وزارة التعليـــم العالـــي والبحـــث العلمـــي

جامعـــة قاصـــدي مربـــاح ورقلـــة

كليـــة الرياضيات وعلـــوم المـــادة

قســـم الكيمياء

مذكـرة مقدمة ضمن لاستكمال متطلبات نيل شهادة ماستر أكاديمي

فـــي الكيـــمياء.

التخصص: كيمياء المنتجات الطبيعية

من إعداد: سامية عيشاوي، شهرزاد قانة

بعنـــوان

المساهمة في التعرف على منتجات الأيض الثانوي و دراسة الفعالية البيولوجية لنبتتين من منطقة بشار

نوقشت علنا يوم: 12/06/2018 أمام لجنة المناقشة:

رحماني زهور	أستاذة محاضرة- أ – بجامعة ورقلة	رئيسة
حمادة جميلة	أستاذة محاضرة- ب – بجامعة ورقلة	مناقشة
سمارة ونيسة	أستاذة محاضرة – أ – بجامعة ورقلة	مـــــؤطرة
دندوقي حسين	أستاذ تعليم عالي بجامعة ورقلة	مساعدا

السنة الجامعية : 2017 / 2018

إهداء

قال رسول الله (ص) :"من أراد الدنيا عليه بالعلم ...." .الحمد لله الذي اهتدى الإنسان بنعمه و صوره في الأرحام بحكمته و يسره و علمه ما لم يكن يعلم ,وكان فضل الله عليه عظيما أما بعد:

أهدي ثمرة جهدي هذا إلى التي علمتني الصبر و أعز ما عندي في الوجود أمي العزيزة مصدر نجاحي و إلهامي "حميتي فضيلة " و أبي الغالي مصدر إشراقة قلبي بالأنوار الذي أعتبره سندي في الحياة " محمد الصالح "و إلى كل من دفعني للوصول إلى هذه المرحلة و أملؤوها بالورود إخوتي كل واحد باسمه : هلالة - عبد الكريم – مليكة – صبرينة - نوال - محمد الأخضر – حسيبة - هارون و إلى أبناء إخوتي و أزواجهن و لا أنسى زوجات إخوتي و كذلك الكتاكيت الصغار : زمزم و عبد النور و أقدم إهدائي الخاص إلى عمتي خديجة التي تسعى لنجاحي في مشواري الدراسي . ولا أنسى كذلك ورود المحبة و سموت السعادة صديقاتي اللاتي شاركنني في المخبر وأعتبرهن إخوتي . و إلى جميع الأصدقاء من بلدة عمر و ورقلة .

و إلى كل من ساهم في هذا البحث من بعيد أو من قريب, إلى كل من شاق دربي و كياني , إلى طريق العلم و أضاءه بالأنوار و إلى كل من طلب العلم و سهر الليالي .

الحمد لله و الشكر لله العظيم .

الإهداء

إلى النبعين اللذين لا ينبضان و البحرين اللذين لا يكفان بفيض نصائحهما الوالدين الكريمين

إلى من حبهم يجري في عروقي و يلهج بذكراهم فؤادي إلى إخوتي وإخواني (عبد المالك،عبد اللطيف ,نور الدين , إلياس, جميلة , وسيلة , فوزية و فاطمة) و إلى أزواجهم و زوجاتهم و أبنائهم الأعزاء .

و إلى خطيبي و كل الأهل و الأقارب و الأحباب

و إلى من سرنا سويا و نحن نشق الطريق معا نحو النجاح إلى كل صديقاتي و زميلاتي

إلى من علموني حرفا من ذهب و كلمات من دور و عبارات إلى أساتذتي الكرام

و إلى كل من ساهم في دعمي و تحفيزي و نجاحي من قريب أو بعيد

شكر و عرفان

لنا مبلغ الاهتمام و فائق التقدير و الإحترام أن نتقدم إلى سيادتكم بالشكر الجزيل إلى الأستاذة الفاضلة سمارة ونيسة بجامعة قاصدي مرباح ورقلة التي أشرفت على تأطيرنا و قبولها لنا .

و نتقدم كذلك بأرقى عبارات الشكر إلى الأستاذ الدكتور دندوقي حسين بجامعة قاصدي مرباح ورقلة على كل مساعداته و توجيهاته و نصائحه القيمة .

نشكر الأستاذة رحماني زهور بجامعة قاصدي مرباح ورقلة التي لم تتردد في مد يد العون لنا طيلة هذا الموسم و على مساعدتها لنا على تثمين هذا البحث كما نتوجه بتحية احترام و تقدير و عظيم الامتنان لها على قبولها ترأس لجنة هذه المذكرة

نشكر الأستاذة حمادة جميلة بجامعة قاصدي مرباح ورقلة على قبولها لمناقشة هذه المذكرة

كما نتوجه بالشكر الكبير إلى أساتذتنا الكرام على توجيهاتهم و نصحهم و مد يد العون لنا في تحرير مذكرتنا و إلى الأساتذة الذين ساهموا في تكويننا في مسارنا الجامعي.

و نتقدم بالشكر الخاص إلى مدير المخبر(VPRS) و إلى كل أعضاء المخبر محجر صالحة , بكة شهرزاد , بالقيدوم مهدي , بن ساسي شيماء , بالفار أسيا , جموعي جميلة , بالأعور إبتسام , غرياني عبد النور , رحماني زينب , بوقرة أمينة على تعاونهم معنا .

و لا ننسى الشكر الجزيل إلى مسؤولي المخبر البيداغوجي خاصة: مكاوي رمضان , عباس , أنيسة , حنان , أسماء , و فاطمة على خدمتهم لنا .

و نتوجه بالشكر الجزيل إلى رفيقاتنا في المخبر دفعة ماستر 2018/2017 نتقدم بالشكر إلى زميلاتي و صديقاتي في الإقامة الجامعية بورقلة .

و لا أنسى إلى من قدم لنا الكثير من التحفيزات عائلتنا و إلى جميع من ساهم في هذا العمل و قدم لنا يد العون من بعيد أو قريب

و شكر ا

الــفــهــرس

الفهرس

العنوان	الصفحة
المقدمة	
الجانب النظري	
الفصل الأول : الدراسة البيبليوغرافية للنبتتين	
I-1المدخل	1
I-2 النبتة الأولى	1
I-2-1 العائلة Asteraceae	1
I-2-2 الجنس الشيح	1
I-2-3 النوع الالالة	2
I-2-4 الوصف المرفولوجي للنبتة 1	3
I-2-5 التوزيع الجغرافي للنبتة 1	3
I-2-6التركيب الكيميائي	4
I-2-7 إستعمالاته الشعبية و الطبية	5
I-3 النبتة الثانية	6
I-3-1 العائلة Zygophyllaceae	6
I-3-2 الجنس الشكاعة	6
I-3-3النوع الشكاعة بروغيري	7
I-3-4 الوصف المرفولوجي للنبتة 2	7
I-3-5 التوزيع الجغرافي للنبتة 2	8
I-3-6 التركيب الكيميائي للنبتة 2	9
I-3-7 إستعمالاتها الشعبية و الطبية	9
الفصل الثاني : منتجات الأيض الثانوي	
II-1 المدخل	10
II-2 منتجات الأيض الثانوي	10
II-2- 1 - التربينات	10
أ -تعريف التربينات	10
ب-تصنيف التربينات	12
II-2-2 المركبات الفينولية	12
أ - الإصطناع الحيوي للـ Polyphénol	12
II-2-3 الفلافونويدات	13
أ - تصنيف الفلافونويدات	13
ب - الإصطناع الحيوي للفلافونويدات	15
البناء الحيوي للشالكون	15
البناء الحيوي للفلافونويدات إنطلاقا من الشالكون	15
ج- توزيع الفلافونويدات وتواجدها في المملكة النباتية	17

الفهرس

د- خصائصها	18
هـ -الفعالية المضادة للأكسدة للفلافونويدات	18
و- الدراسة الكيميائية للفلافونويد	18
الإستخلاص	18
فصل وتنقية الفلافونويدات	19
كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	19
كروماتوغرافيا الورق CP	19
كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC	19
كروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بمطيافية الكتلة	19
كروماتوغرافيا العمود CC	19
التحليل الطيفي للفلافونويدات	20
طيف الأشعة فوق البنفسجية	20
الفصل الثالث :الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا	
III-1 الفعالية المضادة للأكسدة	23
III-1-1 المدخل	23
III-1-2 الإجهاد التأكسدي	23
III-1-3 الجذر الحر (المؤكسدات)	23
III-1-4 الجذر DPPH	23
III-1-5 مضادات الأكسدة	24
III-1-5-1 مضادات الأكسدة الأنزيمية	24
III-1-5-2 مضادات الأكسدة غير الأنزيمية	25
III-2 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا	25
III-2-1 تعريف البكتيريا	25
III-2-2 مكونات البكتيريا	25
III-2-2-1 المكونات الأساسية	25
III-2-2-2 الأجزاء الإضافية	26
III-2-3 تصنيف البكتيريا	27
III-2-3-1 تصنيف البكتيريا حسب استجابتها لصبغة الغرام	27
III-2-4- أنواع البكتيريا المختارة للدراسة	27
III-2-4-1 بكتيريا القولون (Escherichia coli)	27
III-2-4-2 المكورات الذهبية العنقودية (staphlococcus aureus)	28
III-2-4-3 الزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa	28
III-2-5 إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا	29
III-2-6 آلية تأثير مضادات الميكروبات من متعدد الفينول	29

الفهرس

الجانب التطبيقي	
الفصل الرابع : الجانب التطبيقي	
1-IV الدراسة الفيتوكيميائية للنبتتين	30
1-1-IV. المادة النباتية	30
1-1-IV - أ .القطف والتجفيف	30
1-1-IV - ب .الطحن	30
2-1-IV . الاختبارات الفيتوكيميائية للنبتتين	30
1-IV -1-2 . الكشف عن الفلافونويدات	30
2-2-1-IV. الكشف عن العفصيات	30
3-2-1-IV.الكشف عن الكومارينات	31
4-2-1-IV. الكشف عن الستيرولات والتربينات الثلاثية	31
5-2-1-IV.الكشف عن الصابونينات	31
3-1-IV.الإستخلاص	32
1-3-1-IV.المردودية الإنتاجية لمختلف المستخلصات	34
IV2-.الكشف بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM	35
IV2--1-المستخلص الكلوروفورم	35
IV2--2. مستخلص خلات الإيثيل والمستخلص البيتانول	36
IV- 3. كروماتوغرافيا التحضيرية	39
IV3--1.حساب قيم R_f	41
4-IV .الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا	42
1-4-IV.تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	42
1-1-4-IV.اختبار الـ DPPH	42
4-IV- 1-2. اختبار موليبدات الفوسفات	44
2-4-IV. الفعالية المضادة للبكتيريا	45
1-2-4-IV. تحضير المستخلص النباتي	45
2-2-4-IV. تحضير الوسط الزراعي	45
3-2-4-IV. زرع البكتيريا	45
4-2-4-IV. وضع الأقراص والحضن	45
5-2-4-IV. قراءة النتائج	45
الفصل الخامس : النتائج والمناقشة	
1-V. الدراسة الفيتوكيميائية للنبتتين	46
1-1-V. الاختبارات الفيتوكيميائية	46
V2-. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM	46
1-1-2-V.المستخلص الكلوروفورمي	46
2-1-2-V. مستخلص خلات الإيثيل والمستخلص البيتانول	47
2-2-V.كروماتوغرافيا التحضيرية	49

الفهرس

V-3 الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا	50
V-3-1. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	50
V-3-1-1. نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH	50
V-3-1-2. نتائج اختبار موليبدات الفوسفات	52
V-3-2. الفعالية المضادة للبكتيريا	54
V-3-2-1.المستخلص الكلوروفورمي	55
V-3-2-2.مستخلص خلات الإيثيل	55
V-3-2-3. المستخلص البيتانولي	56
الخاتمة	
المراجع	
الملحق	

الأشكال

الشكل	الصفحة
الفصل الأول : الدراسة البيبليوغرافية للنبتتين	
الشكلI-1 صور توضيحية للنبتة 1	3
الشكل I- 2 خريطة توضح مكان تواجد الألالة في الجزائر	4
الشكلI- 3 صورة توضح كبسولة لـFagonia	7
الشكل I- 4 صور توضح النبتة 2	8
الشكل I- 5خريطة توضح انتشار أنواع فاجونيا في العالم	8
الفصل الثاني : منتجات الأيض الثانوي	
الشكلII-1 صورة وحدة الإيزوبرين	11
الشكلII-2 بعض أنواع التربينات الحلقية والمفتوحة	11
الشكل II- 3 بنية الفلافونويد	13
الشكل II- 4 البناء الحيوي للشالكون	15
الشكل II-5 الإصطناع الحيوي لمختلف هياكل الفلافونويد	16
الشكل II- 6 ترافق مجموعة الكربونيل مع كل من الحلقة A وB	21
الفصل الثالث : الإجهاد التأكسدي والفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا	
الشكل III-1الشكل الحر (المؤكسد) والمرجع لـ DPPH	24
الشكل III-2 معادلة توضح إرجاع الـ DPPH	24
الشكل III-3 مكونات البكتيريا	26
الشكل III-4 تصنيف البكتيريا حسب استجابتها للصبغة الغرام	27
الشكل III-5 صورة لـبكتيريا القولون (Escherichia coli)	27
الشكل III-6 صورة لبكتيريا المكورات الذهبية العنقودية (Staphylococcus aureus)	28
الشكل III-7 صورة لبكتيريا الزائفة الزنجارية(Pseudomonas aeruginosa)	28
الفصل الرابع :الجانب التطبيقي	
الشكل IV -1 المستخلص الإثانولي للنبتة 1 قبل وبعد الكشف عن المركبات الأولية	31
الشكل IV-2 المستخلص الإيثانولي للنبتة 2 قبل وبعد الكشف عن المركبات الأولية	32
الشكل IV-3. مخطط يوضح مراحل الاستخلاص للنبتتين	33
الشكل IV-4. يمثل صور طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص الكلوروفورمي للنبتة 1	35
الشكل IV-5.يمثل صورة طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص الكلوروفورمي للنبتة 2	36
الشكل IV-6. يمثل صورة طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص خلات الايثيل للنبتة 1	37
الشكل IV-7. يمثل صورة طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص خلات الايثيل للنبتة 2	37

الشكل IV-8. يمثل صورة طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص البيتانولي للنبتة 1	**38**
الشكل IV-9. يمثل صورة طبقة CCM تحت مصباح UV-Vis للمستخلص البيتانولي للنبتة 2	**38**
الشكل IV-10. رسم تخطيطي لـCCM تحضيرية تعطي الفلافونويد على شكل خطوط مفصولة	**39**
الشكل IV-11.النبتة 1 الكشف عن الجزيئات بعد التنقية	**41**
الشكل IV -12.النبتة 2 الكشف عن الجزيئات بعد التنقية	**41**
الشكل IV-13.رسم تخطيطي توضح المسافة التي تقطعها المادة والمذيب في طبقة CCM	**41**
الشكل IV-14.معادلة توضح تفاعل الـDPPH مع الفينول	**42**
الشكل IV-15.منحنى اختبار الـDPPH بواسطة V.C	**43**
الشكل IV-16.المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك في اختبار الموليبدات	**44**
الفصل الخامس :النتائج والمناقشة	
الشكل V-1. منحنى نسبة تثبيط المستخلص البيتانولي في اختبار الـ DPPH للنبتة 1	**51**
الشكل V-2. منحنى نسبة تثبيط المستخلص البيتانولي في اختبار الـ DPPH للنبتة 2	**51**
الشكل V-3.منحنى المستخلص البيتانولي للنبتة 1 في اختبار موليبدات الفوسفات	**52**
الشكل V-4.منحنى المستخلص البيتانولي للنبتة 2 في اختبار موليبدات الفوسفات	**53**

قائمة الجداول

الجدول	الصفحة
الفصل الأول : الدراسة البيبليوغرافية للنبتتين	
الجدولI-1 المركبات الفلافونويدية التي تم استخراجها من النبتة 1 من خلال الدراسات السابقة	5
الفصل الثاني : منتجات الأيض الثانوي	
الجدولII-1 تصنيف التربينات حسب عدد تكرار الوحدة الإيزوبرينية	12
الجدولII-2 تصنيف الفلافونويدات	14
الجدول II-3 أهم السكريات ذات الإرتباط بالفلافونويدات	14
الجدولII-4 الأنزيمات الداخلة في التصنيع الحيوي للفلافونويدات	17
الجدول II-5 علاقة موقع المستبدلات بالألوان	20
الجدولII-6 طيف الأشعة فوق البنفسجية UV	22
الفصل الرابع : الجانب التطبيقي	
الجدولIV-1. مردود مختلف المستخلصات	34
الجدولIV-2. يوضح إختبارات نظم الهجرة المختبرة للفصل لمستخلص الكلوروفورم	35
الجدولIV-3.يوضح إختبارات نظم الهجرة المختبرة للفصل لمستخلص خلات الإيثيل و المستخلص البيتانول	36
الجدولIV-4.النتائج المحصل عليها من الكروماتوغرافيا التحضيرية	40
الجدول IV-5.نتائج قيم الـRfللمركبات المفصولة التي أعطت بقعة واحدة	42
الفصل الخامس :النتائج والمناقشة	
الجدول V -1نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية للنبتتين	46
الجدولV–2- نتائج الفصل الكروماتوغرافي لمستخلص الكلوروفورم	47
الجدول V–3-نتائج الفصل الكروماتوغرافي لمستخلص خلات الإيثيل ومستخلص البيتانول	48
الجدولV- 4:النتائج المحصل عليها لمعرفة نقاوة المركبات المفصولة	50
الجدول V- 5- الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص البيتانولي للنبتتين لإختبار الـ DPPH	52
الجدولV- 6 - الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص البيتانولي للنبتتين في إختبار موليبدات الفوسفات	53
الجدول V- 7صور بعض نتائج إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتتين	54
الجدول V- 8- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات الكلوروفورم	55
الجدول V–9- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات خلات الإيثيل للنبتة 1	55
الجدول V –10- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات البيتانولي	56

قائمة المختصرات

R%	%المردودية الإنتاجية للمستخلصات
Me	كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب
$M\vartheta$	كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص
CCM	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
UV-Vis	الأشعة فوق البنفسجية-المرئية
ADN	الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين
ARN	الحمض النووي الريبي
ROS	نوع أوكسيجيني نشط
SOD	Superoxydedismutaseإنزيم
CAT	Catalseإنزيم
GPX	Glutathions peroxidaseإنزيم
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazylالجذر الحر
V.C	حمض الأسكوربيك
A	معامل الامتصاصية
I%	النسبة المئوية للتثبيط
CI_{50}	DPPH من جذر الـ50%تركيز المستخلص اللازم لتثبيط
λ	الطول الموجي
م°	الدرجة المئوية
مغ	مليغرام
غ	غرام
ل	لتر
مل	مليلتر
T	درجة الحرارة
DMSO	Diméthyl Sulfoxyde
E.coli	Escherichia coli
S.aureus	Staphylococcus aureus
P.aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa

المقدمة

المقدمة

مرت البشرية من خلال تاريخها بفترات سيطرت فيها أساليب الطب المختلفة ، و استخدمت العقاقير العديدة .بدءا من الأعشاب و المواد الحيوانية، حيث كانت تعتمد على النباتات في مجالات شتى، فبالإضافة إلى كونها مادة غذائية فقد عرفت فائدتها الطبية و العلاجية وأمكن الاستفادة منها في العلاج من الأمراض التي كانت منتشرة في تلك الحقبة، ومع مرور الزمن ثمنت الخبرات والمعلومات عن هذه النباتات،فعرف منها ما هو سام،النبات المسهل، المحدث للإمساك، المداوي للجروح و المهدئة للآلام وغيرها [01]، فتكمن فائدتها في قابليتها على إنتاج العديد من المركبات العضوية ذات الخصائص الطبية إضافة إلى تحضير مبيدات حشرية،كما تستعمل في الأغذية، العطور و الألوان[02].

و قد كان الفراعنة و المصريون من أوائل الشعوب الذين أولوا اهتماما كبيرا بالنباتات الطبية، حيث جمع الصينيون هذه النباتات و استعملوها منذ 4000 أو 5000 سنة قبل الميلاد[03].

ويعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي على مادة كيميائية أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع،و لها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض، و لقد حضيت في الوقت الحاضر عناية بالغة في الكثير من الدول المنتجة لها[04].

إذ تعتبر النباتات الطبية المصدر الرئيسي للمركبات الفينولية كمنتجات ثانوية، و في هذا الصدد إرتأينا في دراستنا للتعرف على نبتتين طبيتين من الجنوب الغربي للجزائر و المساهمة في دراسة منتجات الأيض الثانوي لها، و التعرف على الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا لهما[03].

لذا تطرقنا في هذا البحث إلى منتجات الأيض الثانوي و تتركز هذه المذكرة على الأجزاء التالية:

الجزء الأول يختص بدراسة الجانب النظري للنبتتين و يحتوي ثلاثة فصول:

الفصل الأول:يتضمن الدراسة البيبليوغرافية للنبتتين.

الفصل الثاني:يحوي دراسة مبسطة على منتجات الأيض الثانوي.

الفصل الثالث:دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا.

الجزء الثاني: يتضمن الجانب التطبيقي و يشمل فصلين .

الفصل الرابع: العمل التطبيقي.

الفصل الخامس:ندرس فيه النتائج المتحصل عليها و مناقشتها.

