-2-1-2- بواسطة مذيب عضوي:

- استقرار – استخلاص:

بعض المستخلصات الدباغية خصوصا القابلة للأكسدة يجب استعمالها طازجة، التجفيف لهذا النوع من المستخلصات الدباغية يتسبب في تغيير الفعالية بذرة الكولا (graine de cola) أو زوال مثل (galbules de cyprès).

المساحيق الطازجة المطحونة تغمس أولا في الكحول أو في مزيج مائي كحولي يغلى الذي يضمن في آن واحد الاستقرار والاستخلاص الدباغ cyprés وفي حالة مزيج tanins - caffeïne و catéchines في حالة cola.

- إبعاد المركبات:

في المساحيق الغنية بالمواد الدهنية خاصة بعض البذور، تتدخل هذه المركبات في استخلاص مركبات أكثر قطبية.

لذا فمن الضروري إبعادها في البداية بمعاملة المسحوق بمذيب ذو قطبية ضعيفة وعلى الساخن.

- تنقية باختلاف الذوبانية على البارد وعلى الساخن:

بعض المركبات تذوب في مذيب ترفع درجة حرارته لدرجة الغليان وتعود لتترسب عند التبريد.

ولهذا يمكن أن ننقي Sterols في الأسيتون و théobronaine في الكحول عند الدرجة80 مْ والروتين (rutine) في الماء.

IV-2- طريقة الاستخلاص بالحلحلة Lixiviation:

وهي طريقة استخلاص مستمر لمسحوق بواسطة مذيب، نظريا يمكن استخلاص كل المركبات المنحلة في هذا المذيب [30] [31].

ويمكن إجراؤها في مرحلتين:

✓ في المرحلة الأولى: في أول الأمر نبلل المسحوق المطحون بالمذيب للاستخلاص وهذه العملية الأولى هدفها تحرير المبدئ للمواد الكيميائية الموجود في المسحوق وتسهيل استخلاص قادم.

✓ في المرحلة الثانية: نضيف تدريجيا وبشكل مستمر المذيب للجزء الأعلى للحلحلة.

ونستقبل من الجزء الأسفل عادة كتلة من السائل تتوافق مع 5 مرات كتلة المسحوق المستعمل هذا النوع من الاستخلاص يستعمل للحصول على أغلبية المستحضرات الطبية المذكورة , في دليل الأدوية : صبغات، مستخلصات سائلة، مستخلصات رطبة، مستخلصات جافة ومن جانب آخر أغلب الطرق المقررة للحصول على مستخلصات نوعا ما نقية أو نواتج نقية تستعمل في بداية الاستخلاص هذه التقنية.

IV-3- طريقة الاستخلاص بواسطة جهاز سوكسلي sexhlet:

جهاز سوكسلي يستعمل لاستخلاص مستمر على البارد للمادة النباتية بحجم قليل من المذيب مثل :استخلاص الكافيين لمعايرتها في بذور الكولا أو البنّ.

IV-4- طريقة الاستخلاص بواسطة جهاز kumagawa:

جهاز kumagawa يستعمل لاستخلاص مستمر على الساخن للمادة النباتية بحجم قليل من المذيب مثال :استخلاص الليبيدات.

IV-5- استخلاص:سائل – سائل:

يتمثل مبدأ هذه طريقة على توزيع مذاب معين بين مذيبين بنسبة لذوبانية في كل منها.

الحالة الأكثر استعمالا هي عندما يكون احد المذيبين هو الماء، وهذه طريقة تستعمل في المخبر أكثر منها في حالة الصناعة.

ويمكن لنا التأثير بعدة عوامل هي:

- اختيار المذيب العضوي.
- الـ PH (حمضية المحلول).
- تشبع الوسط المائي أوعدم تشبعه.

الجزء العملي :

يتضمن المواد والطرق

الفصل الأول I :

العينـــة النبتيـــة المدروســـة

I- العينة النباتية المدروسة:

قبـــل أن نتطرق إلـى هذه الدراسـة نشير فقط أن Solanum Nigrum لم تدرس من قبل و المعلومات عنها قليلة جيدا بالرغم من استعمالها في الطب الشعبي وخاصة عند سكان الصحراء.

I-1- تصنيف النبتة:

1- التسمية:

أ- الاسم الشائع:

بالعربية : عنب الذيب [32] [33].

بالفرنسية: Morelle noir [33] [67]. Morelle Commune [68].

بالإنجليزية: [69] Blak nigth shade,Poisson Perry [33].

ب- الاسم العلمي:

[32] [33] [34] [68] Solanum nigrum

الجدول-5: تصنيف النبتة : Solanum nigrum

2-Taxonomie:		2-التصنيف:
-Règne	:Vègètal	المملكة
-Embranchement	:Spermaphytes [69]	الشعبة
-Sous embranchement	:Angiospermes [70]	تحت الشعبة
-Classe	:Dicotylèdones [68] [35]	الطائفة
-Sous classe	:Gamopètales [35]	تحت الطائفة
-Sèriè	:Tètracyclique [68]	
-Ordre	:Pole moniales [35]	الرتبة
-Famille	:Solanacèaes [35][34]	العائلة
-Genre	:Solanum [68][34][35]	الجنس
-Espèce	:Solanum nigrum [35][34][32][33]	النوع

I-2- وصف النبتة:

نبتة عشبية حولية, تتوفر على فلقات بيضوية الشكل ذات قمية حبيشي لاعنقدي، ورقة بسيطة بيضوية وحافة كاملة [68].

الساق (Tige):

عشبي مجذف، راسخ نصف دائري منشور ثم مستقيم(10 - 60 سم) [68].

الأوراق (Feuilles):

خضراء غامضة، كاملة أو مسننة جرداء أو قليلة الوبر [34] معنقة بيضوية رمحية [68] [67] . متقابلة، الشائكة الوزن، حواف هدبية [68].

الأزهار (Fleurs):

على شكل مجموعات صغيرة أوشكل خليج كروي صغير [34] بيضاء، على شكل خيمة [68] . عنقود زهري من 3 إلى 12 كمامة بخمس أسنان يزمرد ريحاني، 5 أوريات بيضاء يصل طولها من 3 إلى 5 مم، ملتحمة في القاعدة مرتبة على شكل لوحة، 5 سيداه صفراء ملتحمة في التويج [69].

الإزهار : جوان إلى أكتوبر ومن ماي إلى أكتوبر [70].

الثمار (Fruits):

هي خلجان صغيرة (قطرها 7-8 مم) مؤلفة من كريات سوداء، صفراء أو خضراء ذات ساق معلاقية مثمرة طويلة نوع ما من السوقية [34].

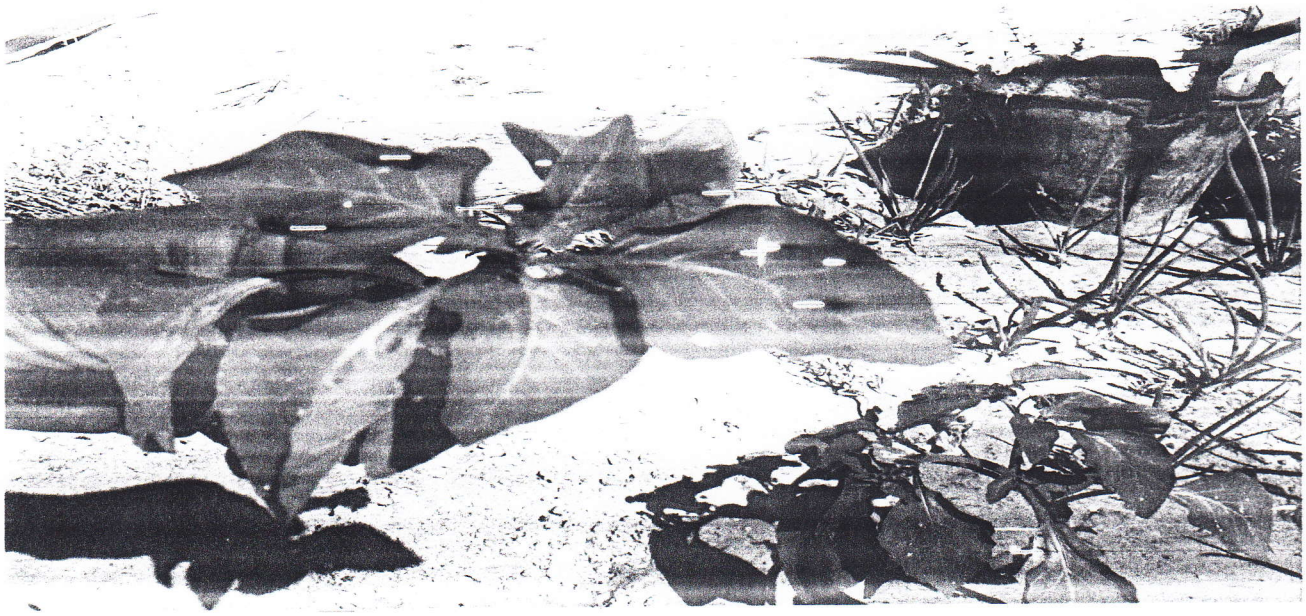
- **تشريح البذرة:**

أبعادها :1.6 إلى 1.8×2.0 إلى 2.5 مم.

اللون : أسمر فاتح إلى أسمر مصفر.

الشكل :بيضوي، دائري، نوع ما مسطح، نحيل قليلا [68].

الشكل-7: صورة فوتوغرافية لنبتة **Solanum nigrum**



الشكل-8: صورة فوتوغرافية لورق وأزهار وثمار نبتة Solanum nigrum

I-3- الانتشار الجغرافي:

تنتشر في منطقة البحر الأبيض المتوسط وشمال الصحراء وفي المناطق الشبه جاف وفي جبال الأطلس الصحراوي, كما تنبت على مستوى الوديان وفي المنخفضات بالقرب من المساكن وفي غيطان النخيل [4].

I-4- الاستعمالات الطبية (العلاجية):

السولانم نقروم هي نبتة مدرة للبول ومخدرة وسامة خطيرة للأنعام [68] . الأجزاء المستعملة هي الثمرة الناضجة والأوراق [32] [33].

حيث تستعمل كملين (مسهل) للاضطرابات الهضمية أوجاع المعدة والأمعاء ومزيلة للآلام ومسكنة، كما تستعمل لعلاج الأمراض الجلدية مثل الحروق، التوروما والبواسير وتطهر الأماكن المصابة [4].

