الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة قاصدي مرباح ورقلة
كلية الرياضيات و علوم المادة
قسم الكيمياء

مذكرة مقدمة لنيل شهادة ماستر أكاديمي

مجال: علوم المادة

فرع: الكيمياء

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد:

سلامي نجاة و معطاء الله عبير

الموضوع:

مساهمة في تقييم الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات طبي

نوقشت يوم: 2019/07/03

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

حمادة جميلة	أستاذ محاضر(ا)	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	رئيسا
شربي رقية	أستاذ محاضر(ا)	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	مناقشا
علاوي مسعودة	أستاذ محاضر(ا)	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	مؤطرا
بالاعور ابتسام	طالبة دكتوراه	جامعة قاصدي مرباح ورقلة	مساعد مؤطر

السنة الجامعية: 2019/2018

بسم الله الرحمن الرحيم

اهداء

الحمد و الشكر لله أولا وأخيرا الذي أعانني ووفقني على إنجاز هذا العمل المتواضع.

أهدي ثمرة عملي هذا:
إلى من وصى بهما ربي إلى من هما الغاليين على قلبي وعند ربي رمز الحب و التضحية و نبع الحنان
أمي
والى ينبوع العطاء الذي زرع في نفسي الطموح و المثابرة
أبي
حفظهما الله و أدخلهما الجنة
ومهما شكرتهما فلن أوفيهما حقّهما فهما من تعبا وشقيا حتى أوصلاني إلى هذا المستوى ، أسأل الله تعالى أن يحفظهما ويطيل في عمرهما بكل خير.
إلى كل أخوتي الأعزاء من أكبرهم إلى أصغرهم حفظهم الله

وكل أفراد عائلة سلامي إلى أختي الوحيدة **سهام** وولديها **وائل** و**وسيم**
وأخواي الأعزاء **أسامة** و **أيوب**
إلى كل عماتي و خالاتي خاصة عمتي **ليلى** التي طالما لم تنسني في دعائها
والى أختي الثانية **سهير** و ابنتها **بلقيس**
وأشكر كل صديقاتي الحبيبات اللواتي رافقنني في مشواري الدراسي وساندنني وكن لي نعم الصديقات
ونعم الرفيقات فأنا لن أنسى أفضالهن
وإلى كل أفراد دفعتي
و إلى كل الأهل و الأصدقاء

والى كل من ضاقت السطور عن ذكرهم فوسعهم قلبي

إلى كل من قدم لي يد العون لانجاز هذا العمل .و شكرا.

S. Nadjet

اهداء

أحمد الله و أشكره على نعمه التي غمرني بها و بإذن الله تسنى لنا إنهاء عملنا فاللهم لك الحمد و الشكر كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك اللهم أدم نعمك علينا و احفظها من الزوال يا رب العالمين .

إلى التي أسكنتني القلب قبل أن تحملني و إلى من أنشأت في نفسي الصبر و الإحسان إلى التي بفضل دعواتها بارك الله لي خطواتي إلى **أمي الحبيبة** الغالية أهدي ثمرة نجاحي و تخرجي.

إلى من حملني صغيرة و تحملني شابة و سأحمل جميله إلى آخر عمري إلى **أبي الغالي** أهدي رحيق جهدي .

أسأل الله تعالى أن
يحفظهما ويطيل في عمرهما بكل خير.
إلى كل أخواتي الأعزاء من أكبرهم إلى أصغرهم حفظهم الله

وكل أفراد عائلة **معطاءالله** و **بركبية** إلى أخواتي الحبيبات **سهير، أية، ملاك** و**منال** إلى **عماتي** و **أعمامي وخالاتي** و **أخوالي.**
وأشكر كل صديقاتي الحبيبات اللواتي رافقنني في مشواري الدراسي وساندنني وكن لي نعم الصديقات
ونعم الرفيقات فأنا لن أنسى أفضالهن
وإلى كل أفراد دفعتي
و إلى كل الأهل و الأصدقاء.

إلى كل من قدم لي يد العون لانجاز هذا العمل .و شكرا.

M. Abir

شكر و عرفان

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك، ولا يطيب النهار إلا بطاعتك ، ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ، ولا تطيب الاخرة إلا بعفوك ، ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك، لك الشكر والحمد لله حمدا كثيرا كما ينبغ لجلال وجهه وعظيم سلطانه.

الشكر أولا و أخير لله سبحانه وتعالى على إمدادنا بالقوة والعزيمة لإتمام و إنجاز هذا البحث.

نتقدم بالشكر والثناء إلى أعضاء اللجنة الذين تفضلوا وقبلوا المناقشة: الأستاذة حمادة جميلة و الأستاذة شربي رقية.

كما نتقدم بجزيل الشكر للأستاذة المؤطرة علاوي مسعودة و الأستاذة المساعدة بالاعور ابتسام اللتان لم تبخلا علينا بنصائحهما و توجيهاتهما طيلة هذا العمل ونشكر بكة شهرزاد و بن ساسي شيماء لمساعدتنا في هذا البحث.

كما تتسع دائرة شكرنا إلى أساتذة قسم الكيمياء و إلى جميع الموظفين وعمال مخبر الكيمياء بكلية علوم الرياضيات و علوم المادة.

و إلى جميع أصدقاء الدراسة في قسم الكيمياء دفعة ماستر 2019.

وأخيرا نشكر كل من ساندنا ولو بكلمة من قريب اوبعيد لإنجاح هذا العمل.

شكرا

قائمة الأشكال

الفصل الأول		
الشكل 1.I	صور توضيحية للنبات الطبي المدروس	4
الشكل 2.I	هياكل مركبات الفلافونيد المعزولة من النبات الطبي	5
الشكل 3.I	مناطق انتشار النبات الطبي في افريقيا	6
الشكل 4.I	موقع مدينة تمنراست في الخريطة الجزائرية	6
الفصل الثاني		
الشكل 1.II	هيكل الفينولات البسيطة (phénol)	8
الشكل 2.II	الصيغة العامة للكومارينات	9
الشكل 3.II	أمثلة لبعض المركبات العفصية	9
الشكل 4.II	الهيكل العام للفلافونيدات	10
الشكل 5.II	وحدة الايزوبرين (C_5H_8)	11
الشكل 6.II	أمثلة لبعض المركبات القلويدية	11
الفصل الثالث		
الشكل 1.III	آلية التخلص من جذر $O_2^{\bullet}$ بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة	14
الشكل 2.III	معادلات توضح إزاحة الجذور الحرة	15
الشكل 3.III	صيغة المركب BHA	16
الشكل 4.III	صيغة المركب BHT	17
الفصل الرابع		
الشكل 1.IV	خطوات تحضير العينة النباتية	20
الشكل 2.IV	صور توضح عملية الاستخلاص صلب- سائل	23
الشكل 3.IV	صور توضح عملية الاستخلاص سائل - سائل	24
الشكل 4.IV	مخطط يوضح مراحل عملية الاستخلاص	24
الشكل 5.IV	معادلة تثبيط جذر $DPPH^{\cdot}$ بواسطة مضادات الاكسدة	27
الشكل 6.IV	معادلة تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$ وتثبيطه بواسطة مضادات الاكسدة المانحة ل $H^{\cdot}$	28
الشكل 7.IV	معادلة إرجاع الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) إلى الحديد الثنائي(Fe^{+2})	30
الفصل الخامس		
الشكل 1.V	المنحنى العياري للامتصاصية بدلالة تركيز حمض الغاليك Acide gallique	36
الشكل 2.V	مقارنة توضح الكمية الكلية للفينولات لمختلف المستخلصات النباتية	36
الشكل 3.V	المنحنى العياري للامتصاصية بدلالة تركيز الكيرستين	37
الشكل 4.V	مقارنة توضح الكمية الكلية للفلافونيدات لمختلف المستخلصات النباتية	37
الشكل 5.V	صورة توضيحية لنتائج اختبار $DPPH^{\cdot}$	38
الشكل 6.V	نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بواسطة الشواهد المرجعية VC و BHA	39
الشكل 7.V	نسبة تثبيط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بواسطة المستخلصات النباتية	39

الشكل V.8	مقارنة بين قيم IC_{50} لكل من المستخلصات، VC و BHA التي تثبط (50%) من نشاط جذر $DPPH^{\cdot}$	40
الشكل V.9	آلية الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية	41
الشكل V.10	صورة توضيحية لنتائج اختبار ABTS	41
الشكل V.11	نسبة تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$ بواسطة الشواهد المرجعية VC و BHA	42
الشكل V.12	نسبة تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$ بواسطة المستخلصات النباتية	42
الشكل V.13	قيمة (IC_{50}) تركيز المستخلصات، VC و BHA التي تثبط (50%) من الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$	43
الشكل V.14	صورة توضيحية لنتائج اختبارFRAP	44
الشكل V.15	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك (VC)لاختبار FRAP	44
الشكل V.16	اثر القوة الاختزالية للمستخلصات ومقارنتها مع BHA في اختبار القدرة الارجاعية للحديد	45
الشكل V.17	مقارنة AEAC بالنسبة للمستخلصات وBHA في اختبار FRAP.	46
الشكل V.18	صورة توضيحية لنتائج اختبار موليبدات الفوسفات	47
الشكل V.19	المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك (VC) في اختبار موليبدات الفوسفات	47
الشكل V.20	اثر القوة المضادة للاكسدة للمستخلصات ومقارنتها مع BHA في اختبار ارجاع الموليبدات	48
الشكل V.21	مقارنة القيمة TAC بالنسبة للمستخلصات وBHA في اختبار موليبدات الفوسفات	49

قائمة الجداول

الفصل الأول		
الجدول I.1	استعمالات الجنس *Senecio* في الطب التقليدي	4
الجدول I.2	التصنيف النظامي للنبتة	5
الفصل الرابع		
الجدول IV.1	المواد والأدوات المستعملة في الدراسة	20
الفصل الخامس		
الجدول V.1	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في نبات طبي	33
الجدول V.2	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي للنبتة	33
الجدول V.3	نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلصات الكحولية	34
الجدول V.4	مردود الاستخلاص لكل المستخلصات	35

قائمة الرموز

الرمز	بالعربية	بالاجنبية
Acé	خلات الايثيل	Acétate d'éthyle
Di ch	ثنائي كلورو الميثان	Dichloro méthane
n-Bu	البيتانول	n-Butanol
P Aqu	مائي	Phase aqueuse
H A	هيدروكحولي	hydroalcoollique
Abs	الامتصاصية	Absorbance
Ex	مستخلص	Extrait
SOD	ديسموتاز سوبيروكسيد	Superoxyde dismutase
GA	حمض الغاليك	Acide Gallique
VC	فيتامين C	vitamin C
TPC	المركبات الفينولية الكلية	Composés Phénoliques totaux
TFC	المركبات الفلافونويدية الكلية	Composés Flavonoïdes totaux
BHA	بيوتيل هيدروكسي الأنيسول	Butyl hydroxy anisole
BHT	بيوتيل هيدروكسي تولوين	Butyl hydroxy toluène
AEAC	الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك	Capacité antioxydante équivalente d'acide ascorbique
IC50	تركيز المستخلص بال (mg/ml) الذي يثبط نصف كمية الجذر المتشكلة	La concentration (mg / ml) de l'extrait inhibant de 50% la formation de radical
TAC	مجموع القدرة المضادة للأكسدة	Capacité antioxydante totale
DPPH	ثنائي الداي فنيل أحادي بيكيريل هيدرازيل	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
I%	النسبة المئوية للتثبيط	Le pourcentage d'inhibition
$O^{2\cdot-}$	جذر أنيون فوق أكسيد	Radicalaire anion superoxyde
ROS	انواع الأكسجين الفعالة	Les espèces réactives de l'oxygène
TCA	حمض ثلاثي كلورو أسيتيك	Acide Trichloro acétique
$FeCl_3$	كلوريد الحديد	Chlorure de fer
FRAP	القدرة المضادة للاكسدة لارجاع الحديد	Pouvoir antioxydant réducteur du fer
GPX	الجلوتاثيون بيروكسيداز	Glutathion peroxydase
GR	الجلوتاثيون مختزل	Glutathion réductase
NADH	نيكوتين اميد الأدينين دينكليوتيد الهيدروجين	Nicotinamide adénine dinucléotide d'hydrogène
GSSG	ثاني كبريتيكال جلوتاثيون	glutathion disulfide
H_2O_2	فوق اكسيد الاوكسجين	peroxyde d'hydrogène
GPx	غليثيون بيروكسيداز	Glytathion peroxydase
CAT	انزيم الكاتالاز	Catalase
HO•	جذر الهيدروكسيل	Radical d'hydroxyle
NO	أوكسيد النيتروجين	Oxyde d'azote
NO•	احادي أكسيد النيتروجين	Monoxyde d'azote

ONOO•	بيروكسيد النتريت	Peroxynitrite
ABTS	حمض-2،2-ازينو- بيس(3-ايثيل بنزوثيازولين-6-سلفونيك	acide 2,2'-azino-bis(3-éthyl benzothiazoline -6-sulphonique)

الفهرس

مقدمة عامة 1

الجزء النظري

الفصل الأول: الدراسة النظرية للنبتة

I.1. العائلة المركبة 3

I.2. الجنس *Senecio* 3

I.2.1. استخداماته في الطب التقليدي 3

I.3. وصف النبات الطبي 4

I.4. التصنيف النظامي للنبات 5

I.5. المسح الكيميائي للنبتة 5

I.6. التوزيع الجغرافي للنبات 6

I.7. منطقة الدراسة 6

الفصل الثاني: منتجات الايض الثانوي

II.1. مدخل 8

II.2. المركبات الفينولية 8

II.2.1. الكومارينات Coumarines 8

II.2.2.العفصيات Tanins 9

II.2.3.الفلافونويدات Flavanoides 9

II.2.3.1. البنية الكيميائية للفلافانويدات 10

II.3. التربينات Terpènes 10

II.4. القلويدات Alcaloides 10

الفصل الثالث: الفاعلية المضادة للاكسدة

III.1. الإجهاد التأكسدي 13

III.2. الجذور الحرة 13

III.2.1. تعريفها 13

III.2.2. أقسامها 13

III.3. مضادات الاكسدة 14

III.3.1. تصنيف مضادات الاكسدة 14

III.3.1.1. مضادات الاكسدة الطبيعية 14

III.3.1.2. مضادات الاكسدة المصنعة 16

III.3.2. آلية عمل مضادات الأكسدة 17

الجزء العملي

الفصل الرابع

IV.1.المواد و الأدوات المستعملة في الدراسة 19

IV.2. تحضير العينة النباتية 19

IV.3. الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في نبات طبي 20

IV.3.1. القلويدات 20

IV.3.2. الفلافونيدات 20

IV.3.3. الستيرويلات غير المشبعة 20

IV.3.4. التربينات 21

IV.3.5. الفينولات 21

IV.3.6.الصابونينات 21

IV.3.7. الكاردينوليدات 21

IV.3.8. الغليكوزيدات 21

IV.3.9. العفصيات 22

IV.3.10.الراتنجات 22

IV.3.11.الستيرويدات المشبعة و غير المشبعة 22

IV.4. طرق الاستخلاص 22

IV.4.1. استخلاص صلب- سائل 22

IV.4.2. استخلاص سائل- سائل 23

IV.5. مردود الاستخلاص 25

IV.6. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية و الفلافونيدية 25

IV.6.1. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية TPC 25

IV.6.2. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفلافونيدية TFC 26

IV.7.تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة 26

IV.7.1. اختبار DPPH· (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl) 26

IV.7.4. اختبار $ABTS^{\cdot+}$ 28

IV.7.3. اختبار القدرة الإرجاعية للحديد 29

IV.7.4. اختبار إرجاع الموليبدات 30

الفصل الخامس

V.1.اختبارات الكشف الفيتوكيميائي لبعض المواد الفعالة في نبات طبي 33

V.1.1. مناقشة النتائج 35

2.V. حساب مردودية الاستخلاص 35

1.2.V. مناقشة النتائج 35

3.V. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية و الفلافانويدية في النبات 36

1.3.V. نتائج كشف المركبات الفينولية TPC 36

1.1.3.V. مناقشة النتائج 37

2.3.V. نتائج كشف المركبات الفلافونيدية في نبات TFC 37

1.2.3.V. مناقشة النتائج 38

4.V. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة 38

4.V. 1. اختبار $DPPH^{\cdot}$ 38

1.1.4.V.مناقشة النتائج 40

4.V. 1. اختبار $ABTS^{\cdot+}$ 41

1.2.4.V. مناقشة النتائج 43

3.4.V . اختبار القدرة الإرجاعية للحديد 43

1.3.4.V. مناقشة النتائج 46

4.4.V . اختبار إرجاع الموليبدات: 46

1.4.4.V. مناقشة النتائج 49

الخاتمة 50

المراجع 51

مقدمة عامة

يعد طب الأعشاب فرع من فروع الطب المكمل و البديل، وذلك لأن النباتات تؤدي دورًا مهمًا في حماية صحة الإنسان وتحسين مسار حياته [1]، حيث تمثل هذه النباتات مستودعًا ضخمًا للمركبات الفعالة، ويعزى ذلك إلى المستقلبات الثانوية التي تتميز بتنوع كبير في التركيب الكيميائي، و فاعلية بيولوجية عالية [2].

ولهذا الغرض ظهر مؤخرا ميدان الإثنوفرماكولوجيا Ethnopharmacologie، وهو ميدان جديد يهتم بتقييم فاعلية النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي ودراستها بالوسائل المتطورة للصناعة الصيدلانية آخذا في الاعتبار جميع المعطيات العلمية، منها :البيولوجية، الكيمائية، الاجتماعية وحتى الاقتصادية، حتى يمكن الاستفادة منها في الميدان الطبي بطريقة أنجع وأكثر فائدة [3]. ويعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي على مادة كيميائية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع، حيث لها القدرة الفيزيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقليل من الإصابة بهذا المرض [2].

تحتوي الجزائر على ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية نظرا لتعدد مناخها، تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة، وفي بيئات مناخية مختلفة، في السواحل، الوديان، الهضاب، المرتفعات الجبلية والصحاري ، منها ما هي موسميه تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة والشجيرات [1].

سجل في السنوات الأخيرة شكوك حول مدى سلامة مضادات الأكسدة الصناعية من الناحية الصحية إذ أشارت أن استخدام هذه المضادات نتج عنه مواد مسرطنة أو سمية لذلك اتجه الباحثون واجتهدوا في إيجاد مضادات طبيعية الأكثر أمانا فسلط الضوء على المركبات المستخرجة من النباتات وعلى رأسهم المركبات الفينولية التي تتمتع بفعالية مضادة للأكسدة عالية فتعددت طرق تقديرها.

وفي بحثنا سوف نعمل إنشاء الله تعالى على تقدير المركبات الفينولية والفلافونيدات أولا ثم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام عدة طرق للمستخلصات المستخرجة من نبات طبي.

لانجاز هذه الدراسة قسمنا هذا العمل إلى:

جزء نظري, يحتوي على مقدمة عامة و ثلاثة فصول حيث أدرجنا في الفصل الأول دراسة نظرية شاملة للنبتة بالإضافة إلى الأهمية البيولوجية لجنسها و بالنسبة للفصل الثاني فتطرقنا فيه إلى عموميات حول منتجات الايض الثانوي، أما الفصل الثالث فقد خصصناه للفاعلية المضادة للأكسدة .

جزء عملي: قسم إلى فصلين، فصل رابع اشتمل على أهم المواد و الطرق المستخدمة في هذه الدراسة، وفي الأخير قمنا باستعراض النتائج و مناقشتها كفصل خامس.