الجانب النظري

الفصل الأول :

الدراسة البيبليوغرافية للنبتتين

I-1 مدخل

النباتات لها أهمية كبيرة في الحياة اليومية بمختلف أنواعها. و نظرا لتنوع التضاريس في الجزائر أدى إلى تنوع الغطاء النباتي الذي أسفر عنه إنتشار عدد هائل من الفصائل النباتية، فلكل نبات مناخ و ظروف مناسبة لنموه و ازدهاره و من هذه الفصائل نجد عائلة *Asteraceae* و *Zygophullaceae* التي ينتمي إليها النبتتين المدروستين.

I-2 للنبتة الأولى

I-2-1 العائلة *Asteraceae*

عائلة *Asteraceae Compositae* تعتبر من المجموعات الأكثر تواجدا[05][06] حيث تتألف من حوالي 1000 جنس و أكثر من 20000 نوع [07] . و تتميز هذه العائلة بميزة مشتركة تتمثل في وجود زهور متحدة في الرأس أي تكون ضيقة بجوار بعضها البعض. كما تتميز أيضا بوجود العديد من الأجناس منها[08]:

Ageratum Conyzoides، *Ambrosia Maritima* ، ***Artemisia*** ، و قد تم مؤخرا ضم جنس *Artemisia* إلى فصيلة *Anthemideae* [07]. حيث عدد كبير من هذه الفصيلة لها أهمية كبيرة فهي تستعمل كأزهار للزينة، في الطب التقليدي و الحديث كنباتات طبية وعطرية كما تستعمل أيضا زيوتها الأساسية في صناعة مستحضرات التجميل والصناعات الدوائية ، عموما هذه الزيوت لها إستعمالات عدة خاصة في النشاط الحيوي بسبب مكوناتها الفعالة.

I-2-2 الجنس *Artemisia*

يعتبر هذا الجنس من الأعشاب الصغيرة الموجودة في المناطق المعتدلة الشمالية ، في آسيا ، أوروبا و شمال إفريقيا و يضم أكثر من 500 نوع، ففي الجزائر يوجد حوالي 11 نوع من بينها (الالالة)[07]. و نذكر بعض هذه الأنواع من هذا الجنس [05] [06]:

A-herba-alba.L الشيح الأبيض، *A.judaica* و النوع الالالة أو ما تسمى بالشيح الحقلي التي هي موضوع دراستنا [09][10] و قد انصب اهتمام المختصين في الكيمياء النباتية على دراسة هذا النوع [05].

I-2-3 النوع الالالة أو الشيح الحقلي

هي نبتة برية معمرة، تنتشر في آسيا و أمريكا الشمالية وأوروبا وشمال إفريقيا و تتواجد في عدة مناطق من العالم حيث نجدها بالخصوص في الصحراء الشمالية و في المناطق الجافة و الشبه الجافة و بالخصوص الصحراء الجزائرية و يوجد بكثرة في مناطق البحر الأبيض المتوسط وهي عشبة ذو رائحة عطرية واسع الإنتشار تقريبا في جميع أنحاء دول العالم [06]، يتكاثر هذا النوع عن طريق البذرة و طعم النبات غير مستساغ بسبب وجود الزيوت الطيارة [11].

تصنيف هذا النوع يعتمد على أشكال الأزهار المختلفة [12]. و يعزى التباين المرفولوجي و الفيتوكيميائي إلى أصول جغرافية مختلفة و على هذا الأساس نجد أن هذا النوع يحتوي على العديد من السلالات [05] [06].:

- سلالة *Campestris.L*

manitima Arcangeli- سلالة

alpina (DC) Arcangeli- سلالة

bottanica A .N. Lundstrom ex Kindb- سلالة

borealis(pallas) Halland Clemeents- سلالة

حيث هذه النبتة تنتمي إلى سلالة *glutinosa (Gay ex besser) Batt*

و تصنف النبتة كما يلي:

النطاق	حقيقيات النوى
المملكة	النباتات
الشعبة	كاسيات البذور
الطائفة	ثنائية الفلقة
الرتبة	نجميات
الفصيلة	نجمية
الجنس	شيح
النوع	شيح الحقل

I- 2 – 4 الوصف المورفولوجي للنباتات

النبات بري من فصيلة المركبات الأنبوبية، يتواجد في الصحراء بكثرة [07]. تتواجد في الصحراء الجزائرية خاصة الجنوب الغربي. هي عشبة عطرية لها رائحة مميزة تتفرع قرب سطح التربة، معمرة تنمو في المناطق القاحلة و شبه القاحلة في الجزائر، ذات فروع كثيرة متصلبة و متراصة مخططة (خشبية) تميل إلى الحمرة، اسطوانية الشكل ارتفاعها يتراوح ما بين 30-80 سم، أوراقها قصيرة، دقيقة، مزغبة قليلا مفصصة ريشية و متباعدة ، داكنة الخضرة، السفلية منها أذينية والباقي جالسة . أزهارها رويسات صغيرة جدا، قطرها من 1إلى 1.5ملم، بيضوية أو مخروطية الشكل، يحتوي الرويس من 3 إلى 8 أزهار صفراء اللون (لماعة) تخرج من إبط الورقة ، ذات حواف معمرة، حامل الزهرة له شعيرات بيضاء أو بنية اللون، أوراقها خضراء داكنة. تزهر من شهر أوت حتى أكتوبر، إبطية الارتكاز، أما الثمار فهي دقيقة للغاية، طعمها مر رائحتها زكية [10- 12].

الصورة أ : رسم تخطيطي يبين أجزاء النبتة

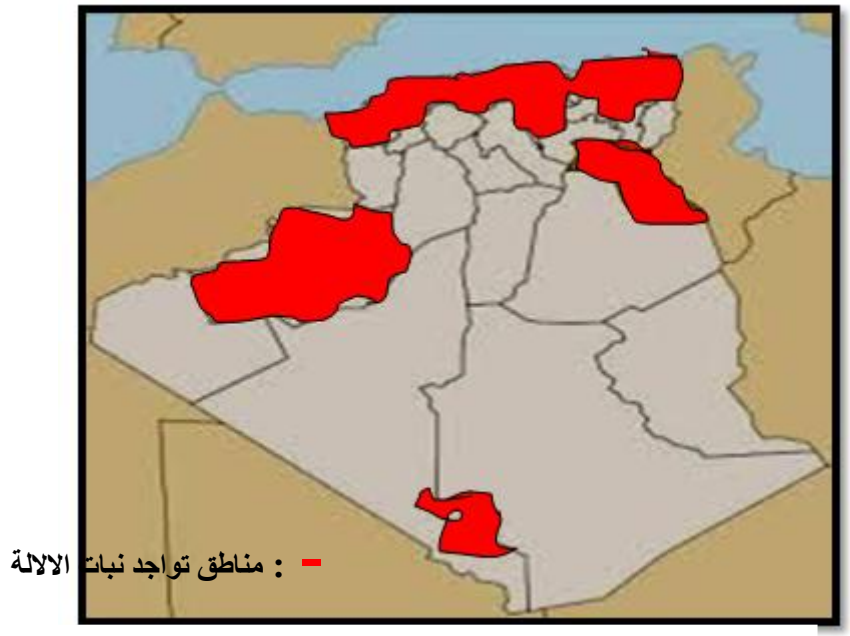
الصورة ب : توضح النبتة

الصورة ج : صورة للنبتة بعد

1(أ- ب - ج): صور توضيحية للنبتة I-1الشكل

I-2- 5 التوزيع الجغرافي

يتواجدهذا النبات في الجنوب الشرقي لاسيا ، اوروبا وافريقيا ،حيث يتوزع هذا النبات في العديد من المناطق من صحراء الجزائر و ذلك لإختلاف التنوع المناخي [09] [13] . و الشكل التالي يوضح ذلك :



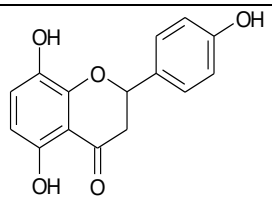
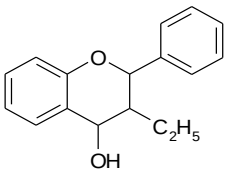
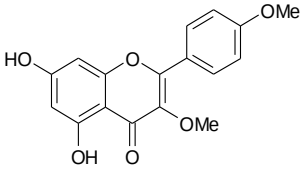
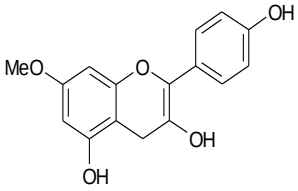
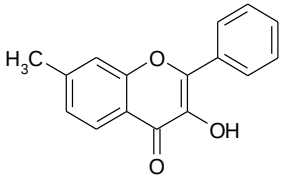
الشكل I-2 :توضح مكان تواجد النوع الالالة في الجزائر

I-2-6 التركيب الكيميائي

التركيب الكيميائي كان موضوع العديد من الدراسات و الأبحاث العلمية التي أظهرت تباين واسع في التركيب مما أدى إلى احتوائها على العديد من المركبات الكيميائية: التربينات، الفلافونويد، العفصيات، الكومارين و الصابونينات و ذلك نتيجة التنوع الجغرافي و التربة. تم استخلاص العديد من المكونات الأساسية أي المواد الفعالة من المستخلصات فعلى سبيل المثال الزيوت الأساسية التي استخلصت من الأجزاء العلوية من سلالة الالالة. glutinosa (Gay ex Besser) Batt التي أستخرج منها :

β - pinene، β Cymene ، δ - Limonene ، α ، Trans – Nirolidol [06]. كما تم عزل العديد من مركبات الفلافونويدية مثل الفلافانون والممثلة في استخلاص sakuranetin pinostrobin، pinocembrin ، narigenin بالإضافة إلى مركبات الفلافون و ثنائي هيدروفلافونول كما احتوى النبات على مركبات أخرى مثل: Artemisine،Lactones santonine [07] و المدونة في الجدول التالي:

جدول I- 1: يوضح بعض المركبات الفلافونويدية التي تم استخراجها من النبتة من خلال الدراسات السابقة

نوع الفلافونويد	البنية
4'- trihydroxyflavanone،8،Flavanone:5	
Acétophénone: 3- acetyl- 4- hydroxyacétophénone	
4'-dimethoxyflavone،7- dihydroxy-3،Flavones:5	
Flavonol:Kaempférol- 7 méthyl	
Dihydroflavonol-7-méthyl aromadendrin	

I-2-7 استعمالاته في الطب الشعبي

يستخدم في الطب الشعبي لمعالجة الاضطرابات المعدية و كذلك ضد مرض الجدري بالنسبة للأطفال الصغار. كما يستعمل في الدباغة حيث يستعمل أيضا كمدر للبول [14] ، أما الأوراق لعلاج اضطرابات الهضم والمعدة وأمراض الروماتيزم والتهاب العين، وتستخدم أيضا في تخفيض نسبة السكر و الدهون في الدم و ضغط الدم المرتفع و تستعمل أيضا كمعقم و يمكن أن يرجع ذلك إلى خصائصها المضادة للأكسدة. أما مسحوق الجزء الهوائي النبات يستخدم ككمادات لعلاج الأكزيما ، الجروح و مختلف التقرحات. و المنقوع للجذور لمداواة فروة الرأس عند الأطفال. و أظهرت الدراسات أن مستخلصات النبات وزيوته تستخدم كمضادات للأكسدة و بصفة عامة فهي مضادة للفيروسات و البكتريا و الحشرات [07].

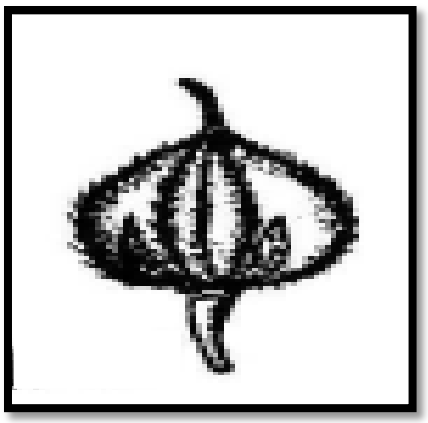
I-3 النبتة الثانية

I-3-1 العائلة *Zygophyllaceae*

هذه العائلة لها 25 جنس و 500 نوع ، وهي متواجدة في جميع الإنحاء لكن مصدرها و أفضلها في المناطق الجافة. مثل الصحراء. في الغالب متمركزة في المناطق الجافة و الشبه الجافة للمناطق الاستوائية و الشبه الاستوائية. تحتوي على 7 أجناس و 27 نوع أي هذه العائلة تكون أكثر من 3 % من مجموع نباتات الصحراء [09]. النبتة المدروسة عبارة عن شجيرة ، أوراقها شريطية متعددة الأشكال. يبلغ طول إزهارها 4-5 متر معزولة أو مزهرة غلافها الداخلي للزهور 4- 5 متر. ثمارها عبارة عن كبسولات . درست 3 أجناس رئيسية فقط من هذه العائلة و هي*Fagunia*،*Zygophyllum* ، *Tribules* و هي أجناس معقدة. تمتاز هذه العائلة النباتية بصغر حجم أوراقها و هشاشة فروعها [15].

I-3-2 الجنس *Fagunia*

يحتوي على 40 نوع موجود في البحر الأبيض المتوسط و المناطق الشبه الاستوائية و المناطق الشمالية و الجنوبية لأمريكا و أفريقيا [16].هذا الجنس معروف في المناطق الدافئة و القاحلة لجميع القارات باستثناء أستراليا سجل وجودها في تونس و الجزائر و فلسطين و سوريا جزيرة العربية ...إلخ [17] و من بين أنواع شكاعة بروغيري نجد: *F.glutinosa*، *F.isothricha* ، *F.therbica* ، *F.indica* *F.mollis* ، *F.arabica*، *F.Cretica*. . إن تحديد هذا الجنس صعب بسبب تعدد أنواعه . فهي عبارة عن شجيرات منخفضة شائكة قائمة أو منبسطة على الأرض، و هي شوكية حادة نحيلة و نادرا ما تكون نباتات عشبية. أجزاؤها الداخلية مغلفة بشكل وسائط و أوراقها تكون ثلاثية متقابلة (1-3) في قاعدتها زوجين من الأشواك شريطية و تكون هذه الأوراق غير منتظمة في أغصان بعض الأنواع . السيقان و الأوراق في كثير من الأحيان وبرية و قصيرة [09] ،و كبسولاتها على شكل بلابل فصوص (فلقة) من خمسة نجوم وبرية و تحمل في قاعدتها في بعض الأنواع سنبلة لا تتغير . زهورها إبطية طولها 5 mm ، ذات لون وردي أو أرجواني، مع تويج الغلاف الداخلي للزهرة ممتد على شكل نجمة غالبا متعدد على النبتة [09][18].



الشكل I-3 صورة الكبسولة

I-3 -3 نوع شكاعة بروغيري

هي نبتة كثيرة الإنتشار في الصحراء الشمالية و الصحراء الوسطى و صغيرة معمرة منبسطة لونها أخضر يبلغ إرتفاعها 20 سم. ثلاثية الأوراق كبسولاتها من 3-4 مم واسعة [15] . هذا النوع ينمو بكثرة في مختلف البيئات خاصة المناطق ذات الحصى الصحراوي و الحجر الرملي [17] .

و تصنف النبتة 2 كما يلي :

النطاق	**حقيقيات النوى**
المملكة	**النباتات**
الشعبة	**البذريات**
الشعبية	**كاسيات البذور**
الرتبة	**القديسيات**
الفصيلة	**القديسية**
الجنس	**شكاعة**
النوع	**شكاعة بروغيري**

I-3-4 الوصف المورفولوجي للنبتة 2

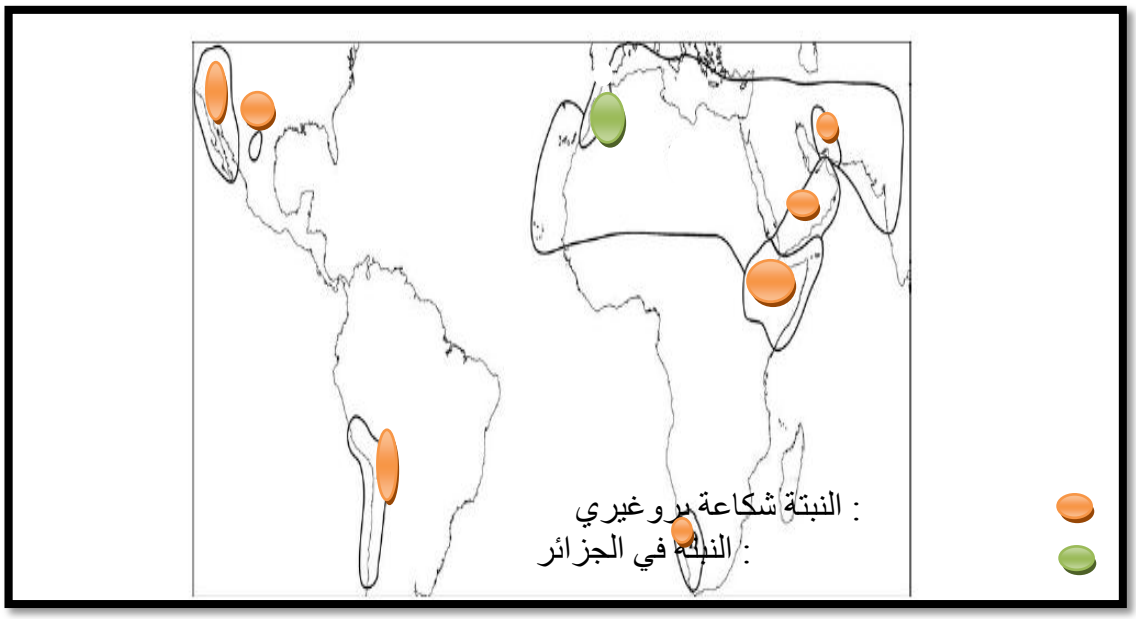
النبتة تعتبر شجيرات منخفضة ذات لون أخضر شاحب يبلغ طولها من 40 -25 سم، منبطحة و متعددة الفروع، جافة، عقد منتفخة، سيقانها مخططة، لونها أخضر فاتح، نادرا ما تكون عشبية لون الثمار أخضر شاحب أما البذور تكون بيضوية مغلفة، سويقتها صغيرة جدا [20]. طول كبسولاتها 4 مم، مغلفة فيها شعيرات بيضاء. سنبولاتها متواصلة تحت الكبسولات و تهمل بعد تفتح الزهور (بعد النضج)، أوراقها صغيرة على شكل وريقات بيضوية الشكل أو مستطيلة لا تفوت 1سم، ذو ذنب قصير أما أزهارها أقل من 5مم، ذات ألوان وردية بنفسجية موجودة في 7 صحاري و مفقودة في الصحراء الغربية [09][18].

الصورة أ تمثل شكاعة بروغيري صورة ب تمثل النبتة بعد

الشكل I-4 : صور توضح النبتة 2

I-3-5 التوزيع الجغرافي

وجدت شكاعة بروغيري موزعة في: الصحاري و المناطق الجافة و الشبه الجافة حيث توجد في الهند، أفغانستان، باكستان، أفريقيا الشمالية و الإستوائية، تشيلي و جنوب غرب الولايات المتحدة الأمريكية، و في جميع أنحاء منطقة البحر الأبيض المتوسط و بالخصوص الجنوب الغربي للجزائر [20] .



الشكل I-5 : خريطة توضح انتشار شكاعة بروغيري في العالم

I-3-6 التركيب الكيميائي

أجريت العديد من الابحاث لشكاعة بروغييري فتبين أنها تحتوي على المركبات التالية :

Glycosides ،Carbohydrates، Triterpenoids، Tanins،Saponin، flavanoids ، Cardiacylycosides ، Alkaloids، Coumarins ، cyanogenique glycosides [20].

I-3-7 إستعمالاته في الطب الشعبي

شكاعة بروغيري لها استخدامات طبية واسعة النطاق فهي مضادة للأورام ولها فعالية مضادة للأكسدة فهي مسكنة للآلام و لها وقاية ضد مرض الجدري. استخدمت في بادئ الأمر لعلاج مرض السرطان، الحمى، الربو و مدرة للبول، وجع الأسنان، أمراض المعدة و الكلى [19] [20]. و تستعمل في الجنوب الغربي للجزائر في خفض نسبة السكر و ضغط الدم حيث يتم سحقها و تأكل مع التمر أو تستعمل كمغلى للشرب كما تستعمل أيضا لعلاج الحويصلة الصفراوية .

الفصل الثاني :
منتجات الأيض الثانوي

II-1مدخل

لقد صنع العلماء العديد من العقاقير الطبية (الأدوية)كيميائيا، و استخدموها بصفة أساسية لعلاج الأمراض، و بالرغم من هذه النجاحات في مجال إنتاج الأدوية، إلا أنه في حالات كثيرة تعجز بعض المركبات العضوية المخلقة صناعيا عن محاكاة التأثير العلاجي الذي تحدثه المركبات الطبيعة و هي مازالت في صورة عقار خام رغم الدرجة العالية جدا من النقاوة للمادة المخلقة صناعيا [3]. من بين المركبات الفعالة نجد منتجات الأيض وهي مركبات عضوية يتم فصلها من النباتات و الكائنات الحية الدقيقة، حيث تسمى النباتات التي يتم فصل هذه المركبات العضوية منها بالنباتات الطبية و قد عرّف العالم Dragendroff أن كل شيء من أصل نباتي يستعمل طبيا فهو نبات طبي. وتصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين: منتجات الأيض الأولي و منتجات الأيض الثانوي التي هي محور دراستنا [21].