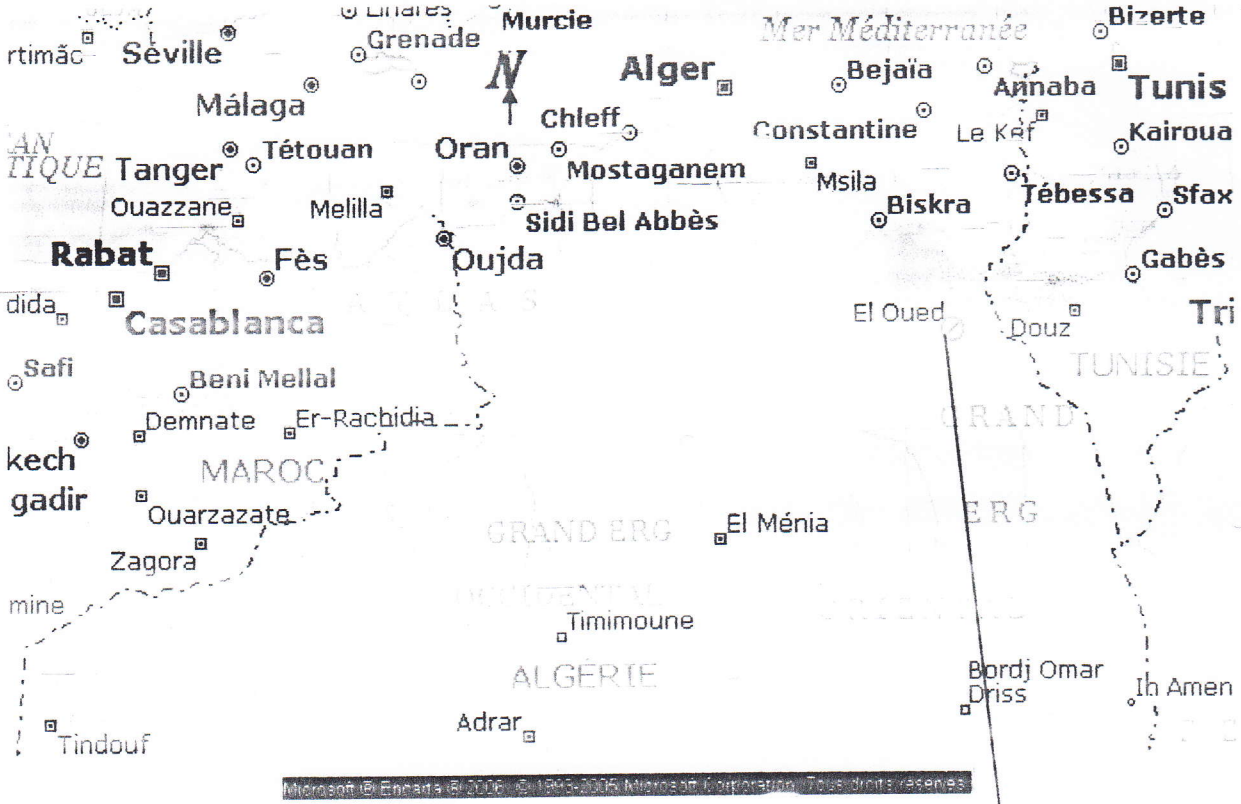
I-5- منطقة الدراسة ومميزاتها:

أجريت هذه الدراسة في منطقة كونين بولاية الوادي التي تقع في الشرق الجزائري على خط عرض 33° و25 ´ وخط طول 6° و49´ جنوب الأطلس الصحراوي بحيث تبعد على البحر 388 كلم (سكيكدة) و310 كلم (قابس بتونس) وهي تقع على نقطة ارتفاع 97 م فوق سطح البحر ويزداد هذا الارتفاع كلما اتجهنا نحو الجنوب بينما ينخفض في الجهة الشمالية.

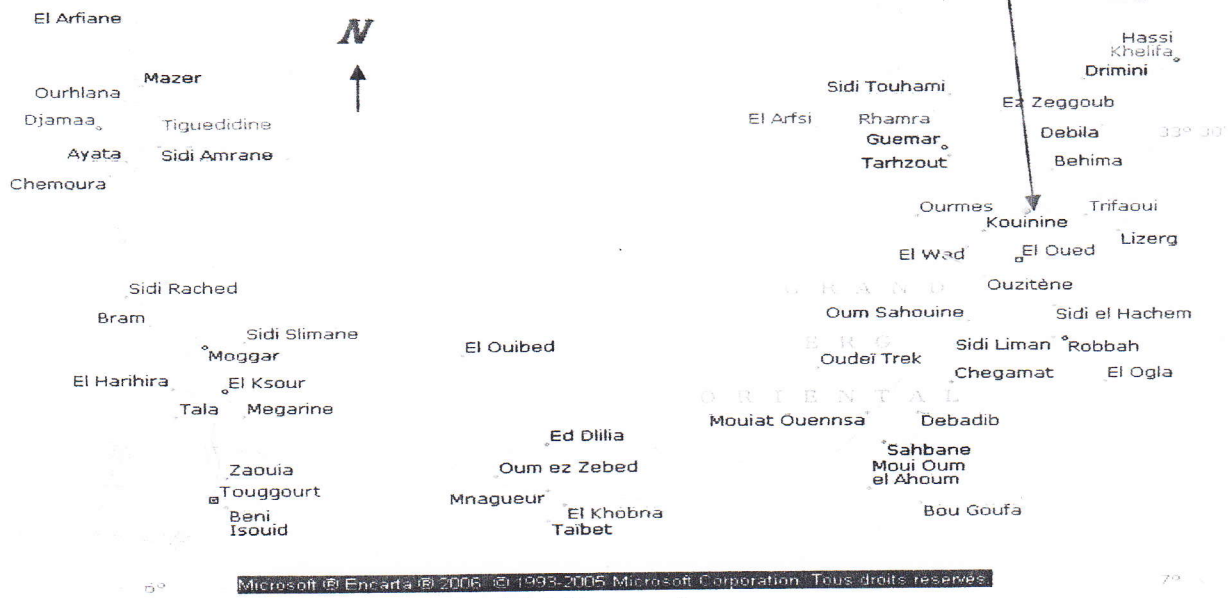
يصل معدل الرطوبة حاولي 48.50%, وتساقط الأمطار وان كان ضعيفا فهو غير منتظم وقد وصل المعدل السنوي للتساقط إلى 73 مم (أمطار فجائية).

أما معدل الحراري السنوي فيقدر 22 م° ، كما تتعرض إلى هبوب رياح نشطة على مدار السنة تقريبا، يحيط منطقة كونين غيطان النخيل من كل جهة تربتها رملية، وهي على العموم غير صالحة من الجانب الفلاحي.

تم جمع العينات النبتة ابتداءا من شهر جوان إلى غاية أكتوبر في كل مراحل النمو.



سلـــم : 65000/1



سلـــم : 15000/1

الشكل-9: خريطة تبين المنطقة التي تم فيها قطف النبتة ببلدية كونين- ولاية الوادي

I-6- جمع عينات النبتة المدروسة (Solanum Nigrum):

I-6-1- القطف:

يعتبر وقت عملية القطف أهم خطوة في استخلاص المادة الكيميائية الفعالة وهذا يعود لكونها تتأثر بمجموعة من المؤثرات أي العوامل [5][36].

وأهم هذه العوامل ما يلي:

1- اختيار مرحلة النمو المناسبة لعملية الجمع:

ويتوقف على تواجد المادة الفعالة في الأجزاء النباتية المختلفة

الأورّاق:

إذا تركزت المادة الفعالة في الأورّاق فإن الوقت المناسب لعملية الجمع عند بدء تفتح الأزهار أو بداية اكتمال الأزهار [5].

الأزهار:

في حالة وجود المواد الفعالة في الأزهار، فيمكن جمعها تبعا لنوع الزهور وكذلك نوع المادة الفعالة المستخلصة، فيمكن البدء في الجمع عند تفتح الأزهار، وقد تجمع قبل أن تبدأ عملية التفتح الأزهار وهي مازالت في طور البراعم الزهرية، وقد تجمع وهي في حالة تفتح جزئي [5].

الثمار والبذور:

عندما توجد المادة الفعالة في الثمار أوفي البذور فقد تجمع الثمار دفعة واحدة بمجرد إتمام نضجها، كما يمكن جمعها على فترات معينة لأنها إذا ما تركت لتجمع دفعة واحدة فقد تتعرض للتساقط [5].

الجذور:

إذا احتوت الجذور على مواد فعالة فإن هذه الأعضاء تمكث بالتربة لفترة طويلة حتى نتمكن من جمعها بصورة اقتصادية ، فتجمع عند عامين على الأقل [5] [36].

2- وقت الجمع من النهار:

إن اختيار الوقت المناسب لعملية الجمع من النهار من أهم العوامل التي تؤثر على كمية المادة الفعالة وعلى نوعها أو نشاطها الكيميائي [5] [36].

3- وقت الجمع المناسب من فصول السنة:

إن النباتات الطبية المعمرة، يجب اختيار الفصل المناسب من فصول السنة الذي يلائم كل نوع منها، خاصة وإنها تبقى طوال السنة حاملة للمادة الكيميائية الفعالة في أعضائها المختلفة وإلا أن تركيز المادة الفعالة قد يتغير من فصل لآخر [5] [36].

I-6-2- التجفيف:

قبل البدء في عملية التجفيف يتم تقسيمها إلى أعضائها المختلفة: (أوراق، أغصان، أزهار, ثمار، جذور) ثم تنقى من الحشرات والأجزاء الخشنة والحصى ويتم تقسيمها إلى أجزاء صغيرة حتى تسهل عملية التجفيف، ثم تنشر مختلف الأعضاء في الظل على قماش سميك على شكل طبقات رقيقة، ثم تقلب بمعدل مرتين في اليوم مع عدم تعرضها لأشعة الشمس لمدة طويلة وتنتهي مدة التجفيف بعد أن نتأكد من عدم وجود الماء في النبات والتجفيف يسهل عملية السحق ويمنع النبات من التعفن [5] [37].

كما هي مبين في الجدول-6:

العضو	تاريخ القطف	مدة التجفيف
الأوراق	16 أكتوبر 2006	15 يوما
الأغصان	16 اكتوبر2006	15 يوما
الأزهار	16 أكتوبر 2006	15 يوما
الثمار	16 أكتوبر 2006	30 يوما
الجذور	16 أكتوبر 2006	30 يوما

الجدول-6: تاريخ القطف ومدة التجفيف لنبتة Solanum nigrum

I-6-3- الحفظ:

تحفظ العينات النباتية وأعضائها في أوعية زجاجية محكمة الغلق ومغلفة بلون أسود بعيدة عن الضوء، ويجب التأكد من عدم تعفن النبات [5] [38].

لقد تم جمع عينات النبتة المدروسة بمنطقة كونين، ثم جففت وحفظت أعضاء النبتة بالطريقة المذكورة سابقا كما هو مبين في الجدول (6) ، وكان ذلك لغرض كوننا نأمل الوقوف عنده وهو القيام بالكشف عن المواد الفعالة ودراسة مقارنة بيولوجية للمستخلصين المائ والميثانولي لثمار ولورق النبتة Solanum nigrum على بعض أنواع البكتيريا.

الفصل الثاني II :

الدراسة الفيتو كيميائية

II- الدراسة الفيتو كيميائية:

تعتمد أساسا على الكواشف الكيميائية في إجراء الاختبارات، وتعزى أهميته إلى عمليات التنقيب والحصر الأولي للمنتجات الطبيعية في مختلف أعضاء النبات الواحد قبل إجراء الفصل الكمي لذلك يعتبر دراسة نوعية بحته، لكن استغلت حديثا إلى جانب أدوات وطرق الفصل مثل HPLC، NMR في تعزيز عمليات تصنيف الأنواع النباتية المنتمية لنفس الفصائل النباتية[39].

وقد تمت الدراسة الفيتوكيميائية بمخبر تثمين وترقية الموارد الصحراوية بور قلة .

II-1- المحاليل والأجهزة المستعملة:

أ- المحاليل المستعملة:

1- الأحماض:

- حمض كلور الماء HCL
- حمض الايثانويك CH_3COOH
- حمض الكبريت H_2SO_4

2- القواعد:

- الأمونياك NH_3
- هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH
- ثنائي إيثيل أمين $NH\ (C_2H5)_2$

3- الأملاح:

- ثلاثي كلور الحديد $FeCL_3$
- سلفات الصوديوم Na_2SO_4
- كلور الزئبق $HgCL_2$
- يوديد البوتاسيوم KI
- نترات البسموث $Bi(NO_3)_3$

4- الكحولات:

- الميثانول CH_3OH
- الايثانول C_2H_5OH
- الهكسانول $C_6H_{13}OH$

5- المذيبات العضوية:

- كلوروفورم $CHCL_3$
- ثنائي كلور الميثان CH_2CL_2
- الأسيتون $(CH_3)_2\ CO$
- أسيتات الإيثيل $CH_3COOC_2H_5$
- الهكسان C_6H_{14}
- حلقي الهكسان C_6H_{12}
- الطولين $C_6H_5CH_3$
- أثير البترولي R-O-R'
- ثنائي إيثيل أثير $(C_2H_5)_2O$
- فرومالدهيد $HCHO$

ب ــ الأجهزة المستعملة:

ــ ميزان حساس من نوع IKA WERKE دقة قياسه 0.0001 غ.

ــ مجحف من نوع GALLENHAMP .

ــ جهاز تحت التفريغ ROTA VAPEUR نوع KUNKL IKA.

ــ مصباح UV نوع WALDMANN من 254 نانومتر إلى 366 نانومتر.

II-2- الكواشف المستخدمة:

1- كاشف المعدل لدار جندروف (Reactif de Dragendroff):

يتكون هذا الكاشف من جزئين هما :(أ) و (ب)

المحلول أ: نضع 0.8g من نترات البسموث : $(BI(NO_3)_3)$ في خليط مكون من 10ml من حمض الايثانويك (CH_3COOH) و40ml من الماء المقطر.