الفصل الأول:

الدراسة النظرية للنبتة

I. الدراسة النظرية لنبات طبي

1.I. العائلة المركبة

تحتضن العائلة المركبة (Asteraceae) ما لا يقل عن 20000 نوع من النباتات المزهرة [1]، مقسمة إلى 1300 جنس [2].

تختلف هذه العائلة في مظهرها الخارجي تبعا لاختلاف البيئة التي تعيش فيها، و لا يقتصر الشكل على الأجناس المختلفة، بل بين الأنواع المختلفة للجنس الواحد، فمنها الحولية، المعمرة و المتسلقة و البعض منها صحراوي, فمنها الشوكي و أخرى زاحفة، كما هناك أنواع شجيرية تنمو في إفريقيا [3].

توجد هذه العائلة في كل بيئة يمكن تصورها تقريبا، حيث لها توزيع عالمي (باستثناء القارة القطبية الجنوبية) مع مجموعة واسعة من التنويع البيئي، فهي تتوفر بشكل رئيسي في المناطق الاستوائية، شبه الاستوائية، المناطق شبه القاحلة والصحراوية، وهي تمثل حوالي من 8٪ إلى 10٪ من مجموع النباتات المزهرة [4].

وفقًا لـ Quezel و Santa، يوجد في الجزائر 109 جنسًا و 408 نوعًا من العائلة المركبة [5].

2.I. الجنس Senecio

يعد الجنس Senecio من اكبر النباتات المعمرة في العائلة المركبة، حيث جمعت حوالي 1500 نوع، بعضها عبارة عن ساق، أوراق، جذور أو جذور عصارية. و هي نباتات عشبية سنوية، معمرة وكذا شجيرات (أو شجيرات نادرة جدا) مع قنوات راتنجية [5] [6].

في الجزائر يتم تمثيل جنس Senecio ب 18 نوع، منها خمسة أنواع مستوطنة [7].

يتضمن Senecio العديد من المركبات الكيميائية منها الهيدروكربونية، الأليفاتية، والمركبات الاكسجينية [3].

1.2.I. استخداماته في الطب التقليدي

من المعروف أن أنواع جنس Senecio غير مناسبة للاستهلاك سواء للإنسان أو الحيوان كونها تحتوي على القلويدات (alcaloïdes) (سامة)، لكن هذا لا يؤكد مطلقًا سميتها المحتملة. يستخدم هذا الجنس في الطب التقليدي لبعض خصائصه العلاجية وآثارها المفيدة في علاج الالتهابات (التهاب الأمعاء، الكبد)، وألام المعدة، السعال، الاكزيما، تضميد الجراح، وتسهيل الولادة...الخ، كما هو موضح في الجدول أدناه [2]:

الجدول 1.I: استعمالات الجنس *Senecio* في الطب التقليدي

النبتة	خصائصها العلاجية
S.argunensis	إسهال
S.chrysanthemoides DC	علاج الإصابات
S.nemorensis	التهاب الأمعاء والكبد والدمامل
S.scandens	عدوى الفم والبلعوم
S.brasiliensis	الام في المعدة، قرحة
[2] *S.vulgaris*	تهدئة الحيض المؤلم
[7] *S.cinereria*	تخفيف مشكل العين

3.I. وصف النبات الطبي

يعد هذا النبات سنوي ومعمر، في بعض الأحيان يبلغ طول هذه العشبة التي تحتوي على سيقان منتصبة للغاية إلى 50 cm ، ولكن في الأغلب أقل من ذلك بكثير (من 15 cm إلى 25 cm)، تحمل السيقان زهور طويلة، بأوراق دبوسية طبيعية؛ رؤوس الزهور طولها 1cm، مغطاة بأزهار ذهبية صفراء. نادرا ما نلاحظ اللون الأرجواني لأزهار هذه النبتة (هذه الزهور قصيرة جدًا في مجموعة متنوعة من النباتات) [8] [9].

الشكل 1. I: صور توضيحية للنبات الطبي المدروس

4.I. التصنيف النظامي للنبات

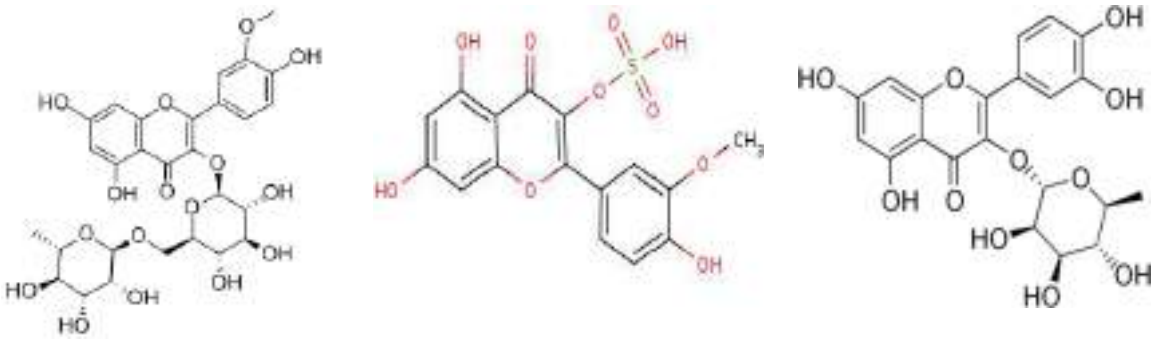
تم تصنيف النبتة من طرف الدكتور عمار عيدود أستاذ بكلية علوم الطبيعة و الحياة في جامعة قاصدي مرباح ورقلة، وفق الجدول أدناه:

الجدول 2.I: التصنيف النظامي للنبتة

Régne	Plantae	المملكة
Sous-Régne	Tracheobionta	المملكة الفرعية
Au-dessus Branche	Spermatophyta	فوق الشعبة
Branche	Mangoliophyta	الشعبة
Class	Mangliopsida	الصنف
Sous-Class	Asteridea	تحت الصنف
Ordre	Asterales	الرتبة
Famille	Asteraceae	العائلة
Genre	*Senecio L.*	الجنس

5.I. المسح الكيميائي للنبتة

قامت الدراسات الفيتوكيميائية السابقة للنبتة من طرف بفصل فلافونيدات من نوع فلافون (Quercetine)، و كذا آثار قليلة لمركبات من نوع فلافونولات (isorhamnetin 3-rutinoside) (isorhamnetin 3-monosulphate) [10].



isorhamnetin 3- rutinoside isorhamnetin 3-monosulphate Quercetine

الشكل 2.I: هياكل مركبات الفلافونيد المعزولة من النبات الطبي

6.I. التوزيع الجغرافي للنبات

يتواجد النبات المدروس وفقا لـ [Quezel]، في ست مجموعات نباتية تجتمع في منطقة الهقار (Hoggar) و تبستي (Tibesti) ، حيث يستوطن جنوب الصحراء الكبرى (من 800 إلى 3400 متر). [11]

الشكل 3.I: مناطق انتشار النبات الطبي في افريقيا

7.I.منطقة الدراسة

نهتم في دراستنا للنبتة الموجودة في الجنوب الجزائري في منطقة تمنراست التي تقع في أقصى الجنوب على بعد 2200 كلم² من العاصمة، يحدها شمالا ولايتي ورقلة و غرداية، و من الشرق ولاية اليزي، و من الغرب ولاية ادرار و من الجنوب جمهوريتي مالي و النيجر، حيث تبلغ مساحتها 55.7906.25 كلم² أي نسبة 23.44 من مساحة الجزائر [12]

الشكل 4.I: موقع مدينة تمنراست في الخريطة الجزائرية

الفصل الثانـي:

منتجات الايض الثانوي

1.II. مدخل

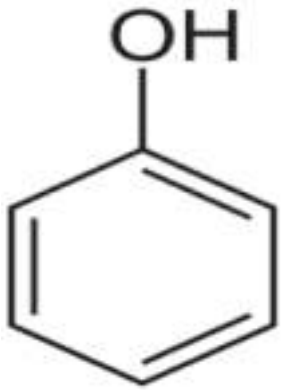
النباتات هي كائنات ذاتية التغذية، تتغذى على عناصر بسيطة (الكربون، الأكسجين، النيتروجين)، وتفاعلات المركبات العضوية لعملية الايض، سواء الأولية أو الثانوية.

تلعب منتجات الايض الأولية (Les Métabolites Primaires) دور حيوي لعملية التمثيل الغذائي و تطوير النبات، مثل البروتينات، الكربوهيدرات، الأحماض الدهنية و الأحماض النووية، و من ناحية أخرى تدخل منتجات الايض الثانوي (Les Métabolites Secondaires) بشكل رئيسي في العلاقات بين النبات وبيئته، و يعتبر حمض الشيكميك، الأسيتات، والأحماض الأمينية، وحدات بناء رئيسية للأيض الثانوي [16].

يمكن تصنيف المستقلبات الثانوية بطرق مختلفة تبعا لخصائصها الكيميائية، أو أصل النبات أو الأصل الحيوي للمركب [14]، و تنقسم إلى عدة مجموعات رئيسية: من بينها الفينولات، التربينات، الستيرويدات ومركبات النيتروجين بما في ذلك القلويات.

2.II. المركبات الفينولية Composés phénoliques

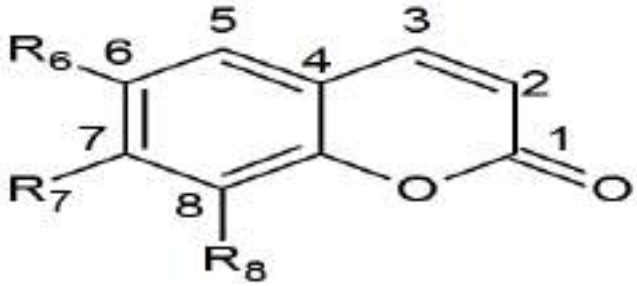
يوجد ما يقارب 8000 مركب طبيعي ينتمي إلى أسرة المركبات الفينولية. يتميز هيكل الفينول بوجود حلقة بنزين تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة (OH) واحدة على الأقل، ويتم تصنيفه اعتمادا على عدد الوحدات الفينولية الموجودة إلى مركبات فينولية بسيطة وعديدات الفينول [15].



الشكل 1.II: هيكل الفينولات البسيطة (phénol)

1.2.II.الكومارينات Coumarines

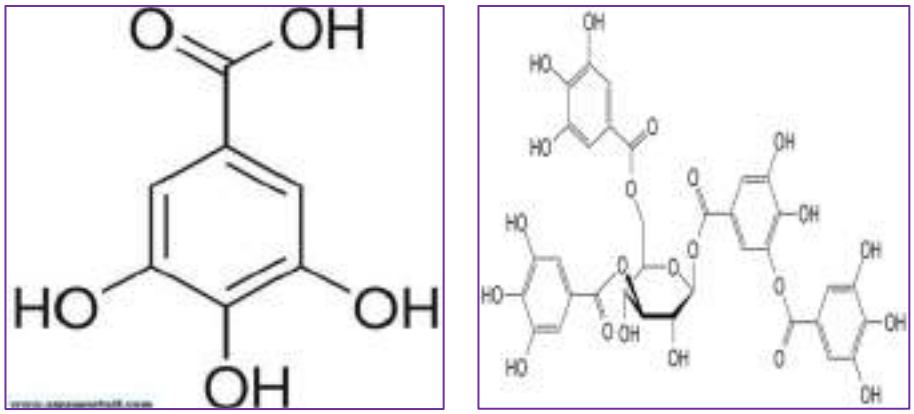
هذه المركبات منتشرة على نطاق واسع في المملكة النباتية، وقد تم بالفعل وصف أكثر من 700 بنية للكومارين، حيث تتشكل في أجزاء مختلفة من النباتات وتتراكم بشكل أساسي في الفواكه والجذور(عسل، الشاي الأخضر، القرفة). و يوصف كيميائيا بأنه مركب كيميائي غير متجانس، ينتج عن مزيج من حلقة بنزين مع بيران (pyrane)، له وظيفة الكيتون في الموضع α فيما يتعلق بالأكسجين(الشكل 1.II) [16].



الشكل 2.II: الصيغة العامة للكومارينات

2.2.II.العفصيات Tanins

هي مجموعة واسعة من المركبات الفينولية و وزنها الجزيئي محصور بين 500 و 3000 غ/مول، تتميز بقدرتها على الاندماج مع البروتينات و البوليمرات العضوية مثل الكربوهيدرات، الأحماض النووية، الستيرويدات و القلويدات لتشكيل معقدات مستقرة معهم، وهي قابلة للذوبان في الماء. من وجهة نظر هيكلية، هي مجموعة كيميائية غير متجانسة [18].



الشكل 3.II: أمثلة لبعض المركبات العفصية

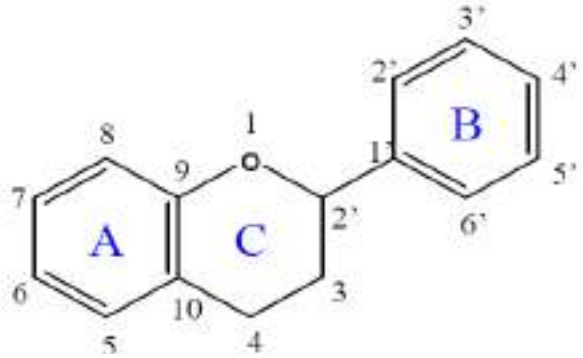
3.2.II. الفلافونيدات Flavanoides

يشير مصطلح الفلافونيد إلى مجموعة واسعة جدًا من المركبات الطبيعية [19] ، و هي عبارة عن مركبات فينولية متعددة منخفضة الوزن الجزيئي، موجودة بشكل مطلق في النباتات، نشطة بيولوجيا، و ذات خصائص مضادة للأكسدة [20].

يوجد أكثر من 10000 نوع من تركيبات الفلافونيد [21] ، يرتكز معظمها في مختلف أجهزة النبات سواء في الأزهار، الفواكه، الأوراق، السيقان و الجذور، وتعمل الفلافونيدات على تحديد صبغة النبات [22].

1.3.2.II. البنية الكيميائية للفلافونيدات

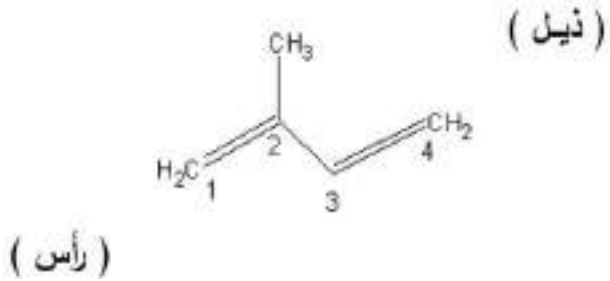
تتوزع الفلافونيدات بشكل عام في جميع النباتات الوعائية، يحتوي هيكلها الكيميائي الشائع على 15 ذرة كربون(C6-C3-C6)، تتكون من حلقتين من البنزين (A) و(B) متصلة بواسطة حلقة مركزية (C) (cycle pyranique)، تختلف عن بعضها البعض من خلال موقع البدائل على النواة A وB، وطبيعة C [22].



الشكل 4.II: الهيكل العام للفلافونيدات

3.II. التربينات Terpènes

هي مركبات هيدروكربونية, الوحدة البنائية لها هي الايزوبرين (Isoprène) (C_5H_8) ذات خمس ذرات كربون (الشكل 4.II) وهي ناتجة عن تجمع من وحدات ال Isoprène [3].



الشكل 5.II: وحدة الايزوبرين (C_5H_8)

تعتبر التربينات مركبات نشطة بيولوجيا، فهي مضادة للالتهابات، الفيروسات والفطريات، كما أن العديد منها مضادة لأورام السرطان، و يعتبر مركب paclitaxel الذي تم عزله من نبات *Taxus brevifolia* (Taxaceae) العقار الأول كمضاد للسرطان في الوقت الحالي [16].

4.II. القلويدات Alcaloides

هي منتجات نيتروجينية أساسية ذات أصل طبيعي، يتم فيها ضم ذرة النيتروجين في نظام حلقي غير متجانس حيث يكون نشاطها الدوائي كبيرًا، يتم تصنيفها وفقًا لأصولها الحيوية الطبيعية وطبيعة الحلقات

غير المتجانسة النيتروجينية، فهي واحدة من أكثر مجموعات الايض الثانوي، مع ما يقارب من 10000 إلى 12000 هيكل مختلف[16].

بالرغم من أن القلويدات مركبات تستخدم في عملية التمثيل الغذائي الثانوي في النبات، إلا أنها تلعب دورًا دفاعيًا بيئيًا ضد الحيوانات العاشبة، و تدخل في العديد من التطبيقات الصيدلانية في الجانب الطبي [25].

الشكل 6.II : أمثلة لبعض المركبات القلويدية

الفصل الثالث:

الفاعلية المضادة للأكسدة

1.III. الإجهاد التأكسدي

يعرف الإجهاد التاكسدي (Stress Oxidative) في النظام البيولوجي بأنه الاختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة والجذور الحرة، وهذا راجع إلى الإنتاج المفرط للجذور الحرة أو نقص في مضادات الأكسد [26].

2.III.الجذور الحرة

1.2.III. تعريفها

الشوارد الحرة عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات تحتوي على إلكترون غير مزدوج على الأقل. وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح غير مستقر. وعموما فإن هذه الشوارد الحرة تنتج طبيعيا من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم والذي يحاول أن ينظم تركيز هذه الشوارد الحرة. و لذلك فإن تواجد هذه الجذور الحرة في الدم بتركيز منخفض يعتبر أمرا طبيعيا بل وضروريا لعدة وظائف هامة للأنشطة الخلوية وأيضا لجهاز المناعة الذي ينتجها لاستخدامها في عمليات التخلص من الفيروسات و البكتيريا، ولكن المشكلة تكمن عندما يزيد تركيز هذه الشوارد الحرة داخل الجسم البشري [27].

2.2.III. أقسامها

تنقسم الجذور الحرة إلى نوعين [28]:

- **الجذور الحرة التي لها حياة قصيرة**

أي غير مستقرة بالظروف الاعتيادية، يشمل هذا النوع من الجذور الحرة ذرات العناصر مثل:

الهيدروجين، النيتروجين، الكلور، الفلور و الجذور التي لها وزن جزيئي منخفض بصورة عامة، تتراوح أعمار حياة هذه الجذور بالمايكروثانية و أقل حتى تصل إلى البيكوثانية. تتابع تفاعلات هذه الجذور و تشخيصها و حركية تفاعلاتها بالطرق الطيفية الحديثة مثل: الطرق الضوئية السريعة، أطياف رنين، البرم الإلكتروني و أطياف تجزا الكتلة.

- **الجذور الحرة التي لها حياة طويلة**

حيث تقدر أعمار حياتها بالثواني أو الدقائق أو الساعات أو حتى بالأيام مثل جذر Triphenylmethyl

وجذر ($DPPH^{\cdot}$) 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl [29]، فمثلا محلول الجذر الأول يكون ذو لون

أصفر و مستقر بدرجة حرارة الغرفة لبضع ساعات، أما الجذر الثاني فيكون مادة صلبة ذات لون بنفسجي مسود ويكون مستقرا لعدة أيام ويستخدم لتعيير أجهزة قياس أطياف رنين البرم الإلكتروني، وهناك جذور حرة صلبة أخرى مثل جذرثنائي فنيل أكسيد النتريك و مشتقاته. و نستطيع القول بأن معظم الجذور الأروماتية التي تشمل على تراكيب رنينية متعددة في تركيبها الجزئي تكون مستقرة. و يعزى استقرار هذا

النوع من الجذور لعدم تمركز الإلكترون الحر بموقع معين في تركيب الجذر، أي ينتقل من موقع لآخر على طول التركيب الجزيئي لهذا الجذر.