II-2 منتجات الأيض الثانوي

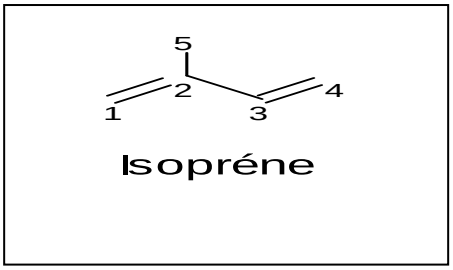
منتجات الأيض الثانوي أو " المستقلب الثانوي " مادة موجودة في الكائن الحي لا تشارك مباشرة في العمليات الأساسية للخلية الحية . بعكس منتجات الأيض الأولي هذا الأخير يشارك مباشرة في المسارات الأيضية الرئيسية للخلية الحية في النبات. منتجات الايض تتكون من آلاف الجزيئات المختلفة مثل متعدد الفينول، التربينات و الستيرول، قلويدات، ... إلخ، وعادة ما يتم جمعها في الخلايا أو الأجهزة المخصصة. ووجد أن المستقلبات الثانوية تتميز عادة بتركيزات منخفضة في الأنسجة النباتية و دورها يكمن في تكييف النبات مع بيئته و مقاومة الضغوط الحيوية مثل phytopathogens، الأعشاب الضارة، ...الخ [22] .

II-2 -1 التربينات

أ - تعريفها

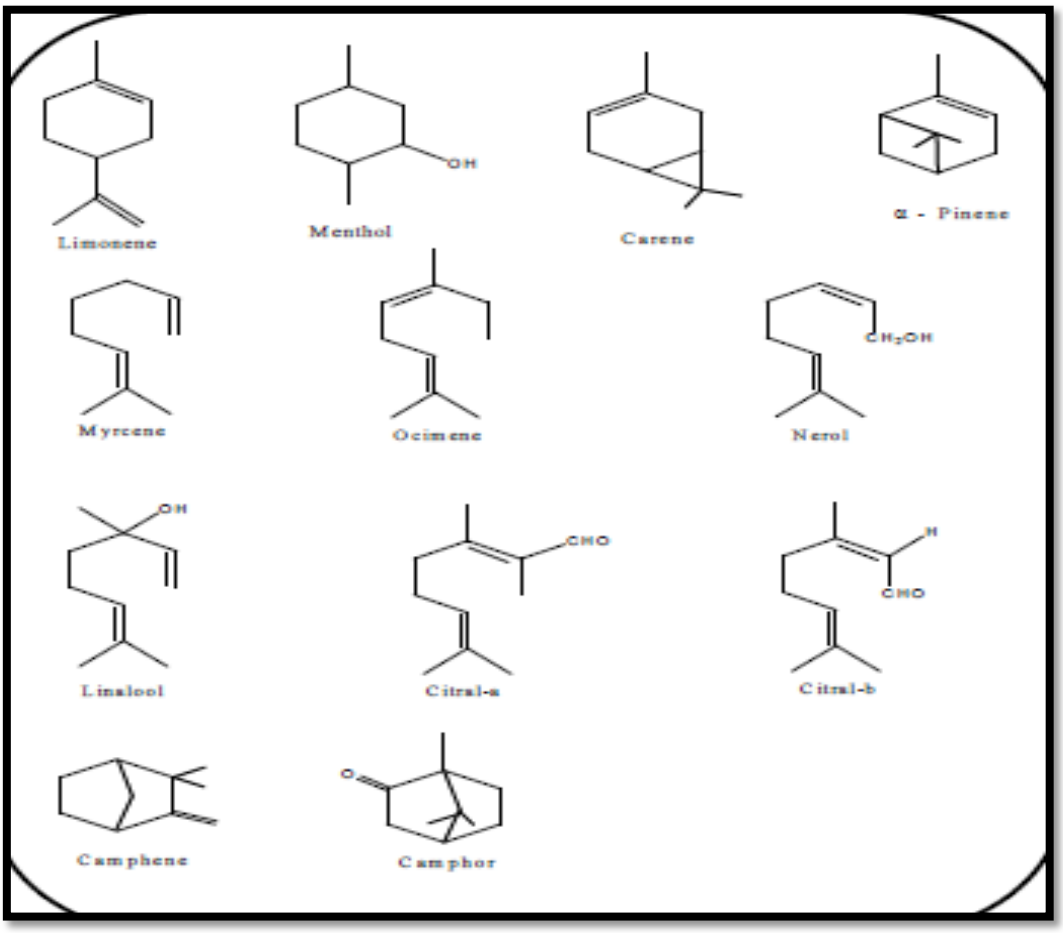
هي هيدروكربونات طبيعية، إما بنية حلقية أو سلسلة مفتوحة ، الصيغة الخاصة بها هي $(C_5H_x)_n$ التي يكون X متغيرا بناء على درجة عدم تشبع للجزيء و n تأخذ قيم من (1-8) فيما عدا في Polyterpene التي يمكن أن تصل إلى أكثر من 100(مطاط) الوحدة البنائية لها هي : isoprene الصيغة C_5H_8.

يشير مصطلح Térpenoid إلى مجموعة من المواد ذات الهيكل الأساسي للتربين مع واحد أو أكثر من الوظائف الكيميائية (الكحول – الألدهيد – الأحماض – اللاكتون ...) [04][23].



الشكل II-1: صورة وحدة الإيزوبرين

نذكر بعض أنواع التربينات المفتوحة والحلقية:



الشكل II -2 : بعض أنواع التربينات الحلقية والمفتوحة

ب- تصنيف التربينات [04]

في المملكة النباتية، تصنف التربينات مع الفلافونيدات، القلويدات، ...إلخ ويستند تصنيفها حسب عدد تكرار الوحدة الإيزوبرينية.

الجدول II - 1:تصنيف التربينات حسب عدد تكرار الوحدة الايزوبرينية

عدد ذرات الكربون	إسم التربين	وحدات الإيزوبرين
10	أحادي التربين Mono Terpenes	2
15	سيسكوتربينات Sesquitérpenes	3
20	ثنائي التربين Ditérpenes	4
30	الثلاثي التربين Triterpénes	6
40	رباعي التربين Tetraterpenes	8
أكبر من40	متعدد التربين Poly terpénes	أكبر من8

II- 2-2 المركبات الفينولية

المركبات الفينولية هي جزء من مركبات الأيض الثانوي في المملكة النباتية و لها أهمية كبيرة بالنسبة للكائن الحي. تشترك هذه المركبات في وجود حلقة بنزن واحدة أو أكثر تحمل وظيفة هيدروكسيل واحدة أو أكثر، يختلف هيكل المركبات الفينولية الطبيعية من جزيئات بسيطة (أحماض فينولية بسيطة) إلى أكثر الجزيئات عالية البلمرة (التانينات المكثفة) وتضم حوالي 8000 بنية مختلفة معروفة وهي جزء لا يتجزأ من تغذية الإنسان و الحيوان [07][25][26]. و يؤدي اختلافها إلى إعطاء العديد من المركبات: الأحماض الفينولية – الفلافونويدات- التانينات (الدباغ) Lignanes Stibénes، مختلف phytoestrogénes، (التربينات الثلاثية) Saponines والعديد من المركبات الأخرى... [07][25][27].

أ - الإصطناع الحيوي للـ polyphénol

يوجد طريقتين [25][28] :

1 - طريق حمض الشيكيميك Acide shikimique

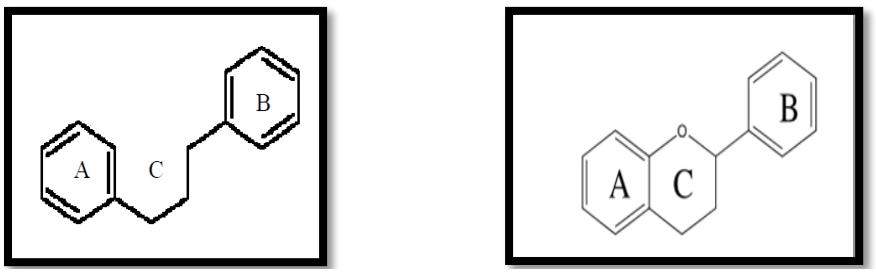
2 - طريق الخلات l'acétate

II- 3-2 الفلافونيدات

الفلافونيدات عبارة عن مركبات طبيعية بالغة الأهمية و تشكل جزء كبير من نواتج الأيض الثانوي، فهي صبغات نباتية ملونة تنتشر في الأجزاء المختلفة للنبات و تتمركز بصفة خاصة في الجزء الهوائي من النبات (ثمار، أزهار، أوراق) إذ تعطيها لون مميز.

تعزى كلمة الفلافونيد إلى أصلها لاتيني Flavus و تعني الأصفر و عرفت لأول مرة من قبل العالم Albert Szent – gyorgyi و الذي صنفها على أساس أنها فيتامين P [29] و بعدها تم التعرف على أكثر من 9000 بنية فلافونيدية [03][29- 32].

تعد الفلافونيدات من مركبات متعدد الفينول، إذ تظهر ببنى كيميائية تشترك في الهيكل القاعدي الذي يتكون من 15 ذرة كربون تتوزع على 3 حلقات كربونية C_6-C_3-C_6 [03]، حلقتين عطريتين A و B ترتبطان بسلسلة تحتوي ثلاث ذرات كربون و الجسر الرابط بين الحلقتين A وB هو الحلقة البيرانية C [27][29][33].



Benzopyrano(chromano) 2-phenyl – 4*H*-chromene

الشكل II-3 : بنية الفلافونويد

أ ـ تصنيف الفلافونيدات

يمكن تصنيف الفلافونيدات إلى ثلاث فئات تشترك عادة في الشالكون[03][34].

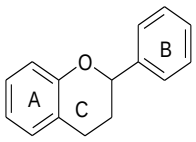
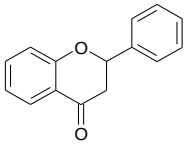
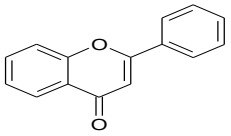
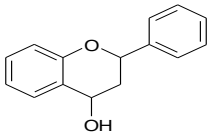
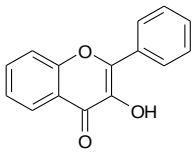
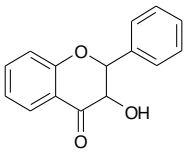
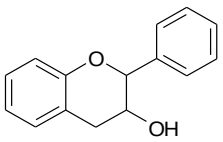
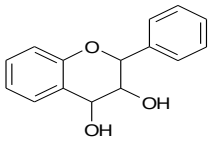
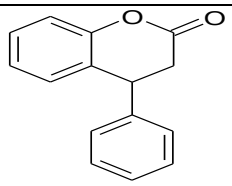
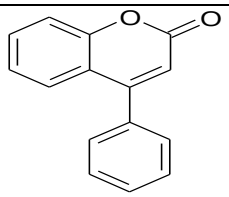
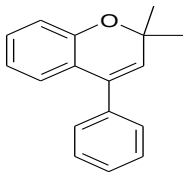
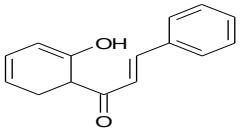
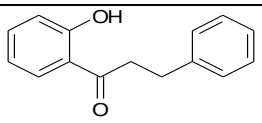
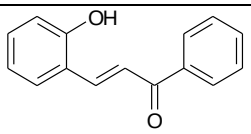
1-The Flavonoids (2- phenylbenzopyrans)

2-Isoflavonoids (3- benylbenzopyrans)

3-The Neoflavonoids (4- Benzopyrans)

بناء على درجة التأكسد و تشبع الحلقة غير المتجانسة يمكن تقسيم الفلافونويدات إلى المجموعات التالية [03][35].

الجدول II-2: يضم أقسام الفلافونويدات

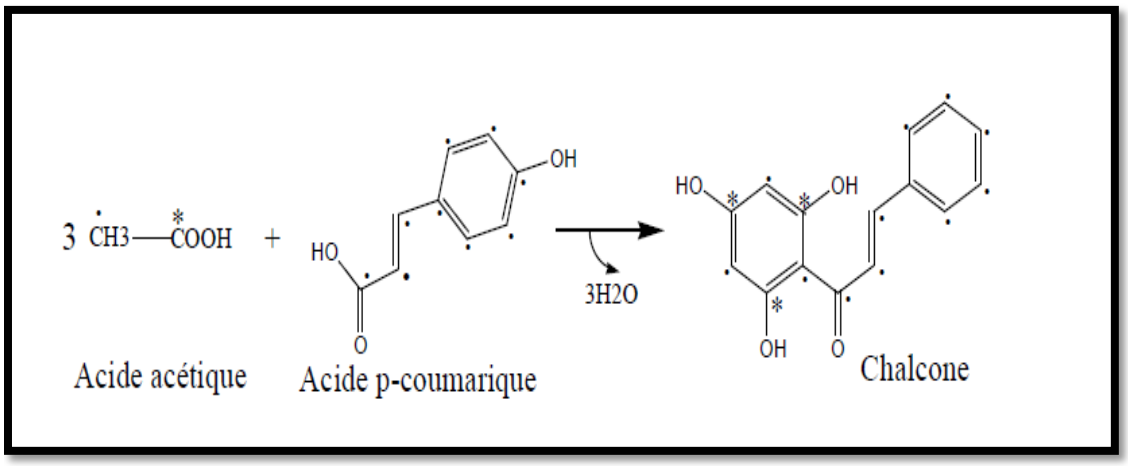
 Flavane	 Flavanone	 Flavone	 Flavan – 4- ol
 Flavonol	 Dihydroflavonol	 Flavan-3-ol	 4- diol،Flavan-3
 3,4 – dihydro – 4 – arylcoumarin		 4- arulcoumarin	 neoflavene
 2' – OH - chalcone		 2'- OH –	 2' – OH- retro –

الجدول II - 3:أهم السكريات ذات الارتباط بالفلافونيدات :

الاسم الشائع	بنية السكر
Sambubiose	*O*- β- D-xylosyl- (1→2) - glucose
Neohesperidse	*O*- α- L- rhamnosyl – (1→2) – glucose
Rutinose	*O*-α -L-rhamnosyl – (1→6) – glucose
Sophoros	*O*-β -D- glucosyl – (1→2) – glucose
Gentiobos	*O*-β -D- glucosyl – (1→6) – glucose

ب- الاصطناع الحيوي للفلافونيدات

البناء الحيوي للشالكون[36]



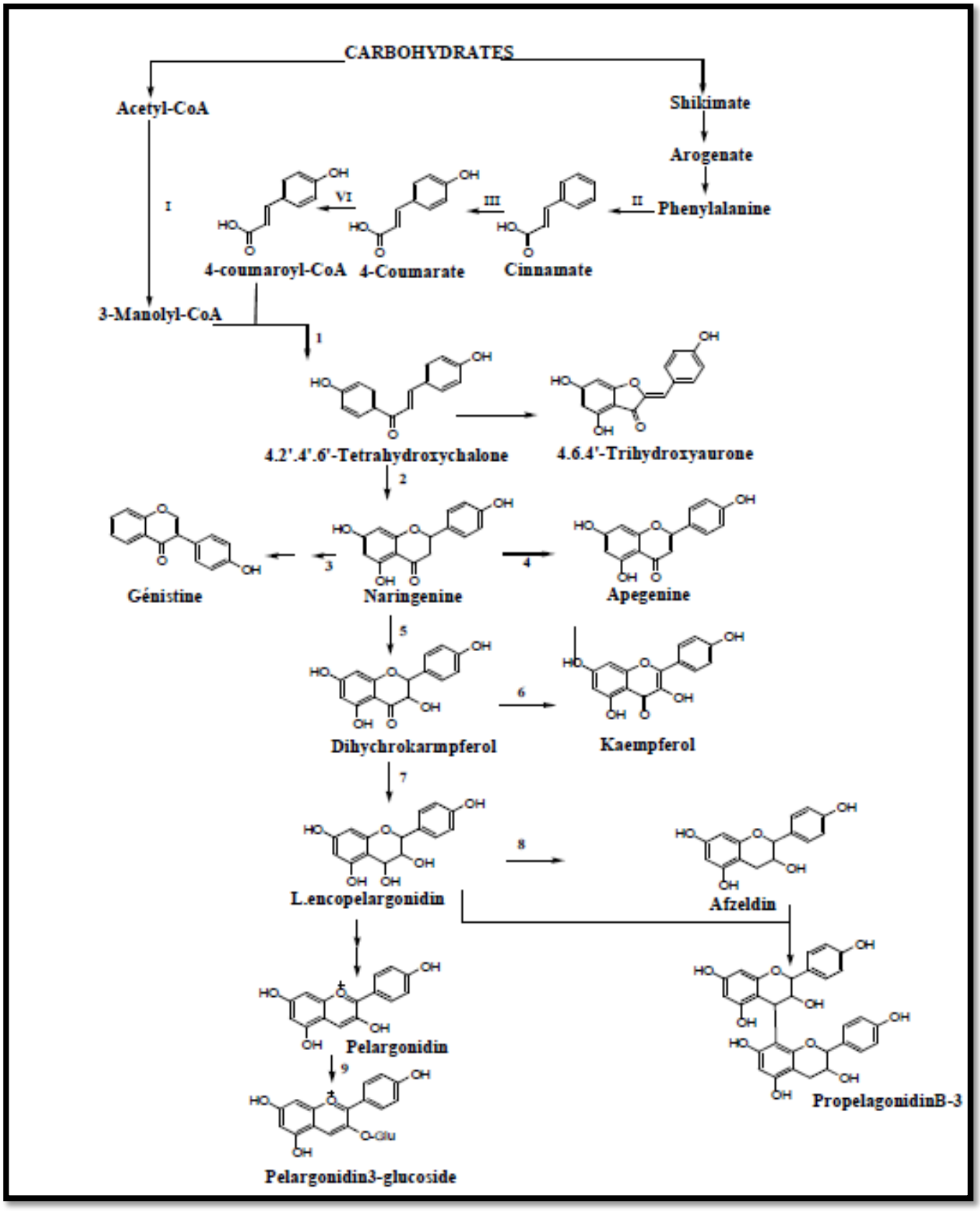
الشكل II -4 : البناء الحيوي للشالكون

الحلقة A تتشكل بتكاثف ثلاث وحدات من الـ acétate في شكل من malonyl coA مع P-coumaroyl-coA.[36]

البناء الحيوي للفلافونويدات انطلاقا من الشالكون

انطلاقا من نواة الشالكون يتم تصنيع العديد من الفلافونيدات بوجود محفزات مع الإنزيمات داخل مصدرها الطبيعي.[03][36]

مراحل الاصطناع هي



الشكل II-5 :الاصطناع الحيوي لمختلف هياكل الفلافونويد

الجدول II-4:الأنزيمات الداخلة في التصنيع الحيوي للفلافونيدات[03][36]

الرقم	الأنزيم
I	Aceyl – CoA carboxylase
II	Phenylalanineammonalyase
III	Cinnamate 4- hydroxylase
IV	4- Coumarate : CoAliase
1	Chalconesynthase
2	Chalconeisomerase
3	2 – Hydroxyisoflavonesynthase
4	Flavonesynthase
5	(2S) Flavone 3- hydroxylase
6	Flavonolsynthase
7	Dihydroflavonol 4 – reductase
8	4-cis-diol4-reductase،Flavan-3
9	Anthocyanidine/ Flavonol 3 - O - glucosyl transférase

ج - توزيعها و تواجدها في النبات و في المملكة النباتية:

تعد الفلافونيدات من نواتج الأيض الثانوي في جميع النباتات لكن يمكن أن تكون بسيطة او معقدة حسب النبات .

تتوزع هذه المركبات في كل أجزاء النبتة حيث تتواجد منحلة في الفجوات على شكل إيثيروزيدات (Hétérosidate) أكثر ذوبانية في الماء هذا ما يسمح بتخزينها في الخلية .أو كمكونات للبلاستيدات الخاصة، أما الأجليكونات فتتمركز في المناطق الليبوفيلية أي في الأنسجة السطحية للأوراق [29][30].

و كذلك في أوراق بعض النباتات على شكل بلورات في الخلية مثل Cataceae و نباتات المنطقة الجافة. تعد الفلافونيدات من مركبات متعددة الفينول تحتوي على مجموعات بديلة هي في الغالب مجموعة الهيدروكسي أو الميتوكسي، تتواجد في سيتوبلازم الخلية على هيئة جليكوزيدات أي يحتوي بناها على وحدات سكرية، التي قد تكون على هيئة سكر أحادي أو ثنائي و قد يدخل في بناء السكر أكثر من وحدتين [29]، كما تتواجد في قشور الفواكه الحمضية و الخضروات و البذور بشتى أنواعها و الباقوليات الخضراء، الشاي، القهوة والكاكاو

...ألخ[30]. الحيوانات أيضا معنية بالفلافونويدات، مثلا chrysine ، quercétine و galangine في دنج النحل. و لوحظ أن الفلافانون و الفلافون تم عزله من المرجان البحري و عدد قليل من الفطر[25].

د- خصائصها

الفلافونيدات مركبات هيدروكسيلية تتصف بخواص الفينولات فهي مركبات ذات صفة حمضية ضعيفة تذوب في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم و تتصف الفلافونيدات التي تحمل عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي شق سكري بالصفة القطبية، و لذلك فهي تذوب في المذيبات القطبية مثل الميثانول و الايثانول و الأسيتون و الماء [03].

أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات و كذلك الفلافانونات و الفلافونات التي تحمل عدد أكبر من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثر [03][22][29].

هـ - الفعالية المضادة للأكسدة للفلافونيدات

الفلافونيدات هي مضادات للأكسدة والأمراض مثل السرطان و أمراض القلب و الأوعية الدموي، القرحة المعدة، الحساسية، الهشاشة، الالتهابات الوعائية و الفيروسية و البكتيرية [37].