المحلول ب: نضع 8g من يوديد البوتاسيوم (KI) في 20 ml من الماء المقطر.

قبل الاستعمال:

نخلط 15 ml من المحلول (أ) و 15 ml من المحلول (ب) ونضيف لهما 20 ml من حمض الايثانويك (CH_3COOH) ونكمل الخليط إلى 100 ml من الماء المقطر.

[40] [41] [42] [43] [44] [45] [46].

2- كاشف بوشا درا (Reactif de Bouchardat):

25g من اليود (I_2) مع 50g من يوديد البوتاسيوم (KI) و1000ml من الماء المقطر [40].

3- كاشف ماير (Reactif de Mayer):

يتكون من محلولين أوب:

المحلول أ:

13.55g من كلور الزئبق $HgCL_2$ مذاب في 20 ml من الماء المقطر.

المحلول ب:

49.8g من يوديد البوتاسيوم (KI) مذاب في 20ml من الماء المقطر نخلط المحلولين (أ) و (ب) ونخفف بالماء حتى واحد لتر [40] [41] [42] [43].

4- كاشف واجن (Reactif de Wagner):

نضع 2g من يوديد البوتاسيوم (KI) و 1.27 g من اليود (I_2) في 75ml من الماء المقطر،نخفف حتى 100 ml من الماء المقطر[43].

5- كاشف التربينات الثلاثية (كاشف Carr-Price):

20% (ثلاثي أنتموان)hicholreure في الكلوروفورم.

6- كاشف دليل كيد:

يتكون هذا الدليل من جزأين هما:

الجزء الأول : يتكون من 1g من مادة 3-5 نتروبنزوبك الحامض المذابة في 50ml من 5 مول اتميثانول 90 %.

والجزء الثاني: يتكون من محلول الصودا الكاوية واحد عياري المذابة في كحول الميثانول90 %.

وعند الاستعمال للكشف عن الغليكوزيدات القلبية ،قد يخلط 0.4ml من محلول الجزء الأول مع 0.6ml من المحلول القاعدي ثم يضاف محلوظهما إلى مستخلص العينة النباتية.

7- كاشف الفانلين Vanillin-Sulfuric acid:

المكون من Vanillin 0.5g مذابة في 100ml / وحمض الكبريت (4 : 1) بعد تجهيزه يكشف عن البقع التربينية برذها وتسخينها حتى تتحصل على اللون النهائ للبقع.

II-3- الكشف عن المواد الفعالة:

II-3-1- اختبار القلويدات:

نأخذ 10g من مسحوق مختلف أعضاء النبات :(ثمار,أزهار, أوراق , أغصان, جذور) ونضيف لها 50 ml من HCL 1% ، ويرشح المستخلص الحمضي ثم يجعل قاعديا بالأمونيا (NH_3) حتى PH=8-9 ثم نستخلص بـ $CHCL_3$ ثلاث مرات 3×20 نبخر $CHCL_3$ والراسب نضيف له 2ml من HCL(1%) نضيف ثلاث قطرات من كاشف ماير(Mayer) عند ظهور تعكر أو راسب أبيض يدل على وجود القلويدات بصفة عامة [47] [48].

II- 3-2- اختبار الصابونيان les saponines:

نأخذ 2g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات تسخن في 80ml من الماء المقطر وثم يرشح المحلول الناتج ويبرد، ثم يرج ظهور رغوة يدل على وجود الصابونيات [47] [48] [49].

II-3-3- اختبار الغليكوزيدات:

في حوجلة سعتها 500ml يوضع 10gمن المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ، ثم يضاف إليه 5ml من حمض الطرطريك 2% في الايثانول، يسخن المزيج في حمام مائي تحت مكثف (تقطير مرتد) لمدة ساعتين.

يرشح الراسب ثم يغسل بالإيثانول و بوضع الراسب في الماء المقطر الساخن، وفي أنبوب اختبار يوضع 2ml من المحلول وتضاف له قطرة أو قطرتين من محلول فهلينج .

يسخن المزيج في حمام مائي.

يدل إرجاع محلول فهلينج على وجود الغليكوزيدات [50].

II-3-4- اختبار الستيرويدات والتربينات الثلاثية (sterols et triterpenes):

نأخذ 5g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونضعها في 20ml من كلوروفورم ($CHCL_3$) بعد الترشيح نضيف إلى الرشاحة 1ml من حمض الكبريت (H_2SO_4) على جدار ظهور اللون الأخضر يتحول إلى أحمر في نقطة تلاقي الطورين دليل

على وجود الستيرويدات والتربينات الثلاثية [47] [48] [49].

- اختبار التربينات الثلاثية **Les Triterpene**:

نأخذ 5g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونستخلص بالإيثانول 70%، يبخر المستخلص الكحولي حتى الجفاف، ويذاب الراسب في 20ml من الكلوروفوم ($CHCL_3$)، ثم يرشح و الراشح يقسم إلى جزئين.

- اختبار **Liberman Bouchard**.

يضاف للجزء الأول 1ml من حمض الخليك اللامائي (الثلجي) ويتبع بإضافة 1ml من حمض الكبريت المركز (H_2SO_4) على جدار الأنبوب.

ظهور اللون الأحمر البنفسجي عند نقطة الاتصال بين الطبقتين ثم يحوله إلى أخضر يدل على وجود التربينات الثلاثية.

- اختبار **Salwaski**:

يضاف للجزء الثاني حجم مساوي له من حمض الكبريت المركز ظهور اللون الأصفر وتحوله إلى الأحمر يدل على ايجابية التفاعل [51] .

II-3-5- اختبار التنينات Les Tannins:

نأخذ 10gمن المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات ونستخلص بواسطة الكحول الإيثلي (50%) ثم نرشح، نضيف إلى الرشاحة قطرات من ثلاثي كلور الحديد ($FeCL_3$).

ظهور اللون الأخضر يدل على ايجابية التفاعل أي يدل على وجود التنينات [47] [48] [49].

II- 3-6- اختبار الفلافونيدات (Les Flavonoides):

نأخذ 10g من المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات نضيف لها 150ml من HCL (1%)، ثم نتركها 24 ساعة بعد الترشيح نقوم بالاختبارات التالية:

نأخذ 10ml من الرشاحة ونضيف لها هيدروكسيد الأمونيوم (NH_4OH) حتى القاعدية، ظهور لون أصفر فاتح يدل على وجود الفلافونيدات [47] [48] [49].

نضيف كمية قليلة من Mg (المغنزيوم) لمستخلص المحمض، ظهور اللون الأحمر دليل على وجود الفلافونيدات السكرية [47] [48].

II-3-7- اختبار على الفلافونيدات الحرة (Les Flavonoides Libres):

نأخذ 5ml من الرشاحة ونضيف لها 2,5ml من كحول أميلي ($C_5H_{11}OH$) إذا تلون الطور الكحولي بلون أصفر يدل على وجود الفلافونيدات الحرة [47] [48].

II-3-8- اختبار الفلافونيدات السكرية (Glycosides Flanoniques):

نبخر الطور المائي الناتج من اختبار الفلافونيدات الحرة الراسب نضيف له 3ml من حمض HCL (1%) نسخن قليلا وبعد التبريد نضيف 2.5ml من الكحول أميلي($C_5H_{11}OH$) ظهور اللون أصفر دليل على وجود الفلافونيدات السكرية (Heterosides Flavonique).

II-3-9- اختبار الكومارينات (Coumarins):

يبخر 3ml من المستخلص الإيثيري حتى الجفاف، ويذاب المتبقي بشكل جيدا في 2ml ماء مقطر، ثم يقسم إلى حجمين متساويين، يطرك الأول كشاهد والثاني نجعله قلوي بإضافة 0.5ml من محلول الأمونيا (NH_4OH) 10% إن ظهور فلورسة كثيفة تحت الأشعة فوق البنفسجية دلالة على وجود كومارينات ومشتقاتها.

II-3-10- اختبار الزيوت الطيارة:

ينقع 10gمن المسحوق الجاف لمختلف أعضاء النبات في الايثانول 70%، يوضع الراشح في جهاز الجرف ببخار الماء، ثم يسخن بلطف لمدة 4-5 ساعات.

يدل ظهور الطبقة الزيتية على الخلاصة على وجود الزيوت الطيارة [52].

II-4- الاستخلاص بالماء والميثانول:

II-4-1- استخلاص بالماء والميثانول لثمار سولانم نقروم:

- **الاستخلاص بالماء:**

تم الحصول عليه بنقع 25g من مسحوق الجاف لثمار نبتة Solanum nigrum في 150ml ماء مقطر ساخن ليلة كاملة مع الرج المغناطيسي (الميكانيكي) من حين لآخر، نرشح ثم نبخر المذيب حتى الجفاف للحصول على المستخلص المائي الخام، ثم حفظت في أنبوب اختبار معقم عند الدرجة 4 م° لحين إجراء الاختبارات التثبيطية للأحياء الدقيقة اتجاه هذه المستخلصات.

- **الاستخلاص بالميثانول:**

تم الحصول عليه بنقع 25g من مسحوق الجاف لثمار نبتة Solanum nigrum في 150ml ميثانول 99 % ليلة كاملة مع الرج من حين لآخر، نرشح ثم نبخر المذيب بواسطة جهاز Rotavapeur حتى الجفاف للحصول على المستخلص الميثانولي الخام، ثم حفظت في أنبوب اختبار معقم عند الدرجة 4 مْ لحين إجراء الاختبارات التثبيطية للأحياء الدقيقة اتجاه هذه المستخلصات.

وتم اختيار الميثانول بالتفضيل في عمليات الاستخلاص لسهولة التخلص منه عند التركيز .

II-4-2- استخلاص بالماء والميثانول لورق سولانم نقروم:

تم تحضير المستخلص المائ والميثانولي لورق النبتةSolanum nigrum ، بنفس الخطوات التي حضر بها المستخلص المائ والمثانولي للثمار.

الفصل الثالث III :

الدراسة البيولوجية

III- الدراسة البيولوجية:

تتمثل الدراسة البيولوجية في سلالات الاختبار والمستخلصات النبتة.

وتهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير المستخلصات على البكتيريا من خلال اختبارات عياريه والصيدلية وكذا الطبية.

III-1- جمع السلالات البكتيرية المستهدفة:

تم الحصول على السلالات البكتيرية من مخبر مستشفى محمد بوضياف بور قلة، بمساعدة أستاذ مختص في مجال علم الأحياء الدقيقة، وبمساعدة الأستاذة الزاوية، وهذه العينات البكتيرية:

1) - Escherichia coli:

من أكثر الأنواع التي تصادف في علم أمراض الإنسان، ممرضة للجهاز الهضمي والبولي و تسبب تعفنات للمجاري البولية تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae، عصوية سالبة الغرام و هوائية، لا هوائية وتنمو بسرعة في وسط عادي، عادة ما تكون متحركة ومنتجة للغازات عند تخمرها للسكر ويمكن التعرف عليها عمليا من خلال اختبارات تخمر سكر اللاكتوز، المانيتول و السوربيتول [53].

ومن خصائصه البيوكيميائية :

Oxydase (-),Nitrate(+), Glucose(+), Lactose(+), Indole(+)

2)- Enterobacteur:

هي عبارة عصيات سالبة الغرام، متحركة، عادة ما تفتقر إلى المحفظة ما عدا البعض منها مثل E.aerogens [54].

عادة ما نجدها في الجهاز الهضمي للإنسان، الحيوان، التربة والماء.

تسبب عدة أمراض من أهمها : مرض السحايا الدماغية، الإصابات الكلوية.

ومن خصائصها البيوكيميائية:

Urease(-),Lipase(-),Gelatine(+),VP(+)

3)- Klebsiella pneumoniae:

وهي مسؤولة عن عدد كبير من الامراض والعدوة في المستشفيات، تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae ،وهي بكتيريا عصوية سالبة الغرام هوائية ولا هوائية، غير متحركة وتصيب الجهاز التنفسي والهضمي للإنسان، وتظهر كفاءة عالية في مقاومة العديد من المضادات الحيوية [54].