3.III. مضادات الاكسدة

مضادات الأكسدة هي مجموعة من الجزيئات تتواجد بتراكيز قليلة مقارنة ببادئات التأكسد ولكن لها القدرة على خفض أو تثبيط أكسدتها [31]. H وتتكون مضادات الاكسدة من بعض الإنزيمات التي يصنعها الجسم بالإضافة إلى بعض العناصر الغذائية التي يتناولها الإنسان ضمن وجبته اليومية وتعمل عناصر مضادات الأكسدة جميعها معا أو بشكل منفرد ضد هذه الشوارد الحرة كما تعمل مضادات الأكسدة في عدة جهات فقد تقلل الطاقة من الأكسجين النشط أو توقف الشوارد الحرة من الأكسدة. ولقد ارتبطت العديد من المشاكل الصحية بزيادة تركيز الشوارد الحرة والتي تسبب حدوث بعض التدهورات التي تحدث في الخلايا مما يؤدى إلى حدوث الكبر والتقدم في السن، الهرم، وكذلك بعض الأمراض الخطيرة مثل أمراض القلب والسرطان [30].

1.3.III. تصنيف مضادات الاكسدة

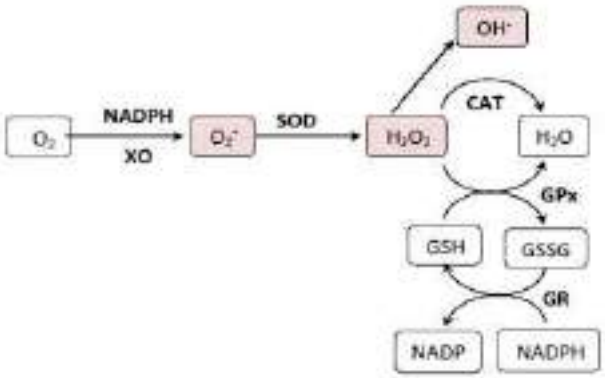
1.1.3.III. مضادات الاكسدة الطبيعية: تنقسم إلى قسمين

❖ **مضادات الاكسدة الإنزيمية** [30]

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة أهمها Superoxide dismutase (SOD)، Catalase (CAT) و Glutathion peroxidase (GPX) [32] .

- **إنزيم Superoxide dismutase (SOD)** [32]

يعتبر إنزيم SOD من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، فهو يقوم بإزالة الجذر $O_2^{\bullet}$ وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل الزنك و النحاس.



الشكل 1.III: آلية التخلص من جذر $O_2^{\bullet}$ بواسطة الإنزيمات المضادة للأكسدة

يوجد ثلاث نظائر إنزيمية ل SOD عند الثدييات و التي تختلف حسب توزعها الخلوي و المعادن المرتبطة، إذ نميز الشكل Cu/Zn-SOD الذي يتواجد أساسا في السيتوزول و النواة، و الشكل Mn-SOD الذي يتواجد في الميتوكوندري، أما الشكل Ec-SOD فيتواجد خارج الخلية [28].

- **إنزيم Catalase (CAT)** [32]**:**

يتكون إنزيم (CAT) من أربع تحت وحدات، تحتوي كل تحت وحدة على مجموعة هيم مرتبطة بالموقع النشط، يوجد إنزيم CAT في أغلب الكائنات الحية وفي كل أعضاء الجسم ويتركز خاصة في الكبد و كريات الدم الحمراء و الكلى و بكميات قليلة في المخ و القلب و العضلات الهيكلية، كما يتواجد في الميتوكوندري و السيتوزول و البيروكسيزومات، يعمل CAT على التخلص من H_2O_2 و ذلك بتحويله إلى H_2O و O_2 [28].

- **إنزيم Glutathion peroxidase (GPX) و إنزيم glutathion réductase (GR)** [32]**:**

ينتشر كل من (GPX) و (GR) في العديد من الأنواع الخلوية، حيث يتمركزان في الميتوكوندري و السيتوزول، و يعتبران من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة، و ذلك لقدرتهما على إزاحة عدد من الجذور و الهيدروبيروكسيدات الناتجة عن أكسدة الكولسترول والأحماض الدهنية وفق التفاعلات الآتية**:**

$$H_2O + GSSG \longrightarrow 2H_2O + 2GSH$$

$$LOH + H_2O + GSSG \longrightarrow LOO + 2\,GSH$$

الشكل 2.III: معادلات توضح ازاحة الجذور الحرة

يقوم إنزيم GR بإعادة تجديد GSH (γ-glutamyl-cysteinyl-glycine) انطلاقا من GSSG و يتطلب هذا التفاعل عامل مساعد هو NADH الشكل (4.III) [32].

- **إنزيم Peroxiredoxins**

تعرف Peroxiredoxins أيضا بإسم Thioredoxin peroxidase ، وقد تم تحديد تأثيرها المضاد للأكسدة حديثا توجد ستة أنواع منها عند الثديات تتوضع أساسا في السيتوزول و الميتوكوندري، كما تتصل هذه البروتينات بالنواة و الأغشية الخلوية. تقوم Peroxiredoxins بتحويل كل من H_2O_2،$NO^{\bullet}$،$ONOO^-$، و ذلك بفضل النشاطية peroxidase. رغم فعاليتها الضعيفة مقارنة ب CAT وGPx إلا أن هذه البروتينات تلعب دورا مهما في التخلص من الهيدروبيروكسيدات و ذلك لكميتها المعتبرة، إذ تمثل 0.1% - 0.8 % من البروتينات الحرة الخلوية [28].

❖ **مضادات الاكسدة غير الانزيمية**

تتكون هذه المجموعة من مضادات الاكسدة من عدة مركبات قادرة على التفاعل بشكل مباشر أو غير مباشر مع ROS. تشتمل الآلية غير المباشرة على خلابة المعادن الانتقالية، والتي تمنع إنتاج جذر الهيدروكسيل شديد السمية [33].

على عكس مضادات الأكسدة الإنزيمية، معظم المركبات لا تنتج من طرف العضوية و قد تأتي من الأغذية و تشمل هذه المركبات كل من الجزيئات الصغيرة مثل: الفيتامينات Vit.E وVit.C[36] و Gutathion و Ubiquinone [33]، و المركبات الفينولية ذات الأصل النباتي(خضر، فواكه، حبوب، نباتات طبية...) أثبتت فاعليتها المضادة للأكسدة في عدة دراسات على غرار كل من الفواكه والخضروات و الحبوب، فاكهة الخوخ و الرمان، البقوليات، النباتات الطبية، كما يمكنها أن تكون داخلية المنشأ مثل coenzyme Q و الميلانونين و حمض اليوريا [28].

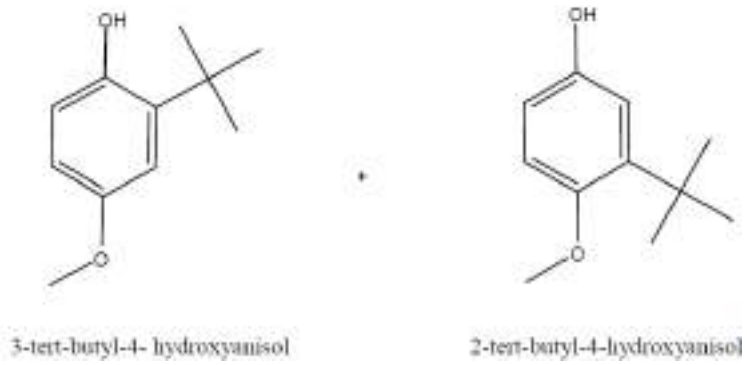
2.1.3.III. مضادات الاكسدة المصنعة

تستخدم مضادات الأكسدة الصناعية كثيرا في صناعة المواد الغذائية، نذكر منها :

- **Butyl Hydroxyanisole (BHA)** [34]

BHA يطلق على مركب تجاري .وهو عبارة عن مزيج من مركبين هما:

3-tert-butyl-4- hydroxyanisol و2-tert-butyl-4-hydroxyanisol، من أهم خواص هذين المركبين قدرتهما على المحافظة على قابليتهما كمواد مضادة للأكسدة في الغذاء أثناء التسخين كالقلي و الخبز، لذا فإن ال BHA يضاف إلى شرائح البطاطا. كما أنه أبيض شمعي، له درجة انصهار منخفضة، و يشكل في قوالب لسهولة حفظه و تقليل حجمه، و يذوب في الجليسيريدات و المذيبات العضوية و لا يذوب في الماء، و له رائحة خاصة تظهر عند ارتفاع درجة حرارته [35].

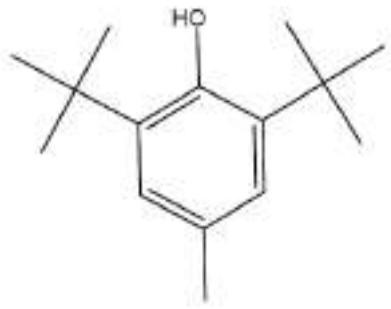


الشكل 3.III: مركب ال BHA

- **Butyl hydroxytoluène (BHT)**

هو من مضادات الأكسدة التي تصنع تجاريا لاستعماله في المنتجات البترولية و المطاطية و استعمل بعد ذلك في منتجات الأغذية.

و يمتاز هذا المركب بأنه أبيض اللون بلوري صلب و له ثباتية في درجات الحرارة العالية، و هو أقل كفاءة من ال BHA و هو مهم لذوبانه في الجليسيريدات وعدم ذوبانه في الماء. و في وجود الحديد في معلبات الأغذية أو في الأغذية في حد ذاتها يمكن للBHT أن يعطي لون اصفر[36].



3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxy Toluene

الشكل 4.III: الهيكل الكيميائي لمركب BHT

2.3.III. آلية عمل مضادات الأكسدة [37]

لمضادات الاكسدة عدة آليات تتمثل في:

- كسر سلسلة تفاعلات جذرية.
- امتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية.
- كبح الجذور الحرة.
- توقيف انتقال الالكترونات وإزالة المعادن

الفصل الرابع:

المواد و الطرق المستعملة

1.IV.المواد و الأدوات المستعملة في الدراسة

الجدول (1.IV): المواد والأدوات المستعملة في الدراسة

الأدوات	مطحنة - ميزان إلكتروني - أوراق ترشيح - حامل- مقص- ورق الألمنيوم- ماصة ميكروئية- ماصة- قمع - أنابيب اختبار - قمع الفصل - دورق - حمام مائي - بيشر - إرلينة - مخبار مدرج (250 ml - 500 - 1000) - جهاز الرج و التسخين - ملعقة مخبرية - قارورات زجاجية صغيرة - جهازالمبخّر الدوّار - جهاز مطيافية
المواد الكيميائية	ماء مقطر (H_2O) - ايثانول (C_2H_5OH) - إيثر البترول- بيتانول ($C_4H_{10}O$)- أسيتات الإيثيل ($C_4H_8O_2$) - حمض الخل (CH_3COOH) - أسيتون(C_3H_6O) - كيرسيتين (Quercetin) - كلوريد الحديديك ($FeCl_3$) - فوسفات ثنائي صوديوم (Na2HPO4) - موليبدات الأمونيوم ($H_{24}Mo_7N_6O_{24}$) - فوسفات أحادي صوديوم (Na_2HPO_4) - حمض ثلاثي كلورو أسيتيك (C2HCl3O2) - حمض الكبريت (H_2SO_4) - حمض الغاليك - سولفات الصوديوم (Na_2SO_4) - حمض النمل (CHOOH) - حمض كلور الماء(HCl)- كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) - كلو ريد الألمنيوم($AlCl_3,6H_2O$) - هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)

2.IV. تحضير العينة النباتية

نستعمل في هذه الدراسة الأجزاء الهوائية فقط (الاوراق، الازهار، الساق) من النبات الطبي المدروس.

- قمنا بجني النبات من مدينة تمنراست الواقعة على بعد 2000 كلم من الجزائر و ذلك في أواخر شهر ماي 2017.
- بعد قطف النبتة، جفّفت أجزائها الهوائية في الظل وفي مكان جيد التهوية وبعيد عن الرطوبة.
- تمّ تحضير مسحوق النبتة بطحنها في مطحنة كهربائية، وقد تمّ الاحتفاظ به في اكياس ورقية بعيدة عن الضوء والحرارة (25°C) إلى حين إستعمالها.

1 النبتة ← 2 تجفيف النبتة ← 3 طحن النبتة ← آلة الطحن

الشكل 1.IV: خطوات تحضير العينة النباتية

3.IV. الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في نبات طبي

يتم الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة للنبتة بالطرق التالية :

1.3.IV. القلويدات

- **تحضير كاشف دراجندروف Réactif de Dragendorff:** يحضر بمزج الحجم الكلي للمحلولين:

- **المحلول الاول:** يحضر بإذابة 20 g من نترات البيزموت في 80 ml من الماء المقطر.
- **المحلول الثاني:** يحضر بإذابة 16 g من يوديد البوتاسيوم (KI)في 40 ml من الماء المقطر.

نقوم بأخذ وزن 5 g من مسحوق النبتة الجافة، و نضيف إليها 10 ml من (HCl) المخفف (10%)، يترك لبضعة دقائق لينقع، ثم يرشح المحلول، ثم نأخذ منه 1 ml و نضعه في أنبوب اختبار و نضيف إليه بعض قطرات من كاشف دراجندروف. ظهور الراسب البرتقالي دليل على وجود القلويدات [28] .

2.3.IV. الفلافونيدات

ننقع 10 g من مسحوق النبتة الجافة في 150 ml من حمض HCl المخفف إلى (1%) لمدة 48 ساعة، ثم نقوم بعملية الترشيح و إجراء الاختبار التالي:

نأخذ 10 ml من الرشاحة، ونعايره بواسطة محلول النشادر NH_4OH (2N)، حيث تتم مراقبة بواسطة ورقpH. بعد قاعدية الوسط نلاحظ ظهور لون أصفر فاتح دليل على وجود الفلافونويدات [38].

3.3.IV. السترويلات غير المشبعة

نزن 5g من المسحوق النباتي، ينقع في 20 ml من الكلوروفورم لمدة 30 دقيقة، نضع الراشح المتحصل عليه في أنبوب اختبار و نضيف له 1 ml من حمض الكبريتيك بحذر على جدار الانبوب. ظهور اللون الرمادي الذي يتحول بعد مدة اللون الأحمر في الطبقة الفاصلة بين الطورين دليل على تواجد السترويلات غير المشبعة [38].

من اجل الكشف عن التربينات، الفينولات، قمنا باخذ 25 g من مسحوق النبتة، وأضيف إليه 250 ml من الماء المقطر في دورق، ثم وضع في الحاضنه الهزازة لمدة ستة ساعات أو أكثر، وبعدها تم ترشيح المستخلص، حيث حصلنا على الراشح (المستخلص المائي) الذي يستخدم في الكشف عن المواد الفعالة سابقة الذكر.

4.3.IV. التربينات

تم إجراء الكشف بمزج 1 ml من المستخلص المائي مع 2 ml من الكلوروفورم ($CHCl_3$)، و تم إضافة قطرة من حامض الخليك وقطرة من حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4). ظهور حلقة ذات لون بني فاتح دلالة على ايجابية الفحص للتربينيات [39].

5.3.IV. الفينولات

تم هذا الاختبار بمزج 3 ml من المستخلص المائي مع 2 ml من كلوريد الحديديك (1% $FeCl_3$). ظهور اللون الأخضر المزرق الداكن يدل على ايجابية الفحص [39].

6.3.IV.الصابونينات

نزن 2 g من المسحوق النباتي، يوضع في 80 ml من الماء المقطر و يسخن لمدة 15 دقيقة بعدها يبرد و يرشح. يوضع الراشح في أنبوب اختبار و يرج جيدا، ثم يترك لمدة زمنية معينة. ظهور رغوة تبقى لمدة 15 دقيقة دليل على وجود الصابونين [38].

3.IV. 7. الكاردينوليدات

نزن 1 g من مسحوق النبتة، ينقع في الماء المقطر لمدة 20- 30 دقيقة ثم يرشح، نقوم بعدها بعملية الاستخلاص سائل- سائل للمحلول المتحصل عليه بواسطة 10 ml من خليط ايثانول- كلوروفورم، الطور العضوي المتحصل علية يبخر و الراسب الناتج يذوب في 3 ml من حمض الاسيتيك المجمد (Ac.acétique glacila)، ثم نضيف له قطرات من كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$)، ثم قطرات من حمض الكبريت (H_2SO_4). تلون الطور الحمضي بلون اخضر مزرق دليل على ايجابية الفحص [38].

3.IV. 8. الغليكوزيدات

- ✓ **تحضير كاشف بندكت:**

تم استخدام كاشف بندكت المحضر بإذابة 1.73 g من كبريتات النحاس المائية ($CuSO_4.5H_2$) و 17.3 g من كربونات الصوديوم الهيدروجينية ($NaHCO_3$) في 100 ml من الماء المقطر.

تم الكشف عن الغليكوزيدات بوضع 5 ml من كاشف بندكت في أنبوبة اختبار وبعدها وضع 2 ml من المستخلص المائي، و وضعت الأنبوبة في حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق. ظهور راسب بني دلالة على ايجابية الفحص [39].

3.IV. 9. العفصيات

للكشف عن التانينات، ننقع 10 g من مسحوق النبتة في الايثانول (50%)، ثم يسخن لمدة 30 دقيقة و يرشح. الراشح المتحصل عليه نضيف له قطرة او قطرتين من محلول ($FeCl_3$) في أنبوب اختبار. ظهور اللون الأخضر الداكن دليل على وجود العفصيات [38].

3.IV. 10.الراتنجات

تم إجراء الكشف بإذابة 10 g من مسحوق النبات في 50 ml من الايثانول (95%)، وترك المزيج لدقيقتين في حمام مائي مغلي، ورشح المزيج بعدها وأضيف إليه 100 ml من الماء المحمض بحمض كلور الماء (HCl) 4%. ظهور عكارة واضحة يدل على ايجابية الفحص [39].

3.IV. 11.السترويدات المشبعة و غير المشبعة

ننقع 5 g من المسحوق النباتي في 20 ml ايثانول (70%)، ثم يترك ل 30 دقيقة ثم يرشح، يبخر الراشح و يذاب في 20 ml من الكلوروفورم ثم يرشح مرة اخرى للتخلص من الشوائب، ثم يقسم الراشح الى قسمين:

1. يوضح الراشح في انبوب اختبار و يضاف له 1 ml من حمض الخل (acide acétique) ثم 1 ml من حمض الكبريت (H_2SO_4) بحذر على جدار الانبوب. عدم ظهور اللون الاخضر دليل على وجود السترويدات غير المشبعة.

2. يوضع الراشح في انبوب اختبار ثم يضاف له كمية متساوية من حمض الكبريت (H_2SO_4) على جدار الانبوب . ظهور اللون الاصفر الذي يتحول الى الاحمر دلالة على وجود السترويدات المشبعة [38].

4.IV. طرق الاستخلاص

1.4.IV. استخلاص صلب- سائل

بعد تجفيف النبتة و طحنها ، نقوم بعملية استخلاص صلب - سائل:

تنقع 100g من مسحوق النبتة الجافة المطحونة في ايثانول/ماء (30/70) لمدة 24 ساعة، في درجة حرارة المخبر مع الرج، ثم نقوم بعملية الترشيح، و نكرر هذه العملية ثلاث مرات لمدة ثلاثة أيام متتالية.