كما تستطيع تثبط الفلافونويدات الأكسدة الفوقية لليبيدات في المرحلة الابتدائية باقتناصها للجذور الهيدروكسيل وذلك لقدرتها على التداخل مع الطبقة ثنائية الليبيدات للغشاء الخلوي، كما تنتهي سلسلة تفاعلات الجذور الحرة وذلك بإعطائها ذرات الهيدروجين لجذور البيروكسي مشكلة بذلك جذر الفلافونويد [31].

تثبيط بعض الأنزيمات أو خليط من أيونات المعادن، تشارك في إنتاجها، حماية أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة في الجسم [25][31].

و -الدراسة الكيميائية للفلافونيدات

الاستخلاص [03]

عادة يتم الاستخلاص على الأجزاء الهوائية لاحتوائها على الفلافونيدات، لذلك توجد طرق ثابتة للاستخلاص تعتمد على التركيب الكيميائي لكل نوع من المركبات نذكر منها:

الاستخلاص بواسطة الماء و الكلوروهيدريك ($HCl /H_2 O$) طريقة لوبرتون.

الاستخلاص بواسطة الايثانول و الماء ($H_2 O/C_2 H_5 OH$).

الاستخلاص بواسطة الأسيتون و الماء ($CH_3 COCH_3 /H_2 O$).

يعد الاستخلاص بواسطة الايثانول أو الميثانول و الماء من أكثر الطرق إتباعا.

فصل و تنقية الفلافونيدات[35]

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)

تستعمل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لمعرفة عدد المركبات أو التنقية بعد الفصل بواسطة العمود الكروماتوغرافي و تحتوي هلام السيليس أو متعدد الأميد أو السيليلوز.

كروماتوغرافيا الورق (CP):

مصنوعة من السيليلوز 3،Whatman N.1 تستعمل هذه التقنية لمعرفة العدد التقريبي للمركبات أو التنقية بعد الفصل بواسطة العمود الكروماتوغرافي و عند فصل كميات قليلة من المستخلص.

كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

تساعد هذه التقنية على معرفة العدد التقريبي للمركبات الموجودة في المستخلص و نوع المركب إذا كانت مرفقة بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية و مطيافية الكتلة [03].

كروماتوغرفيا الطور الغازي المرافق بمطيافية الكتلة (GC-MS)

تساعد في معرفة العدد التقريبي للمركبات الموجودة في المستخلص و نوع المركب إذا كانت مرفقة بجهاز مطيافية الكتلة و تستعمل فقط في المركبات سريعة التطاير أي مستخلص ثنائي كلوروميثان.

كروماتوغرفيا العمود (CC)

تستعمل لفصل المركبات بكميات كبيرة و يستعمل كطور ثابت هلام السيليس و السيليلوز و متعدد الأميد، أما الطور المتحرك فيستعمل مذيبات مختلفة القطبية و يتم الكشف عن المركبات المفصولة بواسطة مصباح UV في وجود و عدم وجود النشادر[03][38].

الجدولII-5 :علاقة موقع المستبدلات بالألوان[33].

لون البقعة تحت الأشعة (UV)		المركب الفلافونيدي المحتمل
غياب NH_3	وجودNH_3	
بنفسجي - أسود	أصفر أو أصفر مخضر	Flavones (5- OH); Flavonols (3-OH ،4-OH)
	تغير طفيف أو عدم تغير اللون	Flavones ; Flavonols (3-OR ،4 ،5-OH-OH) Flavones(6-OH ou 8 – OH)
أزرق	أصفر- مخضر أو أزرق - مخضر	Flavones (5 – OR); Flavonls(3 –OR ،5 – OR)
أصفر فاقع أو أصفر باهت	تغير طفيف أو عدم تغير اللون	Flavones (3 – OH ،5 – OR); Flavonols (3 –OH ،5 –OH)

التحليل الطيفي للفلافونيدات

مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

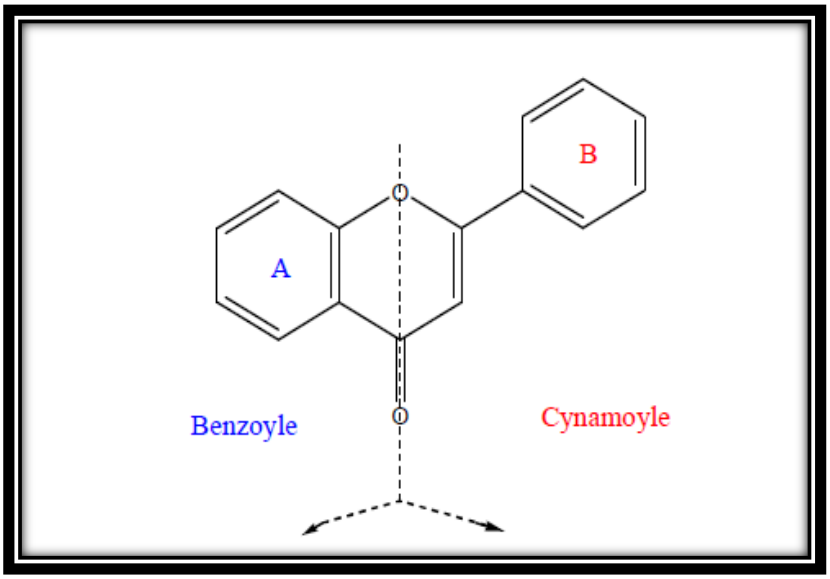
الفلافونيدات واحدة من المركبات القادرة على إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية، و ذلك لإحتوائها على Chromophores و هذه الأخيرة(عبارة عن مواقع غنية بالإلكترونات كما قد تكون عبارة عن مجموعات كيميائية مثل مجموعة الهيدروكسيل OH- و مجموعة الميتوكسيل OCH_3-).

يعتمد أساس تقنية مطيافية الأشعة فوق البنفسجية في كون كل مركب فلافونويدي له طيف إمتصاص مميز في الوسط الميثانولي و إضافة كواشف مختلفة مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH إلى الوسط الميثانولي للمركب الفلافونويدي يعطي لون مع هذه الكواشف نتيجة لتكوين معقدات معها.

إن طيف الإمتصاص في الميثانول للصيغة الفلافونويدية (فلافون و الفلافونول) يعطي عصابتين أساسيتين:

العصابة I: تقع بين (400-300nm) و تعود إلى إمتصاص الشكل Cinnamoyle و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل C4 مع الحلقة البنزينية B.

العصابة II: تقع بين (280-250nm) و تعود إلى إمتصاص الشكل Benzoyle للمركب و ذلك نتيجة للرنين الناتج عن ترافق مجموعة كربونيل C4 مع الحلقة البنزينية A[39].



الشكل II-6: ترافق مجموعة الكربونيل مع كل من الحلقتين A و B

الجدول II-6:طيف الأشعة الفوق البنفسجية UV[26][40] :

Réactifs	Déplacements BandeIIBandeI	Interprétations
MeOH	310-350 250-280 330-360 250-280 350-380 250-280	Flavones Flavonols (3-OH substitue) Flavonols (3-OHLibére)
NaOH	+45 à65 BI avec stabité d'intensité +50 à 60 avec diminution d'intensité Faible déplacement avec dimintion d'intensité Absence de pic entre320-335 Apparition d'un pic entre BI et BII Transformation de BI en une inflexion	4'OH 4'-di OH،3' 4'-OMe 7-OR 7-OH 5-OH
$AlCl_3$ +MeOH	+20 à 45 +60	5-OH 3-OH
$AlCl_3$ +HCl/ $AlCl_3$	+30à 45 +10 +20	4'-di OH،3' OMe،4'-OH،3' 5'-tri OH،4'،3'
$AlCl_3$ +HCl/ MeOH	+35 à 55 +17 à 20	5-OH 5-OH
NaOAc /MeOH	+20 à 80 Déplacement très faible Diminution d'intensité avec le temps Spectre se décompose avec le temps	7-OH 7-OR 4'-di OH،8 ou 3'،7 ;7،6 4'-tri ،3'،8 ou 3،7،7 ; 5،6،5 OH
NaOAc +H_3BO_3 /MeOH	+12à36 +5 à 10	4'-di OH،3' 8- di OH،7 ou 7،6

الفصل الثالث :

الإجهاد التأكسدي و مضادات الأكسدة و الفعاليات المضادة للبكتيريا

III-1 دراسة الفعالية المضادة للأكسدة

III-1-1 مدخل

تتكون الجذور الحرة داخل الأنسجة الحية كنواتج كيميائية ثانوية لعملية التمثيل الغذائي أو الأيض التي تحدث في الجسم بصورة مستمرة. و تعمل الجذور الحرة على مهاجمة و تدمير مكونات الخلايا لتحدث بها أضرار بالغة في مادتها الوراثية ADN و وظائفها الخلوية المختلفة [41].

إن الأكسجين الجزيئي O_2 سام و مهم في آن واحد، يحمله الإنسان وكل الأجسام الهوائية، هذا الغاز هو القابل النهائي للالكترونات على مستوى السلسلة التنفسية، حيث يسمح بتخزين الطاقة على شكل أدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP و يسمح الأكسجين أيضا بتسيير بعض الأنظمة الأنزيمية إلا أن هذا الاستعمال للأكسجين يؤدي إلى تكوين مواد كيميائية جد فعالة ألا و هي الجذور الحرة الأكسجينية (Oxygen free radicals) [42].

III-1-2 الإجهاد التاكسدي

هو اختلال التوازن بين المؤكسدات و بين مضادات الأكسدة بالجسم و هذا الاختلال راجع إلى الإنتاج المفرط للمؤكسدات و نقص في مضادات الأكسدة [43][44][45].

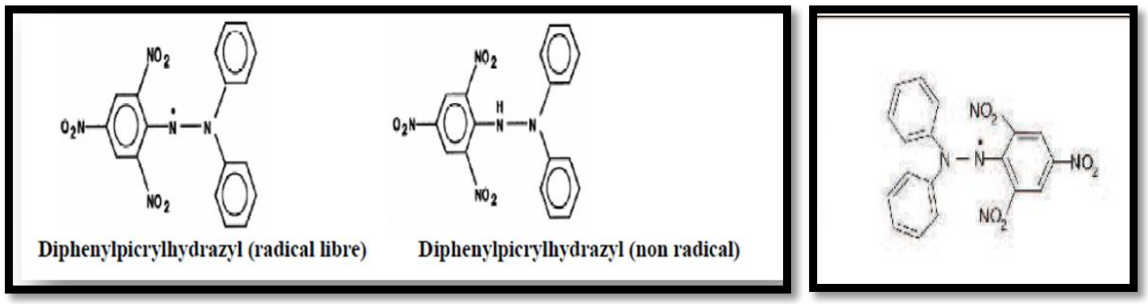
III-1-3 تعريف الجذر الحر (المؤكسدات)

تعرف الجذور الحرة بأنها أنواع كيميائية (ذرات أو جزيئات) تملك إلكترون أو أكثر حر في المدار الخارجي، وجود هذه إلكترونات تجعل هذه الأنواع غير مستقرة وأكثر لذا تسعى لإكمال هذا النقص بهجومها على مركبات بها ذرات تملك كمًا من الإلكترونات [34]. تُنتج الخلايا المؤكسدات و الأنواع النشطة بتراكيز ضعيفة خلال العمليات الأيضية فكثير من التفاعلات البيولوجية تقوم بأكسدة مواد التفاعل التي يكون فيها الأكسجين الجزيئي هو المستقبل النهائي للإلكترونات، الذي يدخل في تشكيل الأنواع الأكسجينية النشطة Oxygene (ROS) species Reactive التي يمكن أن تكون جذرية أو غير جذرية [42] [43][44]. و من أهم الجذور ندرس ما يلي:

III-1-4 الجذر $DPPH^{\cdot}$

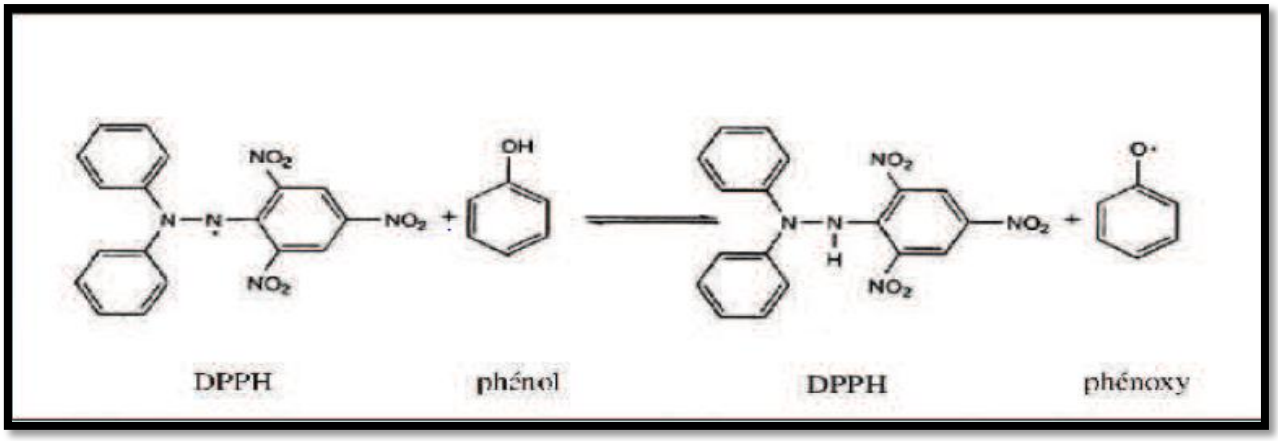
المركب الكيميائي 2،2-Picryldiphenyl-1-hydrazyle أول جذر حر أستخدم لدراسة علاقة النشاط التأكسدي للمركبات الفينولية.

إختبار الجذر $DPPH^{\cdot}$ يعتبر الطريقة الأكثر استعمالا لإختبار الفعالية المضادة للأكسدة و هذا بسبب إستقراره و بساطة تفاعله الذي ينطوي بين الجذر و المضاد للأكسدة، حيث عند إرجاع الجذر يتغير لونه من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر، تقرأ عند الطول الموجي من [520 nm - 515 nm][12][30][46].



الشكل III-1 : الشكل الحر (المؤكسد) و المرجع لـ DPPH

عند إضافة $DPPH^{\bullet}$ إلى المادة المضادة للأكسدة نحصل على الصيغة المرجعة DPPH يمكن ملاحظة هذا الإرجاع بفقدان اللون البنفسجي. وفق المعادلة التالية [30]**:**



الشكل III-2 : معادلة توضح إرجاع DPPH

III-1-5 مضادات الأكسدة

مضادات الأكسدة هي كل مادة أو مركب له فعالية ضد الجذور الحرة ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع انتشارها أو هدمها. تقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية [30][44].

III-1-5-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة أهمها SOD و CAT و GPX [34][45] .

III-1-5-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

معظم هذه المركبات تأتي من الأغذية و لا تصنع حيويا و من أمثلتها الفيتامينات Vit.E و Vit.C. تتميز مضادات الأكسدة غير إنزيمية بأوزان جزئية منخفضة و القدرة على الوقاية و/أو الحد من أضرار الإجهاد التأكسدي و معظمها مركبات فينولية لها حلقة عطرية واحدة على الأقل. حيث تقوم بدور فعال لكبح الجذور الحرة من جهة و تعزز مناعة الجسم اتجاه الأمراض من جهة أخرى [26][45][47] مثل الفلافونويدات. هذه الأخيرة حظيت حديثا باهتمام كبير كمضادات لأكسدة قوية حيث تقوم بتثبيط الإنزيمات المنتجة للجذور الحرة وأسر الجذور الأكسيجينية النشطة ROS، أو إزاحة هذه الجذور و إستخلاب المعادن المولدة للـ ROS و حماية الأنظمة المضادة للأكسدة الداخل خلوية و تجديد الأنظمة المضادة للأكسدة [22][44].

III-2 دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا

III-2-1 تعريف البكتيريا

كائنات دقيقة مجهرية بدائية النوى، يوجد فيها حوالي 1500 نوع أو أكثر فهي مخلوقات لا ترى إلا بالمجهر حيث يتراوح حجمها بين 1um إلى 10 um[34]. البكتريا تتكون من خلية واحدة و لها عدة أشكال متعددة [48].

III-2-2 مكونات البكتيريا

III-2-2-1 المكونات الأساسية [34]

الجدار الخلوي

جدار سميك يتكون من طبقتين في البكتيريا الموجبة وثلاث طبقات في البكتريا السالبة، ومن مكوناتها بروتينات بسيطة، السكريات والدهون، من وظائفه إعطاء البكتيريا الشكل المميز، المساهمة في عملية الإنقسام حماية مكوناتها، نقل مختلف المكونات داخل الخلية و إلى الوسط الخارجي، يحدد نوع صبغة البكتيريا و يحوي السم الداخلي للبكتريا.

الغشاء البلازمي

غشاء رقيق يقع تحت جدار الخلية يتكون من: الدهون الفوسفاتية (35%)، البروتينات التي تربط معها (65%)، يمتاز بخاصية النفاذية يسمح بمرور الماء و بعض المواد الغذائية اللازمة للنمو والنشاط، وظيفته القيام ببعض العمليات الحيوية مثل إنتاج الطاقة بهدم المواد السكرية، وهو مركز الإنزيمات.

السيتوبلازم

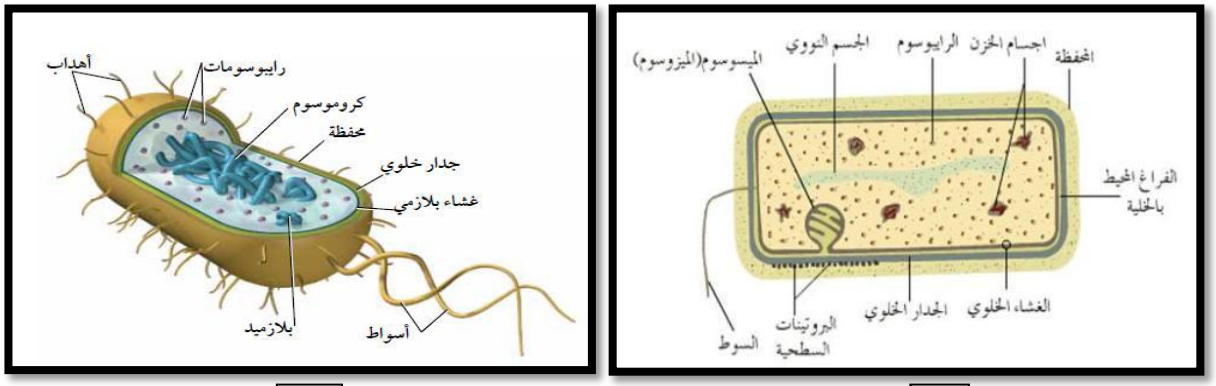
يتكون مواد بروتينية و إنزيمات ذائبة أو عالقة في الماء و السكريات لتخليق البروتين و مختلف الريبوزومات الليبيدية و متعدد الفوسفات. و يوجد في مركز السيتوبلازم نيكليوتيد يحتوي على جزيئة واحدة من ADNبالإضافة إلى جزيئات صغيرة من ADN الدائري و تسمى البلازميدات، هذه المكونات تشكل جهاز الوراثة البكتيري.

النواة

لا تحتوي الخلية البكتيرية على نواة مثل أنوية الكائنات الحية الأخرى فهي بسيطة تتكون من كروموزوم واحد ملتف حول نفسه يتواجد في مركز الخلية، ليست محاطة بغشاء نووي لا تحتوي على نويات أو سائل نووي وظيفتها هي السيطرة على جميع العمليات الحيوية للخلية.

III-2-2-2 الأجزاء الإضافية

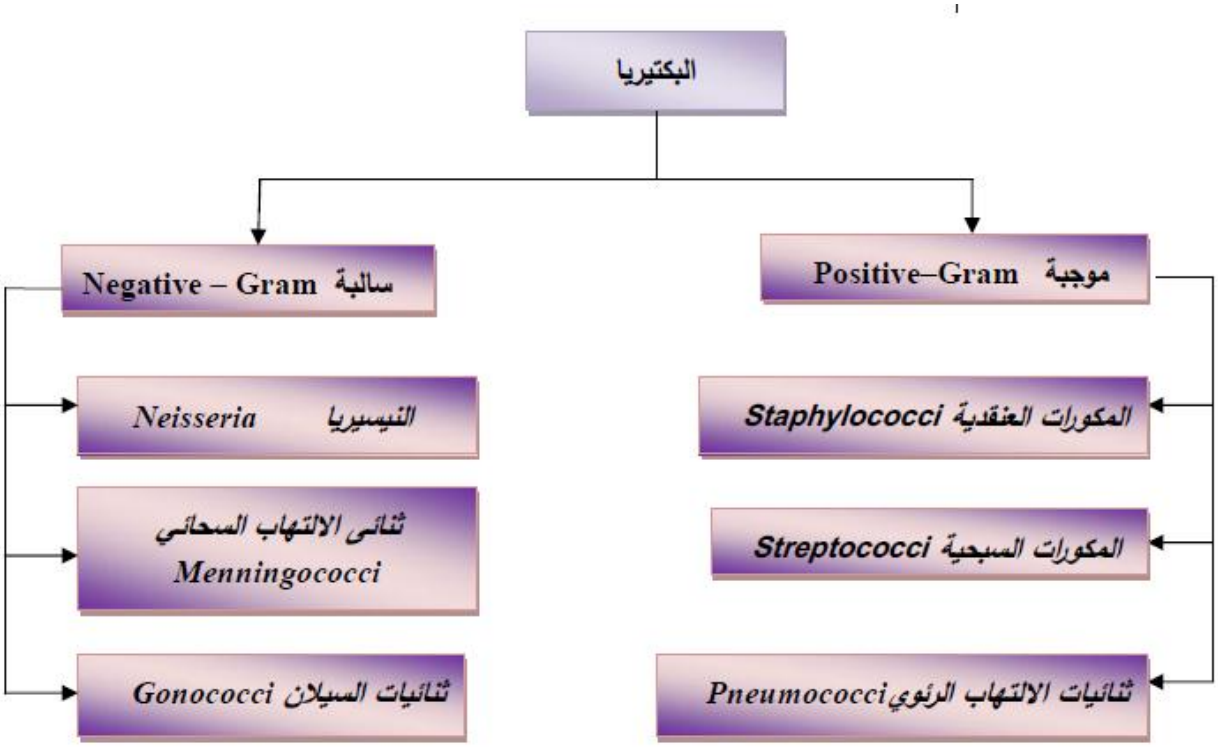
المحفظة الكبسولة، الأسواط، الأهداب، الجراثيم الداخلية أو الأبواغ [34].