من خصائصها البيوكيميائية:

Oxydase(-),Catalase(-), ODC(-),ADH(-),ONPG(+),Urease(+).

III-2- تحضير السلالات البكتيرية:

العينات البكتيرية زرعت في أوساط Bouillons Nutritifs وحفظت عند الدرجة 37م°، لمدة 18 ساعة قبل استعمالها في دراسة الفعالية البيولوجية وذلك من أجل الوصول إلى الطور اللوغاريتمي للعينات البكتيرية .

III-3- تحضير المحاليل المستخلصات المائية والميثانولية:

تم تحضير خمسة (05) محاليل للمستخلصات المائية والميثانولية لثمار ثم لورق Solanum nigrum الخام بتراكيز مختلفة : (12،13،14،15،16) ملغ / ل ، ثم رقمت محاليل المستخلصات من 01 إلى 05 على الترتيب، بهدف ملاحظة مدى تأثير المحاليل المستخلصات على بعض أنواع البكتيريا .

III-4- تحضير الأقراص:

وضعت الأقراص المصنوعة بواسطة واتمان (Watheman) رقم 3، والتي تم قصها إلى أقراص صغيرة بقطر 5 ملم في أنبوب اختبار زجاجي يحتوي 10ml ماء مقطر في جهاز الأوتوكلاف (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120 م° .

بعدها تم التخلص من الماء ثم وضعت الأقراص في الحاضنة حتى تجف.

- تحضير البيئات الغذائية:

1- بيئة الحساء المغذي Bouillon Nutritive :

المركب	الكمية المستعملة
كلوريد الصوديوم	5g
بيتون	5g
مستخلص اللحم	5g
ماء مقطر	1000ml

الجدول- 7: بيئة الحساء المغذي

تتم إذابة المركبات المستعملة في الماء المقطر والتسخين، بعد ذلك يضبط الـ PH عند 7 ،تعقم البيئة في الحاضنة الأوتوكلاف (Autoclave).

تحت ضغط جوي قدره 1.5 ضغط جوي، ودرجة حرارة 120 م° ،لمدة 20 دقيقة [55].

- هدف من تحضير البيئة الغذائية Bouillon Nutritive سائلة من استعمالها لتنمية البكتيريا ويكون من خلال وضعها في أنابيب اختبار .

- وبعدها تحفظ البيئة في درجة حرارة منخفضة لحين استعمالها.

2- تحضير بيئة الآجار المغذي Gelose nutritive:

المركب	الكمية المستعملة
كلوريد الصوديوم	5g
بيتون	5g
مستخلص اللحم	5g
ماء مقطر	1000ml

الجدول-8: بيئة الاجار المغذي

وتتم إذابة المركبات بنفس الطريقة السابقة مضاف إليه مادة الآجـــار قـــدرها 5g و 1000 ml ماء مقطر [55].

- والهدف من تحضيرها لاستعمالها لتنمية البكتيريا و معاملتها بالمواد الحيوية قيد الدراسة مـــن خلال وضعها في أطباق بتري.

III-5- تحضير وسط الزرع:

نسكب كميات محددة من وسط Muller Hinton بمقدار 20ml /علبة ثم يترك حتـــى يتـــصلب ويجفف في الفرن لمدة 20 دقيقة لإزالة الرطوبة المتبقية.

III-6- تحضير المعلق البكتيري:

نأخذ كل مرة جذمة أي عينة من إحدى الأنواع للبكتيريا ونضعها في أنبوب اختبار يحتـــوي كمية من الماء المقطر 10ml، ثم نرج جيدا نسكب كمية معينة من المعلق الميكروبي في علبة بتري التي تحتوي الوسط الزراعي وتترك لمدة وجيزة ثم تفرغ العلبة من المعلق وتجفف داخـــل الفرن عند 37م° لمدة 10 د.

III-7- الزرع والحضن:

نقوم بأخذ 1ml من وسط Bouillon Nutritive المزروعة به البكتيريا بواســـطة ماصـــة باستور معقمة، ووضعها في طبق بيتري المحتوية على GN، نقوم برج الطبق رجا خفيفا حتـــى تشمل البكتيريا كل السطح والباقي نتخلص منه ثم نترك الطبق 15 دقيقة وعند درجـــة حـــرارة 37م° ليتجمد الوسط.

III-8- الاختبار البيولوجي للمستخلصين المائي و الميثانولي على البكتيريا:

III-8-1- تأثير محاليل المستخلص المائي والميثانولي لثمار النبتة:

تم إجراء الاختبار البيولوجي للمستخلصين المائي و الميثانولي لثمار النبتة بتراكيز معلومة ومحددة بهدف التعرف على كيفية إيقاف نمو البكتيريا أو قتلها وقد اتبعت طريقة الورق بقطر 5ملم كل قرص مشبع ب: 0.5ml من كل تركيز للمادة الفعالة المستعملة (12،13،14،15،16) ملغ /ل بعد التجفيف، توضع الأقراص على بعد 15 ملم من حافة الطبق، ثم نقوم بضغط القرص على سطح (GN) بخفه وذلك حتى لا ينزلق الأقراص فيما بعد، وبعد 18 ساعة من التحضين على درجة 37م° (القراءة).

نسجل النتائج بقياس متوسط قطر التثبيط حول كل قرص من الأقراص المشبعة بالمادة الفعالة [56].

*هذا القطر المليمتري يطابق مع سلم محدد مسبقا لتفسير مدى حساسية البكتيريا للمادة الفعالة .

III-8-2- تأثير محاليل المستخلص المائي والميثانولي لورق النبتة:

وتم إجراء الاختبار البيولوجي للمستخلصين المائي و الميثانولي لورقة النبتة بنفس الخطوات السابقة.

نتائج
الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية

I- الدراسة الفيتوكيميائية:

I-1- الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة:

بعد إجراء الاختبارات الحيوية للنبتة لوحظ تواجد بعض المواد الفعالة ومتمثلة تحديدا في القلويدات والصابونيات في مختلف أعضاء النبتة مع غياب تام لزيوت الطيارة بين أعضاء النبتة.

وبصورة عامة إختلاف النتائج الإختبارات يبدو جليا في الكشف عن التنينات والغليكوزيدات التربينات ،الكومارينات والنتائج مبينة في الجدول (9).

عضو / المواد الفعالة	الأوراق	الأغصان	الأزهار	الثمار	الجذور
القلويدات	+	+	+	+	+
الصابونيات	+	+	+	+	+
الغليكوزيدات	-	+	+	+	+
التربينات	-	+	-	+	+
التنينات	+	+	+	+	-
الفلافونيدات	+	+	+	+	-
الفلافونيدات الحرة	+	+	-	+	-
الفلافونيدات السكرية	+	+	+	+	-
الكومارنيات	-	+	+	+	-
زيوت الطيارة	-	-	-	-	-

الجدول-9:الاختبارات الحيوية للمواد الفعالة

مع علم أن:

(-) : غياب المادة الفعالة. (+): وجود المادة الفعالة.

I-2- الاستخلاص بالماء والميثانول:

تم تحضير الأطوار الأربع المستخلصة من خلال نقع في كل مرّة 25g من المسحوق الجاف لأعضاء النبتة.

بعد إتمام عملية استخلاص وقبل إذابة المستخلصات في الماء المقصر والميثانول قمنا بحساب مختلف الأوزان بالغرام لكل طور فكانت النتائج كما هي مبينة في الجدول .

أعضاء النبتة	الأطوار المستخلصة	الوزن الجاف لمستخلص	النسبة المئوية (%)
الثمار	المائي	9.3280غ	% 46.64
	الميثانولي	5.8694 غ	%29.35
الأوراق	المائي	6.0672 غ	%37.92
	الميثانولي	4.5972 غ	%28.73

الجدول-10: المستخلص المائي والميثانولي لثمار ولورق نبتة سولانم نقروم

نلاحظ من الجدول أن النسبة المئوية, أي مردود المستخلص المائ للثمار 46.64% اكبر من بقية المستخلصات الأخرى .

II- الدراسة البيولوجية:

قراءة النتائج تتم بقياس قطر دائرة التثبيط (الكبت) حول هذه الأقراص.

نلخص النتائج المتحصل عليها لكل مستخلص كمايلي:

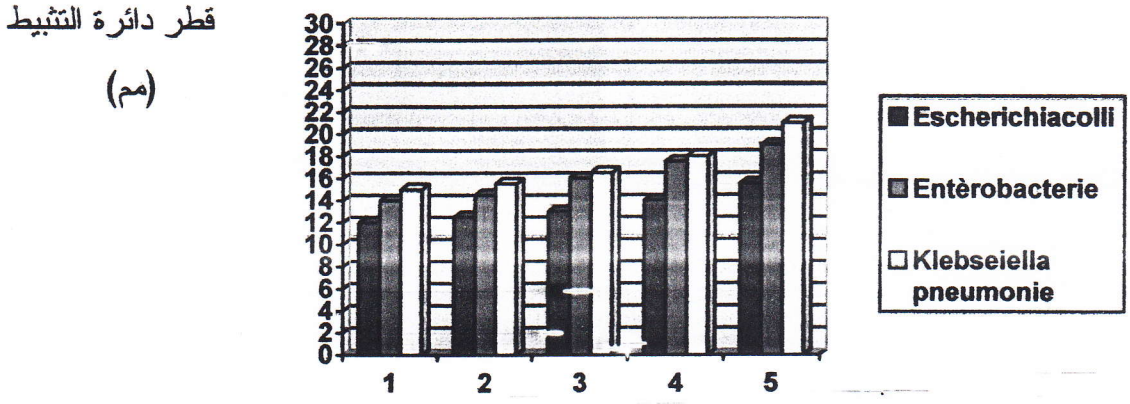
II-1- دراسة تأثير محاليل المستخلص المائي لثمار النبتة:

نقوم كل مرة بتغير تركيز المستخلص المائي لثمار النبتة ونتبع خطوات تحضير anli biogramme ثم نقوم بقياس قطر طبقة التثبيط المتواجد على علبة بيتري، وكررنا العملية ثلاث مرات للتأكد من النتائج المتحصل عليها ،لكل مستخلص مدونة في الجدول الآتي:

قطر طبقة الكبت بملم			
بكتيريا Klebseiella Pneumonie	بكتيريا Entérobacterie	بكتيريا Escherichia colli	رقم تركيز المستخلص المائي لثمار النبتة
15	14	12	01
15.5	14.5	12.5	02
16.5	16	13	03
18	17.5	14	04
21	19	15.5	05

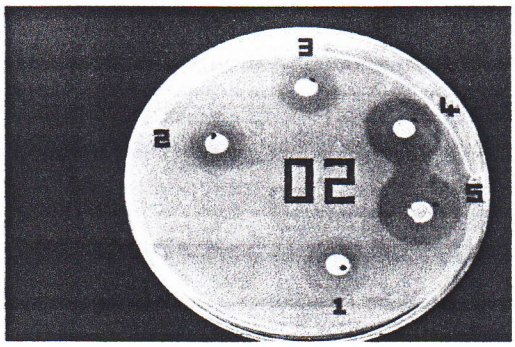
الجدول -11-:تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص المائي لثمار النبتة .

قطر دائرة التثبيط (مم)

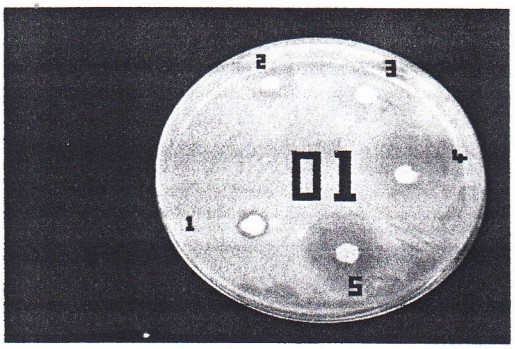


أرقام تركيز المستخلص المائي لثمار النبتة

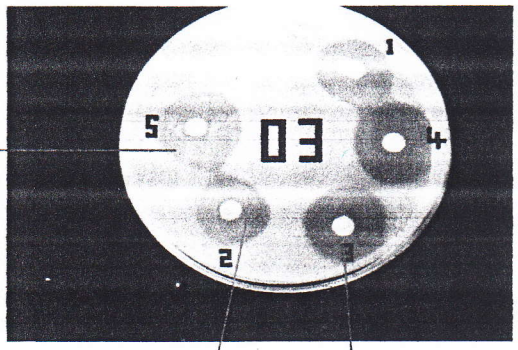
الشكل-10: هستوغرام يوضح قطرتثبيط محاليل المستخلص المائي لثمارالنبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.