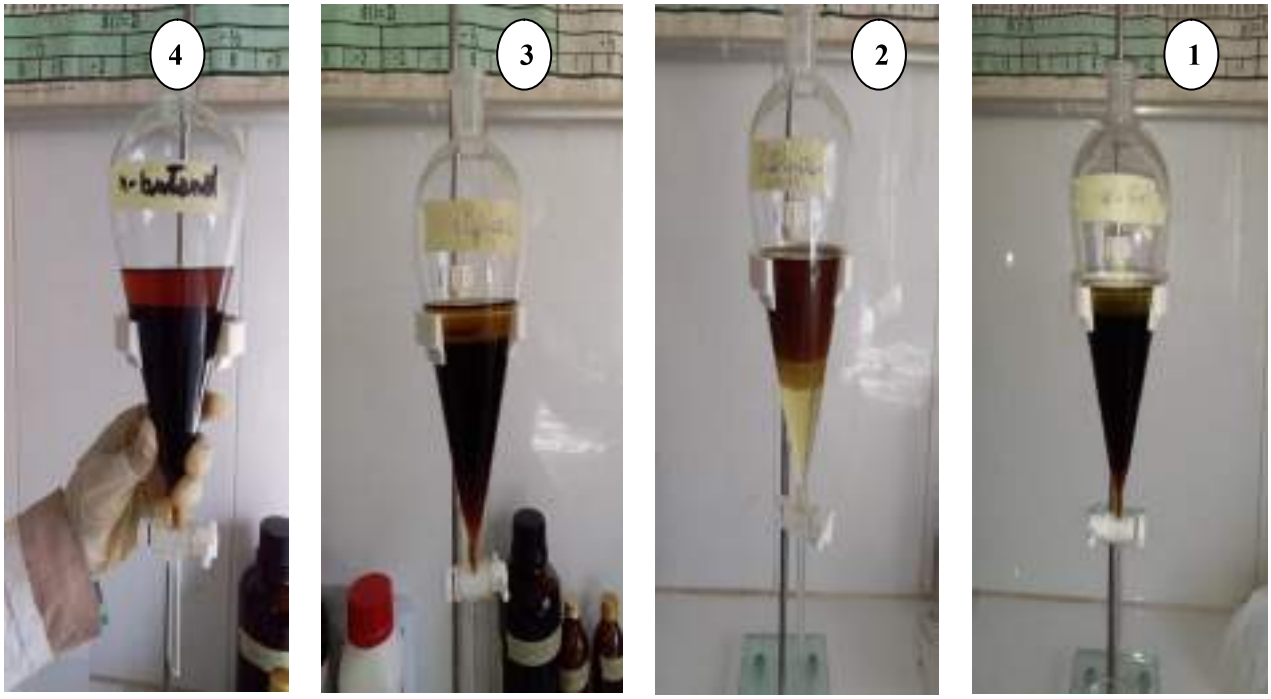
بعد عملية الترشيح نقوم بتبخير الرشاحة في جهاز المبخّر الدوّار (Rotavapeur) حتى تتركز، تحت درجة حرارة لا تتجاوز 40°C، ثم نضيف لها حجم معين من الماء المقطر (1kg من النبتة نضيف لها من 400 الى 600 ml من الماء المقطر).

الشكلIV.2: صور توضح عملية الاستخلاص صلب - سائل

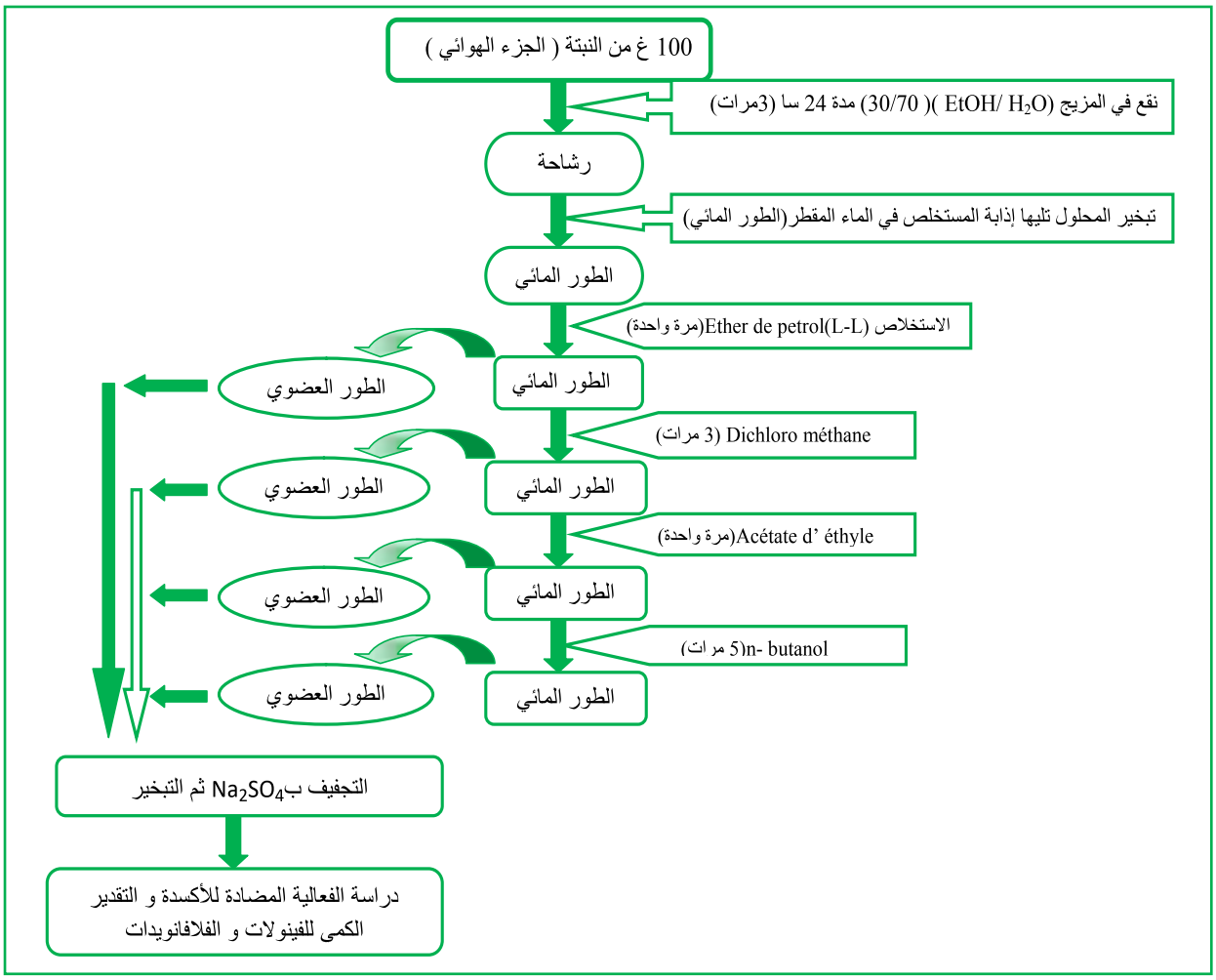
IV .2.4. استخلاص سائل- سائل

بعد الحصول على الطور المائي، نشرع في عملية فصل انتقائية سائل- سائل وفقا لتدرج قطبية المذيبات المستعملة.

1. إيثر البترول (Ether de petrol) ←(مرة واحدة)
2. ثنائي كلورو الميثان (Dichloro méthane) ← (3 مرات)
3. أسيتات الإيثيل (AcOEt Acétate d'éthyle) ← (مرة واحدة)
4. بيتانول (n-Butanol) ← (5 مرات)
5. تم تركيز المستخلصات (مستخلص ثنائي كلور الميثان، مستخلص خلات الإيثيل، مستخلص البيتانول، المستخلص الهيدروكحولي ، بالاضافة إلى الطور المائي) تحت ضغط منخفض باستعمال جهاز المبخر الدوار لحساب المردود.



الشكلIV.3: صور توضح عملية الاستخلاص سائل - سائل



الشكلIV. 4: مخطط يوضح مراحل عملية الاستخلاص

5.IV. مردود الاستخلاص

المردودية الإنتاجية للمستخلصات هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها لكل المستخلصات والتي نرمز لها (R %) و كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة، وتحسب باستخدام العلاقة التالية [22] :

$$R\ \% = \left(\frac{Me}{Mv}\right) \times 100 \quad \text{.....(1. IV)}$$

R %: المردودية الإنتاجية للمستخلصات.

Me: كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب.

Mv: كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة في الاستخلاص (100g).

6.IV. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية و الفلافونيدية

1.6.IV. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية TPC

تم تقدير محتوى الفينولات الكلية لمستخلصات النبتة باستخدام كاشف Folin-Ciocalteau، حيث تعتمد هذه الطريقة على إرجاع الكاشف بواسطة المركبات الفينولية لإعطاء كينون أو كيتون المتميزة باللون الأزرق. حضر محلول عياري من حمض الغاليك بتركيز 0.3 mg/ml، ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز (mg/ml 0.03 mg/ml-0.3). اخذ 0.1 ml من كل تركيز و أضيف إليه 0.5 ml من كاشف Folin-Ciocalteau (10 %) أي مخفف 10 مرات، ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 min، بعدها تضاف لها 2ml من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (20 %)، يرج الخليط ويترك لمدة 30 min في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة. في الأخير تقاس الامتصاصية عند الطول الموجي 760nm بجهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotomètres. حضر تركيز معين لكل مستخلص و عومل بنفس الطريقة السابقة. يعبر عن النتائج بالميليغرام من حمض الغاليك المكافئة لكتلة كل مستخلص بالغرام(mg /g) [40].

ويتم حساب الكمية الكلية للفينولات وفق العلاقة التالية [40] :

$$C(mg/g) = \left(\frac{A}{K} \times F \times \frac{V}{P}\right) \quad \text{.....(2. IV)}$$

A: الامتصاصية عند 760nm.

K: هو ميل المنحنى القياسي لحمض الغاليك (GA)

F: معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات.

C: كمية المركبات الفينولية الكلية (mg/g).

V: الحجم المذاب فيه المستخلصات.

P: كتلة المستخلصات.

2.6.IV. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفلافونيدية TFC

تم التقدير الكمي الإجمالي للفلافونيدات باستخدام كلوريد الألمنيوم $AlCl_3$ (طريقة كلوريد اللونية)، حضر محلول عياري للكيرستين بتركيز (0.03mg/ml)، ثم حضرت منه سلسلة من التراكيز 0.03- 0.003 (mg/ml)، تمت إضافة 1.5 ml من $AlCl_3$ المذاب في الايثانول بنسبة 2% إلى 1.5 ml من التراكيز المحضرة من الكيرستين. يحضن في الظلام لمدة 30 min في درجة حرارة الغرفة، تم قياس الامتصاصية عند 430 nm. حضر تركيز معين لكل مستخلص و عومل بنفس الطريقة التي عوملت بها السلسلة العيارية للكرسيتين.

ويعبر عن النتائج بما يعادل mg من كيرسيتين المكافئة لكتلة كل مستخلص بالغرام (mg/g)، حيث يستعمل لتحديد منحى العيارية [40].

تقدر الكمية الكلية للفلافونيدات وفق العلاقة التالية [40]

$$C(mg/g) = \left(\frac{A'}{K'} \times F' \times \frac{V}{P}\right) \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots \quad (3.IV)$$

A': الامتصاصية عند 430 nm.

K': ميل المنحنى القياسي للكيرستين (QE) .

F': معامل التمديد بالنسبة للمستخلصات .

C: كمية الفلافونيدات الكلية (mg/g).

V: الحجم المذاب فيه الخلاصة الفلافونيدية.

P: كتلة المستخلصات.

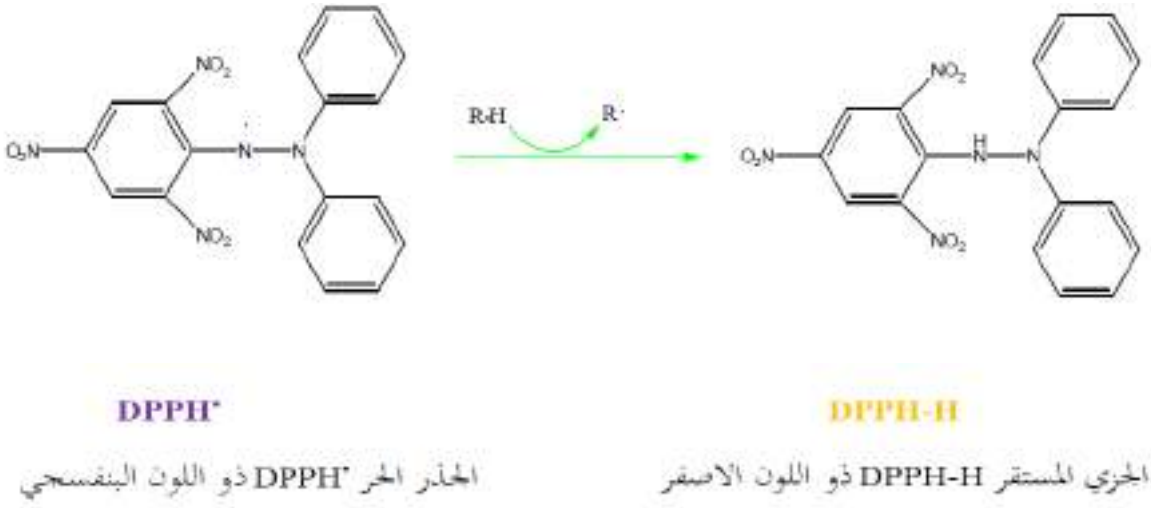
7.IV. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

بغرض تقدير الفعل الآسر للجزئيات المضادة للتأكسد للمستخلصات المتحصل عليها، قمنا باختبار DPPH، اختبار (ABTS)، اختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) و اختبار موليبدات الفوسفات، حيث كلا من هذه الطرق تعتمد على اللون ونزع اللون عند طول موجي معين.

1.7.IV. اختبار $DPPH^{\cdot}$ (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

تم تعيين القدرة الأسرة الجذرية للمستخلصات المدروسة على جذر $DPPH^{\cdot}$ على أساس الطريقة المستخدمة من طرف (Benaissa, Amrani et al) مع اضافة بعض التعديلات، استخدم حمض الاسكوربيك و BHA كمحاليل عيارية [41] . حيث يعتمد هذا الاختبار على مبدأ قياس قدرة المستخلصات على تثبيط الجذر

المستقر DPPH· ذو اللون البنفسجي [42]، الذي يستقر من خلال إرجاعه بواسطة المركبات المضادة للأكسدة ويتحول إلى المركب DPPH-H ذو اللون الاصفر[43] [44]. ويتم قراءة شدة الامتصاص بواسطة جهاز طيف الاشعة المرئية وفوق البنفسجية Spectrophotomètres عند طول موجي 517 nm [40].



الشكل 5.IV: معادلة تثبيط جذر DPPH· بواسطة مضادات الاكسدة

✓ **تحضير المحاليل المرجعية**

حضر محلول من حمض الاسكوربيك (VC) بتركيز (0.03 mg/ml)، ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز مختلفة تتراوح بين (0.03-0.003mg/ml). نأخذ 1 ml من كل تركيز ثم نضيف لها 1 ml من DPPH (0.003 % المحضر في الايثانول)، نقوم برج هذه الأنابيب و نحفظها في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة لمدة 30 min. نقرا شدة الامتصاص الضوئي لكل أنبوب عند طول موجي 517 nm [41].

كما حضر محلول مرجعي من BHA بتركيز(10^{-2} mg/ml) وحضرت له سلسلة من التراكيز المختلفة، وعوملت بنفس الطريقة السابقة لحمض الاسكوربيك .

✓ **تحضير العينات**

حضر محلول أم من كل مستخلص بتركيز معين ثم حضرت منه تراكيز ممددة وعوملت بنفس الطريقة السابقة.

- يحتوي الأنبوب الشاهد على المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات أو المحاليل المرجعية .
- تعاد كل تجربة ثلاث مرات.

تحسب نسبة التثبيط المئوية (I %) للجذر الحر بالنسبة لكل عينة كما يلي :

$$I\ \% = (Ac-Ae)/Ac \times 100 \quad \text{.....(4.IV)}$$

حيث :

I%: نسبة تثبيط العامل المضاد للأكسدة للجذر الحر.

Ac: الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات النباتية بعد مرور 30 min.

Ae: الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + العينات) بعد مرور 30 min .

نرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز I %=f (C mg/ml) [44].

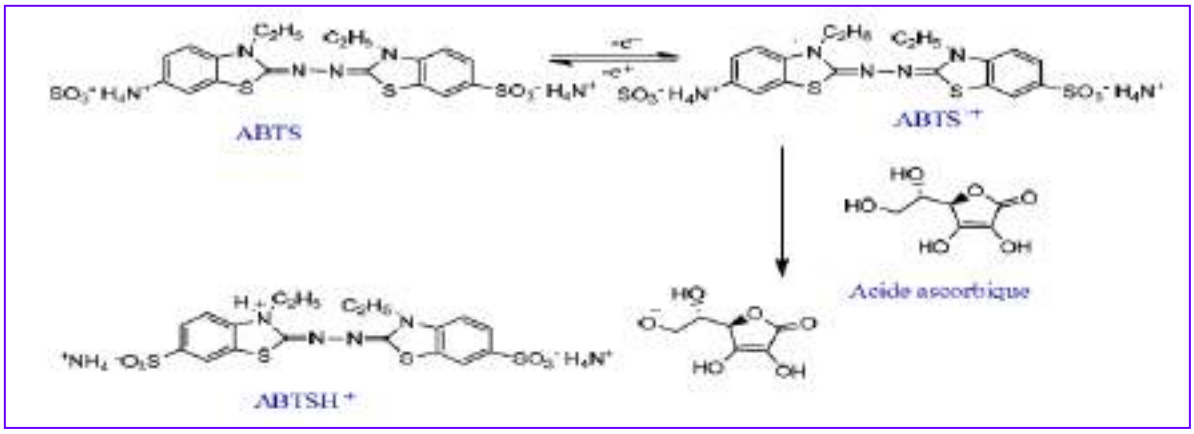
يعبر على القدرة التثبيطية للمستخلصات بقيمة IC_{50}؛ وهي التركيز الذي يأسر 50% من نشاط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$، وتحسب وفق العلاقة (5.IV) [31] [37].

$$IC_{50} = 50 /K.....(5.IV)$$

K: ميل المنحنى الخاص بالمستخلصات النباتية .

4.7.IV. اختبار $ABTS^{\cdot+}$

تم تعبيين القدرة التثبيطية للمستخلصات المدروسة على الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ على اساس الطريقة المستخدمة من طرف (K.S. Vidyalakshmi, A.I. Charles Dorni, et all)، استخدم حمض الاسكوربيك و BHA كشواهد مرجعية [45]. يعتمد هذا الاختبار على قدرة مضادات الاكسدة على تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ ذو اللون الازرق المخضر[43]، الذي يتشكل بعد اكسدة ABTS مع مركبات اخرى مثل Ammonium persulfate. لهذا التفاعل يحدث على مرحلتين: الاولى تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ وذلك باقتناص الكترون من طرف ذرة الازوت لل ABTS. و اما الثانية فياخذ الجذر الكاتيوني المتشكل سابقا $H^{\cdot}$ من مضادات الاكسدة و يتشكل $ABTSH^{+}$ حيث يرافق هذا التفاعل نزع اللون من المحلول. يتم قراءة الامتصاصية بجهاز Spectrophotomètres عند طول موجي 734 nm [45].