الشكل III-3 (1-2) : مكونات البكتيريا

III-2-3 تصنيف البكتيريا[34]

III-2-3-1 تصنيف البكتيريا حسب استجابتها للصبغة الغرام

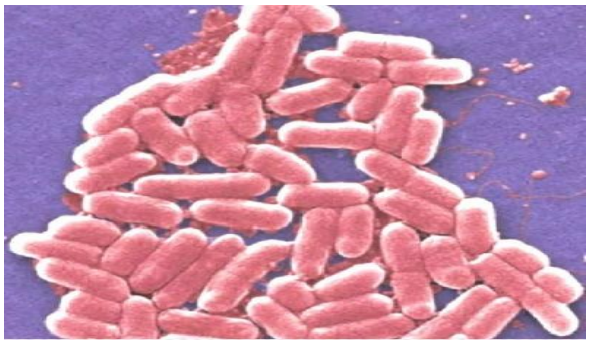


الشكل III-4 : تصنيف البكتيريا حسب استجابتها للصبغة الغرام

III-2-4 أنواع البكتريا المختارة للدراسة

III-2-4-1 بكتيريا القولون *(Escherichia coli)*

بكتيريا عصوية سالبة لصبغة الغرام، من العائلة المعوية يتراوح معدل أبعادها ما بين (2.5 X 0.8 um)



الشكل III-5 : صورة لبكتيريا القولون *(Escherichia coli)*

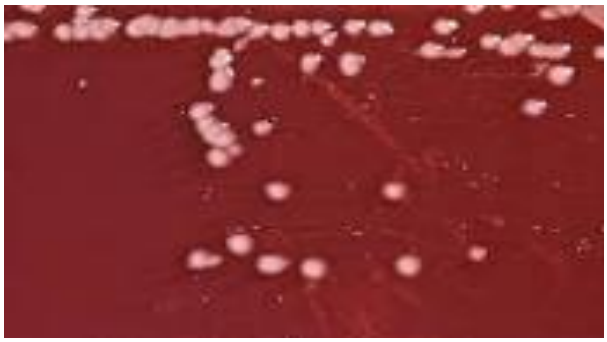
III-2-4-2 المكورات الذهبية العنقودية (*staphylococcus aureus)*

شكلها مكور، تجمعها عنقودي، ايجابية لصبغة الغرام، يتراوح قطرها ما بين (0.8 um -1)، لها محفظة غير مكونة للأبواغ، غير متحركة لا هوائية اختياريا، مقاومة للجفاف لدرجة الحرارة العالية [03].

الشكل III-6 : صورة لـبكتريا المكورات الذهبية العنقودية
(*staphylococcus aureus)*

III-2-4- 3 الزائفة الزنجارية (*pseudomonas aeruginosa*)

بكتيريا سالبة الغرام، عصوية الشكل و قضيبية السوط لها القدرة على الإزهار في ظروف قاسية نتيجة لصلابة جدار الخلية مقاومتها للمضادات الحيوية و هي تصنف كأحد عوامل العدوى الإنتهازية المرتبطة بالمحال الطبي[03].



الشكل III–7: صورة لبكتيريا الزائفة الزنجارية
(Pseudomonas aeruginosa)

III-2-5 اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا[25]

في السنوات الأخيرة اهتم الباحثين باكتشاف عوامل جديدة مضادة للميكروبات. بسبب انتشار العدوى المتزايد بالكائنات الدقيقة المقاومة للمضادات الحيوية، من الأساليب الشائعة للعثور على المواد الفعالة بيولوجيا هي الفحص المنتظم للكائنات الحية الدقيقة أو النباتات كمصدر للعلاج.

III-2-6 آلية تأثير مضادات الميكروبات من متعدد الفينول

يمكن القول أنها معقدة جدا، و يمكن أن تشمل وسائط متعددة من العوامل مثل تثبيط إنزيمات الخلية الميكروبية، وعزل الركيزة للنمو الميكروبي أو مخلبية المعادن مثل الحديد، تثبيط الغشاء الهيولى الذي يسبب تسرب المكونات الخلوية و تأثيرها للحمض النووي ADN و ARN ، البروتينات الذهنية. و يعتمد أسلوب عمل المضادات للميكروبات على نوع الكائنات الدقيقة [13] [25].

الجانب التطبيقي

الفصل الرابع : الجزء التطبيقي

IV–1-الدراسة الفيتوكيميائية للنبتتين الشيح الحقلي و شكاعة بروغيري

IV -1 -1-المادة النباتية

IV -1-1 - أ- القطف والتجفيف

تم جمع النبتتين في شهر جانفي 2018 من ولاية بشار . ثم أجريت عملية تجفيف المادة النباتية في مكان خاص تحت الظل وبعيدا عن الرطوبة.

IV -1 -1- ب - الطحن

قمنا بتحضير مسحوق النبتتين و ذلك بطحن المادة النباتية بعد التأكد من أنها جافة في مطحنة كهربائية ثم غربلتها، أحتفظ بمسحوق النبتة في قارورات زجاجية عاتمة ومحكمة الغلق وبعيدا عن الحرارة إلى حين إستعمالها.

IV -1–2- الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية للنبتتين

قمنا بتحضير 10 g من مسحوق النبتتين كل على حدى و نقع في الايثانول لمدة 24 ساعة، ثم رشح واستعمل للمسح الفيتوكيميائي.

IV-1 -1-2 - الكشف عن الفلافونويدات Les flavonoïdes

- **اختبار Shinoda**

نأخذ 1ml من المستخلص الإيثانولي و نضيف له كمية من Mg ثم نضيف له قطرات من حمضHCl المركز ذو 37% مع أخذ الحيطة. **نلاحظ :** ظهور لون أحمر دليل على وجود الفلافونيدات.

- **اختبار الكشف القاعدي**NaOH

1ml من المستخلص الإيثانولي نضيف له NaOH مشبع. **نلاحظ** ظهور لون أصفر.

IV-1 -2-2-الكشف عن العفصيات (التانينات Les tanins)

نأخذ 0.5 ml من المستخلص الإيثانولي و نضيف له 3ml من H_2O و بضع قطرات (1-2) من $FeCl_3$ **يلاحظ** ظهور لون أخضر.

IV-1-2-3- الكشف عن الكومارينات(Les coumarines)

نقوم بوضع 2ml من المستخلص الإيثانولي نضيف له 3ml من قاعدة NaOH 10% . **يلاحظ** ظهور لون أصفر دليل على تواجد مركبات الكومارينات.

IV-1-2-4- الكشف عن الستيرولات و التربينات الثلاثية

- **اختبار Salkowski**

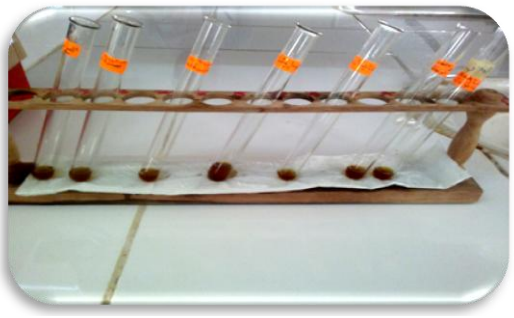
نأخذ 1ml من المستخلص EtOH و نضيف له 5ml من الكلوروفورم ($CHCl_3$)و 1ml من H_2SO_4 مع عملية الرج و بحذر **نلاحظ** ظهور لون أحمر قرمزي في الطبقة السفلى يدل على تواجد الستيرولات.

- **اختبارLiebermann-Burecharded**

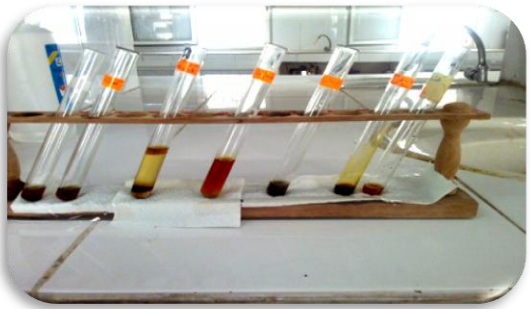
نأخذ 1ml من المستخلص EtOH و نضيف قطرات من بلاماءات الأستيك Anhydride acide Acétique و القليل من حمض H_2SO_4 **نلاحظ** ظهور حلقة حمراء دليل على وجود التربينات الثلاثية و ظهور الحلقة الخضراء دليل على وجود الستيرولات.

IV-1-2-5– الكشف عن الصابونين

نأخذ 5ml من المستخلص السابق و يرج جيدا ،عند تشكل رغوة ثابتة لمدة 15min يدل على تواجد الصابونين.

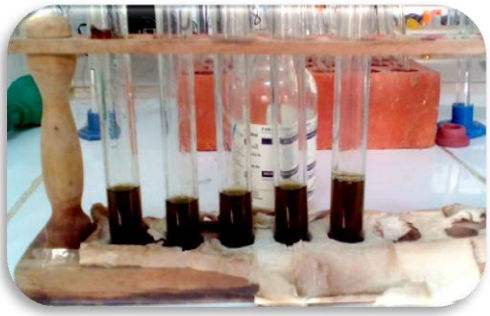


قبل إضافة الكواشف

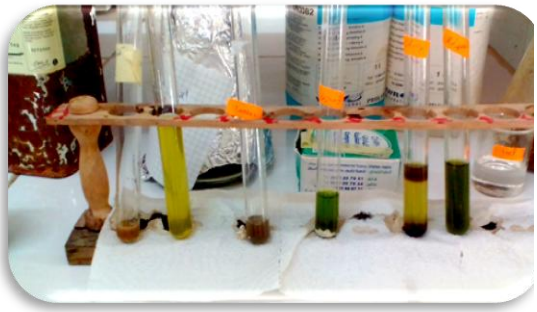


بعد إضافة الكواشف

الشكل IV-1- المستخلص الإيثانولي للنبتة 1 قبل و بعد الكشف عن المركبات الأولية



قبل إضافة الكواشف



بعد إضافة الكواشف

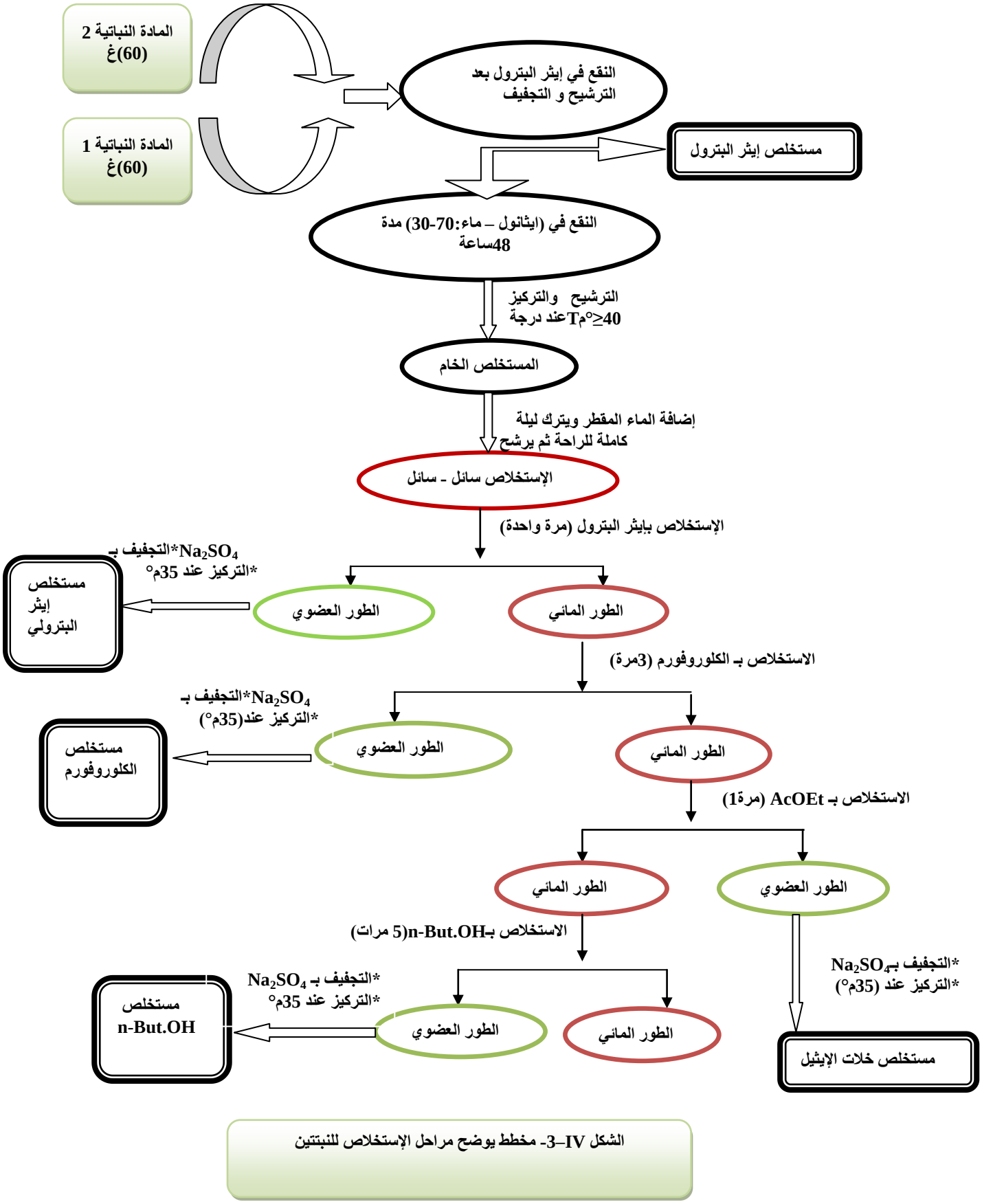
الشكل IV-2- المستخلص الإيثانولي للنبتة 2 قبل و بعد الكشف عن المركبات الأولية

I -1-3 الإستخلاص

بعد تحضير المادة النباتية (عملية التجفيف والسحق) نقعت في إيثر البترول لمدة 24ساعة لنزع الكلوروفيل والدهون بصفة عامة ، ثم رشحت وجففت وبعدها نقعت في محلول كحولي ($70/30:EtOH/H_2O$) و تركت لمدة 48 ساعة، وبعدما تم الترشيح كررت العملية خمس مرات للنبتتين، ثم قمنا بتبخير المذيب الكحولي للحصول على المستخلص الخام. أضفنا للمستخلص الخام 35 ml من الماء المقطر الدافئ ويترك ليلة كاملة للراحة، ثم رشح للتخلص من الرواسب.

قمنا بفصل انتقائي من نوع سائل – سائل بدأنا بالمركبات الأقل قطبية إلى الأعلى قطبية مبتدئين بالكلوروفورم تكرر العملية 3 مرات ثم خلات الإيثيل كررت العملية مرة واحدة و انتهاءا بالبيتانول و كررت العملية لأكثر من مرة (بالنسبة للنبتتين كررنا 5 مرات).

نوضح عملية الاستخلاص للنبتتين كل على حدى بالمخطط التالي:



الشكل IV–3- مخطط يوضح مراحل الإستخلاص للنبتتين

IV–1– 3-1-المردودية الإنتاجية لمختلف المستخلصات :

المردودية الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها والتي نرمز لها بـ (Me) على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة ويرمز لها بالرمز ($M\vartheta$) ويحسب باستخدام العلاقة التالية:

$$R\% = (Me / M\vartheta) * 100$$

R%: المردودية الإنتاجية للمستخلصات %.

***Me*:** كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب .

***Mϑ*:** كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص .

الجدول -IV-2 - مردود مختلف المستخلصات .

المادة النباتية	المستخلص	وزن كل مستخلص	المردود%
المادة النباتية 1 (60غ)	مستخلص إيثر البترول	0.1001غ	0.1668%
	المستخلص الكلوروفورمي	0.3309غ	0.5515 %
	مستخلص خلات الايثيل	0.1571غ	0.2618 %
	المستخلص البيتانولي	03.4463غ	05.7438 %
المادة النباتية 2 (60غ)	مستخلص إيثر البترول	0.5984غ	0.9973 %
	المستخلص الكلوروفورمي	0.5604غ	0.934 %
	مستخلص خلات الإيثيل	0.1485غ	0.2475 %
	المستخلص البيتانولي	03.0830غ	05.1383 %

IV– 2 الكشف بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

يعتبر الكشف بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وسيلة فعالة للكشف عن المركبات الموجودة في المستخلصات و إعطاء صورة بسيطة عن ما تحتويه هذه المستخلصات بالإضافة إلى سرعتها و معرفة قطبيتها. أطوار هذا النوع من التحليل هو الطور الثابت عبارة عن بولي أميد أو السليكاجال أو السيليلوز، أما الطور المتحرك هو مزيج من المذيبات مختلفة القطبية، تعتمد في مبدئها على ظاهرة الامتصاص و الذوبانية ومن العوامل المحددة لها هي:. R_f

ومن هذا المنطق سيتم دراسة مستخلصاتنا حسب تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCMالتحليلية والتحضيرية. الطور الساكن من السليكاجال والطور المتحرك باستعمال مذيبات مختلفة القطبية .

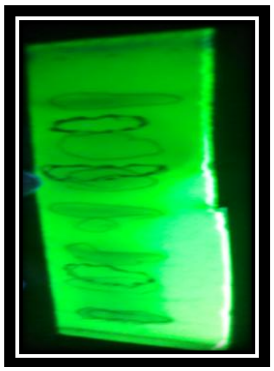
IV-2 -1 مستخلص الكلوروفورم

الجدول IV - 3 - يوضح إختبارات نظام الهجرة المناسب للكشف:

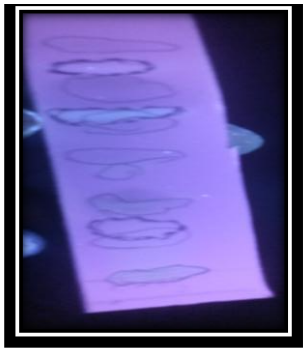
النظام	النسب
هكسان /كلوروفورم / خلات الإيثيل	1/1/2 : 1/1/1 : 2/2/1 : 4/4/1
ثنائي كلوروميثان/ ميثانول	10/1 : 20/1
هكسان/خلات الإيثيل	3/1 : 9/1 : 10/1 : 20/1
كلوروفورم / ميثانول	9/1 : 10/1 : 15/1 : 20/1

النظام الذي أعطى أحسن فصل للمركبات هو:

النبتة 1: هكسان / كلوروفورم / خلات الإيثيل (1/1/1) وهو الذي تم به الكشف في الخلية الكروماتوغرافية

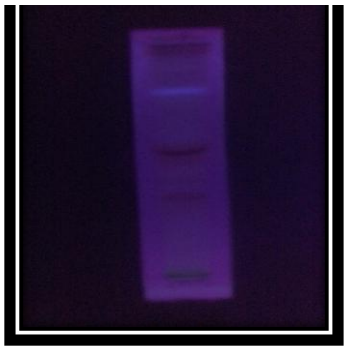


طبقة CCM تحت مصباح 254 nm

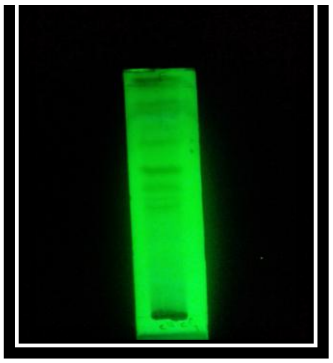


طبقة CCM تحت مصباح 365 nm

النبتة 2 :هكسان /كلوروفورم /خلات الإيثيل (2/1/1) وهو الذي تم به الكشف، النتائج المحصل عليه موضح في الشكل: **الشكل IV- 4- يمثل صور طبقة الـCCM- تحت UV-Vis للنبتة 1 لمستخلص الكلوروفورم**



طبقة CCM تحت مصباح 365nm



طبقة CCM تحت مصباح 254 nm

الشكل IV- 5- يمثل صور طبقة الـ CCM تحت UV-Vis للنبتة 2 للمستخلص الكلوروفورمي

حيث نعرض الصفيحة لهجرتين في نفس الطور المتحرك ثم تجفف ونقرأ النتائج في مصباح الأشعة فوق البنفسجية ثم نعرضها لأبخرة NH_3 لإظهار البقع، النتائج المحصل عليها موضحة في الشكل(الشكل IV- 5) والجدول التالي:

IV– 2 - 2 مستخلص خلات الإيثيل و البيتانول النظامي

الجدول IV - 4 - يوضح إختبارات نظام الهجرة المناسب للكشف

النظام	النسب
هكسان/ كلوروفورم / خلات الإيثيل	**4/1/1 : 3/1/1 : 2/1/1**
خلات الإيثيل / ميثانول	**10/1 : 5/1**
خلات الإيثيل / ميثانول / ماء	**81/11/8**
خلات الإيثيل /ميثانول/إيثانول /ماء	**81/11/4/8**
الكلوروفورم /خلات الإيثيل /حمض الفورميك	**5/4/1**
خلات الإيثيل /ماء /حمض الأسيتيك / حمض الفورميك	**10/6.2/1.1/1.1**
كلوروفورم / ميثانول	**3/1: 5/1 : 4/2 :5/2**

النظام الذي أعطى أحسن فصل للمركبات لمستخلص خلات الإيثيل هو:

النبتة1: كلوروفورم /خلات الإيثيل/ حمض الفورميك (1/4/5), وهو النظام المستعمل في الكشف، الشكل التالي يوضح النتائج المحصل عليها.