Entérobacterie -02



Escherichia colli -01



Klebseielapneumoniel -03

قطر تثبيط للمستخلص 3 | قطر تثبيط للمستخلص 2 | قطر تثبيط للمستخلص 5

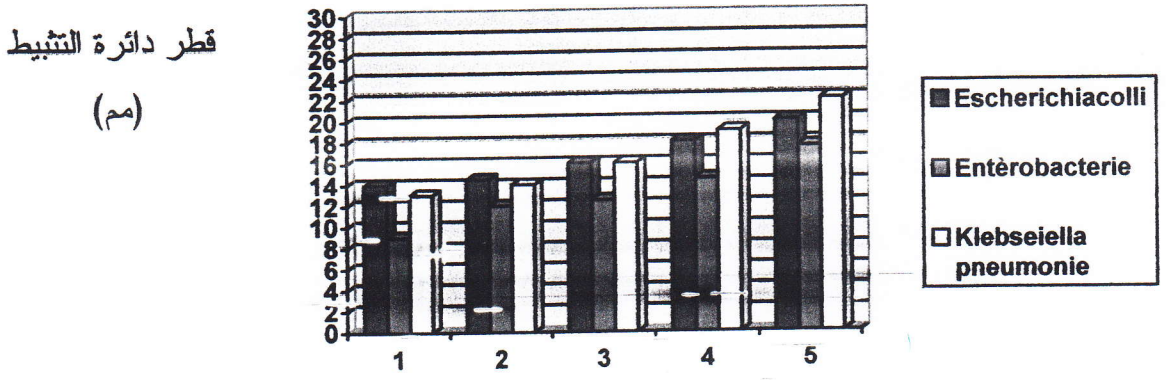
الشكل -11: الأثر التثبيطي للمستخلصات المائية لثمار Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع من البكتيريا.

II-2- دراسة تأثير محاليل المستخلص الميثانولي لثمار النبتة:

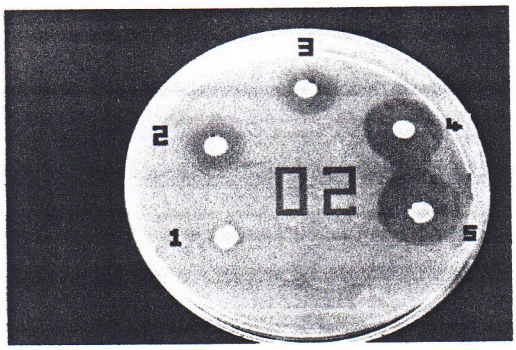
تمت الدراسة بنفس الخطوات السابقة .

رقم تركيز المستخلص الميثانولي لثمار النبتة	قطر طبقة الكبت بملم		
	بكتيريا Escherichia colli	بكتيريا Entérobacterie	بكتيريا Klebseiella Pneumonie
01	14	09	13
02	14.5	12	14
03	16	12.5	16
04	18	14.5	19
05	20	17.5	22

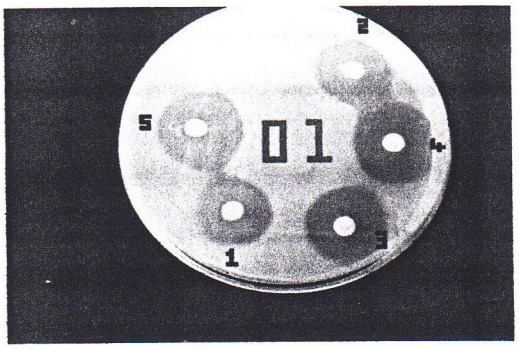
الجدول رقم -12: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص الميثانولي لثمار النبتة .



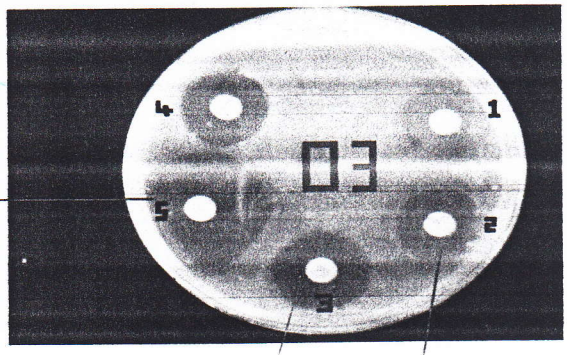
الشكل-12: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص الميثانولي لثمار النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.



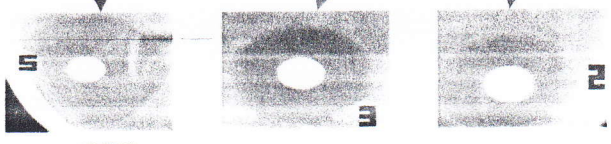
Entérobacterie -02



Escherichia colli - 01



Klebseielapneumoniel -03



قطر تثبيط للمستخلص2 | قطر تثبيط للمستخلص 3 | قطر تثبيط للمستخلص 5

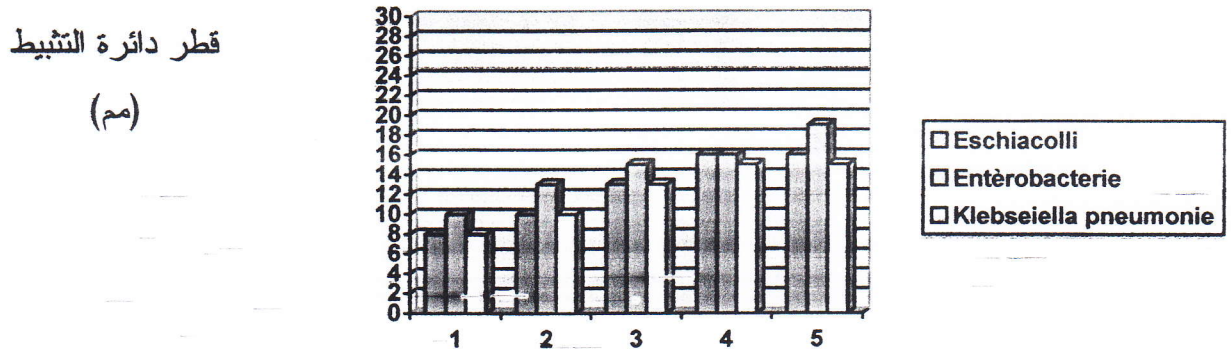
الشكل -13: الأثر التثبيطي للمستخلصات الميثانولية لثمار Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع من البكتيريا.

II-3- دراسة تأثير محاليل المستخلص المائي لورق النبتة:

تمت الدراسة بنفس الخطوات السابقة .

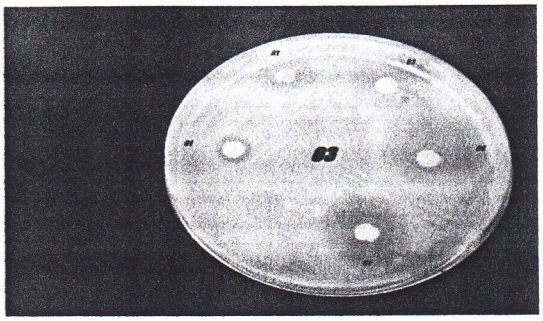
	قطر طبقة الكبت بملم		
رقم تركيز المستخلص المائي لورق النبتة	بكتيريا Escherichia colli	بكتيريا Entérobacterie	بكتيريا Klebseiella Pneumonie
01	08	10	08
02	10	13	10
03	13	15	13
04	16	16	16
05	16	19	15

الجدول- 13: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص المائي لورق النبتة .

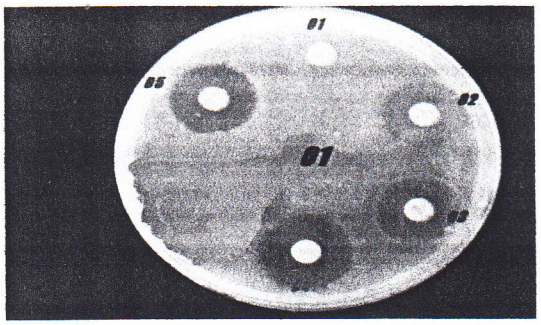


أرقام تركيز المستخلص المائي لورق النبتة

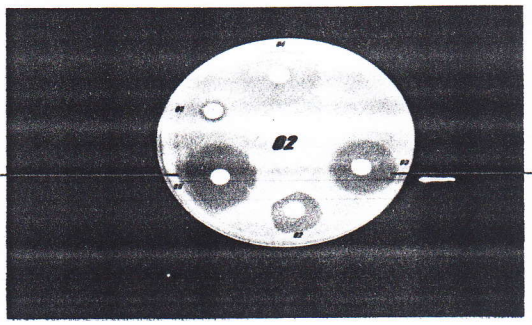
الشكل-14: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص المائي لورق النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.



Klebseielapneumoniel -03



Escherichia colli -01



Entérobacterie -02

قطر تثبيط
للمستخلص05

قطر تثبيط
للمستخلص03

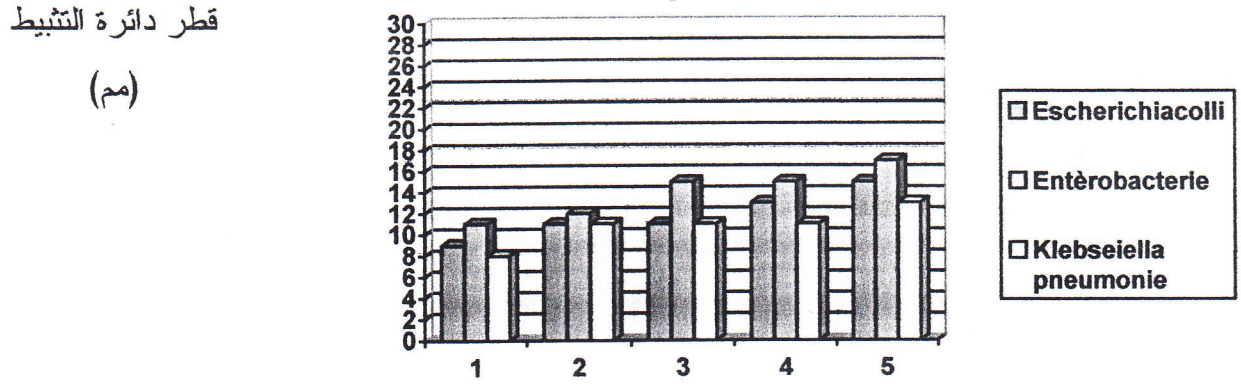
الشكل -15: الأثر التثبيطي للمستخلصات المائية لورق Solanum Nigrum على ثلاثة أنواع من البكتيريا .

II-4- دراسة تأثير محاليل المستخلص الميثانولي لورق النبتة:

تمت الدراسة بنفس الخطوات السابقة .

رقم تركيز المستخلص الميثانولي لورقة النبتة	قطر طبقة الكبت بملم		
	بكتيريا Escherichia colli	بكتيريا Entérobacterie	بكتيريا Klebseiella Pneumonie
01	09	11	08
02	11	12	11
03	11	15	11
04	13	15	11
05	15	17	13

الجدول -14: تغيرات قطر دائرة التثبيط بتغير تركيز المستخلص الميثانولي لورق النبتة .



الشكل-16: هستوغرام يوضح قطر تثبيط محاليل المستخلص الميثانولي لورق النبتة على ثلاثة أنواع بكتيرية مع 5 تراكيز مختلفة.