الشكل (6.IV): معادلة تشكل الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot+}$ وتثبيطه بواسطة مضادات الاكسدة المانحة ل $H^{\cdot}$

✓ **تحضير المحلول الموقي PBS:**

Na_2HPO_4 (0.1M) + NaH_2PO_4 (0.1M) + NaCl (0.15M) نقوم بإذابتها في 250ml من الماء المقطر مع الرج المستمر حتى ذوبان هذه المواد، يجب أن يكون (pH=7.4) .

✓ **تحضير الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$**

نزن الكتل التالية: 0.0114 g من Ammonium persulfate و 0.0643 g من ABTS ثم نقوم بإذابتها في 50ml من (PBS / pH=7.4)، يحضن هذا المحلول في الظلام عن درجة حرارة 68°C و لمدة 30min، ثم نقرا الامتصاص له عند 734 nm ويجب أن تكون القراءة 0.02 nm ±0.65 .

✓ **تحضير المحاليل المرجعية**

حضر محلول لحمض الاسكوربيك (VC) بتركيز (0.3 g/l)، ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز مختلفة تتراوح ما بين (0.03- 0.3 g/l)، نأخذ 40 µl من كل تركيز ثم نضيف لها 1.96 ml من $ABTS^{\cdot +}$. تحفظ في الظلام لمدة 10 min عند درجة حرارة 37°C، ثم نقرا الامتصاص عند 734 nm [46] .

كما حضر محلول من BHA بتركيز(0.3 g/l) وحضرت منه سلسلة من التراكيز الممددة وعوملت بنفس الطريقة لحمض الاسكوربيك.

✓ **تحضير العينات**

حضر محلول أم لكل مستخلص بتركيز معين ثم حضرت منه تراكيز ممددة وعوملت أيضا بنفس طريقة لحمض الاسكوربيك.

- يحتوي الأنبوب الشاهد على المذيب المستخدم في تحضير المستخلصات أو المحاليل العيارية .
- تعاد كل تجربة ثلاث مرات.

نقوم بحساب نسبة التثبيط المئوية (I%) لجذر $ABTS^{\cdot +}$ بالنسبة لكل عينة حسب العلاقة (4.IV). و تحسب ايضا القيمة IC_{50} وفق العلاقة (5.IV).

3.7.IV. اختبار القدرة الإرجاعية للحديد

يتم استخدام هذا الاختبار لتحديد نشاط مضادات الأكسدة غير الإنزيمي للمستخلصات المتحصل عليها في وسط محايد. يعتمد هذا الاختبار على إرجاع أيونات Fe^{+3} الموجودة في النموذج $[Fe(CN)_6]^{-3}$ إلى Fe^{+2} أيونات موجودة في شكل $[Fe(CN)_6]^{-4}$، حيث يتغير لون المحلول من الاصفر الى الاخضر، الذي يقاس عند طول موجي 700 nm [40].

مضادات أكسدة مؤكسدة + $[Fe(CN)6]^{-4}$ ⟵ مضادات الأكسدة + $[Fe(CN)_6]^{-3}$

$Fe^{+3} + [Fe(CN)6]^{-4}$ ⟵ $Fe[Fe(CN)6]^{-1}$ (لون اخضر)

الشكل (7.IV): يوضح معادلة إرجاع الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) إلى الحديد الثنائي(Fe^{+2})

✓ **تحضير المحاليل القياسية**

حضر محلول من حمض الأسكوربيك بتركيز(10^{-1} mg/ml)، ثم حضرت منه سلسلة بتراكيز تتراوح مابين ($10^{-1} - 10^{-2}$ mg/ml). نأخذ 1 ml من كل تركيز و نضيف له 2.5 ml من محلول منظم فوسفاتي (PBS) (0.2M, pH=6.6)، ثم نضيف 2.5ml من محلول $K_3Fe(CN)_6$ (1 % w/v)، يحضن الخليط في درجة حرارة 50°C لمدة 20 min، ثم يضاف إليه 2.5 ml من محلول TCA (10%)، يؤخذ 2.5 ml من الخليط و يضاف له 2.5ml من الماء المقطر و 0.5 ml من محلول $FeCl_3$ (0.1%)، ثم تقاس الامتصاصية عند طول موجي 700 nm.

تم تحضير محلول BHA بتركيز (10^{-2} mg/ml) و حضرت منه سلسلة من التراكيز المختلفة وعوملت بنفس الطريقة السابقة [47].

✓ **تحضير العينات**

حضر محلول أم لكل مستخلص بتركيز معين ثم حضرت منه تراكيز ممددة و عوملت بنفس الطريقة لحمض الأسكوربيك .

يتم قياس الفعالية المضادة للأكسدة وفق مقدار يدعى AEAC: و هو يمثل الفعالية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك من طرف المستخلصات المدروسة، حسب العلاقة التالية [31]:

$$AEAC = \frac{K}{K'} \quad .....(6.IV)$$

حيث ان:

K: ميل المنحى الخاص بكل مستخلص.

K′: ميل المنحى القياسي لحمض الأسكوربيك.

4.7.IV. اختبار إرجاع الموليبدات

تم قياس القدرة الكلية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستعمال طريقة الفوسفوموليبدات (phosphomolybdenum)، و هي من الطرق المباشرة لقياس القدرة الإرجاعية لمضادات الأكسدة غير الإنزيمية، تعتمد على إرجاع الموليبدات Molybdate (MoO_4^{-2}) إلى Molybden (Mo)، تتميز هذه الأخيرة باللون الاخضر [37].

✓ **تحضير المحاليل العيارية**

حضر محلول لحمض الأسكوربيك بتركيز($3*10^{-1}$ mg/ml)، ثم حضرت منه سلسلة عيارية بتراكيز تتراوح ما بين ($2*10^{-2}$ mg/ml -$2*10^{-1}$). نأخذ 0.3ml من كل تركيز و نضيف له 3 ml من كاشف الموليبدات (0.6 M من حمض الكبريتيك، 4 mM من موليبدات الامونيوم و 28 mM من فوسفات الصوديوم).

يحضن الخليط في حمام مائي عند درجة حرارة 95 °C لمدة 90 min. نترك العينة تبرد في درجة حرارة الغرفة، ثم نقيس الامتصاصية عند 695 nm.

حضر محلول مرجعي BHA بتركيز ($3*10^{-1}$mg/ml)، و حضرت له سلسلة من التراكيز الممددة، و عوملت بنفس طريقة الفيتامين C [26].

تم تعيين القدرة الكلية المضادة للأكسدة بحساب المقدار TAC (Total Antioxidant Capacity) وفق العلاقة التالية [28] :

$$TAC=\frac{K}{K'} \quad .....(7.IV)$$

حيث ان:

K: ميل المنحى الخاص بالمستخلصات.

K′: ميل المنحى القياسي لحمض الأسكوربيك في هذه الدراسة.

✓ **تحضير العينات**

حضر محلول أم لكل مستخلص بتركيز معين ثم حضرت منه تراكيز ممددة و عوملت بنفس الطريقة لحمض الأسكوربيك.

الفصل الخامس:

النتائج و المناقشة

1.V.اختبارات الكشف الفيتوكيميائي لبعض المواد الفعالة في النبات الطبي

تتضمن هذه الاختبارات الكشف عن مختلف المركبات الفعالة الموجودة في النبات المدروس، و ذلك من خلال اختبار تفاعلات نوعية. تعتمد هذه التفاعلات إما بتشكل راسب أو بتغير في اللون بواسطة الكواشف الخاصة بكل عائلة من المركبات الفعالة، وكانت نتائج الفحص النوعية المطبقة على النبات كالتالي:

الجدول 1.V: نتائج الكشف عن المواد الفعالة في نبات طبي

اختبار	قلويدات	فلافونيدات	ستيرويلات
قبل الكشف	بني فاتح	بني	اخضر فاتح
بعد الكشف	راسب احمر أجوري	اصفر فاتح	اخضر داكن
نتيجة الاختبار	+	+	+
صور توضيحية لنتائج الكشف			

الجدول 2.V: نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلص المائي للنبتة

اختبار	تربينات	فينولات	غلايكوسيدات
قبل الكشف	بني	اصفر	اصفر
بعد الكشف	محلول ابيض بحلقة بنية	اخضر	اخضر براسب بني
النتيجة	+	+	+
صور توضيحية لنتائج الكشف			

اختبار	كاردينوليدات	صابونين
قبل الكشف	شفاف	بدون رغوة
بعد الكشف	اخضر	تشكل رغوة
النتيجة	+	+
صور توضيحية لنتائج الكشف		

الجدول 3.V: نتائج الكشف عن المواد الفعالة في المستخلصات الكحولية

اختبار	راتنجات	عفصيات	ستيرويدات	
			مشبعة	غير مشبعة
قبل الكشف	صافي	اصفر	اخضر	اخضر
بعد الكشف	تشكل عكارة	اخضر	محلول ابيض راسب بني	محلول ابيض راسب بني
نتيجة الاختبار	+	+	+	+
صور توضيحية لنتائج الكشف				

+: ايجابية الفحص .

نلاحظ أن نتائج الكشف لهذا النبات كانت إيجابية، و هذا يعني أنه تحتوي على المواد الفعالة التالية : التربينات، الفينولات، الصابونيزيدات، الكاردينوليدات، و الغليكوزيدات(جدول1.V)، والتربينات، الفينولات، الصابونيزيدات، الكاردينوليدات، الغليكوزيدات في المستخلص المائي (جدول2.V)، بالاضافة الى الراتنجات، العفصيات، و الستيرويدات المشبعة و غير المشبعة في المستخلصات الكحولية (جدول3.V).

1.1.V. مناقشة النتائج:

أظهرت نتائج اختبارات الكشف الأولي أن النبات يحتوي على مختلف عائلات المنتجات الطبيعية الممثلة في الجداول (1.V)، (2.V)، و (3.V).هذه النتائج تعطينا توقعات جيدة للنشاط البيولوجي للنبتة (مضادة للفطريات، مضادة للفيروسات و مضادة للأكسدة)، و احتوائها على مواد بمثابة نظام دفاعي لها مثل الصابونين ضد الكائنات الممرضة و الحيوانات العاشبة مثل الفطريات، بكتيريا، و الحيوانات الضارة، كما تحتوي على القلويات التي تعتبر مادة سامة، و بالتالي النبتة تحتوي على نسبة من السمية .

2.V. حساب مردودية الاستخلاص

تم حساب المردودية الإنتاجية للنبات بتطبيق العلاقة (1. IV)، و النتائج موضحة في الجدول الموالي:

الجدول 4.V: مردود الاستخلاص لكل المستخلصات

مستخلص	(g) Me	(%) R
ثنائي كلورو ميثان		
خلات الايثيل		
البيتانول		
مائي		
هيدرو كحولي		

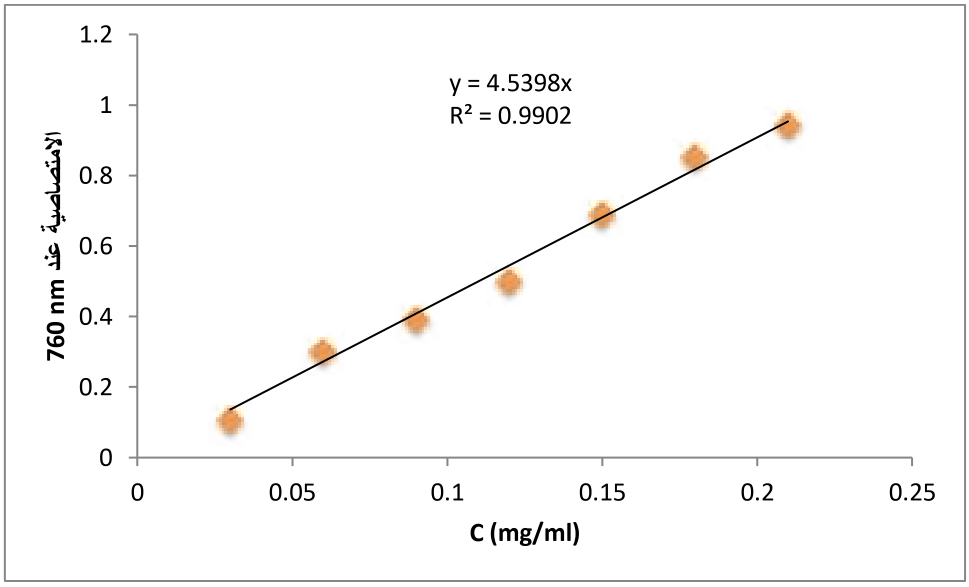
1.2.V. مناقشة النتائج

نلاحظ اختلاف في نسب مردود الاستخلاص في كل الأنظمة العضوية المستعملة (جدول4.V)، و كانت محصورة بين %( ) و % ( ) ، اكبر مردود سجل في الطور المائي % ( ) و اقلها في مستخلص خلات الايثيل % ( )، و يرجع هذا إلى طريقة الاستخلاص، و نوع العينة، و أهمها تأثير المذيبات، فكل منها يتميز بخصائص منها القطبية و ذوبانية المركبات في [48] [28]، و كانت مردود المستخلصات وفق الترتيب التالي:

$$R_{P\ Aqu} > R_{Ex\ H\ A} > R_{Ex\ n\text{-}but} > R_{Ex\ Di\ ch} > R_{Ex\ Acé}$$

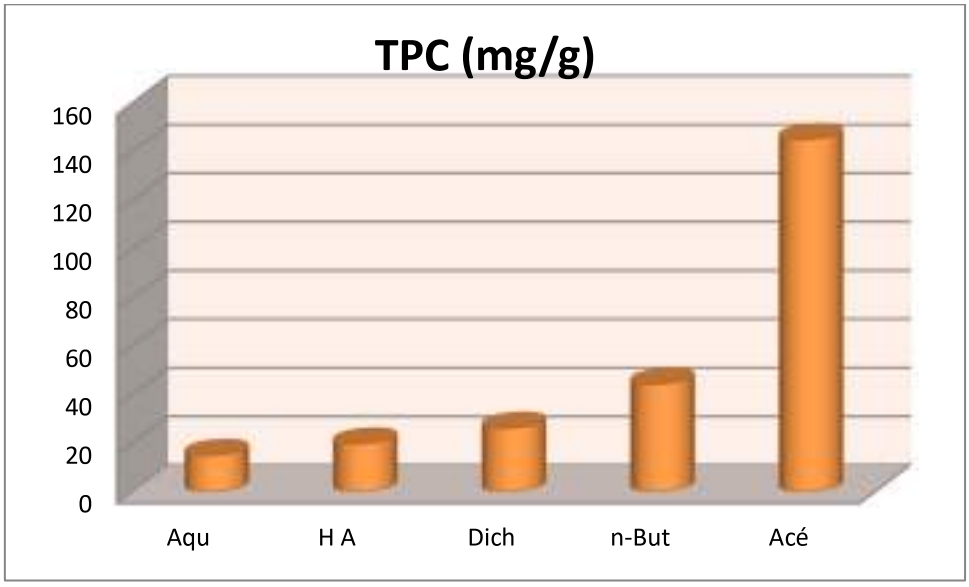
3.V. التقدير الكمي الكلي للمركبات الفينولية و الفلافانويدية في النبات

1.3.V. نتائج كشف المركبات الفينولية (TPC)



الشكل 1.V: المنحنى العياري للامتصاصية بدلالة تركيز حمض الغاليك Ac gallique

انطلاقا من المنحنى العياري و العلاقة (2. IV)، تم الحصول على النتائج الموجودة في الشكل (2.V)



الشكل 2.V: مقارنة توضح الكمية الكلية للفينولات لمختلف المستخلصات النباتية

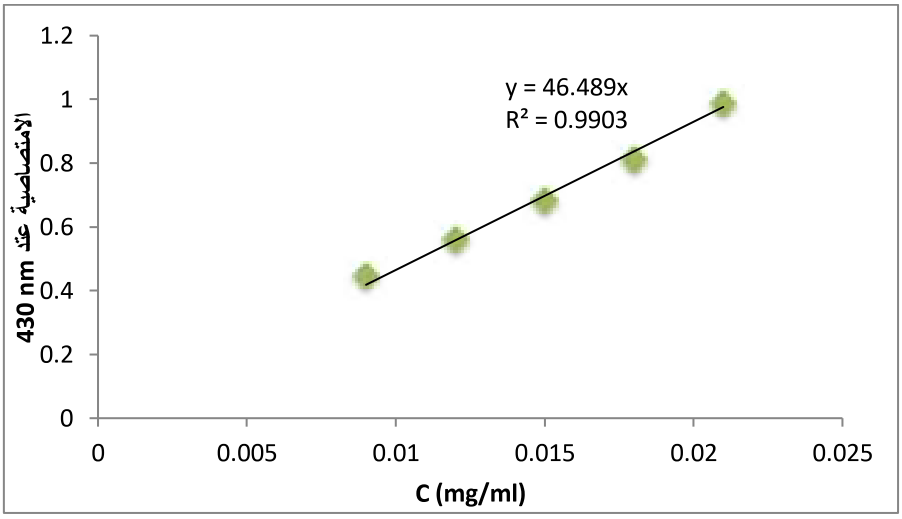
1.1.3.V. مناقشة النتائج

من خلال النتائج المدونة في الشكل (2.V)، نلاحظ اختلاف كمية TPC من مستخلص لأخر، حيث بلغت اكبر كمية في مستخلص خلات الايثيل وتقدر ب: mg GAE/g ( )، و رتبت النتائج كالتالي:

$$R_{Ex\ Acé} > R_{Ex\ n\text{-}but} > R_{Ex\ Di\ ch} > R_{Ex.H\ A} > R_{P.Aqu}$$

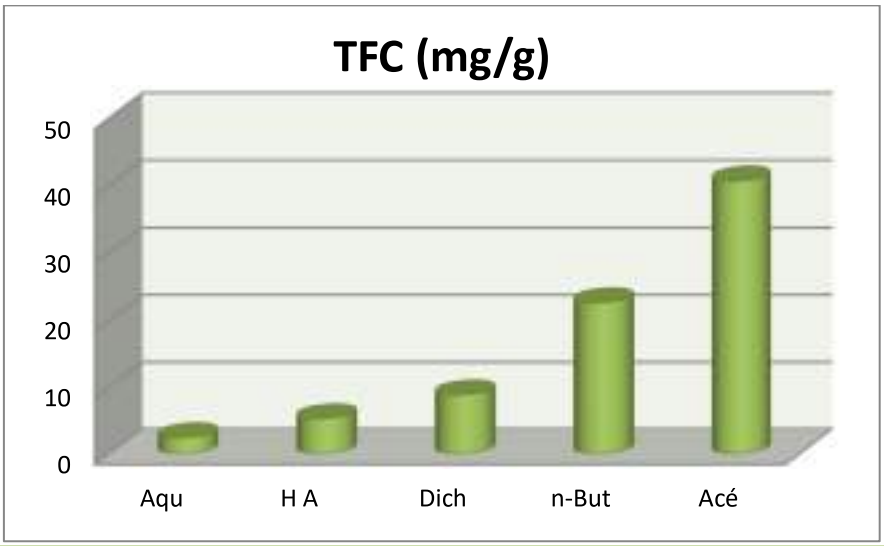
2.3.V. نتائج كشف المركبات الفلافونيدية في نبات (TFC)

قدرت كمية المركبات الفلافونيدية باستعمال منحنى الكيرستين القياسي كما هو موضح في الشكل (4.V):



الشكل 3.V: المنحنى العياري للامتصاصية بدلالة تركيز الكيرستين

انطلاقا من المنحنى الكرستين و العلاقة رقم (3.IV)، تم حساب كمية TFC للمستخلصات النباتية ب: mg/ g، و النتائج مدونة في الشكل (4. V)



الشكل 4.V: مقارنة توضح الكمية الكلية للفلافونيدات لمختلف المستخلصات النباتية

1.2.3.V. مناقشة النتائج

من خلال النتائج المدونة في الشكل (4.V) ، نلاحظ اختلاف كمية TFC من مستخلص لأخر، حيث بلغت اكبر كمية في مستخلص خلات الايثيل والمقدرة ب: mg GAE/g ( ) ، و تم ترتيبها كالاتي :

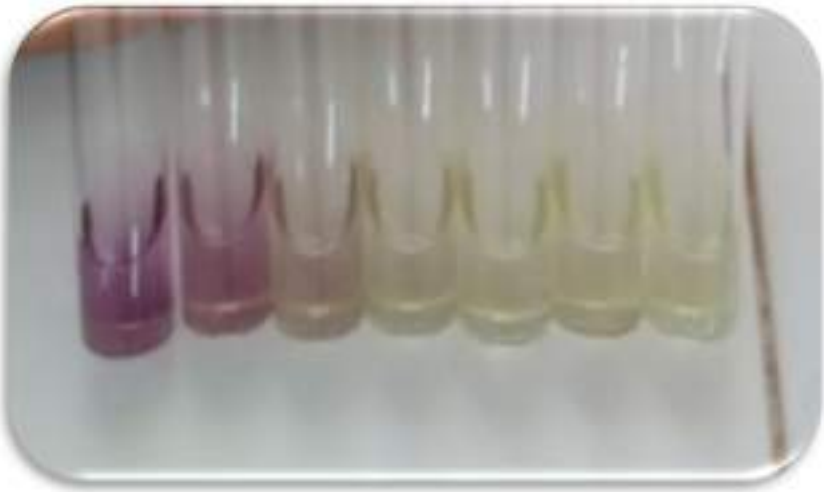
$$R_{Ex\ Acé} > R_{Ex\ n\text{-}but} > R_{Ex\ Di\ ch} > R_{Ex.H\ A} > R_{P\ Aqu}$$

4.V. تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة

في هذه الدراسة تم تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية بالقيم التالية: IC_{50}، مقدار TAC (إجمالي الفاعلية المضادة للأكسدة) و مقدار AEAC (الفاعلية المضادة للأكسدة المكافئة لحمض الأسكوربيك).