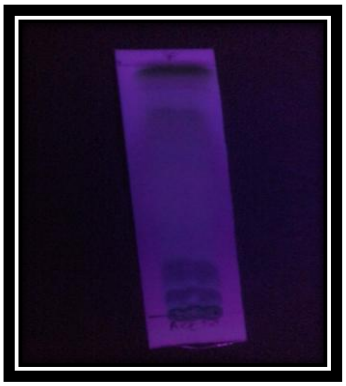
طبقة الـ CCM تحت مصباح 254 nm

طبقة الـ CCM تحت مصباح 356 nm

الشكل IV–6- يمثل صور طبقة الـ CCM تحت UV-Vis للنبتة1 للمستخلص خلات الإيثيل

النبتة 2: هكسان/ كلوروفورم /خلات الإيثيل (3/1/1) ، وهو النظام الذي أعطى أحسن فصل للمركبات، الشكل التالي يوضح النتائج المحصل عليها:

طبقة الـ CCM تحت مصباح 254 nm



طبقة الـ CCM تحت مصباح 356nm

النظام

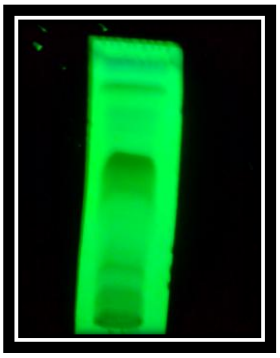
الشكل IV -7- يمثل صور طبقة الـ CCM تحت UV-Vis للنبتة2 للمستخلص خلات الإيثيل

النبتة 1: كلوروفورم / خلات الإيثيل / حمض الفورميك (1/4/5).

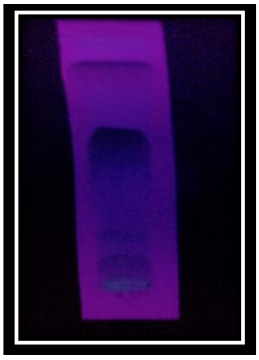
طبقة الـ CCM تحت مصباح 254 nm

طبقة الـ CCM تحت مصباح 356 nm

النبتة 2: (الشكل IV- 8- يمثل صور طبقة الـ CCM تحت UV-Vis للنبتة 1 للمستخلص البيتانولي



طبقة الـ CCMتحت مصباح 254 nm



طبقة الـ CCM تحت مصباح 356 nm

للمستخلص البيتانولي2 للنبتة UV-Vis تحت CCM- يمثل صور طبقة الـ9- IVالشكل

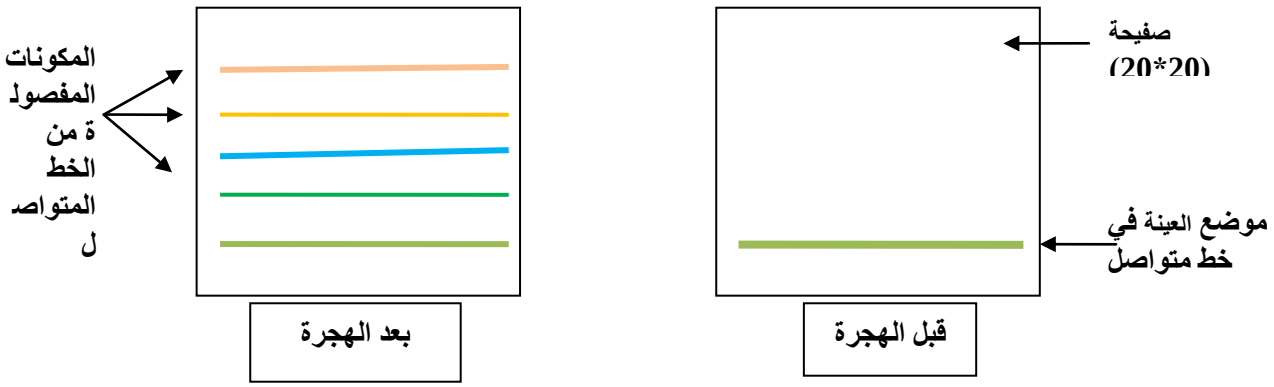
نعامل طبقة CCM للمستخلص خلات الإيثيل والمستخلص البيتانولي بنفس الطريقة المعمول بها في المستخلص الكلوروفورم، الجدول التالي يلخص النتائج المحصل عليها.

IV -3 كروماتوغرافيا التحضيرية

إخترنا مستخلص خلات الإيثيل لفصل المركبات الموجودة به بواسطة كروماتوغرافيا التحضيرية، والذي يكون مقاسها 20*20 سم .تم وضع العينة على طول الطبقة (الشكل IV- 20)، ونفذت عملية الهجرة على مادة السليكاجال باستخدام مذيبات النظام الذي أعطى أحسن فصل للمركبات في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة المستعملة للكشف:

بالنسبة للنبتة 1: كلوروفورم /خلات الإيثيل/حمض الفورميك: (1/4/5).

بالنسبة للنبتة 2: هكسان /كلوروفورم /خلات الإيثيل: (3/1/1).



الشكل IV- 10– رسم تخطيطي لـ CCM التحضيرية تعطي الفلافونويد على شكل حزم مفصولة

الكشف عن الجزيئات في غرفة مظلمة باستخدام مصباح الأشعة فوق البنفسجية عند 365 نم، ثم نقوم بعملية الكشط (كل لون لوحده) ونذيبها في الميثانول وبعدها عملية الترشيح.

تعتبر الكروماتوغرافيا التحضيرية المرحلة الأولى في تحديد مركبات الفلافونويد. البقع الفلافونويدية تمثل مكونات العينة التي تتميز بألوان تحت مصباح فوق الأشعة البنفسجية [29].

الجدول IV- 5 - النتائج المحصل عليها من الكروماتوغرافيا التحضيرية:

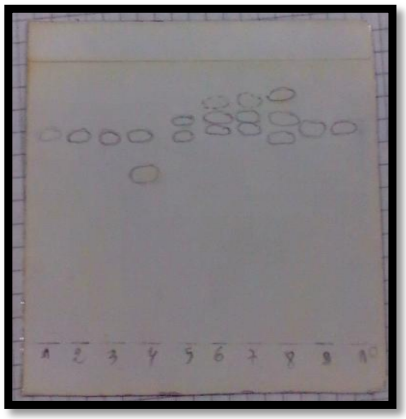
مستخلص خلات الإيثيل	عدد البقع	لون البقعة
النبتة 1	**10**	**1- أزرق باهت** **2- أصفر** **3- بنفسجي** **4- أصفر برتقالي** **5- أزرق باهت** **6- بني غامق** **7- بني** **8- بنفسجي** **9- بنفسجي فاتح** **10- أزرق مشع**
النبتة 2	**10**	**1 - أصفر فاتح** **2- بني** **3- أزرق** **4-أصفر** **5- أصفر مزرق** **6- أصفر مشع** **7- بني** **8- برتقالي** **9–أزرق** **10 - بنفسجي**

الجزيئات التي تم كشطها وإذابتها في الميثانول قمنا بتركيزها بتبخير الميثانول، و الكشف عنها بكروماتوغرافيا CCM في نفس النظام السابق.

فبالنسبة للنبتة1:(كلوروفورم / خلات الايثيل /حمض الفورميك : (1/4/5)).

النبتة 2:(هكسان /كلوروفورم / خلات الايثيل: (3/1/1)) وذلك لمعرفة نقاوتها .

الشكل التالي يوضح النتائج المحصل عليها



الشكل IV-11 – النبتة1 الكشف عن الجزيئات بعد التنقية

الشكلIV –12-النبتة2 الكشف عن الجزيئات بعد التنقية

IV- 3–1 حساب R_f

نقوم بحساب قيم الـ R_f للمركبات المفصولة التي أعطت بقعة واحدة , حسب القانون التالي :

$$R_f = d / D$$

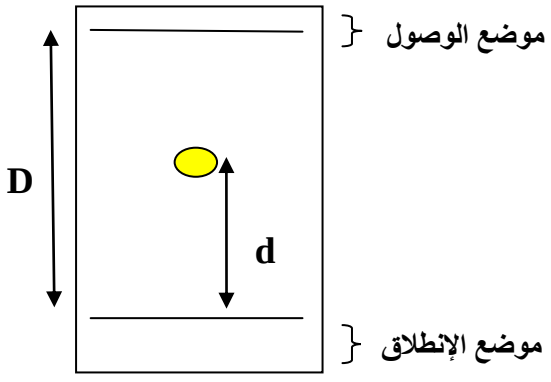
حيث :

R_f: ثابت الإحتباس .

d: المسافة التي تقطعها البقعة .

D: المسافة التي يقطعها .

الشكل الموالي يوضح ذلك .



الشكل IV -13 – رسم تخطيطي يوضح المسافة التي تقطعها البقعة و المذيب في طبقة CCM

الجدول IV–6 حساب قيم R_f للمركبات المفصولة النقية

	قيم الـ R_f
النبتة 1	R_{f2}= 4.4/6.2 = 0.70 R_{f9} = 4.6/6.2 = 0.74
النبتة 2	R_{f3} = 8.9/9.5 = 0.93 R_{f10}= 8.5/9.5 = 0.89

IV- 4 الفعالية المضادة للأكسدة والفعالية المضادة للبكتيريا

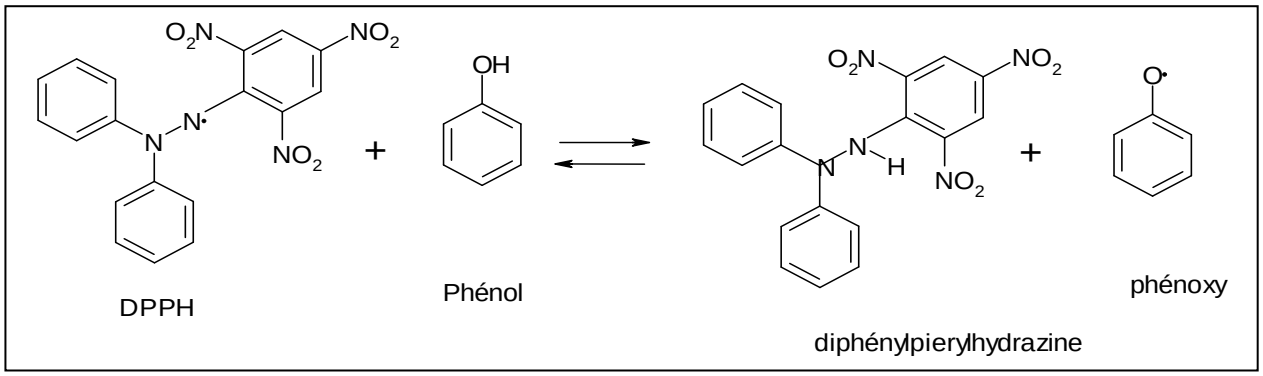
IV-4 – 1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

هي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذور الحرة أو توقيف عملية الأكسدة ، حيث تقدر الفعالية المضادة للأكسدة بعدة طرق نذكر منها: اختبار ABTS ، DPPH ،FRAP، اختبار القدرة الإرجاعية و إختبار موليبدات الفوسفات.

في دراستنا هذه قمنا باختبار DPPH و إختبار موليبدات الفوسفات.

IV-4-1-1-إختبار DPPH :

إختبار DPPH هو إختبار مضاد للجذور الحرة ، يعتمد على تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المستخلصات (مضادات أكسدة) لذرة هيدروجين، حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذر $DPPH^{\bullet}$ لونيا باستعمال جهاز الطيف اللوني وذلك بقياس مقدار الإنخفاض في الامتصاصية، هذا الإنخفاض في الإمتصاصية يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المستخلصات من تثبيط الجذور[49]. وفقا للمعادلة التالية :



الشكل IV- 14 - معادلة توضح تفاعل الـ DPPH مع الفينول

طريقة العمل :

إستعملنا في دراستنا حمض الأسكوربيك (V.C) كأساس مرجعي في أسر الجذور الحرة ، حيث قمنا بتحضير تراكيز ممددة من V.C تتراوح مابين(0.03 -0.003) غ/ل .

أخذنا 1.5 مل من كل تركيز وأضفنا له 1.5مل من محلول DPPH المذاب في الميثانول ذو تركيز250 مليمولر يرج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة .

قيست الإمتصاصية عند طول موجة 517 نم ، ثم من خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I% وذلك وفق العلاقة التالية :

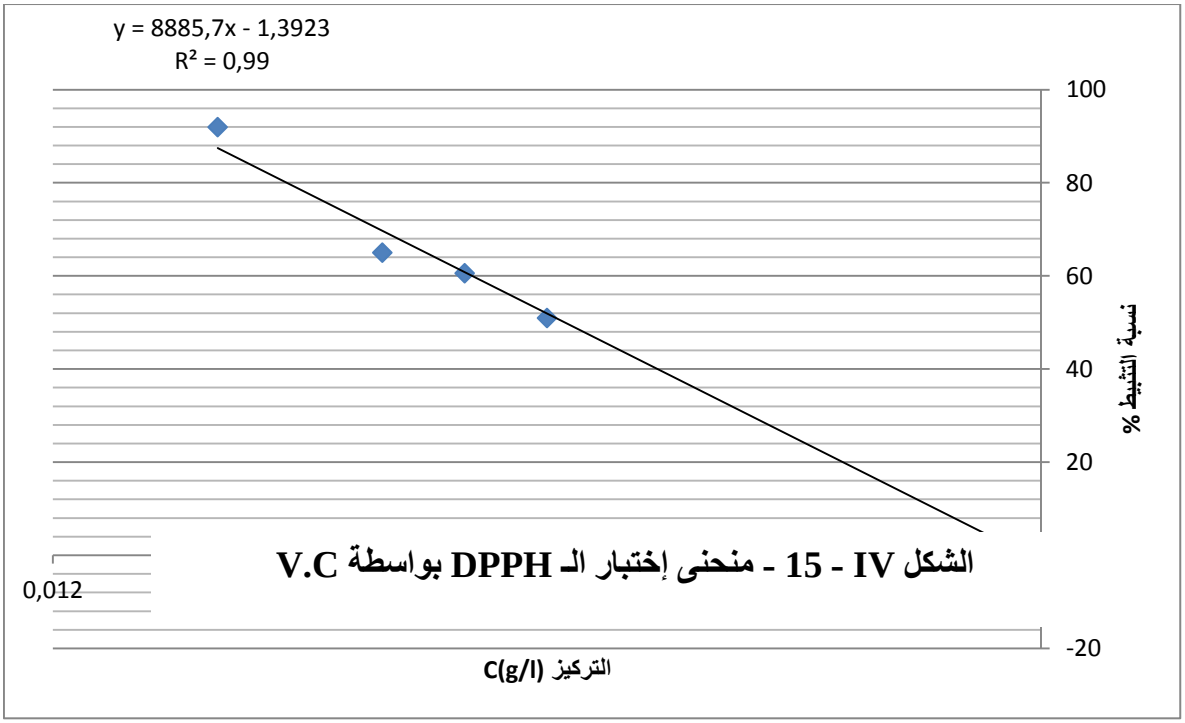
$$I\% = (A_0 - A_i) * 100 / A_0$$

حيث :

A_0: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلص .

A_i: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في وجود المستخلص .

ثم نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية بدلالة التركيز I% = f (C)



الشكل IV - 15 - منحنى إختبار الـ DPPH بواسطة V.C

وعاملنا المستخلص البيثانولي لكل من النبتتين بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الاسكوربيك ، ثم حساب IC_{50} المعرفة على أنها تركيز المستخلص اللازم لتثبيط 50% من جذر DPPH.

IV-4-1-2 - إختبار موليبدات الفوسفات :

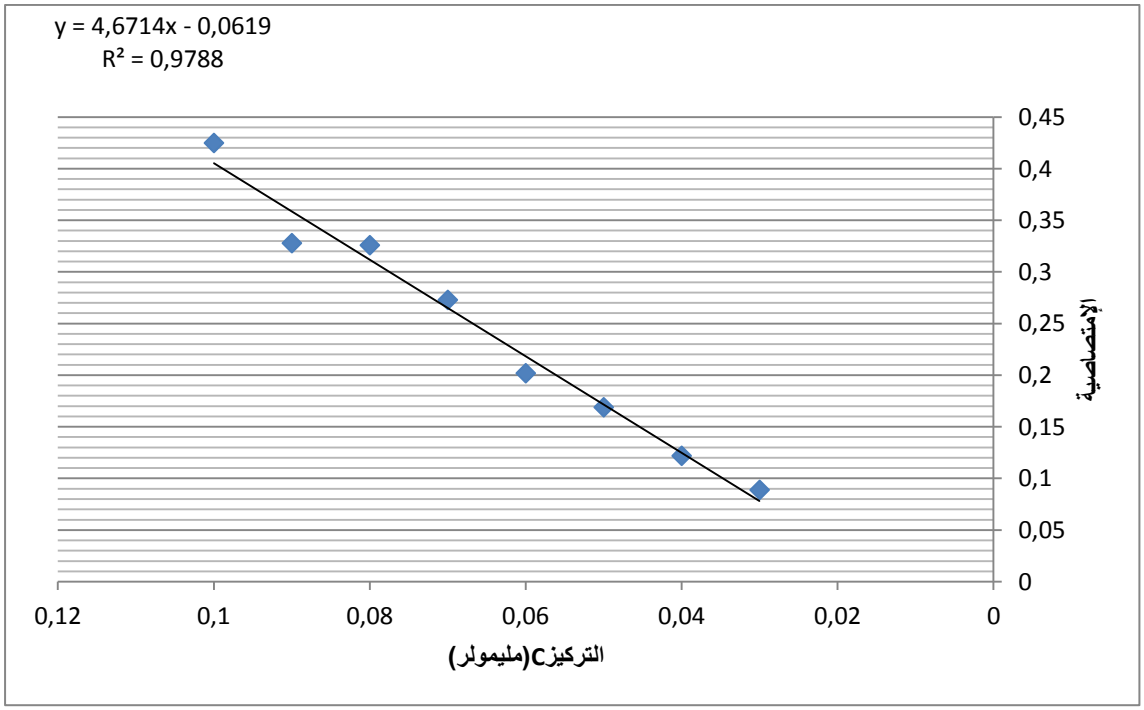
إختبار موليبدات الفوسفات تجربة سريعة مباشرة نوظفها لقياس مضادات الأكسدة ، ونحن إستعملنا هذا الإختبار لدراسة ومتابعة مضادات الأكسدة في المستخلص البيتانولي فلوحظ التغير في زيادة الإمتصاصية الضوئية في زمن 90 دقيقة، وهذا بإرجاع حمض الفسفومولبيديك (Acide phosphomolybdique) إلى فوسفومولبيدات ذات اللون الأزرق[49][50].

حضرنا محاليل ممددة من حمض الأسكوربيك (المحلول المرجعي) تراكيزها تتراوح من (0.2-0.02) غ/ل ، ثم أخذنا من كل تركيز 0.2 مل وأضفنا له 2 مل من محلول موليبدات الفوسفات الذي حضر بمزج 4 مليمولر من موليبدات الألمنيوم، 28 مليمولر من فوسفات الصوديوم و 0.6 مل من حمض الكبريتيك.

ثم يحضن الخليط في حمام مائي عند درجة حرارة 95 م° لمدة 90 دقيقة ، بعدها يترك ليبرد في درجة حرارة الغرفة .

ويتم قياس الامتصاصية عند طول موجة 695nm.

ويرسم المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك الكثافة الضوئية بدلالة التركيز A= f(C).



الشكل IV -16 : المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك في إختبار موليبدات

نعامل المستخلص البيتانولي بنفس الطريقة التي عاملنا بها حمض الأسكوربيك، ثم نقوم بقياس القدرة الإرجاعية للمستخلص.

IV-4 – 2 الفعالية المضادة للبكتيريا

IV-4-2-1 تحضير المستخلص النباتي

تجفف المستخلصات النباتية المحصل عليها تماما وتوزن لتذاب في مذيب ثنائي مثيل سيلفوكسيد (DMSO)بحجوم مختلفة وفق تراكيز محددة.

تقص أقراص من ورق (Whatman n°1) بأقطار 6 مم وتوضع في جهاز تعقيم.

IV-4 – 2 – 2 تحضير الوسط الزراعي

يتم في البداية تسخين الوسط الزراعي المراد إستعماله داخل حمام مائي ، فمثلا في هذه الدراسة تم إستخدام الوسط الجليلوزي مولر هينتون Muller Hinton، ثم يصب في علب بيتري بحيث يراعي تجانس في سمك الوسط وعلى أن يكون السمك في حدود 1 ملم، توضع بعد ذلك في الفرن الكهربائي لمدة كي تأخذ شكلها وتتماسك.