مناقشة النتائج

مناقشة نتائج الدراسة الفيتوكيميائية والبيولوجية:

أعطت نتائج المسح الفيتوكيميائي التي أجريت على نبتة Solanum Nigrum التي تنتمي إلى الفصيلة الباذنجانية (Solanaceae) بهدف الكشف عن 10عائلات كيميائية وهي القلويدات، الصابونيات، الغليكوزيدات، التربينات، السينات، الفلافونيدات، والفلافونيدات الحرة، والفلافونيدات المرتبطة، الكومارينات، الزيوت الطيارة.

وهذا بعدما فردت النبتة لأعضائها : (أوراق، أغصان، أزهار، ثمار، جذور) . أي مجموع خمسة (5) عينات نباتية فأدى إلى الحصول على 35 اختبار إيجابي من بين 50اختبار أي نسبة 70 % وهذا النسبة تدل على نبتة Solanum Nigrum بمنطقة كونين ولاية الوادي, تعتبر مصدرا هاما للمنتجات الطبيعية وبالتالي تعد أرضية جيدة لفصل أنواع من المركبات الكيميائية ، ويرجع ذلك إلى البيئة المناسبة لنمو هذه النبتة.

وعند دراسة الإختبارات الحيوية سولانم نقروم نلاحظ تواجد القلويدات والصابونيات في كل أعضاء النبتة مع غياب تام لزيوت الطيارة وكان الاختبار إيجابي عند الكشف عن التنينات والفلافونيدات ماعدا الجذور و الكومارينات ماعدا الأوراق و الجذور.

وتثمينا لمناقشة هذه النتائج، إذا ما أسندت نتائج الكشوفات النوعية إلى أعضاء النبتة الحاوية على القلويدات، ذات الأهمية الكبيرة في الصيدلية، والتي تمثل أهم أقسام الميتابوليزم الثانوي باعتبار تتحكم في تصنيعها جينات خاصة، والتي تعتبر في العصر الحديث كمؤشرات وراثية تساهم في عمليات التصنيف, فيمكن الوقوف على الفصائل التي تعضد هذه الاقتراح كتواجد القلويدات في بعض الفصائل النباتية التي أشارت إليها المراجع منذ القديم ولاسيما Scrophilariaceae ،Solanaceae، Ranunculac، Legumioseae، Compasitae.

وآخر مادة فعالة هامة كذلك أعتني بدراستها في العقدين الأخيرين وهـــي الـــصابونيات والتـــي تستعمل لتحضير مستحضرات طبية خاصة بالعلاج الكثير من الأمراض.

بمقارنة النتائج مردود المستخلصات المتحصل عليها، واعتماد على الأرقـــام الـــسابقة نجـــد أن مردود المستخلص المائي لثمار النبتة أكبر بمقارنة مع مردود المستخلص المائي لورق وعلـــى العكس بالنسبة للمستخلصين الميثانوليين .

نستطيع القول أن مردود المستخلص المائي لثمار النبتة هو الأكثر مكونات الأيـــض بالمقارنـــة ببقية المستخلصات الأخرى.

ولدراسة تأثير المستخلصات المائية والميثانولية لثمار ثم لورق النبتة سولانم نقررم على بعـــض أنواع البكتيريا.

وعموما بينت هذه المستخلصات مناطق تثبيط من نوع بكتيريا لآخر ومستخلص لآخـــر لثمـــار ولورق النبتة.

بالنسبة للمستخلص المائي و الميثانولي لثمار النبتة:

حيث وصلت مناطق التثبيط على البكتيريا Escherichia colli إلى 15.5 ملم عند المستخلص المائي و20 ملم عند المستخلص الميثانولي .

ومنه يمكن القول أن البكتيريا Escherichia colli حساسة للمـــستخلص الميثـــانولي ومتوســـط الحساسية اتجاه المستخلص المائي .

كما وصلت مناطق التثبيط على البكتيريا Entèrobactoie إلى 19ملم عند المستخلص المائي و 17.5 ملم عند المستخلص الميثانولي.

ومنه نستطيع القول أن البكتيريا Entèrobactoie متوسطة الحساسية اتجاه المستخلصين المائي و الميثانولي.

حيث بلغت مناطق التثبيط علـــى البكتيريـــا Klebsecelle pneumoie إلـــى 21 ملـــم عنـــد المستخلص المائي و22 ملم عند المستخلص الميثانولي.

ومنه يمكن القول أن البكتيريا Klebsecelle pneumoie حساسة اتجاه المستخلـــصين المـــائي والمثانولي.

بالنسبة للمستخلص المائي و الميثانولي لورق النبتة:

حيث بلغت مناطق التثبيط على البكتيريا Escherichia colli إلى 16ملم المستخلص المـــائي و15ملم عند المستخلص الميثانولي.

ومنه يمكن القول أن البكتيريا Escherichia colli متوسطة الحساسية المستخلصين المـــائي و الميثانولي.

كما وصلت مناطق التثبيط على البكتيريا Entèrobactoie إلى 19ملم عند المستخلص المائي و 17ملم عند المستخلص الميثانولي.

ومنه نستطيع القول أن البكتيريا Entèrobactoie متوسطة الحساسية اتجاه المستخلصين المائي و الميثانولي.

حيث بلغت مناطق التثبيط علـــى البكتيريـــا Klebsecelle pneumoie إلـــى 15 ملـــم عنـــد المستخلص المائي و13ملم عند المستخلص الميثانولي.

ومنه نستطيع القـــول أن البكتيريـــا Klebsecelle pneumoie متوســـطة الحـــساسية اتجـــاه المستخلص المائي وضعيفة الحساسية عند المستخلص الميثانولي.

الخلاصة العامة للفعالية البيولوجية للمستخلصات على البكتيريا:

انطلاق من النتائج متحصل عليها من دراسة تأثير المستخلصات المائية والميثانولية لثمار ولورق النبتة على الأنواع الثلاثة للبكتيريا مع 5 تراكيز مختلفة, نستطيع تحديد حساسية كل نوع من البكتيريا المدروسة اتجاه كل مستخلص في الجدول أدناه .

المستخلصات المستعملة	أنواع البكتيريا		
	Escherichia colli	Entérobacterie	Klebseiella Pneumonie
المستخلص المائي لثمار	I	I	S
المستخلص الميثانولي لثمار	S	I	S
المستخلص المائي لورق	I	I	I
المستخلص الميثانولي لورق	I	I	R

الجدول-15: الفاعلية البيولوجية للمستخلصات على أنواع البكتيريا المختارة

علمنا أن: 1.حساسة (S)، 2. مقاومة (R) 3. متوسطة الحساسية (I).

كنتيجه عامة نستطيع القول أن مستخلصات الثمار لها تأثيرات متوسطة الحساسية ، أما المستخلصات الورق فهي أقل حساسية اتجاه الأنواع البكتيريا الثلاثة المدروسة.

الخاتمة

بات من المؤكد أن النبتة المدروسة هي نبتة سولانم نقروم (Solanum Nigrum) والتي تنتمي إلى فصيلة الباذنجانية (Solanaceae)، ذات الأهمية الحيوية طبيا والفائدة الاقتصادية ماديا، لكونها غنية بالمواد الفعالة، ويستدل على ذلك من نتائج الاختبارات الحيوية الايجابية التي بلغت 70%.

كما أعطت نتائج الكشف عن المواد الفعالة في النبتة على تواجد القلويدات والصابونيات في كل أعضاء النبتة مع غياب تام لزيوت الطيارة.

ومن الملاحظات التي يتوجب الإشارة إليها وجود إختلاف من حيث تواجد وتوزيع المواد المختبرة بين مكونات أعضائه.

وهذا يبدو أكثر وضوحا في نتائج الكشف عن التنينات والفلافونيدات، الكومارينات التي تتواجد في كل أعضاء النبتة ماعدا الجذور. أما التربينات متوفرة في الثمار وغير متوفرة في الأوراق.

وهذا يعزى أساسا إلى نوعية المادة المختبرة ،أماكن تصنيعها وتراكمها[17] .تبع هذا العمل الأولى باستخلاص المائي و الميثانولي لثمار ثم لورق نبتة سولانم نقروم وكانت النسبة المئوية أي المردود المستخلص المائي لثمار متباعد مع بقية المستخلصات الأخرى.

إرتآينا أن ندعم هذا العمل الكيميائي بالفعالية البيولوجية وتحديدا الفعالية الضد الميكروبية واختبار مدى فعالية المستخلصات المائية والميثانولية لثمار ثم لورق النبتة على البكتيريا، حيث كانت أهم نتيجة تحصلنا عليها . عند المستخلص المائي و الميثانولي لثمار أدى إلى منطقة تثبيطية متقاربة للبكتيريا Klebseielle Pneumonie.

رغم أن النتائج كانت مقبولة وهي نتائج لم تتطرق لها المراجع، إلا أن التطبيق الميداني للمستخلصات المائية والميثانولية لثمار ثم لورق النبتة يتطلب انضمام تخصصات أخرى مكملة وأبحاث والدراسات تشمل:

- إخضاع المستخلصات المائية والميثانولية لاختبار انعدام السمية حتى نتمكن من استعمالها.
- توسيع دائرة هذا البحث على هذه المستخلصات باستعمال طرق وتقنيات أكثر حداثة وخاصة في مجال الكائنات الحية الدقيقة وكذا عدد العينات المختبرة من كل نوع .

مع إجراء الاختبارات الفيزيولوجية على الكائنات الحية تم تعميمها أكثر فأكثر حتـــى تـــشمل الإنسان .

المراجـــــع

[1]-Hostethman, A.K.,Mallard,M. and Hamburgon,M.(1995) Phytochemisty of medicinal plants used in traditional medicine. "oxford university press"p:3-27.

[2]-Arnason, J.T. and J.Y. Romes (1995) Phytechemisty of medicinal Plqntsm pleunium p:1-25.

[3]-Baba Aïssa F. (1999).Encyclopèdie des plantes utiles, Flore d'Algèrie et du Maghreb. P.235- 236.277.278. Librairie moderne (ed.).Rouiba.

[4]-Ozenda . P.1991,p.379,380; Quezel-Santa 1963,p.822 Et 825; Le Flo'h 1983,pp.221-222.

[6]-Bruneton.J.(1999) Pharmacognosie,phytochimie, Plantes medicinales, 2ème èdiom.Lavoisier-techique et docunetation.paris,p.1095. PP784-779. PP.783-1086.

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

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

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

[10]-Simpson. T.J.(1984)in the chemistiry of natural Products (ed.R.H. Thomson).Blackis.glasgow,pp:107.

[11]-Merghem.R.(2001).Origine et biogenèse des Molécules d'origine naturelle,importantes pour L'industrie pharmaceutique Sèminaire national sur les Substances bioactives d'origine vègètale.Jijel,Inpress.

[13]-Cordell,G.A.(1981)introductlon to Alkloids, Abioglnetic Apprach. John and son pp.1-21.

[14]-Guignard jea –louis,(1996) Biochime végétalale, Masson-paris 1ere edition.

[16]-Gilbert,R.M.Marshman,J.A.,Schweider,M.,Berg,R., Caffeine content of bevercges as consumelo., Camadian(1976) Medical Nutnion 31,1727-1732..

[17]-Richter.E.(1993)Metabolisme Des vègetaux . Physiologie et Biochemie .pp:376

[19]-Guignard.J.L.(2000)Biochimie végétale.
2ème Ed. De l'Abrégé.pp.274.
[20]-Makin.H.L.J (1984) Biochemisty of Steroid
Hormones. 2nd End. Blackwell .oxford.p,1-12.
[21]-Danielsson.H.and Sjovall.J (1985) Sterol And Bile. acids.
Elsvier.A mstedam.
[22]-Guignard.jean-louis;(1996).Biochimie végétale,Masson-Paris
1ére édition.
[23]-Bruneton.J.(1993) pharmacognosie, photochinie,
Plontes medicinales, technique et documentation.
P.266-275-2ème èdition.Lavoisier.Paris.
[24]-Markham K.R.(1982).Techniques of flavonoid identicqtion.P.6-
10.Academic press.(ed).London.
[25]-Guignard .J.L.,cosson L., Henry M.(1985).Abrège
Phytochimie.
[26]- Harboene.J.H.,Mabry T.J.end Mabry A.,(1975).the
Flavoroids, Tomel,academic press Lordon.
[27]- Bruneton.J. (1999) Pharmacognosie. 3ème èdition.
Ed.Tec et .Doc.pp783-1086.
[28]-Keating. G.L. and O'kennedy.R.(1997) The Chemistry And
Occurrence of Coumarins .pp:23-66.in:O'kennedy ,R.and
Thornes,R.D.(Eds.1997). Coumarins-Biologie application
S andmode of action,John Willey & Sounsltd.,Chichester
[29]-Balansard. J. Bernard P-notes pratiques de Chimie
végétale .Médecine Tropicale 1950.6. 933.
[30]-HOSTTMANN K; HOSTETTMAN M.- procédés
modernes d'isolement des substances naturelles
biologiquement actives.ler congrés international sur les plantes et
substances naturelles d'intérét thérapeutique. Monastir 1986.
[31]-IKAN R. –Natural products : a laboratory guide.
London : academic press. Ed; 1969.
[34]-.OZENDA P.Flore de Sahara, centre national de la recherche
Scientifique, Paris 2ème Ed.1990,P.177-179
[35]-MESSAILIBOUMLIK : Systèmatique de
spermaphytOPU.alger, 1995.91P.