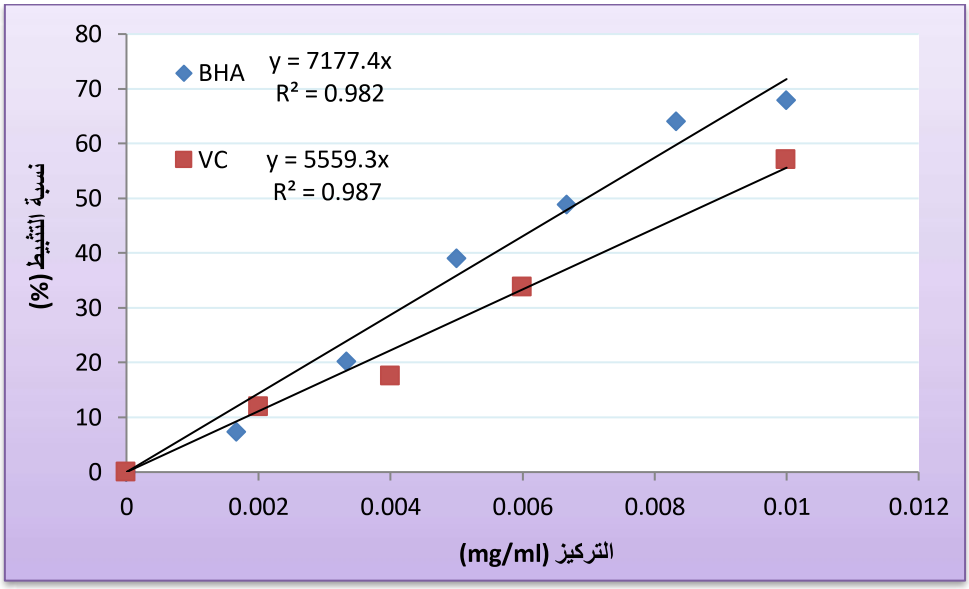
1.4.V. اختبار DPPH·

تعتبر طريقة DPPH· من أكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثير الازاحي للمركبات الفينولية في المستخلصات النباتية .

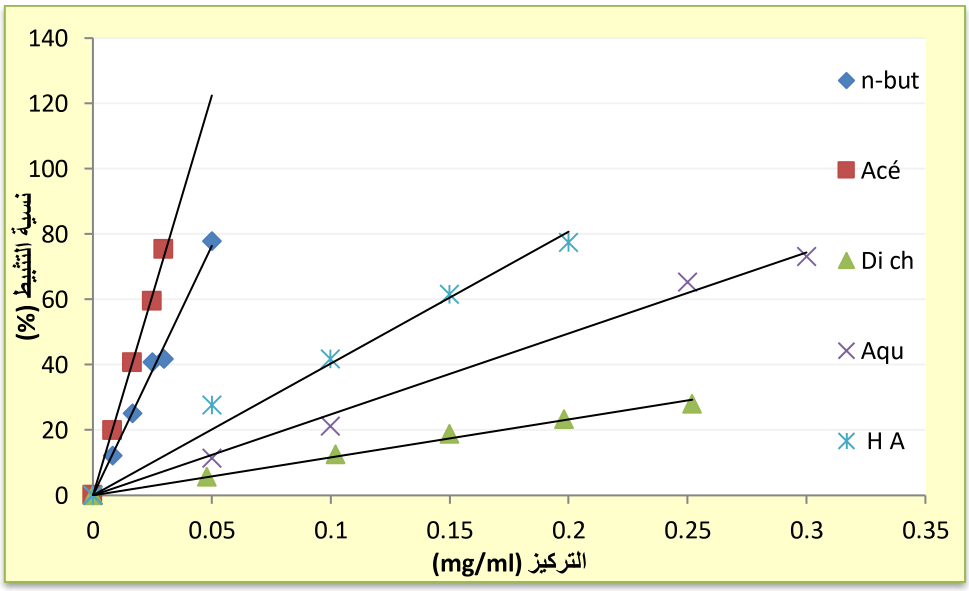


الشكل 5.V: صورة توضيحية لنتائج اختبار DPPH·

تم حساب نسبة التثبيط من خلال تعويض قيم الامتصاصية في العلاقة رقم (4.IV)، لرسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز I(%)=f(C mg/ml)، الذي يظهر أن الشواهد و المستخلصات النباتية تزيح جذر DPPH· بشكل يتناسب طردا مع التركيز.

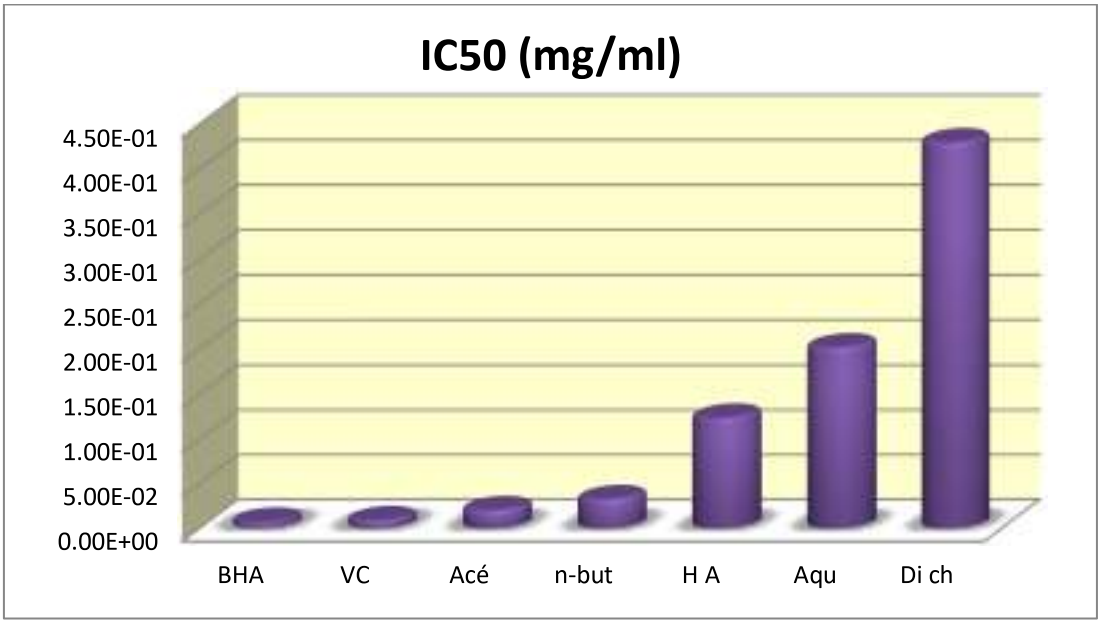


الشكل 6.V: نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH· بواسطة الشواهد المرجعية VC و BHA



الشكل 7.V: نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH· بواسطة المستخلصات النباتية

تم حساب القيمة IC_{50} وفق العلاقة رقم (5.IV) انطلاقا من الشكلين: (6.V) و (7.V)، و كانت النتائج في الشكل (8.V):



الشكل 8.V: مقارنة بين قيم IC_{50} لكل من المستخلصات، VC و BHA التي تثبط (50%) من نشاط جذر $DPPH^{\cdot}$

1.1.4.V.مناقشة النتائج

من خلال النتائج المدونة في الشكل (8.V)، نلاحظ أن هناك اختلاف في قيم IC_{50}، حيث تتراوح هذه القيمة بالنسبة لمستخلصات النبات الطبي المدروسة من mg/ml ( ) إلى mg/ml ( ) ، و وجد أن مستخلص اسيتات الايثيل يملك اكبر قدرة تثبيطية لجذر $DPPH^{\bullet}$، مقارنة مع باقي المستخلصات، وكانت قيمة IC_{50} له مساوية ل mg/ml ( ) . و من جهة أخرى كانت الفاعلية المضادة للأكسدة بالنسبة للشواهد المرجعية BHA و VC اكبر من جميع المستخلصات النباتية.

كلما نقصت قيمة IC_{50} زادت الفاعلية المضادة للأكسدة، ورتبت هذه الفعالية كالتالي :

BHA > VC > Ex Acé > Ex n-but > Ex H A> P Aqu > Ex Di ch

يمكن أن يفسر هذا التباين بان المركبات الفينولية المرتبطة بالإضافة إلى مركبات أخرى عززت هذه الفاعلية. و ترتبط الفاعلية المضادة للأكسدة بالنسبة للمركبات الفينولية بتوزيع المجاميع الوظيفية حول البنية الأساسية بالإضافة إلى عدد ومواقع مجاميع الهيدروكسيل المانحة للهيدروجين، أو لإلكترون و تتحول إلى جذور مستقرة بالرنين كما هو موضح في الشكل التالي [37]:

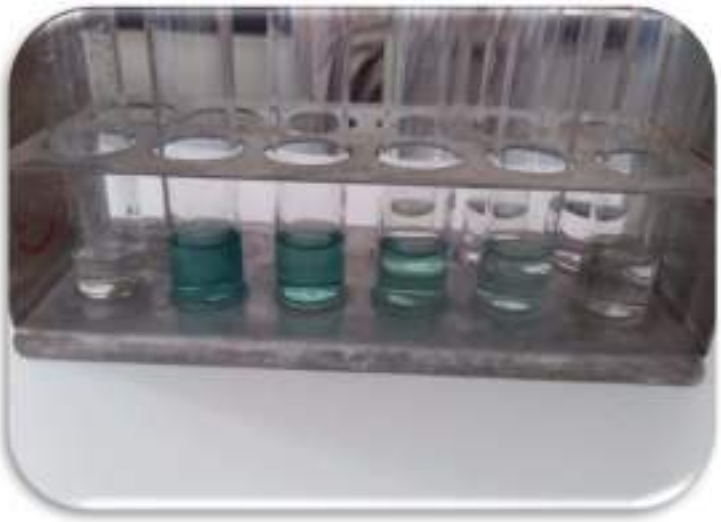
$$DPPH^{\bullet} + Phe\text{-}OH \longrightarrow DPPH(H) + Phe\text{-}O^{\bullet}$$

$$DPPH^{\bullet} + Phe\text{-}O^{-} \longrightarrow DPPH^{-} + Phe\text{-}O^{\bullet}$$

الشكل 9.V: آلية الفاعلية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية

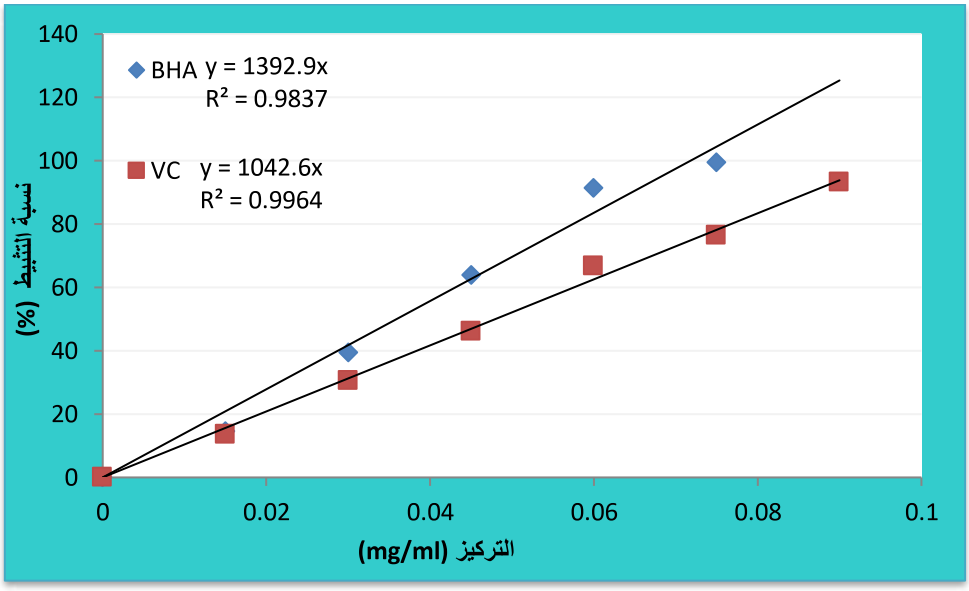
2.4.V. اختبار $ABTS^{\cdot+}$

يقيس هذا الاختبار قدرة مضادات الاكسدة على منح $H^{\cdot}$، للجذر الكاتيوني المستقر $ABTS^{\cdot+}$ ليتحول إلى $ABTSH^{+}$.بحيث ينزع اللون من الأزرق المخضر إلى عديم اللون [49].

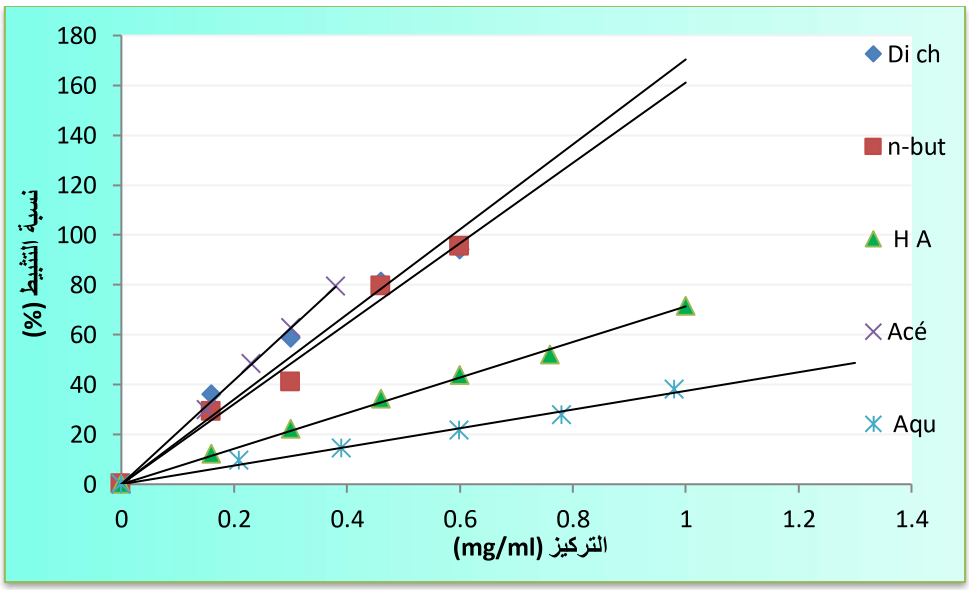


الشكل 10.V: صورة توضيحية لنتائج اختبار ABTS

تم حساب نسبة التثبيط من خلال قيم الامتصاصية حسب العلاقة رقم (4.IV)، ثم رسم المنحنى البياني لقيمة التثبيط بدلالة التركيز I(%)=f(C mg/ml)، الذي اظهر أن الشواهد المرجعية و المستخلصات النباتية المدروسة تكبح جذر $ABTS^{\cdot+}$ بشكل يتناسب طردا مع التركيز، و الأشكال التالية توضح ذلك:

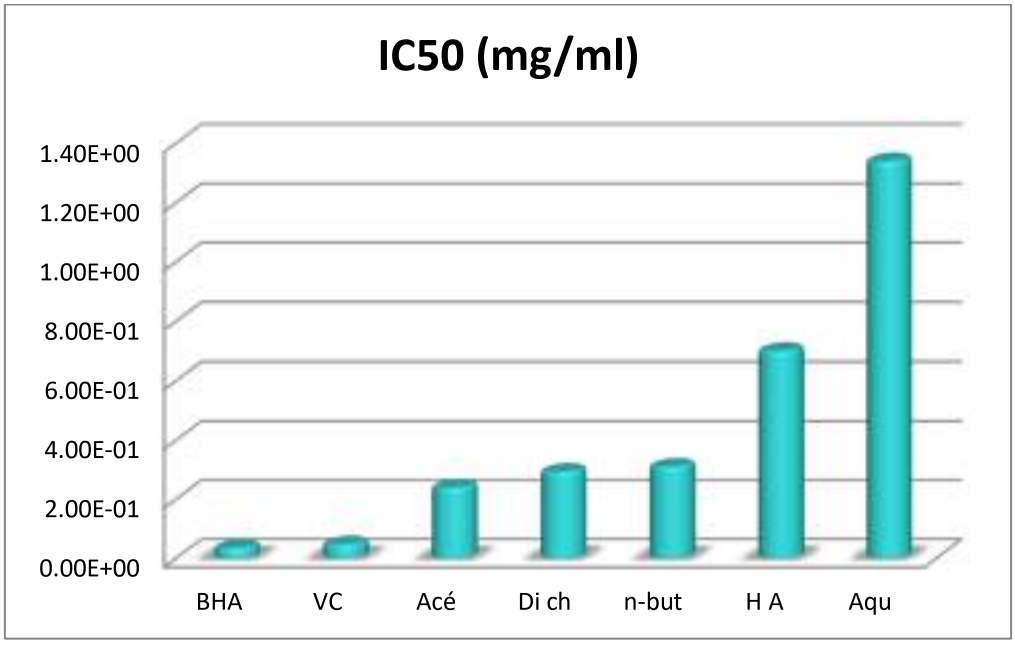


الشكل 11.V: نسبة تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$ بواسطة الشواهد المرجعية VC و BHA



الشكل 12.V : نسبة تثبيط الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$ بواسطة المستخلصات النباتية

تم حساب القيمة IC_{50} وفق العلاقة رقم (5.IV) انطلاقا من الشكلين: (11.V) و (12.V)، و كانت النتائج كما في الشكل (13.V):



الشكل 13.V: قيمة (IC_{50}) تركيز المستخلصات، VC و BHA التي تثبط (50%) من الجذر الكاتيوني $ABTS^{\cdot +}$

1.2.4.V. مناقشة النتائج

من خلال النتائج المدونة في الشكل (13. V)، نلاحظ أن هناك اختلاف في قيم IC_{50} للمستخلصات، حيث تراوحت هذه القيمة ما بين mg/ml ( ) - mg/ml ( ). وجد أن اكبر قدرة تثبيطية لجذر $ABTS^{\cdot +}$ كانت لمستخلص اسيتات الايثيل مقارنة مع باقي المستخلصات، وكانت قيمة IC_{50} له مساوية ل mg/ml ( ).