IV- 4 – 2-3 زرع البكتيريا

يتم بطريقة خاصة في وجود دوما لهب موقد البنزن لتفادي إنتشار البكتيريا في الجو، نضع في أنابيب إختبار معقمة 10مل من الماء الفيزيولوجي (NaCl 0.9%) نزرع في كل وسط معمرة واحدة من كل عينة بكتيرية ونخلط الأنبوب جيدا.

نسكب بسرعة 5 مل من محتوى كل قارورة في علب بتري المحتوية على الوسط الزراعي في كل المساحة .

IV-4 – 2 – 4 وضع الأقراص والحضن

تشبع الأقراص المعقمة بـ 10 ميكرولتر من المستخلصات المحضرة، ثم توضع بطريقة صحيحة في علب بتري المحضرة، وتوضع العلب بشكل مقلوب في الحاضنة لمدة تتراوح من 18 إلى 24 ساعة في درجة حرارة 37م°.

IV-4 – 2- 5 قراءة النتائج

نعتبر أن مستخلص نباتي له قدرة فعالة ضد البكتيريا إذا كان قطر التثبيط أكبر من محيط القرص ويكون ذلك بوجود منطقة واضحة حول القرص أي أن الإختبار إيجابي وغياب هذه المنطقة يعتبر إختبار سلبي، ويقاس قطر هذا التثبيط باستعمال القدم القنوية بوحدة المليمتر .

الفصل الخامس :

النتائج و المناقشة

V-1 - الدراسة الفيتوكيميائية لنبتتين الالالة و شكاعة بروغيري

V-1 – 1- الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية

من خلال المسح الفيتو كيميائي للنبتتين الالالة و شكاعة بروغيري تبين أنهما غنيتين بمنتجات الأيض الثانوي، فالنبتة 1 ظهرت غنية خاصة بالفلافونويدات و التانينات والتربينات الثلاثية، أما النبتة الثانية فتبين من خلال المسح الفيتوكيميائي غنية بالفلافونويدات و الستيرولات والتربينات الثلاثية و الصابونين.

الجدولV -1- نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية للنبتتين

		المستخلص الإيثانولي النبتة 1	المستخلص الإيثانولي النبتة 2
الفلافونيدات	**اختبار Shinoda**	+	+
	اختبار الكشف القاعديNaOH	+	+
التانينات		+	+
الكومارينات		+	-
الستيرولات و التربينات	**اختبار Salkowski**	+	+
	اختبار Liebermann-Burecharded	+	+
الصابونينات		+	+

(+): وجود (-) : غياب

V-2 - كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM

بعد عدة محاولات لفصل مكونات المستخلصات الناتجة من عملية الاستخلاص وذلك باستخدام هذا النوع من الكروماتوغرافيا، حيث الطور الثابت عبارة عن السيلكاجال مع تغير الطور المتحرك في كل مرة (نسبة، نوع)، تحصلنا على أحسن الشروط الملائمة لفصل الفلافونويدات من النبتتين المدروستين .

V-2-1 المستخلص الكلوروفورمي

من خلال الكروماتوغرام ونتائج الجدول نلاحظ:

النبتة 1: ظهور عدة بقع (13 بقع) مختلفة الألوان و من أهم المركبات المتواجدة نجد الفلافونيدات (أصفر – أزرق – بنفسجي).

النبتة 2: ظهور عدة بقع (10 بقع) مختلفة الألوان وتبين أيضا أنها غنية بالكلوروفيل لظهور أكثر من 3 بقع باللون الأحمر ومن أهم المركبات المتواجدة نجد الفلافونويدات (أزرق مشع، أصفر).

الجدولV–2- نتائج الفصل الكروماتوغرافي لمستخلص الكلوروفورم.

	العينة	النظام	عدد البقع	الألوان
المستخلص الكلوروفورم	النبتة1	هكسان / كلوروفورم / خلات الإيثيل (1/1/1)	13	3 أصفر أزرق أزرق مصفر أصفر باهت بنفسجي بنفسجي لامع 5 بني
	النبتة 2	هكسان /كلوروفورم /خلات الإيثيل (2/1/1)	10	3 أحمر أجوري أزرق فاتح مشع برتقالي أصفر برتقالي أحمر بني أصفر فاتح أصفر باهت

V-2-1-2– مستخلص خلات الإيثيل و البيتانول

بعد تجربة عدة أنظمة توصلنا إلى أحسن نظام للفصل للمستخلصين في كلا النبتتين وتبين غناهما بالمركبات الفلافونويدية لظهور بقع متعددة ومختلفة الألوان بالخصوص اللون الأصفر.

النبتة 1: ظهر في مستخلص الخلات (8 بقع) مختلفة الألوان و يبرز فيها تدرج لوني بالنسبة للون الأصفر(لامع – عادي – باهت)، أما بالنسبة لمستخلص البيثانولي ظهر فيه 10 بقع ،و هذا ما يدل على أن المستخلص غني بالمركبات الفلافونويدية.

النبتة 2: ظهر في مستخلص خلات الايثيل (10 بقع) مختلفة الألوان ويبرز فيها اللون الأصفر المتدرج (مشع، باهت، عادي)، بينما المستخلص البيتانولي يحتوي على (9 بقع)، وهذا ما يدل غنى المستخلصات بالمركبات الفلافونويدية .

الجدول V–3- نتائج الفصل الكروماتوغرافي لمستخلص خلات الإيثيل ومستخلص البيتانول.

المستخلص	العينة	النظام	عدد البقع	الألوان
خلات الإيثيل	النبتة 1	كلوروفورم / خلات الإيثيل/ حمض الفورميك (1/4/5)	08	بنفسجي فاتح بنفسجي بني بني غامق أزرق باهت أصفر برتقالي بنفسجي أصفر
	النبتة 2	هكسان/ كلوروفورم / خلات الإيثيل (3/1/1)	10	2 أزرق فاتح بنفسجي 2أصفر فاتح أصفر مزرق برتقالي 2بني أصفر لامع
البيتانول النظامي	النبتة 1	كلوروفورم / خلات الإيثيل/ حمض الفورميك (1/4/5)	10	3 بني 2 بنفسجي بنفسجي باهت أزرق 2 أصفر بني مصفر
	النبتة2	كلوروفورم /ميثانول (3/1)	11	أصفر 2 بني أصفر فاتح بني فاتح 3 أزرق فاتح مشع 2 بني أخضر مزرق

V-2-2 - كروماتوغرافيا التحضيرية:

تم تطبيق هذه التقنية على المستخلص خلات الإيثيل للنبتتين على مادة السليكاجال مع نفس الطور المتحرك الذي تم فصل المستخلص به، من خلال الجدول (IV-5) والجدول التالي نلاحظ:

النبتة : تم فصل الحزم من العينة (مستخلص خلات الإيثيل) مختلفة الألوان و الطول (السمك بين مركب و آخر)، بعد عملية الكشط و الإذابة في الميثانول، قمنا بفصلها في الطبقة الرقيقة CCM للتأكد من نقاوة المركبات المفصولة ثم قراءتها في مصباح UV، فتبين أن المركب 1، 2، 3، 9، 10 ظهرت بقعة واحدة، بينما المركبات الأخرى ظهرت أكثر من بقعة و مختلفة الألوان، حيث لاحظنا من خلال البقع المحصل عليها في المركب (1، 2، 3) يعطي بقع متكافئة لذا يعتبران مركبا واحدا، و نفس الشيء بالنسبة إلى المركبين (6 – 7) و أيضا (9 -10). حيث قمنا بحساب قيم R_f للبقعة النقية بالنسبة لـ R_{f2} =0.70 و R_{f9} =0.74.

النبتة 2: تم فصل 10 بقع من العينة (مستخلص خلات الإيثيل) مختلفة الألوان والنسبة بين خط رفيع وخط سميك، بعد كشطها و إذابتها في الميثانول، قمنا بفصلها في الطبقة الرقيقة CCM للتأكد من نقاوة المركبات المفصولة و بعدها قراءتها في مصباحUV، فتبين: أن المركب الثالث و العاشر ظهرت بقعة واحدة، بينما المركبات الأخرى ظهرت أكثر من بقعة، حيث المركب الثامن والتاسع يظهران بقعات و ألوان متكافئة لذا يعتبران مركبا واحدا. بالنسبة لقيم Rf للنبتة الثانية للبقعة النقية Rf3= 0.93 و R_{f10} = 0.89.

الجدولV- 4: النتائج المحصل عليها لمعرفة نقاوة المركبات المفصولة :

	المركب	عدد البقع
النبتة 1	المركب 1	1
	المركب 2	1
	المركب3	1
	المركب4	2
	المركب5	2
	المركب6	3
	المركب7	3
	المركب8	3
	المركب9	1
	المركب10	1
النبتة 2	1 المركب	3
	2 المركب	2
	3 المركب	1
	4 المركب	4
	5 المركب	3
	6المركب	2
	7 المركب	3
	8 المركب	3
	9المركب	3
	10 المركب	1

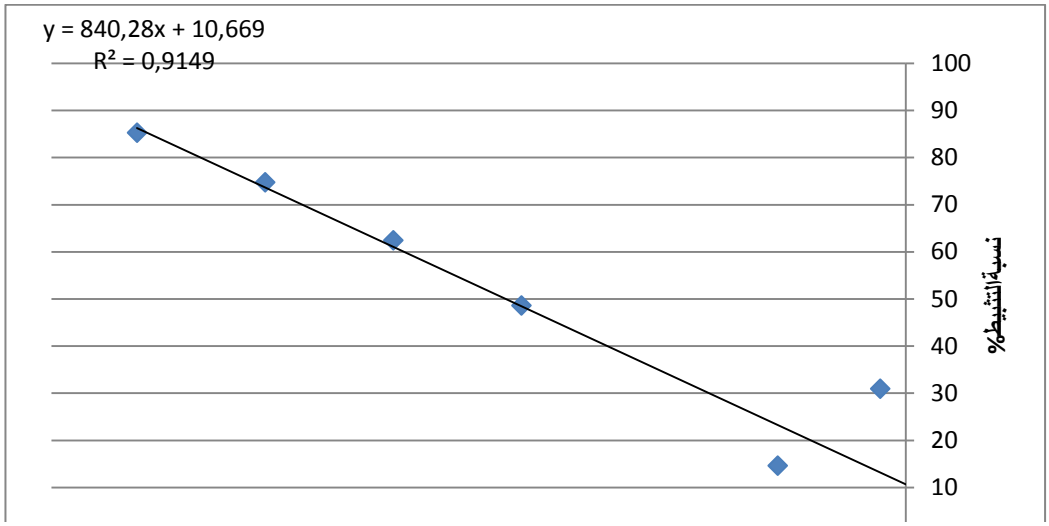
V-3- الفعالية المضادة للأكسدة و الفعالية المضادة للبكتيريا:

V- 3- 1- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة :

V-3-1-1- نتائج القدرة التثبيطية لجذر الـ DPPH :

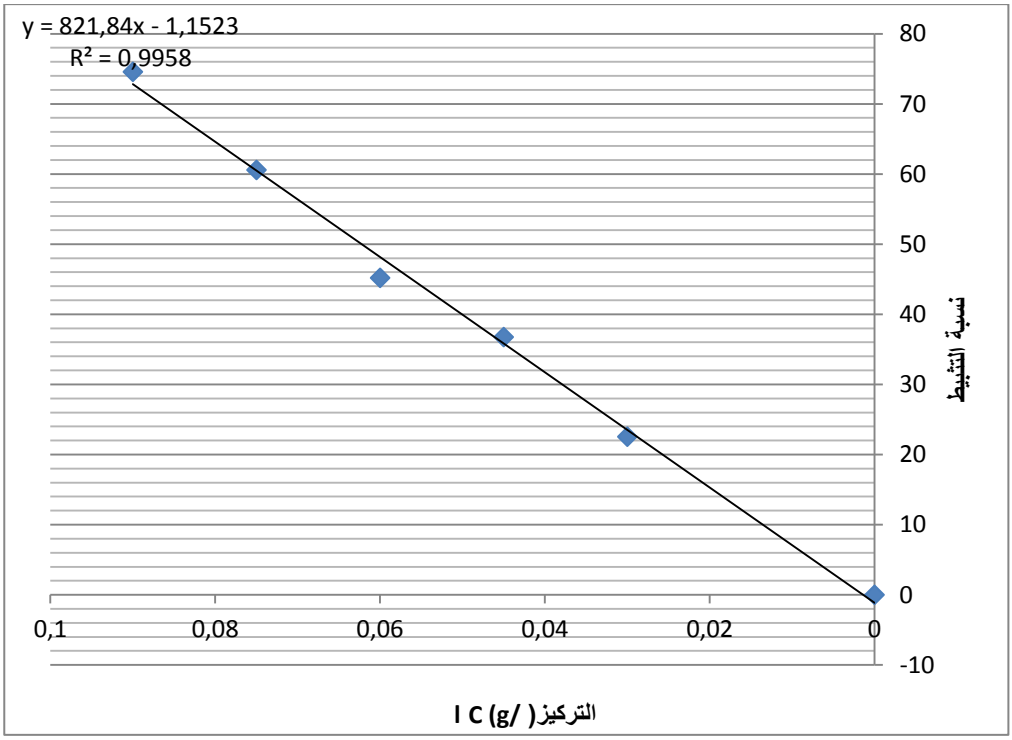
بعد قياس الإمتصاصية للمستخلص البيتانولي قمنا بحساب النسب المئوية للتثبيط (I%) ونمثلها في المنحنيات التالية بدلالة التراكيز المستعملة .

النبتة 1:



الشكل V - 1 - منحنى نسبة التثبيط للمستخلص البيتانولي في إختبار الـ DPPH النبتة 1

النبتة 2 :



الشكل V - 2 - منحنى نسبة التثبيط المستخلص البيتانولي في إختبار الـ DPPH النبتة 2

لمقارنة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص المدروس حسبت القيمة IC_{50} من معادلة المنحنى (الشكلV- 1) و (الشكل V-2) ، والنتائج موضحة في (الجدولV- 5).

الجدول V- 5- الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص البيتانولي للنبتتين لإختبار الـ DPPH .

المستخلصات	حمض الأسكوربيك	المستخلص البيتانولي
IC_{50}(g/l) النبتة1	0.00578 (g/l)	0.04682 (g/l)
النبتة 2	0.00578 (g/l)	0.06224 (g/l)

إن الفعالية المضادة للأكسدة تزيد كلما نقصت قيمة IC_{50}، و بمقارنة قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك التي قدرت 0.00578g/l مع قيم المستخلص البيتانولي للنبتتين :

النبتة 1: نجد قيمة IC_{50} للمستخلص البيتانولي قدرت بـ 0.04682g/l وهو أقل بـ 8 مرات من قيمة IC_{50} لحمض الأسكوربيك .

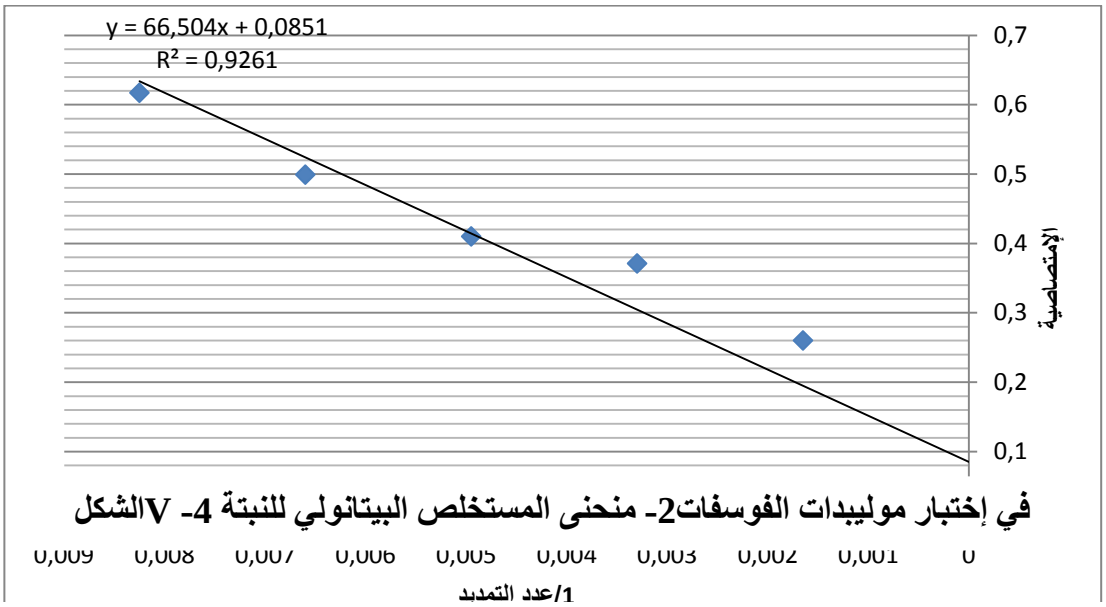
النبتة 2: أما بالنسبة قيمة IC_{50} للمستخلص البيتانولي قدرت بـ 0.06224g/l و هو أقل بحوالي 10 مرات من قيمة حمض الأسكوربيك .

V– 3-1-2 - نتائج إختبار موليبدات الفوسفات

النبتة 1:

الشكل V - 3 - منحنى المستخلص البيتانولي للنبتة1 في إختبار موليبدات الفوسفات

النبتة 2 :



الشكل V- 4- منحنى المستخلص البيتانولي للنبتة 2- في إختبار موليبدات الفوسفات

لخصت نتائج القدرة الإرجاعية للنبتتين في الجدول التالي (الجدول V- 6).

الجدول V- 6 - الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص البيتانولي للنبتتين في إختبار موليبدات الفوسفات .

المستخلصات	المستخلص البيتانولي النبتة 1	المستخلص البيتانولي النبتة 2
AEAC(مليمولر)	297.7949	14.2367

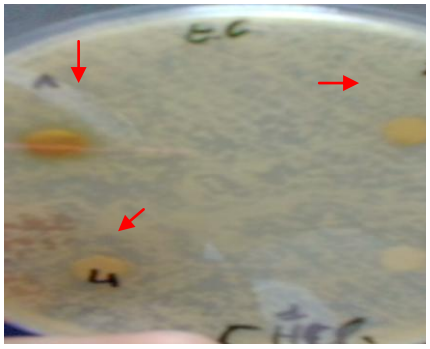
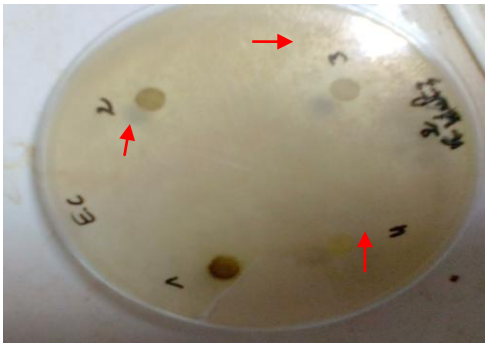
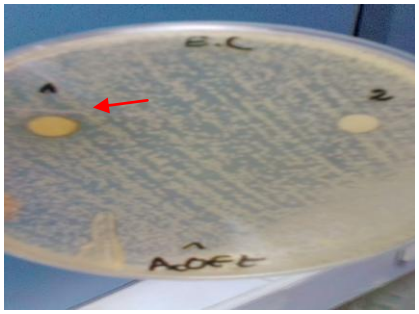
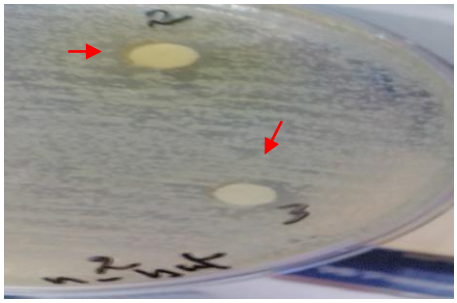
قدرت نتائج القدرة الإرجاعية للمستخلص البيتانولي للنبتتين ،بالنسبة للنبتة 1 بقيمة (297.7949) و النبتة 2 بقيمة14.2367.

نلاحظ أن الطريقتين المعمول بها لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة DPPH وطريقة موليبدات الفوسفات متكافئين في النتائج المحصل عليها لمستخلص البيتانول، حيث تبين أن النبتة 1 تظهر فعالية أكثر من النبتة 2 و هذا بالنسبة لمستخلص البيتانول.

V -2-3 الفعالية المضادة للبكتيريا:

بعد أن تركت البكتيريا مدة 24 ساعة في الحاضنة ثم أخذت النتائج التالية : المذيب المستعمل هو ثنائي مثيل سيلفوكسيدDMSO.

الجدول V- 7– صور بعض نتائج إختبار الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتتين .

النبتة 1	النبتة 2
	
مستخلص $CHCl_3$ ضد بكتيريا *E.coli*	مستخلص $CHCl_3$ ضد بكتيريا *E.coli*
	
مستخلص AcOt ضد بكتيريا *E.coli*	مستخلص n-but.OH ضد بكتيريا *E.coli*

V- 3 --2 -1- مستخلص الكلوروفورم

نتائج الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات الكلوروفورم ملخصة في (الجدولV- 8).

الجدول V- 8- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات الكلوروفورم.

	النبتة 1			
التراكيز	200mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
بكتيريا *S-aureus*	07mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *E- coli*	15mm	10mm	00mm	10mm
بكتيريا *P –aeruginosa*	00mm	8mm	00mm	00mm
	النبتة 2			
التراكيز	200mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
بكتيريا *S-aureus*	00mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *E- coli*	00mm	10mm	15mm	12mm
بكتيريا *P –aeruginosa*	00mm	00mm	00mm	00mm

V–3-2-2– مستخلص خلات الإيثيل:

نتائج فعالية مستخلصات خلات الإيثيل ملخصة في الجدول (V- 9) .