[38]-Vallet.A.Agrobacterium à l'étude de la biosynthése desalcaloides tropaniques chez le Datura Mill.transformtion paragrobacterium tumefaciens .Agrobacterium rhizogenes et culture de chevelus racunaires.mémoire D.E.A.Université depicardie jules verne.1996.1-32.

[39]-Solatino.A.ad Gttieb,O.(1980)Quinolizidine alkaloids as Systematic Markers of The papilinoideae. Biochimie.Sys. Ecol.,8,133-147.

[40]-M.javillier. M. Polonvski,M. Florkin, P:Boulanger, M. Lenoigne.J.Roche et R.wurnser traitè de biochimie Gènèrale.tomel,1959,èd.Masson,1309-1359.

[41]- R.jarraya. M. Caieb et M.Damak,plantes nèdicinales Et phytothèrapie.1993,Tome XXVI(3),177-189.

[42]- E.stahl, Analyse chromatographique et microscpique Des drogues, 1975, èd. Masson,59-79.

[43]- N.Guerraf, Reivestigation of Alkaloid content of Peganun harmala,mémoire de magister ,Université de Gelma 1997,27.

[44]-K.Randeraim,Chromatographie sur couche mince,1971,éd.Alkaloid ,part A,1993,éd.Elsevier scientific pubishing company,1-112.

[45]- A.Barheum svendsen et R.Verpoorte,Chramatography of Alkaloid,part A,1993,èd.Elsevier scientific publishing Company,1-112.

[46]-E.Heftmann, chromatography, 3rd. 1975,éd .Van Nasyrand Reinhold New York.74-106.

[47]- K.Benzahi, Contributon àl'ètude des flavonoides dans la Plante cynodon Dactylon-L <<chiendent>>, mèmoides de Magister. Universitè de Ouargla 2001,P,15-17.

[48]- N. Chaouch, EtudedesAlcaloides dans le coloquinte Colocynthis vulgaris (L) Schrad (cucurbitacèes) Règion De Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mèmoire de maister. Universitè de Ouargla 2001,44.

[50]-BalbaaS.I.. HilolS.H.and zakiA.Y.(1981). Medicinal plamt Consti tu ents, General organigation for Universitg and School book,Egyptien sar El notob.

[51]-Gulei I-(1983).Methodology for Analysis of vegetable Drugs, Faculty of pharmacy, Buchorest, Romania.
[52]-Salle J.I.,Pellitier.J.(1991).Les huiles essen tielle Synthèse Dàromatherapies et intro du ction à la sympaterapies. Edition –Frison-Roche,Paris.
[53]-Soiation.P.(1999)Bactériologie.4éme edition,P;325-331.
[54]-Berche.P.Guillard.J.l.,Semanek,M.(1989) Bacteriologie .les bacteries des infection humanies.ad.flamarion(1ere edition) paris.
[55]-Guerin-Faublèe.V. Carret.C.(1999) .Làntibiogramme: Principes, mèthodologie, intèrét et limites. Joumées nationales CTV-INRA .PP.5-12
[56]-Carbonnelle.B.F.Denis,A.Marmonier,G.and rivargues,P.(1987) Bacterioigie Medicale.techniques usuelles .224-243.
[58]-Rozier.J.Bolnot.F. Carlier .V.(1985)Bases Microbiologique de l'Hiygiene des Aliments .Maisson Alfort Pairs.P75-203.
[59]- Dr.Habil.Benediktq D.Puodziunaite.,Dr.Regina Janciene, Dr.Lidija Kosychova .,Dr.Zita Stumbreviciute.(2000). On the synthetic zqy to novel peri-qnnelqted imidazo[1.5]benzodiazepinones as the potent non-nucleoside reverse trqnscriptqse inhibitors. Arkivoc .1:521-522.
[60]-Courvalin.P.(1992).lnterpretativereading of antimicrobial Susceptibility tests. ASM News.58:368-375.
[61] -Jorgensen .J.H. Ferrqro .M.J. (1998).Antimicrobial Susceptibility testing: general principles and contemporary Practices. Clin. Infect. Dis. 26:973-980.
[62]-Robert-Dernmet .S.(1995). Antibiotiques et antibiogrammes. Dècarie Vigot, Montrèal .p322.
[63]-Feron.A.(1976) Bacteriologie a l'usage des étudiante en médecine.édition gouan et roques (8 éme édition).
[64]-Singleton.P.(1999) Bactériologie.4éme édition.P:(325-331)
[65]- Ericsson.H.M.OSherris.J.C.(1971).Antibiotic Sensitivity Testing. Report of an International Collaborative Study.-Actes .path. microbiol. Scand., BSuppl.pp. 90,217
[66]-Baures .A, W., Kirry. W.M.M.,Sherris.J.C.A., Turch .M (1966) .Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disk method. – Amer.J. Clin.Pathol., 45:493-496.

Sites Web:

[67]-ANNONYME :http://www.vshiva.net/naturefacts/nightshade.htm

[68]-ANNONYME :http://www.inra.fr/hypp.fr/

[69]-ANNONYME :http://www.fao.org/docrep/

[70]-ANNONYME :http://www.conce.com.au /

[5]- هيكل م. س. وعمر. عبد الرزاق عمر . (1993). النباتات الطبية والعطرية،كيمياؤها، إنتاجها، فوائداها . الطبعة الثانية. للنشر منشأة المعارف بالإسكندرية (مصر).13-134 .

[12] - الحازمي،ح،م (1995). المنتجات الطبيعية. الطبعة الثانية. عماد شؤون المكتبات، جامعة الملك سعود (السعودية).

[15]- الدكتور حمد بن عبد الله اللحيدان. الدكتور محد بن إبراهيم الحسن. سالم سليم الذياب (1996). الطبعة الثانية مطابع جامعة سعود. ص 120 ، 129.

[18]- الحسني محمد - تهاني المهدي، 1990 ، النباتات الطبية زراعتها مكوناتها واستخداماتها العلاجية – مكتبة أبن سينا للنشر و التوزيع و التصدير - القاهرة ص: 8-13،93-176، 103-245.

[32]- عبد الله عبد الحكيم القاضي وصفية محمد الرماح بشينة: استعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي الليبي ، الجزء الأول ، الطبعة الخامسة. درا الكتاب الوطنية بنغازي،1997.

[33]- ميشال حايك : موسوعة النباتات الطبية.الطبعة الثانية 1667.ص.113

[36]- م. رفعت ، العلاج بالأعشاب قديما وحديثا ، الطبعة الثانية ، 1988، مؤسسة عز الدين للطباعة والنشر بيروت – لبنان , 13-23 .

[37]- ش. إبراهيم سعد، النباتات الزهرية ، 1994، دار الفكر العربي . بيروت- لبنان. 462- 465 .

[49]- س . بن فرج الله ، فصل وتحديد صبغة الاتروبين من نبات (Hyoscyamus Muticus) النامي باليزي ، مذكرة ماجستير جامعة ورقلة 2001 .

[57]- د.محمد عبد المحسن معارج.(1995).وراثة الاحياء الدقيقة .شركة الشهاب للنشر والتوزيع .ص.18-20.

الملحق

I- تعريف البكتيريا:

يطلق اسم البكتيريا (الميكروبات) على مجموعة من الأحياء الدقيقة المجهرية، تقاس أبعادها بالميكرون، ولا تحتوي اليخضور، منها النافع الذي لا تقوم الحياة بدونه, ومنها الضار الذي يعتبر السبب الأول في إزهاق الأرواح, وقد اكتشفها لأول مرة العالم (لويس باسترن) 1822-1895 بعد اكتشاف المجهر.

تتواجد البكتيريا في كل مكان، في التربة والماء والهواء والأغذية، ونجد الملايين منها على سطح جلدنا وأغشيتنا المخاطية وداخل قناتنا الهضمية، وجهازنا التنفسي. [57]،[58].

II- تصنيف البكتيريا:

صنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات من أهما:

1- تصنيف البكتيريا من حيث الشكل:

يمكن حصرها بأربعة زمر شكلية أساسية.

*ـ بكتيريا عصوية (Bacilli) التي تأخذ شكل العصيات تحت المجهر.

*ـ بكتيريا كروية (Cocci) التي تأخذ شكل الكروي تحت المجهر.

*ـ بكتيريا حلزونية (Spiral) التي تأخذ شكل الحلزوني تحت المجهر.

*ـ بكتيريا واوية (Vibrio) التي تأخذ شكل الواو تحت المجهر.

رقم [59]،[57]،[60].

2- من حيث الوسط الذي تعيش فيه:

وتقسم إلى ثلاثة أنواع:

- بكتيريا هوائية (Aérobic) وهي البكتيريا التي تعيش في وجود الهواء، وتعتبر المصدر الأساسي لتسمم المواد الغذائية.[60].
- بكتيريا لا هوائية (Anaerobic) وهي البكتيريا التي تعيش في غياب الهواء.
- بكتيريا لا هوائية اختيارية (Facultative Anaerobic) وهي البكتيريا التي يمكنها العيش والنمو في وجود الهواء أو عدمه.

3- من حيث التغذية:

يمكن تقسمها إلى قسمين:

ـ بكتيريا ذاتية التغذية : وهي البكتيريا التي تستهلك الكربون من أجل النمو والتكاثر.

ـ بكتيريا عضوية التغذية : تتحصل على الكربون من تحليل المواد المغذية مثل السكر[60].

4- من حيث طريقة التلوين (غرام):

يوضح الاختلاف في تركيب جدارا لخلية بالتلوين، حسب التقنية المسماة (grams stain) نسبة إلى العالم J.GRAM, المكتشف سنة1884, واستنتج نوعين من خلال هذه الطريقة .

ـ بكتيريا غرام موجب (gram positive) عند تلوينها تمتص اللون وتظهر وأرجوانية .

ـ بكتيريا غرام سالب (gram négative) عند تلوينها تحرر صبغ وتظهر حمراء [61].

5- من حيث ألأثر على الإنسان:

يمكن تقسمها إلى نوعين:

ـ **البكتيريا النافعة** : وهي التي تقدم خدمات جليلة للإنسان والحيوان والنبات والبيئة.

نظرا للتقدم العلمي السريع وخاصة في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تؤدي دورا هاما في الكثير من الصناعات الغذائية, والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغيرها, وكذلك معالجة مياه الصرف الصحي, والمعاجلة الحيوية لمخلفات المزارع واستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان [62]. كما تعمل البكتيريا على حماية جسم الإنسان من الكائنات الحية الأخرى المسببة للأمراض.

ـ **البكتيريا الضارة** : وهي المسؤولة على العديد من الامراض الدخيلة على الجسم, وهي تنتقل عن طريق العدوى من الأشخاص المرضى, والحيوانات وتلوث الماء والغذاء . ومن بين البكتيريا الضارة والمسببة للأمراض [62].

1)- Proteus mirabilis:

ينتمي هذا الجنس إلى عائلة Enterobacteriaceae، عصوية سالبة الغرام، متحركة، هوائية اختياريا، يمكن أن تتواجد في الماء، التربة وعلى بعض النباتات، نجدها عادة على مستوى

القناة أمعاء الإنسان وبعض الحيوانات . لها القدرة على إحداث المرض حيث تسبب عدوى كلوية و التهاب السحايا الدماغية.