و من جهة أخرى كانت الفعالية المضادة للأكسدة بالنسبة للشواهد المرجعية BHA و VC اكبر من جميع المستخلصات النباتية.

كلما نقصت قيمة IC_{50} زادت الفعالية المضادة للأكسدة، ورتبت هذه الفعالية كالتالي:

BHA > VC > Ex Acé > Ex Di ch > Ex n-but > Ex HA > P Aqu

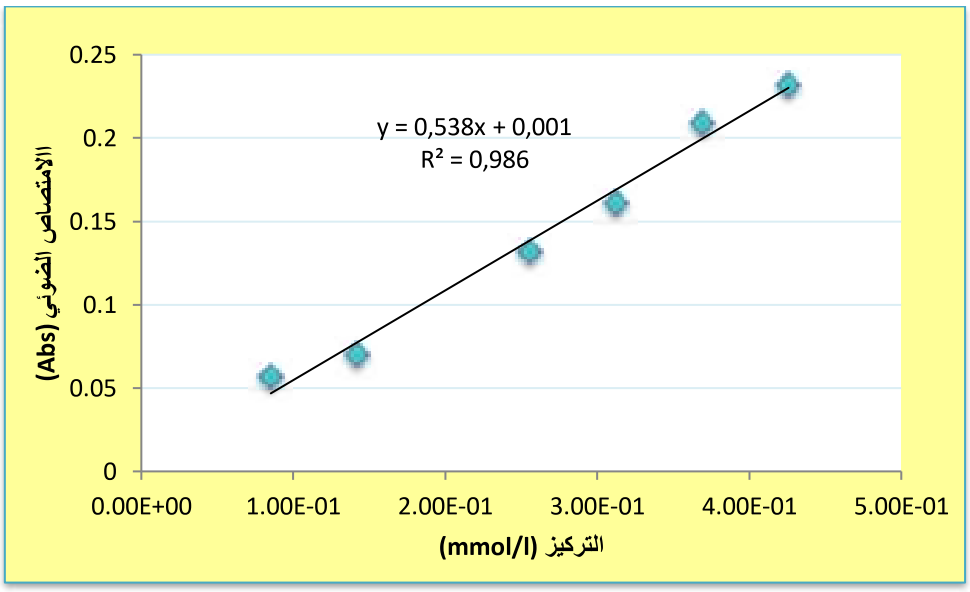
ويعود هذا الاختلاف إلى المركبات الفينولية المرتبطة بالإضافة إلى مركبات أخرى (العفصيات، السترويدات، التربينات ...) قوت من هذه الفاعلية.

3.4.V. اختبار القدرة الإرجاعية للحديد

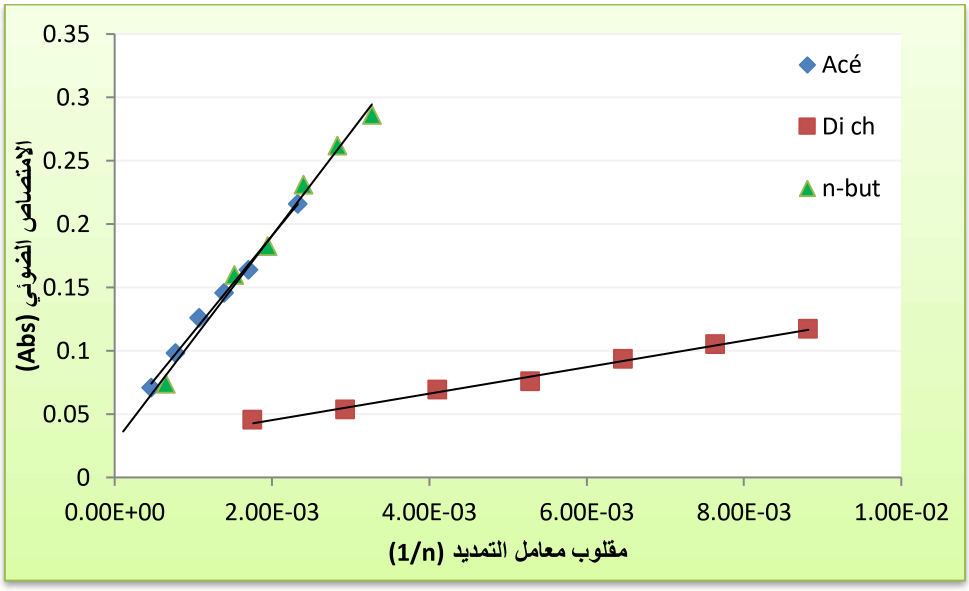
يقيس هذا الاختبار قدرة مضادات الاكسدة على منح إلكترون، وهذا بار جاع الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) بمنحه إلكترون إلى الحديد الثنائي (Fe^{+2}) كما هو موضح في الشكل (7.IV) [28].

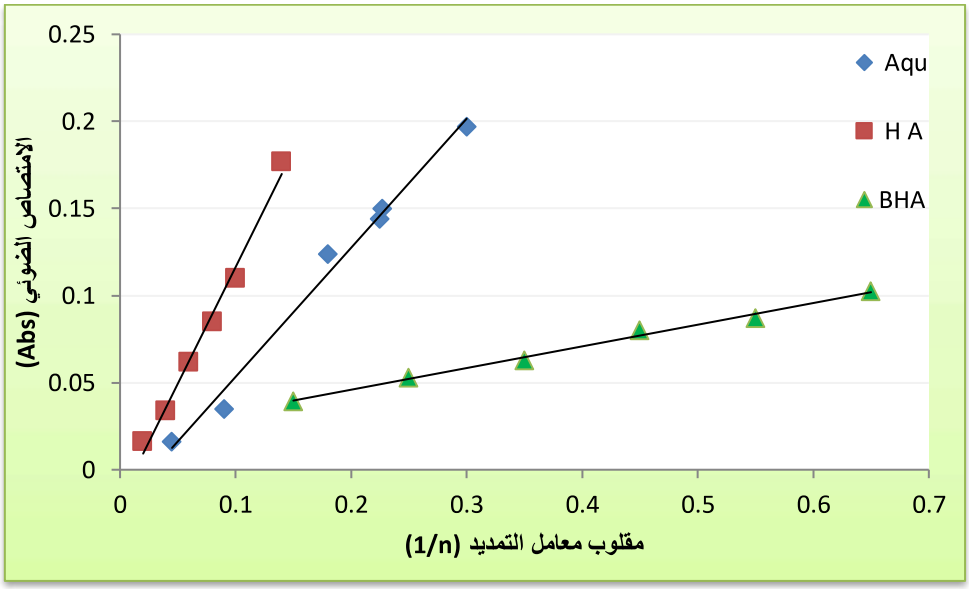
الشكل 14.V: صورة توضيحية لنتائج اختبار FRAP

تشير عدة دراسات أن حمض الاسكوربيك هو اقوي مضاد للأكسدة، لهذا قمنا بحساب فعالية المستخلصات بالنسبة له، وعليه يستلزم رسم منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز Abs=f(C mM) لحمض الاسكوربيك (VC) والممثل بالشكل (15.V) .



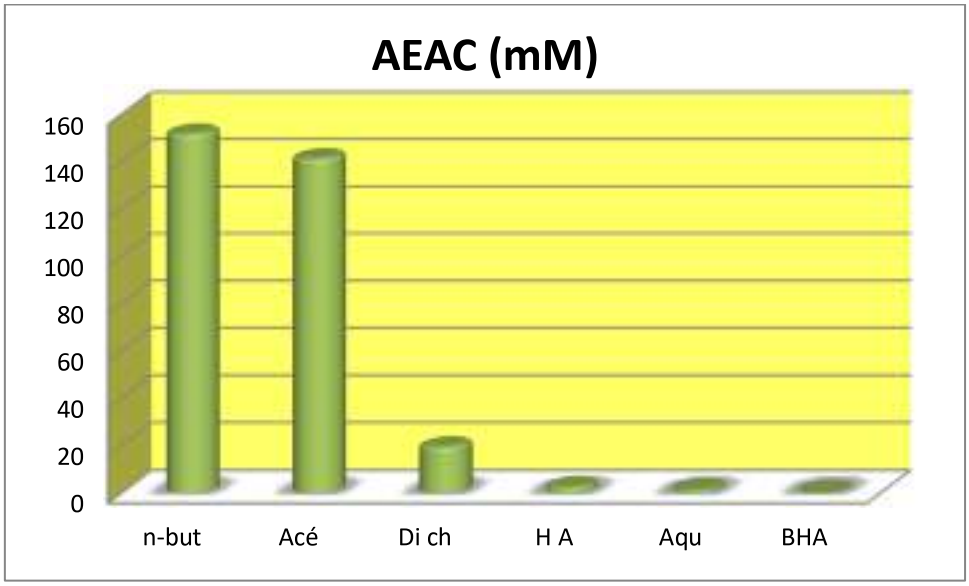
الشكل 15.V: المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك (VC)لاختبار FRAP





الشكل 16.V: اثر القوة الاختزالية للمستخلصات ومقارنتها مع BHA في اختبار القدرة الارجاعية للحديد

نلاحظ من خلال الشكل (16.V) أن القوة الاختزالية لجميع المستخلصات تزداد بزيادة تراكيزها، ويعبر عنها بالقيمة AEAC التي تم حسابها بالعلاقة (6.IV) و كانت هذه القيمة متباينة بالنسبة للمستخلصات. ولتوضيح المقارنة مثلنا النتائج في الشكل التالي:



الشكل 17.V: مقارنة **AEAC** بالنسبة للمستخلصات وBHA في اختبار FRAP

1.3.4.V. مناقشة النتائج

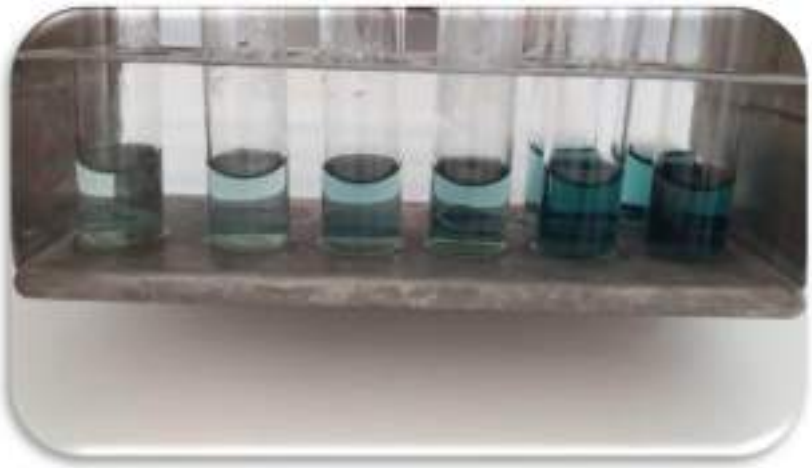
من خلال نتائج الشكل (17. V) نلاحظ ان قيم AEAC للمستخلصات و BHA تراوحت من mM ( ) الى mM ( )، حيث سجلت اعلى قيمة للمستخلص البوتانولي بمقدار mM ( )، وكانت اقل قيمة للBHA بمقدار Mm ( )، كلما كانت قيمة AEAC اكبر كان للمستخلص أحسن قدرة ارجاعية. و تم ترتيب هذه النتائج كالتالي :

Ex n-bu > Ex Acé > Ex Di ch > Ex H A > P Aqu > BHA

إن الاختلاف الموجود في القدرة الارجاعية بين مختلف المستخلصات يشير الى امكانية احتواء المستخلصات المدروسة على مركبات قادرة على منح الكترونات، ويمكن ان يفسر هذا باختلاف المركبات الفينولية المرتبطة و الفلافونيدية التي تحويها المستخلصات بالاضافة الى مركبات فعالة اخرى زادت من هذه الفاعلية [28].

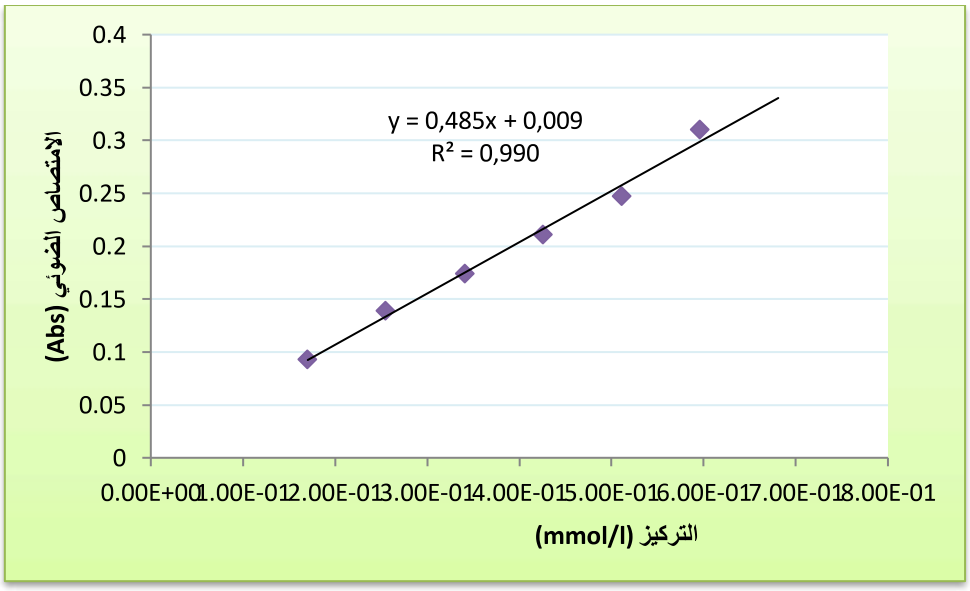
4.4.V. اختبار إرجاع الموليبدات

هو اختبار سريع، منخفض التكلفة و سهل التكرار، و يعتبر تقييم لمجموع مضادات الأكسدة التي تذوب في الماء و الدهون. تظهر القدرة المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية من قيمة الامتصاصية التي يشير إرتفاعها إلى نشاط مضاد للأكسدة أعلى [37].



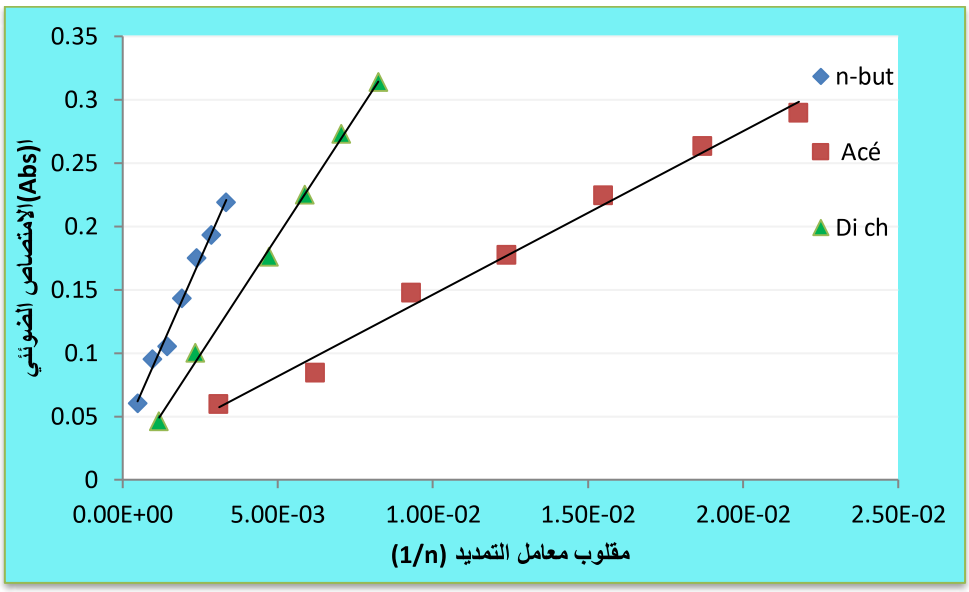
الشكل 18.V:صورة توضيحية لنتائج اختبار موليبدات الفوسفات

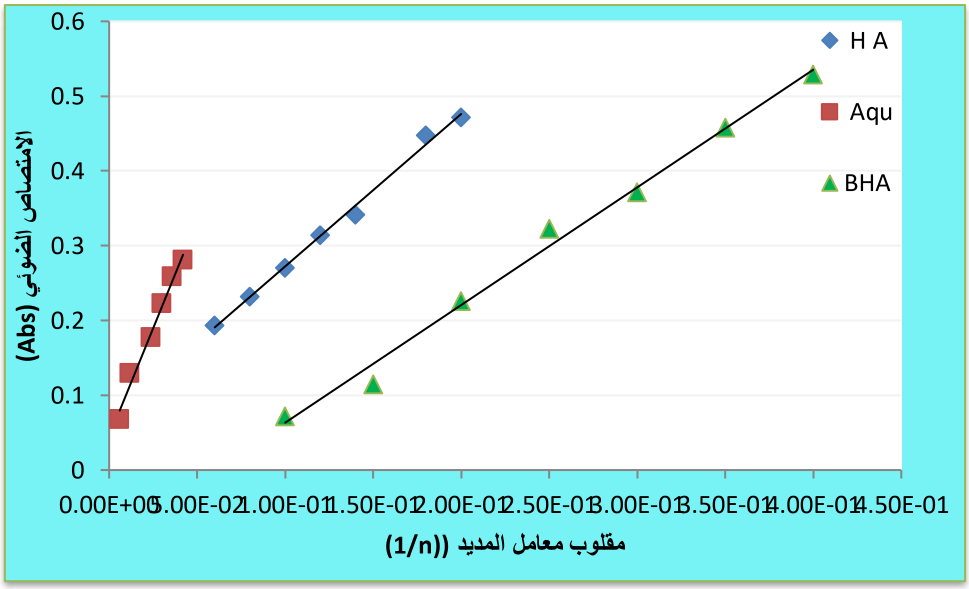
تم تقدير الفاعلية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة بالنسبة لحمض الاسكوربيك وعليه يستلزم رسم منحنى الامتصاصية بدلالة التركيز Abs=f(CmM) لهذا الحمض والممثل في الشكل (19. V).