الجدول V–9- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات خلات الإيثيل للنبتة 1.

	النبتة 1			
التراكيز	200mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
بكتيريا *S-aureus*	00mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *E- coli*	00mm	00mm	12mm	00mm
بكتيريا *P –aeruginosa*	00mm	00mm	00mm	00mm

V- 3-2-3- مستخلصات البيتانول:

نتائج فعالية مستخلصات البيتانول ملخصة في الجدول (V- 10) .

الجدول V –10- قيم متوسط أقطار التثبيط لمستخلصات البيتانولي.

	النبتة 1			
التراكيز	200mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
بكتيريا *S-aureus*	07mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *E- coli*	00mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *P –aeruginosa*	00mm	00mm	00mm	00mm
	النبتة 2			
التراكيز	200mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
بكتيريا *S-aureus*	00mm	11mm	13mm	00mm
بكتيريا *E- coli*	00mm	00mm	00mm	00mm
بكتيريا *P –aeruginosa*	00mm	00mm	00mm	00mm

من النتائج السابقة نجد أن قطر التثبيط للبكتيريا:

النبتة 1:

بالنسبة للمستخلص الكلوروفورم نجد أن عنده أكبر قطر تثبيط في بكتيريا *E-coli* و ظهرت فعاليته في مختلف التراكيز ثم يليه مستخلص خلات الإيثيل و لم نجد أي فعالية في مستخلص البيتانول ، بينما في بكتيريا *S-aureus* المستخلص الذي أعطى فاعلية ضدها هو المستخلص الكلوروفورم و البيتانول، أما في بكتيريا-*P aeruginosa* نجد الفاعلية عند مستخلص الكلوروفورم .

النبتة 2 :

بالنسبة للمستخلص الكلوروفورم نجد أن عنده أكبر قطر تثبيط في بكتيريا *E-coli* و ظهرت فعاليته في مختلف التراكيز و لم نجد أي فعالية في مستخلص البيتانول مع العلم أن مستخلص الخلات لم يتم دراسته ،بينما في بكتيريا *S-aureus* المستخلص الوحيد الذي أعطى فاعلية ضد هذه البكتيريا هو المستخلص البيتانول، أما في بكتيريا *P - aeruginosa* لم تظهر أي فاعلية .

الخاتمة

الخاتمة

تطرقنا في هذه المذكرة إلى الدراسة الفيتوكميائية لنبتتين طبيتين من منطقة بشار و ذلك بغية التعرف على منتجات الأيض الثانوي و خاصة الفلافونيدات و كذا دراسة الفعالية البيولوجية لهما.

بدءنا باستخلاص المركبات الفلافونويدية من النبتتين المدروستين بواسطة ($EtOH / H_2O$)(70 / 30) فتحصلنا بالنسبة للنبتة الأولى على مردود للمستخلص البيتانولي بأعلى نسبة قدرت بـ: % 05.7438 . أما بالنسبة للنبتة الثانية قدر أعلى مردود بـ % 05.1383 لنفس المستخلص .

ثم قمنا بالاختبارات الكيميائية للمركبات الأولية فتبين من خلالها أن النبتتين غنيتين بمنتجات الأيض الثانوي . بالنسبة للنبتة الأولى أظهر الكشف غناها بالفلافونويدات و التانينات و الستيرولات و التربينات الثلاثية و النبتة الثانية إتضح لنا غناها بالفلافونويدات و الستيرولات و التربينات الثلاثية و الصابونيات.

ثم اعتمدنا في هذه الدراسة إلى طرق الكروماتوغرافيا الكشف و الفصل بنوعيها أي التحليلية و التحضيرية و فيما يخص دراسة الفعالية البيولوجية لهما تطرقنا لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الـ DDPH و موليبدات الفوسفات و الفعالية المضادة للبكتيريا. بالنسبة للفعالية المضادة للأكسدة تطرقنا إلى دراسة فعالية المستخلص البيتانولي ، و قد تبين نشاطية النبتتين في كلا الإختبارين.

أما الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات النبتتين درست على ثلاث أنواع من البكتيريا : E-coli , P aeruginosa , S- aureus . حيث كانت النتائج بالنسبة للنبتة الأولى لها فعالية ضد بكتيريا E- coli لمستخلص الكلوروفورم

و خلات الإيثيل و بالنسبة لبكتيريا P- aeruginosa أعطت نتيجة في مستخلص الكلوروفورم ، أما مستخلص البيتانول فقد كانت فعاليته ضد بكتيريا S-aureus. و النبتة الثانية نجدها في المستخلص الكلوروفورم لها فعالية ضد بكتيريا E-coli و بالنسبة لبكتيريا S-aureus تظهر في المستخلص البيتانولي و لم تظهر أي فعالية مع بكتيريا P- aeruginosa.

و في الأخير نأمل أن هذه الدراسة لا تنتهي عند إستخلاص المركبات الخام و فعاليتها البيولوجية بل ندعمها أكثر.

و ذلك بتكملة عملية الفصل و التنقية و معرفة البنى الكيميائية لهما.

المراجع :

[1] - زعيتر لحسن تحديد المكونات الكيميائية لأطوار الكلوروفورم و الزيوت الأساسية لأنواع من العائلتين المركبة (Caompositae) و السيستية(Cistaceae) مذكرة دكتوراه جامعة منتوري, قسنطينة سنة2000.

[2] –تحفيز إنتاج بعض مركبات الأيض الثانوي في كالس نبتة الحلبة . Trigonellafoenum –graecum Lبإضافة تراكيز من حمض الساليساليك خارج الجسم الحي . إستبرق *سامي عباس،سعدية حسن محمود *وكاظم محمد إبراهيم **.*كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ،بغداد – العراق.**كلية العلوم ، جامعة النهرين ، بغداد –العراق سنة 2013 .

[3]- شبوعات الياقوت Etude phytochimique et évaluation microbiologique de deux plantes médicinales saharienne : Zizyphus (mauritiana, lotus)- Rmnaceae –(Sedra) et Ephedraalata Ephedraceae- (Alinda) – مذكرة دكتوراه جامعة قاصدي مرباح ورقلة سنة 2014/2013 .

[4] - العابد إبراهيم دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Traganumnudatum مذكرة ماجستير جامعة قاصدي مرباح , ورقلة سنة 2009.

[7] –جيدل صليحة تقدير المحتوى الفينولي و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات Pistracialentiscus L.,ArtemisiacampestrisL.Arganiaspinosa L. مذكرة دكتوراه جامعة فرحت عباس ,سطيف 1 ,عام 2015.

[10] – الأستاذ دكتور حليمي عبد القادر النباتات الطبية . سنة 1997.

[11] - زردومي سليمان .Artemisiacampestris L في منطقة أريس , دؤاسة تشريحية و دراسة النشاطية الضد بكتيرية و ضد تأكسدية لزيتها الأساسي .سنة 2015.

[12] - عبد الله القذافي بيت المال تصنيف الغطاء النباتي الرعوي بمرعى كلية الزراعة جامعة الفاتح – طرابلس – الجماهيرية الليبية سنة 2010 .

[15] - حميدي نور الدين الدراسة الفيتوكيميائية و التقييم البيولوجي للفاقونيالونجيسبينا (Zygophyllaceae (FagoniaLongispina) نبات من الجنوب الغربي للجزائر.مذكرة دكتوراه جامعة ابي بكر بلقايد2015/2014.

[21] – مخدمي نور الهدى استعمال المستخلصات المائية لنبتتي Matricariapubscens وPituranthoschloranthos كمعطرات طبيعية للجبن "أمير"، ودراسة النشاطية ضد البيكتيريا لزيوتها العطرية مذكرة ماجيستير جامعة فرحات عباس –سطيف-سنة 2014 .

[22]- ميثاق الجبر بحث و تحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات Cathaedulis من العائلة (Celastraceae) و نبات البوليكارياPulicariajaubertii من العائلة (Asteraceae) و تقييم الفعالية البيولوجية .مذكرة دكتوراه جامعة منتوري قسنطينة , سنة 2010 .

[24] - حوة إبراهيم دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نبات العائلة الشفوية و الفعالية ضد الاكسدة مذكرة ماجستير جامعة قاصدي مرباح , ورقلة سنة 2013 .

[28]- باز مسعود إستخلاص ، فصل وتحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس Centaurea : C.Sphaerocephala L. مذكرة ماجيستير جامعة منتوري قسنطينة اكتوبر 2006 .

[29]–عباس بن مرعاش دراسة نواتج الايض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للاكسدة للنبتة Convolvulus supinuscoss . et Kral (Convolvulaceae) مذكرة ماجستير جامعة منتوري قسنطينة 2011/2012 .

[30]–برحال جمعة فصل و تحديد منتجات الايض الثانوي الفلافونيدي لبعض نباتات العائلة الريزيدية (Resedaceae) مذكرة دكتوراه جامعة منتوري قسنطينة .

[31] – عمراني أمال دور فيتامين E ، C والمستخلص البيتانولي لنباتي Rhantheriumsuaveolens وChrysanthemumfontanesii في الوقاية من التسمم المحرض بدواء Sodium Valproate لدى الفئران الحوامل دراسة *In vivo* و*In vitro*رسالة دكتورا جامعة قسنطينة I سنة 2013 .

[32] – رتيبة بو الشحم حرم مختاري .CENTAUREA C. Sphaerocephala L مذكرة ماجستير جامعة منتوري - قسنطينة .

[33 شباح كوثر فصل و تحديد منتجات الايض الثانوي الفلافونيدي للنبتة – [Phoenix dacthlifera (Deglabeida (مذكرة دكتوراه جامعة منتوري قسنطينة سنة 2007.

[34 – علاوي مسعودة الدراسة الفيتوكميائية و التقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة الرمرامية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي : HaloxylonscopariumPomel (Remth) Traganumnudatum (Thamran)]

-بومعراف منال حرم جندلي فصل وتحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونويدي للنبتة[38] Phoenix dactylifera (Ghars) مذكرة الماجيستير جامعة منتوري قسنطينة 2007 .

[39]Stachysocymastrum (L) .briq (Lamiaceae) لكحل هشام فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبتة مذكرة ماجيستير جامعة منتوري قسنطينة 2008.

[40] - أحمد طويل دراسة نواتج الميتابوليزم الثانوي لبعض نباتات منطقة الهقار مذكرة دكتوراه جامعة منتوري قسنطينة سنة 2009 .

[41] – غيابة زينب حرم مولاي دراسة تحليلية للبيدات و فينولات و مكونات أخرى لبعض أصناف نخيل التمر المحلية مذكرة دكتوراه جامعة قاصدي مرباح - ورقلة, سنة 2015.

[42] – طارق بوديار فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة Euphorbiaguyoniana مذكرة ماجستير جامعة منتوري قسنطينة سنة 2008.

[43]– ربيعي عبد الكريم تقدير المحتوى الفينولي و الفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل في الجزائر بالطرق الكهروكميائية مذكرة دكتوراه جامعة قاصدي مرباح – ورقلة سنة 2016.

[44] –عبدالرحيم بن سلامة النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق Hertiacheirifolia L.. مذكرة ماجيستير جامعة فرحات عباس –سطيف 2011-2012

[45]- عمر لبنى دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح Artemisia herba albaAsso مذكرة ماجستير جامعة فرحات عباس 2010 .

[47] رزان محمد الحلو و إيمان مصطفى البكري و محمد ماجد الصباغ استخلاص الفينولات من مياه عصير الزيتون بمحلات مختلفة و دراسة فعالية المستخلصات كمضادات أكسدة مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية – المجلد (29)- العدد الثاني - 2013.

[49] - قندور الزاوية تحضير بعض مشتقات الكافيين و دراسة فعاليتها البيولوجية مع بعض انواع البكتيريا مذكرة دكتوراه جامعة قاصدي مرباح – ورقلة ,سنة 2004.

- خضرة عزري دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي شهادة ماجيستير جامعة قاصدي مرباح [50] ورقلة السنة الجامعية 2012-2013 .

[5]-María José Abad *, Luis Miguel Bedoya, Luis Apaza and Paulina BermejoThe *Artemisia* L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils. Molecules 2012 p2544-2566.

[6]- Ikram Dib, AtikaMihamou, Mohamed Berrabah, Hassane Mekhfi1, Mohammed Aziz1, AbdelkhaleqLegssyer, Mohamed Bnouham and AbderrahimZiyyatIdentification of *Artemisiacampestris*L. subsp. *glutinosa*(Besser) Batt. from Oriental Moroccobased on itsmorphological traits and essential oil profile.J.mater.Environ.sci.8(1) 2017, p:182-184.

[8]- Plantes médicinailes d’Afrique comment les reconnaitre et les utilizer Jean –loaisPousset Pr.de pharmacognosie.

[9]- P.Ozenda Flore du Sahara 2eme Edition 1977

[13] - Talbimohammed Dosage des polyphénols de la plante d' ArtemisiaCampestris.L par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologidue Mémoire de Magister,Université d'Oran 1 Ahmed Benbella 2015

[14]- Dr . Abdelmadjid CHEHMA Catalogue des plantes spontqnees du Sahara septentrional algerien 2006.p 19.

[16]-B.-A.Beie* ,J.A.A.Nylander,M.W.Chase,M.Thulin ;Phylogenetic relationships and biogeography of the desert plant genus*Fagonia* (Zygophyllaceae), inferred by parsimony and Bayesian model averaging 2004,p02.

[17] – KamalBATANOUNY,Mohiey BATANOUNY ; Autecology of common Egyptian Fagonia species1970, p:80,81.

[18] –Quezel –S . Santa Tome 2Nouvelle Flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. P. Editions du centre national de la recherche Scientifique 15, quel Anatole – France – Paris 7 ' 1963 . p 989 – 990.

[19]-Dinesh Puri1, Anil Bhandari1FAGONIA: A POTENTIAL MEDICINAL DESERT PLANT Journal of NPA,p:1

[20]- Veena S. Kasture1, Seema A. Gosavi2, Jyoti B. Kolpe*, Sharaddha G. Deshapande.PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL EVALUATION OF FAGONIA 2014 p:1207-1209.

[23]- Mostafa MALECKY Métabolisme des terpenoides chez les caprins Thése Docteur de l' lnstitut des sciences et Industries du vivant et de l'enveronnement(AgroParis Tech)2008.

[25]-ATHAMENA Souda ETUDE QUANTITATIVE DES FLAVONOIDES DES GRAINES DE *Cuminumcyminum*ET LES FEUILLLES DE Rosmarinusofficinalis ET L'EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE MEMOIRE MAGISTER UNIVERSTTE EL-HADJ LAKHDAR – BATNA 2008-2009.

[26]-Zeghad Nadia Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris ,Rosmarinusofficinalis)* et évaluation de leur activité antibactérienne Mémoire magister(Ecole doctorale) 2008-2009.

[27]-AKROUM Souàd Etude analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels Thése DOCTORAT Université Mentouri de Constantine Année universitaire 2010-2011 .

[35] - J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 4e édition. 2009.262p.

[36]-BensouiciChawki ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE l'EXTRAIT BUTANOLIQUE DE L'ESPECE CentaureaMaroccana Mémoire Magister Universite MENTTOURI CONSTANTINE2005.

[37]–Tarak MEKHELFI Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes – Activités Biologiques Universite des FrèresMentouri Constantine Année 2016.

46-SMARA Ouanissa,Etude ethnobotanique etchimique d'Euphorbiaguyoniana Boiss.et Reut.diplome de doctorat.UNIVERESITE BADJI MOKHTAR ANNABA.2014

[48] – Angela M .Fraser , Ph . D .,AssociateProfessor / Food SafetySpecialistDepartment of Family and Consumer Sciences NC State University , Raleigh , NC 27695 – 7605 المخاطر الميكروبيةSouod R . Alani ,Ph . D., VisitingScholar , NC StateUniversity , Raleigh , NC 27695 .

الملخص

دراستنا كانت قائمة على المساهمة في دراسة منتجات الأيض الثانوي لنبتتين طبيتين و هما الالالة و شكاعة بروغيري وهما نبتتين تنتشران في الجنوب الغربي للجزائر .

تطرقنا لاستخلاص المركبات الفلافونويدية للنبتتين المدروستين بطريقة الإستخلاص (صلب – سائل) $EtOH/H_2O$ (70/30)ثم (سائل – سائل) فتحصلنا على ثلاث مستخلصات $CHCl_3$ ، AcOEt ، n-But.OH و كانت أكبر نسبة في المردودية الإنتاجية للمستخلصات : المستخلص البيتانولي في كلا النبتتين حيث قدر عند النبتة 1 و النبتة 2 بـ 05.7438%و 05.1383% على التوالي.

تم إختبار الفيتوكيميائي للنبتتين للكشف عن المواد الفعالة إتضح أن النبتتين غنيتين بمنتجات الأيض الثانوي بالأخص الفلافونويدات و التانين و الستيرولات و التربينات الثلاثية هذا بالنسبة إلى النبتة الأولى أما النبتة الثانية فيها الفلافونويدات و الستيرولات و التربينات الثلاثية و الصابونينات. إستعملنا كذلك طرق الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM للتحليل الكيميائي فتبين أن المستخلصات غنية بالمركبات الكيميائية خاصة الفلافونويد و ذلك من خلال ظهور الألوان الدالة على تواجدها .أما بالنسبة للفعالية البيولوجية ، تم دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص البيتانولي بطريقة إختبار الـ DPPH و إختبار موليبدات الفوسفات لكلا النبتتين و إتّضح أنّ النبتتين لهما فعالية مضادة للأكسدةبالنسبة للمستخلص البيتانولي. و دراسة الفعالية المضادة للبكتريا للنبتتين تمت على ثلاث أنواع من البكتيريا *E-coli* ، *S-aureus* ، *P – aeruginosa* ، حيث ظهرت فعالية النبتتين ، بالنسبة للنبتة1 : المستخلص الكلوروفورمي ضد *S-aureus* و *E-coli* و *P- aeruginosa* أما خلات الإيثيل ضد E-coli و البيتانولي ضد بكتيريا S-aureus ،بالنسبة إلى النبتة 2:المستخلص الكلوروفورمي ضد *E-coli* أما المستخلص البيتانولي فقد أعطى فعالية ضد بكتيريا *S-aureus*.

Résumé:

Notre étude a était basé sur la contribution à l'étude des métabolites secondaires de deux plantes médicinales répondu dans la région de sud-ouest de l'Algérie.

Nous avons abordés l'extraction des principes actifs les flavonoïdes pour les deux plantes étudiées par la méthode d'extraction solide-liquide (70/30 : Ethanol/Eau) et liquide- liquide, nous avons obtenus trois extraits ($CHCl_3$, ACoEt, n-ButOH). Le rendement des extraits le plus élevée est l'extrait butanolique pour les deux plantes. Les rendements de extrait butanolique dans les 5,1383% et 5, 7438% respectivement .

L'étude phytochimique réalisée sur les deux plantes pour l'identification des principes actifs montre la richesse en métabolites secondaires surtout les flavonoïdes, les tannins, les stéroleset les triterpenespour la première plante mais la deuxième plantes est riche en stéroles , saponines et triterpenes. On a utilisé aussi la méthode chromatographique CCM pour l'identification des composés chimiques amontré que les extraits riche en flavonoïdes selon l'apparaissaient les couleurs indiquant leurs présences. En ci concerne l'activité biologique on a étudié l'activité antioxydante pour l'extrait butanolique en utilisant la méthode de DPPH et molibdates de phosphates pour les deux plantes. Selon les résultats les deux plantes ont une activité antioxydante pour l'extrait butanolique.

L'étude de l'activité antimicrobienne pour les deux plantes étudiées est basés sur trois variétés de bactérie *E.coli, S.aureus, p.aerugenosa* ont montré l'efficacité des deux plantes.

Concernant la première plantes l'extrait chloroformique contre *E.coli*, S.*aureus, p.aerugenosa* mais l'extrait acétate d'éthyleest seulement contre E.coli et l'extrait butanolique contre *S.aureus*.

Pour la deuxième plante l'extrait chloroformique contre E.coli, et l'extrait butanolique a donné une activité contre *S.aureus*.

Mots clés :*Asteraceae, Zygophylaceae*, activité bactérienne, activité antioxydante**.**

Abstract

Our study was based on the contribution to the study of secondary metabolism products of two medicinal plants, two plants spread in southwestern Algeria.

We studied the extraction of flavonoid compounds for the two methods of extracting solid- liquid($EtOH / H_2O$) (70/30) and liquid- liquid . We obtained three extracts of CHCl3, AcOEt, n-But.OH and the highest yield in the extracts: Both plants was estimated at plant 1 and plant 2 at 05.7438% and 05.1383%, respectively.

The two plants were rich in secondary metabolites, especially flavonoids, tannins, steroids and triterpanoide, for the first plant, while the second plant had flavonoids, steroids, triterpanoide and saponins. We also used the TLC chromatography methods for chemical analysis. The extracts were found to be rich in chemical compounds, especially flavonoids, through the appearance of colors that indicated their presence. For the biological efficacy, the antioxidant efficacy of the betanolique extract was studied in a DPPH test and phosphate molybdate test for both plants. It was found that the two plants had antioxidant activity of the betanolique extract. The study of the anti-bacterial effect of the two studied plants was done on three types of bacteria E-coli, S-aureus, P-aeruginosa, where the efficacy of the two plants was shown

for plant 1: chloroformal extract against S-aureus, E-coli and P-aeruginosa, ethyl acetate against E-coli and betanolique against S-aureus bacteria, for plant 2: chloroform extract against E-coli The betanoli extract has been shown to be effective against S-aureus bacteria.

Key words: Asteraceae- Zygophylaceae - efficacy aintoxidant - efficacy aintibacterial.