وتستطيع النمو وبسهولة على وسط عادي وكذلك على بيئة خاصة .

وتظهر المستعمرات بعد 18 إلى 24 ساعة من الحضن على درجة حرارة 37 م°.

وهي عبارة عن مستعمرات دائرية. يتراوح قطرها 2 إلى 3 مم ، لا تخمر سكر اللاكتوز وتنتج غاز كبرتيد الهيدروجين H_2S.

وعادة ما تكون سلالات من النوع proteus mirabilis مقاومة لكل من:

(tétracycline,colistine) وحساسة لعدد معتبر من المضادات الحيوية مثل:

Ampicilline,Chloram, Phénicol,Aminosides,l'acide, naldixque

Cephalosprines,Trimetoprine,sulfamethoxazole,carbenicilline, [63] [54].

ومن خصائص البيوكيميائية : Gélatinase

Oxydase(-),Nitrale(+),ONPG(-),Urease(+),H2S(+),Indole(-)

2)- Pseudomonas SP:

وهي مسؤولة عن التعفنات الخطيرة بعد العمليات الجراحية [54].

وهي تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae ، عصوية سالبة الغرام، رقيقة كثيرة الحركة و هوائية إجباريا، تمتاز بمقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات، ممرضة للجهاز الهضمي والبولي والدموي، للإنسان والحيوان.

خصائصها البيوكيميائية:

مختزلة للنيترات ، Catalase(+),Oxydase(+),Gelatinase(-),ADH(+)

3)- Staphilococcus aureus:

تنتمي إلى عائلة Staphylococcaceae توجد في الماء، الهواء، التربة، كروية موجبة الغرام، هوائية، لا هوائية اختياريا، وهي توجد على شكل مستعمرات بيضاء أو ذهبية، تنمو بسهولة في وسط عادي كما تتحمل الملوحة وتغير الحرارة من 10-15 م° وكذلك الـ PH ومسؤولة عن الكثير من العدوى [64].

وتعتبر بكتيريا ممرضة خاصة للمجترات، كما أنها تصيب الإنسان على مستوى الجلد والأنبوب الهضمي ومن خصائصها البيوكيميائية:

Catase(-),Oxydase(-),VP(-),Novobicine(+),Dnase(+)

4)- Serratia SP:

تنتمي إلى عائلة Entereobacteriaces، سالبة الغرام، متحركة، توجد في التربة والماء وفي النبات.

يعتبر الجنس Serratia مقاوم جيد المضادات الحيوية إذ يمتلك مقاومة طبيعية جيدة [54].

لها القدرة على إحداث المرض حيث تسبب عدوى على المستوى الكلوي والجهاز التنفسي ومن خصائصها البيوكيميائية:

ONPG(+),DNASE(+),Lipase(+),VP(+),Gélatinase(+),H2S(-),AHD(-)

باستثناء Serratia Fonticola

ملاحظة: أما البكتيريا: Klebsiellapneumaniae – Enterobacteur – Escherichia coli تم التطرق لها في الجزئي العملي.

III- المضادات الحيوية:

يعتبر كشف هذه المواد المضادة في يومنا الحاضر أساس النضال ضد الجراثيم، والمضادات الحيوية هي مواد كيميائية تفرزها بعض النباتات الابتدائية كبعض الفطور والرجبيات، وتفيد في وقف حياة الجراثيم الممرضة.

البنسيلين :أول مادة عرفت من المضادات الحيوية، أكتشفه العالم الإنجليزي "فليمنغ: "Fleming سنة 1929 بفضل ملاحظة بسيطة حدثت صدفة.

فقد وجد هذا العالم أن مزارع المكورات العنقودية التي يستولي عليها نوع من العفن يدعى العفن المرقط «Penicillium Notatum» قد توقفت عن النمو ولاحظ أيضا أن المكورات العقدية قد زالت حول كل بقعة من بقع العفن فتكونت دوائر طاهرة حول العفنات، فكأن هذه العفنات تفرز مادة تبيد الجراثيم حولها، ولم تعزل هذه المادة إلا بعد عشر سنين من كشفها.

ومادة البنسيلين مثبتة للجراثيم أكثر منها قاتلة لها، وهي غير سامة، ويمكن إعطاؤها للمرضى بكميات كبيرة جدا دون أن تضر البدن.

IV- أنواع المضادات الحيوية:

تنقسم المضادات الحيوية:

1- مضادات حيوية قاتلة للبكتيريا Bactericidal مثل: أمبيسيلين، جنتاميسين، بنسيلين.

2- مضادات حيوية كابحة للبكتيريا Bacterioststic نوع يوقف نمو البكتيريا مثل:

سلفوناميد، كلورام فينكول .

V- عمل المضادات الحيوية:

عرف علماء البكتيريا عمل المضاد الحيوي بأنه ذلك التأثير أو الفعالية البيولوجية التي تعمل على كبت أو قتل البكتيريا [55] تختلف المضادات الحيوية في طرق تبعا لكيفية تأثيرها على البكتيريا [65] .

1- مضادات تعمل على الغلاف الخارجي للبكتيريا :

وهي مضادات تؤثر وتعيق عمل الخلية البكتيرية وبالتالي إيقاف عملها ونموها مثل البنسيلين

Penicilline، سيفلوسبورين Cephalasporine، فانكوميسين Vanacomicine، سيكلوسبرين Ciclosporine.

2- مضادات تعمل على الغلاف الداخلي للبكتيريا:

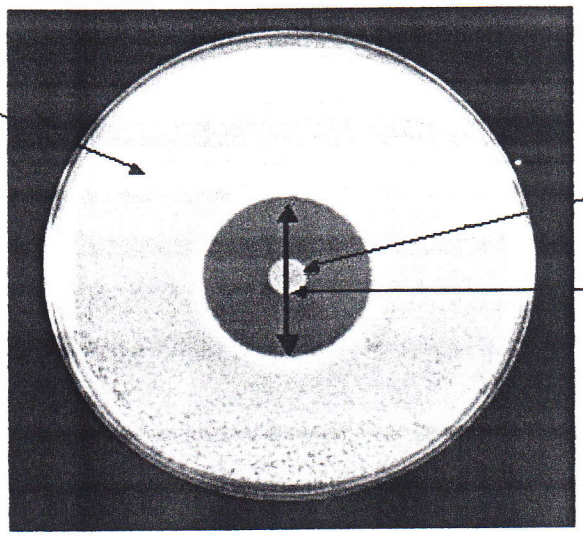
هناك مضادات حيوية تعمل لإذابة الأغشية الخلفية للبكتيريا مثل :نيستاتين Nistatin.

3- مضادات لإيقاف صناعة البروتين:

وهي مضادات حيوية توقف وتعيق ، تؤثر على تصنيع وتكوين وتصنيع بروتين الخلية مثل: سبترين Septrin.

طريقة تأثير المضاد الحيوي على البكتيريا:

هناك طرق متعددة لمعرفة تأثير الحيوي على البكتيريا والتي تعرف بـ antibiogramme، أشهرها طريقة الانتشار Méthodes de diffusion وهي الأكثر استعمالا في مستشفيات تشخيص الأمراض [66] . والتي تتم في وسط غليكوزي ومن أهم هذه الأوساط , وسط (Mueller Hinton) وسط حضر في سنة 1941 من طرف Mueller Hinton من اجل تحديد مقاومة أوحساسية بعض الأجناس المضرة من المضادات الحيوية وتحديد التركيز الأدنى لهذا المضاد المؤثر على البكتيريا والذي يعرف بـ (CMI) , [66]. كما هو مبين في الشكل(16)

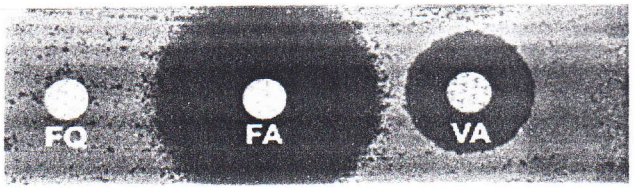


الشكل -17:قرص المضاد الحيوي ذو تركيز CMI

CMI: إنها أصغر تركيز ممكن من المضاد الحيوي [66]. يؤدي وفي خلال 18 إلى 24 ساعة منا الحضن على درجة الحرارة إلى تثبيط النمو أو التضاعف البكتيريا،وهذي القيمة يمكن أن تصنف سلالة بكتيرية ما في المستويات:[65]،[66].

1.حساسة (S)، 2. مقاومة (R) 3. متوسطة الحساسية (I).

هذا كما يوضحه الشكل (17).



R S I

الشكل-18: أنواع القراءات(النمم)

ونعتمد في القراءة على المعطيات التالية:

(C) : هو التركيز الأعلى الحرج للمضاد الحيوي تكون فيها الفعالية ضعيفة .

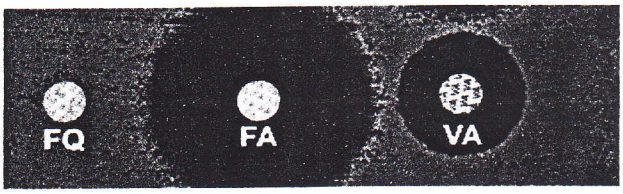
(c) : هو التركيز الأقل الحرج للمضاد الحيوي المحقون تكون فيها الفعالية كبيرة .

ونعرف الفئات حسب التركيز كالتالي:

CMI: إنها أصغر تركيز ممكن من المضاد الحيوي [66]. يؤدي وفي خلال 18 إلى 24 ســاعة منا الحضن على درجة الحرارة إلى تثبيط النمو أو التضاعف البكتيريا،وهذي القيمــة يمكــن أن تصنف سلالة بكتيرية ما في المستويات:[65]،[66].

1.حساسة (S)، 2. مقاومة (R) 3. متوسطة الحساسية (I).

هذا كما يوضحه الشكل (17).



R S I

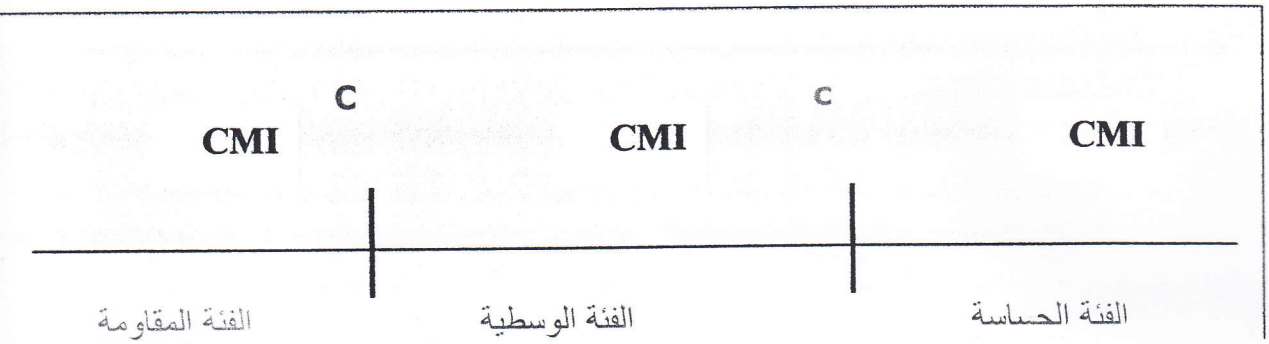
الشكل-18: أنواع القراءات(الممم)

ونعتمد في القراءة على المعطيات التالية:

(C) : هو التركيز الأعلى الحرج للمضاد الحيوي تكون فيها الفعالية ضعيفة .

(c) : هو التركيز الأقل الحرج للمضاد الحيوي المحقون تكون فيها الفعالية كبيرة .

ونعرف الفئات حسب التركيز كالتالي:



الشكل -19: فئات الفعالية حسب تراكيز المضاد الحيوي .

- إذا كان **CMI > C** : الجذمة البكتيرية حساسة للمضاد الحيوي **(S)** .

- إذا كان **C < CMI** : الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي **(R)** .

- إذا كان التركيز **C >CMI > C** : الجذمة البكتيرية ذات حساسية وسطية للمضاد الحيوي (I)