الشكل 19.V: المنحنى القياسي لحمض الاسكوربيك (VC)في اختبار موليبدات الفوسفات

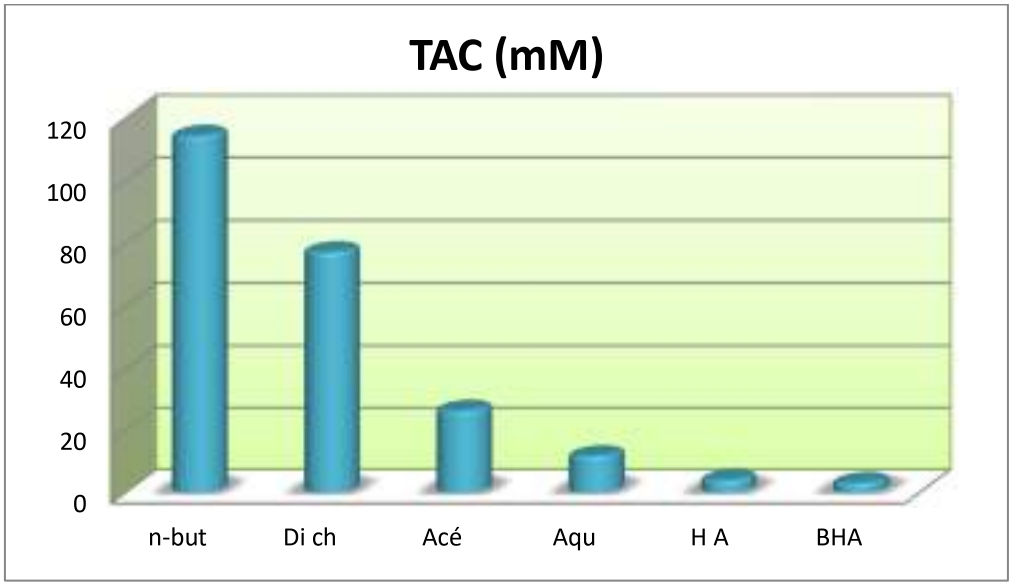
نعالج بنفس الطريقة مركب BHA من اجل مقارنة فاعلية مستخلصات النبته المدروسة مع مضادات الاكسدة المصنعة.





الشكل 20.V: اثر القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات ومقارنتها مع BHA في اختبار إرجاع الموليبدات

انطلاقا من الشكلين (19.V) و(20.V) وبتطبيق العلاقة (7.IV) نقوم بحساب قيم TAC، و كانت المقارنة بين هذه القيمة لمختلف المستخلصات و BHA كما في الشكل (21. V).



الشكل 21.V: مقارنة القيمة **TAC** بالنسبة للمستخلصات وBHA في اختبار موليبدات الفوسفات

1.4.4.V. مناقشة النتائج

من خلال نتائج الشكل (21.V) نلاحظ أن جميع المستخلصات تملك قدرة مضادة للأكسدة، حيث تختلف من مستخلص لأخر. و كانت قيم TAC للمستخلصات و BHA تتراوح من mM ( ) إلى mM ( )، و كان مستخلص البوتانول و اسيتات الايثيل يملكان احسن فاعلية مضادة للاكسدة تعمل على إرجاع شوارد Mo (VI)الى الشوارد Mo (V). و سجلت أعلى قيمة للمستخلص البوتانولي بمقدارmM ( )، وكانت اقل قيمة BHA بمقدار mM ( ).

كلما كانت قيمة القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) اكبر كان للمستخلص أحسن قدرة ارجاعية، و تم ترتيب هذه النتائج كالتالي:

Ex n-but > Ex Di ch > Ex Acé > P Aqu > Ex H A > BHA

إن الاختلاف الموجود في القدرة الارجاعية بين مختلف المستخلصات يمكن أن يكون بسبب اختلاف المركبات الفعالة (المركبات الفينولية) الموجودة فيها بالإضافة إلى مركبات أخرى عززت هذه الفعالية [28].

الخلاصة العامة

يندرج هذا العمل في إطار تثمين نبات طبي، حيث تهدف دراستنا إلى استخلاص المواد الفعالة في هذا النبات، والتعرف على المستخلص الأكثر فعالية للنشاطية المضادة للأكسدة، لذا قمنا بدراسة مستخلصات النبتة، و مقارنة المردودية الإنتاجية والفعالية المضادة للأكسدة لها.

بدأنا هذه الدراسة بالتعرف على المواد الفعالة في النبتة، حيث قمنا بالكشف الفيتوكيميائي الأولي لها و تحصلنا على المركبات الفعالة التالية: الصابونيات، العفصيات، الفلافونيدات، القلويدات، الفينولات، الغلايكوزيدات، السترويدات، السترويلات، الكاردينوليدات، الراتنجات والتربينات.

كما تطرقنا إلى دراسة التقدير الكمي الكلي للفينولات و الفلافونيدات في المستخلصات النباتية و ذلك باستخدام طريقة كاشف Folin-Ciocalteu و طريقة كلوريد الألمنيوم AlCl3 على الترتيب فتحصلنا على اكبر كمية للمركبات الفينولية و الفلافانويدية في مستخلص الاسيتات mg/g ( )- mg/g ( ) على الترتيب.

و فيما يخص الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات استعملنا أربعة طرق، اختبار $DPPH^{\cdot}$، $ABTS^{\cdot+}$، اختبار إرجاع الحديد و الفوسفوموليبدات، و قد اظهر الاختبارين الأولين ($DPPH^{\cdot}$ و$ABTS^{\cdot+}$) نشاطية مضادة للأكسدة لمستخلص خلات الايثيل بمقدار mg/ml ( ) وmg/ml ( ) على الترتيب مقارنة مع باقي المستخلصات و كانت لهذه الاخيرة قدرة تثبيطية اقل مقارنة بحمض الاسكوربيك و BHA، أما الاختبارين الآخرين (FRAP و الموليبدات) فقد تحصلنا على فعالية ارجاعية اكبر للمستخلص البيتانولي مقارنة مع باقي المستخلصات وكانت مقدرة ب Mm ( ) و mM ( ) على الترتيب، ومن جهة أخرى يملك BHA اقل فعالية مضادة للأكسدة في هاذين الاختبارين.

و في الأخير نرجو أن نكون قد وفقنا في الوصول إلى الهدف المنشود وهو دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لنبات طبي، أو على الأقل نكون قد أثرنا تساؤلات في جانب مهم من مواضيع الطب والصناعة الغذائية في العصر الحالي كي يتسنى لنا ولغيرنا التعمق أكثر لإثراء الرصيد العلمي والبحثي في الجزائر.

إن أصبنا فمن الله وحده و إن أخطانا فمن أنفسنا و من الشيطان ونسال الله أن يجعله في ميزان حسناتنا.

المراجع العربية

[1] بن مرعاش عباس. دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة للنبتة (Convolvulus supinus Coss. & Kral.) (Convolvulaceae)).مذكرة ماجستير. قسنطينة: جامعة منتوري. 2012. ص 102.

[2] لفحل مصطفى. فصل و تحديد الفلافونيدات لنبات Tamrix gallica (Tamaricaceae) . شهادة ماجستير. قسنطينة: جامعة منتوري 2008. ص90

[3] العابد ابراهيم. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران Tragnum nudatm. مذكرة ماجستير. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح. 2009. ص 106.

[12] منتديات بوابة الونشريس. الجنوب الصحراوي. 2010. منشور في < https://www.ouarsenis.com/vb/showthread.php?t=54374>. 05.08.2011.

[13] موساوي فيروز حرم بن مهدي. فصل وتحديد منتوجات أأليض الثانوي للنبتتين والفعالية ضد المكروبية ((Launaea resedifolia (O.K.)وLaunaea glomerata(Cass.Hook.F)). اطروحة دكتوراه. قسنطينة: جامعة قسنطينة 1. 2014. ص147.

[28] بن ساسي شيماء. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة. اطروحة دكتوراه. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح، 2018، ص 162.

[29] ابراهيم حوة. دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية والفعالية ضد الاكسدة. مذكرة ماجستير. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح، 2013، ص. 99.

[30] نيفين عبد الغني ورفقائها، دور مضادات الاكسدة وعلاقتها بالصحة العامة. مجلة اسيوط للدراسات البيئية، يوليو 2013، العدد (38).

[32] حميدي نور الدين. الدراسة الفيتوكيميائية و التقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسيبينا (fagoniaLongisipina) (zygophyllaceae)) نبات من الجنوب الغربي للجزائر. اطروحة دكتوراه. تلمسان: جامعة ابي بكر بلقايد، 2015، ص. 142.

[33] لقرون زهورة. دراسة الدور الوقائي لبعض المركبات النشطة بيولوجيا اتجاه الاثر السمي للمبيدات والهيدروكربونات على الجهاز العصبي والمناعي عن الجرذان. اطروحة دكتوراه. قسنطينة: جامعة الاخوة منتوري، 2016، ص. 125.

[35] علي خضير جابر الركابي علي. استخلاص المركبات الفينولية من نخالة الحنطة و تقييم فعاليتها كمضادات للاكسدة. مجلة ابحاث البصرة (العلميات)، حزيران 2007، العدد (33)، الجزء الثاني (8-15).

[36] بن سلامة عبد الرحيم. النشاطات المضادة للاكسدة و المثبطة للانزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات اوراق. Hertia cheirifolia L. مذكرة ماجستير. سطيف: جامعة فرحات عباس، 2012. ص. 78.

[37] بلفار آسيا. دراسة القدرة المضادة للأكسدة وللبكتيريا وللتآكل للمستخلصات الفينولية لنبات Limoniastrum guyonianum (Dur) . اطروحة دكتوراه. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح، 2018، ص. 209.

[38] علاوي مسعودة. مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمثHaxoxylon Scorium. شهادة ماجستير. ورقلة: جامعة قاصدي مرباح.2003. ص 96.

[42] بوديار طارق. فصل و تحديد نواتج الايض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للاكسدة لنبتة Euphorbia guyoniana. مذكرة ماجستير. قسنطينة: جامعة منتوري، 2008، ص. 128.

[44] محمد بوعبد الله سعاد. دراسة بعض التاثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الاخضر Camellia Sinensis على النشاط المضاد للاكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا. مذكرة ماجستير.قسنطينة: جامعة منتوري، 2011، ص. 92

[48] علاء فراك حسين. دراسة سائل-سائل حول الحديد بواسطة 2، 5 ثنائي فينيل اوكسازول. بغداد. مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية. المجلد19(1) .2006.

المراجع الاجنبية

[4] SAIDI Boubakr et all. phytoecological and phytogeographical study on Asteraceae family of Tessala Mount (Western Algeria). Article.Sidi Bel Abbes: Université Djillali Liabes. 2015.P9.

[5] [5] Kenoufi M1, Lograda T1, Chalard P2,3, Figueredo G4, Ramdani M1. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Chromosome Number of Senecio giganteus Desf. from Algeria. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8(11); 1772-177.

[6] Mme Tidjani Soukaina. Etude Phytochimique et Evaluation Biologique de L'espèce Senecio delphinifolius Vahl. Mémoire de Doctorat. CONSTANTINE : Université des Freres Mentouri. 2016. 179.

[7] P. Ozenda. Flore et végetation du Sahara, 3ème Edition, Centre Nationale de la Recherche Scientifiques: 15,rue Malebranche-75005 Paris, 1991, P 221-223.

[8]

[9]

[10]

[11]

[14] VU Thi Dao. Effet de l'envirenement sur la croissance et l'accumulation de métabolismes secondaires chez Datura innoxia Mill. Cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotique et abiotique. Mémoire de Doctorat. Lorraine :Université de Picardie. 2008. P 211.

[15] Donatien Kone. Enquête ethnobotique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloides-caractérisation, quantificationde polyphénols: Etude de leur activité antioxydante. Mémoire de Doctorat. France: Université PAUL Verlaine de Metz-UPV-M. 2009. P157.

[16] Rezine Fethi et Fedaouche Mohammed Selem. Coumarines à intérêt thérapeutique : Synthèse et contrôle analytique. Mémoire de Doctorat. Tlemcen: Universite Abou Bekr Belkaid. 2017. P144.

[17] Mme Belyagoubi Née Benhammou Nabila. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Mémoire de Doctorat. Tlemcen : Université Aboubkr Belkaid. 2011. P109.

[18] Rira Moufida. Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de Magister.

Constontine :Université Mentouri . 2006. P80.
[19] Benguerba Adlen. Etude phytochimique et de phase butanoique de l' espéce Inula crithmoides L.. mémoire de Magister. Constantine: Université Mentouri. 2008. P90.
[20] Erich Grotewold. The Science of Flavonoids. Mémoire de Doctorat. Columbus, Ohio, USA: The Ohio State University. 2006. P269.
[21] Leslie, A. Weston & Ulrike, Mathesius. Flavonoids: Their Structure, Biosynthesis and Role in the Rhizosphere, Including Allelopathy. (2013) J Chem Ecol 39:283–297
[22] Saffidine Karima. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de Carthamus caeruleus L. et de Plantago major L..Mémoire de Doctorat. Sétif : Université Ferhat Abbas. 2015. P 92.
[23] Shashank , Kumar and Abhay, K. Pandey. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. Hindawi Publishing Corporation. The ScientificWorld Journal. 2013, Article ID 162750, 16 pages.
[24] Dr. Kursinszki László. Flavanoids. : Summelweis University. 2015. P53.
[25] Sabrina Krief. Métabolites secondaires des plantes et comportementanimal: surveillance sanitaire et observations del'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommés. Mémoire de Doctorat. PARIS : Museum national d'histoire naturelle – MNHN. 2003. P343.
[26] ALIYU, A.B. et al. Free radical scavenging and total antioxidant capacity of methanol extract of Ethulia conyzoides growing in Nigeria. Article in Acta poloniae pharmaceutica , 2012, Vol.17, No.4, 7458-7465.
[27] F. Rouaki. Effest de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydee et de la supplementation en alpha-tocopherol sur certains pa rametres structuraux et fonctionnels du tissu cardiaque chez le rat en croissance. Thèse de Docteur. EL-HARRACH/ ALGER : Ecole Nationale Superieure D'AGRONOMIE, 2016, P. 376.
[31] Grar Hadria. Etude despropriétés immunomodulatrices et antioxydantes du ß-carotène et de la vitamine E chez la soris Balb/c rendure allergique à la ß-Lactoglobuline. Thèse de Doctorat. Oran : Université de Ahmed Ben Bella. 2017. P139.
[34] Kholkhal Fatima. Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus. Thèse de Doctorat. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, 2014, P. 164.
[39] Dr. Majid Sakhi Jaber et all. Detection of Active Compounds in the Aqueous Extract of the Plant Leaves for Eriobotrya Japonica and Study the Effect of the Extract as an Antioxidant. (34),(B),(6). Baghdad. Journal d'ingérierie et de technologie, volume 34,partie B, N°6 .2016. P143.
[40] Belguidoum Mahdi et all. Antioxidant activities, phenolic, flavonoid and tannin contents of endemic Zygophyllum Cornutum Coss. from Algerian

Sahara. Der Pharma Chemica. 2015. 7(11). P 312-317.
[41] Benaissa O, et al. Free radical scavenging action of phenolic compounds from Limonium bondueli (Plumbaginaceae). 2013, Der Pharmacia Lettre, 5 (5):234-240.
[43 Karim ARAB, et al. Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé . 2013, Afrique SCIENCE 09(3), 159 – 166.
[45] Wafa Ghnimi. Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Université de Lorraine, 2015. P. 224.
[46] K.S. Vidyalakshmi, et al. Free Radical Scavenging Activity of Mussaenda glabra. 2006, Journal of Applied Sciences 6 (10), 2251-2256.
[47] Keshaw Ram Aadil, et al . Free radical scavenging activity and reducing power of Acacia nilotica wood lignin. 2014, International Journal of Biological Macromolecules 67 , 220–227.
[49] Nicholas J. MILLER, et al . A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science (1993) 84, 407-412.
[50] Mme . Nur Alam, et al. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal (2013) 21, 143–152.

ملخص

ان الهدف من هذا العمل هو دراسة الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبات طبي.
بينت نتائج اختبارات الكشف الفيتوكيميائي أن هذا النبات يحتوي على معظم المواد الفعالة. تم التقدير الكمي للمركبات الفلافونيدية والفينولية للمستخلصات النباتية (مستخلص ثنائي كلور الميثان، مستخلص خلات الايثيل، مستخلص البيتانول، المستخلص الهيدروكحولي و الطور المائي), ووجدنا أن اكبر كمية لهذه المركبات كانت موجودة في مستخلص خلات الايثيل.
كما أظهرت دراسة النشاط المضاد للاكسدة لمختلف مستخلصات النبات المدروس بأربع طرق و هي اختبار DPPH، اختبار $ABTS^{\cdot+}$، اختبار إرجاع الحديد و اختبار موليبدات الفوسفات، حيث كانت أحسن فاعلية مضادة للأكسدة بالنسبة لاختبار $DPPH^{\cdot}$ و $ABTS^{\cdot+}$ لمستخلص خلات الايثيل مقارنة مع المستخلصات الأخرى، ومن جهة أخرى كانت القدرة التثبيطية للشواهد المرجعية اكبر من المستخلصات النباتية المدروسة. أما اختبار إرجاع الحديد و موليبدات الفوسفات فكان للمستخلص البيتانولي اكبر قدرة مضادة للأكسدة مقارنة مع باقي المستخلصات, حيث سجلت هذه الأخيرة قدرة ارجاعية اكبر مقارنة مع BHA.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات، نبات طبي، المواد الفعالة، المركبات الفينولية، الفاعلية المضادة للاكسدة.

Résumé

Le but de ce travail est d'étudier l'efficacité antioxydante d'extraits de plante médicinale.
Les résultats des tests phytochimiques ont révélé que cette plante contient la plupart des substances actives. On a trouvé une estimation quantitative de composés flavonoïdes et phénoliques pour extraits de plante (extrait de dichlorométhane, extrait d'acétate d'éthyle, extrait de butanol, extrait d'hydroalcoolique et phase aqueuse), la plus grande quantité étant trouvée dans l'extrait d'acétate d'éthyle.
L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits de plante a été étudiée par quatre méthodes: test $DPPH^{\cdot}$, test $ABTS^{\cdot+}$, test de réduction de fer et test au phosphate de molybdate, l'antioxydant le plus efficace pour le test $DPPH^{\cdot}$ et $ABTS^{\cdot+}$ était de extrait d'acétate d'éthyle comparé à d'autres extraits. En revanche, la capacité inhibitrice aux standards utilisés était supérieure à celle des extraits de plante étudiée. En ce qui concerne le test du phosphate de molybdate et FRAP, l'extrait butanolique avait la capacité antioxydante la plus élevée par rapport aux autres extraits, ce dernier ayant une capacité de réductrice supérieure à celle du BHA.

Mots clés: Extraits, plante médicinale, substances actives, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

The purpose of this work is to study the antioxidant efficacy of medicinal plant extracts.
The results of phytochemical tests revealed that this plant contains most of the active substances. We found a quantitative estimate of flavonoids and phenolic compounds extracted from plant extracts (dichloromethane extract, ethyl acetate extract, butanol extract, hydroalcoolic extract and aqueous phase), the greatest amount being found in the ethyl acetate extract.
The study of the antioxidant activity of the various plant extracts was studied by four methods: $DPPH^{\cdot}$ test, $ABTS^{\cdot+}$ test, iron reduction test and molybdate phosphate test, the most effective antioxidant for the test $DPPH^{\cdot}$ and $ABTS^{\cdot+}$ was ethyl acetate extract compared to other extracts. On the other hand, the inhibitory capacity to the standards used was greater than that of the plant extracts studied. Regarding the molybdate phosphate and FRAP test, butanolic extract had the highest antioxidant capacity compared to the other extracts, the latter having a reducer capacity greater than that of BHA.

Key words: Extracts, medicinal plant, active substances, phenolic compounds, antioxidant activity.